

УДК 616-006.484.04-084.615.277.3:611.018.1

КЛЕТочНЫЕ И ПОСТГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ТЕРАПИИ МУЛЬТИФОРМНОЙ ГЛИБЛАСТОМЫ

И.С. Брюховецкий

Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета (690950, г. Владивосток, ул. Суханова, 8)

Ключевые слова: центральная нервная система, нейральные стволовые клетки, опухолевые стволовые клетки, таргетная терапия.

CELLULAR AND POST-GENOMIC APPROACHES TO THE TREATMENT OF GLIOBLASTOMA MULTIFORME

I.S. Bryukhovetskiy

School of Biomedicine, Far Eastern Federal University (8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russian Federation)

Summary. Glioblastoma multiforme, one of the most aggressive human brain tumor. Most current treatments are not effective, the median survival time of 12–14 months. One of the leading causes of treatment resistance is associated with tumor stem cells. The analysis of modern approaches to the creation of biomedical drugs effects on tumor stem cells glioblastoma multiforme on the achievements of modern cellular and post-genomic technologies. Proposed the idea of a combination of methods of targeted therapy with technology regulation of the key functions of tumor stem cells cellular systems with remodel proteome.

Keywords: central nervous system, neural stem cells, tumor stem cells, targeted therapy.

Pacific Medical Journal, 2015, No. 2, p. 12–18.

Мультиформная глиобластома (МГБ), или астроцитомы IV степени злокачественности, по классификации ВОЗ, – наиболее распространенная, высокоинвазивная, первичная глиальная опухоль головного мозга человека [27]. МГБ, как правило, наблюдается во второй половине жизни, несколько чаще встречается у мужчин и составляет более 50 % всех первичных опухолей головного мозга и около 20 % всех внутричерепных новообразований [30]. Методом выбора при лечении МГБ является максимально полная и радикальная операция. Оперативное лечение дополняется облучением, продолжительность жизни больных четко коррелирует с увеличением полученной дозы радиации, достигающей 70 Гр. Химиотерапия может увеличить длительность безрецидивного периода [9].

Прогноз заболевания крайне неблагоприятный, медиана выживаемости пациентов – 12–14 месяцев. Несмотря на все усилия онкологов, только 10 % больных МГБ живут более 18 месяцев с момента установления диагноза, общая 5-летняя выживаемость близка к нулю [18, 26]. По мнению Международного общества невропатологии, главная причина крайне неудовлетворительных результатов лечения здесь кроется в запоздалой диагностике и использовании устаревших лекарственных препаратов [24].

Одну из основных причин терапевтической резистентности МГБ связывают с опухолевыми стволовыми клетками (ОСК). Фармацевтических препаратов,

способных эффективно убивать этот тип клеток, практически не существует. Однако в эксперименте *in vitro* и *in vivo* показано, что на ОСК можно оказать таргетное воздействие и заблокировать их адгезию, пролиферацию и миграцию и ряд других ключевых функций. Основным предметом такой терапии являются мембранные мишени внутриклеточных сигнальных путей ОСК, не пострадавших в результате неопластической трансформации. Воздействия на столь сложную мишень требует разработки принципиально новых биотехнологических подходов, адекватных сложности объекта.

Цель данной работы: систематизация научно-технической информации по вопросам создания и методологии применения биомедицинских препаратов на основе клеточных и постгеномных технологий в комплексной терапии МГБ.

Существующие подходы к лечению опухолей головного мозга

Современный стандарт лечения злокачественных новообразований головного мозга включает унифицированный набор процедур: удаление опухоли, системная химиотерапия и первоначальная радиотерапия [9]. Хирургическое вмешательство рекомендовано для большинства новообразований и должно быть максимально полным и радикальным. Локализация опухоли в глубине мозга или в непосредственной близости от жизненно важных центров его ствола требует применения высокоточного нейрохирургического оборудования или современных радиохирургических систем (кибер-нож, гамма-нож и т.д.).

Традиционная схема радиотерапии состоит из 25–30 фракций облучения в течение 5–6 недель. Частота облучения – 5 раз в неделю в дозе 1,8–2 Гр с использованием трех полей подведения. Продолжительность жизни пациентов коррелирует с суммарной очаговой дозой, достигающей 60–70 Гр. Дальнейшее увеличение дозы ограничено возможностью радиационного некроза. Существует точка зрения, что путем проведения курса широкопольного тотального облучения головного мозга в суммарной дозе до 50 Гр есть возможность предотвратить рецидив МГБ, но клинические наблюдения не подтверждают этот тезис. Систематическое облучение в суммарной дозе 50 Гр в течение 3–5 лет приведет к радиационному поражению центральной нервной системы (ЦНС) и гарантированному развитию слабоумия. В случае благоприятного исхода, у пациента есть перспектива

Брюховецкий Игорь Степанович – канд. мед. наук, заведующий лабораторией молекулярной и клеточной нейробиологии Школы биомедицины ДВФУ; e-mail: bruhovevsky@mail.ru

стать очень глубоким инвалидом с тяжелым пост-лучевым интеллектуально-мнестическим и грубым неврологическим дефектом [13, 14].

