

“УТВЕРЖДАЮ”



Зам. Директора ОНЦ РАМН,
профессор

А.Б. Сыркин
А.Б. СЫРКИН

“18 июня” 1997г.

Отчет

по договору № 03/97/Н от 05.1997г. по теме:

“ Изучение противоопухолевой и иммуномодулирующей активности субстанции
Астромеланина по программе первичного отбора in vitro”

Москва 1997г.

ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР им. Н. Н. БЛОХИНА РАМН
 ЛАБОРАТОРИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАДИОИМУНОЛОГИИ

Дата исследования 28.07.99г.

Отделение _____

Лечащий врач _____

Ф. И. О. больного Н.А.

Возраст больного 64г

Номер истории болезни _____

Диагноз аденокарцинома мид железы

Вид лечения _____

Момент обследования: до, в процессе, по окончании лечения
 (подчеркнуть)

Результаты обследования:

Субпопуляций лимфоцитов крови (% антиген-положительных клеток)

		норма
1. Т-лимфоциты	(CD3) <u>52,3</u>	(60-75)
2. Т-хелперы/индукторы	(CD4) <u>21,4</u>	(35-46)
3. Т-супрессоры/цитотоксические	(CD8) <u>35,8</u>	(25-30)
4. В-лимфоциты	(CD20) <u>9,2</u>	(5-15)
5. В-лимфоциты, активированные Т-лф.	(HLA-DR) <u>4,0</u>	(7-15)
6. Активированные лимфоциты	(CD38) <u>12,2</u>	(24-40)
7. Рецептор интерлейкина-2	(CD25) <u>0,4</u>	(0-5)
8. Естественные киллеры (NK-клетки)	(CD16) <u>4,2</u>	(10-20)
9. CD11b рецептор C3 комп. компонента	(CD11b) <u>23,5</u>	(10-35)
10. Молекула адгезии (ICAM-3)	(CD50) <u>94,5</u>	(85-100)
11. В-лмф., Т-лмф. (40%), NK-клетки	(CD45RA) <u>30,2</u>	(45-65)
12. Т-лимфоциты	(CD5) <u>53,2</u>	(60-80)
13. Т-лимфоциты, NK-клетки	(CD7) <u>48,3</u>	(60-80)
14. Рецептор трансферрина	(CD71) <u>0,7</u>	(0-5)
15. FAS/APO-1 антиген, опосредуемый апоптоз	(CD95) <u>44,5</u>	(23-60)

Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+ 0,6 (1,2-2,4)

Сывороточные иммуноглобулины (Мг/мл)

G 256 (140-150)

A 182 (110-120)

M 135 (150-160)

Фамилия исследователя: Короткова О. В. Корот

ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР им. Н. Н. БЛОХИНА РАМН
ЛАБОРАТОРИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАДИОИМУНОЛОГИИ

Дата исследования, 04.08.99

Отделение _____

Лечащий врач _____

Ф. И. О. больного М. А.

Возраст больного 56

Номер истории болезни _____

Диагноз плоскоклеточная карцинома Ш. матки

Вид лечения _____

Момент обследования: до, в процессе, по окончании лечения
(подчеркнуть)

Результаты обследования:

Субпопуляции лимфоцитов крови (% антиген-положительных клеток)

		норма
1. Т-лимфоциты	(CD3) <u>58,3</u>	(60-75)
2. Т-хелперы/индукторы	(CD4) <u>24,5</u>	(35-46)
3. Т-супрессоры/цитотоксические	(CD8) <u>32,8</u>	(25-30)
4. В-лимфоциты	(CD20) <u>8,3</u>	(5-15)
5. В-лимфоциты, активированные Т-лф.	(HLA-DR) <u>5,2</u>	(7-15)
6. Активированные лимфоциты	(CD38) <u>21,4</u>	(24-40)
7. Рецептор интерлейкина-2	(CD25) <u>3,0</u>	(0-5)
8. Естественные киллеры (NK-клетки)	(CD16) <u>7,2</u>	(10-20)
9. CD11b рецептор C3 компл. компонента	(CD11b) <u>28,3</u>	(10-35)
10. Молекула адгезии (ICAM-3)	(CD50) <u>87,5</u>	(85-100)
11. В-лимф., Т-лимф. (40%), NK-клетки	(CD45RA) <u>34,8</u>	(45-65)
12. Т-лимфоциты	(CD5) <u>56,3</u>	(60-80)
13. Т-лимфоциты, NK-клетки	(CD7) <u>52,8</u>	(60-80)
14. Рецептор трансферрина	(CD71) <u>4,0</u>	(0-5)
15. FAS/APO-1 антиген, опосредующий апоптоз	(CD95) <u>48,3</u>	(23-60)

Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+ 0,75 (1,2-2,4)

