

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
им. Н.Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

**КАРПОВА РЕГИНА ВАСИЛЬЕВНА**

**ИММУНОАДГЕЗИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ В РАЗВИТИИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ**

3.1.6. – Онкология, лучевая терапия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

**Научные консультанты:**

доктор медицинских наук, профессор,  
член-корреспондент РАН

**Матвеев Всеволод Борисович**

доктор биологических наук  
профессор

**Бочарова Ольга Алексеевна**

Москва – 2021 г.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1 Роль межклеточных адгезионных взаимодействий при злокачественном опухолеобразовании .....	13
1.1.1 Молекулярные основы адгезии .....	13
1.1.2 Нарушение экспрессии молекул адгезии в ткани-мишени и клетках иммунологического надзора .....	16
1.1.3 Потенциальная роль адгезионных нарушений при неоплазии .....	17
1.1.4 Инфильтрация опухолей лимфоцитами – прогностический фактор, который нельзя игнорировать .....	19
1.2 Цитокины как медиаторы межклеточных контактов.....	19
1.3 Функционирование дофаминергической системы и рак .....	24
1.3.1 Дофамин в процессе старения .....	24
1.3.2 Дофамин как эндогенный антидепрессант .....	27
1.3.3 Дофамин как противоопухолевый агент .....	30
1.4 Возможности использования фитоадаптогенов в онкологии .....	40
1.4.1 Антистрессорное действие фитоадаптогенов .....	41
1.4.2 Фитоадаптогены – иммуномодуляторы .....	48
1.4.3 Гормономодулирующая активность фитоадаптогенов .....	51
1.4.4 Фитоадаптогены и сердечно-сосудистая система .....	53
1.4.5 Противоопухолевые свойства фитоадаптогенов .....	55
1.4.6 Преодоление индивидуальной резистентности и противоопухолевые свойства комплексного фитоадаптогена .....	61
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	69
2.1 Экспериментальная модель .....	69
2.2 Распределение животных по группам .....	69
2.3 Дизайн исследования .....	70
2.4 Материалы исследования .....	70

2.5 Методы исследования .....	72
ГЛАВА 3. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНТЕГРИНОВ LFA-1 и Mac-1 У МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА В ОНТОГЕНЕЗЕ, А ТАКЖЕ ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ И ЛЕЧЕБНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА .....	79
ГЛАВА 4. ДИНАМИКА ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 6 и 10 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА В ОНТОГЕНЕЗЕ, А ТАКЖЕ ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОМПЛЕКСНЫМ ФИТОАДАПТОГЕНОМ .....	88
ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИЯ И РАЗМЕРОВ ГЕПАТОКАРЦИНОМ У МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ И ЛЕЧЕБНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА .....	96
ГЛАВА 6. МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛЕЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА .....	107
ГЛАВА 7. ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ ЛИМФОЦИТОВ, ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ГЕПАТОКАРЦИНОМЫ МЫШЕЙ СВА .....	132
ГЛАВА 8. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МЫШЕЙ СВА .....	112
ГЛАВА 9. АНАЛИЗ СОМАТИЧЕСКОГО СТАТУСА МЫШЕЙ СВА В ОНТОГЕНЕЗЕ, А ТАКЖЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА .....	124
ГЛАВА 10. ДИНАМИКА КОРТИКОСТЕРОНА И ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА (НА ПРИМЕРЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА) .....	134
ГЛАВА 11. ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСНОГО	

ФИТОАДАПТОГЕНА .....	138
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	146
ВЫВОДЫ .....	157
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	159
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	160

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы и степень ее разработанности

Отличительными особенностями опухолевых клеток, утрачивающих сначала гистоспецифические гомотипические контактные взаимодействия в ткани-мишени, а затем гистонеспецифические гетеротипические с эффекторами иммунитета и, в итоге, со всем организмом, полагают дедифференцировку и усиление пролиферативных процессов. Дейл Коман провел «пионерские» работы по изучению сил межклеточных контактов в опухолевых и нормальных тканях. Им было выявлено снижение их прочности в ряде эпителиальных опухолей [134].

Накопленные к настоящему времени научные результаты позволяют предположить, что дефицит клеточной интеграции в ткани-мишени может выступать в качестве лидирующего механизма неоплазии.

На поверхности многих клеток присутствуют молекулы межклеточной адгезии (ICAM – intercellular adhesion molecules). С одной стороны, они являются гистонеспецифическими молекулами интеграции клеток в тканевых системах, с другой - служат лигандами для функционально гомологичных молекул лейкоцитарных интегринов, в том числе LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18), обеспечивающих контактные взаимодействия иммунных эффекторов и клеток-мишеней [184].

Недостаток гистонеспецифических молекул адгезии приводит к снижению экспрессии корцепторов - лейкоцитарных интегринов, ослабляя прочность их взаимодействий и препятствуя лизису клеток-мишеней [212, 284]. Воспалительные, деструктивные процессы, наоборот, сопровождаются усилением экспрессии молекул ICAM-1, ICAM-2, LFA-1, LFA-3, Mac-1 [87, 201, 375].

Вместе с тем, медиаторами межклеточных взаимодействий выступают цитокины. Цитокины являются неоднозначными регуляторными факторами контактных связей между развивающейся опухолью и эффекторами иммунитета. Они могут как активировать иммунные реакции против опухолей, так и способствовать опухолевой прогрессии и метастазированию [48, 78, 347]. В частности, повышенный уровень ИЛ-6 и ИЛ-10, а также слабая экспрессия

молекулы адгезии ICAM-1 сопровождается подавлением иммунных функций и наоборот [158, 259, 336].

Ингибирование цитолитических потенций иммунных эффекторов в отношении опухолевых клеток связано не только с нарушением рецепторного ансамбля, отвечающего за формирование конъюгатов с клеточными мишенями, но и функционированием цитокинов [78, 347].

Вместе с тем известно, что существует прямая зависимость частоты возникновения опухолей от скорости старения популяции. Ключевым механизмом процессов старения и опухолеобразования может быть нарушение адгезионных взаимодействий (и как следствие - дедифференцировка). Поэтому рак можно рассматривать как стремительное старение клеток органа. [4, 32, 63]. В то же время признаки хронического стресса можно выявить и при закономерном старении организма. В свою очередь, хронический стресс часто приводит к возникновению онкологических заболеваний, но механизм этого процесса мало изучен [63].

Снижение функциональной активности дофаминергической системы головного мозга лежит в основе центрального механизма старения. Действительно, угасание двигательных, когнитивных, мотивационных функций организма при старении определяется сокращением численности дофаминергических нейронов. Отметим при этом, что потеря дофаминергических нейронов происходит не только при старении, но и при хроническом стрессе. Дофамин (ДА) также является эндогенным антидепрессантом, способствуя хорошему настроению и жизнелюбию [33, 317].

ДА синтезируется как в центральной нервной системе, так и в периферическом организме, при этом прямая связь центрального и периферического ДА имеет решающее значение в модуляции функций иммунитета [1, 350]. Катехоламин ДА участвует в дифференцировке цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитов и может регулировать их киллерную активность, контролируя адгезионные взаимодействия последних с клетками опухоли [33, 272].

Однако проблема значимости иммуноадгезионных взаимодействий для уровня опухолеобразования и продолжительности жизни при этом остается открытой.

В связи с этим, актуальным является изучение, с одной стороны, нарушений иммуноадгезионных параметров, а также показателей хронического стресса при опухолевом процессе – на модели спонтанного гепатоканцерогенеза мышей-самцов линии СВА, имеющих 100% частоту опухолеобразования в позднем онтогенезе. С другой стороны, важной представляется оценка изменений параметров с учетом продолжительности жизни при воздействии нетоксичного агента на примере комплексного фитоадаптогена (КФА), который в ранее проведенных исследованиях проявил адгезиогенные, интерферогенные, антиоксидантные, антимуtagenные, иммуно- и гормонотомулирующие, антистрессорные, нейропротекторные, противоопухолевые свойства [12, 13, 15, 27, 29, 35].

Для повышения статистической достоверности результатов целесообразным представляется проведение исследований с использованием не только жидкой, но и сухой формы (практически субстанции) КФА, которые не отличаются друг от друга по адаптогенной активности [24].

### **Цель исследования**

Изучение роли иммуноадгезионных механизмов в контроле уровня опухолеобразования, продолжительности и качества жизни животных на примере развития экспериментальных опухолей.

### **Задачи исследования**

У мышей-самцов СВА в онтогенезе:

- 1) исследовать уровень экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови;
- 2) оценить концентрацию в сыворотке крови интерлейкинов 6 и 10;
- 3) определить концентрацию стресс-гормона кортикостерона и анаболического гормона тестостерона в сыворотке крови;
- 4) проанализировать морфологические особенности спонтанных гепатом;
- 5) провести иммунофенотипирование опухоль-инфильтрирующих лейкоцитов в

- ткани печени;
- 6) оценить численность дофаминергических нейронов и уровень пролиферации молодых нейронов в головном мозге;
  - 7) определить частоту возникновения, количество и размеры опухолей;
  - 8) оценить продолжительность жизни и соматический статус (по двигательной активности, массе тела, состоянию шерстного покрова) животных;
  - 9) выявить возможность коррекции показателей в результате профилактического и лечебного воздействия КФА;
  - 10) провести корреляционный анализ продолжительности жизни мышей СВА, численности дофаминергических нейронов головного мозга, частоты спонтанного опухолеобразования.

### **Научная новизна**

Установлено, что развитие спонтанных опухолей сопровождается снижением экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови, концентрации анаболического гормона тестостерона в сыворотке крови, численности дофаминергических нейронов и пролиферирующих молодых нейронов головного мозга, а также повышением концентрации ИЛ-6, ИЛ-10 и стресс-гормона кортикостерона в сыворотке крови животных.

Установлено снижение частоты опухолеобразования, уменьшение размеров опухолей, повышение продолжительности жизни при сохранении удовлетворительного соматического статуса, сочетающееся с инфильтрацией и деструкцией опухолей цитотоксическими CD8<sup>+</sup> лимфоцитами, экспрессирующими LFA-1 и Mac-1 лейкоцитарные интегрины при коррекции экспрессии лейкоцитарных интегринов на лимфоцитах периферической крови, численности дофаминергических нейронов головного мозга, концентрации ИЛ-6, ИЛ-10, тестостерона и кортикостерона в сыворотке крови у высокогепатомных мышей СВА в результате профилактического и лечебного воздействия нетоксичного комплексного фитоадаптогена с адгезиогенными свойствами.

Впервые проведен анализ корреляции численности дофаминергических нейронов головного мозга, частоты спонтанного опухолеобразования и



продолжительности жизни линейных мышей-самцов линии СВА.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Учитывая возможность регуляции численности дофаминергических нейронов головного мозга при коррекции периферических иммунных адгезионных механизмов с участием лейкоцитарных интегринов и сигнальной реактивности цитокинов, сывороточного содержания стресс-гормона кортикостерона и тестостерона, а также частоты опухолеобразования, выживаемости и соматического состояния линейных мышей-самцов СВА, генетически предрасположенных к спонтанному опухолеобразованию, можно предполагать участие центральных нейрональных и периферических иммуноадгезионных механизмов в контроле злокачественного опухолеобразования и увеличения продолжительности жизни.

Связь нарушения периферических иммуноадгезионных механизмов с потерей дофаминергических нейронов головного мозга детализирует механизм опухолеобразования в результате хронического стресса.

Экспрессия лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитах может иметь значение для их миграции в опухоль, образования контактов с клетками-мишенями, повышая вероятность элиминации опухолевых клеток и способствуя повышению выживаемости животных.

Тест-система с использованием мышей СВА с наследственными гепатокарциномами и учитывающая иммуноадгезионные параметры периферической крови, фенотип опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, численность дофаминергических нейронов головного мозга, уровень опухолеобразования, а также выживаемость и соматический статус экспериментальных животных рекомендуется для скрининга *in vivo* нетоксичных иммуномодуляторов природного происхождения, перспективных в качестве компонентов профилактических и терапевтических воздействий для онкологических больных.

КФА как нетоксичный модификатор защитных систем организма может быть перспективным для изучения в онкологии в качестве профилактического, а также

иммуно- и биотерапевтического агента при включении в комплексное лечение, а также при реабилитации для повышения продолжительности и качества жизни онкологических больных.

### **Методы и методология исследования**

Работу проводили на мышах-самцах инбредной линии СВА (сублиния СВА/Lac Y). В исследование было включено 997 мышей.

КФА - фармацевтическая композиция, в состав которой входит широкий спектр биологически активных веществ экстрактов сорока растений, в том числе соединения фенольной природы, эфирные масла, витамины. Сухой экстракт КФА был получен лиофилизацией жидкой формы по соответствующей технологии.

КФА применяли: кратковременно в ранний период онтогенеза (профилактическое воздействие); длительно, с шестимесячного возраста (время появления первых опухолей) курсами на фоне опухолеобразования до естественной гибели животного (лечебное воздействие).

Экспрессию CD11a и CD11b антигенов (лейкоцитарные интегрин LFA-1 и Mac-1, соответственно) на клетках периферической крови, концентрацию интерлейкинов 6 и 10, а также гормонов кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови, массу тела животных изучали в возрасте животных 4, 8, 22 мес. В возрасте 4 и 22 мес определяли численность дофаминергических нейронов, количество молодых пролиферирующих нейронов головного мозга. Число животных с опухолями, а также размеры, количество гепатокарцином оценивали у мышей в возрасте 8 и 22 мес. Показатели двигательной (поведенческой) активности животных, а также состояние волосяного покрова оценивали у мышей СВА в позднем онтогенезе (в 22 мес). Проводили морфо-иммуногистологическое исследование ткани печени животных. Определяли СПЖ животных, методом Kaplan-Meier анализировали выживаемость (критерий F-Кокса применяли для оценки статистической достоверности различий между группами).

Статистический анализ результатов проводили с использованием программы «STATISTICA 6.0», применяя дисперсионный анализ ONE-WAY ANOVA с оценкой достоверности различий по критерию Newman-Keuls.

В работе были использованы иммунологические, иммуноферментные, иммуногистохимические, морфологические и статистические методы исследования, а также поведенческий тест «открытое поле».

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Усиление экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитах может иметь значение для их миграции в опухоль, образования контактов с клетками-мишенями, повышая вероятность элиминации опухолевых клеток и увеличения продолжительности жизни животных.

2. Связь нарушения периферических иммуноадгезионных взаимодействий с потерей дофаминергических нейронов головного мозга при развитии опухолей детализирует стрессорный механизм опухолеобразования.

3. Возможность регуляции численности дофаминергических нейронов головного мозга при коррекции периферических иммунных адгезионных взаимодействий с участием лейкоцитарных интегринов и сигнальной реактивности цитокинов, а также сывороточного содержания стресс-гормона кортикостерона и тестостерона предполагает роль центральных нейрональных и периферических иммуноадгезионных механизмов в контроле злокачественного опухолеобразования, увеличения продолжительности и качества жизни животных.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов основана на большом числе животных, включенных в исследование, длительном периоде наблюдения, адекватном выборе и корректном использовании современных методов анализа. Работа проведена, учитывая стандарты биологических исследований.

Опубликовано 73 печатных работы по диссертации, из них 27 - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, два методических руководства. Результаты работы поддержаны тремя патентами РФ.

Результаты доложены на 22 научных конференциях: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием "Отечественные

противоопухолевые препараты" (2013-2017 гг.); Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (2012-2017 гг.); Международный конгресс «Phytopharm» (2013-2019 гг).

Разработанная тест-система на модели генетически обусловленного гепатоканцерогенеза мышей с учетом иммуноадгезионных показателей периферической крови и фенотипа опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, численности дофаминергических нейронов головного мозга, уровня опухолеобразования, а также выживаемости и соматического статуса экспериментальных животных апробирована в лаборатории иммунофармакологии НИИ ЭДнТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России для скрининга *in vivo* нетоксичных иммуномодуляторов природного происхождения, перспективных в качестве компонентов профилактических и терапевтических воздействий для онкологических больных.

## ГЛАВА 1

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### **1.1 Роль межклеточных адгезионных взаимодействий при злокачественном опухолеобразовании**

Отличительными особенностями опухолевых клеток является дедифференцировка и усиление пролиферативных процессов, что может быть связано с недостатком сначала гистоспецифических гомотипических контактных взаимодействий в ткани-мишени, а затем гистонеспецифических гетеротипических контактов с эффекторами иммунитета и, в итоге, со всем организмом. Дейл Коман провел «пионерские» работы по изучению сил межклеточных контактов в опухолевых и нормальных тканях. Им было выявлено снижение их прочности в ряде эпителиальных опухолей. На основании изучения различий адгезивных свойств здоровых и опухолевых клеток им был предложен механизм анаплазии, инвазии и метастазирования [134].

На основании накопленных к настоящему времени научных результатов можно предположить, что дефицит клеточной интеграции в ткани-мишени может выступать в качестве лидирующего механизма неоплазии [32, 38, 276].

##### **1.1.1 Молекулярные основы адгезии**

Кооперация клеток с участием адгезионных механизмов является основным условием развития многоклеточного организма. Механизмы клеточной адгезии имеют существенное значение как в раннем эмбриогенезе так и на протяжении постнатального онтогенеза многоклеточного организма [148, 414].

Еще в ранних работах по изучению межклеточных контактов было показано, что при разделении зародышевых клеток амфибии в ранний период развития, в дальнейшем они восстанавливались в группы таких же однородных клеток. Когда разделение происходило на этапе формирования зачатков органов, то повторное объединение клеток происходило тканевоспецифически [293].

Экспрессия молекул адгезии выявляется на поверхности клеток различного происхождения (эндотелиальных, эпителиальных, клетках иммунной системы) [83].

К суперсемейству иммуноглобулинов относятся в том числе Intercellular Adhesion Molecules (ICAM 1-3).

ICAM-1 экспрессируется на эндотелиальных клетках, фибробластах, миоцитах, кератиноцитах, тканевых макрофагах, дендритных клетках лимфоидных фолликулов, клетках микроглии, эпителии легкого и печени. ICAM-2 обнаружена на гемопоэтических стволовых клетках, покоящихся лимфоцитах, эндотелиальных клетках. Обладает высокой степенью гомологии с N-концевым доменом ICAM-1. ICAM-3 экспрессируют малые В- и Т-лимфоциты, тимоциты [112, 239].

ICAM 1-3 являются контррецепторами лейкоцитарных интегринов lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1) и monocyte adhesion complex (Mac-1). Взаимодействия ICAM 1-3 с их лигандами играют решающую роль в рециркуляции и перемещении лимфоцитов, в антиген-специфическом иммунном ответе и в других иммуноадгезионных взаимодействиях [184].

**Интегрины** – это гетеродимерные трансмембранные белки, благодаря которым осуществляется гетеротипическая кратковременная адгезия клеток, а также взаимодействия клетки и экстрацеллюлярного матрикса. Название интегрины отражает их роль в интеграции цитоскелетов взаимодействующих клеток, а также внутриклеточных цитоскелетов и ЭЦМ [135].

В структуру интегрин входят альфа и бета субъединицы, объединяющиеся в функциональный рецептор. Классификация интегринов осуществляется по бета субъединице. Таким образом, в состав интегринов входят три семейства:  $\beta$ -1-интегрины (VLA - very late activation antigens);  $\beta$ -2 интегрины (или лейкоцитарные интегрины) и  $\beta$ -3 интегрины (или цитoadгезины) [378].

$\beta$ -2 интегрины играют решающую роль в дифференцировке, активации/поляризации лейкоцитов, их миграции из кровеносного русла в ткани. Более того,  $\beta$ -2 интегрины являются важными компонентами иммунологического синапса между антигенпрезентирующими клетками и Т-лимфоцитами, а также между иммунными эффекторами и инфицированными/трансформированными клетками-мишенями [227, 283].

Лейкоцитарные интегрины, в свою очередь, различаются по  $\alpha$ -субъединице: LFA-1 или  $\alpha$ L $\beta$ 2 (CD11a/CD18), Mac-1 или  $\alpha$ M $\beta$ 2 (CD11b/CD18) и gpGP 150, 95 (CD11c/CD18).

Наш научный интерес связан с двумя из них - LFA-1 и Mac-1.

LFA-1 экспрессируют лейкоциты, кортикальные и медуллярные тимоциты, незрелые В-клетки [404]. Ключевая роль LFA-1 заключается в обеспечении миграции цитотоксических лимфоцитов, NK-клеток из сосудистого русла и контактирования с клетками-мишенями [230, 373].

Mac-1 (CD11b/CD18) проявляется на поверхности миелоидных, дендритных, NK-, тучных, В-клеток, моноцитах/макрофагах, CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [257]. Контррецепторами Mac-1 являются ICAM-1, фибриноген, C3bi, фактор X. Mac-1 обеспечивает контакты миелоидных клеток, нейтрофилов и эндотелия, связь растворимых лигандов, миграцию лейкоцитов [290].

Третья группа молекул адгезии – селектины, определяемые как рецепторы хоуминга лимфоцитов, а также как белки, индуцируемые активацией тромбоцитов и эндотелиальных клеток. L-селектин выполняет функцию рецептора хоуминга лимфоцитов в лимфатические узлы, P-селектин играет важную роль в обеспечении адгезии лейкоцитов в участках тромбообразования и повреждения сосудистой стенки, E-селектин – участвует в адгезии активированного эндотелия к нейтрофилам и является Ca-зависимым лектином [364].

Четвертое суперсемейство, которое относят к молекулам адгезии, это кадхерины. Кадхерины являются важнейшими участниками морфогенетических процессов и процессов эмбриональной дифференцировки, обеспечивая гомотипическую адгезию. Кадхерины включают в себя 3 вида молекул адгезии: E-кадхерин (проявляется, в основном, на тканях эпителиальной природы), P-кадхерин (обнаружен на тканях плаценты, эпителиальных и мезотелиальных клетках) и N-кадхерин (экспрессируется на клетках мозга, мускулатуры, на тканях хрусталика). В эмбриогенезе кадхерины являются, с одной стороны, одними из ведущих молекул, регулирующих морфогенез, а с другой – играют определяющую

роль в морфогенезе таких сложно организованных структур, как пласты клеток [380].

### **1.1.2 Нарушение экспрессии молекул адгезии в ткани-мишени и клетках иммунологического надзора**

Адгезионные взаимодействия клеток в ткани-мишени могут изменяться при мутациях. Любой стрессорный фактор может выступать в качестве мутагена. В первую очередь нарушается прочность гомотипической клеточной интеграции (клетка-клетка одноименной ткани) в ткани, генетически предрасположенной к развитию опухолей. Причиной этого может быть повреждение гена гистоспецифического адгезионного фактора - гликопротеина “контактина” (входящего, вероятно, в суперсемейство кадхеринов), которое выражается в отсутствии единственного аллеля. Этот ген регулирует дифференцировку клеток, гистоспецифические межклеточные взаимодействия, поддерживая гомеостаз здоровой ткани. В клетках устойчивой к опухолеобразованию ткани присутствуют оба аллеля контактина. Поэтому повредить клетку по этому признаку сложнее. Содержание контактина максимально при завершении дифференцировки и переходе ткани к активному функционированию, постепенно снижаясь в процессе старения [16, 32, 237, 397]. Недостаток гистоспецифического адгезионного фактора повреждает, вероятно, важный механизм противоопухолевой защиты в ткани, нарушая регуляцию процессов пролиферации и дифференцировки [62, 123, 209, 237, 312, 395].

Дефицит гистоспецифических молекул адгезии (например, из семейства ICAM сверхсемейства иммуноглобулинов) появляется намного позже, когда уже возникла опухоль, и способствует дальнейшему ослаблению контактных взаимодействий между клетками [106, 294, 362]. Это приводит, во-первых, к снижению экспрессии соответствующих лигандов на поверхности эффекторов иммунитета - LFA-1, Mac-1 из семейства  $\beta 2$  лейкоцитарных интегринов, а, во-вторых, - к усилению на мембранах опухолевых клеток экспрессии молекул адгезии к субстрату, например, антигенов поздней активации VLA (very late activation) и цитоадгезинов из семейства  $\beta 1$ -интегринов, экранируя опухоль от



реакций противоопухолевого иммунитета [152, 212]. Это способствует усилению пролиферации клеток-мишеней, подавлению апоптоза, дальнейшему разобщению клеток опухоли, их инвазии в соседние органы, гетеротипической адгезии и метастазированию [204, 307].

Таким образом, на уровне ткани-мишени, в первую очередь, а затем на уровне всего организма появляется фактор для опухолеобразования и дальнейшего распространения опухолевого процесса. Таким фактором служит снижение прочности межклеточных контактов в ткани-мишени.

### **1.1.3 Потенциальная роль адгезионных нарушений при неоплазии**

Концепцию о лидирующем значении нарушений межклеточной адгезии при канцерогенезе можно обосновать следующими соображениями. Так, с позиций нарушения, например, экспрессии онкогенов, процессов апоптоза, рецепции факторов роста сложно объяснить все этапы развития опухоли. В то же время, опухолеобразование, возникающее, как правило, в одном органе, а также процесс метастазирования различной степени интенсивности (в связи с существованием индивидуального  $\beta 1$ -интегринового профиля в виде различных комбинаций молекул VLA) можно объяснить, опираясь на положения выдвигаемой гипотезы [81]. Поэтому ряд исследователей расценивают VLA-интегрины в качестве наиболее информативного маркера для прогноза опухолевой прогрессии. Специфическим свойством именно опухолевой ткани является снижение прочности межклеточных контактов и увеличение ее массы. В то же время, воспалительные и деструктивные процессы связаны с повышением экспрессии молекул ICAM-1, ICAM-2, LFA-1, LFA-3, Mac-1 в ответ на медиаторы воспаления и потерей клеточной массы органа. Снижение экспрессии вышеназванных молекул моноклональными антителами, а также глюкокортикоидами и кортикостероидами снижает выраженность воспалительной реакции [185, 328].

Справедливость данной концепции может быть также подтверждена эволюционной взаимосвязью молекул кадхеринов («контактинов», гистоспецифически опосредующих контактные взаимодействия клеток путем объединения их цитоскелетов в единые гистосистемы, что является фундаментом

гисто- и органогенеза); CJM (cell junction molecules), участвующих в формировании сложных межклеточных контактов; ICAM (гистонеспецифически участвующих в поддержании тканевой интеграции и служащих лигандами молекул лейкоцитарных  $\beta 2$  интегринов);  $\beta 1$ -интегринов, обеспечивающих гетеротипическую адгезию к другим тканям; IgG; рецепторов факторов роста; белков главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I, которые необходимы для обеспечения реакций именно клеточного иммунитета. Иммуноглобулины и другие перечисленные выше молекулы кодируются генами переменных и константных участков, возникшими в ходе эволюции в результате дупликации исходного предшественника, который весьма похож на ген одной из молекул кадхеринов

Гипотеза о ключевой роли в опухолевом процессе нарушений межклеточной адгезии не идет в разрез с многофакторностью и многоступенчатостью опухолеобразования; практически все существенные для канцерогенеза звенья, механизмы и факторы можно выстроить в единую систему молекулярных сигналов, зависящих от адгезивных нарушений на начальном этапе и приводящих к дальнейшим поломкам адгезии.

Гипотеза снимает главные критические замечания в адрес теории иммунобиологического надзора Ф. Бернета, которая не объясняет несостоятельность иммунных реакций при опухолевых процессах. Например, у бестимусных мышей (nude) частота возникновения опухолей такая же, как и у обычных животных; в "забарьерных" органах (ЦНС, передняя камера глаза, семенники и др.) опухоли возникают не чаще, чем в других; во всех случаях дефицита клеточного звена иммунитета должны были бы возникать множественные поликлональные опухоли, однако опухоли развиваются, как правило, в одной ткани, и они моноклональны; иногда малое число опухолевых клеток прививается у новых хозяев лучше, чем большее их число; при некоторых состояниях с продолжительной иммуносупрессией (лепра, саркоидоз, уремия) не наблюдается увеличения частоты развития опухолей и т. п. [32].

С позиций выдвигаемой гипотезы можно объяснить и недостаточную

эффективность применяемых в клинической онкологии методов, с одной стороны, "уничтожения" самой опухоли (хирургия, химиолучевая терапия), а с другой – методов усиления иммунологических механизмов в организме с опухолью (иммуномодуляторы и вакцины). Даже при радикальном удалении опухолевого узла оставшаяся здоровая ткань продолжает быть дефектной по адгезионному фактору и является источником возникновения опухоли в будущем. В случае нерадикальной операции при микроинвазиях и микрометастазах опухолевые клетки, лишенные "посадочных площадок" для эффекторов иммунитета, интенсивно "цепляясь" за полноценные субстраты других органов и тканей, усиленно размножаются с прогрессирующим подавлением апоптоза и усугублением лекарственной устойчивости [277].

Несмотря на достижения в разработке способов лечения опухолевых заболеваний, его успехи, вероятно, лимитируются отсутствием эффективных средств, обладающих адгезиогенным действием. В этом направлении получены обнадеживающие результаты: при использовании аденовирусного вектора, обеспечивающего трансдукцию ICAM-2 в клетки метастатического рака желудка, усиливалась адгезия и активность натуральных киллеров в отношении опухолевых клеток, результатом чего явилось подавление метастазирования [382].

Целесообразным представляется определение интегринового профиля для опухоли каждой локализации, что должно иметь значение для прогноза и диагностики (в том числе для выяснения источника метастазов при неизвестном первичном очаге опухоли). Поиск препаратов и воздействий, подавляющих адгезию к субстрату (например, с помощью антител или соответствующих лигандов к определенным молекулам, путем нарушения экспрессии их рецепторов с использованием генных "нокаутов" или "антисмысловой" стратегии, а также с помощью неспецифических факторов), может иметь существенное значение для профилактики и лечения метастазов [209; 212].

#### **1.1.4 Инфильтрация опухолей лимфоцитами – прогностический фактор, который нельзя игнорировать**

Инфильтрация опухолей Т-лимфоцитами может иметь как благоприятный (в случае регрессии опухоли) так и отрицательный прогноз заболевания (при опухолевой прогрессии [79; 127; 170; 266; 351]. Вместе с тем, прогноз может зависеть и от характеристики отдельных интратуморальных субпопуляции лимфоцитов. Так, присутствие в инфильтрате CD4<sup>+</sup> лимфоцитов (Th2 фенотипа) и миелоидных клеток определено параллельно с прогрессированием заболевания. Выявление в опухолевом инфильтрате цитотоксических Т-лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> способствует регрессии опухолевого очага [250]. Однако, лишь в некоторых исследованиях прослежена связь инфильтрации опухолей лейкоцитами с выживаемостью [266].

В ряде работ показано, что условием регрессии опухоли при инфильтрации цитотоксическими CD8<sup>+</sup> лимфоцитами является терминальная стадия их дифференцировки (CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup> лимфоциты), экспрессия гранзимов, перфорина и ИФН-гамма. Подавление выработки трансформирующих факторов роста (TGF- $\beta$  и TGF- $\gamma$ ) опухолевыми клетками было показано при соблюдении этих условий [82, 100, 159, 398, 421].

На сегодняшний день актуален поиск возможных иммунотерапевтических воздействий с целью коррекции субпопуляционного состава опухолеинфильтрирующих лимфоцитов и улучшения прогноза у онкологических больных [10]. Основной целью противоопухолевой иммунотерапии, очевидно, является индукция реактивности CD8<sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитов. Возможно, существенную роль в реализации цитотоксического эффекта ОИЛ играют молекулы клеточной адгезии ICAM-1 и LFA-1. Стойкое ингибирование ОИЛ-индуцированной цитотоксичности наблюдалось, когда клетки меланомы были предварительно обработаны моноклональными антителами к ICAM-1 и LFA-3 или когда аутологичные ОИЛ были предварительно обработаны моноклональными антителами против LFA-1. Во многих случаях показана корреляция ОИЛ-индуцированной цитотоксичности и уровня экспрессии ICAM-1), а также лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 [316].

## 1.2 Цитокины как медиаторы межклеточных контактов

Цитокины представляют собой биологически активные вещества пептидной структуры, участвующие в межклеточных взаимодействиях при регуляции таких процессов как эмбриогенез, дифференцировка иммунокомпетентных клеток, синтез белков острой фазы воспаления, ангиогенез, хемотаксис лейкоцитов, гемопоэз, апоптоз. Развитие цитокиновой системы сопряжено с эволюцией многоклеточных организмов и определено потребностью образования посредников межклеточных взаимодействий (молекул адгезии, нейропептидов, гормонов). Цитокины обеспечивают связь и согласованность действия между различными системами организма - иммунной, нервной, эндокринной и кроветворной как в норме, так и при патологических состояниях организма [48, 155].

На сегодняшний день известно около 200 гликопротеидов, входящих в группу цитокинов. Они продуцируются лимфоцитами, макрофагами, фибробластами, эндотелиальными клетками [70]. Влияние цитокинов осуществляется аутокринным, паракринным и эндокринным способами.

Далее представлена характеристика некоторых цитокинов, участвующих в развитии злокачественных новообразований.

Интерлейкин-6 (ИЛ-6) - представляет собой мономер с молекулярной массой 19-34 kDa, синтезируется лимфоцитами, мононуклеарными фагоцитами, фибробластами, эндотелиальными и др. клетками. ИЛ-6 участвует в дифференцировке В-лимфоцитов, антителообразовании, подавляет апоптоз нейтрофилов. Является мощным провоспалительным цитокином.

Различные культуры опухолевых клеток экспрессируют ИЛ-6 и его рецепторы. Большинство злокачественных новообразований (при опухолях желудка, печени, кишечника, почек, яичника, опухолях головы и шеи, гортани, поджелудочной и предстательной желез) сопряжено с ростом ИЛ-6. И это приводит к неблагоприятным клиническим прогнозам [213, 231, 336]. В то же время показана способность ИЛ-6 индуцировать регрессию слабоиммуногенных опухолей на ранних этапах развития [208].

Показано, что снижение опухолевого роста можно достичь блокировкой

ростового сигнала ИЛ-6 [200].

Увеличение в крови уровня ИЛ-6 и ИЛ-10 может служить патогенетическим фактором таких состояний онкологических больных как анорексия и кахексия (участвуя в расщеплении мышечных белков), усугубляя неудовлетворительное качество жизни [162, 228, 327, 376]. Усиление синтеза СРБ под действием ИЛ-6 способствует также прогрессированию атеросклероза у онкологических больных [153, 216]. Вместе с тем, повышение уровня ИЛ-6 при индукции активации метаболических путей различных киназ (JAK, STAT3, PI3K, Akt, Ras-МАРК) способствует усилению множественной лекарственной устойчивости (MDR) у онкологических больных [168, 234].

Интерлейкин 10 (ИЛ-10). Его вырабатывают цитотоксические клетки, моноциты, Т-хелперы типа I и др. ИЛ-10 оказывает иммуносупрессивное действие в отношении пролиферации и активности Т-клеток, синтеза ИЛ-2, ИНФ- $\gamma$ . Угнетает выработку провоспалительных цитокинов [275, 287, 329, 393]. Имеются данные о способности ИЛ-10 ингибировать экспрессию адгезионной молекулы ICAM-1 [347]. При повышении продукции ИЛ-10 подавляется Т-клеточный иммунный ответ вследствие чего прогрессия опухолевого роста приводит к неудовлетворительным прогнозам заболевания [78, 376]. Коррекция регуляторных механизмов продуцирования ИЛ-10 может быть мощным инструментом «в борьбе» против рака [275].

Интерферон-гамма (ИФН- $\gamma$ ). Выделен впервые из среды культивирования лейкоцитов, активированных антигеном. Помимо противовирусной активности обладает выраженными иммунорегуляторными свойствами. Поэтому и получил название иммунный ИФН. ИФН- $\gamma$  продуцируется макрофагами, CD4<sup>+</sup> Th0-лимфоцитами, НК-клетками. Он обладает выраженными иммунорегуляторными эффектами путем модуляции функций свыше 200 генов [70, 157, 182].

ИФН- $\gamma$  активирует макрофаги, повышая скорость фагоцитоза и усиливая продукции ими NO. Кроме того, ИФН- $\gamma$  повышает эффективность антигенпрезентирующих клеток, усиливая экспрессию антигенов гистосовместимости II класса [235].

Чувствительность опухолевых клеток к различного рода противоопухолевым воздействиям под влиянием ИФН- $\gamma$  повышается. Индукция программированной клеточной гибели опухолевых клеток, а также апоптоз-индуцирующая активность ФНО показана для ИФН- $\gamma$ .

Вместе с тем, противоопухолевый эффект ИФН- $\gamma$  может быть связан с его способностью вызывать ишемию опухоли, напоминающую физиологическую регрессию кровеносных сосудов [203].

Фактор некроза опухолей (ФНО) - термин, объединяющий ряд цитокинов, в том числе рецептор нейротрофина, ФНО-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд (TRAL), лимфотоксин, мембранные молекулы CD-40 и CD-30 и др. [178, 202, 310, 321]. ФНО продуцируется эндотелиальными клетками, активированными мононуклеарами и НК-клетками, Т-хелперами и Т-супрессорами [345]. Члены этого семейства обладают как мощными провоспалительными свойствами (ФНО- $\alpha$ ), так и участвуют в апоптоз-индуцирующей функции иммунной системы (ФНО-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд (TRAL) и развитии лимфоидных органов (лимфотоксины  $\alpha$  и  $\beta$ ).

