



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **78756** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61K 31/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 12402	(72) Винахідник(и): Потебня Григорій Платонович (UA), Воєйкова Ірина Михайлівна (UA), Юдіна Ольга Юріївна (UA), Федосова Наталія Іванівна (UA), Караман Ольга Михайлівна (UA), Діденко Геннадій Васильович (UA), Євстрат'єва Людмила Миколаївна (UA), Лісовенко Галина Степанівна (UA), Чехун Василь Федорович (UA)
(22) Дата подання заявки: 30.10.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.03.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.03.2013, Бюл.№ 6	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ, вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022 (UA)

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ ВАКЦИНИ

(57) Реферат:

Спосіб одержання протипухлинної вакцини здійснюють шляхом обробки пухлинних клітин білоквмісним метаболітом культуральної рідини *B. subtilis* B-7025 з молекулярною масою 70 кДа та інкубації суміші. Як пухлинні антигени використовують протеїни ембріональної нервової тканини щура пізнього періоду гестації.

UA 78756 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до онкології, і стосується технології одержання протипухлинних засобів.

Підвищення ефективності лікування хворих на злоякісні новоутворення - центральна проблема і мета експериментальної та клінічної онкології. Найбільш інтенсивно розробляються методи імунотерапії пухлин, які ґрунтуються на специфічній індукції протипухлинної резистентності організму шляхом імунізації протипухлинними вакцинами (ПВ). Розроблено цілий ряд ПВ, технологія виготовлення яких базується на використанні аутологічних або алогенних пухлинних антигенів [1, 2]. Завдяки експресії деяких антигенів ембріональні та пухлинні клітини подібні між собою, що забезпечує можливість їх використання з метою подолання імунологічної толерантності організму [3]. Більш того, ембріональні антигени більшості живих організмів мають спільне походження, а отже і спільні, але "модифіковані" антигенні детермінанти, на які може бути сформована повноцінна імунна відповідь. За рахунок формування перехресних імунних реакцій відбувається гальмування пухлинного процесу.

Під впливом алогенних гомогенатів або екстрактів ембріональної селезінки та тимуса у онкологічних хворих відбувається гальмування росту пухлин, у деяких випадках - розсмоктування новоутворень [4]. Експериментально обґрунтована можливість застосування для імунотерапії злоякісних пухлин ксеногенних фетальних протеїнів [5]. На сьогодні вже є окремі повідомлення щодо ефективності застосування ксеногенних ембріональних протеїнів для імунотерапії хворих на рак різного генезу [6, 7]. Для цього використовують екстракти з ембріональних і плацентарних тканин різних тварин [8-10].

Використання ембріональних протеїнів в якості "універсальних" специфічних імуногенів відкриває нові можливості для конструювання ПВ на їх основі. Спроби застосування ембріональних тканин для створення ксеногенних ПВ базуються на їх унікальних властивостях, зокрема наявності та продукуванні великої кількості речовин, які здатні стимулювати імунокомпетентні клітини [11].

Найбільш близьким способом одержання ПВ до способу, що заявляється, є спосіб приготування вакцини шляхом обробки пухлинних клітин продуктами метаболізму штаму *B. subtilis* IMB B-7025 з молекулярною масою 70 кДа, в дозі 0,3 мг/мл препарату на $30,0 \times 10^6$ пухлинних клітин в 1 мл вакцини [12]. Одержану суміш струшують на шейкері 15 хв та інкубують в термостаті при 38 °С протягом 1 години. Після закінчення інкубації вакцину перевіряють на стерильність та життєздатність пухлинних клітин і зберігають при -20 °С.

Однак, одержані таким чином ПВ не забезпечують високу антиметастатичну ефективність в зв'язку з імунологічною толерантністю організму до антигенів власної пухлини. Використання чужорідного аналога пухлинних антигенів дозволяє досягнути цієї мети - введення ксеногенних ембріональних протеїнів здатне викликати достатню імунну відповідь проти власних ендогенних протеїнів пухлини [6, 13]. Крім того, використання ксеногенних ембріональних протеїнів як "універсального пухлинного антигена" при одержанні протипухлинної вакцини забезпечує можливість вакцинації при відсутності аутологічного пухлинного матеріалу.

