

ПРОТИВООПИСТОРХОЗНАЯ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА КОРЫ ОСИНЫ (*POPULUS TREMULA* L.) В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO*Е. А. Перина^{1✉}, Е. Е. Буйко¹, О. А. Кайдаш¹, Л. В. Ефимова¹, Е. Б. Диксас¹, С. В. Кривошеков¹, А. А. Иванов^{1,2}, В. В. Иванов¹, Е. В. Удуд¹¹ Центральная научно-исследовательская лаборатория, Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия² Общество с ограниченной ответственностью «Биолит», Томск, Россия

Для решения проблемы описторхоза, вызванного трематодой *Opisthorchis felineus*, необходим поиск альтернативных терапевтических решений ввиду рисков развития лекарственной устойчивости и возможных побочных эффектов существующих препаратов, таких как празиквантел. Цель исследования — выявить противоописторхозные и гепатопротекторные свойства экстракта коры осины (*Populus tremula* L.) на примере *in vitro*-моделей. Методом экстракции выделена активная фракция PGF-PT с высоким содержанием фенолгликозидов. Выявлен дозозависимый антигельминтный эффект PGF-PT: индекс относительной подвижности мариит снизился с 98,2% (250 мкг/мл) до 54,5% (2000 мкг/мл, $p < 0,05$), а доля неподвижных особей при концентрации 2000 мкг/мл достигла 30% ($p < 0,05$). Вероятный механизм действия — индуцированное очаговое повреждение клеток поверхностного эпителия (тегумента) паразита. Выявлен выраженный гепатопротекторный эффект PGF-PT, подтвержденный моделью липотоксичности на клетках HepG2: наблюдались нормализация накопления внутриклеточных липидов и подавление окислительного стресса. В модельной системе показана высокая антиоксидантная активность PGF-PT ($IC_{50} = 79,3 \pm 1,0$ мкг/мл). Таким образом, фракция PGF-PT обладает комплексным действием, направленным на элиминацию паразита и коррекцию метаболических нарушений в печени, что открывает перспективы для создания на ее основе новых эффективных препаратов для антигельминтной терапии.

Ключевые слова: *Opisthorchis felineus*, экстракт коры осины, антигельминтная терапия, празиквантел, фенолгликозиды, антиоксиданты, тегумент

Финансирование: средства субсидии на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на проведение научного исследования «720000F.99.1.BN62AB05000 Разработка нового лекарственного средства на основе природного комплекса фенолгликозидов и арабиногалактанов для терапии трематодозов» (Соглашение о предоставлении субсидии федеральному бюджетному или автономному учреждению на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) от 21.01.2025 № 056-03-2025-100, дополнительное соглашение от 04.04.2025г. № 056-03-2025-100/1).

Вклад авторов: Е. А. Перина — воспроизведение описторхозной инвазии, оценка противоописторхозного действия; Е. Е. Буйко — определение гепатопротекторного действия и цитотоксичности экстракта; О. А. Кайдаш — статистическая обработка данных, написание текста статьи, утверждение рукописи для публикации; Л. В. Ефимова — оценка поврежденного тегумента мариит; Е. Б. Диксас — воспроизведение описторхозной инвазии; С. В. Кривошеков — синтез экстракта; А. А. Иванов — химический анализ экстракта; В. В. Иванов — разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных; Е. В. Удуд — координация выполнения исследования, утверждение рукописи для публикации.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных центра доклинических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦДИ ЦНИЛ) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 1 от 2 сентября 2023 г.). Работа выполнена в полном соответствии с действующими нормативно-правовыми документами об обращении лекарственных средств, рекомендациями по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований, соблюдением санитарно-эпидемиологических норм.

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Александровна Перина
Московский тракт, д. 2, стр. 16, г. Томск, 634050, Россия; catherineperina@gmail.com

Статья получена: 17.10.2025 **Статья принята к печати:** 19.11.2025 **Опубликована онлайн:** 02.12.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.063

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ANTI-OPISTHORCHIASIS AND HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF *POPULUS TREMULA* BARK EXTRACT: *IN VITRO* STUDIESPerina EA^{1✉}, Buyko EE¹, Kaidash OA¹, Efimova LV¹, Diksas EB¹, Krivoshechikov SV¹, Ivanov AA^{1,2}, Ivanov VV¹, Udud EV¹¹ Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk² Biolit limited liability company, Tomsk

The problem of opisthorchiasis caused by *Opisthorchis felineus* requires a search for alternative treatments, because the trematode can develop drug resistance and the existing drugs, such as praziquantel, may have undesirable side effects. This study aimed to identify the anti-opisthorchiasis and hepatoprotective properties of *Populus tremula* L. bark extract using *in vitro* methods. The PGF-PT active fraction with a high content of phenol glycosides was obtained through extraction. PGF-PT showed a dose-dependent anti-opisthorchiasis effect: the relative mobility index of maritae decreased from 98.2% at 250 µg/ml to 54.5% at 2000 µg/ml ($p < 0.05$), and the proportion of immobile specimens at 2000 µg/ml was 30% ($p < 0.05$). The probable mechanism of action is focal damage to the cells of the parasite's superficial epithelium (tegument). PGF-PT exhibited a pronounced hepatoprotective effect in a lipotoxicity model based on HepG2 cells, as evidenced by normalized intracellular lipid accumulation and reduced oxidative stress. A high antioxidant activity of PGF-PT was shown in the model system ($IC_{50} = 79.3 \pm 1.0$ µg/ml). Thus, the PGF-PT fraction has a complex effect — eliminating parasites and correcting metabolic disorders in the liver — which makes it a promising basis for new effective anthelmintic drugs.

Keywords: *Opisthorchis felineus*, *Populus tremula* bark extract, anthelmintic therapy, praziquantel, phenol glycosides, antioxidants, tegument

Funding: the project is supported by the state research assignment "720000F.99.1.BN62AB05000 Development of a new drug based on a natural complex of phenol glycosides and arabinogalactanes for the treatment of trematodosis" (Agreement on granting subsidies to a federal budget-supported or autonomous institution as financial support for the state assignment involving provision of public services (implementation of works) of 21.01.2025 No. 056-03-2025-100, supplementary agreement of 04.04.2025 No. 056-03-2025-100/1).