Цитокины являются неоднозначными регуляторными факторами межклеточных взаимодействий между развивающейся опухолью и эффекторами иммунитета. Они могут как активировать иммунные реакции против опухолей, так и способствовать их прогрессии и метастазированию [147, 431].

Так, показано, что хронический воспалительный компонент в различных органах, в норме способствующий заживлению ран, может приводить к усилению опухолевой прогрессии, хотя «по правилам» иммунологического надзора развитие воспалительных реакций должно способствовать элиминации опухолей на начальном этапе их развития [365].

Литературные данные указывают на то, что в большинстве случаев хроническое воспаление сопровождается синтезом таких мощных провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО, обладающими проопухолевыми эффектами и способствующими инициации роста опухолей [77].

В то же время нарушение синтеза провоспалительных цитокинов может приводить к опухолевой резистентности. Так, резистентность к развитию рака кожи наблюдали у мышей, дефицитных по гену ФНО [80], а дефицит гена ИЛ-6 способствовал устойчивости к развитию плазмоцитом [238].

Экспрессия рецепторов для провоспалительных цитокинов свойственна большинству опухолевых клеток. Транскрипционные факторы NFκB, STAT1, STAT3, являющиеся сигнальными молекулами для ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО, экспрессируют гены, участвующие в пролиферации, синтезе ростовых факторов для опухолевых клеток. Очевидно, подавление экспрессии NFκB, STAT1, STAT3 может привести к ослаблению опухолевого роста [353, 437].

При опухолевом процессе, как правило, не происходит повышения экспрессии молекул адгезии при увеличении выработки интерлейкино 6 и 10. Если повышение экспрессии молекул адгезии, всё же, осуществляется, может происходить спонтанная регрессия опухоли при ее инфильтрации Т-лимфоцитами [109, 139, 303].

Эволюционное развитие многоклеточных организмов и формирование системы цитокинов шли параллельно. Посредниками межклеточного взаимодействия при этом выступали молекулы адгезии. Этот факт можно рассматривать также в пользу того, что цитокины участвуют в аранжировке адгезивных взаимодействий организма.

Таким образом, изучение цитокинового профиля может повысить значимость роли адгезивных взаимодействий при опухолевом процессе.

### **1.3 Функционирование дофаминергической системы и рак**

#### **1.3.1 Дофамин в процессе старения**

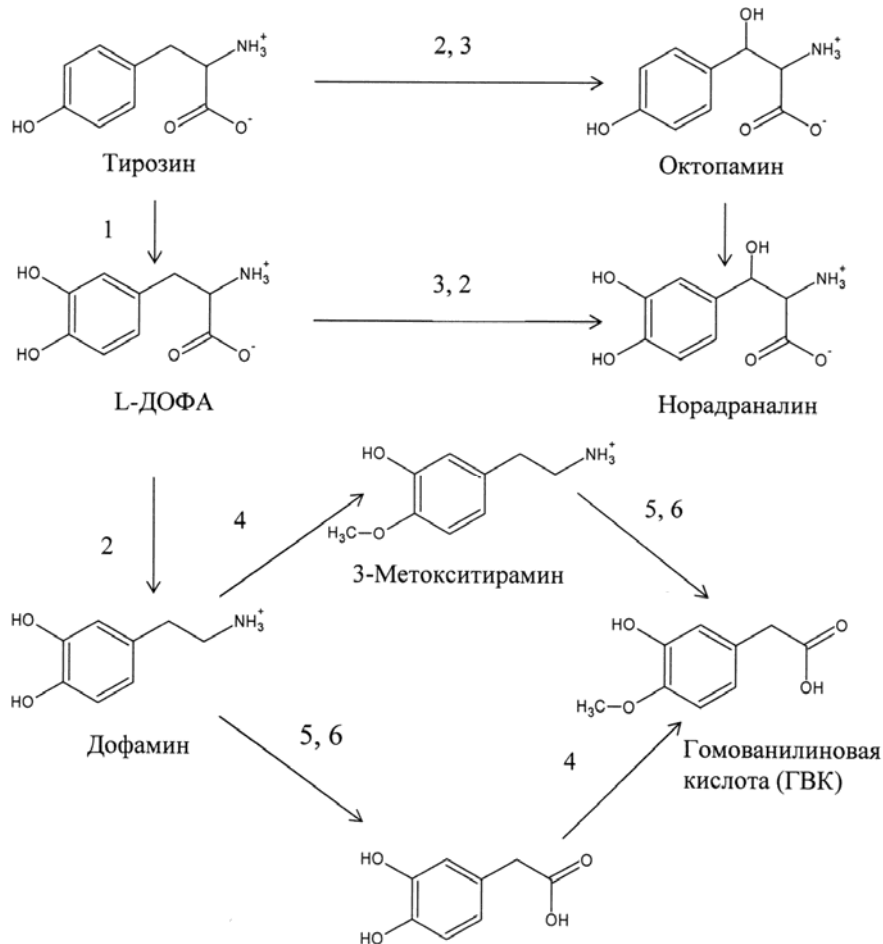
(ДА) Дофамин является 2-(3,4-дигидроксифенил)-этиламином и относится к основным нейромедиаторам головного мозга. Образуется он из аминокислоты тирозина. Основные пути метаболизма дофамина в организме показаны на рисунке 1 [51].

ДА является не только предшественником норадреналина и адреналина, но и обладает самостоятельной регуляторной активностью в центральной нервной



системе (ЦНС) [191].

Несмотря на то, что нейроны могут жить более 100 лет, а нейрогенез способен заменять погибшие нейроны, в течение жизни происходит функциональное угасание дофаминергической системы [42; 371].



**Рисунок 1** - Основные пути образования и обмена дофамина: 1 – тирозингидроксилаза, 2 – ДОФА-декарбоксилаза, 3 – катехоламин- $\beta$ -гидроксилаза, 4 – катехоламин-О-метилтрансфераза, 5 – моноаминоксидаза, 6 – альдегиддегидрогеназа

Потерю дофаминовых нейронов в качестве ключевого фактора старения связывают с угасанием когнитивных и моторных функций. Снижение уровня нейронов с возрастом выявлено в нигростриатных и гиппокампальных участках головного мозга [104]. Участки мозга, вовлеченные в регуляцию когнитивных и двигательных функций, очень чувствительны к окислительному стрессу [1, 154,

343].

Нейроны среднего мозга, черной субстанции, полосатого тела формируют nigrostriатную структуру. Являясь частью двигательной системы, она содержит около 80% ДА и наиболее восприимчива к потере функции дофаминовых нейронов при старении [317, 341]. У новорожденных в этой части мозга насчитывается - 400 тыс. нейронов. К 60 годам их число уменьшается до 250 тыс. [1, 51, 341].

Дисфункция мезолимбической системы приводит к когнитивным, мотивационным, психическим и эмоциональным расстройствам [1].

Нейроэндокринной регуляции находится в ведении тубероинфундибулярной, перивентрикулярной систем [1].

В процессе повреждения и гибели дофаминовых нейронов при старении участвуют механизмы, усиливающие развитие окислительного стресса: образование свободных радикалов с помощью моноаминоксидаз, что приводит к образованию токсичных продуктов дофаминового метаболизма; низкий уровень антиоксидантной защиты в мозге (особенно каталазы); низкая экспрессия нейротрофических факторов в области уязвимости дофаминовых нейронов (например, черная субстанция); высокий уровень ионов железа, связанный с возможным нарушением регуляции гема [166, 177].

Кроме того, фермент тирозингидроксилаза (ТГК) может быть ингибирован окислением [108]. Высокий уровень мутаций в митохондриальной ДНК дофаминовых нейронов обнаружен с увеличением возраста [325]. Дегенеративные процессы аксонов связывают с агрегацией альфа-синуклеина и фосфорилированной ТГК [137, 172].

Выявлено, что потеря дофаминовых нейронов опосредована воспалительными процессами в микроглии. Последняя может быть активирована нейротоксинами, патогенами, фрагментами белков и клетками с экспрессией маркеров апоптоза. Активированная микроглия элиминирует нейроны, в том числе с помощью продукции свободных радикалов и цитокинов [14, 53]. В возрасте 80 лет выявлена значимая реактивность микроглии в черной субстанции

головного мозга, что способствует гибели дофаминовых нейронов [99].

С возрастом снижается ДА, падает активность ТГК, которая может быть и полностью утрачена. В результате в нейронах накапливается нейромеланин в качестве конечного продукта деградации ДА.

Первые морфологические признаки старения человеческого мозга наблюдаются в белом веществе уже к 20-40 годам, а к 40-50 годам и в сером веществе [64]. С увеличением возраста от 50 до 90 лет масса мозга снижается на 2-3% за десятилетие. При оценке уровня пигментированных (нейромеланином) нейронов в зависимости от возраста установлено, что их потеря составляет примерно 10 % за десятилетие, что приводит к максимальному снижению в пожилом возрасте примерно на 80 %. Кроме того, наблюдается потеря маркеров ДА (в том числе ТГК, дофаминового транспортера и дофаминовых рецепторов), которая составляет 6-10% за десятилетие с кульминацией 40-50% потери в возрасте 88 лет [90, 99, 343]. Показано, что у людей от 44 до 88 лет происходит потеря тирозингидроксилаза-позитивных нейронов в черной субстанции. Однако выявлено существенно меньшее снижение уровня дофаминовых нейронов у долгожителей, переживших возраст 100 лет [232].

Применение физических упражнений, диетического ограничения, эстрогенов и пролактина приводит к увеличению активности дофаминовых рецепторов. В целом, данные свидетельствуют о том, что меры, усиливающие передачу ДА, предотвращают возрастное снижение двигательных и познавательных функций мозга [343].

Таким образом, все вышеизложенное подтверждает мнение многих исследователей о том, что дофаминовые нейроны участвуют в «интриге», ограничивающей жизнь, в связи с чем они считаются главными биомаркерами старения [346].

### **1.3.2 Дофамин как эндогенный антидепрессант**

Интерес к функционированию дофаминергической системы в последнее время связан также с её вероятным участием в патогенезе депрессивных расстройств, которыми страдают около 20% населения земного шара. Дофамин при этом

характеризуется как эндогенный антидепрессант.

Потеря дофаминовых нейронов черной субстанции головного мозга была выявлена у пациентов при некоторых видах депрессии. А учитывая действие ДА в качестве антидепрессанта при депрессивном синдроме (ДС), потерю данных нейронов классически связывают с расстройствами при психозах и токсикомании. Кроме того, получено подтверждение клинической эффективности терапии с использованием агонистов ДА при депрессии. Возрастные депрессивные расстройства также можно объяснить с позиций гибели дофаминовых нейронов [338].

Согласно моноаминергической концепции ДС, депрессия вызывается снижением моноаминергической функции головного мозга. Основными моноаминами мозга являются, серотонин (5-НТ), ДА и норадреналин (НА). Взаимодействие 5-НТ и НА способствует выделению ДА. В частности, в ходе исследований на животных было выдвинуто предположение, что антидепрессанты изменяют активацию ДАергической системы [164]. Можно предположить, что "хорошее настроение" требует соответствующего уровня ДА. Очевидно, недостаток содержания ДА сочетается с развитием ДС. Вызывает интерес мнение о том, что этот молекулярный механизм может обеспечивать центральную нервную систему способностью развивать гибкое поведение в ответ на изменения окружающей обстановки [133]. Так, у мышей при нокаутированном транспортёре ДА выявлена неспособность приспосабливаться к окружающей обстановке (поведенческая негибкость), однако этот дефект уменьшился после введения галоперидола (блокатор дофаминовых рецепторов D<sub>2</sub>). Учитывая, что активация ДАергической системы связана с мотивацией и жизнелюбием, а также, что эти состояния утрачены при ДС, этот эффект может представлять лечебный потенциал антидепрессантных средств [291, 418].

Вместе с тем, функции систем ДА и НА взаимодополняемы [111]. Транспортёр НА, который является мишенью для некоторых антидепрессантов, способен переносить также и ДА. С другой стороны, серотонинергическая и ДАергическая системы взаимозаменяемы. Рецепторы 5-НТ экспрессируются

ДАергическими нейронами в среднем мозге, а окончания 5-НТ-нейронов способны выделять ДА при активности интернейронов [338]. Различные изоформы 5-НТ рецепторов образуют систему 5-НТ, которая необходима для регуляции выделения ДА. В частности, блокировка 5-НТ1А (метаболит серотонина) приводит к повышению уровня ДА в структурах головного мозга и к подавлению активности ДАергической системы в префронтальной коре. Эти эффекты могут поддерживать гипотезу о том, что десенсибилизация 5-НТ1А может привести к активации в глубоких частях мозга ДАергической системы, которая связана с хорошим настроением, чего не хватает пациентам с ДС.

Учитывая взаимосвязь моноаминергических систем, актуальным является создание антидепрессантов, нацеленных на ДАергическую систему опосредованно через НА и 5-НТ. При наркозависимости есть свидетельства того, что антидепрессанты, включающие ДА, действуют лучше по сравнению с другими. Например, ДА-антидепрессант номифензин действует через модуляцию взаимодействий 5-НТ, НА и ДА, что считается ключевым моментом для эффекта антидепрессантов. В результате последних исследований были предложены нейролептики второго поколения, препараты-модуляторы ДА и 5-НТ в качестве потенциальных антидепрессантов быстрого действия [388, 415]. Таким образом, можно полагать, что события, управляемые ДА, лежат в основе эффекта антидепрессантов.

Определенные механизмы регулируют экспрессию специфических нейрональных генов, связанных с нейрональной активностью, выживанием и, в конечном итоге, комплексной регуляцией сложного поведения. Так, показано, что материнская забота самок крыс, характеризующаяся усилением вылизывания и повышением ухоженности детенышей, приводит к подавлению глюкокортикоидных рецепторов [412]. Это событие способствует эффекту снижения тревожности у взрослых крыс [413].

Также было, например, выявлено, что кормление беременных мышей низкобелковой диетой приводило к изменению поведения рожденного потомства с гиперактивированной ДАергической системой. Это событие эпигенетически

связано с недостатком контроля экспрессии специфического белка, циклин-зависимого ингибитора киназы 1С, чьи показатели метилирования хуже по сравнению с нормальным белком. Если подобные стрессорные факторы играют роль в развитии психических расстройств у человека, то такое молекулярное событие может быть существенным для выявления предрасположенности к болезни, а также для стратегии профилактики ДС и других психических нарушений [400].

Активизация рецепторов ДА снижала гибель нейронов в зубчатой фации гиппокампа (смерть нейронов была индуцирована стрессом, вызванным разделением матерей и детенышей крыс).

ДА вырабатывается при положительных эмоциях человека. Даже счастливые воспоминания могут увеличить уровень дофамина. Это вызывает чувство удовлетворения и формирует «систему вознаграждения» мозга, способствуя процессам обучения. Мозг использует ДА для оценки и мотивации, закрепляя таким образом действия, важные для выживания и продолжения рода.

ДА имеет значение и для формирования чувства любви, в том числе материнской. В экспериментах на серых полевках *Microtus ochrogaster*, для которых характерны моногамные семьи, было показано, что ДА лежит в основе чувства привязанности к партнёру и супружеской верности у этих грызунов. Вероятно, сходную роль дофамин играет и у человека.

### **1.3.3 Дофамин как противоопухолевый агент**

ДА синтезируется в ЦНС, желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), мозговом веществе надпочечников [101, 151, 285]. Вместе с тем, выявлено, что ДА продуцируется различными субпопуляциями лимфоцитов и может играть роль в дифференцировке цитотоксических Т-клеток, контролировать их киллерную активность и участвовать в активной фазе иммунного ответа против опухоли [248, 272]. ДА также вовлечен в поведение опухоли, влияя на пролиферацию её клеток и ангиогенез [118, 289, 349].

В крови ~ 99% ДА запасается в тромбоцитах [313, 335], в плазме ~ 1% ДА циркулирует в свободной форме и в виде неактивного дофаминсульфата [150]. В

ЦНС ДА вовлечен в привелигированные центральные механизмы. К тому же, после транспортировки симпатическими нервами и тромбоцитами он также имеет периферические эффекты во всем организме [101]. Помимо собственных функций, ДА является предшественником адреналина и норадреналина в ЦНС и надпочечниках. ДА проявляет свои функции, связываясь с дофаминовыми рецепторами. Последние располагаются на клеточных мембранах мозга, сердца, почек, коры надпочечников, кровеносных сосудах, иммунокомпетентных клетках, окончаний симпатических нервов. Существует две основные группы ДА рецепторов: D1-подобные (D1, D5) и D2-подобные (D2, D3, D4). Например, D1 стимулирует накопление клеточного цАМФ, тогда как активация D2 подавляет его [101]. Транспортеры дофамина образуются в черной субстанции и вентрально-теgmentальной области (VTA) мозга, в желудке, почках, протоке поджелудочной железы и тромбоцитах [163, 391]. ДА разрушается в печени, мозге, почках [151].

Тромбоциты запасают ДА в плотных гранулах и являются их главными циркулирующими резервуарами [313, 335]. Активация тромбоцитов и высвобождение содержащего играют критическую роль при гемостазе, тромбозе и опухолевом ангиогенезе. При раке тромбоциты контактируют со стенкой сосудов опухоли и высвобождают свое содержимое, состоящее из ДА и серотонина, а также кальция, фактора V, фибриногена и VEGF-A, которое запасается в альфа-гранулах [190, 333].

Эксперименты *in vitro* показали, что ДА прямо может воздействовать на опухолевые клетки. У клеток рака яичников ДА (12,5-50  $\mu\text{M}$ ) уменьшал способность к инвазии в мембраны специальной культуральной системы и увеличивал апоптоз раковых клеток [289]. ДА (5  $\mu\text{M}$ ) также снижал пролиферацию клеток неходжкинской лимфомы. Этот эффект был нейтрализован свободными радикалами натрия метабисульфита. Авторы предполагают, что ДА индуцирует оксидативный стресс [278].

При опухолеобазовании у мышей концентрация ДА в костном мозге уменьшилась в 7 раз после трансплантации саркомы [117]. На другой мышинной модели инъекции 6-гидроксидофамина элиминировали периферические

ДАергические нейроны и таким образом индуцировали истощение ДА. У этих мышей возникала большая по объему подкожная меланома и саркома, чем у мышей с интактными периферическими ДАергическими нейронами. Мыши с истощенным ДА имели также увеличенную плотность опухолевых микрососудов и проницаемость, так же как и усиление фосфорилирования R2 рецепторов VEGF в опухолевых эндотелиальных клетках [98, 350]. В отличие от мышей с истощенным ДА, у мышей с нокаутированным транспортером был повышен системный уровень ДА. Когда клетки мелкоклеточного рака легкого имплантировали подкожно, эти мыши имели меньшие опухоли с более низкой плотностью микрососудов в сравнении с диким типом мышей [86]. Крысы, чувствительные к апоморфину (селекция из популяции крыс Wistar), имели гиперреактивную ДАергическую систему с более высоким количеством церебральной мРНК и дофаминового рецептора D2 белка тирозингидроксилазы. Через 7 дней после подкожной имплантации опухоли молочной железы были меньше, с более низкой плотностью микрососудов у крыс, чувствительных к апоморфину. Более того, у чувствительных к апоморфину крыс развилось меньшее количество метастазов в легких. [386].

Результатом воздействия ДА *in vivo* на разных моделях явилось подавление опухолевого роста и снижение плотности сети микрососудов в опухоли. ДА вводили внутрибрюшинно 50 мг/кг в день, что приводило к уровню ДА в плазме крови 1,2  $\mu\text{M}$  на мышшь и 2,4  $\mu\text{M}$  на крысу через 1 минуту после инъекции (5% от летальной дозы для грызунов). ДА также снижал сосудистую проницаемость в ксенографтах рака прямой кишки, молочной железы и яичников (человека) у мышей *nude* при меньшем развитии асцита в последнем случае. У опухолевых клеток под воздействием ДА снижено фосфорилирование VEGF-R2 и других мишеней, например, фокальной адгезионной киназы (ФАК) и митоген-активированной протеинкиназы [97, 116, 289, 349, 350].

В исследованиях на стрессированных мышях *nude* с ксенографтами рака яичников человека было показано, что лечение дофамином повышает степень покрытия перицитами сосудистой сети опухоли [289]. Между тем, усиленное



покрытие перицитами является показателем сосудистой нормализации, индуцированной антиангиогенной терапией [192].

Эффект ДА в комбинированной терапии был изучен у мышей с подкожно перевитой опухолью молочной железы, которые получали только ДА, только доксорубицин, ДА и доксорубицин или растворитель. ДА, доксорубицин и их комбинация тормозили рост опухоли (171%, 133% и 63% соответственно от начального размера опухоли) в сравнении с лечением растворителем (413% от начального размера) и увеличили продолжительность жизни (на 24%, 38% и 90%) в сравнении с контрольными мышами. Похожие результаты наблюдали у мышей *nude* с раком прямой кишки человека, леченых только ДА, только 5-фторурацилом, их комбинацией и растворителем [348]. У стрессированных мышей с раком яичников комбинация ДА с цисплатином повышала концентрацию цисплатина в опухоли при снижении в 6 раз ее размеров [289, 407].

Концентрация ДА также была изучена у онкологических больных. В опухолевой ткани рака прямой кишки у 36 пациентов уровень ДА был в 3-10 раз ниже, чем в здоровой ткани [95]. ДА и тирозингидроксилаза не выявлялись с помощью ВЭЖХ в ткани рака желудка 22 пациентов, в то время как присутствие того и другого было продемонстрировано в здоровой ткани желудка у 22 пациентов с аденоматозными полипами желудка [118].

Для достижения системного уровня ДА, который мог бы затормозить опухолевый рост, было проведено клиническое исследование. Четыре пациента с метастатической меланомой получали инфузии ДА в максимальной дозе 20 мкг/кг/мин в течение 48-120 часов, при этом уровень ДА в плазме достигал от 1 до 10  $\mu\text{M}$ . Однако исследование было остановлено из-за тяжелых кардиоваскулярных побочных эффектов после проведения только одного цикла терапии. *Ex vivo* тест на пролиферацию биопсийного материала, взятого до и сразу после цикла терапии, показал 10-кратное снижение (от 1-3 до 0,1-0,2) H3-тимидиновой метки в опухолевых клетках [416].

Различные типы опухолевых клеток экспрессируют дофаминовые рецепторы (ДАР) и ДАТ [165, 278, 288, 354]. На поведение опухолевых клеток могут влиять

агонисты дофаминовых рецепторов D2. Например, рост клонов человеческого мелкоклеточного рака легкого подавлялся агонистом D2 бромокриптином (0,1 nM) [193].

Мыши, нокаутированные по D2 рецептору, с мышью саркомой или меланомой имели увеличенный размер опухоли, большую плотность микрососудов и лучшую их проницаемость в сравнении с диким типом [98 118]. Можно полагать, что D2 рецепторы необходимы для проявления функций ДА [118].

Агонисты D2 бромокриптин и квинпирол (10 мг/кг) подавляют ангиогенез опухоли у мышей с раком яичников [97]. Антагонисты D2 этиклоприд или домперидон (10 мг/кг/день), введенные перед лечением ДА, наоборот, нейтрализуют дофаминовый эффект подавления роста рака желудка и яичников у мышей и крыс [118, 288, 289]. Индуцированное ДА покрытие перицитами сосудов не подвергалось воздействию антагонистом дофаминовых рецепторов D2 этиклопридом (10 мг/кг/день) [289].

Существуют данные, показывающие, что активация дофаминовых рецепторов D2 может подавлять клеточную пролиферацию опухоли, как показано в экспериментах с таргетной siРНК к D2. Учитывая опыты на стрессированных мышах с человеческим раком, можно заключить, что ДА подавляет опухолевый ангиогенез и, следовательно, опухолевый рост через активацию D2 [193]. Также при активации D2 рецепторов выявлен эффект ограничения опухолевого роста при раке желудка и поджелудочной железы человека [187, 332].

Выявлено также, что D2 дофаминовый рецептор был экспрессирован в ткани рака желудка 65 пациентов, однако был ниже в опухолях, чем в доброкачественных полипах и нормальной ткани желудка у 83% контрольных пациентов [94].

Вместе с тем влияние активации дофаминового рецептора D1 на опухолевый ангиогенез имеет конфликтный характер. В одних исследованиях показано, что мыши, нокаутированные по D1, с мышью карциномой легких имеют меньшие опухоли, чем дикий тип этих мышей. У дикого типа мышей антагонист D1 siН

23390 (0,3 мг/кг/день) подавляет опухолевый рост и снижает плотность сосудистой микросети [107]. Однако на мышах с раком яичников ни антагонист D1 siH 23390 (10,0 мг/кг/день) ни агонист D1 SKF38390 (10,0 мг/кг/день) не влияют на опухолевую васкуляризацию и возникновение асцита [97]. У стрессированных мышей с человеческой опухолью яичников SKOV3ip1 или HeuA8 антагонист D1 бутакламола (1,5мг/кг/день) не влиял на дофамин-индуцированное подавление ангиогенеза и опухолевый рост. Также бутакламола не подавлял усиленное покрытие перицитами опухолевых сосудов, вызванное воздействием ДА на этих моделях. У таких мышей введение агониста D1 SKF382958 (1,0 мг/кг/день) выражалось в увеличении покрытия перицитами опухолевых сосудов. Наряду с этим, комбинированное лечение цисплатином с агонистом D1 SKF382958 приводило к двукратному увеличению концентрации цисплатина в опухоли, по сравнению с печенью и почками, и 5-кратному снижению опухолевого роста в сравнении с контролем, который лечили только цисплатином [289]. Также выявлено, что ДА и агонисты дофаминового рецептора D1 через сигнальные пути протеинкиназы G индуцируют апоптоз, подавляют инвазию и снижают выживаемость ксенографтов рака молочной железы (разных линий). Например, агонист D1 рецепторов Фенолдопам подавлял рост клеток рака молочной железы, усиливая их апоптоз и некроз [107].

Недавние результаты на мышах nude свидетельствуют о подавлении пролиферации и жизнеспособности клеток глиобластомы человека антагонистами D4-рецепторов [145].

Суммируя вышесказанное, ДА и тирозингидроксилаза присутствуют в меньшей концентрации в опухолях, чем в доброкачественных тканях. Увеличение уровня ДА при его введении системно, как показали исследования, вероятно, подавляет пролиферацию опухолевой ткани у пациентов, например, с меланомой. Однако применение такого лечения пока не представляется возможным из-за выраженной токсичности данного катехоламина.

Вклад дофаминергической системы в механизмы иммуномодуляции.

Следует особо указать, что ДА вовлечен в регуляцию иммунной реактивности

организма. Различные субпопуляции лимфоцитов продуцируют ДА и экспрессируют практически все из известных к настоящему времени типы ДА рецепторов. Способность эндогенного ДА, а также агонистов и антагонистов его рецепторов, присутствующих на клетках иммунной системы, оказывать влияние на процессы клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, миграционные свойства лимфоцитов, продукцию цитокинов и, как следствие на развитие иммунопатологических процессов широко отражены в публикациях [309, 350, 387, 392, 411, 420].

Экспериментальные и клинические наблюдения демонстрируют существенные взаимодействия между ЦНС и иммунной системой. Выявлено, например, что истощение «центрального» ДА при введении в головной мозг нейротоксина 6-гидроксидофамина (6-OHDA) приводит к снижению содержания периферического ДА, а также к подавлению пролиферации лимфоцитов и продукции ими ИЛ-2, ИФН- $\gamma$ . Кроме того, уменьшается уровень натуральных киллеров в селезенке и в периферической крови, а также содержание периферических цитотоксических Т-клеток (CD8<sup>+</sup> лимфоцитов). Системное введение другого нейротоксина 1-метил-4фенил-1,2,3,6-тетрагидроперидина (МФТП) сопровождается угнетением пролиферации Т-лимфоцитов селезенки в ответ на митогены, цитотоксической активности Т-клеток, натуральных киллеров, усилением роста трансплантированной карциномы Эрлиха, повышением в плазме крови уровня интерлейкинов 1 $\beta$  и 6 [96, 350, 358, 396]. Таким образом, результаты показали критическую роль центрального и периферического ДА в модуляции функций иммунитета [315].

Оперативные или химические разрушения нигростриатных структур мозга широко применяются для создания экспериментальных моделей болезни Паркинсона и депрессивного синдрома, которым также свойственно подавление иммунологической реактивности [52, 161].

Вместе с тем, выявлены существенные различия иммунной реактивности крыс линии APO-SUS, выбранных в качестве модели шизофрении при высокой чувствительности к апоморфину, по сравнению с гиподофаминергической, менее

чувствительной к апоморфину линией APO-UNUSUS. Крысы линии APO-SUS, наряду с гиперактивностью DAергической системы и типичными для шизофрении поведенческими реакциями, характеризуются замедлением процессов развития опухолей, их метастазирования и роста питающих опухоль сосудов [386]. Подавление роста опухолей и их васкуляризации, а также высокий IgG-иммунный ответ отмечались и при использовании генетической модели шизофрении у мышей с врожденным недостатком DA транспортера (DAT knockout mice), что приводит к гипердофаминергии за счет усиления в нервных терминалах DAергической трансмиссии [86; 211].

Ингибиторы DAергических рецепторов D1 и D2 способствуют подавлению цитолитической активности T-лимфоцитов при нарушении формирования конъюгатов эффекторов иммунитета с клетками мишенями. Воздействие ингибиторов дофаминергических рецепторов D1 и D2 также предотвращало повышение цитотоксической активности T-лимфоцитов, индуцированной ИЛ2 и ИФН $\gamma$ . Таким образом, катехоламин DA может контролировать киллерную активность лимфоцитов и адгезионные взаимодействия последних с клетками-мишенями [419].

Выявлено также, что DA способствует созреванию тимоцитов, а также дифференцировке лимфоцитов. При этом в большей степени экспрессия дофаминовых транспортеров и рецепторов показана при дифференцировке CD8 $^{+}$ , чем CD4 $^{+}$  лимфоцитов. Более выраженная экспрессия DAергических маркеров в CD8 $^{+}$  популяции лимфоцитов говорит в пользу того, что DA может играть роль в созревании цитотоксических T-клеток и участвовать в активной фазе иммунного ответа [272].

Вместе с тем, известно, что пересечение гипофизарной ножки препятствует проявлению эффектов на иммунные реакции веществ, усиливающих или подавляющих активность DAергической системы. Это является убедительным экспериментальным подтверждением центрального характера иммуномодулирующего влияния DAергической системы [2, 3, 44].

Периферическим звеном реализации влияния DAергической системы

является тимус. Его удаление, в частности, предотвращает усиление иммунных реакций, вызванное либо прямой активацией ДАергической системы селективными агонистами, либо снижением активности серотонинергической системы, которая взаимодействует с ДАергической системой, что имеет принципиальное значение для регуляции иммунной функции [84; 142].

Серотонин и рак. *In vitro* на некоторых опухолевых линиях было показано, что серотонин стимулировал их пролиферацию [114, 144, 146, 183, 255, 334, 363, 368, 370]. В культуре клеток холангиокарциномы человека уровень мРНК триптофангидроксилазы был в 2,5-50 раз выше, а мРНК МАО-А - в 2 раза ниже в сравнении с незлокачественными холангиоцитами. Таким образом, продукция серотонина опухолевыми клетками была повышена. Ограничение роста человеческой холангиокарциномы у мышей после воздействия ингибитором триптофангидроксилазы СРА (150 мг/кг трижды в нед) в течение 2-х месяцев может служить основанием для предположения, что снижение уровня серотонина влияет на поведение опухоли, задерживая её рост [84]. Серотонин стимулировал пролиферацию клеточной линии человеческой гепатоцеллюлярной карциномы Нuh7 в бессывороточной среде, индуцируя фосфорилирование FOXO3A. Вместе с тем, этот эффект не наблюдается в двух других линиях человеческой гепатоцеллюлярной карциномы — НерG2 и Нер3b [255].

Эксперименты *in vitro* также показали, что различные 5НTR рецепторы могут присутствовать на нескольких типах опухолевых клеток. Опухолевый рост может быть подавлен антагонистами 5НTR, экспрессированными на опухолевых клетках. В клетках мелкоклеточной карциномы легкого 5-НTR1A и 5-НTR1D могут быть мишенями антагонистов (500 нМ спиперона, GR127935) для достижения максимального подавления клеточного роста, индуцированного серотонином. Воздействие антагонистом 5НTR2В — SB204741 (20 мг/кг) снижало опухолевый рост и плотность сети микрососудов у мышей при раке легкого и меланоме [86].

У онкологических пациентов были проведены иммуногистохимические исследования. Для выявления нейроэндокринных опухолевых клеток были

использованы маркеры хромогранин А и серотонин, позволяющие идентифицировать нейроэндокринные очаги при раке простаты. Наличие серотонин-позитивных клеток сочеталось с высокой плотностью микрососудов и VEGF экспрессией [125, 183]. У 109 пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой экспрессия 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>1B</sub> в опухолевой ткани была повышена по сравнению с окружающей здоровой тканью печени. У 176 пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой экспрессия 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> и 5-HT<sub>2B</sub> сопровождалась высоким индексом пролиферации в опухолях. Кроме того, уровень экспрессии 5-HT<sub>1B</sub> коррелировал с размером опухоли у этих пациентов [368]. В случае рака простаты среди 25 пациентов экспрессия 5-HT<sub>4</sub> выявлялась только при 3-4 степени злокачественности [144]. У 102 пациентов с раком легкого была выявлена экспрессия 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> и 5-HT<sub>4</sub>. При этом не было выявлено корреляции между уровнем экспрессии рецептора и стадией процесса [225]. В 159 случаях метастазов в костях при карциноме и саркоме выявлено, что экспрессия серотонина в комбинации с рецептором 1 фактора некроза опухоли ассоциирована с низкой выживаемостью [126].

Таким образом, основываясь на данных литературы, можно сделать вывод о том, что ДА ингибирует рост опухоли, в то время как серотонин его стимулирует. [331]. Эксперименты на животных и *in vitro* показали, что ДА подавляет пролиферацию опухолевых клеток через активацию D<sub>1</sub> и D<sub>2</sub>-рецепторов. Однако использование ДА для лечения весьма проблематично из-за токсичности в отношении сердечно-сосудистой системы. Наряду с этим, выявлено, что ДА может играть роль в дифференцировке цитотоксических лимфоцитов, контролировать их киллерную активность и участвовать в активной фазе противоопухолевых иммунных реакций организма. Вероятно, перспективными являются клинические исследования индукторов ДА или агонистов его маркеров (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, ДАТ и др.)

Картину функционирования ДАергической системы можно представить следующим образом. При определенном содержании ДА с его рецепторами в ЦНС и на периферии поддерживается соответствующий уровень двигательной

активности скелета, тонуса внутренних органов и сосудов, а также когнитивных (познавательных) возможностей головного мозга. Вместе с тем, сохраняется мотивационная, эмоциональная функция, хорошее настроение, жизнелюбие, способность развивать гибкое поведение в ответ на изменения окружающей обстановки с комплексной регуляцией сложного поведения. Иными словами, чем дольше поддерживается соответствующий уровень жизнеспособных дофаминергических нейронов, тем менее активны механизмы старения и более продолжителен жизненный процесс.

Наряду с этим, определенный уровень ДА в периферическом организме, основные запасы которого содержатся в тромбоцитах крови, может служить гарантом, в том числе, противоопухолевой защиты, поскольку ДА способен подавлять пролиферацию опухолевых клеток и развитие питающих их сосудов. Будучи продукцией в том числе и лимфоцитов, играя роль в дифференцировке цитотоксических CD8+ лимфоцитов, миграционных свойствах и контроле их киллерной активности с образованием конъюгатов с клетками-мишенями, ДА может участвовать в активной фазе противоопухолевых иммунных реакций организма. В данном случае катехоламин ДА можно расценивать в качестве эндогенного токсического агента для опухолевых клеток. Последнее также вносит свой вклад в защиту организма от опухолевых патологий, связанных с ускоренным старением, которые, очевидно, ограничивают долголетие.

Таким образом, вышеизложенное подтверждает мнение, что ДАергические нейроны участвуют в «интриге», ограничивающей жизнь, поскольку их полагают главными биомаркёрами старения и стрессорных процессов, при том, что ДА может участвовать в противоопухолевой защите организма.

В связи с этим изучение нарушения численности ДАергических нейронов при спонтанном гепатоканцерогенезе мышей-самцов инбредной линии СВА, а также значимости коррекции этого показателя для процесса опухолеобразования является одной из задач данной работы.

#### **1.4 Возможности использования фитоадаптогенов в онкологии**

На первом этапе были изучены тонизирующие и стимулирующие эффекты ФА



на организм [37, 43]. Поэтому и характеризуются они, в первую очередь, как тонизирующие средства. Позднее было показано, что ФА являются корректорами функций организма, в одних случаях, стимулируя, в других - подавляя, словом, - нормализуя реакции организма в экстремальных условиях, или в условиях соматического стресса. В частности, ФА ускоряют половое созревание молодых, увеличивают детородный период стареющих животных (самок и самцов) и не влияют в этом направлении на половозрелых животных [75]. Также выявлено, что ФА ускоряют дифференцировку эмбриональных клеток морских ежей и амфибий, повышают степень дифференцировки, например, клеток мышины меланомы В16 и гепатокарциномы, тормозя опухолевый рост [314, 443].