В основу корисної моделі поставлена задача одержати ПВ, здатну подолати імунологічну толерантність до білків власної пухлини. Для цього в способі одержання ПВ замість антигенів пухлинних клітин, які є слабко імуногенними для організму, використовують чужорідні ксеногенні ембріональні протеїни разом з ад'ювантом бактеріального походження. Такий підхід дозволяє покращити стандартизацію ПВ та забезпечує можливість проведення вакцинації при відсутності аутологічного пухлинного матеріалу.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання ПВ використовують білоквмісний екстракт нервової тканини ембріонів щурів пізнього періоду гестації (22 доба ембріогенезу) та білоквмісний метаболіт *B. subtilis* B-7025 з молекулярною масою 70 кДа. Така ПВ має високу антиметастатичну активність, що здатна подолати імунологічну толерантність організму до пухлинних клітин.

Білоквмісні екстракти нервової ембріональної тканини отримували методом ЕДТА-екстракції (етилендіамінтетраоцтовою кислотою). Для цього до 1 г ембріональної нервової тканини щура, подрібненої в гомогенізаторі Поттера, додають 10 мл 0,1 % розчину ЕДТА. Суміш струшують протягом 60 хв. В подальшому суспензію центрифугують протягом 15 хв при 8000 об./хв. Осад видаляють, а в надосадовій рідині визначають концентрацію білка та оцінюють білковий склад в SDS-електрофорезі. Білкові екстракти зберігають при t-20 °С.

Використання білоквмісного метаболіту *B. subtilis* B-7025 з молекулярною масою 70 кДа в якості ад'юванта обумовлено тим, що цей бактеріальний метаболіт володіє цитотоксичною дією *in vitro* на пухлинні клітини за рахунок зв'язування з клітинною мембраною та "злушчування" з її поверхні білків, викликаючи загибель пухлинних клітин [12].

Лабораторна технологія одержання ПВ, що заявляється. У стерильний флакон вносять 1 мл підготовленого екстракту ембріональних протеїнів нервової тканини щура в концентрації 0,3 мг/мл по білку та додають 1 мл білокмісного метаболіту *B. subtilis* B-7025 70 кДа у концентрації 0,3 мг/мл по білку. Після цього одержану суміш струшують на шейкері 15 хв та проводять інкубацію в термостаті при 37 °С протягом 1 год. Після закінчення інкубації вакцину перевіряють на стерильність та зберігають при t-20 °С.

Нетоксичність та імуногенність заявленої ПВ доведено на інтактних мишах лінії C57Bl/6 масою 20-22 г розведення експериментальної бази Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України (далі ІЕПОР). Для цього ПВ вводили в ділянку спини підшкірно (п/ш) тричі з інтервалом в 3 доби (концентрація по білку сумарно 0,3 мг/мл). На 7-у добу після останнього введення ПВ оцінювали вагові та клітинні показники імунокомпетентних органів (селезінки, тимуса, периферичних лімфатичних вузлів), периферичної крові, активність природних кілерних клітин (ПКК), а також рівень в сироватці крові мишей циркулюючих імунних комплексів та перехресно реагуючих антитіл з антигенами карциноми легені Льюїса (КЛЛ).

Протипухлинну та антиметастатичну ефективність заявленої ПВ досліджували на експериментальних тваринах - мишах лінії C57Bl/6, масою 20-22 г, розведення експериментальної бази ІЕПОР, з модельною метастазуючою пухлиною - КЛЛ. Стандартний штам пухлини одержано з Національного банку культур тканин та штамів пухлин ІЕПОР. Пухлинні клітини трансплантували шляхом введення $4,0 \times 10^5$ в 0,2 мл фізіологічного розчину хлориду натрію у м'язи гомілки (досліди без хірургічного видалення пухлини) або $2,5 \times 10^5$ в 0,05 мл у стопу задньої кінцівки (досліди з хірургічним видаленням пухлини), згідно загально прийнятої методики.

В експериментах *in vivo* застосовували терапевтичну модель використання ПВ: вакцинацію тварин проводили після прищеплення пухлин або після хірургічного видалення первинної пухлини. Для характеристики перебігу пухлинного процесу визначали розміри (об'єми) первинної пухлини, кількість і розміри метастазів. Розраховували індекси гальмування росту пухлин (ІГ) та індекси інгібіції метастазування (ІІМ) в порівнянні з відповідним контролем.