Author contribution: Perina EA — reproduction of opisthorchiasis invasion, assessment of anti-opisthorchiasis effect; Buyko EE — determination of hepatoprotective effect and cytotoxicity of the extract; Kaidash OA — statistical data processing, article authoring, final review and approval of the manuscript; Efimova LV — assessment of damage to the maritae's tegument; Diksas EB — reproduction of opisthorchiasis invasion; Krivoshechikov SV — synthesis of the extract; Ivanov AA — chemical analysis of the extract; Ivanov VV — study design and conceptualization, data analysis and interpretation; Udud EV — study coordination, final review and approval of the manuscript.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the Preclinical Research Center, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Resolution No. 1 of September 02, 2023). The work was performed in full compliance with current drug circulation regulations, guidelines for the use of laboratory (experimental) animals in preclinical (non-clinical) studies, and sanitary and epidemiological standards.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina Alexandrovna Perina
Moskovsky tract, 2, str. 16, Tomsk, 634050, Russia; catherineperina@gmail.com

Received: 17.10.2025 **Accepted:** 19.11.2025 **Published online:** 02.12.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.063

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Актуальность проблемы описторхоза, вызываемого трематодами *Opisthorchis felineus* и *Opisthorchis viverrini*, остается чрезвычайно высокой в современной медицине, паразитологии и эпидемиологии [1]. Обширные эндемичные регионы расположены на территории Российской Федерации (Западная и Восточная Сибирь, Приуралье), Восточной Европы и Казахстана, стран Юго-Восточной Азии (Таиланд, Лаос, Вьетнам) [2]. По данным ВОЗ, более 80 млн человек в мире находятся в группе риска, а число инвазированных оценивается в несколько десятков миллионов [3]. Единственным препаратом для этиотропной терапии является празиквантел (PZQ), широкое применение которого создает потенциальный риск селекции резистентных штаммов паразита, что в перспективе может привести к полной утрате эффективности лечения [4]. Кроме того, в последнее время появляется ряд сообщений о возможности повышения риска развития холангиокарциномы при повторных курсах терапии PZQ вследствие массивного высвобождения паразитарных антигенов после приема препарата [4, 5]. В связи с этими обстоятельствами поиск альтернативных лечебных средств с низкой токсичностью и высокой эффективностью приобретает особую актуальность.

Экстракты видов *Populus*, особенно из почек и коры, традиционно применяются благодаря их выраженным противовоспалительным, антиоксидантным и гепатопротекторным свойствам, подтвержденным исследованиями [6, 7]. Так как окислительный стресс и хроническое воспаление играют ключевую роль в развитии осложнений описторхоза, а растительные экстракты с похожей структурой, такие как артезунат, уже зарекомендовали себя при лечении других трематодозов [8], экстракт коры осины *Populus tremula* L. (*P. tremula*) представляется перспективным объектом для изучения. Фармакологическая активность экстрактов коры осины (*Populus tremula* L.) преимущественно обусловлена высоким содержанием фенолгликозидов класса салициноидов [9]. Научные исследования показали выраженную противопаразитарную активность данных фитохимических компонентов в отношении широкого спектра возбудителей печеночных трематодозов (например, *Opisthorchis* spp., *Psilostomum*) и гельминтозов (включая нематодозы и протозойные инфекции типа лямблиоза) [10, 11].

Целью исследования было изучить богатый фенолгликозидами экстракт коры *P. tremula*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования — экстракт коры *P. tremula* с высоким содержанием фенолгликозидов.

На научно-производственном предприятии Биолит из коры *P. tremula*, заготовленной в осенне-зимний период и высушенной в естественных условиях до остаточной влажности 8–10%, методом реперколяции на промышленном экстракторе 2000 L (Hubei weihua machinery co., ltd, Китай) получали жидкий экстракт с соотношением исходного сырья и готового продукта 1 : 1. В качестве экстрагента использовали воду. Полученный жидкий экстракт сгущали в вакуумной системе испарения SX-250 (Hubei weihua machinery co., ltd, Китай) до остаточного содержания влаги 25–40%.

Для получения богатой фенолгликозидами фракции (PGF-PT) в лаборатории контроля качества центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России густой экстракт восстанавливали водой

очищенной в соотношении 1 : 15, перемешивали в течение 30 мин и к полученному раствору добавляли трехкратный (об./об.) избыток 96%-го этилового спирта. После отстаивания осадка при температуре 4 °C в течение 12 ч и декантации надосадочную жидкость центрифугировали при 4000 об./мин в течение 3 мин (Eppendorf 5702, Eppendorf, США). Декантированный раствор объединяли с супернатантом и упаривали на ротаторном испарителе Rotavapor V-3 (Buchi, Швейцария) с вакуумной насосной станцией PC 500 (Vacuubrand, Германия) при температуре водяной бани 40 °C до 1/10 первоначального объема, после чего высушивали конвекционно. Выход PGF-PT составил $71,65 \pm 13,4\%$. PGF-PT стандартизовали по содержанию фенолгликозида салицина методом ВЭЖХ на хроматографе Ultimate 3000 (Dionex, Thermo, Германия), оснащенном диодно-матричным детектором DAD3000 на колонке Zorbax Eclipse plus C18 3,0 × 150 мм, 3,5 мкм, подвижная фаза А — 0,1% трифторуксусная кислота в воде, подвижная фаза В — ацетонитрил. Режим элюирования — градиентный, объем вводимой пробы составлял 20 мкл, температура термостата колонки — 30 °C. Пик салицина идентифицировали по спектральным признакам: характерные максимумы поглощения при длинах волн 194 и 269 нм, плечо на длине волны 215 нм. Содержание салицина определяли методом внешнего стандарта. Время удерживания пика, соответствовавшего салицину, составляло 7,544 мин. Определение содержания полифенольных соединений (в пересчете на танин) проводили перманганатометрически в соответствии с нормативными документами. По результатам анализа, содержание полифенольных соединений (в пересчете на танин) составило $8,16 \pm 0,41\%$, салицина — $4,7 \pm 0,6\%$.