Таким образом, препараты адаптогенов, вероятно, являются индукторами программы дифференцировки (а не стимуляторами клеточного деления), поддерживая тканевые системы в высокодифференцированном состоянии (гомеостаза), характерном для зрелого онтогенеза.

#### **1.4.1 Антистрессорное действие фитоадаптогенов**

ФА – понятие, которое было введено в 50-е годы минувшего века ленинградским фармакологом профессором Н.В. Лазаревым. Содержащиеся в ФА биологически активные вещества, как правило, отличает широкий диапазон клинических возможностей при минимальных побочных реакциях.

Ученики Н.В. Лазарева (И.И. Брехман, Н.К. Фруентов, Н.В. Дардымов) сконцентрировали свои усилия на изучении и выявлении растений как потенциальных источников БАВ с адаптогенной активностью. Дальневосточная флора России является богатым источником ФА. Среди них такие эндемические растения, как женьшень, родиола розовая, элеутерококк, заманиха, левзея и др. Вслед за первопроходцами устремились преимущественно китайские, японские, южнокорейские исследователи. В результате в работах, появившихся с конца 90-х годов XX столетия, с применением передовых методических подходов, удалось уточнить и обосновать первоначальные знания, расширив круг клинических показаний для ФА [359, 360, 385]. Адаптогены из растений в условиях стрессорного воздействия способствуют более эффективной реализации этапов

срочной и долговременной адаптации. Проявлением этого служит ингибирование гиперергических повреждений, возникающих на стадии тревоги, усиление восстановительных метаболических процессов, пролонгирование стадии резистентности стресса и задержка развития стадии истощения. ФА обнаруживают и лечебные свойства, ликвидируя разрушительные последствия стресса для деятельности различных систем и органов [60, 72, 75, 156, 241].

Н.В. Лазарев показал, что, изменяя общий уровень деятельности защитных систем организма, влияя фармакологическим путем на «предшествующие в организме комплексные защитные реакции и механизмы», можно вызвать в организме состояние неспецифической повышенной сопротивляемости (СНПС). При этом подчеркивалась перспективность такого направления по сравнению с попытками влиять на отдельные звенья в цепи нарушений, развивающихся в организме. Он и ввел понятие «адаптогены», которое теперь используется не только в отечественной, но и в зарубежной научной литературе. Были выработаны требования, которым должны отвечать препараты, способные «разбудить и встряхнуть» внутренние резервы организма, заложенные природой, но «загнанные» и истощенные современным образом жизни, неестественным питанием, ухудшающейся экологией. Подобные средства должны быть абсолютно безвредными и обладать большой широтой лечебного действия; ограждать организм от самых разнообразных вредоносных факторов, помогать тем активнее, чем более глубоко поражен организм.

Учение о СНПС и адаптогенах может служить в значительной мере теоретической базой для применения различных лечебных природных веществ, которые составляют основу профилактической медицины. Действие фитоадаптогенов, направленное на формирование СНПС и повышение устойчивости к нагрузкам, сводится к нескольким основным моментам. Адаптогенный эффект в рамках СНПС предполагает психоэмоциональную стабилизацию, повышение умственной и физической работоспособности, понижение чувствительности к инфекциям и т. п. Достигается подобная защита путём оптимизации функций, связанных между собой основных защитных систем

организма – нервной, иммунной и эндокринной – и сопряженных с ними механизмов [37, 66, 85, 311].

ФА ослабляют чувство тревоги, способствуют психостабилизации через запуск процессов, предотвращающих развитие стрессорной реакции процессов. У отдельных ФА, например, женьшеня налицо заметная анксиолитическая активность [188]. Она сочетается с усилением тормозной ГАМК-ергической передачи и эмоциогенных структур мозга. С другой стороны, на примере изучения кардиопротекторных и противоаритмических свойств ФА показано вовлечение опиоидных пептидов, в частности, бета-эндорфина, а также катехоламинов, в том числе дофамина, в реализацию их антистрессорного эффекта [56, 58]. Кроме того, обязательным «аккомпанементом» стресса служат разнонаправленные сдвиги в состоянии иммунитета [7].

К последствиям хронического стресса можно отнести нарушения, определяемые в функционировании, например, органов желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы и др., Часто на фоне хронического стрессирования организма возникают онкологические заболевания. ФА, благодаря своим свойствам, могут оказывать нормализующее влияние на соматические изменения, вызванные хроническим стрессом.

ФА неспецифически предотвращают оксидантный стресс, обеспечивая защиту тканей от подобного рода стрессорных повреждений. Гинзенозид Rg1, например, показал защитные свойства на изолированные нейроны черной субстанции (продуцирующих дофамин) крыс при оксидантном стрессе, вызванном митохондриальным токсином ротеноном. [39, 246, 369, 399]. При внесении в среду культивирования эритроцитов человека экстракт родиолы розовой оказывал протективное действие на клетки при оксидативном стрессе, вызванным обработкой соляной кислотой. Применение ФА предупреждало токсическое действие четыреххлористого углерода на печеночную ткань крыс с повышением активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы и ограничением накопления малонового диальдегида как одного из продуктов ПОЛ [141, 299].

Вклад в антистрессорное действие ФА вносит их способность регулировать биоритмы.

Наиболее частым свидетельством дизритмии являются изменение базального циркадного ритма сон-бодрствование, а также фазной структуры сна. Также могут выявляться нарушения суточных ритмов функционирования различных органов. Первичная дизритмия может облегчать развитие патологических сдвигов в деятельности центральной нервной системы и периферических органов [5].

Между тем, для препаратов ФА (женьшеня, родиолы, элеутерококка, аралии) характерна нормализация ночного сна. У здоровых молодых людей в условиях высокогорья препараты ФА оптимизировали структуру сна, увеличивали индекс эффективности сна [176; 340; 424]. Астенизированные больные с пре- и интрасомническими нарушениями при лечении родиолой заметно улучшали качество сна [66]. Применение пожилыми пациентами экстракта родиолы с витаминами ослабляло когнитивные нарушения с возрастанием устойчивости к стрессу и снижением бессонницы [220; 381].

Снотворное, успокаивающее и ритмоорганизующее действие как ФА, так и традиционных анксиолитиков может определяться тождественными механизмами взаимодействия тех и других с центральными ГАМК-бензодиазепиновыми рецепторными комплексами, которые участвуют в контроле за возбудимостью эмоциогенных структур мозга, заинтересованных в организации биоритмических процессов. Суммарные гинзенозиды женьшеня ограничивали захват меченных нейромедиаторов синапсами мозга крыс, но особенно четко это проявлялось в отношении ГАМК-ергических нейронов, которые считают точкой приложения действия ФА [374; 447].

Короткопериодные колебания в функционировании органов, в частности изменения ритма сердца, наряду с низкочастотной ритмикой, можно регулировать в результате воздействия ФА. Применение препарата элеутерококка, например, вызывало положительную перестройку параметров кардиоинтервалографии [59].

Важно упомянуть о сезонных биоритмах. Например, элеутерококк и женьшень лучше действуют осенью и зимой, но не весной и летом (в частности,

изменяют остроту зрения у испытуемых). При этом нельзя не отметить, что восточная медицина фактору сезонного действия ФА придает большое значение [8].

На начальном этапе изучения фармакодинамики ФА прежде всего оценивали их возбуждающее влияние на центральную нервную систему, которое предлагалось рассматривать как стимулирующе-тонизирующее. Под стимулирующим эффектом подразумевали повышение умственной и физической работоспособности на сравнительно короткое время, а под тонизирующим — обеспечение тех же самых сдвигов, но на более длительный срок. Положительной особенностью эффекта ФА признавалось то, что они не вызывают заметного субъективного возбуждения и неблагоприятных сдвигов в работе внутренних органов [37].

В частности, исследования показали отчетливое различие характера стимулирующего действия ФА и психомоторных стимуляторов (например, пиридола). Так, пиридол способствовал повышению работоспособности организма, оказывая при этом выраженное психомоторное возбуждение и снижение энергетического потенциала мозга. В то же время, воздействие экстракта родиолы розовой выражалось в оптимизации обмена углеводов и макроэргических соединений, Это приводило к более экономному их расходованию, а также эффективному ресинтезу. Результаты исследований на культурах клеток говорят в пользу того, что ФА участвуют в обеспечении стабильных функций митохондрий [110].

Общий смысл различий между двумя видами стимулирующего эффекта на метаболическом уровне, вероятно, заключается в том, что психомоторные стимуляторы в противоположность ФА, сильнее активируя обменные процессы, быстрее приводят к разрыву между ресинтезом энергетических соединений и их распадом, легче провоцируют негативные катаболические сдвиги в белковом обмене. Отставание воспроизводства необходимых для функции клетки метаболитов от темпов расходования ведет к довольно скорому развитию фазы угнетения с поведенческой депрессией после первоначального, резкого подъема

психомоторных проявлений [132; 188]. Для действия ФА более типичной оказывается хорошая сбалансированность процессов ресинтеза и потребления энергетических соединений в центральной нервной системе и на периферии, повышение анаболической активности тканей организма в целом. Обеспечивая мягкую нормализацию функций, ФА не вызывают последующего спада психомоторных показателей [267; 361].

Кроме того, наблюдаются различия при увеличении дозировок ФА и психомоторных стимуляторов. Так, повышение в несколько раз дозы экстракта родиолы розовой приводило на фоне стресса к преобладанию в поведении животных признаков успокоения, связанных с нормализацией работы таламокортикальной синхронизирующей системы мозга. При повышении же дозировок психомоторных стимуляторов, напротив, выраженность активационного ответа усиливается. Кроме того, амфетамины усугубляют изменение электрической активности и поведенческие сдвиги, вызванные нейролептиками, в то время как ФА не имеют подобных эффектов [66].

Описанные различия связаны с тем, что кофеин и фенамин неизменно активируют работу подкорковых моноаминергических синапсов. Фармакологическое усиление нигростриатной дофаминергической передачи ведет к ослаблению деятельности тормозной системы, обуславливая вторичную, а фармакологическое включение норадренергических звеньев в составе ретикулярной формации мозгового ствола — первичную стимуляцию неокортекса с признаками явного психического возбуждения [6].

Затрагивая центральную моноаминергическую передачу, ФА, в свою очередь, демонстрируют иной профиль фармакологической активности, в меньшей степени влияя на судьбу церебральных моноаминов. Однако в экспериментах на кроликах слабому активирующему влиянию низкой дозы родозина на показатели ЭЭГ сопутствовало возрастание концентрации ДОФА и дофамина в неокортексе и накопление их в гиппокампе [66]. При этом с увеличением дозировки ФА параллельно с синхронизацией ритмики ЭЭГ и нарастанием психодепримирующего эффекта отмечалось снижение уровня дофамина в

хвостатом ядре, а значит усиление сдерживающих влияний черной субстанции на полосатое тело. В результате выявляется стриатная гиперактивность и усиление тормозного контроля ядра за функцией сопряженных мозговых структур. Между тем, психомоторные стимуляторы из числа амфетаминов посредством своей дофаминомиметической активности могут провоцировать прямо противоположные сдвиги. Описанные свойства удачно дополняют способность действующих начал ФА оказывать успокаивающее влияние на эмоциональную сферу. Такого рода противотревожное, мягкое анксиолитическое действие служит важным составным элементом их антистрессорных возможностей. Это обусловлено понижением возбудимости эмоциональных лимбических структур мозга, отчасти за счет усиления тормозной ГАМК-ергической передачи [6].

К тому же, психофармакологический профиль ФА, вероятно, будет неполным, если игнорировать их антидепрессантную активность. Экстракты родиолы, женьшеня и элеутерококка, а также препарат из смеси лекарственных растений, куда они были включены, подобно типичным антидепрессантам, укорачивали время иммобилизации животных (признак депрессивного состояния в эксперименте). В сравнении с действием тетрабеназина, который истощает запасы церебральных моноаминов, указанные препараты повышали подвижность мышей и укорачивали иммобилизацию [267; 319; 377].

Таким образом, можно полагать, что ФА обладают комплексом психотропных свойств, включая противотревожный, психотонический и, вероятно, антидепрессантный эффекты. Все они, отличаясь адаптогенным характером, в своей совокупности, безусловно, направлены на оптимизацию поведения и более успешное приспособление организма к неблагоприятным факторам внешней и внутренней среды, в том числе в условиях стрессорной ситуации.

Из опыта восточной медицины известна способность ФА улучшать когнитивную деятельность человека. Современные исследования подтвердили ноотропные свойства ФА. При этом действия ФА направлены на сохранение функций нервных клеток и процессов высшей нервной деятельности [124; 297;]. Модулируя различные механизмы, они могут обеспечивать защиту центральных

нейронов от повреждения, а также усиливать регенераторные процессы в головном мозге [8; 40; 66; 120; 160; 264; 300; 318]. Показано, что увеличение содержания катехоламинов (в частности дофамина, который подавляется при старении) повышает продолжительность жизни и снижает частоту опухолеобразования. Элеутерококк и женьшень, предотвращают гибель дофаминергических нейронов [124; 342]. Картина их значимости для профилактической онкологии дополняет их нейропротекторная активность.

#### **1.4.2 Фитоадаптогены - иммуномодуляторы**

ФА являются выраженными иммуномодуляторами [199]. Изменяя функции иммунных механизмов в разных направлениях, они могут нивелировать признаки стрессорной дезорганизации в их деятельности и обеспечивать таким образом иммуномодулирующий эффект.

Как правило, мобилизация иммунного ответа характерна для реакций организма на острый эмоциональный стресс. Так, увеличение количества лимфоцитов и натуральных киллеров наблюдали при арифметическом стресс-тесте у здоровых людей. Острый болевой стресс у крыс приводил к увеличению наивных клеток тимуса. Активное развитие гиперчувствительности замедленного типа отмечали при иммобилизационном стрессе у мышей, иммунизированных эритроцитами барана [196].

Если острый стресс активизирует иммунную систему и эта активация, вероятно, входит в систему защиты организма в ситуации любого напряжения, то хроническое стрессирование чаще приводит к противоположному результату – иммунной депрессии. Исследования на людях в стрессорных ситуациях свидетельствуют о снижении числа фагоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций, депрессии митогенной активности лимфоидных клеток, функции натуральных киллеров, продукции интерферонов и интерлейкинов (ИЛ-1 и -2). Аналогичные результаты получены в эксперименте. Так, у приматов разрыв зоосоциальных отношений приводит к прогрессирующему снижению количества лимфоцитов, ослаблению гуморального иммунитета. Повторное плавание у крыс нарушает соотношение различных популяций Т-лимфоцитов, при этом в большей степени



реагируют клетки тимуса. Вместе с тем угнетается формирование антителообразующих элементов в ткани селезёнки и лимфатических узлах в различные фазы иммунного ответа, причем депрессия сохраняется длительное время после прекращения плавания [6].

Таким образом, адаптогенный эффект ФА сопровождается в том числе нормализацией иммунного статуса. С лечебной точки зрения важной является способность ФА нивелировать иммунодефицитные состояния, представляющие наибольшую угрозу на фоне хронического стресса.

Иммуностимулирующая активность ФА показана в опытах *in vitro* и *in vivo*. Инкубация мононуклеарных клеток человека и макрофагов мышей с экстрактами родиолы, женьшеня приводила к усилению продукции ФНО-альфа и цитокинов ИЛ-8, -10, -12 [242]. Вместе с тем, увеличивалась продукция NO, в реализации провоспалительного эффекта которого участвует ядерный фактор NF- $\kappa$ B [282].

Иммуностимуляция способствует противомикробным свойствам ФА. Добавление препаратов элеутерококка и эхиноцеи к гранулоцитам и моноцитам крови здоровых доноров усиливало фагоцитоз грибов семейства кандиды [417]. Вместе с тем, экстракт элеутерококка тормозил репликацию ряда РНК вирусов человека в клеточной культуре (риновирус, вирус инфлуэнции) [169]. При диссеминированном кандидозе гинзенозид Rg1 увеличивал продукцию различных цитокинов (ИФН-гамма, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10) [242].

Таким образом, ФА в той или иной мере обладают иммуностимулирующими свойствами. Очевидно, они вполне могут быть востребованы на фоне иммунодефицитных состояний, сопровождающих фазу истощения стрессорной реакции.

Наряду с этим, ФА могут проявлять и обратные, иммуносупрессивные свойства. Доказательством способности ФА ограничивать функции иммунной системы служит наличие у компонентов ФА противоаллергических свойств. В частности, гинзенозид Rb1(протопанаксадиол) при добавлении к тучным клеткам из легочной ткани морских свинок снижал выработку гистамина и лейкотриенов в

ответ на действие комплекса антиген-антитело [240, 130; 430]. Похожий механизм участвует в иммуносупрессивном действии компонентов женьшеня. Предварительное введение 20-(S)-гинзенозида Rg3 крысам снижало аллергические свойства липополисахарида и проявления оксидантного стресса в печени и почках при подавлении содержания ЦОГ-2 и NO синтазы [205]. Можно полагать, что антиаллергическое и противовоспалительное действие ФА обусловлено подавлением ЦОГ-2, но не затрагивает ЦОГ-1. Причиной может служить также снижение транскрипции фермента через ядерный промотор, который связывает ИЛ-6. Не исключено, что действие веществ опосредовано первичным повышением ими уровня кортикостерона [324].

Следовательно, говоря об иммунотропных свойствах ФА, можно характеризовать их как иммуномодуляторы [245; 344]. Очевидно, за этим в том числе скрываются антистрессорные возможности ФА вне зависимости от того, в какую фазу стрессорной реакции их применяют. В фазе тревоги они будут приводить к лимитированию иммунного ответа, в фазу истощения – к его активизации.

При этом следует также отметить, что в состав одного растения могут входить компоненты с прямо противоположными свойствами. Например, корень азиатского женьшеня содержит гинзенозиды Rh1 и 20(R)-Rh1 с иммуностимулирующей активностью, а также гинзенозиды Rg1 и F с иммуносупрессивным действием [438]. Это может служить «материальной базой» разнонаправленного иммунотропного действия препаратов ФА.

Таким образом, иммуномодулирующая активность ФА удачно сочетается с синхронизирующим воздействием на биоритмические процессы, дополняя их психостабилизирующие свойства.

### **1.4.3 Гормономодулирующая активность фитоадаптогенов**

Гормономодулирующая активность ФА обуславливает в том числе их геропротекторные качества. Это обстоятельство объясняет перспективность применения ФА в онкологии.

Процессы адаптации организма к стрессорным воздействиям, регуляция

репродуктивного, энергетического гомеостазов, иммунной реактивности напрямую сопряжены с функционированием гормональной системы. Нарушения гормональных регуляторных механизмов, вызванные в том числе стрессом или процессами старения, могут быть причиной изменения различных функций организма.

Стресс может быть пусковым фактором гипертензии, иммуносупрессии, сахарного диабета, злокачественных новообразований, развития язвенных поражений органов желудочно-кишечного тракта [171, 223]. В экспериментальных и клинических исследованиях показано, что, например, метастатические процессы могут усиливаться после или на фоне стрессорных воздействий [76]. В то же время стрессорными качествами зачастую обладают операционные вмешательства, а также химио-лучевые методы лечения в онкологии.

Усиление продукции глюкокортикоидов при стрессе вносит определенный вклад в процессы опухолеобразования и метастазирования. Эксперименты, проведенные на моделях метастазирующих опухолей, показали корреляционную связь уровня стрессовых гормонов в крови животных после операционного вмешательства и степени распространения метастатического процесса [76].

Повышенное содержание кортизола в крови отражает весьма выраженные нарушения гомеостаза. Кортизол считают главным катаболическим гормоном, разрушающим ткани. Ответной реакцией организма на стресс становится выброс кортизола из надпочечников, что заставляет усиленно работать сердечно-сосудистую систему и легкие, подавляя иммунную систему. При этом известно, что кортизол индуцирует гибель лимфоцитов по типу апоптоза, способствует замедлению процессов пищеварения, снижению репродуктивной функции, негативно сказывается на работе мозга, прежде всего, снижая его когнитивные свойства. Выработка серотонина и дофамина, эндогенных антидепрессантов, способствующих жизнелюбию и хорошему настроению, подавляется повышенным уровнем кортизола.

Анаболические гормоны – тестостерон, эстроген у женщин, прогестерон,

гормон роста, мелатонин и ДЭА (дегидроэпиандростерон) – способствуют росту тканей и поддержанию молодости, поэтому их относят к гормонам юности. Однако их уровень начинает падать с возрастом. И напротив, кортизол, инсулин и эстроген (у мужчин) относят к гормонам старения, уровень которых в крови с возрастом повышается. Иными словами, с возрастом баланс между гормонами сдвигается от анаболических к катаболическим. Стероидные гормоны (включая кортизол) синтезируются из холестерина. Холестерол превращается в прегненолон, который затем может перейти либо в прогестерон, либо в ДЭА. Когда организм подвергается стрессу, хроническому или избыточному, производится больше кортизола за счет ДЭА, тестостерона и эстрогена. Нормальный процесс старения связан со сдвигом к большему выделению кортизола и одновременным снижением образования других гормонов.

Между тем, выявлено, что биологически активные вещества ФА обладают андрогенной активностью. Традиционно этим препаратам приписывали свойство повышать потенцию и продлевать молодость. Экстракт женьшеня у крыс самцов увеличивал объём спермы в тестикулах и придатках без изменения их веса и морфологии [322]. При возрастании уровня тестостерона и лютеинизирующего гормона в крови отмечали восстановление нарушенного сексуального поведения и усиление копуляторной активности крыс [50; 394].

Благодаря своим антистрессорным свойствам ФА можно отнести к геропротекторам, поскольку многие проявления старения сходны с изменениями, характерными для хронического стресса [102, 279, 436].

Так, введение препаратов ФА предварительно или на фоне стресса значительно уменьшало его проявления [41]. При введении препаратов ФА животным отмечали нормализацию содержания сахара и повышение толерантности к глюкозе [88]. При этом повышался уровень инсулина крови, снижался вес тела и плазменный уровень холестерина [427]. Также выявлена способность ФА снижать сывороточный уровень глюкозы при усилении синтеза гликогена в печени [305]. При этом показано ограничение активности глюкозо-6-фосфатазы и увеличением потребления глюкозы периферическими тканями [180].

Гинзенозиды, например, структурно схожи с глюкокортикоидами. Поэтому высока вероятность их взаимодействия с одними и теми же рецепторами. В связи с этим БАВ ФА в том числе могут подавлять побочные эффекты экзогенно вводимых глюкокортикоидов (преднизолона, дексаметазона) [247].

Показано, что в результате регулирования стрессорной реакции экстракт элеутерококка предотвращал взрыв метастазирования, нередко развивающийся после операции [41]. Препараты родиолы розовой повышали уровень серотонина в мозге, снижая или исключая депрессивную симптоматику [66], ослабляли глюкокортикоидный остеопороз [49].

Очевидно, воздействия, регулирующие гормональный баланс, прежде всего развитие стрессорной реакции (уровень кортизола), играют важную роль в сохранении гомеостаза организма.

#### **1.4.4 Фитоадаптогены и сердечно-сосудистая система**

Адаптогены помогают работе сердца [251]. Показаны модуляторные, типичные адаптогенные свойства ФА в отношении сердечной деятельности. Например, при физической нагрузке, провоцирующей тахикардию, препараты женьшеня, элеутерококка и левзеи вызывали нормализацию сердечного ритма с восстановлением физической работоспособности. Применение экстрактов элеутерококка или родиолы розовой оказывало нормализующий эффект на уровень систолического давления при его патологическом повышении или понижении [66]. Выяснилось при этом, что адаптогены, препятствуя проникновению кальция внутрь клеток гладкой мускулатуры кровеносных сосудов ослабляют их сужение, что и приводит к нормализации давления [173; 298].

Причины, влияющие на разнонаправленное действие ФА, в данном случае могут быть разными. В частности, входящие в состав женьшеня гинзенозиды Rg1 и Rb оказывают сосудорасширяющий эффект, способствуя выработке NO в стенках сосудов. Вместе с тем, гинзенозиды могут активизировать ангиогенез при регенераторных процессах в здоровых органах и тканях, усиливая экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [258; 296]. Гинзенозиды Rg3 и Rh2,

наоборот, сужают сосуды, тормозят ангиогенез, индуцируя эндотелиальную дисфункцию [326; 441]. Сочетание в растениях ФА, например, в женьшене, БАВ разнонаправленного действия, вероятно, обеспечивает их нормализующий модифицирующий эффект на сердечно-сосудистую систему [8; 448].

Препараты многих ФА оказывают кардиопротекторное действие и нормализуют ритм сердца [434]. ФА существенно предотвращают ухудшение коронарного кровоснабжения и возникающую гипоксию (которая активизирует процессы перекисного окисления липидов с последующей деструкцией клеточных элементов) [128]. В частности, схизандрин из лимонника защищал миокард от кардиотоксичности противоопухолевого антибиотика доксорубицина, снижая оксидантный стресс и повреждение кардиомиоцитов [254]. Вместе с тем, гинзенозиды Rb, Ro, Re проявляли антиоксидантный эффект, предупреждая гибель кардиомиоцитов, вызываемую перекисью водорода или антибиотиком антимицином, за счет связывания пероксидных и гидроксильных радикалов [426; 449]. Кроме того, ФА повышают устойчивость миокарда к активации адренорецепторов при эмоциональном стрессе, таким образом предотвращая развитие некротических очагов миокарда и аритмию сердечной мышцы [434]. Вероятно, ФА опосредованно влияют на аденилатциклазу, включая кардиальные опиатные рецепторы через продукцию опиоидных пептидов, в частности, бета-эндорфина [56; 439]. Антиаритмические свойства ФА связаны, в конечном итоге, со снижением внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция. Между тем, не одну сотню лет ФА рекомендуют в качестве антидиабетических средств благодаря способности, в частности, стимулировать синтез бета-эндорфина, активировать  $\mu$ -опиодные рецепторы с дальнейшим повышением экспрессии белка-транспортера глюкозы [305]. Антитромботические свойства ФА связывают с увеличением синтеза активаторов плазминогена, с торможением агрегации тромбоцитов, индуцированным коллагеном или АТФ [444]. Таким образом, литературные данные свидетельствуют о защитном воздействии ФА на организм при сердечно-сосудистых патологиях.

Приведенные данные позволяют сделать вывод о том, что ФА способны

нормализовать нарушенные в ту или другую сторону показатели разных систем организма в условиях стрессорной реакции, поддерживая гомеостаз последнего, характерный для нормального онтогенеза.

Таким образом, учитывая перечисленные свойства ФА, интерес, проявляемый онкологами к этим препаратам, представляется вовсе не удивительным.

#### **1.4.5 Противоопухолевые свойства фитоадаптогенов**

ФА уже сотни лет используют в восточной медицине для борьбы с возрастными патологиями, к которым принадлежат и онкологические заболевания. Накопленные к настоящему времени сведения позволяют разделить 2 стороны этой проблемы. Во-первых, ФА обладают превентивными возможностями в отношении опухолеобразования. Они обеспечивают резистентность организма к онкологическим заболеваниям. В результате адаптогенного эффекта можно предотвратить дезадаптационные нарушения физиологических функций и предупредить болезни адаптации, к которым принадлежит и злокачественный рост [28]. Во-вторых, они имеют противоопухолевые свойства. Поэтому, вероятно, можно говорить о лечебных возможностях ФА.

ФА способны задерживать опухолевый процесс за счет ускорения программированной гибели опухолевых клеток, апоптоза - естественного процесса, используемого организмом, чтобы избавиться от поврежденных и нежелательных клеток. Проапоптотическая активность обнаружена у гинзенозидов Rd, Rg3, Rh2, а также у комплексных галеновых препаратов женьшеня, родиолы и других ФА в отношении опухолевых клеток шейки матки (Hela), карциномы простаты (LNCaP), человеческой нейробластомы (SK-N-BE), эритролейкемии, миелоидной лейкемии человека (K-562 и HL-60) и лейкемии [423]. При этом наблюдали конденсацию хроматина, фрагментацию ДНК при усилении экспрессии проапоптотического белка Вах, ферментативной активности каспазы 3, и снижении – антиапоптотических белков Bcl-2. Стимуляция апоптоза сопряжена также с усилением ферментативной активности лактатдегидрогеназы. Вместе с тем повышается цитотоксическая активность NK-клеток [222; 433]. Из литературы известно, что некоторые производные Rb1, Rb2, Rc гинзенозидов,

сходные по структуре с 20(S)-протопанаксадиолом, способны проявлять более сильные проапоптотические свойства. [337]. Вместе с тем, причиной индукции апоптоза с помощью ФА может являться запуск митохондриальных нарушений. Некоторые гинзенозиды (например, Rh2) способствуют апоптотической смерти клеток гепатомы человека (линии SK-HEP-1), а также клеток рака толстой кишки, деполяризуя поверхность митохондрий, способствуя отсоединению цитохрома С от клеточной мембраны митохондрий с транслокацией белка Вах и ростом ферментативной активности каспазы-3 [174]. Для сравнения препарат расковитин, например, препятствующий деполяризации мембран митохондрий, подавлял процесс апоптоза [179; 308]. Наряду с этим, возможно воздействие ФА на апоптоз *in vivo*. Повторное внутривенное введение крысам экстракта женьшеня приводило к ограничению пролиферации клеток аденокарциномы А549 с усилением признаков апоптоза [409]. Предоперационное введение гинзенозида в течение недели ослабляло клинические признаки болезни, а послеоперационное исследование морфологического материала показало возрастание количества апоптотических клеток [428].

ФА способны активизировать на опухолевых клетках “спящие” рецепторы апоптоза с помощью повышения экспрессии адгезионных молекул ICAM-1, что также может приводить опухолевые клетки к самоуничтожению [432].

Между тем, антиапоптотические эффекты ФА показаны для нейронов и клеток крови (повышение экспрессии гена антиапоптотических белков Bcl-2 b и Bcl-X, ограничение проапоптотического белка Вах, подавлением каспаз и нормализацией мембранного потенциала митохондрий [194; 281; 422]. Действительно, логично, что ограничение апоптоза в данном случае подтверждает представления о способности ФА поддерживать гомеостаз организма и в отношении мозга и клеток крови действовать протективно: защищать мозг от нейродегенеративных заболеваний, а также клетки крови - в плане торможения нарушений в колониеобразующих костномозговых клетках человека [122; 445].

Снижением экспрессии транскрипционного фактора NF-κB – проявление противоопухолевой активности женьшеня, отдельных гинзенозидов Rb1, Rc, Re,



Rg1, Rg3 [186, 263, 308, 330, 389, 410].

ФА способны задерживать ангиогенез опухоли. В частности, гинзенозид Rg3 может ограничивать продукцию сосудистого эндотелиального и фибробластного ростовых факторов, блокируя пролиферацию эпителиальных клеток пупочной вены человека в культуре, тормозя новообразование сосудов [441]. Вместе с тем, этот гинзенозид лимитировал имплантацию опухоли мышей в стенку желудка при подавлении её роста и метастазирования в печень и брюшину с уменьшением плотности микрососудов [384]. Кроме того, Rg3 усиливал активность циклофосамида, низкие дозы которого лимитировали васкуляризацию легочной карциномы Льюис у мышей. При этом снижалась устойчивость опухоли к цитостатику и повышалась выживаемость животных [446]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что гинзенозид Rb1, являясь агонистом бета-эстрогенных рецепторов и повышая их экспрессию, усиливает выработку антиангиогенного протеина из пигментного эпителия [246]. Антиангиогенные свойства женьшеня в отношении опухолей широко обсуждаются в научной литературе [138]. Молекулярными мишенями гинзенозидов могут служить ядерные рецепторы стероидных гормонов.

Кроме того, снижая экспрессию сосудистых ростовых факторов VEGF и bFGF, адаптогены обеспечивают антиметастатическое и антиангиогенное действие.

ФА могут повреждать клетки опухоли, например, за счет усиления или ослабления продукции ряда цитокинов. Добавление ФА в культуру клеток лимфомы животных или к антигенстимулированным мононуклеарам из крови человека подавляло пролиферацию клеток опухоли с повышением экспрессии ФНО, продукции ИЛ-1, -2 и интерферонов. *In vivo* наблюдался рост субпопуляций Т-лимфоцитов, повышенное число моноцитов при их сниженной продукции [268]. Введение мышам *per os* отдельных гинзенозидов Rh2, Rg1, Rd увеличивало число Т-лимфоцитов, снижая рост ИЛ-6, вызванного стрессом [217]. При раке желудка и молочной железы у больных лучевая терапия на фоне высоких доз экстракта элеутерококка в меньшей степени подавляла иммунный статус и число лейкоцитов

крови [54]. Кроме того, аппликация Rg3 и метаболита сапонинов протопанаксадиола на кожу мышей с индуцированной опухолью подавляли рост новообразований, лимитируя экспрессию ЦОГ-2 и транскрипционного фактора NF-каппаВ [214; 243].

ФА являются антиоксидантами [115; 249]. С этим в том числе связывают антимуtagenную активность фитоадаптогенов, что важно для первичной профилактики рака. Гинзенозид панаксатриол усиливал активность антиоксидантных ферментов клеток культуры кератиноцитов после ультрафиолетового облучения более эффективно, чем признанный антиоксидант витамин Е [198]. На макрофагах человека ФА проявили цитопротекторные свойства, подавляя продукцию свободных радикалов и повышая уровень глутатиона [207]. Экстракты элеутерококка и лимонника угнетали процессы ПОЛ в печени после инокуляции раковых клеток человека [439], а также снижали токсическое действие четыреххлористого углерода (усиление ПОЛ), угнетая активность глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы [128; 244]. Степень антиоксидантной активности гинзенозидов зависит от типа гидрофильных сахаров в их структуре и убывает в ряду Rb1- Rg1- Re – Rb2 – Rd [205]. Кроме того, существуют гинзенозиды с обратным, прооксидантным эффектом (Rg3, Rh2, Rg2) [265]. Имея разную направленность фармакологических эффектов БАВ, женьшень и другие ФА способны нормализовать показатели вне зависимости от сдвига нарушений. В связи с вышеизложенным можно полагать целесообразным использование оптимизирующих свойств ФА при комбинированной терапии опухолей [273; 426].

Таким образом, ФА сочетают противоопухолевые эффекты вместе с усилением резистентности здоровых тканей к повреждению. Это оправдывает их использование параллельно с цитостатической терапией в онкологии. Независимо от принадлежности противоопухолевых средств к различным фармакологическим группам результат такой комбинации одинаков: ФА усиливают эффективность химиолучевой терапии и ограничивают выраженность их побочных реакций [41; 233]. Так, комбинация циклофосфана с гинзенозидом Rg3 приводила к большему

подавлению скорости роста и размеров перевитой мышам опухоли рака яичников (SKOV-3), а также ограничению ангиогенеза при снижении экспрессии VEGF [429]. Гинзенозид Rg2 при введении животным с перевиваемыми опухолями (карцинома легких Льюиса, меланома) ослаблял токсичность циклофосфана для здоровых тканей [409]. Сочетание циклофосфана с экстрактом родиолы усиливало противоопухолевую и антиметастатическую активность цитостатика. Наряду с этим, родиола оказывала протекторный эффект на здоровые ткани, ограничивая торможение в них синтеза ДНК [41]. Применение экстракта женьшеня, а также отдельных гинзенозидов Rb3, Rd и Re с цисплатином повышало антипролиферативный эффект и, вместе с тем, снижало токсические проявления цитостатика на модели карциномы молочной железы (MCF-7) у крыс. При этом в почках животных была менее выражена фрагментация ДНК [89; 435]. Также было выявлено усиление цитотоксического действия 5-фторурацила на клетки колоректального рака человека (SW480) одновременно с индукцией апоптоза экстрактом женьшеня, гинзенозидами Rb1 и Rg1 [406]. При введении схизандрина (из лимонника) в культуру клеток карциномы печени или рака молочной железы (MCF-7) вместе с доксорубицином повышался уровень апоптоза опухолевых клеток за счет активации каспазы-9 и подавления потенциала митохондриальных мембран. Также при этой комбинации снижалась кардиотоксичность доксорубицина без усиления апоптоза в культуре кардиомиоцитов крыс [252].

Применение цисплатина и циклофосфана совместно с экстрактами женьшеня, родиолы розовой, лимонника у женщин на поздних стадиях эпителиального рака яичников предотвращало иммуносупрессию, увеличивая количество цитотоксических Т-лимфоцитов [226].

Способность ФА усиливать эффект химиотерапии на опухоль связана в том числе с тем, что они, взаимодействуя с белком множественной лекарственной устойчивости (который “качает” ФА из опухолевой клетки и назад вместо цитостатиков), позволяют химиопрепаратам «задерживаться» в опухолевых клетках, элиминируя последние [221; 224; 302].

В связи с вышеизложенным представляется целесообразным использование

ФА при комбинированной цитостатической терапии опухолей [215].

Нейропротекторная активность ФА дополняет картину их значимости для онкологии. Фитоадаптогены, в частности женьшень и элеутерококк, предотвращают дегенерацию дофаминергических нейронов и, соответственно, снижение дофамина, проявляя геропротекторные свойства [124; 270; 342].