В фундаментальном руководстве по нейроонкологии Principles of Neuro-Oncology, вышедшем в США (2005) под редакцией David Schiff и Brian Patrick O'Neill, впервые были представлены основные принципы лекарственной терапии опухолей ЦНС. Препаратом выбора здесь назван темозоламид. При МГБ эффективна схема системной химиотерапии: прокарбазин, ломустин (CCNU), винкристин. Альтернативными схемами являются CAP – циклофосфамид, доксирубицин, цисплатин – и комбинация ломустина, доксирубина и тенипозада. Лечение проводится на фоне дегидратации с применением кортикостероидов и симптоматических средств. По данным литературы, эффективность химиотерапии при МГБ колеблется от 20 до 60 % [11].

Отчасти первый этап стандарта лечения МГБ оправдывает затраченные усилия. За этим этапом, как правило, наступает «светлое окно» в течении болезни. Рецидив проявляется повторным неврологическим дефицитом и продолженным ростом новообразования, который развивается в 95 % случаев через 1–6 месяцев после операции в ложе удаленной опухоли. При рецидиве рекомендует повторную операцию и облучение, или продолжение химиотерапии, если радиотерапия невозможна. Методы таргетной терапии, используемые при МГБ и других опухолях ЦНС, пока не оказали существенного влияния на выживаемость.

Таким образом, традиционная терапия опухолей ЦНС построена по классическим принципам циторедуктивного, цитостатического и цитотоксического воздействия и направлена на радикальное удаление опухолевых клеток. При этом большинство методов и технологий практически не воздействуют на один из важнейших источников терапевтической резистентности опухолей мозга – ОСК.

Концепция опухолевых стволовых клеток

Термин ОСК, в определенном смысле, искусственный продукт экспериментальной медицины. Принципиальной особенностью этого типа клеток является способность вызывать опухоли при имплантации в организм экспериментальных животных в ничтожно малых количествах. Изначально такие клетки были идентифицированы при лейкозах, раке молочной железы и глиобластоме. Характеристиками ОСК обладают клетки CD133⁺ глиобластомы, ESA⁺/CD44⁺CD24⁻/Low рака молочной железы, CD44⁺ для рака простаты, ESA⁺/CD44⁺CD24⁻ рака поджелудочной железы, клетки боковой популяции с исключением красителя Hoechst для рака яичников [4].

Вопрос о происхождении ОСК остается открытым. По мнению ряда специалистов, они появляются вследствие нарушения в работе тканевых механизмов контроля над пролиферацией клоногенных клеток, что делает принципиально возможным обратимые

переходы между нормальным и трансформированным фенотипом. Последующие канцерогенные влияния способствуют активации онкогенов, подавлению экспрессии генов-онкосупрессоров, нарушениям эпигенетического контроля экспрессии генов и уклонению клеток от дифференцировки. В результате образуется клон, обладающий максимальной степенью автономии, индивидуальности и полной независимостью от субстрата. Такие клетки формируют механизмы, предотвращающие истощение теломер и становятся иммортализованными, что дает им стратегическое преимущество в борьбе за существование. Эта концепция получила наибольшее развитие в работах калифорнийского исследователя Питера Дьюсберга, рассматривающего канцерогенез как одну из форм видообразования [19].

Согласно второй точке зрения, появление ОСК – следствие неопластической трансформации нормальных стволовых клеток. Нейрогенез в зрелом мозге млекопитающих был впервые описан Джозефом Альтманом в 60-х годах прошлого века [12]. Спустя тридцать лет нейральные стволовые клетки (НСК) были обнаружены в субэпендимной зоне мозговых желудочков у половозрелых мышей и крыс, затем выделены из гипокампа взрослых приматов и человека. Типичная герминативная зона зрелого мозга также содержит нейральные прогениторные клетки, которые являются прямыми потомками НСК и обладают способностью к миграции и высокой пролиферативной активностью. По мнению ведущих нейробиологов, НСК и их потомки служат наиболее вероятными источниками ОСК мультиформной глиобластомы. Об этом свидетельствуют общность генов и эпигенетических механизмов, регулирующих основные жизненные процессы, единство иммуноцитохимических маркеров клеточной поверхности, идентичность 63,5 % клеточных белков. Трансфер активных онкогенов *Myc* и *Ras* в клетки ЦНС приводит к формированию инвазивных опухолей только после их попадания в НСК [16, 28].

Активно пролиферирующая клетка – идеальный объект мутагенеза, и это делает НСК главной мишенью канцерогенных влияний. Другими механизмами происхождения ОСК могут быть перепрограммирование НСК патологически измененными элементами клеточного матрикса и феномен клеточной фузии между нормальными и патологически измененными НСК.