Оценку противоописторхозной активности PGF-PT проводили в ЦДИ ЦНИЛ на взрослых формах печеночного сосальщика *O. felineus* — маритах. В качестве препарата сравнения использовали празиквантел (PZQ, TCI, Япония) в дозе 600 мкг/мл [11]. Заражение экспериментальных животных выполняли по описанной методике [12]. Всего в эксперименте было задействовано 40 самок золотистого хомяка *Mesocricetus auratus* массой 130–150 г SPF-категории, полученных из Федерального государственного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук». Через 3 месяца после заражения животных подвергали эвтаназии в атмосфере CO₂, из гепатобилиарного тракта извлекали мариты, промывали 0,9%-м раствором NaCl, инкубировали при 37 °C в атмосфере 5% CO₂ в течение 2 ч в промывочной культуральной среде RPMI 1640, содержащей 2×пенициллин-стрептомицин [13]. Затем мариты помещали в шестилуночный культуральный планшет по 10 особей на лунку со средой для культивирования RPMI 1640, содержащей 1×пенициллин-стрептомицин, 10 г/л глюкозы, 2 г/л бикарбоната натрия.

Растворы фракции PGF-PT и PZQ готовили в диметилсульфоксиде (ДМСО) с последующим разведением в инкубационной среде. Исследуемую фракцию PGF-PT тестировали в конечных концентрациях 250, 500, 1000 и 2000 мкг/мл. В качестве отрицательного контроля использовали образцы, инкубированные в среде, содержащей равный объем ДМСО (до 0,5%), что исключало возможное неспецифическое воздействие самого растворителя на метаболизм и поведение марит. Инкубацию марит с веществами проводили в течение 24 ч. в CO₂-инкубаторе.

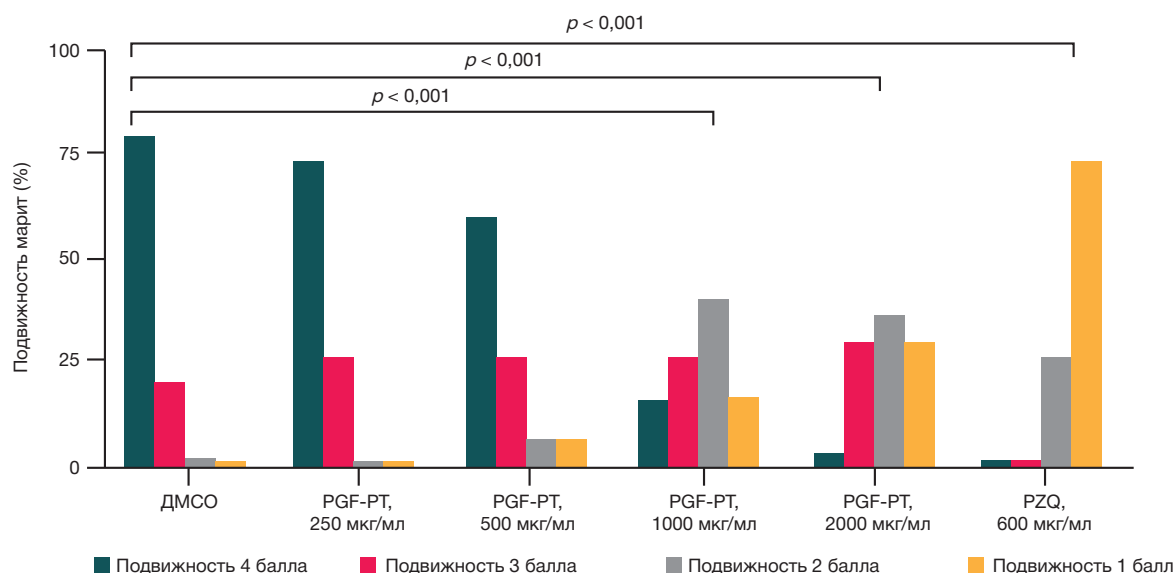


Рис. 1. Влияние фракции PGF-PT на подвижность марит *O. felineus*

Стандартом изучения эффективности перспективных антигельминтных препаратов является тестирование *in vitro*, проводимое с помощью оценки подвижности и морфологии паразитов [10, 11]. Противопаразитарную активность оценивали путем анализа изменения двигательной активности и морфологических изменений тегумента марит под микроскопом NE910 (Ningbo Yongxin Optics Co Ltd, Китай), оснащенным камерой (Digital Sighth 1000, Nikon, Китай). Подвижность определяли визуально по четырехбалльной шкале [14]: 4 — движения очень активны (аналогичны движениям контрольных сосальщиков); 3 — активны (сниженная подвижность по сравнению с контролем, однако все тело еще движется); 2 — сниженная активность (видны только движения присоски); 1 — неподвижные черви. Показатели подвижности в лунках нормализовали относительно показателей контрольной группы.

Относительный индекс подвижности (RM) рассчитывали по формулам [14]:

$$RM \% = \frac{MI_{\text{experiment}}}{MI_{\text{control}}} \times 100\%$$

$$MI = \frac{\sum n \times Nn}{\sum Nn},$$

где *MI* — индекс подвижности группы червей, *n* — балл подвижности, *Nn* — количество трематод с баллом *n*.

Для определения влияния экстракта на функциональное состояние клеток тегумента печеночного сосальщика выполняли исследование с флуоресцентным интеркалирующим красителем пропидий йодидом (PI), который связывается с ДНК и применяется для окрашивания ядер мертвых клеток. Мариты инкубировали с PI (2 мкг/мл) в течение 20 мин, затем промывали физиологическим раствором. Изображения получали под флуоресцентным микроскопом Leica DM6 (Leica Microsystems GmbH, Германия) [15].