Противоопухолевые эффекты ФА связывают и с их адгезиогенными свойствами [21; 175; 356].

Широкий спектр биологической активности ФА противоопухолевой направленности может быть обусловлен структурной и функциональной связью этих веществ со стероидами. Подобно стероидным гормонам, они являются жирорастворимыми сигнальными молекулами, обладающими высокой биологической активностью.

Характер биологической активности ФА зависит от структурных характеристик основных БАВ. Так, фармакологическая активность гинзенозидов, ведущих БАВ женьшеня, определяется химическим строением основания или сапогенина (протопанаксатриольное, протопанаксадиольное или октиллольное), а также количеством моносахаридных остатков в боковых сахаридных цепях. В зависимости от строения показаны следующие свойства гинзенозидов: Rh1, Rh2, Rh3, Rg3 – нормализация гомо- и гетеротипических контактных взаимодействий, а также дифференцировки клеток; Rg1 – модулирующая активность в отношении гуморального и клеточного звеньев иммунитета; Rg3; Rd1-K - преодоление множественной лекарственной устойчивости, а также антиметастатическая активность; Rh – усиление репарации ДНК при действии мутагенов; RcM1-проапоптотическая активность; Rb1; Rg1; Rg3 - ограничение ангиогенеза опухоли; Rb1, Rb2, Re, Rg1 – антиоксидантные свойства, обусловленные усилением ферментативной активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы), а также поавлением образования малонового диальдегида; Rb1 – противоапоптотические свойства в отношении нейронов за счет стимуляции экспрессии антиапоптотического фактора Bcl-x(L) [91; 241; 253; 256; 295; 402].

Таким образом, результаты многочисленных исследований свидетельствуют о наличии у ФА свойств противоопухолевой направленности, что обуславливает перспективность их применения в онкологии в качестве компонентов профилактических и лечебных воздействий.

#### **1.4.6 Преодоление индивидуальной резистентности и противоопухолевые свойства комплексного фитоадаптогена**

Основными препятствиями практического использования препаратов отдельных ФА являются определение индивидуальной чувствительности пациента, а также отсутствие возможности длительного применения из-за возникающей индивидуальной резистентности, что требует замены одного препарата на другой.

Для решения данной проблемы перспективным направлением является разработка многокомпонентных адаптогенных фитомикстур, представляющих собой комплекс структурно разнообразных химических веществ и сочетающих взаимодополняющие воздействия на разные звенья защитных систем организма.

Оптимального сочетания растительных компонентов можно достичь при суммировании однонаправленных свойств, компенсации или нейтрализации неблагоприятных. Включение в состав одной фитоформулы нескольких растений (например, адаптогенов) одной направленности действия позволяет преодолеть индивидуальную резистентность, что дает возможность длительного применения комплексного препарата. Вместе с тем при таком комплексном подходе может быть достигнуто и увеличение биологической активности препарата.

Китайскими учеными разработан фитокомплекс, в состав которого входят пять растений, включая *Panax ginseng* (женьшень настоящий) и *Schisandra chinensis* (лимонник китайский). Растительные компоненты сброжены пивными дрожжами *Sacharomyces cerevisiae*. На иммунодефицитных моделях мышей (*nude*) с ксенографтами опухолей желудка человека выявлена противоопухолевая активность препарата, обусловленная в том числе блокировкой сигнальных путей активации ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B. Вместе с тем продемонстрированы противовоспалительные, иммуномодулирующие свойства

фитокомплекса (снижение сывороточного уровня ИЛ-6, активация моноцитов, усиление выработки ФНО-альфа, ИФН-гамма) [119].

Выявлены противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства фитоформулы LCS101, состоящей из 14 растительных компонентов, среди которых *Astragalus membranaceus*, *Poria cocos*, *Atractylodes macrocephala* и др. В селезенке мышей Balb/c, подвергнутых воздействию 5-фторурацила и доксорубина, LCS101 повышал пролиферацию Т-клеток. На клеточной линии RAW 264.7 мышинных макрофагов LCS101 способствовал продукции фактора некроза опухолей- $\alpha$ . Также LCS101 *in vitro* продемонстрировал избирательное ингибирование роста (при анализе жизнеспособности клеток) на клеточных линиях РМЖ и РПЖ человека без каких-либо вредных воздействий на нормальные эпителиальные клетки. В образцах крови здоровых доноров LCS101 дозозависимо увеличивал активность естественных клеток-киллеров. Применение LCS101 снижало лейкопению/нейтропению и анемию у пациентов с РМЖ на фоне химиотерапии. Цитотоксическое действие доксорубина и 5-фторурацила при РМЖ усиливалось после воздействия LCS101, при этом препарат проявлял защитный эффект в отношении здоровых клеток. У пациентов, принимающих LCS101 во время химиотерапии, улучшилось качество жизни, реже проявлялись побочные эффекты специфического лечения (слабость, боль, тошнота и рвота) [271].

Вместе с тем, с учетом вышеперечисленных свойств ФА, в предшествующих исследованиях лаборатории иммунофармакологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России была составлена фармацевтическая композиция, на основе которой разработан КФА. В его состав вошли компоненты экстрактов 40 лекарственных растений, включая женьшень настоящий, аралию маньчжурскую, родиолу розовую, элеутерококк колючий, лимонник китайский, заманиху высокую, лапчатку прямостоячую, бессмертник песчаный, толокнянку обыкновенную, эвкалипт прутовидный, можжевельник обыкновенный, валериану лекарственную, горец птичий, пустырник сердечный и др. Большинство из них являются экстрактами официальных растений (за исключением плодов клюквы и

черной смородины, которые относятся к пищевым продуктам). Компонентный состав КФА подтвержден патентом РФ [22]. КФА прошел сертификацию как парафармацевтик. Проведена его биологическая стандартизация. Разрабатываются методологические аспекты химической стандартизации.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором (УФ-ВЭЖХ) обнаружены соединения фенольной природы: арбутин, глицирризиновая кислота, кверцетин, гиперозид, рутин, нарингенин, лютеолин, апигенин [74].

Методом хромато-масс-спектрометрии (ХМС) были идентифицированы 29 летучих компонентов: этилизовалериат, лимонен, эвкалиптол, цимол, ментон, фурфурол, этилпальмитат, этиллинолеат, этиллиноленоат камфора, линалоол, 5-метилфурфурол, борнеол, пиперитон и др.[73].

Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) в КФА позволило идентифицировать определены БАВ женьшеня - гинзенозиды Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Re, Rf, Rg [46], БАВ аралии - аралозиды А, В и С [47].

Адаптогенную активность КФА оценивали по разработанному ранее биологическому методу с использованием дрожжей *Sacharomyces cerevisiae*. Она оказалась выше по сравнению с препаратами отдельных фитоадаптогенов (женьшеня, родиолы розовой) [17; 24].

На культурах клеток аденокарциномы яичников, гипернефромы и рака шейки матки человека показан антипролиферативный эффект КФА. В то же время препарат не влиял на пролиферацию нормальных клеток почки эмбриона свиньи стимулировал пролиферацию нормальных клеток почки эмбриона свиньи [61].

Антамутагенный эффект КФА определяли на клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Показано снижение частоты прямых мутаций, индуцированных УФ-излучением и азотистой кислотой в 3,7 и 33 раза соответственно. Частота спонтанных мутаций устойчивости к канаванину уменьшилась в 6,4 раза, а мутаций в генах ADE4-ADE8 на пути биосинтеза аденина – более чем в 100 раз). Данный эффект, вероятно, связан с активизацией систем репарации ДНК [55].

Токсикологические исследования КФА проведены в соответствии со стандартными методами на мышах и крысах. Для фитокомплекса был определен VI класс токсичности – относительно безвредные вещества, характеризующиеся низким риском для здоровья человека [23].

Антиметастатическое свойство КФА определено по его способности снижать (более чем в два раза) количество мышей с метастазами в легких на модели карциномы легких Льюис). При этом препарат проявил иммуномодулирующие свойства, повышая функциональную активность Т-лимфоцитов мышей с опухолями [18; 19].

КФА проявил радиозащитные свойства у мышей в условиях общего пролонгированного  $\gamma$ -облучения в дозе, близкой к ЛД50/30. Выживаемость животных увеличилась на 40%. В экспериментах на собаках в условиях острого и пролонгированного  $\gamma$ -облучения КФА способствовал повышению средней продолжительности жизни (СПЖ) животных на 26,7%. При этом препарат улучшал общее состояние экспериментальных животных, не обладая побочными действиями. [15; 45].

На экспериментальной модели возрастной патологии – болезни Паркинсона показаны антиоксидантная и нейропротекторная активности КФА. Препарат достоверно ослаблял развитие гипокинезии и ригидности животных, препятствовал снижению дофамина, его метаболитов, подавлял содержание серотонина и малонового диальдегида в стриатуме мышей практически до нормы. Выявлено также снижение активности каспазы 3 и уровня фрагментации ДНК в черной субстанции, что подразумевает предотвращение гибели нейронов по типу апоптоза [12].

КФА также исследовали при доброкачественном процессе (доброкачественная гиперплазия предстательной железы, ДГПЖ), предраковом заболевании (лейкоплакия слизистой оболочки полости рта, СОПР), инкурабельном раке IV стадии (распространенный рак желудка, РЖ), а также возрастном нейродегенеративном заболевании (болезнь Паркинсона). Данные исследования подтвердили и дополнили результаты экспериментальных работ.



Иммуномодулирующее, в том числе интерферогенное действие КФА выражалось в нормализации показателя иммунного статуса пациентов, индукции выработки интерферона лимфоцитами периферической крови. Следует отметить, что выработка ИФН- $\gamma$  клетками крови онкологических больных под воздействием КФА в результате неспецифической индукции превышала таковую, проявляемую известными ИФН-индукторами (ридостин, амиксин, неовир, циклоферон). Вместе с тем показана 100% чувствительность клеток крови больных к воздействию КФА, которая не менялась после длительного приема препарата, что свидетельствует об отсутствии к нему резистентности [13; 25; 26; 29; 65].

КФА проявил и антиоксидантную активность. В результате воздействия препарата КФА у пациентов при вышеперечисленных патологиях уровень малонового диальдегида (маркер перекисного окисления липидов) в сыворотке крови снижался до нормальных значений. При этом наблюдали усиление активности каталазы и глутатионовой антипероксидной системы [13; 25; 29; 65].

Показателем антистрессорной активности КФА может служить ослабление степени гиперкортицизма, а именно снижение под его влиянием уровня кортизола в сыворотке крови у пациентов с изученными патологиями [13; 25; 29; 65].

При ДГПЖ препарат показал гормонотропный эффект, повышая уровень тестостерона и снижая содержания эстрадиола в сыворотке крови. Вместе с тем он нормализовал уровень простато-специфического антигена (ПСА). Между тем, следует отметить, что андрогены, используемые для лечения ДГПЖ, снижая уровень ПСА, также как гормональный и иммунный статус, приводят к ускорению процессов старения. Клинические и иммунобиологические эффекты КФА повышали качество жизни больных, страдающих ДГПЖ, выявляя геропротекторное действие препарата [27; 28]

Частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах у пациентов с ДГПЖ снизилась в 3 раза в результате курсового применения КФА. При этом значение показателя оказалось ниже по сравнению с группой участвующих в исследовании людей этого же возраста, не контактирующих с различного вида вредными условиями окружающей среды. В данном случае КФА проявил себя в качестве

геропротектора с антимуtagenными свойствами [36].

При комбинации химиотерапевтических препаратов с КФА при лечении распространенного РЖ практически на 7 месяцев увеличилась продолжительность жизни пациентов. При хирургическом лечении и послеоперационного курсового применения препарата продолжительность жизни увеличилась с 5,8 до 15,5 мес., 1-летняя выживаемость составила 68%. При этом в группах с применением КФА было отмечено снижение концентрации опухолевых маркеров в крови (СА 19-9 и РЭА), которые сохранялись по окончании химиотерапии [29; 71].

Применение КФА у пациентов, страдающих болезнью Паркинсона, на фоне стандартной антипаркинсонической терапии способствовало снижению тяжести заболевания (уменьшение нарушений повседневной и двигательной активности), существенному улучшению качества жизни, повышению эффективности комплексной патогенетической терапии. Важным моментом применения КФА можно считать факт снижения дозы стандартных антипаркинсонических леводопасодержащих препаратов, обладающих тяжелыми побочными реакциями на организм [13].

Ранее были выявлены адгезиогенные свойства отдельных фитоадаптогенов. Так, при поверхностном раке мочевого пузыря (T1G1-2) нормализующее воздействие экстракта родиолы розовой проявлялось в усилении прочности контактов клеток уротелия, восстановлении клеточного иммунитета, что достоверно коррелировало со снижением частоты рецидивных опухолей [20].

Адгезиогенные свойства показаны и на примере КФА. Так, при лейкоплакии СОПР под влиянием фитокомпозиции КФА на эпителиоцитах очага лейкоплакии выявлено увеличение экспрессии мембранного Fas/APO-1 антигена (CD 95), участвующего в индукции апоптоза опухолевых клеток. Также показано снижение экспрессии кератина 17, являющегося маркером незрелых эпителиоцитов. Показан рост экспрессии рецепторов адгезии ICAM-1 для эффекторов иммунитета. Поскольку ФА являются индукторами дифференцировки, вероятно, ослабление ороговения эпителия СОПР, повышение программированной гибели

патологических клеток очага лейкоплакии может быть следствием восстановления программы дифференцировки эпителиацитов комплексным фитоадаптогеном. Вместе с тем, при этом было выявлено отсутствие привыкания к препарату [26].

Таким образом, в результате клинических исследований было установлено, что КФА обладает комплексным характером действия на организм.

Следует отметить, что все исследования КФА были проведены с использованием его жидкой формы в виде водно-спиртового экстракта.

Вместе с тем в проведенных ранее исследованиях был определен механизм устойчивости эпителиальных клеток к опухолеобразованию. Он заключается в усилении прочности ткани на заключительном этапе ее дифференцировки в раннем постнатальном онтогенезе. В эпителиальных тканях, предрасположенных к опухолям, не наблюдается усиления взаимной адгезивности клеток [57].

Эндогенный фактор адгезии – контактин и экстракт родиолы розовой (неспецифический фактор адгезии) усиливали взаимную адгезию клеток и снижали частоту спонтанного опухолеобразования (на мышцах линии СВА) [16; 18; 57; 62]. Введение указанных агентов в период раннего постнатального развития мышцей, включая этап завершения дифференцировки ткани, генетически предрасположенной к опухолеобразованию, приводило к снижению количества животных с развившимися опухолями, повышению функциональной активности Т-лимфоцитов. Применение неспецифического агента на этапе созревания тимуса или в начальный период возникновения опухолей не снизило количества мышцей с опухолями. При этом уменьшились размеры опухолей у мышцей в возрасте 12-13 мес [18].

Между тем, с фармакологической точки зрения более перспективной и современной является сухая форма экстракта - практически субстанция КФА, оценка эффективности которой является определяющей для активности того или иного препарата. В связи с этим, была разработана технология получения сухого экстракта КФА, адаптогенная активность ( $A_{adapt}=54\%$ ) которого, определенная в системе *in vitro* на клетках пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, оказалась близкой по значению таковой к форме жидкого препарата

(Adapt=52%).

Анализ воздействия двух форм препарата на спонтанный гепатоканцерогенез мышей-самцов СВА и продолжительность жизни животных повысит объективную оценку результатов, а также значимость изучаемых показателей для развития экспериментальных опухолей. Вместе с тем, данное исследование позволит сравнить две формы препарата по биологической активности *in vivo*.

Таким образом, изучение динамики экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1, сывороточной концентрации ИЛ-6, ИЛ-10, стресс-гормона кортикостерона, анаболического гормона тестостерона, а также численности дофаминергических нейронов головного мозга и уровня пролиферации молодых нейронов модели спонтанного гепатоканцерогенеза мышей-самцов СВА, а также определение значимости коррекции с помощью КФА выявленных особенностей для снижения интенсивности опухолеобразования, повышения продолжительности и качества жизни является актуальным.

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

#### 2.1 Экспериментальная модель

Инбредная линия мышей СВА (сублиния СВА/Лас Y) – классическая модель спонтанного гепатоканцерогенеза, наиболее широко применяется в исследованиях [103]. Мыши-самцы более подвержены опухолеобразованию. У них опухоли возникают, начиная с 6-месячного возраста, и встречаются в 7 раз чаще, чем у самок. В возрасте 18-22 месяца у 100% самцов выявляют гепатомы [68; 357].

Мыши СВА (сублиния СВА/Лас Y), введенные в эксперимент, были получены из питомника лабораторных животных, а также из экспериментально-биологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Животные содержались в стандартных условиях.

#### 2.2 Распределение животных по группам

Контрольной группой (группа I) являлись животные ( $n = 209$ ), которые не получали препарат. Поскольку жидкий КФА является водно-спиртовым экстрактом, мыши II контрольной группы получали 3% раствор этанола в течение первого месяца жизни ( $N = 90$ ). Мышам III контрольной группы ( $n = 90$ ) с шестимесячного возраста и до их естественной гибели добавляли раствор этанола соответствующей концентрации.

Объединение мышей трех контрольных групп в одну проводили в результате отсутствия различий (группа 1,  $n = 389$ ).

Группа 2 ( $n = 158$ ) - 10% водный раствор жидкого КФА в профилактическом режиме: в течение первого месяца жизни.

Мыши опытной группы 3 ( $n = 150$ ) получали 10% водный раствор жидкого КФА в лечебном режиме: с шестимесячного возраста (курсами) до естественной гибели животного.

Мыши опытной группы 4 ( $n = 147$ ) получали 0,3% водный раствор сухого экстракта в профилактическом режиме.

Мыши опытной группы 5 ( $n = 153$ ) получали аналогичный раствор сухого экстракта в лечебном режиме.

Всего в исследование было включено 997 мышей.

### **2.3 Дизайн исследования**

Экспрессию CD11a и CD11b антигенов (лейкоцитарные интегрины LFA-1 и Mac-1, соответственно) на клетках периферической крови, концентрацию интерлейкинов 6 и 10, а также гормонов кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови, массу тела животных изучали в возрасте животных 4, 8, 22 мес. В возрасте 4 и 22 мес определяли численность дофаминергических нейронов, количество молодых пролиферирующих нейронов головного мозга. Число животных с опухолями, а также размеры, количество гепатокарцином оценивали у мышей в возрасте 8 и 22 мес. Показатели двигательной (поведенческой) активности животных, а также состояние волосяного покрова оценивали у мышей СВА в позднем онтогенезе (в 22 мес). Проводили морфо-иммуногистологическое исследование ткани печени животных. Определяли СПЖ животных, методом Kaplan-Meier анализировали выживаемость (критерий F-Кокса применяли для оценки статистической достоверности различий между группами).

КФА применяли: кратковременно в ранний период онтогенеза (профилактическое воздействие); длительно, с шестимесячного возраста (время появления первых опухолей) курсами на фоне опухолеобразования до естественной гибели животного (лечебное воздействие).

Проводили макро- и микроскопическое исследования печени контрольных и опытных животных. Гистологические препараты готовили по стандартному методу. Окрашивание проводили гематоксилином-эозином – для изучения морфологического строения органа. Анализировали опухоль-инфильтрирующие лимфоциты по иммуногистохимическому выявлению CD8, CD11a, CD11b антигенов. Макроскопической ревизии подвергали и другие органы животных. Опухолей при этом не наблюдали. Определяли объём опухолей стандартным методом [18].

### **2.4 Материалы исследования**

Образцы цельной крови использовали для анализа клеток, экспрессирующих CD11a и CD11b антигены. Образцы сыворотки крови применяли для определения

концентрации ИЛ-6, ИЛ-10, кортикостерона, тестостерона. Сыворотку крови получали стандартным методом [18]. Визуально анализировали печень, селезенку, сердце, почки животных. Для морфологических исследований использовали образцы ткани печени животных.

КФА содержит биологически активные вещества, в том числе полифенолы, флавоноиды, гинзенозиды, элеутерозиды, аралозиды, схизандрин, салидрозид, и др., сорока официальных растений, в том числе адаптогенов. КФА сухой был получен при сублимировании жидкой формы КФА по соответствующей технологии при соблюдении режимов времени, температуры и влажности. Концентрацию жидкого экстракта КФА определяли экспериментально в ранее проведенных исследованиях [12; 24]. Концентрация сухого экстракта соответствовала эффективной концентрации жидкого экстракта КФА.

### **Среды**

1. Физиологический раствор (0,85% NaCl).
2. Питательная среда 199 с солями Хенкса с глутамином (ПанЭко, Россия).
3. Фосфатно-солевой буферный раствор Дюльбекко А (Helicon).
4. Фосфатно-солевой буферный раствор, PBS (Helicon).
5. Стерильная питательная среда RPMI-1640 с L-глутамином для выращивания культур клеток человека и животных.
6. Фиксирующая среда DPX для заключения препаратов (Fluca A.G., Buchs, Switzerland).
7. Нормальная сыворотка лошади 2%.
8. Нормальная ослиная сыворотка 2%.
9. Цитратный буфер 0,01-молярный (pH 6).

### **Реактивы**

1. Гепарин: 20 ед/мл среды 199.
2. Натрия азид: 10% раствор в PBS (Sigma USA).
3. Параформальдегид: 4% раствор в PBS.
4. Сахароза: 30% раствор в PBS.
5. Перекись водорода: 0,01% раствор.

6. Перекись водорода: 0,3% раствор в 0,01-молярном фосфатном буфере (pH 7,4).
7. Формалин: 10% раствор.
8. Уретан.
9. Лизирующий буферный раствор.
10. Гематоксилин (по методу Бемера).
11. Эозин, 2% раствор.
12. Диаминобензидин (Sigma), 0,03% раствор в PBS.
13. Triton X100 (Sigma), 0,3% раствор.
14. 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорида (Sigma), 0,05% раствор.
15. Авидин-биотин-пероксидазный комплекс.
16. Глицерин: 50% раствор.
17. Флуоресцентный краситель бисбензимид: 0,0001% раствор (Sigma).
18. Мышинные моноклональные антитела против CD8, CD11a, CD11b антигенов (BD Biosciences США).
19. Мышинные моноклональные антитела против тирозингидроксилазы (Sigma).
20. Поликлональные ослиные антитела против иммуноглобулина мыши, конъюгированные с биотином.
21. Биотинилированные антитела лошади против иммуноглобулина мыши.
22. Поликлональные антитела кролика против Ki67.
23. Поликлональные ослиные антитела против иммуноглобулина кролика, конъюгированные с флуоресцентным красителем Cy2.

## 2.5 Методы исследования

Определение экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 (CD11a антиген) и Mac-1 (CD11b) на клетках крови мышей СВА анализировали методом непрямой иммунофлуоресценции, проведенному как описано в [31].

Сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-10 определяли иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы «Diacclone» (Франция) по методу, представленному в [158].

Анализ CD8, CD11a, CD11b антигенов на опухоль-инфильтрирующих



лимфоцитах проводили иммуногистохимическим методом как описано в [77].

Для определения концентрации тестостерона и кортикостерона в сыворотке крови мышей применяли стандартный метод с использованием набора «Direct ELISA Kit. The EiAsy™ Way Testosterone», Diagnostic Biochem Canada Inc. В этом тесте сыворотку исследовали без разведения.

Аналоговый тест "открытое поле" с использованием системы Opto-Varimex-3 был применен для изучения двигательных характеристик животных. В течение определенного стандартного времени мыши находились в специальных пластиковых камерах с системой инфракрасных датчиков. Двигательную активность определяли путем подсчета количества движений в моменты пересечения животным инфракрасных световых лучей. Регистрацию и обработку сигналов проводили в автоматическом режиме по программе "Auto-Track".

Во время пересечения животным инфракрасных световых лучей оценивали следующие параметры:

- 1) горизонтальную двигательную активность (пройденный путь, см);
- 2) вертикальную двигательную активность (число стоек).
- 3) время передвижения животных (с);
- 4) время без движения (время "отдыха", с);
- 5) число мелких движений, скорость движения животных.

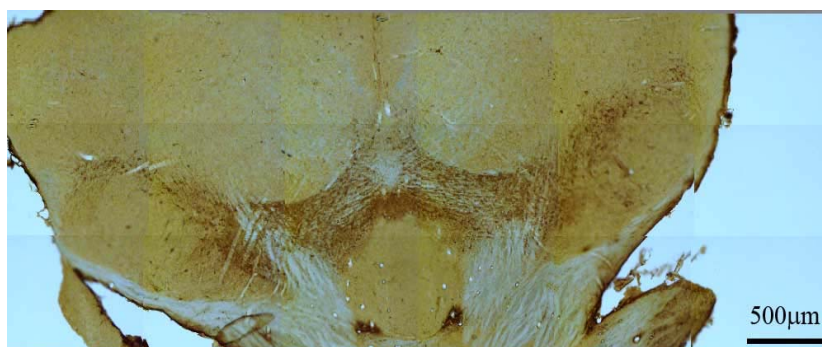
Показатели нейронов головного мозга оценивали в возрасте 3-4 и 20-22 мес - выявляли дофаминовые нейроны путем иммуногистохимического окрашивания срезов среднего мозга антителами к тирозингидроксилазе и подсчета тирозингидроксилаза-позитивных клеток. Уровень молодых нейронов определяли иммуногистохимически по количеству Ki67-позитивных клеток в субгранулярном слое зубчатой фасции гиппокампальной формации.

Для усыпления животных внутрибрюшинно вводили летальную дозу уретана. Промывку кровеносной системы проводили раствором фосфатного буфера (рН 7,4), а затем раствором параформальдегида в PBS, 0,4% раствор, фиксирующий раствор. После извлечения из черепной коробки мозг погружали в фиксирующий раствор, затем пропитывали раствором сахарозы (30% в PBS) на 24

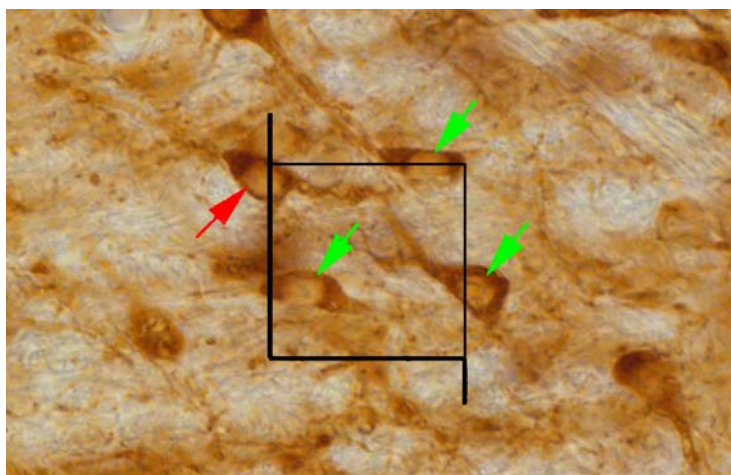
часа при 4°C. Срезы (по 6 серий срезов каждого мозга) получали с использованием замораживающего микротом. Срезы хранили при -20°C.

Для иммуногистохимического окрашивания на тирозингидроксилазу срезы отмывали от антифриза и помещали в раствор первичных антител в разведении 1:200 в PBS с 2% нормальной сыворотки лошади, 0,3% детергента Triton X100 и 0,01% азиды натрия на 12 часов при 4-8°C в течение 12 часов. После промывки в PBS срезы обрабатывали биотинилированными антителами лошади против иммуноглобулина мыши (разведение в PBS 1:100 в с добавлением 0,3% Triton X-100, время инкубации 1 час, комнатная температура). Затем срезы промывали и обрабатывали АВС-комплексом (разведение 1:200 в PBS, инкубация 1 час). Реакцию на пероксидазу затем проводили (обрабатывали срезы 0,03% раствором диаминобензидина в PBS, добавляя 0,01% перекиси водорода). Срезы на предметных стеклах обрабатывали 50% глицерином и и накрывали покровным стеклом.

Тирозингидроксилаза-позитивные клетки подсчитывали с помощью микроскопа и цифровой фотокамеры. При увеличении микроскопа x10 анализировали обзорное изображение среза с тирозингидроксилаза-позитивными клетками (Рисунок 2). Затем в тестовом квадрате подсчитывали количество тирозингидроксилаза-позитивных клеток. Клетку включали в подсчет, когда ее ядро располагалось внутри тестового квадрата или касалось двух его смежных сторон (Рисунок 3). Подсчитанное в тестовом квадрате количество ядер умножали на 120.



**Рисунок 2** - Обзорное изображение вентральной части среза среднего мозга, использованное для отслеживания перемещения тестового квадрата



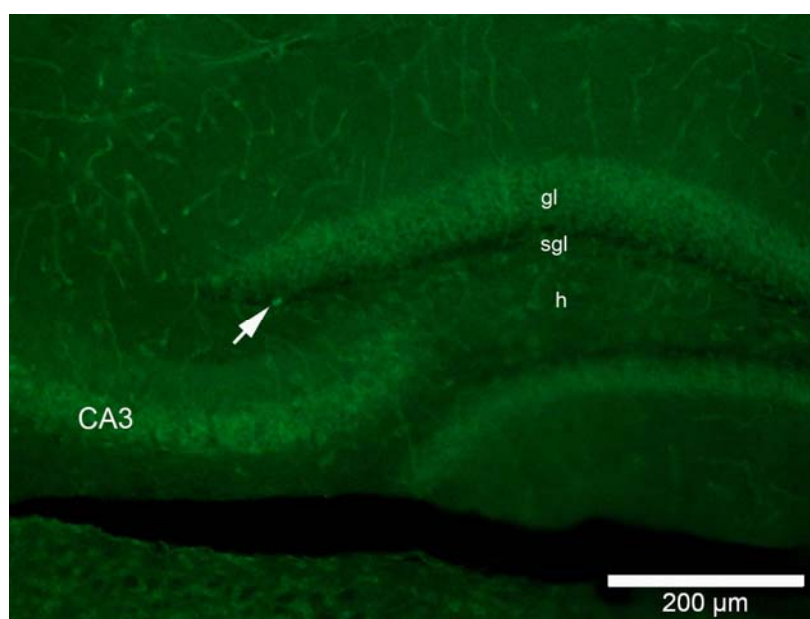
**Рисунок 3** - Репрезентативная микрофотография. Тестовый квадрат наложен на срез окрашенного на тирозингидроксилазу мозга. Зеленые стрелки – подсчитываемые ядра клеток, красная стрелка — исключенная из подсчета клетка мкм

На срезах мозга мышей определяли количество тирозингидроксилаза-позитивных клеток в вентральной части среднего мозга на фронтальных срезах от уровня Bregma-2,5 до уровня Bregma-3,9 по атласу мозга мыши (Paxinos, Franklin 2001). Клетки, иммуногистохимически окрашенные на тирозингидроксилазу, имели характерный вид (рис. 3). Бурый продукт реакции полимеризации диаминобензидина располагался в перикарионе и в проксимальных участках отростков нейронов компактной области черной субстанции и вентральной тегментальной области. Ядра клеток метки не содержали. Подсчитывали только клетки, в которых визуализировалось свободное от окраски ядро, расположенное в тестовом квадрате согласно критериям подсчета, обозначенным выше. Поскольку тирозингидроксилаза преобразует тирозин в L-ДОФА, который далее в нейронах превращается в дофамин, то этот фермент можно считать маркером дофаминергических нейронов.

#### **Иммуногистохимическое окрашивание на маркер пролиферации Ki67.**

Для иммуногистохимического окрашивания срезов на Ki67 использовали окраску с помощью флуоресцентно меченых вторичных антител. Срезы, содержащие зубчатую фасцию гиппокампальной формации (по 6 срезов каждого

мозга), отмывали от антифриза с помощью троекратной по 5 минут промывки в PBS. Затем срезы обрабатывали в растворе первичных поликлональных антител кролика против Ki67, разведенных в PBS с добавлением 2% нормальной ослиной сыворотки, 0,3% раствором детергента Triton X100 и 0,01% азид натрия в соотношении 1:100 в течение 12 часов при +4°C. Далее срезы троекратно по 5 минут промывали в фосфатном буфере (0,1 М, рН 7,4) и помещали на 1 час при комнатной температуре в раствор антител осла против иммуноглобулина кролика, конъюгированных с флуоресцентным красителем Cy2. Срезы подкрашивали 0,0001% раствором флуоресцентного красителя, избирательно окрашивающего ДНК, и после троекратной промывки в PBS монтировали на предметном стекле, покрывали глицерином под покровным стеклом и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Olympus IX81

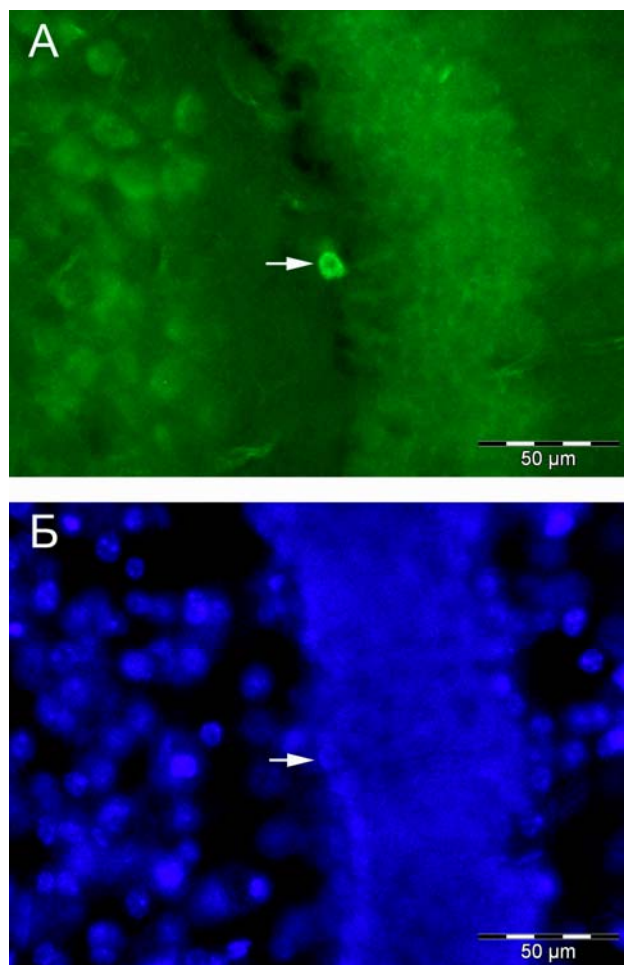


**Рисунок 4** - Зубчатая фасция гиппокампальной формации, содержащая клетку с Ki67-иммунопозитивным ядром (белая стрелка) в субгранулярном слое: gl - слой клеток-зерен зубчатой фасции; sgl – субгранулярный слой зубчатой фасции; h – хилус; CA3 – поле CA3 гиппокампа

Ядра клеток, содержащие ядерный белок Ki67, выделялись изумрудно-зеленой флуоресценцией красителя Cy2 на желтоватом фоне автофлуоресценции

окружающей ткани (Рисунок 4, 5А). Визуально подсчитывали количество меченых ядер клеток, лежащих в субгранулярном слое дорзальной части зубчатой фации гиппокампальной формации на 5 последовательных срезах одной серии.

Гранулярный слой идентифицировали по более интенсивной автофлуоресценции клеток-зерен на фоне автофлуоресценции окружающего нейропиля, а также по люминесценции ядер клеток, окрашенных бисбензимидам, при ультрафиолетовом освещении (Рисунок 5Б).



**Рисунок 5** - Микрофотография участка зубчатой фации гиппокампальной формации, содержащего клетку с Ki67-иммунопозитивным ядром (А, белая стрелка) в субгранулярном слое. То же ядро отмечено стрелкой на микрофотографии Б в свете люминесценции бисбензимида при ультрафиолетовом освещении

**Подсчет Ki67-позитивных клеток.** При исследовании срезов мозга подопытных мышей мы определяли количество Ki67-позитивных клеток в

субгранулярном слое зубчатой фасции гиппокампальной формации (Рисунок 4) на 5 последовательных фронтальных срезах одной серии от уровня Bregma -1,3 до уровня Bregma -2,5 по атласу мозга мыши (Paxinos, Franklin 2001). Белок Ki67 выявляется только в ядрах циклирующих клеток.

На окрашенных срезах в субгранулярном слое зубчатой фасции были видны ядра клеток, флуоресцирующие изумрудно-зеленым цветом, характерным для красителя Cy2, которым были помечены вторичные антикроличьи антитела. Фоновая окраска бисбензимидам позволяла подтвердить специфичность окраски ядер (Рисунок 5).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «STATISTICA 6.0», применяя дисперсионный анализ ONE-WAY ANOVA с последующим оценкой достоверности различий по критерию Newman-Keuls. Выживаемость животных анализировали по методу Kaplan-Meier с определением достоверности различий между группами по критерию F-Кокса. Для Корреляционный анализ осуществляли методом ранговой корреляции Спирмена.

### ГЛАВА 3. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНТЕГРИНОВ LFA-1 и Mac-1 У МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА В ОНТОГЕНЕЗЕ, А ТАКЖЕ ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ И ЛЕЧЕБНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА

Данные по количеству клеток крови с экспрессией CD11a у мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкого экстракта КФА приведены в таблице 1.