Сывороточные иммуноглобулины (Мг/мл)

G 235 (140-150)

A 148 (110-120)

M 152 (150-160)

Фамилия исследователя: Короткова О. В. Корова

ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР им. Н. Н. БЛОХИНА РАМН
 ЛАБОРАТОРИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАДИОИМУНОЛОГИИ

Дата исследования, 24.08.99
 Отделение _____
 Лечащий врач _____
 Ф. И. О. больного Н.А.
 Возраст больного 64
 Номер истории болезни _____
 Диагноз аденокарцинома шл. железы
 Вид лечения _____
 Момент обследования: до, в процессе, по окончании лечения
 (подчеркнуть)

Результаты обследования:

Субпопулярии лимфоцитов крови (% антиген-положительных клеток)

		норма
1. Т-лимфоциты	(CD3) <u>58,2</u>	(60-75)
2. Т-хелперы/индукторы	(CD4) <u>32,8</u>	(35-46)
3. Т-супрессоры/цитотоксические	(CD8) <u>32,5</u>	(25-30)
4. В-лимфоциты	(CD20) <u>9,2</u>	(5-15)
5. В-лимфоциты, активированные Т-кф.	(HLA-DR) <u>5,7</u>	(7-15)
6. Активированные лимфоциты	(CD38) <u>14,2</u>	(24-40)
7. Рецептор интерлейкина-2	(CD25) <u>0,3</u>	(0-5)
8. Естественные киллеры (NK-клетки)	(CD16) <u>5,1</u>	(10-20)
9. CD3b1 рецептор CD3 компл. комплекса	(CD11b) <u>26,0</u>	(10-35)
10. Молекула адгезии (ICAM-3)	(CD50) <u>89,3</u>	(85-100)
11. В-лимф., Т-лимф. (40%), NK-клетки	(CD45RA) <u>32,2</u>	(45-65)
12. Т-лимфоциты	(CD5) <u>57,1</u>	(60-80)
13. Т-лимфоциты, NK-клетки	(CD7) <u>58,5</u>	(60-80)
14. Рецептор трансферрина	(CD71) <u>0,8</u>	(0-5)
15. FAS/AP0-1 антиген, опосредующий апоптоз	(CD95) <u>39,1</u>	(23-60)

Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+ 1,0 (1,2-2,4)

Сывороточные иммуноглобулины (Мг/мл)

G 128,0 (140-150)
 A 152,0 (110-120)
 M 144,0 (150-160)

Фамилия исследователя: Короткова О. Н. Корот

ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР им. Н. Н. БЛОХИНА РАМН
 ЛАБОРАТОРИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАДИОИМУНОЛОГИИ

Дата исследования, 30.06.99

Отделение _____

Лечащий врач _____

Ф. И. О. больного М. А.

Возраст больного 56

Номер истории болезни _____

Диагноз плоскоклеточная карцинома ш. полости

Вид лечения _____

Момент обследования: до, в процессе, по окончании лечения
 (подчеркнуть)

Результаты обследования:

Субпопуляции лимфоцитов крови (% антиген-положительных клеток)

		норма
1. Т-лимфоциты	(CD3) <u>60,5</u>	(60-75)
2. Т-хелперы/индукторы	(CD4) <u>20,3</u>	(35-46)
3. Т-супрессоры/цитотоксические	(CD8) <u>31,8</u>	(25-30)
4. В-лимфоциты	(CD20) <u>9,5</u>	(5-15)
5. В-лимфоциты, активированные Т-лф.	(HLA-DR) <u>6,2</u>	(7-15)
6. Активированные лимфоциты	(CD38) <u>23,2</u>	(24-40)
7. Рецептор интерлейкина-2	(CD25) <u>7,0</u>	(0-5)
8. Естественные киллеры (NK-клетки)	(CD16) <u>6,3</u>	(10-20)
9. CD11b рецептор C3 компл. компонента	(CD11b) <u>25,7</u>	(10-35)
10. Молекула адгезии (ICAM-3)	(CD50) <u>84,2</u>	(85-100)
11. В-лимф., Т-лимф. (40%), NK-клетки	(CD45RA) <u>36,3</u>	(45-65)
12. Т-лимфоциты	(CD5) <u>52,1</u>	(60-80)
13. Т-лимфоциты, NK-клетки	(CD7) <u>56,4</u>	(60-80)
14. Рецептор трансферрина	(CD71) <u>6,0</u>	(0-5)
15. FAS/APO-1 антиген, опосредующий апоптоз	(CD95) <u>43,2</u>	(23-60)

Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+ 0,92 (1,2-2,4)

Сывороточные иммуноглобулины (Мг/мл)

G 219 (140-150)

A 138 (110-120)

M 161 (150-160)

Фамилия исследователя: Короткова О. В. Корт

ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР им. Н. Н. БЛОХИНА РАМН
 ЛАБОРАТОРИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАДИОИМУНОЛОГИИ

Дата исследования, 15.09.99г.

