

*Н.М. Серединська, М.І. Борщевська,  
М.А. Мохорт, Л.М. Киричок*  
**КОРВАЛОЛ: ЕФЕКТИВНІСТЬ  
І БЕЗПЕЧНІСТЬ ПІДТВЕРДЖУЮТЬСЯ –  
ЗНАЧИТЬ ЖИТТЯ ПРЕПАРАТУ  
ПРОДОВЖУЄТЬСЯ  
ПОВІДОМЛЕННЯ І: ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ  
СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ  
ФОРМ І ДОЦІЛЬНІСТЬ ЇХНЬОГО  
ВИКОРИСТАННЯ (РЕЗУЛЬТАТИ  
ДОКЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ)**

Широка популярність препарату Корвалол, його ефективність і безпечність обумовлюють доцільність створення нових, більш зручних у застосуванні, з покращеним фармакокінетичним профілем лікарських форм. Наведено результати доклінічного дослідження препарату Корвалол в лікарській формі таблетки для сублінгвального та/або перорального застосування. Доведено, що препарат має низьку токсичність, йому не притаманний місцево-подразнюючий та алергізуючий вплив. Препарату властива висока специфічна фармакологічна активність – виразний седативний ефект.

Ключові слова: корвалол у формі таблетки, гостра токсичність, місцево-подразнююча дія, алергізуючі властивості, седативний ефект.

*N.N. Seredynskaya, M.I. Borshchevskaya,  
N.A. Mokhort, L.M. Kirychok*  
**CORVALOL: EFFICACY AND SAFETY  
ARE CONFIRMED, THEREFORE  
THE DRUG WILL GO ON  
REPORT 1: PERSPECTIVE CREATION  
OF NEW DOSAGE FORMS AND EXPEDIENCY  
OF THEIR USE (PRECLINICAL STUDIES)**

Enormous popularity of the drug Corvalol, its efficacy and safety stipulate the expediency of creation the new drug forms with improved pharmacokinetic profile which are more convenient for use. The results of pre-clinical studies of the drug Corvalol in tablet dosage form for sublingual and / or for oral administration are given in this work. There was shown low toxicity, absence of locally irritating and allergenic effect as well as high specific pharmacological activity which are appropriate to a sedative drug.

Key words: Corvalol-tablet, acute toxicity, local irritant action, allergenic properties, sedative effect.

*Поступила 30.10.12*

УДК 615.28:576.31.4:616.831-006.482-006.483-053.2-089.166

*І.Г. Васильєва, Л.М. Вербова, Ю.О. Орлов, О.С. Галанта, Н.Г. Чопик, А.В. Шаверський,  
О.І. Цюбко, Н.П. Олексенко, А.Б. Дмитренко, Т.А. Макарова*  
*ДУ «Інститут нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова АМН України», м. Київ*

**ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ДІЇ ХІМІОПРЕПАРАТІВ ЗА ЗМІНОЮ ВМІСТУ  
НЕСТИН-ПОЗИТИВНИХ КЛІТИН ПРИ КОРОТКОСТРОКОВОМУ  
КУЛЬТИВУВАННІ ОПЕРАЦІЙНИХ ЗРАЗКІВ МЕДУЛОБЛАСТОМ  
І АНАПЛАСТИЧНИХ ЕПЕНДИМОМ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ДІТЕЙ**

Досліджено вплив препаратів ломустину, цисплатину та фторурацилу на вміст нестинпозитивних клітин медулобластом і анапластичних епендимом головного мозку дітей. Показано, що нестинпозитивні клітини медулобластом і анапластичних епендимом головного мозку дітей є чутливими до обраних препаратів, але відсоток зниження їх кількості та реакція на певний препарат є індивідуальними. Метод короткострокового культивування з додаванням хіміопрепарату в культуральне середовище може бути рекомендований для узгодження схеми хімотерапії. Алкілатори та похідні платини є ефективними препаратами, спрямованими проти стовбурових і прогеніторних клітин пухлини.

*Ключові слова: медулобластома, анапластична епендимома, ломустин, цисплатин, фторурацил.*

Сучасне уявлення про утворення і прогресію пухлин базується на гіпотезі існування невели-

кої популяції ракових стовбурових клітин. Відсоток цих клітин у пухлинах різного походжен-

ня коливається від 1% (хронічний мієлоїдний лейкоз) до 60% (меланома) [1]. За даними авторів [2], медулобластоми дітей містять 14–25%, а епендимомми до 8% клітин, здатних утворювати нейросфери в первинній культурі.