**Таблица 1** – CD11a антиген на клетках крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкого экстракта КФА

Группы животных	CD 11a антиген, % (M±m) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	47,8±2,6 (n = 22)	44,1±2,4 (n = 22)	35,4±1,6 <sup>2,3</sup> (n = 22)
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	50,0±4,8 (n = 13)	48,1±4,8 (n = 13)	40,7±1,9 (n = 13)
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 39)	46,6±3,5 (n = 13)	47,1±3,8 (n = 13)	42,3±2,9 <sup>4</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;  
<sup>2</sup> - p < 0,01 – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес; <sup>3</sup> - p < 0,001 – достоверность различий показателя в 4 и 22 мес; <sup>4</sup> - p < 0,05 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 22 мес; n – количество животных.

Как видно из таблицы 1 у мышей контрольной группы в возрасте от 4 до 8 мес изменений уровня экспрессии CD11a антигена не наблюдали (47,8±2,6% и 44,1±2,4%, соответственно, p<sub>4-8</sub>=0,31. К 22 месячному возрасту экспрессия CD11a антигена снизилась до 35,4±1,6% (p < 0,01).

У мышей 2 группы достоверных различий показателя в возрастных периодах

4 и 8 мес также не выявлено: он определен на уровне  $50,0 \pm 4,8\%$  и  $48,1 \pm 4,8\%$ , соответственно ( $p_{4-8}=0,77$ ). К 22 мес уровень экспрессии CD11a антигена ( $40,7 \pm 1,9\%$ ) статистически не изменился по сравнению с более ранними периодами онтогенеза ( $p_{8-22}=0,18$ ,  $p_{4-22}=0,09$ ). Вместе с тем этот показатель отстает от такового также не достоверно ( $p_{1-2}=0,09$ ) в сравнении с аналогичным периодом онтогенеза у контрольных мышей.

Введение животным жидкого экстракта КФА, начиная с 6-месячного возраста постнатального онтогенеза (группа 3), выявило значение экспрессии CD11a антигена в возрасте 4 и 8 мес на уровне  $46,6 \pm 3,5\%$  и  $47,1 \pm 3,8\%$ , соответственно, сравнимое с данными контрольной группы в эти же возрастные периоды ( $p_{1-3}=0,83$  и  $0,53$  соответственно). В возрасте 22 мес этот показатель статистически не отличался от значений в ранние возрастные периоды ( $42,3 \pm 2,9\%$ ;  $p_{4-22}=0,36$ ,  $p_{8-22}=0,33$ ). Однако, если сравнивать значение показателя в тот же возрастной период с данными животных контрольной группы, то он статистически значимо выше ( $p < 0,05$ ).

Количество клеток крови с экспрессией CD11a у мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии сухого экстракта КФА представлено в таблице 2.

**Таблица 2** – CD11a антиген на клетках крови у мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии сухого экстракта КФА

Группы животных	CD 11a антиген, % ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	$49,2 \pm 3,4$ (n = 22)	$45,7 \pm 3,2$ (n = 22)	$36,4 \pm 1,7^{2,3}$ (n = 22)
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	$52,1 \pm 2,8$ (n = 13)	$49,3 \pm 2,7$ (n = 13)	$44,4 \pm 1,9^4$ (n = 13)
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 39)	$49,9 \pm 2,9$ (n = 13)	$47,9 \pm 3,3$ (n = 13)	$43,6 \pm 2,8^5$ (n = 13)



<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;  
<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес; <sup>3</sup> -  $p < 0,001$  – достоверность различий показателя в 4 и 22 мес; <sup>4</sup> -  $p = 0,01$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 22 мес; <sup>5</sup> -  $p = 0,04$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 22 мес; n – количество животных.

Из данных таблицы 2 видно, что в первой (4 мес) и во второй (8 мес) точках исследования у контрольных животных количество клеток крови с экспрессией CD11a антигена -  $49,2 \pm 3,4\%$  и  $45,7 \pm 3,2\%$ , соответственно ( $p_{4-8} = 0,5$ ). В 22-х месячном возрасте -  $36,3 \pm 1,7\%$  ( $p_{8-22} = 0,03$ ), т.е. с увеличением возраста (и на фоне опухолеобразования) значение показателя снизилось.

Количество клеток крови, экспрессирующих CD11a антиген, у мышей 4 группы (профилактическое воздействие КФА сухого) в трех точках измерения (4, 8 и 22 мес) было определено как  $52,1 \pm 2,8\%$ ,  $49,3 \pm 2,7\%$  и  $44,4 \pm 1,9\%$ , соответственно ( $p_{4-8} = 0,4$ ,  $p_{8-22} = 0,2$ ,  $p_{4-22} = 0,05$ ). В то же время в 22 месячном возрасте у животных данной группы значение показателя было выше по сравнению с контрольными животными в этот же период жизни ( $p_{1-4} = 0,01$ ).

У мышей 5 группы под воздействием КФА, начиная с 6 месячного возраста, к 22 мес экспрессия CD11a антигена сохранилась на уровне, определенном в 4 месячном возрасте животных ( $49,9 \pm 2,9\%$  в 4 мес;  $43,6 \pm 2,8\%$  в 22 мес;  $p_{4-22} = 0,1$ ). В позднем онтогенезе показатель повышен по сравнению со значениями в контрольной группе ( $p_{1-5} = 0,04$ ), также как и при аналогичном воздействии жидкого экстракта КФА.

В результате статистического анализа выявлено отсутствие различий между результатами профилактического и лечебного воздействия двух форм КФА на уровень экспрессии CD11a антигена клетками иммунной системы у мышей СВА ( $p_{2-4} \geq 0,2$  и  $p_{3-5} \geq 0,4$ , соответственно). В таблице 3 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии жидкого и сухого КФА.

**Таблица 3** – CD11a антиген на клетках крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкого и сухого экстрактов КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	CD 11a антиген, % (M±m) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
I. Контроль (n = 66)	47,8±2,7	44,1±2,5	35,5±1,72 <sup>2,3</sup>
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 78)	51,3±3,5	48,6±3,2	42,9±2,2 <sup>4</sup>
III. КФА, лечебное воздействие (n = 78)	48,5±2,6	47,5±2,5	42,9±1,9 <sup>5</sup>

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> - p < 0,01 – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес; <sup>3</sup> - p < 0,001 – достоверность различий показателя в 4 и 22 мес; <sup>4</sup> - p = 0,01 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 22 мес; <sup>5</sup> - p = 0,01 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 22 мес; n – количество животных.

Обобщенные результаты, представленные в таблице 3, аналогичны таковым для жидкого и сухого КФА. Таким образом, как профилактическое, так и лечебное воздействие КФА препятствует снижению числа лимфоцитов, экспрессирующих молекулы LFA-1 (CD11a антиген) в позднем онтогенезе, на фоне спонтанного гепатоканцерогенеза у мышей-самцов линии СВА.

Значения уровня экспрессии CD11b антигена клетками иммунной системы у мышей-самцов СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкого экстракта КФА показаны в таблице 4.

У мышей контрольной группы число клеток иммунной системы, экспрессирующих CD11b антиген, в возрасте 8 мес имеет тенденцию к снижению: 15,7±1,1% и 13,6±1,2%, соответственно (p<sub>4-8</sub>=0,2). В возрасте 22 мес в данном случае этот показатель снижен до 7,8±1,0% (p<sub>8-22</sub>=0,0001; p<sub>4-22</sub>=0,0001).

**Таблица 4** – CD11b антиген на клетках крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкого экстракта КФА

Группы животных	CD 11b антиген, % (M±m) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	15,7±1,1 (n = 22)	13,6±1,2 (n = 22)	7,8±1,0 <sup>2,3</sup> (n = 22)
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	19,2±2,0 (n = 13)	17,5±1,9 (n = 13)	11,5±1,1 <sup>3</sup> (n = 13)
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 39)	16,4±2,0 (n = 13)	20,3±2,0 <sup>5</sup> (n = 13)	12,8±1,7 <sup>4,5</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;  
<sup>2</sup> - p = 0,0001 – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес и 4 и 22 мес в 1 группе; <sup>3</sup> - p < 0,01 – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес и в 4 и 22 мес во 2 группе; <sup>4</sup> - p = 0,01 - достоверность различий между средними значениями показателя в 8 и 22 мес в 3 группе; <sup>5</sup> - p = 0,01 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 22 мес; n – количество животных.

Аналогичная картина прослеживалась для изучаемого показателя в группах 2 и 3 (профилактический и лечебный варианты применения жидкого КФА). У опытных мышей 2 группы в возрасте 4 и 8 мес число клеток крови, экспрессирующих CD11b антиген составило 19,2±2,0% и 17,5±1,9%, соответственно, (p<sub>4-8</sub>=0,54). В то же время оно сравнимо с таковым в контрольной группе. К 22 мес уровень экспрессии снизился до 11,5±1,1% (p<sub>8-22</sub>=0,01; p<sub>4-22</sub>=0,01). Вместе с тем изучаемый показатель в позднем онтогенезе превышал уровень контроля в этом возрасте (p<sub>1-2</sub>=0,04).

Также в таблице 4 показано, что у мышей 3 группы уровень экспрессии CD11b антигена в 8 мес (20,3±2,0%; p<sub>2-3</sub>=0,4) и 22 мес (12,8±1,7%; p<sub>2-3</sub>=0,3)

сравним с таковым во второй группе. Вместе с тем в своей группе у мышей в возрасте 22 мес данный показатель достоверно ниже по сравнению с 8-месячными животными ( $p_{8-22}=0,01$ ), при этом превышая значение в группе контроля ( $p_{1-3}=0,01$ ). Кроме того, в возрасте 4 мес экспрессия данного антигена в 3 группе ( $16,4 \pm 2,0\%$ ) сравнима с контролем ( $p_{1-3}=0,77$ ), поскольку КФА в данной опытной группе в раннем онтогенезе не применяли.

В таблице 5 представлены результаты профилактического и лечебного воздействия сухого КФА на экспрессию лейкоцитарного интегрина Mac-1.

**Таблица 5** – CD11b антиген на клетках крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии сухого экстракта КФА

Группы животных	CD 11b антиген, % ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	13,4 $\pm$ 1,7 (n = 22)	12,1 $\pm$ 1,7 (n = 22)	6,8 $\pm$ 1,1 <sup>2,3</sup> (n = 22)
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	17,2 $\pm$ 1,5 (n = 13)	15,6 $\pm$ 1,4 (n = 13)	12,1 $\pm$ 1,1 <sup>3,5</sup> (n = 13)
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 39)	15,0 $\pm$ 1,5 (n = 13)	17,9 $\pm$ 1,4 <sup>4</sup> (n = 13)	13,2 $\pm$ 1,4 <sup>2,5</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;  
<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес в 1 и 5 группах; <sup>3</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий показателя в 4 и 22 мес в 1 и 4 группах; <sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 8 мес; <sup>5</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными в 22 мес; n – количество животных.

Результаты таблицы 5 показывают, что у мышей 4 группы число клеток крови, экспрессирующих CD11b антиген, в возрасте 4 и 8 мес не различалось ( $17,2 \pm 1,5\%$  и  $15,6 \pm 1,4\%$ ;  $p_{4-8} = 0,5$ ). К 22-х месячному возрасту количество клеток,

экспрессирующих CD11b антиген, статистически достоверно снизилось (до  $12,1 \pm 1,1\%$ ) в сравнении с 4-х месячным возрастом ( $p_{4-22}=0,01$ ). В то же время это значение было выше аналогичного показателя у контрольных животных, не получавших препарат ( $6,8 \pm 1,1\%$ ,  $p_{1-4}=0,003$ ).

Такая же динамика экспрессии CD11b антигена прослеживается и у мышей 5 группы. Если сравнивать значения показателя в третьей (22 мес) и второй (8 мес) точках исследования, то они статистически достоверно снизились ( $17,9 \pm 1,4\%$  и  $13,2 \pm 1,4\%$ , соответственно;  $p_{8-22}=0,03$ ), превышая значение в контроле ( $p_{1-5}<0,01$ ).

**Таблица 6** – CD11b антиген на клетках крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкого и сухого экстрактов КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	CD 11b антиген, % ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
I. Контроль (n = 66)	$15,7 \pm 1,2$	$13,6 \pm 1,2$	$7,8 \pm 1,0^{2,3}$
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 78)	$18,1 \pm 1,3$	$16,5 \pm 1,2$	$11,8 \pm 0,7^{2,3,4}$
III. КФА, лечебное воздействие (n = 78)	$15,7 \pm 1,4$	$19,1 \pm 1,3^4$	$13,0 \pm 1,1^{2,4}$

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес в I, II и III группах; <sup>3</sup>

-  $p < 0,01$  – достоверность различий показателя в 4 и 22 мес в I и II группах; <sup>4</sup> -  $p <$

$0,01$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных.

Статистический анализ не выявил различий профилактического воздействия жидкого и сухого экстракта, а также лечебного воздействия разных форм КФА на экспрессию лейкоцитарного интегрин CD11b лимфоцитами крови мышей-самцов СВА ( $p_{2-4} \geq 0,4$  и  $p_{3-5}=0,9$ , соответственно). В связи с этим в таблице 6 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и

лечебном (III группа) воздействии КФА.

Таким образом, было выявлено, что профилактическое и лечебное воздействие как жидкого, так и сухого КФА препятствует снижению числа лимфоцитов, экспрессирующих молекулы Mac-1 (CD11b антиген) в позднем онтогенезе на фоне спонтанного канцерогенеза у мышей-самцов линии СВА. Статистический анализ выявил отсутствие различий профилактического воздействия жидкого и сухого экстракта, а также лечебного воздействия разных форм КФА на экспрессию лейкоцитарного интегрина CD11b лимфоцитами крови мышей-самцов СВА ( $p_{2-4} \geq 0,4$  и  $p_{3-5} = 0,9$ , соответственно). В связи с этим в таблице 6 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА. Обе формы КФА показали аналогичную эффективность в отношении данного показателя при выбранных способах воздействия [31].

Известно, что интегрин LFA-1, определяемый по уровню экспрессии CD11a антигена клетками иммунной системы, функционирует в качестве лиганда для ICAM-1 и ICAM-2 на опухолевых клетках. Выдвигается предположение, что усиление активности эффекторов иммунитета (в частности цитотоксических лимфоцитов) под воздействием фитоадаптогена обусловлено в том числе повышением числа лимфоцитов с экспрессией CD11a антигена [274].

Клетки иммунной системы (лимфоциты, NK-клетки, нейтрофилы) экспрессируют на своей поверхности Mac-1 (определяемый по уровню экспрессии CD11b антигена). Также он контактирует в том числе с ICAM-1. Поэтому косвенной характеристикой усиления способности эффекторов иммунитета взаимодействовать с опухолевыми клетками, способствуя их гибели, может быть увеличение уровня экспрессии CD11b антигена у мышей опытных групп под воздействием КФА по сравнению с контрольными животными [351].

Таким образом, при генетически обусловленном гепатоканцерогенезе у мышей-самцов СВА снижена экспрессия лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1, что препятствует киллингу последних. Это может вносить определенный вклад в ускользание опухоли от иммунологического надзора.

Длительное по времени повышение числа лимфоцитов с экспрессией лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 можно обеспечить кратковременным (в раннем периоде постэмбрионального развития) и долговременным (на протяжении всей жизни, начиная с периода возникновения первых гепатом) воздействием как жидкой, так и сухой формы КФА. Полученные результаты подтверждают адгезиогенные свойства фитоадаптогенов [30].

#### ГЛАВА 4. ДИНАМИКА ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 6 И 10 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА В ОНТОГЕНЕЗЕ, А ТАКЖЕ ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОМПЛЕКСНЫМ ФИТОАДАПТОГЕНОМ

Результаты определения в онтогенезе концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови мышей-самцов СВА под влиянием КФА в жидкой и сухой формах при профилактическом и лечебном воздействиях представлены в таблицах 7 и 8.

**Таблица 7** – Динамика ИЛ-6 в сыворотке крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкой формы КФА

Группы животных	ИЛ-6, пг/мл ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	80,9±4,1 (n = 22)	88,5±4,3 (n = 22)	139,1±6,6 <sup>2</sup> (n = 22)
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	78,7±6,9 (n = 13)	80,5±7,5 <sup>3</sup> (n = 13)	114,8±12,3 <sup>3, 4</sup> (n = 13)
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 39)	82,9±6,0 (n = 13)	84,1±5,9 (n = 13)	111,4±10,5 <sup>3, 4</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p = 0,001$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в контрольной группе; <sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий между средними значениями показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес во 2 и 3 группах; <sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных

Как видно из таблицы 7, концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови 4-х и 8-месячных контрольных животных практически одинакова: 80,9±4,1 и 88,5±4,3 пг/мл, соответственно ( $p_{4-8}=0,21$ ). При этом к 22 мес этот показатель в контроле увеличился до 139,1 пг/мл ( $p_{4-22}$ ,  $p_{8-22} = 0,001$ ), т.е. у контрольных мышей в позднем онтогенезе уровень ИЛ-6 существенно повышен по сравнению с ранним



онтогенезом.

У опытных мышей 2 группы (профилактическое воздействие жидкого экстракта КФА) сывороточная концентрация ИЛ-6 в 8 месячном возрасте ( $80,5 \pm 7,3$  пг/мл), не достигает значений контроля в этом же возрасте. К 22 месячному возрасту изучаемый показатель возрос до  $114,8 \pm 12,3$  пг/мл ( $p_{4-22} = 0,02$ ;  $p_{8-22} = 0,03$ ), при этом его значение было статистически достоверно ниже, чем у мышей контрольной группы в аналогичный период исследования ( $p_{1-2} = 0,04$ ).

В 3 группе животных (лечебное воздействие жидкого экстракта КФА) динамика сывороточного содержания ИЛ-6 при продолжительном введении КФА сравнима с результатами во 2 группе. При этом в позднем онтогенезе (22 мес) концентрация цитокина ( $111,4 \pm 10,5$  пг/мл) статистически достоверно не достигает контрольных значений в этом же возрасте ( $p_{1-3} = 0,03$ ). Отметим, что в возрасте 4 мес уровень ИЛ-6 ( $82,9 \pm 6,0$  пг/мл) аналогичен значению у контрольных животных ( $p_{1-3} = 0,80$ ), поскольку в раннем онтогенезе в данном случае КФА не применяли.

**Таблица 8** – Результаты профилактического и лечебного воздействия сухого экстракта КФА на динамику ИЛ-6

Группы животных	ИЛ-6, пг/мл ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	$84,2 \pm 5,2$ (n = 22)	$89,7 \pm 4,1$ (n = 22)	$140,2 \pm 7,2$ <sup>2</sup> (n = 22)
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	$82,0 \pm 4,4$ (n = 13)	$85,1 \pm 5,8$ (n = 13)	$117,0 \pm 7,2$ <sup>3, 5</sup> (n = 13)
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 39)	$85,3 \pm 5,1$ (n = 13)	$87,3 \pm 5,6$ (n = 13)	$113,1 \pm 6,4$ <sup>4, 5</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p < 0,001$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в контрольной группе; <sup>3</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в 4 группе; <sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий

показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в 5 группе; <sup>5</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных.

Результаты таблицы 8 показывают, что концентрация ИЛ-6 в крови животных 4 группы (профилактическое влияние сухой формы КФА) статистически не различалась в возрастные периоды 4 и 8 мес ( $82,0 \pm 4,4$  пг/мл и  $85,1 \pm 5,8$  пг/мл, соответственно,  $p_{4-8} = 0,8$ ), а также в сравнении с показателями контрольных животных на соответствующих этапах исследования ( $p_{1-4} \geq 0,3$ ). В 22 мес содержание ИЛ-6 в сыворотке крови мышей данной группы составило  $117,0 \pm 7,2$  пг/мл ( $p_{4-22} = 0,001$ ;  $p_{8-22} = 0,004$ ), что оказалось ниже значения мышей контрольной группы ( $p_{1-4} = 0,03$ ).

У мышей 5 группы, получавших сухой КФА в лечебном варианте, в возрасте 4 мес ( $85,3 \pm 5,1$  пг/мл;  $p_{1-5} = 0,2$ ) и 8 мес ( $87,3 \pm 5,6$  пг/мл;  $p_{1-5} = 0,7$ ) также не было выявлено различий с контрольными животными в содержании ИЛ-6 в сыворотке крови. В 22 мес у животных 5 группы отмечали увеличение сывороточной концентрации ИЛ-6 до  $113,1 \pm 6,4$  пг/мл;  $p_{4-22} = 0,04$ ;  $p_{8-22} = 0,03$ . В то же время это значение показателя оказалось ниже, чем у мышей контрольной группы в этот же возрастной период ( $p_{1-5} = 0,01$ ).

Статистический анализ показал, что профилактическое и лечебное воздействия жидкого и сухого экстракта КФА на сывороточный уровень ИЛ-6 достоверно не различаются ( $p_{2-4} \geq 0,5$  и  $p_{3-5} \geq 0,7$  соответственно). В связи с этим в таблице 9 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА.

Таким образом, жидкий и сухой экстракты КФА при профилактическом воздействии в период завершения дифференцировки ткани печени препятствуют усиленному образованию ИЛ-6 в сыворотке крови. Курсовое длительное применение препарата, не захватывая «критический» период формирования ткани печени, на фоне возникших опухолей может также корректировать уровень сывороточного ИЛ-6.

**Таблица 9** – Динамика ИЛ-6 в сыворотке крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкой и сухой формы КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	ИЛ-6, пг/мл ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
I. Контроль (n = 66)	82,0 $\pm$ 3,6	88,9 $\pm$ 4,5	139,5 $\pm$ 5,0 <sup>2</sup>
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 78)	80,4 $\pm$ 3,7	82,8 $\pm$ 3,3	115,±4,7 <sup>2,3</sup>
III. КФА, лечебное воздействие (n = 78)	84,1 $\pm$ 2,7	85,6 $\pm$ 4,2	112,3 $\pm$ 4,2 <sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p < 0,001$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в I, II и III группах; <sup>3</sup> -  $p \leq 0,001$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных.

Вероятно, торможение образования ИЛ-6 в результате воздействия КФА может приводить к блокировке антителообразования, экранирующего опухолевые антигены и рецепторы эффекторов иммунитета. Таким образом нарушается защита клеток опухоли от распада. Вместе с тем известно, что при снижении в сыворотке крови ИЛ-6 сдерживается расщепление мышечных белков, что приводит к торможению развития анорексии и кахексии животных [153, 216].

Результаты, полученные при исследовании динамики ИЛ-10 в сыворотке крови мышей-самцов СВА под влиянием жидкого и сухого экстрактов КФА представлены в таблицах 10 и 11.

**Таблица 10** – Результаты профилактического и лечебного воздействия жидкого экстракта КФА на динамику ИЛ-10

Группы животных	ИЛ-10, пг/мл ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	24,8±2,0 (n = 22)	31,8±2,7 (n = 22)	60,9±3,9 <sup>2</sup> (n = 22)
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	20,2±2,7 (n = 13)	25,1±3,4 (n = 13)	46,8±5,3 <sup>3</sup> (n = 13)
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 39)	21,5±3,4 (n = 13)	22,7±2,7 (n = 13)	45,1±5,6 <sup>2, 4</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;  
<sup>2</sup> -  $p = 0,001$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в 1 и 3 группах; <sup>3</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес во 2 группе; <sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных.

Данные таблицы 10 показывают, что с 24,8±2,0 пг/мл в 4 мес до 60,9±3,9 пг/мл в 8 мес,  $p_{4-8-22}=0,001$  увеличивается концентрация ИЛ-10 в сыворотке крови контрольных животных.

У мышей, получавших жидкий экстракт КФА профилактически (2 группа), к 22 мес сывороточное содержание ИЛ-10 также возросло (до 46,8±5,3 пг/мл;  $p_{4-22}=0,004$ ), однако этот уровень был ниже контрольных значений ( $p_{1-2}=0,07$ ). Иными словами, профилактическое применение жидкого экстракта КФА может способствовать снижению сывороточного уровня ИЛ-10, значения которого на всех этапах исследования ниже по сравнению с контрольными.

У животных, получавших жидкий КФА в лечебном варианте (3 группа), в возрасте 4 мес содержание сывороточного ИЛ-10 близко к контрольному значению – 21,5±5,6 пг/мл ( $p_{1-3}=0,52$ ). С 8-месячного возраста динамика показателя сходна с

таковой для животных 2 группы:  $22,7 \pm 2,7$  пг/мл в 8 мес и  $45,1 \pm 5,6$  пг/мл в 22 мес ( $p_{8-22}=0,001$ ). При этом его значения ниже контрольных ( $p_{1-3}=0,04$ ).

Таким образом, длительное по времени воздействие жидкого экстракта КФА, начиная с периода возникновения спонтанных гепатокарцином, также обеспечивает снижение концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови мышей.

**Таблица 11** – Результаты профилактического и лечебного воздействия сухого экстракта КФА на динамику сывороточной концентрации ИЛ-6

Группы животных	ИЛ-10, пг/мл ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 66)	$30,3 \pm 3,0$ (n = 22)	$37,0 \pm 3,9$ (n = 22)	$65,0 \pm 4,1$ <sup>2, 3</sup> (n = 22)
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	$25,3 \pm 2,4$ (n = 13)	$29,4 \pm 3,4$ (n = 13)	$50,3 \pm 4,7$ <sup>2, 3, 4</sup> (n = 13)
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 39)	$23,7 \pm 3,1$ (n = 13)	$26,3 \pm 2,7$ <sup>4</sup> (n = 13)	$48,4 \pm 4,0$ <sup>2, 3, 5</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> -  $p = 0,001$  – достоверность различий показателя в 8 и 22 мес в 1, 4 и 5 группах; <sup>3</sup> -  $p = 0,001$  - достоверность различий показателя в 4 и 22 мес в 1, 4 и 5 группах; <sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольной группой; <sup>5</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий в сравнении с контрольной группой; n – количество животных.

Из таблицы 11 видно, что динамика ИЛ-10 в сыворотке крови близка по своей направленности у мышей 4 и 5 групп, получавших сухой экстракт КФА в профилактическом и лечебном режиме, соответственно: наблюдается возрастание показателя с возрастом и на фоне образования гепатокарцином. К 22-х месячному возрасту у мышей 4 группы показатель повысился до  $50,3 \pm 4,7$  пг/мл ( $p_{8-22}=0,001$ ), у мышей 5 группы – до  $48,4 \pm 4,0$  пг/мл;  $p_{8-22}=0,0001$ . Однако представленные

значения концентрации ИЛ-10 в крови животных опытных групп 4 и 5 не достигают уровня показателя у контрольных мышей ( $p_{1-4} < 0,03$ ;  $p_{1-5} < 0,01$ ).

Статистический анализ показал, что профилактическое воздействие жидкого и сухого экстракта, а также лечебное воздействие разных форм КФА на сывороточный уровень ИЛ-10 достоверно не различаются ( $p_{2-4} \geq 0,05$  и  $p_{3-5} \geq 0,2$  соответственно). В связи с этим в таблице 12 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА.

**Таблица 12** – Динамика ИЛ-10 в сыворотке крови мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии жидкой и сухой формы КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	ИЛ-10, пг/мл ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
I. Контроль (n = 66)	26,8±1,3	33,4±1,7	60,3±2,3 <sup>2</sup>
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 78)	22,8±1,3	27,3±1,9 <sup>3</sup>	48,6±2,2 <sup>2, 4</sup>
III. КФА, лечебное воздействие (n = 78)	22,6±1,2	24,5±1,3 <sup>4</sup>	46,8±2,6 <sup>2, 4</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p = 0,0001$  - достоверность различий между средними значениями показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в I, II и III группах; <sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольной группой; \*\*\*\* -  $p \leq 0,001$  – достоверность различий в сравнении с контрольной группой; n – количество животных.

Как кратковременное в раннем онтогенезе, так и продолжительное применение КФА (минуя «критический» период формирования ткани печени, на фоне возникших опухолей) может способствовать торможению образования ИЛ-10 в сыворотке крови.

Таким образом, спонтанный гепатоканцерогенез у мышей СВА

сопровождается повышением концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови, а также снижением экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1. При этом динамика указанных параметров определена в трёх временных точках и прослежена до позднего онтогенеза (22 мес), по времени, близкого к средней продолжительности жизни мышей, которые, как известно, живут около двух лет.

При профилактическом (кратковременном, примерно, за 5 мес до появления опухолей) и лечебном (продолжительном, на фоне возникающих опухолей) применении как жидкого, так и сухого экстракта КФА определено торможение образования ИЛ-6 и ИЛ-10, что сочетается с усилением экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1.

Принимая во внимание взаимосвязь цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10, а именно тот факт, что при снижении концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови подавляется синтез ИЛ-6, восстанавливается блокированная экспрессия адгезионных молекул ICAM-1 на опухолевых клетках, можно ожидать в данном случае повышения функциональной активности клеточных иммунных эффекторов, что выражается в том числе в синтезе реактивных интермедиатов кислорода и азота. Вместе с тем может усиливаться продукция Т-лимфоцитами, макрофагами, моноцитами, дендритными клетками, нейтрофилами в том числе ИФН- $\gamma$  и ФНО, что также важно для реакций противоопухолевого иммунитета [109].

**ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИЯ И  
РАЗМЕРОВ ГЕПАТОКАРЦИНОМ У МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА ПРИ  
ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ И ЛЕЧЕБНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ  
КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА**

В таблице 13 представлены данные, характеризующие частоту опухолеобразования, а также средний объем одной опухоли и опухолевой массы у мышей-самцов СВА в возрасте 8 мес при воздействии жидкого экстракта КФА.

**Таблица 13** – Частота опухолеобразования и размеры гепатом у мышей-самцов СВА в возрасте 8 месяцев при воздействии жидкого экстракта КФА

Группы животных	Количество мышей СВА с опухолями	Количество опухолей на одно животное (M±m) <sup>1</sup>	Объем опухоли, мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>	Объем опухолевой массы на одно животное мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>
1. Контрольная (n = 20)	3 (15%)	0,2 ± 0,1	31,7±24,1	6,3±5,2
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n=14)	0	0	0 <sup>2</sup>	0
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 15)	3 (20,0%)	0,3 ± 0,2	1,6±0,5 <sup>3</sup>	0,4±0,3

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;  
<sup>2</sup> - p < 0,05 – достоверность различий в сравнении с контрольной (1) группой; <sup>3</sup> - p < 0,001 – достоверность различий в сравнении со 2 группой; n – количество животных.



Данные таблицы 13 показывают, что 15% у контрольных мышей в возрасте 8 мес имели опухоли. Количество опухолей на одно животное -  $0,2 \pm 0,1$ . объём опухоли -  $31,7 \pm 24,1$  мм<sup>3</sup>, объём опухолевой массы на одно животное -  $6,3 \pm 5,2$  мм<sup>3</sup>.

Во 2 группе (профилактическое воздействие жидкого КФА) в возрасте 8 мес при макроскопической ревизии печени и морфологическом исследовании гепатомы не были выявлены.

У мышей 3 группы (лечебное воздействие жидкого КФА) частота опухолеобразования (20,0%) сравнима с группой контроля. То же самое можно отметить и в отношении количества опухолей на одно животное ( $0,3 \pm 0,2$ ;  $p_{1-3}=0,7$ ). Объём одной опухоли ( $1,6 \pm 0,5$  мм<sup>3</sup>), а также объём опухолевой массы на одно животное ( $0,4 \pm 0,3$  мм<sup>3</sup>) не различались с аналогичными показателями у контрольных животных ( $p_{1-3} = 0,3$ ).

**Таблица 14** – Частота опухолеобразования и размеры гепатом у мышей-самцов СВА в возрасте 8 месяцев при воздействии сухого экстракта КФА

Группы животных	Количество мышей СВА с опухолями	Количество опухолей на одно животное (M±m) <sup>1</sup>	Объём опухоли, мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>	Объём опухолевой массы на одно животное мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>
1. Контрольная (n = 20)	3 (15,0%)	$0,2 \pm 0,1$	$22,6 \pm 11,3$	$4,5 \pm 3,0$
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 15)	0	0	0 <sup>2</sup>	0
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 20)	1(5%)	$0,05 \pm 0,05$	11,4	$0,6 \pm 0,6$

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;  
<sup>2</sup> -  $p = 0,001$  – достоверность различий в сравнении с контрольной (1) группой;  $n$  – количество животных.

В таблице 14 представлены данные, характеризующие частоту опухолеобразования, а также средний объем одной опухоли и опухолевой массы у мышей-самцов СВА в возрасте 8 мес при воздействии сухой формы КФА.

Данные таблицы 14 показывают, что у контрольных животных в возрасте 8 мес частота опухолеобразования составила 15,0%, количество опухолей на одно животное определено как  $0,2 \pm 0,1$ , объем одной опухоли -  $22,6 \pm 11,3$  мм<sup>3</sup>, объем опухолевой массы на одно животное -  $4,5 \pm 3,0$  мм<sup>3</sup>.

У опытных мышей при профилактическом воздействии сухого экстракта КФА, группа 4), также, как и у животных 2 группы (профилактическое воздействие жидкого экстракта КФА) визуально опухоли в этом возрасте не были выявлены.

В 5 группе (лечебное воздействие сухой формы КФА) частота опухолеобразования составила 5% - у одного животного была выявлена гепатома (11,4 мм<sup>3</sup>). Количество опухолей на одно животное составило  $0,05 \pm 0,05$ , объем опухолевой массы на одно животное -  $0,3 \pm 0,3$  мм<sup>3</sup>.

В связи с тем, что на данном этапе работы не было выявлено статистически значимых различий между результатами двух режимов воздействия разных форм КФА ( $p_{2-4}$  и  $p_{3-5} \geq 0,05$ ), в таблице 15 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА на обозначенные показатели.

**Таблица 15** – Частота опухолеобразования и размеры гепатом у мышей-самцов СВА в возрасте 8 месяцев при воздействии жидкого и сухого экстрактов КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	Количество мышей СВА с опухолями	Количество опухолей на одно животное (M±m) <sup>1</sup>	Объем опухоли, мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>	Объем опухолевой массы на одно животное мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>
I. Контрольная (n = 40)	6 (15%)	0,2 ± 0,1	27,2 ± 12,4	5,4 ± 3,0
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 29)	0	0 <sup>2</sup>	0 <sup>2</sup>	0
III. КФА, лечебное воздействие (n = 35)	4 (11,4%)	0,1 ± 0,1	3,6 ± 2,0	0,5 ± 0,3

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> - p < 0,05 – достоверность различий в сравнении с контрольной (1) группой; p < 0,001 – достоверность различий в сравнении с контрольной (1) группой; n – количество животных.

Следует отметить, что макро- и микроскопическое выявление гепатом у контрольных животных в возрасте 8 мес сомнений не вызывает, поскольку известно, что первые спонтанные опухоли у мышей СВА появляются с 6 месячного возраста. Также не удивителен факт отсутствия гепатом у мышей 2 и 4 групп, которым вводили жидкий или сухой экстракт КФА кратковременно (профилактически, в течение 1 мес постэмбрионального развития). У животных 3 (в 20% случаев) и 5 (у одной особи) опытных групп, которые получали жидкий или сухой экстракт КФА в лечебном режиме, минуя критический период развития

печени, начиная с периода появления первых гепатом, опухоли вбыли выявлены. При этом частота опухолеобразования в возрасте 8 мес (после двухмесячного введении препарата курсами) сравнима с контрольными животными. Вместе с тем средние объемы одной опухоли в контрольной и «лечебных» группах сравнимы между собой, но достоверно отличались от группы «профилактической». Эти результаты подтверждают данные предыдущих исследований. А именно, при введении тканевоспецифического адгезионного фактора (контактина из печени) или препарата индивидуального адаптогена родиолы розовой мышам СВА в течение первого месяца постэмбрионального развития число опухолей на мышь и их размеры уменьшались. Если указанные факторы вводили вне этого периода, то количество опухолей на мышь не изменялось в сравнении с контролем. Однако размеры опухолевых узлов при этом уменьшались [18; 19].

В таблице 16 показаны результаты воздействия жидкой формы КФА на частоту опухолеобразования и размеры опухолей у мышей СВА в возрасте 22 мес.

**Таблица 16** - Частота опухолеобразования и размеры гепатом у мышей-самцов СВА в возрасте 22 месяца при воздействии жидкого экстракта КФА

Группы животных	Количество мышей СВА с опухолями	Количество опухолей на одно животное (M±m) <sup>1</sup>	Объем опухоли, мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>	Объем опухолевой массы на одно животное мм <sup>3</sup> (M±m) <sup>1</sup>
1. Контрольная (n = 25)	25 (100%)	2,7 ± 0,3	383,4±71,7	1043,1±229
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 13)	9 (69,2%) <sup>2</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>2</sup>	268,4±74,9	268,3±81,7 <sup>3</sup>
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 10)	7 (70,0%) <sup>2</sup>	1,6 ± 0,4	115,7±30,2	185,1±67,4 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;<sup>2</sup> - p ≤ 0,001 – достоверность различий в сравнении с

контрольной (1) группой; <sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольной (1) группой;  $n$  – количество животных.