В неопластической ткани ОСК выполняют системообразующую роль. Они организуют взаимодействие с фибробластами и эндотелием, запускают ангиогенез, модулируют процессы инвазии и метастазирования, рекрутируют здоровые стволовые и соматические клетки, обеспечивают рецидив опухоли. Способность к быстрому восстановлению неопластической популяции непосредственно зависит от количества ОСК. Ряд авторов утверждает, что число ОСК в большинстве солидных опухолей не превышает 0,1 %. По результатам собственных исследований, число CD133⁺ ОСК

глиобластомы линии U87 составляет 1 %, что соответствует данным литературы и отчасти объясняет ее агрессивность.

В свою очередь, ОСК также является формой выживания опухолевых клеток. Клетки фенотипа CD133⁺ (основной маркер ОСК) составляют 87,2 % популяции клеток глиомы линии С6, выделенных из свободно плавающих глиомасфер *in vitro*. При этом, число клеток позитивных на глиальный фибриллярный кислый протеин не превышает 0,95 %. После того как клетки прикрепляются к поверхности, количество CD133⁺-элементов сокращается до 30,2 %, а число клеток, позитивных на глиальный фибриллярный кислый протеин, доходит до 50,1 % [32]. Очевидно, адгезия к субстрату – стратегически важный механизм регуляции численности ОСК.

Фармацевтических препаратов, способных эффективно воздействовать на механизмы адгезии ОСК, не существует. Изучается возможность поражения отдельных мишеней, свойственных этому типу клеток. Например, сунитиниб воздействует на сигнальный путь MAPK. Рапамицин ингибирует сигнальный путь PI3K/Akt, циклопамин прерывает путь SHH, а эффективных и безопасных препаратов для воздействия на Wnt-сигнальный каскад в ОСК пока не предложено [2].

Таким образом, ОСК – это системообразующие клетки МГБ, ключевой модератор процессов инвазивного роста и универсальная форма выживания опухолевых клеток. Ряд аргументов свидетельствует о происхождении ОСК первичных опухолей мозга от НСК головного мозга человека, что впрочем, только дополняет альтернативные концепции. Большое число ОСК – крайне плохой признак. Сопrotивляясь лечению, МГБ увеличивает количество ОСК. Очевидно, что появление признаков «стволовости» (ошаривание клетки, исчезновение маркеров клеточной поверхности, нарушение межклеточных контактов) есть фундаментальный механизм выживания новообразования. Не менее очевидно, что для управления этим процессом нужны специализированные методы.

Теоретические предпосылки к созданию биопрепаратов на основе клеточных и постгеномных технологий

Стволовые клетки применяются в онкологии более 50 лет. Использование стволовых клеток в комплексном лечении злокачественных опухолей в 60-х годах XX века стало революционным научным событием. Сегодня подобные клетки широко применяются для реконструкции кроветворной системы после химиотерапии, коррекции иммунодефицитных состояний, создания противоопухолевых вакцин, цитотоксических лимфоцитов и дендритных клеток. Трансплантация стволовых клеток – одно из важнейших направлений в лечении тяжелых заболеваний и травм ЦНС. Доказано нейротрофическое и неопластическое действие стволовых клеток на патологически измененную нервную ткань, однако, наибольшие перспективы связаны с их применением для лечения опухолей мозга.

Основной механизм противоопухолевого действия стволовых клеток – направленная миграция в опухолевый очаг и регуляторно-саногенетическое межклеточное взаимодействие в зоне неоплазии. Феномен направленной миграции этих клеток в область травмы, ишемического или неопластического повреждения ЦНС находится в фокусе самого пристального внимания нейробиологов. Нашей исследовательской группой опубликована серия экспериментальных и общетеоретических работ по данному вопросу [1, 3, 5, 17].

Большинство исследователей рассматривает миграцию стволовых клеток только как репаративный механизм. Идентифицировано 80 цитокинов и более 20 типов рецепторов, управляющих этим процессом. Центральная роль здесь отводится взаимодействию фактора стромальных клеток SDF-1 α с рецептором CXCR4 мембраны стволовых клеток. Доказана принципиально важная роль факторов стволовых клеток, роста гепатоцитов, роста эндотелия кровеносных сосудов, белка-афотерина, белка хемотаксиса моноцитов и других лигандов, высвобождаемых поврежденными тканями. Однако экспериментальные данные убедительно свидетельствуют, что первичным источником цитокинов могут быть сами опухолевые клетки. Приобретая автономность, они синтезируют цитокины, которые изменяют направление трафика стволовых клеток. Доказана способность клеток нейроэпителиальных опухолей продуцировать тенасцин, фибронектин, ламинин и коллаген различных типов. Кроме того, ключевым параметром первичных и метастатических опухолей является гипоксия, которая приводит к избыточной продукции высоко активных молекул семейства факторов, индуцированных гипоксией, – главных регуляторов экспрессии генов, ответственных за биосинтез цитокинов, привлекающих стволовые клетки.