Таблица. Влияние PGF-PT на индекс подвижности марит *O. felineus*

	ДМСО	PGF-PT, 250 мкг/мл	PGF-PT, 500 мкг/мл	PGF-PT, 1000 мкг/мл	PGF-PT, 2000 мкг/мл	PZQ, 600 мкг/мл
MI	3,8	3,7	3,4	2,4	2,1	1,1
RM, %		98,2	89,5	64	54,5	28,5

Гепатопротекторную активность PGF-PT оценивали *in vitro* в модели липотоксичности, индуцированной смесью олеата и пальмитата натрия, на клетках линии гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 по уровням внутриклеточных липидов и активных форм кислорода (АФК). Содержание липидов оценивали с помощью флуоресцентного красителя нильского красного [16]. В качестве положительного контроля использовали гипополипидемическое соединение гемфиброзил (100 мкМ, Sigma-Aldrich, США). Визуализацию липидных капель проводили на флуоресцентном микроскопе Leica DM6 (Leica Microsystems GmbH, Германия). Уровень АФК в клетках измеряли с 2,7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетатом (ДХФДА) [17]. Безопасные концентрации PGF-PT для использования в данной модели (31,25; 62,5 и 125 мкг/мл) выбрали с помощью теста с витальным красителем нейтральным красным [18].

Для определения вклада прямой антирадикальной активности в способность фракции влиять на уровень АФК в клетках проводили эксперимент в модельной системе с использованием стабильного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (ДФПГ), как описано ранее [19]. Активность выражали показателем IC_{50} , означающим эффективную концентрацию PGF-PT, при которой восстанавливается 50% свободных радикалов ДФПГ.

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Для анализа порядковых данных использовали критерий хи-квадрат Пирсона (χ^2). Для попарного сравнения групп применяли поправку на множественные сравнения Бонферрони. Количественные данные проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнение средних значений между несколькими независимыми группами проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Статистически значимым считали $p < 0,05$.

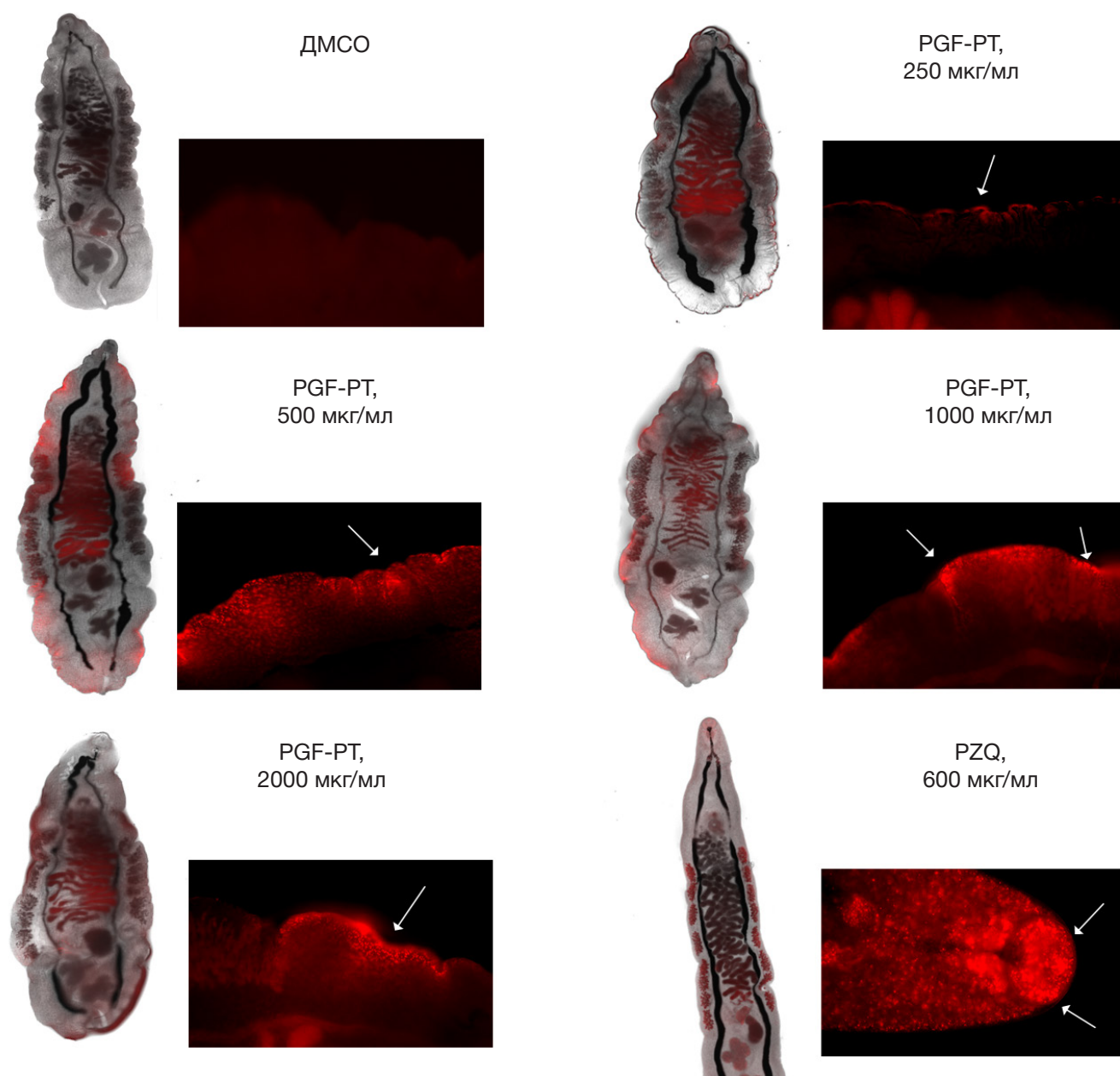


Рис. 2. Оценка повреждения тегумента марит *O. felinus* методом флуоресцентного окрашивания

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фракция PGF-PT оказывала дозозависимый эффект на подвижность марит *O. felinus* (рис. 1).

В контрольной группе наблюдали полную сохранность двигательной активности и целостности покровов марит. Обработка фракцией PGF-PT в концентрации 1000 мкг/мл снижала подвижность 40% взрослых особей до минимального значения (2 балла по шкале подвижности); при этом у 17% паразитов полностью отсутствовала двигательная активность (1 балл по шкале подвижности). При дальнейшем увеличении концентрации PGF-PT до 2000 мкг/мл число полностью неподвижных особей возросло до 30%. Препарат сравнения PZQ в концентрации 600 мкг/мл обеспечивал полную иммобилизацию 73% взрослых особей.