Из данных таблицы 16 следует, что у мышей контрольной группы частота опухолеобразования составила 100%. Количество опухолей на одно животное -  $2,7 \pm 0,3$ , объем опухоли -  $383,4 \pm 71,7 \text{ мм}^3$ , объем опухолевой массы на одно животное -  $1043,1 \pm 229 \text{ мм}^3$ .

У 69,2% животных 2 группы возникли опухоли ( $p_{1-2} \leq 0,001$ ). При этом количество опухолей на одно животное ( $1,0 \pm 0,3$ ) было ниже, чем в контрольной группе ( $2,7 \pm 0,3$ ). Объем опухолевой массы на одно животное ( $268,3 \pm 81,7 \text{ мм}^3$ ) составил 25,7% от объема опухолевой массы на одно животное контрольной группы. Однако объем опухоли ( $268,4 \pm 74,9$ ) не отличался от контрольного значения ( $p_{1-2} = 0,48$ ).

В 3 группе опухоли возникли у 70 % животных ( $p_{1-3} \leq 0,001$ ), что на 30% ниже, чем в контроле и сравнимо с данными во 2 группе. Объем опухолевой массы на одно животное ( $185,1 \pm 67,4$ ) уменьшился на 82% по сравнению с контрольными животными статистически достоверно ( $p_{1-3} = 0,02$ ).

Вместе с тем достоверной разницы с контролем по количеству опухолей на одно животное не наблюдали ( $p_{1-3} = 0,06$ ). Что касается объема одной опухоли, этот показатель имеет тенденцию к уменьшению ( $15,7 \pm 30,2 \text{ мм}^3$ ;  $p_{1-3} = 0,06$ ) по сравнению с контролем.

Из результатов, представленных в таблице 17, следует, что у всех животных контрольной группы возникли опухоли, т.е. частота опухолеобразования составила 100%, количество опухолей на одно животное -  $2,8 \pm 0,5$ , объем опухоли -  $393,6 \pm 102,3 \text{ мм}^3$ , объем опухолевой массы на одно животное -  $1120,2 \pm 350,5 \text{ мм}^3$ .

Частота опухолеобразования в 4 группе животных (66,7%) статистически достоверно отличалась от контроля ( $p_{1-4} \leq 0,001$ ). Количество опухолей на одно животное и объем опухолевой массы на одно животное ниже контрольных значений ( $1,5 \pm 0,4$  и  $378,9 \pm 126,8 \text{ мм}^3$ , соответственно. Средний объем одной

опухоли ( $258,4 \pm 71,3 \text{ мм}^3$ ) статистически не отличался от величины, полученной у контрольных животных ( $p_{1-4} = 0,35$ ).

**Таблица 17** – Частота опухолеобразования и размеры гепатом у мышей-самцов СВА в возрасте 22 месяца при воздействии сухого экстракта КФА

Группы животных	Количество мышей СВА с опухолями	Количество опухолей на одно животное мышь ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Объем опухоли, $\text{мм}^3$ ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Объем опухолевой массы на одно животное $\text{мм}^3$ ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>
1. Контрольная (n = 13)	13 (100%)	$2,8 \pm 0,5$	$393,6 \pm 102,3$	$1120,2 \pm 350,5$
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 15)	10 (66,7%) <sup>2</sup>	$1,5 \pm 0,4$ <sup>3</sup>	$258,4 \pm 71,3$	$378,9 \pm 126,8$ <sup>3</sup>
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 11)	8 (72,7%) <sup>2</sup>	$1,4 \pm 0,4$ <sup>3</sup>	$66,3 \pm 17,5$ <sup>3</sup>	$124,3 \pm 43,1$ <sup>3</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p \leq 0,001$  – достоверность различий в сравнении с контрольной группой; <sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольной группой; n – количество животных.

Частота опухолеобразования в 5 группе животных (72,7%) аналогична результатам, полученным в 4 группе, и достоверно отличается от показателя контрольных животных ( $p_{1-5} \leq 0,001$ ).

Количество опухолей на одно животное ( $1,4 \pm 0,4$ ) достоверно ниже контроля ( $p_{1-5} = 0,04$ ). Объем опухоли ( $66,3 \pm 17,5 \text{ мм}^3$ ,  $p_{1-5} = 0,04$ ), а также объем

опухолевой массы на одно животное ( $124,3 \pm 43,1 \text{ м}^3$ ,  $p_{1-5} = 0,02$ ) также ниже контрольных значений.

Частота опухолеобразования и размеры опухолей у мышей 2 и 4 групп (профилактическое влияние жидкого и сухого КФА), а также 3 и 5 групп (лечебное влияние двух форм КФА) в возрасте 22 мес статистически не различались ( $p_{2-4}$  и  $p_{3-5} > 0,05$ ).

В таблице 18 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА на обозначенные показатели ввиду отсутствия их статистически достоверных различий.

**Таблица 18** – Частота опухолеобразования и размеры гепатом у мышей-самцов СВА в возрасте 22 месяца при воздействии жидкого и сухого экстрактов КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	Количество мышей СВА с опухолями	Количество опухолей на одно животное мышшь ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Объем опухоли, $\text{мм}^3$ ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Объем опухолевой массы на одно животное $\text{мм}^3$ ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>
I. Контрольная (n = 38)	38 (100%)	$2,8 \pm 0,3$	$387,0 \pm 58,3$	$1069,5 \pm 190,3$
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 28)	19 (67,9%) <sup>2</sup>	$1,3 \pm 0,2$ <sup>2</sup>	$262,1 \pm 52,1$	$327,6 \pm 77,2$ <sup>2</sup>
III. КФА, лечебное воздействие (n = 21)	15 (71,4%) <sup>2</sup>	$1,5 \pm 0,3$ <sup>3</sup>	$91,8 \pm 18,0$ <sup>3</sup>	$153,3 \pm 38,8$ <sup>2</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> -  $p \leq 0,001$  – достоверность различий в сравнении с контрольной (1) группой; <sup>3</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий в сравнении с контрольной (1) группой; n – количество животных.

Таким образом, при кратковременном профилактическом воздействии как жидкой, так и сухой формы КФА частота спонтанного опухолеобразования, которую оценивали в 22-месячном возрасте мышей, снижается на 32%. При этом отмечено уменьшение среднего объема опухолевой массы на одно животное.

При длительном воздействии жидкой или сухой формы КФА в среднем и позднем онтогенезе частота опухолеобразования снижается на 29% при уменьшении среднего объема одной опухоли, а также среднего объема опухолевой массы на одно животное.

Исследования, проведенные ранее, показали, что короткое воздействие неспецифического адгезиогенного фактора, экстракта родиолы розовой, в период, не захватывающий завершающий этап развития печени, не оказывает столь выраженные эффекты.

Так, введение экстракта родиолы розовой у мышей СВА на протяжении второго месяца постэмбрионального развития (завершение формирования тимуса), а также седьмого месяца (возникновение первых опухолей), приводило к кратковременной нормализации межклеточных контактов печени и параметров клеточного иммунитета как механизмов местного и общего звеньев противоопухолевого надзора. При этом уровень частоты опухолеобразования, характерный для интактных животных, оставался высоким. В то же время объем опухоли уменьшился по сравнению с контрольными животными, что свидетельствует о том, что даже кратковременное повышение межклеточных контактов приводит к торможению опухолевого роста [19].

Обсуждая полученные результаты, следует отметить, что в настоящем исследовании в лечебном варианте воздействия КФА применяли не на протяжении одного месяца, а в течение длительного периода жизни животных. При этом у опытных и контрольных животных в возрасте 8 мес не было выявлено статистических различий по частоте образования гепатокарцином. Вместе с тем, частота опухолеобразования при лечебном воздействии КФА снизилась на 29%, а также количество и размеры опухолей оказались ниже по сравнению с контрольными животными.



На поверхности многих типов клеток присутствуют молекулы межклеточной адгезии (ICAM – intercellular adhesion molecules). С одной стороны, они являются гистонеспецифическими контактными молекулами интеграции клеток в тканевых системах, с другой стороны, служат лигандами для функционально гомологичных молекул лейкоцитарных интегринов, в том числе LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18), обеспечивающих адгезию иммунных эффекторов и клеток-мишеней

Таким образом, можно полагать, что кратковременное воздействие КФА у мышей СВА в ранний период онтогенеза, захватывающий этап завершения развития печени, оказывает долговременный эффект нормализации гомотипической адгезии клеток ткани-мишени, наследственное ослабление которой опеспечивает предрасположенность мышей-самцов данной линии к спонтанному опухолеобразованию. Усиление прочности межклеточных контактов «запускает» повышение экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1), способствует торможению образования интерлейкинов 6 и 10, что приводит к снижению количества высокоракковых мышей СВА с опухолями, а также уменьшению размеров опухолей. Воздействие фитоадаптогена в течение короткого времени в иной период, минуя завершающий этап развития печени, вероятно, не обеспечивает нормализацию межклеточной адгезии, приводя только к торможению роста опухолей не влияя на частоту опухолеобразования.

Лечебное применение КФА, длительное по времени воздействия, очевидно, способствует сохранению более высокого уровня иммуноадгезионных взаимодействий. Следствием этого является снижение частоты опухолеобразования, а также объема гепатокарцином.

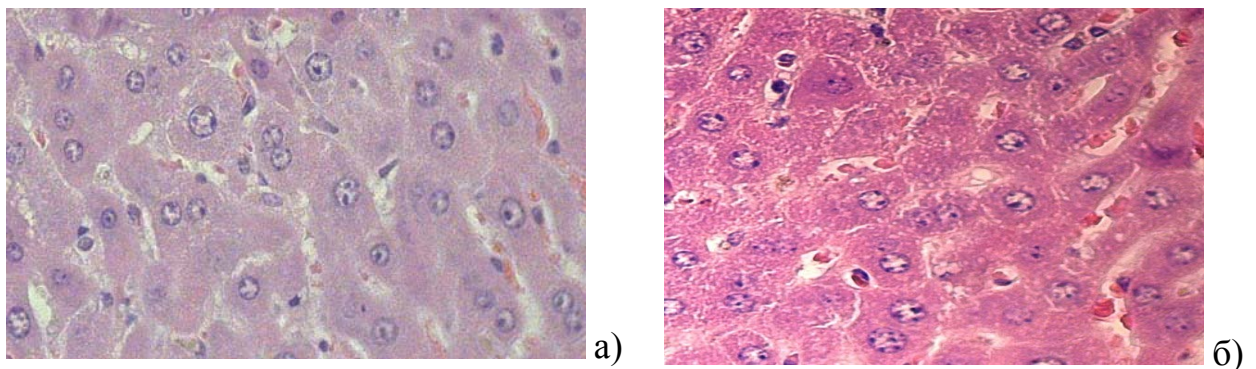
Профилактические в отношении опухолей свойства препаратов определяют по результатам их лечебного воздействия на предопухолевые патологические процессы, или оценивая их влияние на генетически предрасположенных к опухолеобразованию животных. Лечебный эффект жидкой формы КФА был выявлен в предыдущих работах при предраковом поражении (лейкоплакии) слизистой оболочки полости рта [26]. Полученные при этом результаты позволили

предположить возможность применения КФА для изучения профилактического эффекта препарата при злокачественных новообразованиях. В настоящей работе показан превентивный эффект двух форм КФА на спонтанный процесс опухолеобразования.

## ГЛАВА 6. МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛЕЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ-САМЦОВ СВА

В данной главе представлены результаты морфологического анализа спонтанных гепатом интактных мышей СВА, а также животных под воздействием жидкого или сухого экстракта КФА.

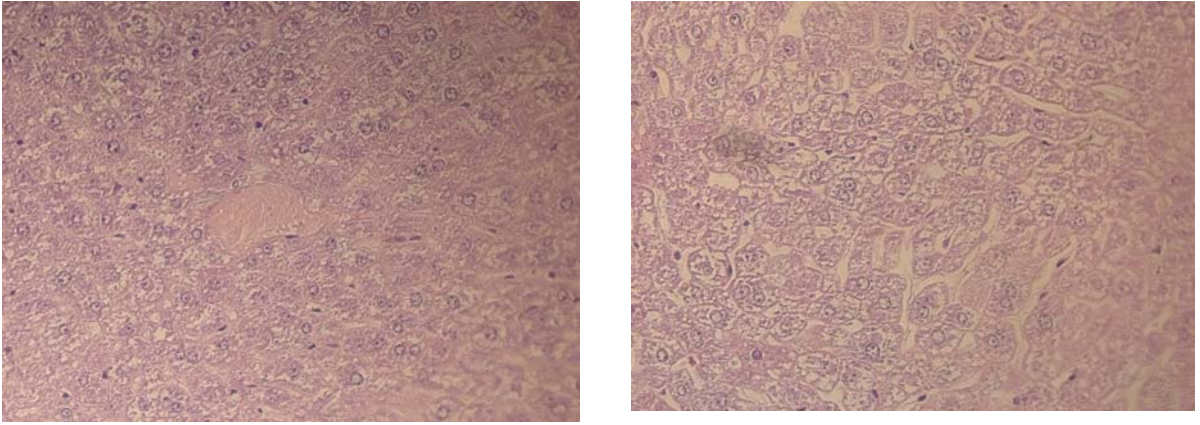
На рисунке 6 представлены образцы гистологических препаратов ткани печени мышей СВА 4-х месячного возраста (а – контроль; б - опыт). Подобное морфологическое строение свойственно для нормальной ткани печени, что соответствует отсутствию опухолей у животных в этом возрасте.



**Рисунок 6** - Образцы гистологических препаратов ткани печени (а – контроль; б – опыт; мыши СВА 4-х месячного возраста (увеличение x 400, окраска гематоксилином и эозином)

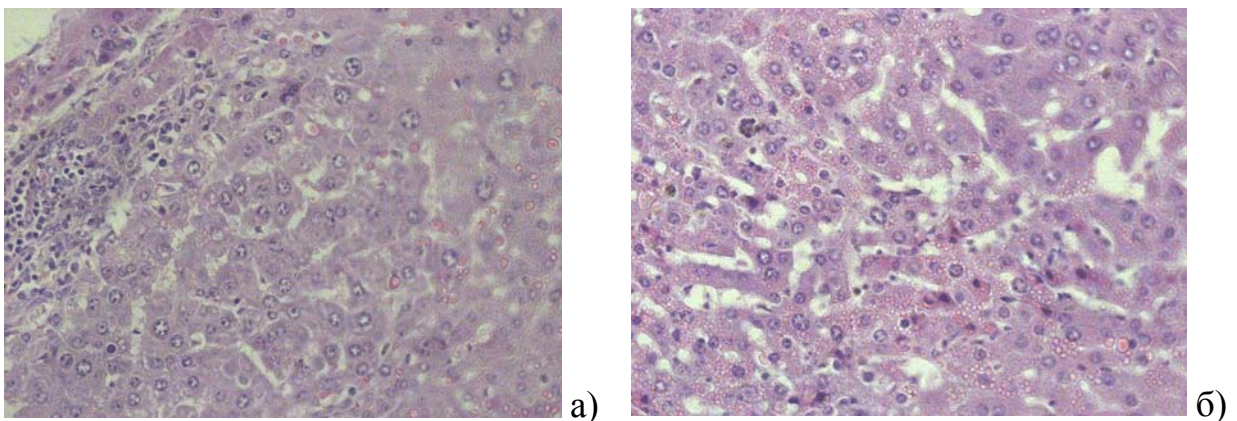
На рисунке 7 в качестве примеров продемонстрированы микропрепараты умеренно-дифференцированных трабекулярных гепатокарцином контрольных животных 8-месячного возраста. Опухоли в этом возрасте были выявлены в 10% случаев у контрольных животных для жидкого КФА (см. таблицу 13) и в 15% случаев – для сухого КФА (см. таблицу 14).

В данный период исследования у мышей 2 и 4 опытных групп (профилактическое воздействие жидкого и сухого экстрактов КФА) опухоли не были определены.



**Рисунок 7** – Образцы гистологических препаратов печени контрольных мышей в 8-месячном возрасте (примеры умеренно-дифференцированных трабекулярных гепатокарцином; увеличение  $\times 200$ , окраска гематоксилином и эозином)

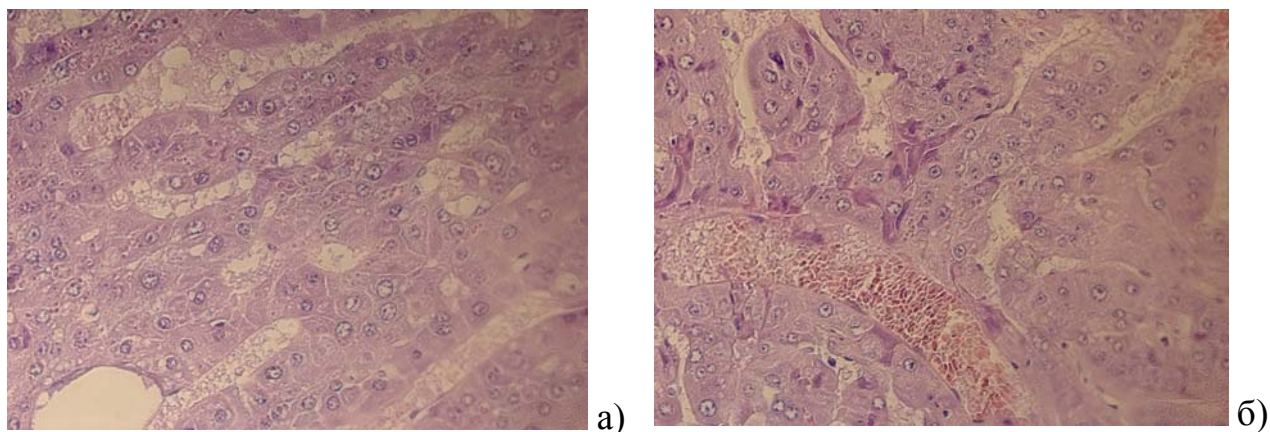
На рисунке 8 приведены образцы гистологических препаратов печени опытных мышей в 8-месячном возрасте под воздействием жидкого (рисунок 8а) и сухого (рисунок 8б) экстрактов КФА в лечебном режиме. По строению представленные гепатокарциномы сходны с вариантами опухоли на рисунке 7. На представленных гистологических срезах трабекулярных гепатокарцином умеренной дифференцировки видна инфильтрация опухолей лейкоцитами, образующими характерные скопления.



**Рисунок 8** – Образцы гистологических препаратов печени опытных мышей в 8-месячном возрасте под воздействием жидкого (а) и сухого (б) экстрактов КФА в лечебном режиме (примеры умеренно-дифференцированных трабекулярных гепатокарцином, инфильтрированных лейкоцитами; увеличение  $\times 400$ , окраска гематоксилином и эозином)

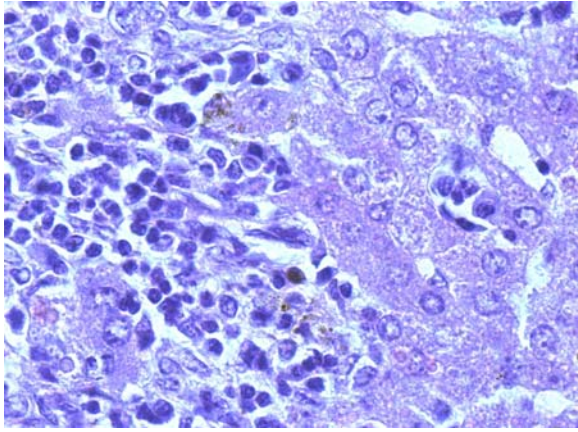


Микропрепараты опухолей печени, выявленных у контрольных мышей в 22-х месячном возрасте, показаны на рисунке 9. Видны гиперхромные ядра полиморфных клеток. Гепатоциты образуют трабекулы. На срезе печени можно наблюдать атипичные полости (ацинусы). Желчный пигмент и муцинозное вещество заполняют просветы ацинусов и пространство между трабекулами. В данном случае опухоль можно характеризовать как низкодифференцированную трабекулярно-ацинарную гепатокарциному (пример опухоли смешанного строения).

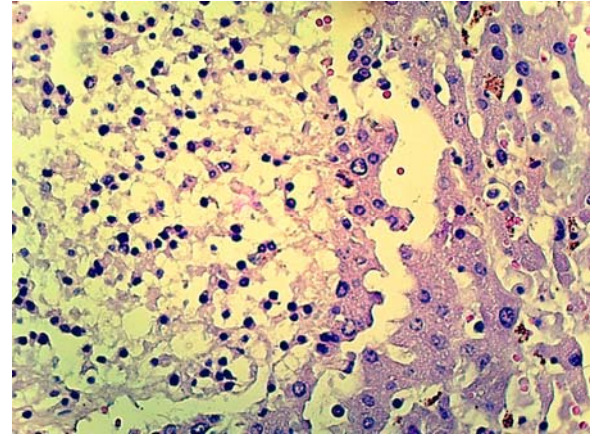


**Рисунок 9** - Образцы гистологических препаратов печени контрольных мышей 22-х месячного возраста (примеры трабекулярно-ацинарных гепатокарцином низкой дифференцировки; увеличение  $\times 400$ , окраска гематоксилином и эозином)

На рисунке 10 показаны микропрепараты гепатокарцином мышей 2 (профилактическое воздействие жидкого КФА) и 4 (профилактическое воздействие сухого КФА) групп, которые выявляли в позднем онкогенезе. Видно, что гепатокарциномы инфильтрированы массой активированных лимфоцитов, судя по однородным крупным клеточным ядрам. В соседних участках и по периферии опухоли также видны отдельные лимфоциты и их группы. Выявляются также деструктивные участки гепатокарцином.



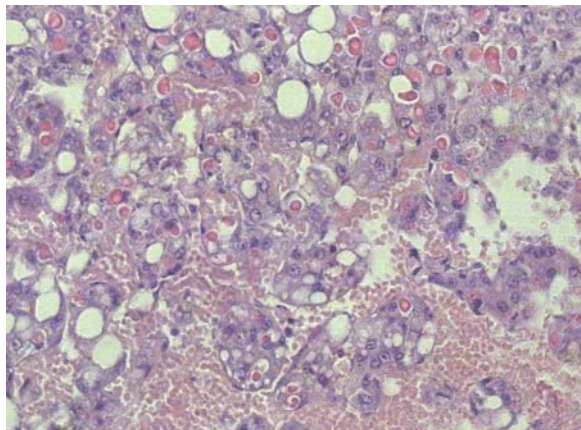
а) увеличение x 400



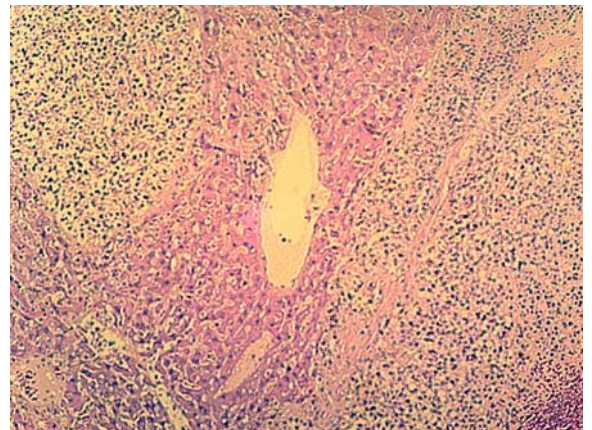
б) увеличение x 200

**Рисунок 10** – Примеры инфильтрации трабекулярно-ацинарных гепатокарцином мышей СВА 22-х месячного возраста (а - при профилактическом воздействии жидкого КФА; б – при профилактическом воздействии сухого КФА; окраска гематоксилином и эозином)

На рисунке 11 показаны примеры опухолей печени мышей СВА 22-х месячного возраста (а – лечебное воздействие жидкого КФА; б - лечебное воздействие сухого КФА). Микроскопически опухоль также представляет собой трабекулярно-ацинарную гепатокарциному. Лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, располагаются группами и тяжами. В данном случае видно, что ткань опухоли также подвержена деструкции.



а) увеличение x 400



б) увеличение x10

**Рисунок 11** – Примеры инфильтрации трабекулярно-ацинарных гепатокарцином мышей СВА 22-х месячного возраста (а - при лечебном воздействии жидкого КФА; б – при лечебном воздействии сухого КФА; окраска гематоксилином и эозином)

Таким образом, у мышей всех групп в возрасте 4 мес при макроскопической ревизии и микроскопическом анализе опухолей в печени не обнаружено. У мышей 1 (контрольные животные), 3 (введение жидкого КФА с 6 мес) и 5 (введение сухого КФА с 6 мес) групп в возрасте 8 мес были выявлены редкие опухоли (см. таблицы 13 и 14) в подтверждение данных литературы о том, что время возникновения первых гепатокарцином относится к возрасту около 6 мес. В этих случаях при гистологическом исследовании печени были найдены в основном мелкие умеренно дифференцированные трабекулярные опухоли, что, по-видимому, характеризует начальный этап опухолеобразования. При этом в опухолях мышей 3 и 5 групп была выявлена лимфоцитарная инфильтрация.

Вместе с тем в ткани печени восьмимесячных опытных мышей, которым в течение 1 мес постнатального онтогенеза профилактически вводили жидкий или сухой экстракт КФА (2 и 4 группы соответственно), признаков опухолевого перерождения не найдено.

В позднем онтогенезе у мышей опытных групп определяли снижение количества и размеров низкодифференцированных трабекулярно-ацинарных гепатокарциномы, а также выявляли в них инфильтрацию и деструктивные процессы, чего не было у мышей контрольных групп.

Критическим моментом, способствующим в конечном результате гибели клеток-мишеней, может являться усиление контактных взаимодействий иммунных эффекторов и опухолевых клеток [10, 127, 269, 351].

Лимфоцитарная инфильтрация опухолей, выявленная у мышей СВА, была сопряжена с коррекцией иммуноадгезионных параметров.

Таким образом, снижение частоты опухолеобразования у мышей СВА при профилактическом и лечебном воздействии как жидкой, так и сухой формы КФА может быть результатом в том числе выраженной лимфоцитарной инфильтрацией и деструкцией гепатокарцином.

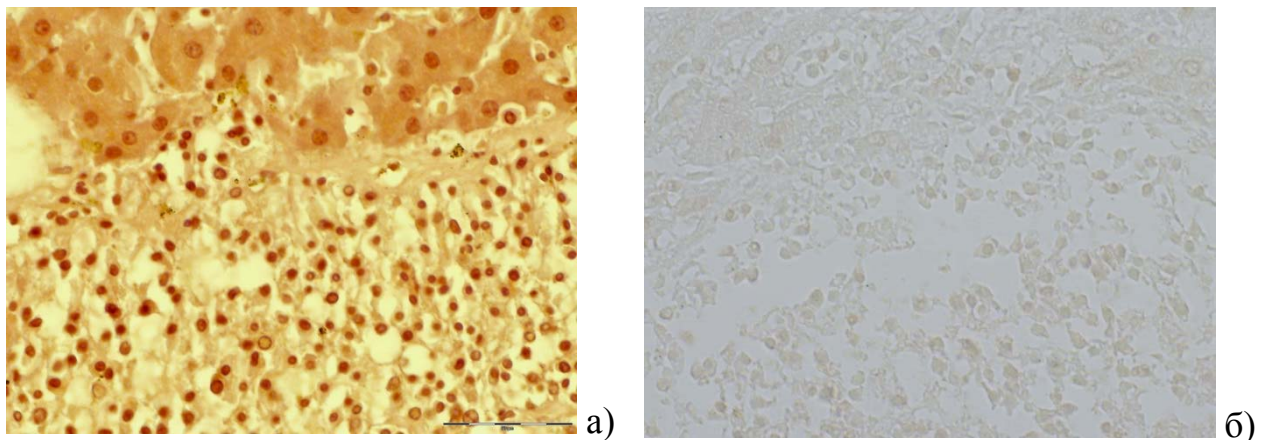


## ГЛАВА 7. ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ ЛИМФОЦИТОВ, ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ГЕПАТОКАРЦИНОМЫ МЫШЕЙ СВА

Приведенные в предыдущем разделе результаты исследований при использовании КФА оставили невыявленным фенотип лимфоцитов, инфильтрирующих изучаемые гепатокарциномы. Также важной стороной фенотипирования является возможное выявление на этих клетках, в частности, молекул лейкоцитарных интегринов.

Результаты иммунофенотипирования опухоли инфильтрирующих лимфоцитов (ОИЛ) в гепатокарциномах мышей СВА показаны на примере влияния сухой формы КФА.

Результаты иммуногистохимической реакции, представленные на рисунке 12, свидетельствуют о том, что лимфоциты, выявленные в опухолях мышей СВА 4 группы в возрасте 22 мес (при профилактическом воздействии сухого КФА), экспрессируют CD8 антиген, т.е. представляют собой цитотоксические лимфоциты.

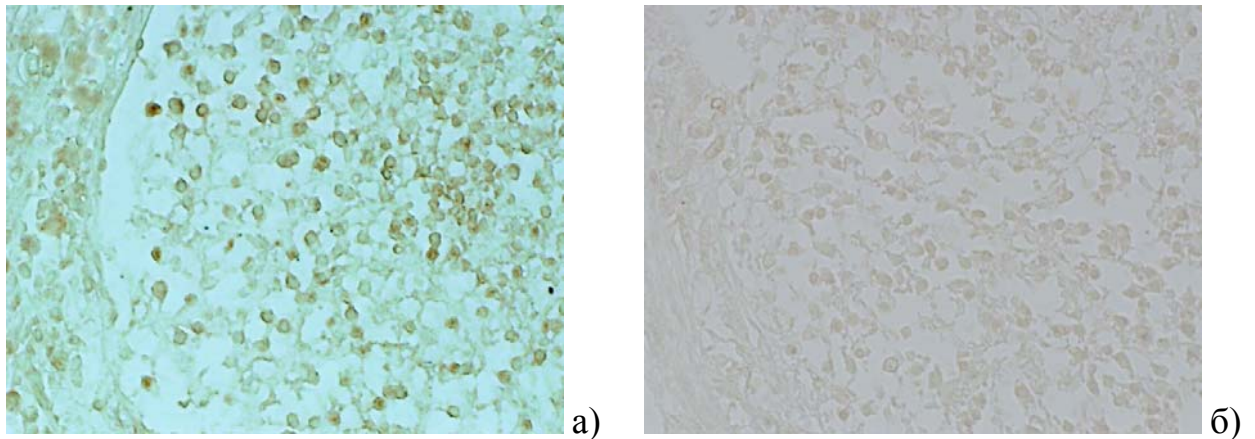


**Рисунок 12** – Иммуногистохимическое окрашивание ткани печени мышей СВА на CD8 антиген (профилактическое воздействие КФА сухого: а – CD8-позитивные клетки; б – контрольный срез (при отсутствии специфических антител))

На рисунке 13 представлены результаты, указывающие на то, что лимфоциты, инфильтрирующие гепатокарциномы, выявленные у мышей СВА 4 группы (при профилактическом воздействии сухого КФА) в 22-х месячном возрасте,

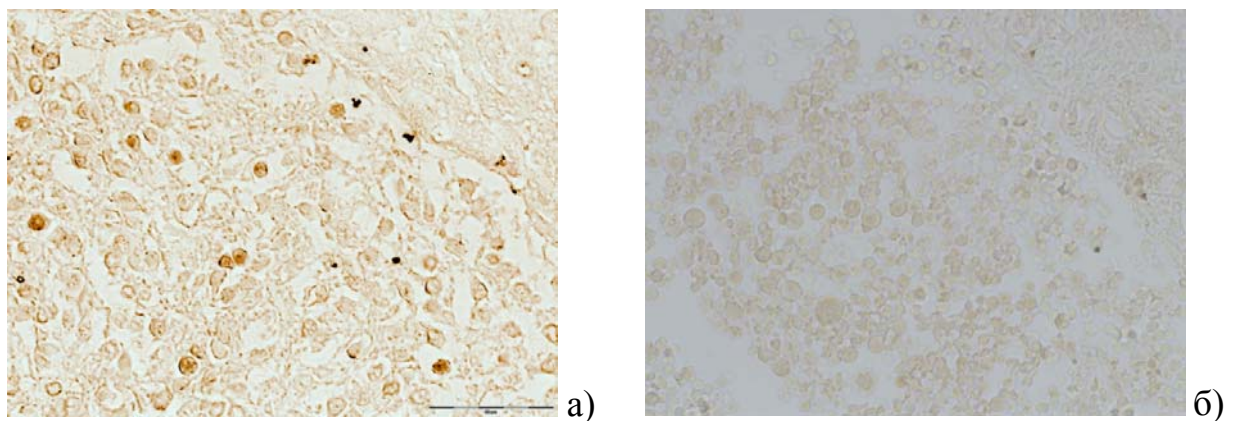


экспрессируют на своей поверхности CD118 антиген.



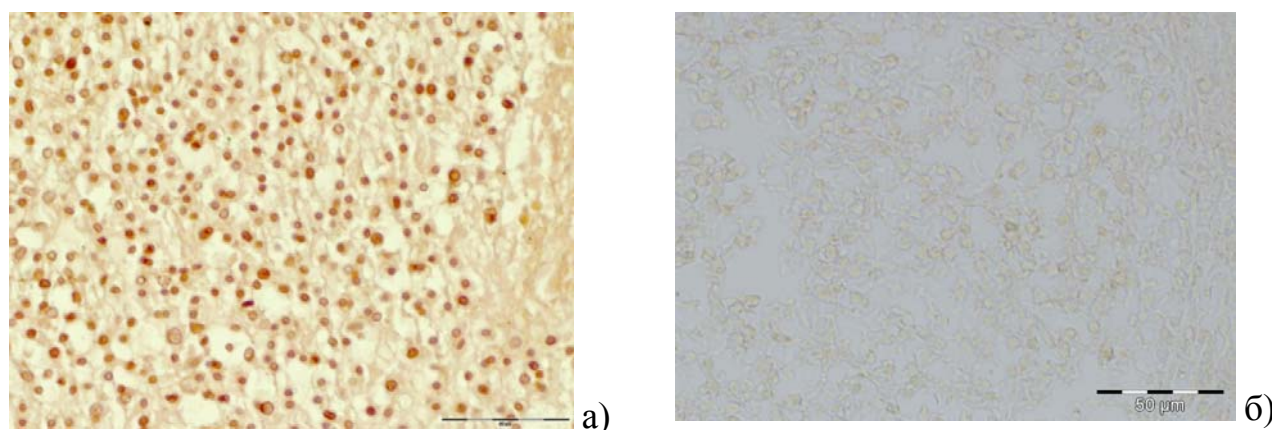
**Рисунок 13** - Иммуногистохимическое окрашивание ткани печени мышей СВА на CD11a антиген (профилактическое воздействие КФА сухого: а – CD11a-позитивные клетки; б – контрольный срез (при отсутствии специфических антител)

На рисунке 14 представлены результаты, указывающие на то, что лимфоциты, инфильтрирующие гепатокарциномы, выявленные у мышей СВА 4 группы (при профилактическом воздействии сухого КФА) в 22-х месячном возрасте, экспрессируют на своей поверхности CD11b антиген.



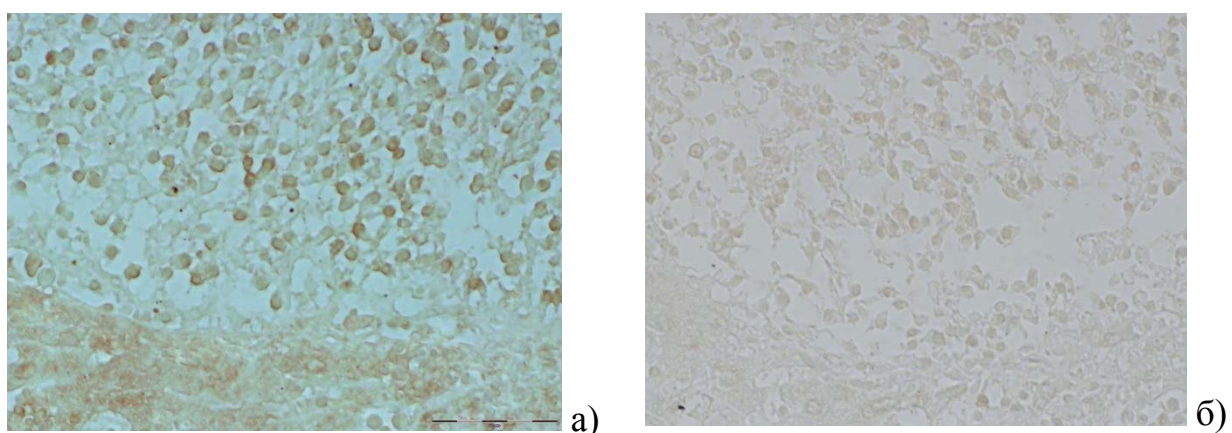
**Рисунок 14** - Иммуногистохимическое окрашивание ткани печени мышей СВА на CD11b антиген (профилактическое воздействие КФА сухого: а – CD11b-позитивные клетки; б – контрольный срез (при отсутствии специфических антител)

На рисунке 15 представлены результаты, указывающие на то, что лимфоциты, инфильтрирующие гепатокарциномы, выявленные у мышей СВА 5 группы (при лечебном воздействии сухого экстракта КФА) в 22-х месячном возрасте, экспрессируют на своей поверхности CD8 антиген.