Ракові стовбурові й прогеніторні клітини нервової тканини можуть бути ідентифіковані за експресією нестину – одного з білків проміжних філаментів, що є загальноновизнаним маркером нейрогенезу й виявляється в нейроепітеліальних клітинах, клітинах радіальної глії та вентрикулярній зоні 6–24-тижневих ембріонів людини [3, 4]. Разом із поступовим диференціюванням відбувається зниження синтезу нестину та підвищення синтезу інших проміжних філаментів, серед яких гліальний фібрилярний кислий білок, віментин та ін. У постнатальний період нестинпозитивні клітини ідентифікуються лише в субвентрикулярній зоні бічних шлуночків, зубчастій звивині гіпокампа та зоні пошкодження нервової тканини при травмуванні [4].

Існує гіпотеза, що, окрім утворення та прогресії, молекулярно-біологічні особливості стовбурових і прогеніторних клітин обумовлюють різну чутливість пухлин до опромінення та медикаментозної терапії. Ефективність застосування хіміотерапії при лікуванні пухлин головного мозку як дорослих, так і дітей лишається дискусійною. Особливо актуальним є застосування медикаментозної терапії при неможливості радикального видалення пухлини та опромінення онкохворих дітей. Препарат має підбиратися індивідуально з урахуванням молекулярно-генетичних особливостей новоутворення та попередньою перевіркою чутливості до нього клітинної популяції пухлини.

Медулобластоми й епендимомми дітей складають відповідно 20–45 та 7–13% усіх пухлин нейроектодермального походження [5]. Вони є мало диференційованими та метастазуючими пухлинами, радикальне видалення яких можливе лише приблизно у 20% випадків [6]. Медикаментозна терапія, призначена з урахуванням молекулярно-біологічних особливостей клітин пухлини, має покращити як тривалість життя пацієнта, так і тривалість безрецидивного періоду.

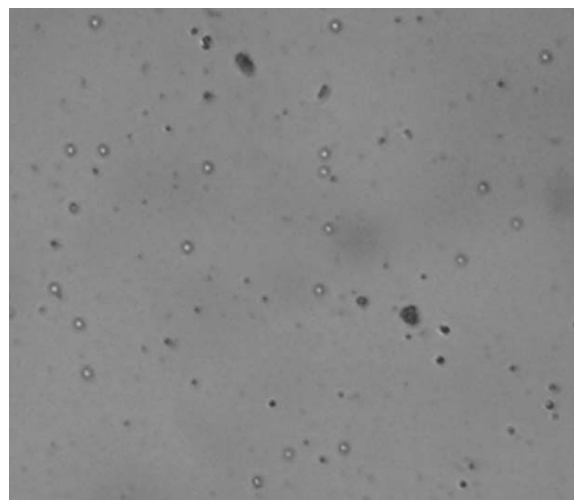
Алкілатори й антиметаболіти є найпоширенішими препаратами, які призначають при лікуванні пухлин головного мозку. Тому метою роботи стало дослідження впливу ломустину, цисплатину та фторурацилу на вміст нестинпозитивних клітин у медулобластомах і анапластичних епендимоммах головного мозку дітей.

**Матеріал і методи.** Досліджували тканину анапластичних епендимом (n=5) і медулобластом (n=9) дітей віком від 2 до 16 років, які були

оперовані вперше та не проходили курси хіміо- та радіотерапії. Суспензію клітин пухлини отримували з операційного матеріалу шляхом механічного піпетування на фізіологічному розчині. Життєздатність клітин гетерогенної популяції суспендованих клітин знаходилася в межах 50–80%. Концентрацію клітин для культивування доводили до 5 млн/мл. Культуру вели на безсироватковому середовищі DMEM протягом 4 діб при температурі 37 °C та 5% CO<sub>2</sub> [7]. В культуральне середовище дослідних зразків додавали хіміопрепарати: цисплатин (19 мкг/мл, ТЕВА, Ізраїль), фторурацил (107 мкг/мл, ЗАТ «Дарниця», Україна) та ломустин (16 мкг/мл, Medac, Німеччина). Кількість живих клітин підраховували за включенням трипанового синього в камері Горяєва по закінченні терміну культивування.