Индекс подвижности паразитов в контрольной группе составил 3,8. По мере повышения концентрации PGF-PT от 250 до 2000 мкг/мл индекс снижился с 3,7 до 2,1. Одновременно относительная подвижность падала с 98,2

до 54,5%. В свою очередь, PZQ подавлял активность паразитов до уровня 28,5%, что провоцировало развитие спастического паралича (таблица).

При оценке целостности тегумента установили, что флуоресцентный краситель PI не проникал в клетки жизнеспособных марит контрольной группы. Флуоресцентное свечение после обработки PZQ локализовалось в областях тегументального синцития. Данные результаты совпадают с литературными источниками, согласно которым у *O. viverrini* PZQ аналогично индуцирует деструкцию и слущивание тегумента [15]. При воздействии PGF-PT в концентрациях 500, 1000 и 2000 мкг/мл наблюдали частичное проникновение PI вглубь тегументального синцития червя на отдельных участках поверхности тела, свидетельствующее о локальных нарушениях клеточной мембраны и потере тканевой целостности (рис. 2).

Таким образом, воздействие PGF-PT вызвало частичную деградацию клеток тегумента, однако не обеспечивало полного функционального разрушения организма паразита и потери подвижности во всех рассмотренных случаях.

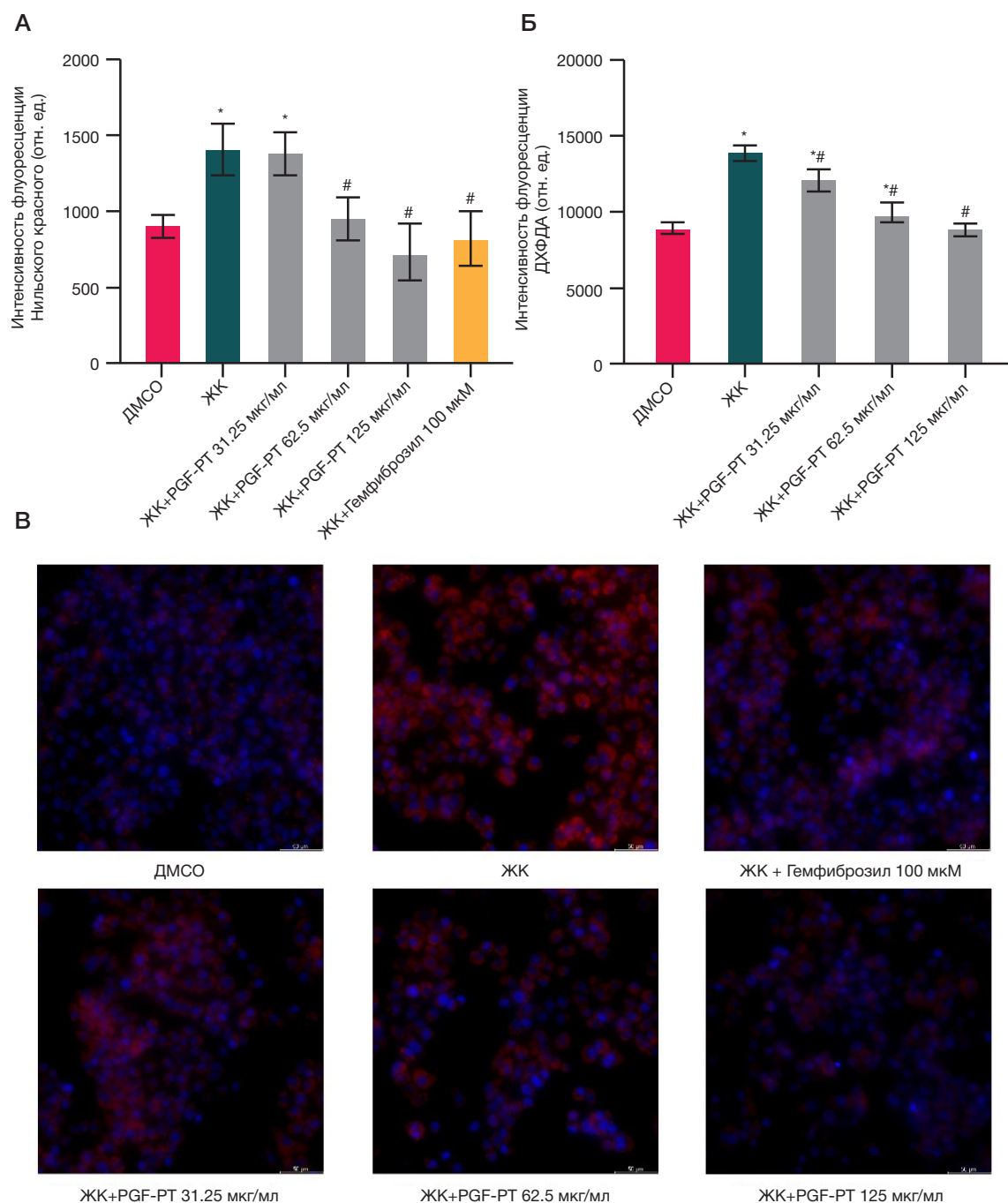


Рис. 3. Гепатопротекторная активность PGF-PT, оцениваемая по уровню внутриклеточных липидов и активных форм кислорода (АФК) в клетках HepG2 после инкубации в среде, содержащей олеиновую (1 мМ) и пальмитиновую (0,5 мМ) кислоты (ЖК): **А.** интенсивность флуоресценции нильского красного (внутриклеточные липиды), **Б.** интенсивность флуоресценции 2,7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (АФК) и **В.** фотографии клеток (увеличение $\times 40$), окрашенных нильским красным и Hoechst 33342 (ядра клеток). Данные представлены как $M \pm SD$. * — отличия от группы ДМСО значимы ($p < 0,05$); # — отличия от группы ЖК значимы ($p < 0,05$)

Применение световой микроскопии подтвердило наличие значительных повреждений поверхностных структур тел мариот после инкубации с высокими концентрациями PGF-PT (1000 и 2000 мкг/мл), проявляющихся в виде массивного слущивания эпителия и отека тегумента (см. приложение).