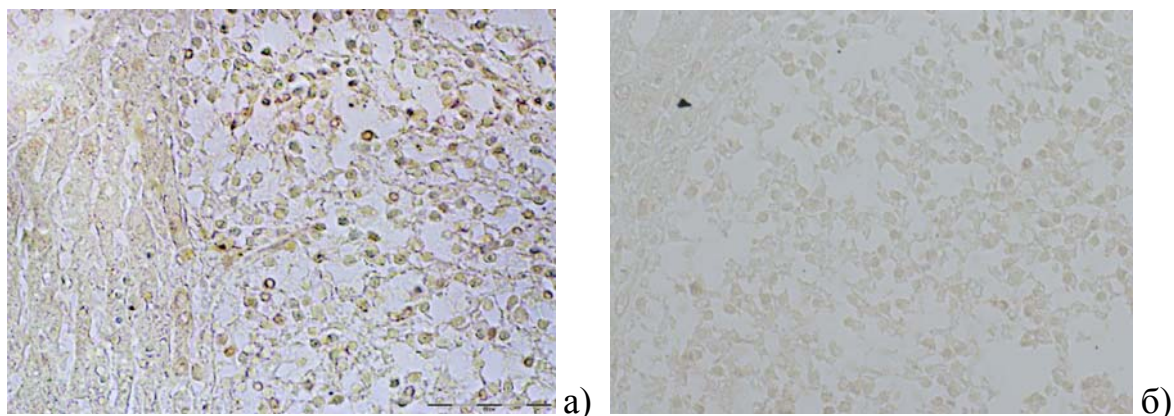


**Рисунок 15** - Иммуногистохимическое окрашивание ткани печени мышей СВА на CD8 антиген (лечебное воздействие КФА сухого: а – CD8-позитивные клетки; б – контрольный срез (при отсутствии специфических антител))

Результаты, представленные на рисунках 16 и 17 свидетельствуют о том, что лимфоциты, инфильтрирующие опухоли мышей СВА 5 группы, экспрессируют CD11a и CD11b антигены.



**Рисунок 16** - Иммуногистохимическое окрашивание ткани печени мышей СВА на CD11a антиген (лечебное воздействие КФА сухого: а – CD11a-позитивные клетки; б – контрольный срез (при отсутствии специфических антител))



**Рисунок 17** - Иммуногистохимическое окрашивание ткани печени мышей СВА на CD11b антиген (лечебное воздействие КФА сухого: а – CD11b-позитивные клетки; б – контрольный срез (при отсутствии специфических антител))

Таким образом, в результате иммуногистохимического анализа было выявлено, что эффекторы иммунитета, мигрировавшие в гепатокарциномы мышей, получавших сухой экстракт КФА в обоих режимах введения, представляют собой цитотоксические CD8<sup>+</sup> лимфоциты, экспрессирующие CD11a и CD11b антигены. Поэтому с высокой долей вероятности можно заключить, что влияние сухой формы КФА (как и жидкого экстракта) способствует миграции цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитов в опухоли печени мышей СВА. Очевидно, это значимо для торможения опухолеобразования, а также увеличения продолжительности жизни животных и улучшения их соматического статуса.

Известно, что в большинстве случаев опухолевые клетки «ускользают» от реакций противоопухолевого иммунитета [170].

Вместе с тем, иммунная система способна как сдерживать так и усиливать рост опухоли. Исследования одних авторов свидетельствуют о том, что регрессия опухолевого очага обусловлена инфильтрацией цитотоксическими лимфоцитами. В других исследованиях, наоборот, опухолевая прогрессия сопровождается инфильтрацией лимфоцитами и эти события выступают в качестве неблагоприятного прогноза [351; 366].

В состав опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов входят макро-, микрофаги,



супрессорные клетки миелоидного происхождения, Т-, В-лимфоциты, НК-клетки, имеющие различие по влиянию на развитие опухолевого процесса. Экспериментальные и клинические исследования показывают, что позитивный или негативный прогноз заболевания может быть связан с наличием той или иной субпопуляции лимфоцитов. В большинстве исследований показано, что благоприятный прогноз и регрессия опухоли связаны с присутствием в инфильтрате CD8<sup>+</sup> лимфоцитов. Однако в настоящее время лишь в некоторых исследованиях прослеживается связь отдельных популяций опухолеинфильтрирующих лимфоцитов с выживаемостью [266].

Обсуждая полученные результаты, можно отметить, что, как правило, увеличение в инфильтрате опухоли CD8<sup>+</sup> лимфоцитов является фактором благоприятного прогноза заболевания [398].

По данным ряда исследователей CD4<sup>+</sup> (Th2) лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, способны продуцировать ИЛ-17. ИЛ-17, в свою очередь, обеспечивает синтез интерлейкинов 1 $\beta$ , 6, 8, 15, VEGF, TGF- $\beta$ , поддерживающих дифференцировку CD4<sup>+</sup> (Th2) клеток, которые синтезируют ИЛ-10, -17 и TGF- $\beta$ . Круг замыкается, что приводит к началу развития сосудов. Пролиферативные процессы при этом стимулируются, способствуя прогрессии опухоли и метастазированию [113; 403].

Сдерживание указанных факторов, в том числе торможение образования интерлейкинов 6 и 10, вероятно, предотвращает миграцию CD4<sup>+</sup> лимфоцитов и макрофагов в опухоль, подавляя иммуносупрессию и опухолевую прогрессию.

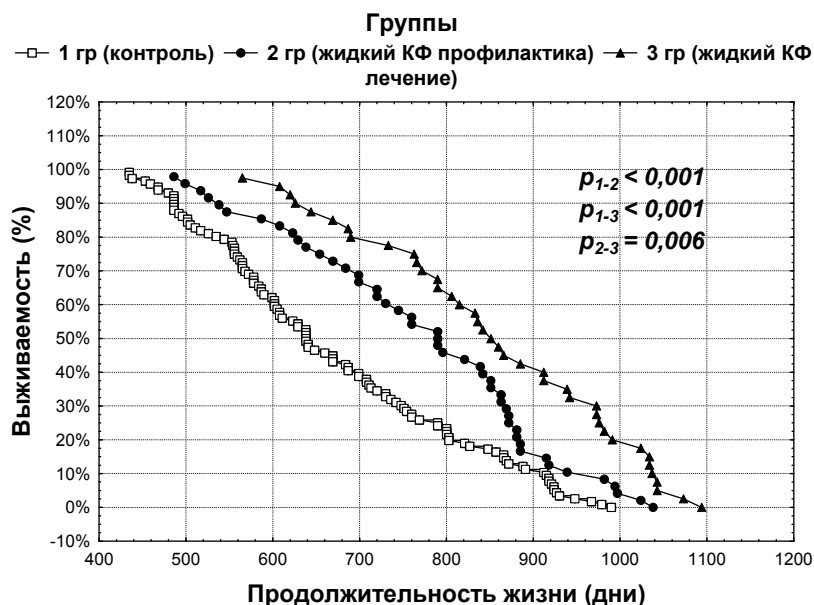
Вместе с тем, известно, что усиление противоопухолевой активности цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитов выступает в качестве ведущей цели противоопухолевой иммунотерапии. По данным ряда авторов CD8<sup>+</sup> ОИЛ должны быть дифференцированы до CD57<sup>+</sup> лимфоцитов, иметь способность к продукции ИФН- $\gamma$  и порфирина. Данные условия были определены при подавлении способности опухолевых клеток продуцировать трансформирующие факторы роста, в частности, TGF- $\beta$  и - $\gamma$ . Если этих факторов нет в наличии, то торможение или подавление опухолевого процесса отсутствует [100].

Учитывая данные других исследователей, а также собственные результаты снижения размеров гепатом и частоты опухолеобразования у мышей СВА можно полагать, что выявленные в опухолях печени CD8<sup>+</sup> ОИЛ, экспрессирующие на своей поверхности адгезионные молекулы LFA-1 и Mac-1, вероятно, дифференцированы до CD57<sup>+</sup> лимфоцитов, а также способны синтезировать ИФН- $\gamma$  и порфирин. Вместе с подавлением продукции TGF- $\beta$  и  $\gamma$ , а также ИЛ-6 и -10, это может способствовать осуществлению реакций иммунитета против опухоли, в том числе миграции лимфоцитов, их контактированию с опухолевыми клетками последующим перфорированием клеточных мембран последних. В результате, наблюдаются деструктивные процессы в гепатокарциномах.

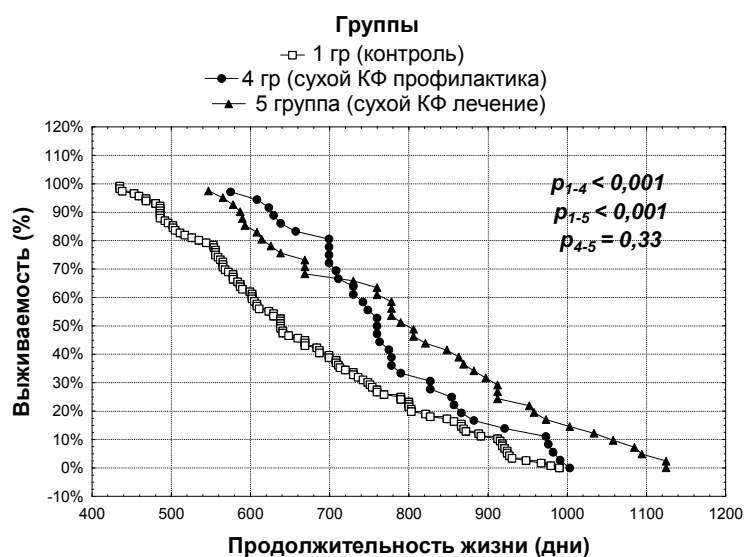
Таким образом, можно предположить, что экспрессия лейкоцитарных интегринов на эффекторах иммунитета обуславливает способность ОИЛ мигрировать в опухоль, контактировать с клетками-мишенями, что является важным условием ослабления механизмов ускользания опухоли от надзора иммунитета и подавления опухолевого процесса.

## ГЛАВА 8. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МЫШЕЙ СВА

На рисунках 18 и 19 показаны кривые выживаемости мышей-самцов СВА при разных воздействиях жидкого и сухого экстрактов КФА.



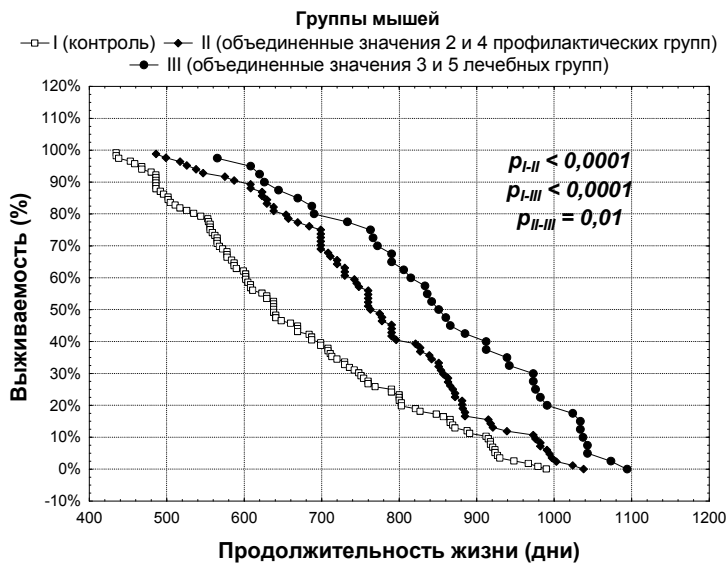
**Рисунок 18** - Кривые выживаемости мышей СВА при профилактическом и лечебном воздействии жидкой формы КФА



**Рисунок 19** - Кривые выживаемости мышей СВА при профилактическом и лечебном воздействии сухой формы КФА

Статистический анализ показал, что данные контрольных групп для жидкой и сухой форм КФА ( $p = 0,9$ ), а также результаты профилактического воздействия разных форм КФА ( $p_{2-4} = 0,84$ ) не имеют достоверных различий. Аналогичный вывод можно сделать и по лечебному воздействию двух форм КФА ( $p_{3-5} = 0,20$ ).

В связи с этим на рисунке 20 отображены кривые выживаемости мышей-самцов линии СВА, представляющие собой обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА.



**Рисунок 20** - Кривые выживаемости мышей СВА при воздействии жидкой и сухой формы КФА (обобщенные данные)

У контрольных мышей медиана выживаемости определена как 638 дней. Медиана выживаемости мышей 2, 3, 4 и 5 опытных групп составила 790, 851, 760 и 806 дней, соответственно. Следовательно, медиану выживаемости при профилактическом воздействии КФА (в любой форме) можно оценить как 775 дней, а при лечебном — как 829 дней. Обобщая результаты жидкой и сухой формы КФА можно указать, что медиана выживаемости контрольных мышей была ниже, чем у опытных при профилактическом введении КФА на 4,5 мес, а при лечебном — на 6,3 мес.

В контрольной группе больше 1000 дней не прожило ни одно животное (около 33 мес). В профилактическое воздействие жидкого экстракта КФА, 2 группа, указанный срок пережило 2 мыши из 48 животных, что составило 4,2%

( $p_{1-2} \leq 0,001$ ), в 3 группе (лечебное воздействие жидкого экстракта КФА) – 8 мышей из 40 (20%;  $p_{1-3} \leq 0,001$ ), в 4 группе (профилактическое воздействие сухого экстракта КФА) – 1 мышь из 36 (2,7%), в 5 группе (лечебное воздействие сухого экстракта КФА) – 7 мышей из 41 (17,1%;  $p_{1-5} < 0,001$ ).

Следовательно, при обобщении результатов жидкой и сухой формы КФА показано, что профилактическое воздействие КФА способствовало тому, что 1000 дней пережили 3,6 % животных (3 из 84), а лечебное — 18,5% мышей (15 из 81). Средняя продолжительность жизни (СПЖ) трех мышей при профилактике составила 1022 дня, а при лечении 15 животных - 1061 день. СПЖ этих 18 мышей равна 1054 дня, или 34,5 мес.

В таблице 19 представлены СПЖ и медиана выживаемости мышей СВА при воздействии жидкой и сухой формы КФА в течение 1 мес постнатального онтогенеза (2 и 4 группы), а также с 6 мес при возникновении первых опухолей и на протяжении дальнейшего онтогенеза (3 и 5 группы).

**Таблица 19** – СПЖ и медиана выживаемости мышей СВА при воздействии жидкой и сухой формы КФА

Группы животных	СПЖ, дни (мес) $M \pm m^1$	Медиана выживаемости, дни (мес)	Кол-во мышей с ПЖ >1000 дней. Их СПЖ, дни $M \pm m^1$
1. Контроль (n = 116)	671,2±13,8 (22)	638 (21)	0
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 48)	769,0±21,5 <sup>2</sup> (25)	790 (26)	2 (4,2±0,3%) 1031 ± 7,0 <sup>2</sup>
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 40)	859,2±23,3 <sup>2</sup> (28)	851 (28)	8 (20,0±2,2) 1048±8,3 <sup>2</sup>
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 36)	778,6±19,1 <sup>2</sup> (26)	760,0 (25)	1 (2,7%) 1003
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 41)	811,5±26,8 <sup>2</sup> (27)	806,0 (27)	7 (17,1%) 1075±17,5 <sup>2</sup>



<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p < 0,0001$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными;

$n$  – количество животных.

СПЖ контрольных мышей определена как 671,2 дня. У мышей 2 опытной группы СПЖ повысилась на 98 дней и составила 769 дня ( $p_{1-2} = 0,001$ ). У мышей 3 опытной группы СПЖ повысилась на 188 дней и составила 859,2 дней ( $p_{1-3} = 0,001$ ). В 4 и 5 группах СПЖ животных увеличилась по сравнению с контролем на 107 (до 778,6 или 26 мес) и 140 (до 811,5 или 27 мес) дней соответственно.

В таблице 20 показаны обобщенные результаты выживаемости мышей линии СВА при профилактическом и лечебном (в обеих формах) воздействии КФА. При обобщении данных по двум формам препарата, показано, что при профилактическом воздействии КФА СПЖ животных достигает 775 дней (25 мес), а при лечебном — 834 дня (27,5 мес). В первом случае она может превышать таковую у контрольных животных на 104 дня, а во втором — на 163 (таблица 20).

**Таблица 20** – СПЖ и медиана выживаемости мышей СВА при воздействии КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	СПЖ, дни (мес) $M \pm m^1$	Медиана выживаемости, дни (мес)	Кол-во мышей с ПЖ >1000 дней
I. Контроль (n = 116)	671,2 $\pm$ 13,8 (22)	638 (21)	0
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 84)	775,0 $\pm$ 14,6 <sup>2</sup> (25)	775 (25,6)	3 (3,6%) <sup>2</sup>
III. КФА, лечебное воздействие (n = 81)	834,0 $\pm$ 17,8 <sup>2,3</sup> (27,4)	829 (27,5)	15 (18,5%) <sup>2</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> -  $p < 0,0001$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>3</sup> -  $p = 0,01$  – достоверность различий в сравнении с II группой; n – количество животных

Максимальная продолжительность жизни животных во 2, 3, 4 и 5 группах определена как 1038 дней (34 мес), 1099 дней (36 мес), 1003 (33 мес) и 1094 дня (36 мес), соответственно. В контрольной группе 1 животное прожило 990 дней (32 мес). Минимальная продолжительность жизни во 2, 3, 4 и 5 группах определена на уровне 488 дней (16 мес), 567 дней (18,7 мес), 570 дней (19 мес) и 547 дней (18 мес), соответственно. Таким образом, самая низкая продолжительность жизни при профилактическом введении КФА составила 529 дня (17,4 мес); а при лечебном — 557 дней (18,3 мес). В контрольной группе минимальная продолжительность жизни отмечена на уровне 437 дней (14,4 мес).

Профилактическое воздействие КФА (жидкого и сухого экстракта) способствовало тому, что 1000 дней пережили 3,6 % животных (3 из 84), а лечебное — 18,5% мышей (15 из 81). СПЖ трех мышей при профилактическом воздействии КФА составила 1022 дня, 15 мышей при лечебном воздействии КФА — 1061 день. СПЖ этих 18 мышей равна 1054 дня, или 34,5 мес. Максимальная продолжительность жизни определена у 3 мышей, получавших КФА в лечебном режиме – они прожили 1099 дней (36 мес) или 3 года. При хронобиологическом переносе возраста мышей на человека эти мыши прожили около 100 лет. В то же время контрольные мыши при хронобиологическом переносе прожили около 62 лет. У 3 опытных мышей с максимальной продолжительностью жизни было определено по одной опухоли объемом 520, 260 и 28 мм<sup>3</sup>.

СПЖ мышей СВА, генетически предрасположенных к спонтанному гепатоканцерогенезу, в среднем составляет два года. В данном случае обсуждение проблемы увеличения продолжительности жизни на основании результатов исследования мышей линии СВА является корректным, поскольку их выживаемость, не смотря на высокий уровень спонтанных гепатом, сравнима с

таковой здоровых мышей без опухолевых патологий.

СПЖ, а также медиана выживаемости мышей опытных групп, получавших жидкий или сухой экстракт КФА, обладающий адгезиогенными свойствами, статистически достоверно выше, чем у мышей контрольной группы.

Таким образом, профилактическое воздействие КФА как адгезиогенного агента способствовало увеличению выживаемости высокогепатомных мышей-самцов СВА на 16%, лечебное воздействие - на 24%.

Из литературы известны исследования, посвященные разработке способов увеличения продолжительности жизни на экспериментальных моделях мышей, например генетическая модификация в отношении калорийной рестрикции. Однако в этих работах замедление процессов старения и увеличение продолжительности жизни получены на генетически модифицированных животных при отсутствии опухолевых патологических процессов [93, 105, 236, 352]. Полученные в данной работе результаты можно сопоставить с работами доктора Харрисона Д.Е. с соавторами. Эти исследователи добились увеличения продолжительности жизни мышей (C57Bl/6×BALB/c) при введении противоопухолевого агента - ингибитора рапамицин-киназы. Выживаемость самок увеличилась на 14%, а самцов – на 9% [181; 280]. Однако практическое использование данного агента имеет определенные трудности, связанные с его высокой токсичностью. Результаты данной работы по увеличению выживаемости высокогепатомных мышей под воздействием нетоксичного агента, вероятно, имеют преимущества, учитывая вывлеченный противоопухолевый эффект.

## ГЛАВА 9. АНАЛИЗ СОМАТИЧЕСКОГО СТАТУСА МЫШЕЙ СВА В ОНТОГЕНЕЗЕ, А ТАКЖЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА

При анализе соматического статуса мышей СВА контрольной и опытных групп учитывали динамику массы тела, а также их двигательную активность и качество волосяного покрова. В таблице 1 представлены данные по массе тела мышей СВА в разные периоды онтогенеза

**Таблица 21** – Масса тела мышей СВА в разные периоды онтогенеза

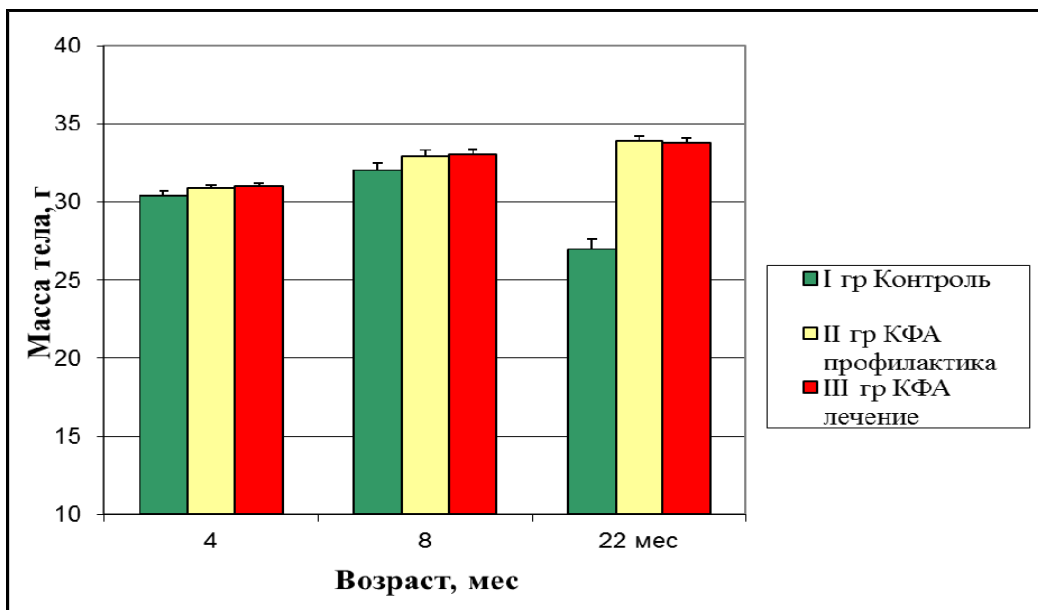
Группы животных	Масса тела мышей (г) $M \pm m^1$		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контроль (n = 90)	$30,4 \pm 0,3$ (n = 30)	$32,0 \pm 0,3^2$ (n = 30)	$27,0 \pm 0,6^3$ (n = 30)
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 90)	$30,9 \pm 0,3$ (n = 30)	$32,7 \pm 0,6^2$ (n = 30)	$34,0 \pm 0,3^4$ (n = 30)
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 90)	$31,3 \pm 0,3$ (n = 30)	$33,4 \pm 0,5^2$ (n = 30)	$34,2 \pm 0,4^4$ (n = 30)
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 90)	$31,0 \pm 0,4$ (n = 30)	$33,2 \pm 0,4^2$ (n = 30)	$33,8 \pm 0,5^4$ (n = 30)
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 90)	$30,5 \pm 0,3$ (n = 30)	$32,4 \pm 0,5^2$ (n = 30)	$33,5 \pm 0,6^4$ (n = 30)

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> -  $p \leq 0,01$  – достоверность различий показателя в 4 и 8 мес по группе; <sup>3</sup> -  $p = 0,0008$  - достоверность различий между средними значениями показателя в 8 и 22 мес в контроле; <sup>4</sup> -  $p = 0,0001$  – достоверность различий в сравнении с контрольной группой; n – количество животных

Как видно из данных таблицы 21, в первой точке исследования, а именно в возрасте животных 4 месяца, масса тела у всех мышей не различалась. Во второй

временной точке исследования (в 8 мес) – увеличивалась статистически достоверно. В позднем онтогенезе (в возрасте 22 мес) среднее значение массы тела животных контрольной группы снизилось по сравнению с 8-месячным возрастом на 16% ( $p_{8-22}=0,0002$ ), в то время как у животных всех опытных групп данный показатель практически не изменился. При этом масса тела животных 2, 3, 4 и 5 опытных групп ( $34,0\pm 0,3$  г,  $34,2\pm 0,4$ ,  $33,8\pm 0,5$  и  $33,5\pm 0,6$  соответственно) была достоверно выше, чем в контроле ( $27,0\pm 0,6$  г;  $p_{1-2}=0,0001$ ,  $p_{1-3}=0,0001$ ,  $p_{1-4}=0,0001$ ,  $p_{1-5}=0,0001$ ).

Статистический анализ показал, что средние значения массы тела животных в определенные периоды онтогенеза при профилактическом и лечебном воздействии разных форм КФА не имеют достоверных различий ( $p_{2-4} \geq 0,5$ ;  $p_{3-5} \geq 0,1$ ). В связи с этим на рисунке 21 представлены обобщенные средние значения массы тела мышеч при профилактическом (I группа) и лечебном (II группа) воздействии КФА.



**Рисунок 21** – Масса тела мышеч СВА в онтогенезе при воздействии КФА

Из рисунка 21 следует, что в возрасте 4 мес масса тела животных контрольной, I и II групп не различалась, так же как и 8 мес. Масса тела контрольных мышеч в возрастной период с 8 до 22 месяцев снизилась на 16%.

При профилактическом (I группа) и лечебном (II группа) воздействии масса тела животных оставалась стабильной к этому же возрасту.

Снижение массы тела контрольных животных может быть следствием кахексии, в развитии которой участвуют как процессы старения так и опухолеобразование (выявленное у всех животных этой группы). «Вклад» в изменение массы тела также вносит повышение концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови контрольных мышей. Из литературы известно участие этих цитокинов в патогенезе кахексии, а именно они способствуют повышению С-реактивного белка и распаду мышечных белков [140; 231].

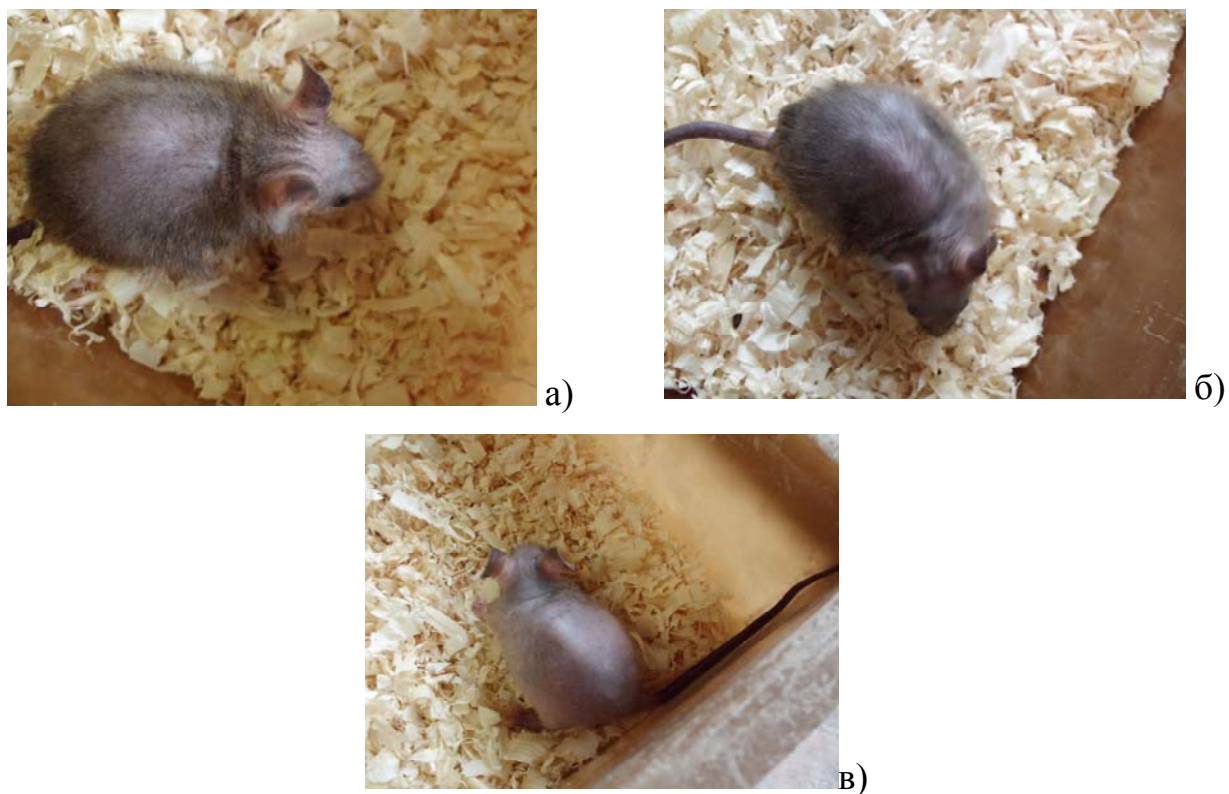
У опытных животных стабильность массы тела определена параллельно с уменьшением концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови. Вероятно, КФА препятствует потере мышечной массы, уменьшая воспалительную реакцию и предотвращая распад белков.

Волосистой покров был полноценным у мышей всех опытных групп. У 5 из 30 животных (16,6%) контрольной группы в части эксперимента по воздействию жидкого КФА мы наблюдали признаки алопеции. У 3 из 15 животных (20% случаев) контрольной группы при воздействии сухого экстракта КФА были также отмечены признаки алопеции. Следовательно, при объединении результатов у животных контрольной группы алопеции встречались в 18% случаев (у 8 из 45 животных). На рисунке 22 представлены обобщенные результаты по характеру волосистого покрова при профилактическом и лечебном воздействии КФА (вне зависимости от формы экстракта).



**Рисунок 22** – Состояние волосистого покрова мышей СВА в позднем онтогенезе (в возрасте 22 мес)

Следует отметить, что состояние волосяного покрова без алопеций у мышей опытных групп согласуется с уменьшением ИЛ-6 в сыворотке крови. Это изменение может приводить к нормализации свойств волосяных фолликулов, а также торможению воспалительного процесса в кожном покрове [440].



**Рисунок 23** – Фотографии мышей-самцов СВА контрольной группы с ярко выраженными алопециями: а-б) возраст животных - 30 мес; в) возраст 32,5 мес

Фотографии контрольных мышей в возрасте 31-32,5 мес представлены на рисунке 23. Следует указать, что среди контрольных мышей максимальная продолжительность жизни (у 1 животного) составила 990 дней (32,5 мес). У животных наблюдали волосяной покров с выраженными признаками алопеции.

Кроме того, как видно на рисунке 23, мыши имели сниженную массу тела, что характерно для кахексических состояний. Вместе с тем среди мышей контрольной группы были животные с полноценным шерстным покровом.

Внешний вид с полноценным волосяным покровом самого старого животного из 2 группы (профилактическое воздействие жидкого экстракта КФА) в возрасте

34 месяцев показан на рисунке 24. У других опытных естественно павших мышей мы наблюдали похожее состояние волосяного покрова. Мышей с дефектами волосяного покрова и похуданием в данной группе не наблюдали.



**Рисунок 24** – Самец СВА в возрасте 34 месяца из 2 группы животных (профилактическое воздействие жидкого экстракта КФА)



**Рисунок 25** – Самый старый самец СВА в возрасте 36 месяцев из 3 группы животных (лечебное воздействие жидкого экстракта КФА)

На рисунке 25 продемонстрирован внешний вид самого старого самца из 3 группы (лечебное воздействие жидкого КФА) в возрасте 36 месяцев. Животное имеет полноценный волосяной покров, признаки седины отсутствуют.

На рисунках 26 и 27 в качестве примера представлены фотографии животных



4 и 5 групп. Один из двух самцов-долгожителей, проживший 36 месяцев, показан на рисунке 26. Качество волосяного покрова, подобное представленному на рисунке, без алопеции и седины, было отмечено и у других опытных животных.



**Рисунок 26** – Самец СВА в возрасте 33 месяцев из 4 группы животных (профилактическое воздействие сухого экстракта КФА)



**Рисунок 27** – Самец СВА в возрасте 36 месяцев из 5 группы животных (лечебное воздействие сухого экстракта КФА)

Таким образом, при спонтанном гепатоканцерогенезе (контрольная группа животных) в позднем онтогенезе отмечено достоверное снижение массы тела, в 18% случаев – волосяной покров с признаками алопеции. У мышей опытных групп в результате воздействия КФА масса тела сохранялась стабильной,

нарушение волосяного покрова не выявлено.

Показатели двигательной активности высококорковых мышц СВА в позднем онтогенезе в результате воздействия жидкого экстракта КФА в разных режимах продемонстрированы в таблице 22. В данном случае, отметим, что первоначально при изучении жидкого экстракта КФА мы не планировали определение двигательной активности. Поэтому к моменту решения оценить этот показатель удалось сформировать изучаемые группы лишь таким образом, что контрольные мыши (23,9 мес) были моложе опытных на 6-7 мес.

Данные таблицы 22 указывают на то, величина пройденного пути у мышей контрольной группы в среднем могут пройти при заданных условиях  $1089,6 \pm 74,8$  см. Более старые мыши 2 и 3 групп могут пройти меньшее расстояние ( $933,7 \pm 150,2$  см и  $851,4 \pm 192,50$  см, соответственно). Однако последние два значения достоверно не отличаются друг от друга, а также от такового у контрольных более молодых животных ( $p_{1-2} = 0,1$ ;  $p_{1-3} = 0,3$ ;  $p_{2-3} = 0,8$ ).

**Таблица 22** – Показатели двигательной (поведенческой) активности мышей СВА при воздействии жидкого КФА

Группы животных	Возраст, Мес ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Пройденный путь, см ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Время без движения, сек ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Число «стоек» ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Число мелких движений ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>
1. Контрольная (n = 16)	$23,9 \pm 0,1$	$1089,6 \pm 74,8$	$82,5 \pm 7,6$	$10,0 \pm 1,8$	$220,5 \pm 21,0$
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 7)	$30,1 \pm 0,3$ <sup>2</sup>	$933,7 \pm 150,2$	$109,3 \pm 16,7$	$5,5 \pm 1,3$	$195,5 \pm 20,0$ <sup>3</sup>
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 10)	$31,0 \pm 0,4$ <sup>2</sup>	$851,4 \pm 192,5$	$100,5 \pm 14,2$	$4,8 \pm 2,0$	$203,9 \pm 10,7$

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p \leq 0,001$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>3</sup>

-  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных

Аналогичные результаты были получены и для других параметров двигательной активности мышей.

Контрольные животные находились без движения в течение  $82,5 \pm 7,6$  сек. В опытных группах 2 и 3 без движения самцы оставались  $109,3 \pm 16,7$  сек и  $100,5 \pm 14,2$  сек, соответственно. Статистически эти значения не различались ( $p_{1-2} = 0,07$ ;  $p_{1-3} = 0,2$ ;  $p_{2-3} = 0,7$ ).

Число «стоек» у мышей контрольной группы  $-10,0 \pm 1,8$ . Животные 2 и 3 групп выполняли «стойки» в среднем меньшее количество ( $5,5 \pm 1,31$  и  $4,8 \pm 2,0$  соответственно). Однако статистически достоверной разницы во всех трёх случаях не выявлено ( $p_{1-2} = 0,3$ ;  $p_{1-3} = 0,1$ ;  $p_{2-3} = 0,09$ ).

Мелкие движения мышей контрольной группы оценили в количестве  $220,5 \pm 21,0$ . Во 2 опытной группе животных количество мелких движений у мышей зафиксировано достоверно в меньшем количестве -  $195,5 \pm 20,0$ ,  $p_{1-2} = 0,02$ . Вместе с тем между контрольной и опытной группой 3 по числу мелких движений ( $203,9 \pm 10,7$ ) статистически значимых различий получено не было ( $p_{1-3} = 0,1$ ).

Таким образом, двигательная активность животных 2 и 3 опытных групп имела тенденцию к ухудшению. Более того, по количеству мелких движений между контрольной и 2 опытной группой выявлено достоверное различие. Полученный факт, с одной стороны, не удивителен, поскольку в данном случае средний возраст мышей контрольной группы ( $23,9 \pm 0,1$  мес) на момент измерений был все же на шесть - семь месяцев меньшим по сравнению с животными 2 и 3 групп. С другой стороны, двигательная активность старых опытных мышей из 2 и 3 групп, получавших жидкий экстракт КФА кратковременно в начале жизни или длительно, начиная с 6 месяцев, сопоставима с активностью молодых контрольных животных.