Для проведення імуноцитохімічних реакцій культуральні зразки фіксували 4%-вим параформальдегідом (Janssen Chemica, Бельгія) при 4 °C. Для виявлення нестину були використані первинні антитіла (Rabbit Anti-neslin Polyclonal antibody, Dako, Данія) у розведенні 1:200 та відповідні вторинні антитіла (Dako, Данія). Візуалізація зв'язування проводилася за допомогою системи Multivision Polymer Detection (Dako, Данія). Препарати поміщали у Faramount aqueous mounting medium (Dako, Данія) та проводили їх подальший аналіз за допомогою світлового мікроскопа. Обчислення відсоткового вмісту нестинпозитивних клітин проводили за результатами підрахунку їх кількості в 10 полях зору.

**Результати.** Отримані дані підтвердили наявність нестинпозитивних клітин у медулобластомах і анапластичних епендимоммах головного мозку дітей (рисунок).



Імуногістохімічне забарвлення на нестин. Клітини медулобластоми головного мозку дитини. 4-та доба культивування в суспензії у безсироватковому середовищі DMEM, x 400

Вміст цих клітин у медулобластомах після культивування становив 11,9–34,3%, а в анапластичних епендимомах 5,9–22,8% (таблиця), що корелює з даними [2] щодо стовбурових ракових клітин, але отриманий нами вищий відсоток нестинпозитивних клітин у групі епендимом пов'язаний із тим, що для дослідження була обрана менш диференційована анапластична форма цього типу пухлин. Крім того, в роботі була використана вся нестинпозитивна популяція, а не лише її клоноутворююча фракція.

до багатьох ліків [10].

Проте можна відмітити деякі загальні тенденції впливу хімотерапевтичних препаратів на клітини досліджених пухлин. У найбільшому ступені впливав на нестинпозитивні клітини пухлин головного мозку дітей ломусти́н. Це пов'язане з тим, що похідні нітрососечовини не є фазоспецифічними, а найбільший ефект відмічається у змінах фаз G0/G1 та G1/S [11].

За виключенням зразка № 11, зразки, що відповідали значним зниженням кількості

*Вплив ломусти́ну, цисплатину та фторурацилу на вміст нестинпозитивних клітин у медулобластомах і анапластичних епендимомах головного мозку дітей при короткостроковому культивуванні*

Номер зразка	Гістотип пухлини	Вік, років	Локалізація пухлини	Вміст нестинпозитивних клітин, %			
				контроль	лomuсти́н	цисплатин	5'-фторурацил
1	Медулобластома	2	Мозочок	30,3	16,2	-	-
2	«	13	«	25,6	11,8	-	-
3	«	16	«	34,3	32,6	27,7	10,2
4	«	4	«	28,2	14,5	13,7	15,8
5	«	2	Задня черепна ямка	24,0	20,3	5,1	6,0
6	«	5	«	13,3	7,0	6,9	10,8
7	«	3	«	27,3	16,8	21,2	-
8	«	8	«	14,4	3,7	13,8	12,5
9	«	5	IV шлуночок	11,9	2,9	8,3	7,9
10	Анапластична епендимома	13	«	5,9	-	2,1	-
11	«	11	«	17,1	1,8	13,3	1,8
12	«	9	Мозочок	22,8	4,5	8,2	17,4
13	«	4	«	9,6	6,5	5,6	8,8
14	«	15	Задня черепна ямка	21,0	13,2	10,8	-

**Обговорення.** Популяція нестинпозитивних клітин більшості досліджених зразків пухлин головного мозку дітей є чутливою до обраних хімотерапевтичних препаратів, але відсоток зниження їх кількості під дією різних препаратів був індивідуальним. Реакція на препарати не залежала від віку пацієнта і локалізації пухлини. Різна чутливість злоякісних клітин може бути обумовлена порушенням акумуляції та виведення медикаменту, мутацією мішені препарату та посиленням систем його інактивації. Особливою причиною резистентності є здатність клітини реалізувати програму клітинної смерті. Так, відомо, що ампліфікація гена тимідилатсинтази обумовлює резистентність пухлин до дії фторурацилу [8], а підвищений вміст тіолів приводить до інактивації цисплатину [9]. Наявність мутацій у гені p53 є найпоширенішим явищем у клітинах пухлин, що корелює зі стійкістю

ті нестинпозитивних клітин на дію ломусти́ну, демонстрували меншу чутливість до фторурацилу. Така тенденція особливо помітна для зразків № 3, 5, 8 та 12. Це може бути пов'язане з тим, що до фторурацилу найбільш чутливими є клітини у S-фазі клітинного циклу [12]. І, якщо врахувати, що прогениторні клітини мають більшу проліферативну активність, ніж власне стовбурові клітини пухлини [13] (нестинпозитивними є обидва типи клітин), можна зробити припущення, що в популяціях зразків № 3 та 5 переважають власне пухлинні стовбурові клітини, а в зразках № 8 та 12 – незрілі прогениторні клітини.