Инкубация клеток HepG2 в среде с олеиновой и пальмитиновой жирными кислотами (ЖК) приводила к развитию гепатотоксичности. Регистрировали увеличение содержания внутриклеточных липидов на 55% ($p < 0,05$) по результатам оценки изменения интенсивности флуоресценции липофильного красителя (рис. 3А), что согласовывалось с данными микроскопии (рис. 3В).

Интенсивность флуоресценции ДХФДА также возрастала на 57% ($p < 0,05$), что отражало рост уровня АФК в клетках (рис. 3Б).

Фракция PGF-PT в концентрациях 62,5 и 125 мкг/мл вызывала дозозависимое снижение уровня липидов на 32,9% ($p < 0,05$) и 48,9% ($p < 0,05$), и этот эффект был сравним с действием гиполлипидемического соединения гемфибозила ($p > 0,05$) (рис. 3А). Вместе с тем исследуемая фракция PGF-PT подавляла окислительный стресс в клетках HepG2, обработанных средой с повышенным уровнем ЖК (рис. 3Б). Внесение фракции PGF-PT в концентрациях 31,25, 62,50 и 125,00 мкг/мл снижало интенсивность флуоресценции внутриклеточного

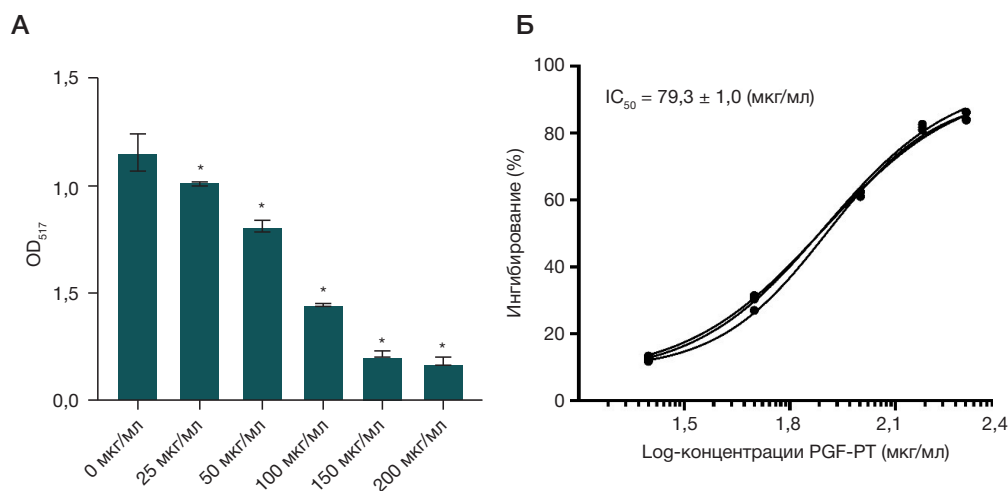


Рис. 4. Влияние фракции PGF-PT на оптическую плотность раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ, 100 мкМ) (А) и полулогарифмическая зависимость эффективности ингибирования реакции с радикалом ДФПГ от концентрации фракции PGF-PT (Б). Данные представлены как $M \pm SD$. * — отличия от контрольной группы (0 мкг/мл) значимы ($p < 0,05$)

зонда на АФК ДХФДА на 12,6% ($p < 0,05$), 28,2% ($p < 0,05$) и 36,2% ($p < 0,05$) соответственно.

Снижение уровня внутриклеточных АФК может быть обусловлено и прямыми антирадикальными свойствами PGF-PT, результаты оценки которых в модельной системе представлены на рис. 4А.

На основании полученных данных проведены расчеты концентрации фракции PGF-PT, обеспечивающей ингибирование 50% свободных радикалов ДФПГ (IC_{50}). Эта величина составила $79,3 \pm 1,0$ мкг/мл (рис. 4Б). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о выраженных антирадикальных и гепатопротекторных свойствах фракции PGF-PT.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты демонстрируют выраженные противоописторхозный и гепатопротекторный потенциалы экстракта коры осины *Populus tremula*, богатого фенолгликозидами (фракция PGF-PT).

Мы обнаружили, что данная фракция вызывает дозозависимое снижение подвижности марит *O. felinus*, причем при максимальной исследуемой концентрации (2000 мкг/мл) полностью утрачивают подвижность 30% особей. Несмотря на то что этот показатель ниже, чем у стандартного препарата празиквантела (73% неподвижных особей), установленное нами снижение подвижности указывает на перспективность дальнейшей разработки препарата на основе PGF-PT.

Микроскопическое исследование подтвердило, что воздействие PGF-PT вызывает частичную деграцию клеток тегумента, что ограничивает функциональные возможности паразита. Однако полного разрушения тегумента и полной остановки подвижности не происходило, что подчеркивает необходимость продолжения исследований для усиления антигельминтного эффекта. Антигены тегумента — многоядерного синцития толщиной около 4 мкм, выполняющего несколько важных функций, включая защиту от иммунных клеток хозяина, являются перспективными кандидатами для разработки антигельминтных препаратов. Интересно, что антигельминтные препараты, обладающие различными механизмами действия, вызывают повреждение тегумента паразитов [11]. Это указывает на то, что препараты, наряду с непосредственным влиянием на молекулярные

мишени, вызывают нарушение поверхности паразита, что приводит к активации антителозависимой клеточной цитотоксичности и является отправной точкой для эффективного иммунного ответа организма хозяина.