Под влиянием цитокинов стволовые клетки направленно мигрируют в опухолевую ткань. В работах группы X.L. Moog абсолютное большинство стволовых клеток фенотипа CD34⁺ при введении животному с опухолью мозга в системный кровоток было идентифицировано в неопластической ткани [25], что полностью подтверждается собственными данными автора [8]. Сказанное позволяет отнести феномен направленной миграции стволовых клеток в неопластический очаг к числу важнейших механизмов регуляции тканевого гомеостаза и противоопухолевой защиты.

Достигая зоны неоплазии, стволовые клетки взаимодействуют с клетками опухоли, что делает возможным обмен цитоплазматическими белками, активизацию соответствующих рецепторов клеточной поверхности, эффект молекулярной адгезии, эффект «рядом стоящего», или bystander-эффект, усиление воспалительной реакции, арест цикла опухолевых клеток в фазе G₁ [6]. Необходимым условием противоопухолевого действия стволовых клеток становится их численное превосходство над неопластическими элементами. При соотношении стволовых и опухолевых

клеток 2:1 скорость пролиферации неопластических клеток резко падает. Механизмом этого феномена является обмен регуляторными белками посредством образования структурно-функционального синцития между взаимодействующими клетками и эффект клеточной фузии [31, 33].

Другим механизмом противоопухолевых эффектов стволовых клеток служит активизация в неопластических клетках рецепторов к белкам суперсемейства фактора некроза опухолей, продуцируемым элементами моноцитарного ряда. Это суперсемейство включает 18 различных белков, главным свойством которых считается потенцирование воспаления или запуск апоптоза при взаимодействии с соответствующими рецепторами, например с CD120.

Модификация гемопоэтических стволовых клеток CD45⁺CD34⁺ в отношении продукции интерлейкина-24 ведет к активизации в опухолевых клетках рецепторных комплексов интерлейкинов 19 и 20, что вызывает гибель клеток метастатических опухолей головного мозга. Модификация транскриптомного профиля нейральных стволовых клеток в отношении продукции интерлейкина-23 активизирует акцепторные белки клеточной поверхности сигнальных путей интегринов и фокальной адгезии в ОСК глиобластомы линии U87, подавляя репаративные возможности этого типа клеток [16].

Эффект молекулярной адгезии впервые описан в работах научной группы Карен Эбоди [10]. Его суть заключается в уникальной особенности стволовой клетки следовать за опухолевой в глубину паренхимы мозга по ее «цитокиновому следу», достигая неопластическую клетку и прикрепляясь к ней, «оседлав подобно наезднику». Механизм открывает перспективы создания клеточных препаратов, воздействующих на опухолевые элементы, инфильтрирующие паренхиму мозга, которые удалить хирургическим путем невозможно.

Поскольку большинство опухолевых клеток находится в интерфазе, они недостижимы для традиционных цитостатиков, а гипоксический тип метаболизма нивелирует эффекты облучения. Эффект молекулярной адгезии позволяет адресно доставлять терапевтические гены или ферменты, локально метаболизирующие неактивное вещество в цитотоксическую субстанцию, или использовать стволовые клетки как источник активной продукции антител.

Bystander-эффект представляет собой частный случай индукционного взаимодействия между клетками. Его суть заключается в инициации во взаимодействующих клетках ключевых функций, запущенных в одной из них. Этот феномен часто наблюдается в радиологической практике, когда гибель клетки, получившей летальную дозу облучения, сопровождается отсроченной гибелью соседних опухолевых элементов. Механизм открывает возможности создания клеточных систем с индуцированным апоптозом, способных донести инструктивное воздействие как до самой опухолевой клетки, так и до ее микроокружения.

Таким образом, современный уровень развития клеточной биологии и постгеномных технологий позволяют создать принципиально новый класс противоопухолевых биопрепаратов, способных преодолеть гематоэнцефалический барьер и донести терапевтический сигнал до мишеней, недостижимых для конвенционных методов лечения.

Методология протеом-основанной клеточной терапии и ее место в структуре комплексного лечения мультиформной глиобластомы

Методологическим недостатком существующих стратегий лечения злокачественных новообразований является абсолютизация принципа тотального уничтожения опухолевых клеток без учета того, что опухоль – это динамически изменяющаяся, автономная живая структура, способная к адаптации и приспособлению. Одно из проявлений лекарственной и радиационной адаптации МГБ – увеличение числа ОСК.