Очікувана кореляція між вмістом нестинпозитивних клітин і резистентністю до цисплатину, що описана в літературі для прогресуючого серозного раку яєчників [14], не спостерігалася у проведених нами дослідженнях. Поясненням

такої розбіжності може бути методологічний аспект, тому що автори визначали вміст нестин-позитивних клітин імуногістохімічним методом у операційних зразках без подальшого культивування. Крім того, проліферативна активність клітин медулобластом є нижчою, ніж клітин раку яєчників, і варіює між зразками [15, 16], що могло вплинути на отримані результати.

#### Висновки

1. Нестинпозитивні клітини медулобластом і анапластичних епендимом головного мозку дітей є чутливими до обраних препаратів, але відсоток зниження їх кількості та реакція на певний препарат є індивідуальними.

2. Метод короткострокового культивування з додаванням хіміопрепарату в культуральне середовище після проведення паралельного клінічного дослідження може бути використаний при виборі ефективної схеми лікування.

3. Алкілатор ломустин і похідне платини цисплатин є ефективними препаратами, спрямованими проти стовбурових і прогеніторних клітин пухлини.

#### Список літератури

- Сураева Н.М. Стволовые клетки и рак – современные представления / Н.М. Сураева // Русский журнал «СПИД, рак и общественное здоровье». – 2010. – Т. 14, № 2. – С. 33–36.
- Identification of cancer stem cells in human brain tumors / S.K. Singh, I.D. Clarke, M. Terasaki, V.E. Bonn // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 5821–5828.
- Expression of nestin-a stem cell associated intermediate filament in human CNS tumors. Indian / S.B. Rani, A. Mahadevan, S.R. Anilkumar [et al.] // *J. Med. Res.* – 2006. – Vol. 124. – P. 269–280.
- Гиляров А.В. Нестин в клетках центральной нервной системы / А.В. Гиляров // *Морфология.* – 2007. – № 1. – С. 85–90.
- Орлов Ю.А. Комбинированное лечение детей с опухолями головного мозга / Ю.А. Орлов // *Онкология.* – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 332–338.
- Орлов Ю.А. Эффективность лечения опухолей головного мозга у детей / Ю.А. Орлов // *Нейрохирургия и неврология детского возраста.* – 2002. – № 1. – С. 53–61.
- Культура животных клеток. Методы / под. ред. Р. Фрешни – М.: Мир, 1989. – 302 с.
- 5-fluorouracil: mechanisms of resistance and reversal strategies / N. Zhang, Y. Yin, S.J. Xu, W.S. Chen // *Molecules.* – 2008. – Vol. 13. – P. 1551–1569.
- Florea A.M. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects / A.M. Florea, D. Büsselberg // *Cancers.* – 2011. – Vol. 3. – P. 1351–1371.
- Mutation of p53 and consecutive selective drug resistance of prior Dna-damaging chemotherapy / J. Sturm, A.G. Bosanguet, S. Hermann [et al.] // *Cell Death Differ.* – 2003. – Vol. 10., № 4 – P. 477–484.
- Z. Dobrova. Comparative study of the effect of spin-labelled 1-ethyl-1-nitrosourea and CCNU on the specific antibody production / Z. Dobrova, V. Gadjeva, S. Stanilova // *Trakia J. Sciences.* – 2005. – Vol. 3, № 3. – P. 20–26.
- Федянин М.Ю. Капецитабин и флуороурацил в лечении колоректального рака и рака желудка: анализ прямых сравнительных исследований / М.Ю. Федянин, А.А. Трякин. // *Клин. онкология.* – 2012. – № 5(1). – С. 115–118.
- Murray K. Adult neural stem cells: fate and function / K. Murray, P.M. Lledo // *Pathologie Biologie.* – 2006. – Vol. 54. – P. 266–269.
- Expression of putative stem marker nestin and CD133 in advanced serous ovarian cancer / Q. Qin, Y. Sun, M. Fei [et al.] // *Neoplasma.* – 2012. – Vol. 59, № 3. – P. 310–315.
- Антонеева И.И. Маркеры апоптоза и пролиферации опухолевых клеток в динамике прогрессирования рака яичника / И.И. Антонеева, С.Б. Петров // *Онкология.* – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 234–237.
- Черненко О.Г. Особенности продолженного роста та метастазування медулобластом мозочка / О.Г. Черненко // *Укр. нейрохірург. журн.* – 2007. – № 2.– С. 29–36.