Данные о дозозависимом сокращении подвижности марит *O. felinus* и индуцированных очаговых повреждениях тегумента хорошо согласуются с ранее опубликованными исследованиями, в которых сообщалось о выраженной противопаразитарной активности фенолгликозидов растений *Populus spp.* Недавно было описано противоописторхозное действие неочищенных экстрактов *Allium sativum* L. [11] и *Thunbergia laurifolia* Lindl. [20]. В других работах приводятся результаты изучения антигельминтных свойств флавоноида кверцетина, относящегося к классу полифенольных соединений, и выражающиеся в снижении подвижности и повреждении тегумента взрослых форм паразитов [21, 22]. Более мягкий механизм действия может способствовать снижению риска тяжелых иммунопатологических реакций, связанных с массовой гибелью и разрушением паразитов.

Гепатопротекторное действие PGF-PT, проявляющееся в снижении липотоксичности и окислительного стресса в клеточной модели HepG2, подтверждается современными данными о свойствах фенолгликозидов и других биофлавоноидов. Показано, что гепатопротекторный эффект полифенолов не сводится к единому механизму, а является результатом комплексного воздействия, включающего усиление антиоксидантного, метаболического и иммуномодулирующего действия [23]. Это позволяет предполагать, что терапия данным экстрактом не только снижает паразитарную нагрузку, но и защищает печень от повреждений, что особенно важно при хронических формах описторхоза и риске развития холангиокарциномы.

ВЫВОДЫ

Фракция PGF-PT из коры осины *Populus tremula* в экспериментах *in vitro* обладает выраженной антигельминтной активностью против *Opisthorchis felinus*, вызывая дозозависимое снижение подвижности и повреждения тегумента паразита. Кроме того, PGF-PT оказывает гепатопротекторное действие, снижая липотоксичность и окислительный стресс в гепатоцитах. Мягкий режим действия отличает ее от празиквантела, снижая риск иммунопатологических осложнений. Эти данные

подчеркивают потенциал PGF-PT как перспективного компонента для создания новых антиописторхозных препаратов с дополнительным гепатопротекторным эффектом. Несмотря на то что системы *in vitro* обладают значительными ограничениями в адекватном воспроизведении реальной многокомпонентной системы «паразит–

хозяин», они предоставляют важную информацию о базовых механизмах фармакологического действия. Представленные нами результаты служат основанием для дальнейших исследований *in vivo*, направленных на оценку эффективности и безопасности фракции PGF-PT в реальных биологических условиях.

Литература

- Liu L, Lu LD, Yang GJ, Qian MB, Yang K, Tan F, et al. Global, regional and national disease burden of food-borne trematodiasis: projections to 2030 based on the Global Burden of Disease Study 2021. *Infect Dis Poverty*. 2024; 13 (1): 95.
- Fedorova OS, Kovshirina YV, Kovshirina AE, Fedotova MM, Deev IA, Petrovskiy FI, et al. Opisthorchis felinus infection and cholangiocarcinoma in the Russian Federation: A review of medical statistics. *Parasitol Int*. 2017; (4): 365–71.
- World Health Organization. Ending the neglect to attain the sustainable development goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva: World Health Organization, 2020. Available from: <https://iris.who.int/handle/10665/338565>. Accessed 9 July, 2024.
- Lvova MN, Ponomarev DV, Tarasenko AA, Kovner AV, Minkova GA, Tsyganov MA, et al. Curcumin and its supramolecular complex with disodium glycyrrhizinate as potential drugs for the liver fluke infection caused by Opisthorchis felinus. *Pathogens*. 2023; 12 (6): 819.
- Kamsa-Ard S, Luvira V, Pugkhem A, Luvira V, Thinkhamrop B, Suwanrungruang K, et al. Association between praziquantel treatment and cholangiocarcinoma: a hospital-based matched case-control study. *BMC Cancer*. 2015; 15: 776.
- Debbache-Benaida N, Atmani-Kilani D, Schini-Keirith VB, Djebbli N, Atmani D. Pharmacological potential of Populus nigra extract as antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2013; 3 (9): 697–704.
- Urbanchik EA, Kurkin VA, Agapov AI. The pharmacognostic study of some species of the genus poplar (Populus L.) growing in the Samara Region. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhia*. 2021; (5–6): 92–97.
- Gouveia MJ, Brindley PJ, Gärtner F, Costa JMCD, Vale N. Drug Repurposing for Schistosomiasis: Combinations of Drugs or Biomolecules. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018; 11 (1): 15.
- Rashmi SP, Yogendra P, Motamarri VNLC, Avijit M, Navneet K, Prabin KT. Discerning the multi-dimensional role of Salicin: bioactive glycoside beyond analgesic: different perspectives. *Current Drug Therapy*. 2024; 19 (7): e221123223716.
- V. Devi Rajeswari. Anthelmintic Activity of Plants: A Review. *Research Journal of Phytochemistry*. 2014; 8: 57–63.
- Sangkam W, Arunsan P, Pechdee P, Boonsuya A, Thanchonng C, Chatdumrong W, et al. Anthelmintic activity and pathophysiological effect of anthelmintic drugs against carcinogenic liver fluke, Opisthorchis viverrini. *Trop Biomed*. 2024; 41 (2): 196–205.
- Pershina AG, Saitykova IV, Ivanov VV, Perina EA, Demin AM, Shevelev OB, et al. Hemozoin "knobs" in Opisthorchis felinus infected liver. *Parasit Vectors*. 2015; (8): 459.
- Wong Y, Pearson MS, Fedorova O, Ivanov V, Khmelevskaya E, Tedla B. Secreted and surface proteome and transcriptome of Opisthorchis felinus. *Frontiers in Parasitology*. 2023; (2): 1195457.
- Ponomarev D, Lvova M, Mordvinov V, Chidunchi I, Dushkin A, Avgustinovich D. Anti-Opisthorchis felinus effects of artemisinin derivatives: An in vitro study. *Acta Trop*. 2024; 254: 107196.
- Pakharukova MY, Shilov AG, Pirozhkova DS, Katokhin AV, Mordvinov VA. The first comprehensive study of praziquantel effects in vivo and in vitro on European liver fluke Opisthorchis felinus (Trematoda). *Int J Antimicrob Agents*. 2015; 46 (1): 94–100.
- Yao HR, Liu J, Plumeri D, Cao YB, He T, Lin L, et al. Lipotoxicity in HepG2 cells triggered by free fatty acids. *American journal of translational research*. 2011; 3 (3): 284.
- Zhang M, Lai J, Wu Q, Lai J, Su J, Zhu B. Naringenin induces HepG2 cell apoptosis via ROS-mediated JAK-2/STAT-3 signaling pathways. *Molecules*. 2023; 28 (11): 4506.
- Repetto G, del Peso A, Zurita JL. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nat Protoc*. 2008; 3 (7): 1125–13.
- Lee SE, Ju EM, Kim JH. Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from Smilax china root. *Experimental & molecular medicine*. 2001; 33 (4): 263–8.
- Pechdee P, Arunsan P, Boonsuya A, Thanchonng C, Phinsiri S, Rattanapitoot N, et al. Efficacy of Thunbergia laurifolia crude extracts against carcinogenic liver fluke, Opisthorchis viverrini. *Tropical Biomedicine*. 2025; 42 (1): 65–75.
- Elmahy RA, Radwan NA. In vitro evaluation of the nematicidal efficacy of quercetin on adult toxocara canis. *Acta Parasitol*. 2025; 70 (3): 96.
- Ray MS, Mondal C, Saha S, Mandal S, Lyndem LM. Quercetin: An anthelmintic potential against zoonotic tapeworm Hymenolepis diminuta (Rudolphi, 1819). *J Helminthol*. 2025; (99): e9.
- Brzhozovskiy AG, Semenov SD, Zhrebker AY, Bugrova AE, Yurova MN, Zhernov YV. Hepatoprotective activity of nature-derived polyphenols studied by mass spectrometry based multi-OMICS approach. *Int J Mol Sci*. 2025; 26 (4): 1604.
- Kamsa-Ard S, Luvira V, Pugkhem A, Luvira V, Thinkhamrop B, Suwanrungruang K, et al. Association between praziquantel treatment and cholangiocarcinoma: a hospital-based matched case-control study. *BMC Cancer*. 2015; 15: 776.
- Debbache-Benaida N, Atmani-Kilani D, Schini-Keirith VB, Djebbli N, Atmani D. Pharmacological potential of Populus nigra extract as antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2013; 3 (9): 697–704.
- Urbanchik EA, Kurkin VA, Agapov AI. The pharmacognostic study of some species of the genus poplar (Populus L.) growing in the Samara Region. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhia*. 2021; (5–6): 92–97.