Безусловно, операция решает ряд важнейших задач: уменьшает внутричерепную гипертензию, элиминирует большое число опухолевых клеток, включая системообразующие клоны, что активизирует у оставшихся пулов пролиферативные процессы и делает их чувствительными к лекарственному воздействию. Кроме того, операция сопровождается нарушением целостности гематоэнцефалического барьера, что расширяет спектр применения фармацевтических средств [29]. Однако следующая за операцией химиотерапия в большинстве случаев построена по традиционному принципу: пациент получает препараты, препятствующие росту опухолевых клеток или повреждающие клеточные компарменты. Принципиальным шагом вперед здесь стала цитокиновая терапия, направленная на дезинтеграцию взаимоотношений между опухолевыми клетками и локальным микроокружением. Например, гиперэкспрессия гена-рецептора эпидермального фактора роста типична для 40 % МГБ. Для воздействия на эту мишень предложены гефитиниб (иресса), эрлотиниб (тарцева) и лапатиниб (тайверб). Фактор роста тромбоцитов также является одним из важнейших лигандов в биологии МГБ. Для подавления его сигнализации предложены тандутиниб (MLN518) и сунитиниб (сутент). Направленно угнетая тирозинкиназную активность, эти препараты блокируют процессы пролиферации, миграции и активации антиапоптотических механизмов в опухолевых клетках (в том числе в ОСК), частично снижая степень их адгезии к внеклеточному матриксу [21–23].

Гипоксия – ключевой параметр МГБ. Это открывает определенные клинические перспективы для таких препаратов, как ингибиторы сигнального пути PI3K/AKT/MTOR – темсиролимус (торизел) и эверолимус (афинитор). Эти препараты могут снижать уровни гипоксия-индуцибельного фактора и сосудистого эндотелиального фактора роста в опухоли или ее микроокружении, что приводит к торможению ангиогенеза и снижению способности ОСК адаптироваться в гипоксических микроокружениях.

Принципиально перспективным подходом может стать использование иммунотерапии, что имеет четкую логику. В организме здорового человека имеется до 500 тысяч (10^5) опухолевых клеток, у пациента с предраком их около миллиарда (10^9), у больного со злокачественной опухолью больше миллиарда. В норме эти клетки находятся под контролем естественных регуляторных систем организма. Хирургическое лечение уменьшает объем опухолевой клеточной массы до уровня 10^9 , а применение лучевой терапии, радиохимирургии и химиотерапии позволяет обеспечить уменьшение опухолевой массы с уровня 10^9 до уровня 10^7 клеток.

Саногенетические возможности иммунной системы работают только при наличии в организме не более 10^5 опухолевых клеток. Разрыв между саногенетическими возможностями иммунной системы человека и терапевтическими возможностями классических методов противоопухолевой терапии составляет около двух порядков (от 10^5 до 10^7 клеток). Именно на иммунную терапию многие возлагают надежды на уничтожение этих 10^2 опухолевых клеток, что в ряде случаев действительно позволяет продлить жизнь нейроонкологических пациентов. Однако применение цитокиновой терапии, иммунной терапии и других современных методов без акцента воздействия на ОСК по эффективности сопоставимо с «ударом раскрытой ладонью».

Если рассматривать феномен «стволовости» как способ выживания опухолевой клетки, то необходимо предположить, что сопротивляясь лечению, опухоль будет увеличить число ОСК. Облучение индуцирует селекцию клеточных клонов наиболее резистентных к гипоксии. Низкое парциальное напряжение кислорода препятствует образованию свободных радикалов, что нивелирует эффект радиотерапии. При парциальном напряжении кислорода между 0,01 и 5% в опухолевых клетках происходит арест клеточного цикла между фазой $G_0/G_1/G_s$, консервируя инвазивный потенциал, что делает ее резистентной к цитостатической химиотерапии. В свою очередь, предельно высокое число ОСК позволяет быстро запускать процессы инвазивного роста при нормализации внешних условий [15, 20].

Очевидно, стратегия радикального уничтожения опухолевых клеток нуждается в дополнении методиками регуляции системообразующих свойств ОСК. Точкой приложения этих технологий могут быть механизмы взаимодействия между ОСК и клеточным матриксом. Результаты сравнительного протеомного картирования НСК и ОСК глиобластомы линии U87 позволили сделать вывод о том, что пути интегринов и фокальной адгезии в ОСК глиобластомы не пострадали в ходе неопластической трансформации и могут быть пригодны для регуляторных воздействий для дезинтеграции в системе «ОСК–внеклеточный матрикс».

Сигнальный путь интегринов/фокальной адгезии начинается с передачи сигнала в клетку ростовыми

факторами и белками внеклеточного матрикса (ламинидами, коллагенами, фибронектином, хондроадгерином, олигомерным матриксным протеином, интегрин-связывающим сиалопротеином, тенасцинами, реелином, секретируемым фосфопротеином-1, тромбоспидином, витронектином и фактором Виллебранда). На внешней стороне плазматической мембраны передача сигнала происходит за счет интегринов, кавеолинов и тирозин-киназных рецепторов. Это набор белковых целей и мишеней на мембране клетки, позволяющих таргетно и эффективно воздействовать на сигнальные пути [8, 16].

В настоящий момент проходит клинические испытания российская технология направленной регуляции процессов взаимодействия между ОСК глиобластомы человека и межклеточным матриксом путем применения транскриптом-модифицированных стволовых клеток, продуцирующих лиганды для воздействия на эту мишень [7]. Препарат может быть введен в системный кровоток или инкорпорирован в биополимерный коллагеновый матрикс, имплантируемый в полость удаленной опухоли. В последнем случае появляется возможность активно использовать эффект молекулярного следа и по кратчайшему расстоянию находить клетки опухоли, мигрировавшие в паренхиму мозга. Кроме того, биополимерный матрикс принципиально изменяет течение регенерации, формируя среду, наименее благоприятствующую репликации ОСК.