Отделение _____

Лечащий врач _____

Ф. И. О. больного М. С.

Возраст больного 56л

Номер истории болезни _____

Диагноз плевроклеточная карцинома III, метаст.

Вид лечения _____

Момент обследования: до, в процессе, по окончании лечения
 (подчеркнуть)

Результаты обследования:

Субпопуляции лимфоцитов крови (% антиген-положительных клеток)

		норма
1. Т-лимфоциты	(CD3) <u>63,1</u>	(60-75)
2. Т-хелперы/индукторы	(CD4) <u>31,2</u>	(35-46)
3. Т-супрессоры/цитотоксические	(CD8) <u>30,4</u>	(25-30)
4. В-лимфоциты	(CD20) <u>8,3</u>	(5-15)
5. В-лимфоциты, активированные Т-лф.	(HLA-DR) <u>7,3</u>	(7-15)
6. Активированные лимфоциты	(CD38) <u>22,4</u>	(24-40)
7. Рецептор интерлейкина-2	(CD25) <u>5,0</u>	(0-5)
8. Естественные киллеры (НК-клетки)	(CD16) <u>7,1</u>	(10-20)
9. CD11b рецептор C3 компл. компонента	(CD11b) <u>26,4</u>	(10-35)
10. Молекула адгезии (ICAM-3)	(CD50) <u>83,9</u>	(85-100)
11. В-лф., Т-лф. (40%), НК-клетки	(CD45RA) <u>36,5</u>	(45-65)
12. Т-лимфоциты	(CD5) <u>61,4</u>	(60-80)
13. Т-лимфоциты, НК-клетки	(CD7) <u>57,8</u>	(60-80)
14. Рецептор трансферрина	(CD71) <u>8,0</u>	(0-5)
15. FAS/APO-1 антиген, опосредующий апоптоз	(CD95) <u>45,6</u>	(23-60)

Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+ 1,03 (1,2-2,4)

Сывороточные иммуноглобулины (Мг/мл)

G	<u>195</u>	(140-150)
A	<u>132</u>	(110-120)
M	<u>154</u>	(150-160)

Фамилия исследователя: Короткова О. В. Корова

ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР им. Н. Н. БЛОХИНА РАМН
 ЛАБОРАТОРИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАДИОИМУНОЛОГИИ

Дата исследования, 22.09.99.

Отделение _____

Лечащий врач _____

Ф. И. О. больного Н.А.

Возраст больного 64

Номер истории болезни _____

Диагноз аденокарцинома мол. железы

Вид лечения _____

Момент обследования: до, в процессе, по окончании лечения
 (подчеркнуть)

Результаты обследования:

Субпопуляция лимфоцитов крови (% антиген-положительных клеток)

		норма
1. Т-лимфоциты	(CD3) <u>59,6</u>	(60-75)
2. Т-хелперы/индукторы	(CD4) <u>34,8</u>	(35-46)
3. Т-супрессоры/цитотоксическое	(CD8) <u>26,7</u>	(25-30)
4. В-лимфоциты	(CD20) <u>9,8</u>	(5-15)
5. В-лимфоциты, активированные Т-кф.	(HLA-DR) <u>6,2</u>	(7-15)
6. Активированные лимфоциты	(CD38) <u>15,2</u>	(24-40)
7. Рецептор интерлейкина-2	(CD25) <u>0,8</u>	(0-5)
8. Естественные киллеры (NK-клетки)	(CD16) <u>7,2</u>	(10-20)
9. CD11b рецептор C3 комп. компонента	(CD11b) <u>28,3</u>	(10-35)
10. Молекула адгезии (ICAM-3)	(CD50) <u>72,5</u>	(85-100)
11. В-лимф., Т-лимф. (40%), NK-клетки	(CD45RA) <u>35,6</u>	(45-65)
12. Т-лимфоциты	(CD5) <u>58,4</u>	(60-80)
13. Т-лимфоциты, NK-клетки	(CD7) <u>59,2</u>	(60-80)
14. Рецептор трансферрина	(CD71) <u>0,7</u>	(0-5)
15. FAS/APO-1 антиген, опосредующий апоптоз	(CD95) <u>42,3</u>	(23-60)

Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+ 1,3 (1,2-2,4)

Сывороточные иммуноглобулины (Мг/мл)

G 124 (140-150)
 A 154 (110-120)
 M 145 (150-160)

Фамилия исследователя: Короткова О. В. Корот

2. ОТЧЕТ

об изучении иммуномодулирующей активности препарата "астромеланина"

Проведено изучение влияния препарата "астромеланина" в опытах *in vitro* на пролиферативную активность спленоцитов мышей BA1B/c, стимулированных различными дозами поликлонального митогена конканавалина А (Кон А) в реакции бласттрансформации, и аллоантигенами в реакции однонаправленной смешанной культуры лимфоцитов селезенок аллогенных мышей.