Прототипом заявленої вакцини є ПВ, розроблена в ІЕПОР, виготовлена на основі пухлинних клітин КЛЛ та вищезазначеного ад'юванту. Дана експериментальна модель була обрана як приклад низько імуногенної пухлини для оцінки ефективності ПВ. Суттєвою відмінністю між вакциною, що заявляється, та вакциною-прототипом є, по-перше, - використання як антигенної складової ПВ ембріональних протеїнів замість антигенів пухлинних клітин; по-друге, - наявність ксеногенної складової (протеїни ембріональної нервової тканини щура), за рахунок якої підсилюються імуногенні властивості вакцини.

Приклади практичного застосування корисної моделі

Приклад 1

Протипухлинна та антиметастатична ефективність вакцин, виготовлених на основі гомологічних пухлинних клітин (прототип) та ксеногенних ембріональних білків (заявлена), на моделі КЛЛ (без хірургічного видалення первинної пухлини).

Живі пухлинні клітини (КЛЛ) перещеплювали у м'язи гомілки тварин із розрахунку $4,0 \times 10^5$ в 0,2 мл фізіологічного розчину хлориду натрію за стандартною методикою. Введення вакцини-прототипу та заявленої розпочинали на 2 добу після перещеплення пухлинних клітин і проводили тричі з інтервалом в 3 доби (п/ш, концентрація по білку 0,3 мг/мл, по 0,3 мл/тварину на 1 ін'єкцію). Протипухлинний ефект досліджуваних вакцин оцінювали на 15 та 28 добу після перещеплення КЛЛ за об'ємом первинного пухлинного вузла та індексом гальмування росту пухлини (табл. 1).

Таблиця 1

Об'єм первинної пухлини та індекс гальмування росту КЛЛ при застосуванні вакцини з гомологічних пухлинних клітин (прототип) і ксеногенних ембріональних білків (вакцина заявлена), виготовлених за допомогою білокмісного метаболіту *B. subtilis* B-7025 (70 кДа)

Лікування	Об'єм первинної пухлини, мм ³		Індекс гальмування росту пухлини, %	
	15 доба	28 доба	15 доба	28 доба
Контроль пухлинного росту (фізіологічний розчин NaCl)	1598,1±875,6	2759,3±307,1	-	-
Вакцина (прототип)	521,6±148,3	2095,0±361,5	67,4	24,1

Продовження таблиці 1

Лікування	Об'єм первинної пухлини, мм ³		Індекс гальмування росту пухлини, %	
	15 доба	28 доба	15 доба	28 доба
Вакцина (заявлена)	963,5±182,9	3759,9±616,9	39,7	0,0

Використання вакцини (прототипу) і вакцини (заявленої) однаково не впливало на частоту (100 %) та термін виникнення пухлин (латентний період виходу новоутворень, який у контрольній та дослідних групах був практично однаковим і в середньому становив 8-9 діб). При аналізі показника середнього об'єму пухлини на 15-у добу було зафіксовано гальмування росту пухлини на 67,4 % (вакцина-прототип) і на 39,7 % (вакцина (заявлена)). На 28-у добу росту КЛЛ зазначений показник був на рівні не вакцинованих тварин (контроль пухлинного росту). Таким чином, при аналізі показників росту первинної пухлини КЛЛ не одержано даних про перевагу вакцини заявленої над вакциною-прототипом. В цілому їх протипухлинна активність без хірургічного видалення первинної пухлини була досить низькою.

Результати аналізу антиметастатичної активності зазначених ПВ істотно відрізнялись (табл. 2).

Таблиця 2

Частота метастазування КЛЛ після застосування вакцин з гомологічних пухлинних клітин (прототип) та ксеногенних ембріональних білків (заявлена), виготовлених за допомогою метаболіту *B. subtilis* B-7025 70 кДа (строк спостереження - 28 доба після перещеплення КЛЛ)

Група тварин	Частота метастазування, %	Середня кількість метастазів на мишу/([*] ІМ, %)	^{**} ІІМ, %	Середній об'єм метастазів, мм ³ /([*] ІМ, %)
Контроль пухлинного росту	100,0	16,5±5,3		117,7±85,5
Вакцина (прототип)	66,7±17,2	27,5±10,2 (+66,7 %)	+11,2 %	89,6±52,4 (-23,9 %)
Вакцина заявлена	66,7±19,2	14,5±4,9 (-12,1 %)	-41,4 %	12,8±5,1 (-89,1 %)

Примітки, в таблицях 2 і 3:

* - індекси модуляції (%) розраховані на основі показників відповідного контролю перещеплення за формулою: (дослід-контроль/контроль) x 100 %.