Успехи клеточных и постгеномных технологий позволяют уже сегодня подойти к клиническому применению биомедицинских препаратов для воздействия на ОСК глиобластомы. На вопрос о месте этих технологий в структуре комплексного лечения МГБ нет и теоретически не может быть однозначного ответа. Большое количество ОСК до начала лечения – крайне неблагоприятный признак, требующий применения методов дезинтеграции в системах «ОСК–внеклеточный матрикс» и «ОСК–локальное микроокружение» в качестве первой линии терапии, что особенно актуально для неоперабельных опухолей. Очевидно, одним из таких методов может стать комплексное применение протеом-основанных биомедицинских клеточных препаратов в сочетании с цитокиновой терапией.

Хирургическая операция – обязательный этап лечения МГБ. Удаленную ткань следует подвергать иммуноцитохимическому и морфологическому анализу, картированию специфических для данного больного генетических нарушений и эпигенетических сбоев. Эффективность химиотерапии может быть существенно выше при назначении препаратов с учетом персональных особенностей опухоли у конкретного человека.

Выделение ОСК – стратегический этап лечения. Сравнительное протеомное картирование, профилирование ОСК и соматических стволовых клеток рекомендовано всем больным при подборе протеом-

персонализированной клеточной терапии. Это позволяет идентифицировать в ОСК акцепторные белки клеточной поверхности, связанные с внутриклеточными путями сигнальной трансдукции, не пострадавшими в ходе неопластической трансформации и пригодными для управления специфическими функциями ОСК.

Заключение

Теория опухолевых стволовых клеток – одно из последних достижений онкологии. Будучи точкой пересечения всех современных взглядов на канцерогенез, эта теория раскрывает процессы динамической изменчивости и адаптации опухолевой ткани при конвенционных схемах противоопухолевой терапии. Она прекрасно объясняет причины лекарственной и радиационной резистентности мультиформной глиобластомы, причины рецидивов и общую низкую эффективность ее современной терапии. Поэтому недоучет в современной системе лечения мультиформной глиобластомы роли и значения таргетной, динамической регуляции ключевых функций опухолевых клеток и опухолевых стволовых клеток, есть большое упущение. Комплексная терапия мультиформной глиобластомы должна обязательно дополняться применением биомедицинских протеом-основанных клеточных препаратов, ориентированных на управление ключевыми функциями опухолевых стволовых клеток. Эти методы должны использоваться в неразрывной связи с применением современных таргетных фармацевтических средств, что позволит управлять функциями опухолевых стволовых клеток и улучшить показатели выживаемости нейроонкологических больных.

