

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 язвенно-индометациновый язвенногенез.

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 pilled 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

коры осины сухого позволяет повысить эффективность лечения, что подтверждается сокращением срока исчезновения основных клинических проявлений заболевания и времени рубцевания язвенного дефекта [2, 7].

Вместе с тем предложенная ранее классическая таблетированная лекарственная форма не позволяет в полной мере реализовать весь потенциал гастропротективного действия указанного экстракта. Доза активного вещества в таблетках «Экорсин» требует трехкратного применения препарата в сутки, что создает определенные неудобства при лечении такого хронического заболевания, как язвенная болезнь. Вышесказанное явилось причиной разработки капсул «Экорсин форте» с повышенным содержанием экстракта коры осины сухого, позволяющих получить более стабильный фармацевтический продукт и сократить кратность приема с одновременным корригированием органолептических свойств препарата [7]. В связи с тем, что капсулы «Экорсин форте» отличаются от таблеток «Экорсин» не только технологией получения, но и составом вспомогательных веществ, которые могут влиять на противоязвенную активность, представлялась целесообразной сравнительная фармакологическая оценка эффективности равных доз экстракта в исследуемых лекарственных формах.

Целью исследования стал сравнительный анализ противоязвенной активности таблеток «Экорсин» и капсул «Экорсин форте» на общепринятых моделях нейрогенного и индометацинового ulcerogenezа.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 52 половозрелых аутбредных мышцах-самцах CD₁ и 39 аутбредных крысах-самцах CD, конвенциональных первой категории, полученных из питомника НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (сертификат здоровья лабораторных животных Научного центра биомедицинских технологий № 24-03, ветеринарное удостоверение с. 270 № 0007293 от 28.11.2013 г.). Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга и соответствовали правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986), приказу МЗ РФ № 708 Н от 28.08.2010 г., «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2013) [5, 12].

В состав капсул «Экорсин форте» (капсулированная смесь) входили экстракт коры осины сухой 0,35 г и вспомогательное вещество лудипресс 0,13 г (0-BASF, Германия). Основные показатели качества капсул: средняя масса – 0,559 г; содержание фенологликозидов – 0,1079±0,0035 г, салицина – 0,0235±0,0010 г, фенолокислот – 0,0285±0,0008 г; по микробиологической чистоте соответствовали категории ЗБ (решение о выдаче патента по заявке № 2013100616/15(000796). В состав таблеток «Экорсин» (таблетированная смесь)

входили экстракт коры осины сухой 0,25 г и вспомогательные вещества: лактоза (ТУ 6-09-2293-79) – 0,048 г и тальк (ГОСТ 21234-75) – 0,002 г. Основные показатели качества таблеток: средняя масса – 0,296 г; содержание фенологликозидов – 0,0771±0,0025 г, салицина – 0,0168±0,0007 г, фенолокислот – 0,0204±0,0006 г; по микробиологической чистоте соответствовали категории ЗБ (патент Российской Федерации № 2124899 от 20.01.1999 г.).

Противоязвенную активность таблеток и капсул изучали на моделях нейрогенного и индометацинового ulcerogenezа. Стрессорное (нейрогенное) повреждение заключалось в частичной иммобилизации мышей корнцангами за кожную шейную складку на 24 часа, что приводило к формированию различных язвенных поражений слизистой оболочки желудка. Модель индометацинового повреждения воспроизводили на крысах путем однократного внутрижелудочного введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл физиологического раствора, по окончании курсового назначения исследуемых субстанций. Оценку эффективности лечебных воздействий делали через 6 часов после введения индометацина. Во всех экспериментах последнее применение лекарственных форм происходило за 1 час до язвообразующего воздействия.

До индукции ulcerogenezа капсулированную и таблетированную смеси применяли курсом (в течение 4 дней) внутрижелудочно через зонд однократно ежедневно в дозах 100 и 200 мг/кг в объеме растворителя 0,4 мл/мышь; 50 и 100 мг/кг в объеме растворителя 0,5 мл/крысу. Животные контрольных групп получали эквивалентные количества растворителя – дистиллированной воды в аналогичном режиме.