** - індекси інгібіції метастазування (ІІМ, %) розраховані за формулою:

$$\text{ІІМ} = \frac{A_k \times B_k - A \times B}{A_k \times B_k} \times 100\%,$$

де A_k і A - кількість тварин з метастазами в контрольній і дослідній групах;

B_k і B - середня кількість метастазів в легенях тварин контрольної і дослідної груп.

15

Вони свідчать про те, що використання вакцин (прототипу та заявленої) однаково зменшувало частоту метастазування до 66,7 %, але за показниками кількості і об'єму метастазів заявлена вакцина мала суттєві переваги над вакциною-прототипом. Так, індекс інгібіції метастазування для зазначених вакцин відповідно складав -41,4 та +11,2 %. Крім того, середній об'єм метастазів у мишей, які одержали вакцину (заявлену), складав 12,8±5,1мм³, що було вірогідно меншим ($p < 0,05$) за аналогічні показники мишей, які одержали вакцину-прототип (89,6±52,4 мм³) або мишей контрольної групи (117,7±85,5 мм³). Отримані дані свідчать, що вакцини (прототип та заявлена) на моделі КЛЛ (без хірургічного видалення первинної пухлини) мають подібну невисоку протипухлинну активність, але антиметастатична активність вакцини (заявленої) суттєво перевищує таку вакцини-прототипу. Індекс інгібіції метастазування для зазначених вакцин відповідно складав -41,4 та +11,2 %, при цьому середній об'єм метастазів у легені зменшувався на 89,1 і 23,9 %, відповідно.

25

Приклад 2

Антиметастатична ефективність вакцин, виготовлених на основі гомологічних пухлинних клітин (прототип) та ксеногенних ембріональних білків (заявлена), на моделі КЛЛ, за умов хірургічного видалення первинної пухлини.

Досліди проведені на мишах лінії С57В1 з використанням метастазуючої модельної пухлини - КЛЛ. Живі пухлинні клітини трансплантували мишам шляхом введення $2,5 \times 10^5$ в 0,05 мл у стопу задньої кінцівки за стандартною методикою. На 15-у добу після перещеплення, коли первинна пухлина досягала $0,8 \pm 0,2$ см в діаметрі, у мишей проводили хірургічне видалення стопи з пухлиною під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Введення вакцини (заявленої) і вакцини (прототипу) розпочинали через 3 доби після операції. Вакцини вводили підшкірно, триразово, з інтервалом 3 доби, концентрація по білку 0,3 мг/мл, по 0,3 мл/тварину на 1 ін'єкцію. Показники метастазування в легені оцінювали на 21-у добу після видалення пухлини (36-а доба пухлинного процесу). Контролем слугували прооперовані миші, яким підшкірно у відповідний термін вводили фізіологічний розчин хлориду натрію, дотримуючись схем і доз введення вакцин.

У табл. 3 наведені дані щодо антиметастатичної ефективності досліджуваних вакцин на моделі метастазуючої модельної пухлини - КЛЛ при їх введенні після хірургічного видалення пухлини.

Таблиця 3

Антиметастатична активність вакцини (прототипу) та вакцини (заявленої) у мишей з КЛЛ при їх застосуванні після хірургічного видалення первинної пухлини (ХВП) (строк спостереження - 36 доба після прищеплення КЛЛ, 21 доба після ХВП)

Група тварин	Частота метастазування, %	Середня кількість метастазів/(*ІМ, %)¹	**ІІМ, %	Середній об'єм метастазів, мм³/(*ІМ, %)¹
Контроль (ХВП)	51,7±9,3 (15/29)	4,3±1,6		90,9±41,4
ХВП+Вакцина (прототип)	22,2±5,3¹ (6/27)	5,2±4,5 (+20,9 %)	-48,1 %	73,9±39,8 (-18,7 %)
ХВП+Вакцина (заявлена)	22,8±8,0¹ (6/26)	1,5±0,7¹ (-65,1 %)	-84,6 %	32,6±13,8¹ (-63,8 %)

Примітки:

¹ - $p < 0,05$, порівняно з контролем (ХВП).