- 92–97.
8. Gouveia MJ, Brindley PJ, Gärtner F, Costa JMCD, Vale N. Drug Repurposing for Schistosomiasis: Combinations of Drugs or Biomolecules. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018; 11 (1): 15.
9. Rashmi SP, Yogendra P, Motamarri VNLC, Avijit M, Navneet K, Prabin KT. Discerning the multi-dimensional role of Salicin: bioactive glycoside beyond analgesic: different perspectives. *Current Drug Therapy*. 2024; 19 (7): e221123223716.
10. V. Devi Rajeswari. Anthelmintic Activity of Plants: A Review. *Research Journal of Phytochemistry*. 2014; 8: 57–63.
11. Sangkam W, Arunsan P, Pechdee P, Boonsuya A, Thanchonnang C, Chatdumrong W, et al. Anthelmintic activity and pathophysiological effect of anthelmintic drugs against carcinogenic liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. *Trop Biomed*. 2024; 41 (2): 196–205.
12. Pershina AG, Saltykova IV, Ivanov VV, Perina EA, Demin AM, Shevelev OB, et al. Hemozoin "knobs" in *Opisthorchis felineus* infected liver. *Parasit Vectors*. 2015; (8): 459.
13. Wong Y, Pearson MS, Fedorova O, Ivanov V, Khmelevskaya E, Tedla B. Secreted and surface proteome and transcriptome of *Opisthorchis felineus*. *Frontiers in Parasitology*. 2023; (2): 1195457.
14. Ponomarev D, Lvova M, Mordvinov V, Chidunchi I, Dushkin A, Avgustinovich D. Anti-*Opisthorchis felineus* effects of artemisinin derivatives: An in vitro study. *Acta Trop*. 2024; 254: 107196.
15. Pakharukova MY, Shilov AG, Pirozhkova DS, Katokhin AV, Mordvinov VA. The first comprehensive study of praziquantel effects in vivo and in vitro on European liver fluke *Opisthorchis felineus* (Trematoda). *Int J Antimicrob Agents*. 2015; 46 (1): 94–100.
16. Yao HR, Liu J, Plumeri D, Cao YB, He T, Lin L, et al. Lipotoxicity in HepG2 cells triggered by free fatty acids. *American journal of translational research*. 2011; 3 (3): 284.
17. Zhang M, Lai J, Wu Q, Lai J, Su J, Zhu B. Naringenin induces HepG2 cell apoptosis via ROS-mediated JAK-2/STAT-3 signaling pathways. *Molecules*. 2023; 28 (11): 4506.
18. Repetto G, del Peso A, Zurita JL. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nat Protoc*. 2008; 3 (7): 1125–13.
19. Lee SE, Ju EM, Kim JH. Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from *Smilax china* root. *Experimental & molecular medicine*. 2001; 33 (4): 263–8.
20. Pechdee P, Arunsan P, Boonsuya A, Thanchonnang C, Phinsiri S, Rattanapitoot N, et al. Efficacy of *Thunbergia laurifolia* crude extracts against carcinogenic liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. *Tropical Biomedicine*. 2025; 42 (1): 65–75.
21. Elmahy RA, Radwan NA. In vitro evaluation of the nematicidal efficacy of quercetin on adult *Toxocara canis*. *Acta Parasitol*. 2025; 70 (3): 96.
22. Ray MS, Mondal C, Saha S, Mandal S, Lyndem LM. Quercetin: An anthelmintic potential against zoonotic tapeworm *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819). *J Helminthol*. 2025; (99): e9.
23. Brzhozovskiy AG, Semenov SD, Zhrebker AY, Bugrova AE, Yurova MN, Zhernov YV. Hepatoprotective activity of nature-derived polyphenols studied by mass spectrometry based multi-OMICS approach. *Int J Mol Sci*. 2025; 26 (4): 1604.