Животных выводили из эксперимента: мышей – кранио-цервикальной дислокацией, крыс – ингаляцией CO₂. При некропии желудка извлекали, вскрывали по малой кривизне, промывали холодным физиологическим раствором и макроскопически с помощью лупы при ярком освещении определяли число и площадь деструкций, которые дифференцировали на точечные, полосовидные и крупные. Подсчитывали среднее количество изъязвлений в группе, процент животных с язвами. Индекс Паулса (ИП) определяли как интегральный показатель количества деструкций по формуле:

$$\text{ИП} = (\text{Среднее кол-во язв} \times \% \text{ животных с язвами}) : 100 \%$$

Противоязвенную активность (ПА) препаратов определяли как «ИП в контроле : ИП в опыте». Исследуемое средство считали активным, если ПА составляла 2 и более. Степень повреждения (СП) слизистой оболочки желудка и тяжесть повреждения (ТП) характеризовали на основании расчетов суммарной площади всех повреждений слизистой оболочки желудка (в мм²) у каждого животного и процентному уменьшению ТП у опытных животных по отношению к этому показателю в контроле [2].

Таблица 1

Влияние экстракта коры осины на развитие нейрогенного язвообразования в желудке у мышей

| Группа | n | Число животных с язвами, % | Кол-во язв на одну мышь (M±m) | | | | ИП | ПА |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------|-----|
| | | | полосовидных | крупных | точечных | среднее число | | |
| 1. Контроль | 11 | 91 | 0,45±0,16 | 0,91±0,25 | 2,82±0,67 | 4,18±0,88 | 3,80 | – |
| 2. Табл., 100 мг/кг | 10 | 70 | 0,40±0,22 | 0,50±0,22 | 1,00±0,45 ¹ | 1,90±0,75 ¹ | 1,33 | 2,9 |
| 3. Табл., 200 мг/кг | 10 | 80 | 0,40±0,22 | 0,60±0,31 | 1,30±0,50 | 2,30±0,76 | 1,84 | 2,1 |
| 4. Капс., 100 мг/кг | 10 | 50 ¹ | 0 | 0,10±0,10 ¹ | 1,10±0,38 | 1,20±0,42 ¹ | 0,60 | 6,3 |
| 5. Капс., 200 мг/кг | 11 | 45 ^{1,2} | 0,27±0,20 | 0,18±0,12 | 0,55±0,03 ¹ | 1,00±0,47 ¹ | 0,45 | 8,4 |

¹Разница с контролем статистически значима.²Разница с 3-й группой статистически значима.

Таблица 2

Влияние экстракта коры осины на развитие индометацинового язвообразования в желудке у крыс

| Группа | n | Число животных с язвами, % | Кол-во язв на одну крысу (M±m) | | | |
|---------------------|----|----------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | | полосовидных | крупных | точечных | среднее число |
| 1. Контроль | 10 | 100 | 8,50±0,75 | 4,30±0,34 | 18,50±2,86 | 31,30±3,10 |
| 2. Табл., 100 мг/кг | 10 | 100 | 8,10±1,10 | 2,50±0,50 ¹ | 12,40±2,43 ¹ | 23,00±2,77 ¹ |
| 3. Капс., 50 мг/кг | 10 | 100 | 7,40±1,26 | 2,00±0,33 ¹ | 9,80±1,67 ¹ | 19,20±2,63 ¹ |
| 4. Капс., 100 мг/кг | 9 | 100 | 6,00±0,73 ¹ | 2,33±0,33 ¹ | 14,11±2,29 | 22,44±3,13 ¹ |

¹Разница с контролем статистически значима.

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с использованием непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни и точного метода Фишера [3].