*И.Г. Васильева, Л.Н. Вербова, Ю.А. Орлов,  
Е.С. Галанта, Н.Г. Чопик, А.В. Шаверский,  
О.И. Цюбко, Н.П. Олексенко, А.Б. Дмитренко,  
Т.А. Макарова*

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ  
ХИМИОПРЕПАРАТОВ ПО ИЗМЕНЕНИЮ  
СОДЕРЖАНИЯ НЕСТИНПОЗИТИВНЫХ  
КЛЕТОК ПРИ КРАТКОСРОЧНОМ  
КУЛЬТИВИРОВАНИИ ОПЕРАЦИОННЫХ  
ОБРАЗЦОВ МЕДУЛЛОБЛАСТОМ  
И АНАПЛАСТИЧЕСКИХ ЭПЕНДИМОМ  
ГОЛОВНОГО МОЗГА ДЕТЕЙ**

Исследовано влияние препаратов ломустина, цисплатина и фторурацила на содержание нестинпозитивных клеток медуллобластом и анапластических эпендимом головного мозга детей. Показано, что нестинпозитивные клетки медуллобластом и анапластических эпендимом являются чувствительными к выбранным препаратам, но процент снижения их количества и реакция на определённый препарат являются индивидуальными. Метод краткосрочного культивирования с добавлением химиопрепарата в культуральную среду может быть рекомендован для согласования схемы химиотерапии. Алкилаторы и производные платины являются эффективными препаратами, направленными против стволовых и прогениторных клеток.

**Ключевые слова:** медуллобластома, анапластическая эпендимома, ломустин, цисплатин, фторурацил.

*I.G. Vasilyeva, L.M. Verbova, Y.O. Orlov,  
O.S. Galanta, N.G. Chopik, A.V. Shaversky,  
O.I. Tsyubko, N.P. Oleksenko, A.B. Dmitrenko,  
T.A. Makarova*

**ANALYSIS OF DRUG EFFECTIVENESS  
BY MONITORING OF NESTIN-POSITIVE  
CELLS AMOUNT DURING SHORT-  
TERM CULTIVATION OF PEDIATRIC  
MEDULLOBLASTOMAS AND  
EPENDYMOMAS**

It was investigated the influence of Lomustine, Cisplatin and Fluorouracil on nestin-positive cells amount medulloblastomas and anaplastic ependymomas of encephalon of children. We determined that nestin-positive cells of pediatric anaplastic ependymomas and medulloblastomas are sensitive to Lomustine, Cisplatin and Fluorouracil, but percent of nestin-positive cells decline was individual. Short-term cultivation of surgical specimens of pediatric medulloblastomas and ependymomas with anticancer drugs may be useful for cancer chemotherapy selection. Alkylating agents and platinum-based drugs are effective chemotherapeutic agents that kill cancer stem and progenitor cells.

**Key words:** anaplastic ependymoma, medulloblastoma Lomustine, Cisplatin, Fluorouracil.

*Поступила 20.09.12*

УДК 616.329-091.8:616.329-072.1

**В.В. Гаргин, В.В. Сакал**  
*Харьковский национальный медицинский университет  
ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков*

**СОПОСТАВЛЕНИЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ  
И ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ  
ПРИ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ**

Обследованы пациенты с типичными и атипичными проявлениями гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. У всех пациентов была проведена верхняя эндоскопия с использованием Лос-Анджелесской классификации для оценки степени рефлюкс-эзофагита. Сопоставление микроскопических и эндоскопических данных свидетельствует о расхождениях в диагностике приблизительно до 5% для некоторых форм гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

**Ключевые слова:** гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, эндоскопия, гистология.

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) – это комплекс характерных симптомов с воспалительными изменениями дистальной

части слизистой оболочки пищевода вследствие желудочно-пищеводного рефлюкса. ГЭРБ занимает одно из лидирующих мест в структуре

© В.В. Гаргин, В.В. Сакал, 2012