References

1. Bryukhovetskiy I.S., Bryukhovetskiy A.S., Mischenko P.V. [et al.] Migration of human hematopoietic stem cells to glioblastoma cells of a line U87 in vitro // *Russian Biotherapeutic Journal*. 2014. Vol. 13, No. 4. P. 31–36
2. Bryukhovetskiy I.S., Bryukhovetskiy A.S., Khotimchenko Yu.S. New molecular and biological approaches to the treatment of the multiforme glioblastoma // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2014. Vol. 158, No. 12. P. 762–768.
3. Bryukhovetskiy I.S. The effectiveness of the drug of the stem cell in vivo experiment after chemotherapy in the glioblastoma model in rats // *Russian Biotherapeutic Journal* 2014. Vol. 13, No. 4. P. 51–57.
4. Bryukhovetskiy I.S., Bryukhovetskiy A.S., Kumeyko V.V. [et al.] Stem cells in carcinogenesis of the multiforme glioblastoma // *Cellular Transplantation and Tissue Engineering*. 2013. Vol. 8, No. 2. P. 13–19.
5. Bryukhovetskiy I.S., Bryukhovetskiy A.S., Mischenko P.V. [et al.] The role of systemic migration and homing mechanisms of stem cells in the development of malignant tumors of the central nervous system and the development of new anti-tumor therapies // *Russian Biotherapeutic Journal*. 2013. Vol. 12, No. 4. P.3–12.
6. Bryukhovetskiy I.S., Mischenko P.V., Tolok E.V. [et al.] Interaction of hematopoietic stem cells and tumor cells in vitro // *Pacific Medical Journal*. 2014. Vol. 58, No. 4. P. 31–37.
7. Bryukhovetskiy A.S., Bryukhovetskiy I.S., Shevchenko V.E. [et al.] Antitumor individual proteome-based targeted cell drug, preparation method and the use of this drug for treatment of cancer and other malignancies // Patent RF No. 2335972.
8. Kovalenko I.B. Mathematical modeling of the impact of perturbagens (chemical compounds) on neuronal progenitor stem cells (NSC) for the purpose of remodeling their proteomes to affect cancer stem cell of human glioblastoma U87 line. Scientific and Technical Report 09/12. M., 2012. URL: <http://www.neurovita.ru/Otchet0912.html> (date of access: 2015.04.17).
9. The standards, guidelines and options in the treatment of brain tumors in adults recommended by the Association of Neurosurgeons of Russia. M., 2005. 15 p.
10. Aboody K.S., Brown A., Rainov N.G. [et al.] Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000. Vol. 97, No. 23. P. 12846–12851.
11. Ajaz M., Jefferies S., Brazil L. [et al.] Current and investigational drug strategies for glioblastoma // *J. Neurol.* 2014. Vol. 261, No. 5. P. 894–904.
12. Altman J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals // *Science*. 1962. Vol. 135, No. 3509. P. 1127–1128.
13. Ammirati M., Chotai S., Newton H. [et al.] Hypofractionated intensity modulated radiotherapy with temozolomide in newly diagnosed glioblastoma multiforme // *J. Clin. Neurosci.* 2014. Vol. 21, No. 4. P. 633–637.
14. Barani I.J., Larson D.A. Radiation therapy of glioblastoma // *Cancer Treat. Res.* 2015. No. 163. P. 49–73.
15. Bexell D., Svensson A., Bengzon J. Stem cell-based therapy for malignant glioma // *Cancer Treat. Rev.* 2013. Vol. 39, No. 4. P. 358–365.
16. Bryukhovetskiy A., Shevchenko V., Kovalev S. [et al.] To the novel paradigm of proteome-based cell therapy of tumors: through comparative proteome mapping of tumor stem cells and tissue-specific stem cells of humans // *Cell. Transplant.* 2014. Vol. 23, Suppl. 1. P. 151–170.
17. Bryukhovetskiy I.S., Mischenko P.V., Tolok E.V. [et al.] Directional migration of adult hematopoietic progenitors to C6 glioma in vitro // *Oncology Letters*. 2015. Vol. 9, No. 4. P. 1839–1844.
18. Dolecek T.A., Propp J.M., Stroup N.E. [et al.] CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in United States in 2005–2009 // *Neuro Oncol.* 2013. Vol. 15, No. 5. P. 646–647.
19. Duesberg P., Mandrioli D., McCormack A. [et al.] Is carcinogenesis a form of speciation? // *Cell. Cycle*. 2011. Vol. 10, No. 13. P. 2100–2114.
20. Friedmann-Morvinski D. Glioblastoma heterogeneity and cancer cell plasticity // *Crit. Rev. Oncog.* 2014. Vol. 19, No. 5. P. 327–336.
21. Labussiere M., Boisselier B., Mokhtari K. [et al.] Combined analysis of TERT, EGFR, and IDH status defines distinct prognostic glioblastoma classes // *Neurology*. 2014. Vol. 83, No. 13. P. 1200–1206.
22. Lee J.K., Joo K.M., Lee J. [et al.] Targeting the epithelial to mesenchymal transition in glioblastoma: the emerging role of MET signaling // *Onco. Targets Ther.* 2014. No. 7. P. 1933–1944.
23. Levy S., Chapet S., Mazon J.J. Management of gliomas // *Cancer Radiotherapy*. 2014. Vol. 18, No. 5–6. P. 461–467.
24. Louis D.N., Perry A., Burger P. [et al.] International Society Of Neuropathology-Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading // *Brain Pathol.* 2014. Vol. 24, No. 5. P. 429–435.
25. Moore X.L., Lu J., Sun L. [et al.] Endothelial progenitor cells «homing» specificity to brain tumors // *Gene therapy*. 2004. Vol. 11, No. 10. P. 811–818.
26. Omuro A., DeAngelis L.M. Glioblastoma and others malignant gliomas: a clinical review // *JAMA*. 2013. Vol. 310, No. 17. P. 1842–1850.
27. Ostrom Q.T., Gittleman H., Stetson L. [et al.] Epidemiology of gliomas // *Cancer Treat. Res.* 2015. No. 163. P. 1–14.

28. Rispoli R., Conti C., Celli P. [et al.] Neural stem cells and glioblastoma // *Neuroradiol. J.* 2014. Vol. 27, No. 2. P. 169–174.
29. Ryken T.C., Kalkanis S.N., Buatti J.M. [et al.] The role of cytoreductive surgery in the management of progressive glioblastoma: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline // *J. Neurooncol.* 2014. Vol. 118, No. 3. P. 479–488.
30. Stupp R., Hegi M.E. Brain cancer in 2012: Molecular characterization leads the way // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 10, No. 2. P. 69–70.
31. Schichor C., Aibrecht V., Korte B. [et al.] Mesenchymal stem cells and glioma cells form a structural as well as a functional syncytium *in vitro* // *Exp. Neurol.* 2012. Vol. 234, No. 1. P. 208–219.
32. Shen G., Shen F., Shi Z. [et al.] Identification of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line and the limitation of current identification methods // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* 2008. Vol. 44, No. 7. P. 280–289.
33. Wurmser A.E., Gage F.H. Cell fusion causes confusion // *Nature.* 2002. Vol. 6880, No. 416. P. 485–487.