Результаты исследования. Профилактическое курсовое внутрижелудочное введение капсулированной смеси в дозах 100 и 200 мг/кг приводило к существенному повышению резистентности слизистой оболочки желудка мышей к повреждающему действию нейрогенного стресса. Гастрозащитное действие изучаемой субстанции выразилось в статистически значимом снижении числа животных с язвами (50 и 45 %, соответственно, против 91 % контроля) в обеих исследуемых группах. Необходимо отметить статистически достоверное уменьшение среднего количества язв при введении капсулированного вещества в дозе 100 мг/кг (в 3,5 раза) и 200 мг/кг (в 4,2 раза) за счет снижения числа точечных деструкций в 5,1 раза (200 мг/кг), количества крупных поражений – в 9,1 раза (100 мг/кг) относительно аналогичных значений у нелеченых животных. В пользу эффективности новой смеси свидетельствовало уменьшение числа полосовидных язв при введении дозы 100 мг/кг. Выявленный антиульцерогенный эффект капсулированной субстанции носил дозозависимый характер: увеличение дозы от 100 до 200 мг/кг приводило к повышению активности от 6,3 до 8,4 балла (табл. 1).

Противоязвенная активность таблетированной смеси оказалась аналогичной результатам ранее проведенных экспериментов [2]. Среднее количество язв и число всех видов деструкций на одну мышь значительно не отличались от соответствующих показателей у животных, получавших капсулированную смесь. Более выраженный антиульцерогенный эффект капсулированной формы обусловлен, главным образом, значи-

тельным уменьшением количества животных с язвами, тогда как в случае применения таблетированной смеси в обеих дозах этот показатель не отличался от такового в контроле. Особо следует отметить статистически достоверное различие капсулированной и таблетированной смесей, вводимых в дозе 200 мг/кг, по частоте встречаемости язвенных поражений (табл. 1).

Капсулированная смесь экстракта коры осины, вводимая профилактическим курсом в дозах 50 и 100 мг/кг, ограничивала образование всех видов язвенных деструкций после воздействия индометацина у крыс. Так, использование субстанции приводило к статистически достоверному снижению после дозы 50 мг/кг числа точечных (в 1,9 раза) и крупных (в 2,2 раза) поражений, а после дозы 100 мг/кг: крупных – в 1,8 раза и полосовидных – в 1,4 раза относительно нелеченых животных. В результате этого среднее количество деструкций при дозе 50 мг/кг уменьшилось в 1,6 раза, а при дозе 100 мг/кг – в 1,4 раза (табл. 2). При введении капсулированной смеси отмечалось значимое снижение площади язвенных поражений (табл.3).

Выявленные позитивные изменения нашли отражение в уменьшении степени поражения при дозе 50 мг/кг в 1,5 раза и при дозе 100 мг/кг – 1,6 раза, снижении тяжести поражения до 64,8 и 60,7 %, соответственно (против 100 % контрольной группы).

При анализе эффективности таблетированной смеси в дозе 100 мг/кг отмечено, что ее курсовое применение приводило к значительному снижению количества крупных дефектов (в 1,7 раза), точечных деструкций (в 1,5 раза) и среднего числа язв (в 1,4 раза) относительно контроля (табл. 2). Кроме того, антиульцерогенный эффект проявлялся в достоверном уменьшении таких показателей язвенного процесса, как площадь крупных дефектов (1,5 раза) и точечных язв (в 1,5 раза).

Таблица 3

Влияние таблетированной и капсулированной форм экстракта коры осины на индометациновое язвообразование в желудке у крыс ($M \pm m$)

| Группа | n | Площадь язв, кв. мм | | | СП, кв. мм | ТП, % |
|---------------------|----|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------|
| | | крупных | полосовидных | точечных | | |
| 1. Контроль | 10 | 14,20±1,47 | 23,76±3,26 | 14,47±2,24 | 52,43±4,51 | 100,0 |
| 2. Табл., 100 мг/кг | 10 | 9,30±2,10 ¹ | 23,15±4,30 | 9,75±1,91 ¹ | 42,19±4,70 | 80,5 |
| 3. Капс., 50 мг/кг | 10 | 7,42±1,58 ¹ | 18,84±3,40 | 7,69±1,31 ¹ | 33,95±4,50 ¹ | 64,8 |
| 4. Капс., 100 мг/кг | 9 | 7,46±1,20 ¹ | 13,31±3,51 ¹ | 11,08±1,80 | 31,84±5,13 ¹ | 60,7 |

¹ Разница с контролем статистически значима.

В результате тяжесть поражения здесь составила 80,5% против 100% контрольной группы (табл. 3).