Препарат "астромеланин" разводили в дистиллированной воде при 1° - 100° и подвергали стерилизации на фильтрах "миллипор". Препарат разводили в полной культуральной среде и добавляли к лимфоцитам в объеме 10 мкл в начале инкубации.

Для постановки реакции бласттрансформации использовали спленоциты мышей BA1B/c (самцы весом 22-24 г); реакцию проводили по стандартной методике в 96-луночных пластинах фирмы "линбро", при 5% CO_2 . О пролиферативной активности спленоцитов судили по включению изотопа H^3 - тимидина в ДНК бластных клеток по стандартной методике. Пролиферативную активность выражали в индексах пролиферации (ИП), рассчитывая величину включения H^3 -тимидина в лимфобласты по стандартной методике.

Реакцию однонаправленной смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ) селезенок аллогенных мышей проводили по стандартной методике, используя в качестве отвечающих клеток (респондеров) спленоциты мышей BA1B/c ($H-2^d$), а в качестве стимулирующих клеток спленоциты мышей СЗН ($H-2^k$). Пролиферативную активность лимфоцитов определяли по стандартной методике, используя изотоп H^3 -тимидина.

Результаты изучения влияния препарата "астромеланин" на пролиферативную активность спленоцитов, стимулированных поликлональным митогеном Кон А или аллоантигенами, представлены в таблицах 1 и 2.

Препарат в концентрациях 0,5-0,25 мг/мл вызывал торможение пролиферативной активности спленоцитов, стимулированных митогеном или аллоантигенами.

Препарат в дозах 0,01-0,005 мг/мл приводил к статистически достоверной стимуляции пролиферативной активности спленоцитов, трансформированных митогеном или аллоантигенами.

Таблица I

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА "АСТРОМЕЛАНИН"
НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ СПЛЕНОЦИТОВ,
СТИМУЛИРОВАННЫХ Кон А

Астромеланин ^Х мг/мл	индекс пролиферации, ИП			
	Кон А, мкг/мл			
	0,05		1,0	
	! опыт № 1	! опыт № 2	! № 1	! № 2
Контроль (без астромеланина)	1,65±0,15	2,1±0,2	8,4±0,9	11,8±2,7
0,5	0,82±0,23	1,05	3,6±0,42	5,3
0,25	1,51±0,2	1,8	8,1±0,9	10,9
0,1	1,9 ±0,33	2,0	9,2±0,15	12,3
0,05	2,35±0,28	3,1	9,8±0,28	13,6
0,01	3,7 ±0,44	4,5	14,5±0,36	17,2
0,005	2,7 ±0,38	3,4	12,6±0,25	13,4

^Х Астромеланин во всех испытанных концентрациях не влиял на спонтанную пролиферацию спленоцитов.

Таблица 2

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА "АСТРОМЕЛАНИН"
 НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ СПЛЕНОЦИТОВ,
 СТИМУЛИРОВАННЫХ АЛЛОАНТИГЕНАМИ В СМЕШАННОЙ
 КУЛЬТУРЕ ЛИМФОЦИТОВ (СКЛ)

Астромеланин ^х мг/мл	Индекс пролиферации, ИП			
	Соотношение респондеров и стимуляторов в СКЛ			
	2 : 1		5 : 1	
	! опыт № 1	! опыт № 2	! опыт № 1	! опыт № 2
Контроль (без астромеланина)	8,9±1,05	10,2±1,6	5,4±0,6	3,5±0,4
0,5	5,1±0,46	6,9	2,6±0,32	1,2
0,25	4,8±0,52	9,4	5,2±0,58	3,25
0,1	8,8±1,26	10,4	5,7±0,62	3,9
0,05	9,4±1,6	11,3	7,4±0,67	4,55
0,01	10,6±2,3	12,0	9,7±0,11	6,8
0,005	8,7±0,21	9,9	7,9±0,22	3,9

^х Астромеланин во всех испытанных концентрациях не влиял на спонтанную пролиферацию спленоцитов.

Заключение

Препарат "астромеланин" обладает четко выраженным иммуномодулирующим действием в модельных реакциях клеточного иммунитета в опытах ин витро.

Окончательное заключение о целесообразности использования "астромеланина" для химиопрофилактики злокачественных новообразований может быть сделано после всесторонних исследований влияния препарата на иммунологические показатели в опытах ин vivo.

Зав.лаб.по созданию
нетоксичных иммуномодуляторов
НИИ ЭДнТО онц РАМН, д.м.н.
18.06.97г.

 А.В.Сергеев