Поступила в редакцию 28.04.2015.

Клеточные и постгеномные технологии в терапии мультиформной глиобластомы

И.С. Брюховецкий

Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета (690950, г. Владивосток, ул. Суханова, 8)

Резюме. Мультиформная глиобластома (МГБ) – одна из самых агрессивных опухолей головного мозга. Большинство современных методов ее лечения неэффективны, медиана выживаемости 9–14 месяцев. Одну из ведущих причин терапевтической резистентности связывают с опухолевыми стволовыми клетками. В статье проведен анализ современных подходов к созданию биомедицинских препаратов для воздействия на опухолевые стволовые клетки МГБ на основе достижений современных клеточных и постгеномных технологий. Предложена идея комбинации методов таргетной терапии с технологиями регуляции ключевых функций опухолевых стволовых клеток клеточными системами с ремоделированным протеомом.

Ключевые слова: центральная нервная система, нейральные стволовые клетки, опухолевые стволовые клетки, таргетная терапия.

УДК 615.243/32.014.21

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОЯЗВЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА КОРЫ ОСИНЫ СУХОГО В РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

С.Г. Крылова¹, В.Ф. Турецкова², О.Г. Макарова², Л.А. Ефимова¹, Е.П. Зуева^{1,3}, О.Ю. Рыбалкина^{1,3}

¹ НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (634028, г. Томск, пр-т Ленина, 3),

² Алтайский государственный медицинский университет (656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 40),

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет (634050, г. Томск, пр-т Ленина, 36)

Ключевые слова: таблетки «Экорсин», капсулы «Экорсин форте», нейрогенный язвенный гастроэнтерит, индометациновый язвенный гастроэнтерит.

COMPARATIVE STUDY OF ANTIULCER ACTIVITY OF DRY ASPEN BARK EXTRACTS IN DIFFERENT DOSAGE FORMS

S.G. Krylova¹, V.F. Turetskova², O.G. Makarova², L.A. Efimova¹, E.P. Zueva^{1,3}, O.Y. Rybalkina^{1,3}

¹ *Rech Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg (3 Lenina Ave. Tomsk 634028 Russian Federation),*

² *Altai State Medical University (40 Lenina Ave. Barnaul 656038 Russian Federation)*

Background. One of the essential medical tasks is an efficient choice of dosage forms according to main points of biopharmaceutical concepts. An advantageous object for such development is a dry aspen bark extract (“Ekorsin”), created by joint collaboration of Pharmaceutical technology department, ASMU, RIPRM named E.D. Goldberg and CJSC “Altaivitaminy”. Its pill dosage form showed high antiulcer activity at preclinical stage which was confirmed at clinical stage.

Methods. For a comparative study of the pharmacological activity of the tablets “Ekorsin” and newly developed dosage form - capsules “Ekorsin forte” - conventional models of neurogenic and indometacin ulcerogenesis were used in two animal species.

Results. In the context of the model of neurogenic ulcer formation in mice revealed preferential antiulcer efficacy of capsule with a mixture of dry aspen bark extract. In the context of indometacin defect of gastric mucosa in mice revealed prominent antiulcer efficacy of a capsule mixture which were more active than pills.

Conclusions. Benchmark assessment of antiulcer activity in two models of experimental ulcerogenesis in mice and rats suggests surpassing activity of the capsules “Ekorsin forte” to pills “Ekorsin”. Activity varied depending on genesis of ulcerous destruction.

Keywords: pills “Ekorsin”, capsules “Ekorsin forte”, neurogenic ulcerogenesis, indometacin ulcer-ogenesis.

Pacific Medical Journal, 2015, No. 2, p. 18–21.

Несмотря на значительные успехи в области создания синтетических противоязвенных средств растения продолжают оставаться одним из перспективных источников получения новых биологически активных соединений [4]. Среди растительных сырьевых ресурсов биологически активных веществ противоязвенного действия следует выделить кору осины обыкновенной (*Populus tremula* L.), семейство ивовых (Salicaceae), которая содержит в значительных количествах различные фенольные соединения (фенологликозиды, фенолокислоты, флавоноиды) [7]. Перспективным противоязвенным средством является экстракт коры осины сухой, разработанный в совместных исследованиях кафедры фармацевтической технологии АГМУ (Барнаул), НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга (г. Томск) и ЗАО «Алтайвитамины» (Бийск). Клинические исследования по определению эффективности и переносимости таблеток «Экорсин» в комплексной терапии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки на базе двух гастроэнтерологических клиник показали, что они обладают хорошей переносимостью и практически отсутствием побочных эффектов [2, 7–9]. Использование нового лекарственного средства на основе экстракта

Крылова Светлана Геннадьевна – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории онкофармакологии НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга: тел.: +7 (3822) 41-77- 47; e-mail: krylova5935@gmail.com