Обсуждение полученных данных. Сравнительное исследование противоязвенной эффективности экстракта коры осины сухого в двух лекарственных формах на двух моделях экспериментального язвеногенеза позволило выявить преимущественную противоязвенную активность капсулированной смеси.

В настоящее время считается общепризнанным, что эффективность лекарственных средств зависит не только от их химической структуры и дозы, но и от всего комплекса фармацевтических факторов, используемых при изготовлении лекарственного препарата [1, 6, 10, 11]. Так, в представленном исследовании оптимальный выбор комбинаций фармацевтических факторов (вида лекарственной формы и вспомогательного вещества из группы дезинтегрантов в определенном соотношении для экстракта коры осины сухого) позволил повысить эффективность противоязвенного действия данного фитокомплекса, что подтверждено в экспериментах на разных моделях язвенообразования. Кроме того, применение лудипресса и использование капсулированной лекарственной формы позволяет устранить горький вкус экстракта и повысить удобство его применения в клинической ситуации.

В основе противоязвенного действия экстракта коры осины сухого лежит подавление избыточной секреторной способности желудка, нормализация моторно-эвакуаторной функции верхних отделов желудочно-кишечного тракта, противовоспалительное действие и умеренная анальгезирующая активность [2, 7–9]. Активация антистрессорных механизмов, повышение адаптационных резервов организма, отсутствие токсичности и осложнений, связанных с использованием экстракта, ставят его в ряд препаратов, которые могут широко использоваться в терапии дисадаптозов и, в частности, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, а также других кислотозависимых заболеваний.

References

- Demina N.B. Biopharmacy is a way for the creation of innovative medicines // Development and registration of medicinal products. 2013. No.1 (2). P. 8–14.
- Zueva E.P., Reykhart D.V., Krylova S.G. [et al.] Medicinal plants in the treatment of gastric ulcer and duodenal ulcer. Tomsk: Tomsk

- University Press, 2003. 212 p.
- Lakin G.F. Biometry. M.: Higher School, 1990. 352 p.
- Mashkovskiy M.D. Medicinal Products. M.: New Wave, 2002. Vol.1. 540 p.; Vol. 2. 608 p.
- Guidelines for preclinical studies of medicines / edited by A.N. Mironov [et al.] Part I. M.: Grif and Co, 2013. 944 p.
- Tentsova A.I., Azhgikhin I.S. The dosage form and therapeutic efficacy of medicines. M: Medicine, 1974. 335 p.
- Turetskova V.E., Makarova O.G., Krylova S.G. Gastroretentive tablets and capsules with aspen dry bark extract. Palmarium Academic Publishing House (Germany), 2014. 128 p.
- Krylova S.G., Zueva E.P., Razina T.G. [et al.] The dry extract of the aspen bark in the experimental therapy of gastric ulcer // Experimental and Clinical Pharmacology, 2000. Vol. 63, No.2. P. 44–47.
- Krylova S.G., Zueva E.P., Razina T.G. [et al.] Influence of dry extract of the aspen bark on the secretory function of the stomach // Experimental and Clinical Pharmacology, 2000. Vol. 63, No. 5. P. 31–33.
- Khoyman D., Gromova L.I., Sela Y. Gastroretentive dosage forms with controlled release // Pharmaceutical Chemistry Journal, 2004. Vol. 38, No. 11. P. 94–97.
- Deshpande A.A. Controlled-released drug delivery system for prolonged gastric residence // Pharmaceutical Research. 1997. No. 14 (6). P. 815–822.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe, 1986. 51 p.

Поступила в редакцию 04.12.2014.

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)

Резюме. Представлены результаты сравнительного изучения фармакологической активности таблеток «Экорсин» и вновь разработанной лекарственной формы – капсул «Экорсин форте» на двух общепринятых моделях экспериментального язвеногенеза. В условиях модели нейрогенного язвенообразования у мышей выявлена преимущественная антиульцерогенная эффективность капсулированной смеси экстракта. На модели индометацинового повреждения слизистой оболочки желудка у крыс более выраженный антиульцерогенный эффект также показан при использовании капсулированной смеси.

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