Хірургічне видалення пухлини без подальшого введення вакцин мало певний антиметастатичний ефект - метастази реєстрували у 51,7 % контрольних прооперованих тварин. Слід зазначити, що застосування обох досліджуваних вакцин суттєво покращувало ці результати: метастази у легені в аналогічний термін виявлені лише у 22,2 % і 22,8 мишей, які одержували вакцину (прототип) та вакцину (заявлену), відповідно ($p < 0,05$). За частотою метастазування результати використання обох вакцин були практично однаковими, проте за кількістю та об'ємом метастазів вакцина (заявлена) мала вірогідні переваги над вакциною (прототипом) - вірогідне зменшення порівняно з контролем (ХВП) показників середньої кількості (на 65,1 %) та об'єму метастазів (на 63,8 %) ($p < 0,05$). Це суттєво перевищувало відповідні показники групи мишей, що одержували вакцину (прототип), які практично не відрізнялись від таких контрольної групи ($p > 0,05$). Для вакцини (заявленої) індекс інгібіції метастазування сягав 84,6 %, для вакцини-прототипу - 48,1 %. Таким чином, використання вакцини (прототипу) зменшувало частоту метастазування, тоді як введення вакцини (заявленої) сприяло як зменшенню частоти метастазування, так і вірогідному ($p < 0,05$) зменшенню кількості та об'єму метастазів у легені.

На основі одержаних результатів, можна стверджувати, що при введенні після хірургічного видалення первинної пухлини вакцина (заявлена), виготовлена на основі ксеногенних ембріональних протеїнів нервової тканини щура, має вірогідно вищу антиметастатичну активність порівняно з вакциною-прототипом, виготовленою на основі гомологічних пухлинних клітин.

Приклад 3

Цитотоксична активність клітин-ефекторів протипухлинного імунітету при введенні мишам після хірургічного видалення первинної пухлини (КЛЛ) вакцини на основі гомологічних пухлинних клітин (прототип) або вакцини на основі ксеногенних ембріональних білків (заявлена).

Схема експерименту аналогічна прикладу 2. Дослідження протипухлинної цитотоксичної активності (ЦТА) природних кілерних клітин (ПКК) та цитотоксичних Т-лімфоцитів (ЦТЛ) у мишей С57BL проводили на 21-у добу після операційного втручання (36-а доба пухлинного процесу). Активність ЦТЛ (імунний цитоліз) та ПКК (природний цитоліз) визначали в реакціях *in vitro*, використовуючи МТТ-тест [14]. Клітинами-мішенями для імунного цитолізу слугували клітини гомологічного пухлинного штаму (КЛЛ), для природного цитолізу - ПК-чутливі клітини К-562. Співвідношення ефекторів до мішеней становило 20:1.

В табл. 4 наведені дані щодо протипухлинної цитотоксичної активності ПКК та лімфоцитів та антитілозалежної цитотоксичності лімфоцитів (АЗКЦ) при застосуванні вакцин (прототипу та заявленої) у мишей з КЛЛ після хірургічного видалення первинної пухлини. Після використання вакцини (заявленої) у оперованих мишей з КЛЛ суттєво зростала (в 3,3 рази; $p < 0,05$) активність ПКК в порівнянні з прооперованими мишами контрольної групи (ХВП), подібний результат був отриманий і для вакцини (прототипу), але він був менш виражений (в 1,7 разу, $0,05 < p < 0,1$).

Таблиця 4

Протипухлинна цитотоксична активність природних кілерних клітин та лімфоцитів при застосуванні вакцин (прототипу та заявленої) у мишей з КЛЛ після хірургічного видалення первинної пухлини (строк спостереження - 36-а доба після прищеплення КЛЛ, 21-а доба після ХВП)

Група	ЦТА ПКК, (ЦІ, %)	ЦТА ЦТЛ, (ЦІ, %)	АЗКЦ ЦТЛ (ЦІ, %)	Потенціювання сироваткою ЦТА ЦТЛ, (ІП, %)
Інтактний контроль	22,2±2,4	19,1±3,0	26,9±3,0	40,8
Контроль (ХВП)	11,4±3,0 ¹	23,2±2,0	34,3±2,6 ⁴	+47,8
ХВП+Вакцина-прототип	20,3±1,7 ³	33,8±2,4 ^{1,2}	44,8±1,62 ^{2,4}	+32,5
ХВП+Вакцина заявлена	32,1±1,9 ^{1,2}	17,9±2,1	23,8±1,1 ²	+27,3

Примітки: ¹ - $p < 0,05$, порівняно з інтактним контролем; ² - $p < 0,05$, порівняно з ХВП; ³ - $0,05 < p < 0,1$, порівняно з ХВП; ⁴ - $p < 0,05$, порівняно з показниками в межах однієї групи.

Таким чином, запропонований спосіб одержання протипухлинної вакцини на основі протеїнів ксеногенної ембріональної нервової тканини дозволяє одержати вакцину зі значно вищою антиметастатичною активністю. Терапевтична ефективність заявленої вакцини при її введенні після хірургічного видалення первинної пухлини вірогідно перевищує ефективність вакцини-прототипу (метастазування пригнічувалось у 1,75 разу, об'єм метастазів зменшувався у 2,2 разу). Одержана таким способом вакцина не чинила на організм тварин імунодепресивної дії та інших побічних ефектів. Спосіб не вимагає додаткового спеціального обладнання і може широко застосовуватися при виготовленні протипухлинних вакцин.

Отже, висока ефективність та нешкідливість одержаної заявленим способом вакцини створює експериментальне обґрунтування для рекомендації впровадження її в клінічну практику для лікування радикально оперованих хворих з метою профілактики рецидивів і метастазів. Використання ксеногенних ембріональних білків при конструюванні протипухлинних вакцин значно розширяє арсенал вакцин для лікування онкологічних хворих, забезпечуючи можливість вакцинації при відсутності аутологічного пухлинного матеріалу.

Джерела інформації:

1. Моисеєнко В.М., Балдуєва И.А. Принципы создания и использования лечебных вакцин в онкологии. Рос. онкол. журн. 2011; 2:49-53.

2. Itoh K, Yamada A, Mine T, Noguchi M. Recent advances in cancer vaccines: an overview. Jpn J Clin Oncol 2009; 39 (2):73-80.

3. Эренпрейс Я.Г. Эмбриональные свойства опухолевых клеток: факты и гипотезы. Эксперим. онкология 1982; 4(6):13-18.

4. Harandi A. Immunoplaental therapy, a potential multi-epitope cancer vaccine. Med Hypotheses. 2006; 66 (6):1182-7.

5. Родионов С.Ю., Татьков С.И., Пак Н.А. Исследование влияния гомогената куриных эмбрионов на рост и метастазирование саркомы Плисса у крыс. Вопр. онкол. 1996; 42(1):74-6.

6. Bergman P.J., Camps-Palau M.A., McKnight J.A., et al. Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. Vaccine 2006; 24 (21):4582-5.

7. Wei Y-q. Immunotherapy of tumors with vaccines based on xenogeneic homologous molecules. Anti-Cancer Drugs 2002; 13:229-35.

8. Лісяний М.І., Любич Л.Д. Протипухлинні властивості нейральних стовбурових клітин: можливості застосування у терапії пухлин мозку. Український нейрохірургічний журнал. 2009; (1):4-7.

9. Corocleanu M. A possible "universal" cancer vaccine that might cause an immune response against emerging cancer cells that originate from any tissue. Medical Hypotheses. 2008; 70:381-383.

10. Zhong Z, Kuszniuk K.P., Popov I.A., et al. Induction of antitumor immunity through xenoplaental immunization. Journal of Translational Medicine. 2006; (4):22-31.

11. Luo Y, Wen YJ, Ding ZhY, et al. Immunotherapy of tumors with protein vaccine based on chicken homologous Tie-2. Clin Cancer Res. 2006; 12 (6):1813-9.

12. Діденко Г.В. Розробка протипухлинних аутовакцин на основі білоквісних метаболітів *B. subtilis* B-7025 та їх вплив на окремі реакції протипухлинного імунітету (експериментальні дослідження): автореф. Дис. ... канд. біол. наук: 14.01.07. К., 2008. 19 с.

13. Scappaticci FA, Contreras A, Boswell CA, et al. Polyclonal antibodies to xenogeneic endothelial cells induce apoptosis and block support of tumor growth in mice. Vaccine 2003; 21:2667-77.

14. Дворщенко О.С, Діденко Г.В., Чередарчук О.І. та ін. Моделювання ксеногенних клітинних систем на твердих фазах з використанням пухлиноасоційованих та ембріональних антигенів і їх застосування в протипухлинній терапії. Доп НАНУ. 2007; (12):155-161.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання протипухлинної вакцини, що здійснюють шляхом обробки пухлинних клітин білоквісним метаболітом культуральної рідини *B. subtilis* B-7025 з молекулярною масою 70 кДа та інкубації суміші, який **відрізняється** тим, що як пухлинні антигени використовують протеїни ембріональної нервової тканини щура пізнього періоду гестації.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601