Таким образом, состояние двигательной активности более старых животных, принимавших жидкий экстракт КФА в профилактическом и лечебном режимах, практически не уступало аналогичным показателям более молодых контрольных мышей. Более того, несмотря на более молодой возраст, в контрольной группе наблюдали мышей с признаками аллопеции, с обесцвеченным волосяным

покровом, чего не встречалось у животных, принимавших жидкий экстракт КФА при разных режимах введения, живших более длительно.

Вместе с тем, если сравнивать животных при профилактическом и лечебном воздействии жидкого экстракта КФА, первые имели преимущество перед вторыми в частности по двигательной активности.

**Таблица 23** – Показатели двигательной (поведенческой) активности мышей СВА при воздействии сухого КФА

Группы животных	Возраст, мес ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Пройденный путь, см ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Время без движения, сек ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Число «стоек» ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	Число мелких движений ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>
1. Контрольная (n = 9)	22,7±0,5	1000,8±52,0	83,8±6,1	11,1±1,0	217,8±10,7
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 9)	23,1±0,6	1230,1±88,5 <sup>2</sup>	66,4±5,3 <sup>2</sup>	14,6±1,2 <sup>2</sup>	251,9±21,3 <sup>2</sup>
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 9)	24,2±0,8	1313,6±96,5 <sup>2</sup>	64,7±4,7 <sup>2</sup>	16,2±2,0 <sup>2</sup>	263,4±18,8 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных

В таблице 23 представлены показатели двигательной активности мышей СВА в позднем онтогенезе при профилактическом (4 группа) и лечебном (5 группа) воздействии сухого экстракта КФА. В данном случае мыши контрольной и опытных групп были практически одинаковы по возрасту. Мыши контрольной группы прошли 1000,8±52,0 см, мыши 4 и 5 – статистически достоверно больший

отрезок -  $1230,1 \pm 88,5$  см и  $1313,6 \pm 96,5$  см, соответственно  $p_{1-4} = 0,04$ ;  $p_{1-5} = 0,001$ ). Значения в обеих опытных группах не различались ( $p_{4-5} = 0,5$ ).

Аналогичные результаты были получены и для других параметров двигательной активности. Время без движения животных в контрольной группе составило  $83,8 \pm 6,1$  сек, в опытных группах 4 и 5 -  $66,4 \pm 5,3$  сек и  $64,7 \pm 4,7$  сек, соответственно;  $p_{1-4} = 0,04$   $p_{1-5} = 0,02$ , т.е. более короткое время.

По числу стоек и мелких движений мыши 4 и 5 опытных групп были более активны.

Полученные результаты (на примере сухого экстракта КФА) показали, что в позднем онтогенезе у животных, получавших КФА в разных режимах, двигательная активность была выше, чем у контрольных мышей. При этом животные были одного возраста.

Таким образом, у мышей-самцов СВА к позднему онтогенезу наблюдали ослабление двигательной активности, снижение массы тела с признаками алопеции волосяного покрова с учетом развития опухолевого процесса у всех животных.

Вместе с тем, повышение двигательной активности высокогепатомных мышей СВА, принимавших КФА при разных схемах введения, без признаков похудения и алопеции согласуется с лучшей выживаемостью и снижением уровня опухолеобразования.

**ГЛАВА 10. ДИНАМИКА ТЕСТОСТЕРОНА И КОРТИКОСТЕРОНА  
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЫШЕЙ СВА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ  
КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА  
(НА ПРИМЕРЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА)**

Результаты определения сывороточного уровня тестостерона у мышей СВА в онтогенезе при профилактическом и лечебном воздействии сухого экстракта КФА представлены в таблице 24.

**Таблица 24** – Динамика тестостерона у мышей СВА при воздействии сухого КФА

Группы животных	Тестостерон (нг/мл) (M±m) <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контрольная (n = 66)	2,6±0,3 (n = 22)	1,6±0,4 (n = 22)	0,3±0,1 <sup>2</sup> (n = 22)
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	3,6±0,4 (n = 13)	2,8±0,2 <sup>3</sup> (n = 13)	0,8±0,1 <sup>2, 4</sup> (n = 13)
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 39)	2,6±0,2 (n = 13)	3,1±0,3 <sup>3</sup> (n = 13)	1,8±0,2 <sup>2, 5</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> - p ≤ 0,01 – достоверность различий между средними значениями показателя в 8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в 1, 4 и 5 группах; <sup>3</sup> - p = 0,01 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>4</sup> - p = 0,001 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>5</sup> - p = 0,0001 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных

В 4 мес у животных контрольной группы, а также 4 и 5 опытных групп сывороточный уровень тестостерона статистически не различался (2,6±0,3;

3,6±0,4 и 2,6±0,2 нг/мл соответственно).

В 8 мес у животных контрольной группы концентрация тестостерона в сыворотке крови (1,6±0,4 нг/мл) ниже по сравнению с данным показателем у животных 4 и 5 групп (2,8±0,2 и 3,1±0,3 нг/мл соответственно,  $p_{1-4}$ ,  $p_{1-5}=0,01$ ).

В 22-х месячном возрасте наблюдается дальнейшее снижение сывороточного тестостерона по всем группам. Так, у контрольных мышей уровень тестостерона уменьшен по сравнению с 4-месячным возрастом примерно в 9 раз (с 2,6±0,3 до 0,3±0,1 нг/мл,  $p_{4-22}=0,002$ ). У мышей 4 (с 3,6±0,4 до 0,8±0,1 нг/мл,  $p_{4-22}=0,002$ ) и 5 (с 2,6±0,2 до 1,8±0,2 нг/мл,  $p_{4-22}=0,001$ ) групп – примерно в 5 и 1,5 раза соответственно. Вместе с тем в возрасте 22 мес отставание между группами становится более ярко выражено ( $p_{1-4}=0,001$ ,  $p_{1-5}=0,0001$ ). При этом у мышей 5 группы концентрация тестостерона в сыворотке крови в возрасте 22 мес была выше и по сравнению с концентрацией гормона у мышей 4 группы ( $p_{4-5}=0,0004$ ).

Результаты определения сывороточного уровня стресс-гормона кортикостерона у мышей СВА в онтогенезе при воздействии сухого экстракта КФА представлены в таблице 25.

**Таблица 25** – Динамика кортикостерона у мышей СВА при воздействии КФА сухого

Группы животных	Кортикостерон (нг/мл)		
	M±m <sup>1</sup>		
	4 мес	8 мес	22 мес
1. Контрольная (n = 66)	75,6±1,7 (n = 22)	96,5±7,2 (n = 22)	140,0±4,5 <sup>2, 3</sup> (n = 22)
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 39)	69,2±2,9 (n = 13)	79,1±3,6 (n = 13)	105,0±1,9 <sup>2, 3</sup> (n = 13)
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 39)	70,9±3,8 (n = 13)	81,3±3,9 (n = 13)	60,5±2,4 <sup>2, 3</sup> (n = 13)

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> - p = 0,0002 – достоверность различий между средними значениями показателя в

8 и 22 мес, а также в 4 и 22 мес в 1, 4 и 5 группах; <sup>3</sup> -  $p = 0,0002$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными;  $n$  – количество животных

Одинаковой была концентрация кортикостерона у мышей контрольной, 4 и 5 опытных групп в возрасте 4 мес ( $75,6 \pm 1,7$ ;  $69,2 \pm 2,9$  и  $70,9 \pm 3,8$  нг/мл, соответственно,  $p \geq 0,07$ ).

Постепенное нарастание гормона в крови выявлено у контрольных мышей с возрастом: к 8 месяцам кортикостерон повысился (с  $75,6 \pm 1,7$  до  $96,5 \pm 7,2$  нг/мл,  $p_{4-8} = 0,01$ ), к 22 месяцам – до  $140,0 \pm 4,5$  нг/мл,  $p_{8-22} = 0,0002$ . Лишь тенденция увеличения концентрации гормона отмечена к 8 месячному возрасту у мышей 4 и 5 опытных групп.

Концентрация кортикостерона в позднем онтогенезе у мышей 4 группы была статистически достоверно выше, чем в 8-ми месячном возрасте ( $105,0 \pm 1,9$  нг/мл;  $p_{8-22} = 0,0002$ ), однако, ее значение было ниже, чем у контрольных мышей этого же возраста ( $p_{1-4} = 0,0002$ ).

Наиболее выраженное влияние на концентрацию кортикостерона в крови оказало длительное воздействие фитоадаптогена у мышей 5 группы, что выражалось в снижении значения показателя в позднем онтогенезе до  $60,5 \pm 2,4$ ,  $p_{8-22} = 0,0002$ .

Анализ динамики концентрации анаболического гормона тестостерона и стресс-гормона кортикостерона (который считается гормоном старения) позволяет говорить о гормональном дисбалансе у мышей контрольной группы, который приводит к преобладанию катаболических реакций в организме, в том числе к нарушениям реакций иммунной системы. Снижение экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови, увеличение концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10 в крови контрольных мышей может выступать в качестве косвенного доказательства ослабленной иммунореактивности высокогепатомных мышей СВА, в том числе недостаточной эффективности цитотоксических лимфоцитов.

У мышей контрольной группы было выявлено повышение концентрации



кортикостерона в крови в позднем онтогенезе в два раза по сравнению с 4-х месячным возрастом. Учитывая данные литературы, свидетельствующие о способности кортизола (кортикостерона у мышей) стимулировать апоптоз лимфоцитов, установленный гиперкортицизм, очевидно, можно считать фактором, способствующим развитию опухолевого процесса у мышей [67].

При анализе динамики тестостерона и кортикостерона у мышей опытных групп, получавших профилактическое или лечебное воздействие сухого экстракта КФА, можно говорить о выявленном гормонотропном действии препарата. Что касается тестостерона, то было показано предотвращение возрастного снижения гормона при кратковременном и длительном воздействии двух форм КФА. Влияние фитоадаптогена на кортикостерон выразилось в торможении образования гормона. Концентрация кортикостерона в сыворотке крови животных в 22 мес сравнима со значениями показателя в 4-х месячном возрасте. Вместе с тем, коррекция концентрации гормонов сочеталась с усилением экспрессии лейкоцитарных интегринов, а также нормализацией концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10, инфильтрацией и деструкцией опухолей, в результате – с увеличением продолжительности жизни опытных животных.

Проявление геропротекторных свойств КФА может быть обусловлено как противоопухолевым влиянием препарата, ослаблением механизмов старения, так и тем и другим одновременно.

**ГЛАВА 11. ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ  
НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ СВА В ОНТОГЕНЕЗЕ, А  
ТАКЖЕ В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСНОГО  
ФИТОАДАПТОГЕНА**

Результаты подсчета численности Дофаминергических нейронов, иммунопозитивных по тирозингидроксилазе, представлены в таблице 26.

**Таблица 26** – Количество Дофаминергических нейронов среднего мозга у мышей-самцов СВА под воздействием жидкого и сухого экстрактов КФА

Группы животных	Количество Дофаминергических нейронов ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	
	3-4 мес	21-22 мес
1. Контроль (n = 24)	11824,0 $\pm$ 479,6 (n = 6)	8460,0 $\pm$ 343,4 <sup>2</sup> (n = 18)
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 6)	-	11236,2 $\pm$ 554,7 <sup>3</sup>
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 6)	-	11028,7 $\pm$ 788,0 <sup>4</sup>
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 8)	-	11089,1 $\pm$ 466,1 <sup>5</sup>
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 5)	-	10249,1 $\pm$ 492,2 <sup>6</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> -  $p = 0,0002$  - достоверность различий между средними значениями показателя в 3-4 и 21-22 мес в контрольной группе; <sup>3</sup> -  $p = 0,001$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>4</sup> -  $p = 0,002$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>5</sup> -  $p = 0,0003$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>6</sup> -  $p = 0,02$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными n – количество животных

Из таблицы следует, что количество ДАергических нейронов среднего мозга у молодых половозрелых (3-4 мес) мышей-самцов контрольной группы составило  $11824 \pm 480$ . При увеличении возраста наблюдали статистически достоверное снижение данного показателя на 29% (до  $8460 \pm 343$ ,  $p=0,0002$ ). Профилактическое воздействие КФА в жидкой (2 группа) и сухой (4 группа) формах препятствовало снижению количества ДАергических нейронов головного мозга у старых мышей по сравнению с этим показателем у контрольных животных в возрасте 21-22 мес ( $11236,2 \pm 554,7$  и  $11089,1 \pm 466,1$ , соответственно;  $p_{1-2}=0,001$  и  $p_{1-4}=0,0003$ ). Аналогичные результаты по сохранению численности ДАергических нейронов среднего мозга у мышей СВА в позднем онтогенезе были получены и при лечебном воздействии жидкого (3 группа) и сухого (5 группа) экстрактов КФА ( $11028,7 \pm 788,0$  и  $10249,1 \pm 492,2$ , соответственно;  $p_{1-3}=0,002$  и  $p_{1-5}=0,02$ ).

**Таблица 27** – Количество ДАергических нейронов среднего мозга у мышей-самцов СВА при профилактическом и лечебном воздействии КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	Количество ДАергических нейронов ( $M \pm m$ ) <sup>1</sup>	
	3-4 мес	21-22 мес
I. Контроль (n = 24)	$11824,0 \pm 479,6$ (n = 6)	$8460,0 \pm 343,4$ <sup>2</sup> (n = 18)
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 14)	-	$11145,7 \pm 343,3$ <sup>3</sup>
III. КФА, лечебное воздействие (n = 11)	-	$10674,9 \pm 461,2$ <sup>4</sup>

<sup>1</sup> -  $M \pm m$  – среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> -  $p = 0,0002$  - достоверность различий между средними значениями показателя в 3-4 и 21-22 мес в контрольной группе; <sup>3</sup> -  $p = 0,0001$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; <sup>4</sup> -  $p = 0,0007$  – достоверность различий в сравнении с контрольными животными; n – количество животных

Статистический анализ показал, что результаты профилактического воздействия жидкого и сухого экстракта, а также лечебного воздействия разных форм КФА на количество ДАергических нейронов в среднем мозге не имеют достоверных различий ( $p_{2-4} = 0,8$  и  $p_{3-5} = 0,4$  соответственно). В связи с этим в таблице 27 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА.

Таким образом, результаты, приведенные в таблицах 26 и 27, позволяют сделать вывод о том, что введение КФА как в раннем (кратковременно), так и в среднем-позднем (долговременно) онтогенезе приводит к предупреждению возрастного снижения количества ДАергических нейронов головного мозга у мышей. Вместе с тем, нельзя забывать, что в данном случае мы имеем дело не только с процессом старения, но и со спонтанным гепатоканцерогенезом. Поэтому вышеуказанный эффект может быть опосредован также и влиянием КФА на механизмы канцерогенеза.

Результаты подсчета количества делящихся клеток, лежащих в субгранулярном слое дорзальной части зубчатой фасции гиппокампальной формации, экспрессирующих ядерный белок Ki67, представлены в таблице 28.

Численность пролиферирующих клеток, экспрессирующих Ki67, у высокогепатомных мышей СВА в возрасте 3-4 мес составила  $116,0 \pm 8,3$ . В позднем онтогенезе у этих мышей изучаемый показатель снизился до  $13,9 \pm 1,6$  ( $p < 0,0001$ ). Количество пролиферирующих нейронов гиппокампа под воздействием профилактического воздействия КФА в жидкой или в сухой форме у старых мышей не изменилось в сравнении с контрольными животными в этом возрасте ( $13,2 \pm 1,8$  и  $15,8 \pm 4,5$ , соответственно;  $p_{1-2} = 0,9$  и  $p_{1-4} = 0,4$  соответственно). Лечебное воздействие КФА в жидкой или сухой формах также не привело к увеличению пролиферирующих нейронов у старых мышей СВА относительно контрольной группы в этом возрасте ( $20,2 \pm 5,1$  и  $20,0 \pm 6,0$  соответственно;  $p_{1-3} = 0,06$  и  $p_{1-5} = 0,09$ ).

**Таблица 28** – Численность пролиферирующих нейронов (Кі67-позитивных клеток) у мышей-самцов СВА при воздействии жидкого и сухого экстрактов КФА

Группы животных	Количество Кі67-позитивных клеток (M±m) <sup>1</sup>	
	3-4 мес	21-22 мес
1. Контроль (n = 24)	116,2±8,3 (n = 6)	13,9±1,6 <sup>2</sup> (n = 18)
2. Жидкий КФА, профилактическое воздействие (n = 6)		13,2±1,8
3. Жидкий КФА, лечебное воздействие (n = 6)		20,2±5,1
4. Сухой КФА, профилактическое воздействие (n = 6)		15,8±4,5
5. Сухой КФА, лечебное воздействие (n = 6)		20,0±6,0

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического;

<sup>2</sup> - p = 0,0001 - достоверность различий между средними значениями показателя в 3-4 и 21-22 мес в контрольной группе; n – количество животных

Результаты профилактического воздействия разных форм КФА на уровень Кі67-позитивных клеток достоверно не различаются ( $p_{2-4}=0,6$ ). То же самое прослеживается и в отношении лечебного воздействия ( $p_{3-5}=0,9$ ). В связи с этим в таблице 29 представлены обобщенные результаты при профилактическом (II группа) и лечебном (III группа) воздействии КФА. Из данных результатов следует, что как профилактическое, так и лечебное воздействие КФА не изменяет уровень пролиферирующих нейронов гиппокампа у мышей СВА в позднем онтогенезе.

Таким образом, численность пролиферирующих нейронов гиппокампа у старых мышей СВА с высокой частотой возникновения спонтанных

гепатокарцином (100%) снижена по сравнению с молодыми животными. Применение КФА не изменяет уровень пролиферирующих нейронов гиппокампа у мышей СВА в позднем онтогенезе. В результате, приведенные данные не выявляют воздействия КФА на подавленную в онтогенезе мышей линии СВА пролиферативную активность клеток субгранулярного слоя зубчатой фации гиппокампальной формации.

**Таблица 29** – Численность пролиферирующих нейронов (Кі67-позитивных клеток) у мышей-самцов СВА при профилактическом и лечебном воздействии КФА (обобщенные результаты)

Группы животных	Количество Кі67-позитивных клеток (M±m) <sup>1</sup>	
	3-4 мес	21-22 мес
I. Контроль (n = 24)	116,2±8,3 (n=6)	13,9±1,6 <sup>2</sup> (n=18)
II. КФА, профилактическое воздействие (n = 12)	-	14,5±2,4
III. КФА, лечебное воздействие (n = 12)	-	20,1±3,7

<sup>1</sup> - M±m – среднее арифметическое значение ± ошибка среднего арифметического; <sup>2</sup> - p = 0,0001 - достоверность различий между средними значениями показателя в 3-4 и 21-22 мес в контрольной группе; n – количество животных

При обсуждении результатов, следует указать, что, с одной стороны, снижение численности ДАергических нейронов у старых мышей СВА по сравнению с молодыми подтверждает данные литературы. С другой стороны, предотвращение уменьшения числа ДАергических нейронов под воздействием КФА коррелирует со снижением уровня гепатокарцином, повышением выживаемости и соматического статуса высокогепатомных животных. Учитывая

известные из литературы геропротекторные, антидепрессантные и противоопухолевые свойства дофамина, можно полагать единую логику событий (объединенную комплексом активности этого катехоламина), демонстрирующую протективное действие КФА на дофаминергическую систему головного мозга.

Кроме того, выявлено снижение уровня нейрогенеза в зубчатой фасции гиппокампа у старых высокогепатомных мышей в контроле. КФА в данной ситуации на нейрогенез не повлиял. Учитывая при этом повышение численности Дофаминергических нейронов, полученные результаты сочетаются с данными литературы о том, что дофамин может ингибировать нейрогенез во взрослом гиппокампе. Действительно, выявленное предупреждение гибели Дофаминергических нейронов при старении под воздействием КФА, вероятно, снижает необходимость их восполнения. Таким образом, усиление пролиферации молодых нейрональных клеток не является оправданным [292, 372].

Вместе с тем снижение численности дофаминергических нейронов в постнатальном онтогенезе мышцей-самцов линии СВА сочетается с уменьшением уровня тестостерона, признаками кахексии, появлением участков алопеций в шерстном покрове животных при возрастании сывороточного уровня ИЛ-6 и -10.

Профилактическое и лечебное воздействие КФА в форме жидкого или сухого экстрактов способствует сохранению высокой численности Дофаминергических нейронов головного мозга в позднем онтогенезе мышцей-самцов линии СВА вместе с ростом сывороточного уровня мужского полового гормона при полноценном шерстном покрове с предупреждением потери веса, подавлением сывороточного уровня ИЛ-6 и -10, а также увеличением продолжительности жизни животных.

Мы провели анализ корреляции численности дофаминергических нейронов в позднем онтогенезе и продолжительности жизни линейных мышцей-самцов линии СВА: коэффициент корреляции  $R$  оказался положительным  $+0,91 \pm 0,02$ .

Потеря численности Дофаминергических нейронов головного мозга в постнатальном онтогенезе у мышцей-самцов линии СВА в наших исследованиях выявлена параллельно с ослаблением двигательной активности животных и

повышением уровня стресс-гормона кортикостерона в сыворотке крови. Связь уровня кортизола и моторной активности закономерна. У пациентов с болезнью Паркинсона выявлено: чем выше уровень сывороточного кортизола, тем короче шаг и наоборот [121; 367]. Повышенный кортизол может также негативно влиять на иммунореактивность организма. Снижение экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1, а также повышение концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови мышей контрольной группы может указывать на ослабление их иммунореактивности при спонтанном гепатоканцерогенезе.

Таким образом, гибель ДАергических нейронов в сочетании с выявленным гиперкортицизмом и иммунодепрессией может отражать хронический стресс, который является отрицательным фактором, способствующим образованию и развитию спонтанных гепатокарцином при вероятном снижении уровня периферического тромбоцитарного дофамина (со свойством противоопухолевого агента), подавлении киллерной активности цитотоксических CD8+ лимфоцитов и участия их в активной фазе противоопухолевых иммунных реакций организма.

Применение КФА в разных режимах и формах восстанавливало численность ДАергических нейронов головного мозга, сопровождаясь хорошей двигательной активностью животных, снижением сывороточного уровня стресс-гормона кортизола, ИЛ-6 и -10, ростом экспрессии молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на цитотоксических CD8+ лимфоцитах, способных мигрировать и накапливаться в опухолях при подавлении образования гепатокарцином. Следовательно, можно полагать контроль процесса гепатоканцерогенеза при усилении противоопухолевой защиты и ослаблении стрессорных механизмов в том числе с участием возросшего содержания периферического дофамина, оправдывая известные из литературы свойства последнего как эндогенного антидепрессанта и токсичного противоопухолевого агента, депонируемого (резервируемого) в тромбоцитах периферической крови.

Учитывая регуляторную связь дофамина в ЦНС и в периферическом организме, участие дофамина в дифференцировке цитотоксических CD8+ лимфоцитов, образовании конъюгатов иммунных эффекторов и клеток-мишеней,



а также в активной фазе противоопухолевых иммунных реакций организма, можно предполагать функционирование дофамина в качестве лимфотоксина, способствующего киллингу опухолевых клеток.

В этом случае, ДА может попадать из цитотоксических CD8+ лимфоцитов (которые образуют конъюгаты с клетками-мишенями) в опухолевые клетки по сформированным перфоринами мембранным каналам и проявлять свою токсичность в отношении опухолевых клеток. Вероятно, в данном случае ДА участвует в выполнении цитолитической функции при замедлении его выброса из опухолевой клетки белком множественной лекарственной устойчивости (Pgp), поскольку известно, что, в частности, некоторые гинзенозиды (содержащиеся в КФА) способны оккупировать указанный белок, снижая его транспортную функцию в отношении цитотоксических агентов [304].

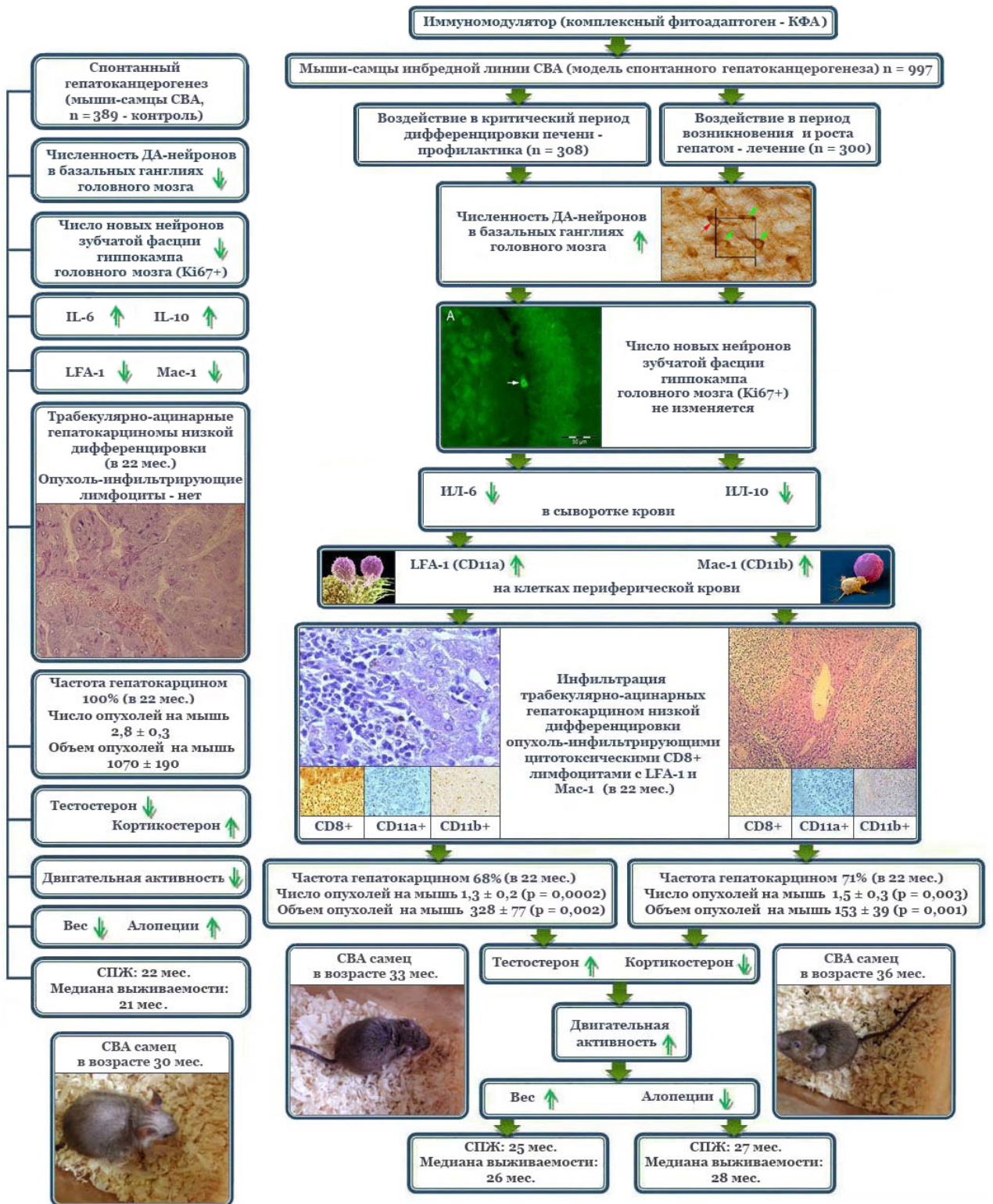
Проведя анализ корреляции численности дофаминергических нейронов головного мозга и частоты спонтанных гепатокарцином у мышей-самцов линии СВА, получили также высокий уровень обратной связи между этими показателями с коэффициентом корреляции  $R = -0,90 \pm 0,03$ .

Оценив корреляцию частоты спонтанных гепатокарцином и продолжительности жизни высокоракковых мышей-самцов линии СВА, мы убедились в негативной зависимости этих параметров с коэффициентом корреляции  $R = -0,92 \pm 0,01$ .

На основании проведенных исследований с высокой вероятностью можно говорить о роли центральных нейрональных процессов (при участии катехоламина дофамина) в контроле периферических иммунных адгезионных механизмов с помощью лейкоцитарных интегринов и сигнальной реактивности цитокинов, сывороточного содержания стресс-гормона кортикостерона и тестостерона, а также в контроле уровня опухолеобразования, выживаемости и качества жизни линейных мышей-самцов СВА при профилактическом и лечебном воздействии комплексного фитоадаптогена, проявляющего геропротекторные, антидепрессантные и противоопухолевые свойства.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоговые результаты исследование представлены на рисунке 28.



**Рисунок 28** – Спонтанный гепатоканцерогенез. Коррекция иммунобиологических реакций комплексным фитоадаптогеном

В начальной точке исследования (в возрасте 4 –х месяцев) у мышей СВА экспрессия лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови, а также уровень ИЛ-6 и ИЛ-10 в крови не различались в контрольной и опытных группах (при воздействии КФА). С увеличением возраста и на фоне опухолеобразования наблюдали ослабление экспрессии LFA-1 и Mac-1 и возрастание концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови.

Вместе с тем, потеря численности ДАергических нейронов в базальных ганглиях головного мозга и снижение уровня нейрогенеза в зубчатой фации гиппокампа в позднем онтогенезе выявлены при гормональном дисбалансе в отношении кортикостерона и тестостерона. У всех животных контрольной группы в позднем онтогенезе мы наблюдали множественные низкодифференцированные трабекулярно-ацинарные гепатокрциномы без инфильтрации опухолей лимфоцитами, снижение двигательной активности, массы тела, а также нарушение волосяного покрова. СПЖ генетически предрасположенных к спонтанному гепатоканцерогенезу мышей в среднем составляет два года.

Исследования выполнены на модели спонтанного гепатоканцерогенеза, которая максимально приближена к ситуации в клинической онкологии, когда опухоли у больных возникают в том числе, в основном, как результат наследственной предрасположенности. Вместе с тем, СПЖ мышей-самцов СВА при возникающих в 100% случаев спонтанных гепатокарциномах сравнима с таковой здоровых мышей без опухолей, которая равна, примерно, двухлетнему периоду. Последнее является также существенным, поскольку позволяет оценивать вероятные геропротекторные эффекты изучаемых агентов с объективной экстраполяцией на человека, приравнивая выживаемость контрольных мышей-самцов к средней продолжительности жизни мужчин (62 года).

В результате недостаточной экспрессии молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 может нарушаться способность эффекторов иммунитета (CD8+ лимфоцитов, НК-клеток и др.) осуществлять межклеточные контакты с клетками-мишенями посредством соответствующих лигандов (ICAM-1, -2, -3), что приводит к снижению противоопухолевой иммунореактивности организма.

Вместе с тем, цитотоксические свойства Т-лимфоцитов могут снижаться вследствие нарушения функционирования некоторых цитокинов. Действительно, выявленному в позднем онтогенезе мышей снижению экспрессии молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 сопутствует повышение, в частности, сывороточного содержания ИЛ-6 и -10. Вероятно, возросший уровень ИЛ-6 усиливает образования антител, экранирующих антигены опухолевых клеток [200]. Наряду с этим, повышение уровня ИЛ-10 может активировать ещё больший рост содержания ИЛ-6, подавлять экспрессию молекул адгезии ICAM-1 на клетках-мишенях, синтез цитотоксических реактивных интермедиатов кислорода и азота, а также продукцию ИФН- $\gamma$ , ИЛ-2, ИЛ-12 [287; 329].

Профилактическое воздействие жидкого или сухого экстракта КФА в раннем постнатальном онтогенезе мышей обеспечило долговременное увеличение на клетках крови молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1. Лечебное воздействие обеих форм КФА показало аналогичные результаты.

Воздействие как жидкого так и сухого КФА приводило также к долговременному снижению сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10. Это, в свою очередь, сохраняло экспрессию молекул адгезии ICAM-1 на клетках-мишенях и, следовательно, их контррецепторов - лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на эффекторах иммунитета. Кроме того, продемонстрированное снижение ИЛ-6 и ИЛ-10 может способствовать подавлению образования антител, защищающих антигены опухолевых клеток и тем самым предотвращая разрушение клеток-мишеней иммунными эффекторами, в частности, при спонтанном гепатоканцерогенезе.

Снижение уровня ИЛ-6 и ИЛ-10, определенное параллельно с более высокой массой тела опытных животных в позднем онтогенезе, может негативно регулировать патогенез кахексии животных, снижая сывороточный уровень С-реактивного белка и предупреждая при этом расщепление мышечных белков.

Также уменьшение содержания ИЛ-6, очевидно, приводит к снижению воспалительной реакции в волосяных фолликулах (по данным литературы) и сохранению полноценного волосяного покрова у мышей обеих опытных групп.

При профилактическом воздействии двух форм КФА количество животных с опухолями и, соответственно, частота опухолеобразования снизилась (на 32%). Также наблюдали у животных уменьшение числа и размеров опухолей.

Длительное курсовое воздействие КФА, начиная с 6-месячного возраста животных, оказало аналогичное влияние. Частота наследственного опухолеобразования у животных снизилась на 29%. Также уменьшились число и размер опухолей.

В результате, продолжительность жизни высокоракковых мышей-самцов увеличилась на 16% при воздействии КФА в профилактическом режиме и на 24% - в лечебном режиме. Вместе с тем, при профилактическом воздействии КФА больше 1000 дней прожили 3 самца (2 - из группы жидкой формы и 1 - из группы сухой формы препарата). При лечебном воздействии КФА 8 и 7 мышей из соответствующих групп прожили больше 1000 дней. Из них 3 самца (один из группы жидкой формы и два из группы сухой формы) прожили 36 мес, или 3 года. Это соответствует продолжительности жизни человека, равной около 100 лет при экстраполяции выживаемости контрольных животных (22 мес) к 62 годам человека.

При этом соматический статус опытных мышей был удовлетворительным. У них практически отсутствовало похудание. Волосяной покров был полноценным без признаков алопеции. Напротив, у контрольных животных мы наблюдали нарушение волосяного покрова в виде алопеций, многие животные имели седину. При этом отмечалась потеря мышечной массы. Двигательная активность опытных мышей была выше, чем контрольных. В итоге, увеличение продолжительности жизни высокоракковых мышей при профилактическом и лечебном воздействии КФА сочеталось с удовлетворительным соматическим состоянием по сравнению с контрольными животными.

Эти результаты, вероятно, имеют значение, учитывая выявленный противоопухолевый эффект.

Очевидно, снижение уровня опухолевого процесса при разных воздействиях КФА можно объяснить, в том числе, выраженной лимфоцитарной инфильтрацией

опухолевых очагов.

Для повышения противоопухолевой иммунореактивности и, соответственно, для торможения спонтанных гепатокарцином, повышения выживаемости и качества жизни животных может иметь значение усиление экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1, которое способствует миграции цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, их накоплению в опухоли и взаимодействию с опухолевыми клетками. При этом в клетки-мишени могут поступать лимфотоксины, гранзимы, ИФН-гамма. Возможна также активация апоптоза на опухолевых клетках FasAPO1, или CD95-антигена – рецептора апоптоза.

На примере воздействия сухого экстракта КФА в результате иммуногистохимического анализа было выявлено, что гепатокарциномы инфильтрированы цитотоксическими CD8<sup>+</sup> лимфоцитами, экспрессирующими LFA-1 (CD11a антиген) и Mac-1 (CD11b антиген) лейкоцитарные интегрины, обеспечивающие межклеточные контакты.

У мышей-самцов СВА в онтогенезе выявлен гормональный дисбаланс на примере двух гормонов – анаболического тестостерона и стресс-гормона кортикостерона. Отмечено связанное с процессами старения уменьшение в крови животных концентрации тестостерона и увеличение – кортикостерона. Гормональный дисбаланс усиливает катаболические процессы, в частности в лимфоидных органах, и может приводить к нарушениям иммуноадгезионных взаимодействий.

Вместе с тем, процесс опухолеобразования можно отнести к хроническому стрессу, когда усиливается образование кортикостерона в крови. Действительно, у контрольных животных в возрасте 22 мес сывороточный уровень кортикостерона повышен практически вдвое по сравнению с 4 месячным возрастом. Усиленное образование кортикостерона может индуцировать гибель лимфоцитов по типу апоптоза, также способствуя подавлению иммунореактивности организма. Параллельно с этим при высоком уровне кортикостерона у мышей наблюдается нарушение двигательной активности.

КФА проявил гормономодулирующий и, в тоже время, геропротекторный

эффект, предотвращая возрастное изменение гормонов, повышая иммунореактивность животных, снижая частоту опухолеобразования и увеличивая продолжительности их жизни. Таким образом геропротекторный эффект КФА может включать в себя противоопухолевое влиянием, регуляцию механизмов старения, а также и то и другое одновременно.

В свою очередь, выявленные в работе потеря численности ДАергических нейронов головного мозга и снижение уровня нейрогенеза в зубчатой фации гиппокампа в постнатальном онтогенезе мышей-самцов линии СВА не противоречат динамике показателей хронического стресса и процесса закономерного старения при возрастании уровня стресс-гормона кортикостерона (кортизола), подавлении уровня полового гормона тестостерона в сыворотке крови, ослаблении двигательной активности, возникновении признаков кахексии, появлении участков алопеций в шерстном покрове животных, а также нарушении иммунологических показателей.

Полученные результаты сочетаются с данными литературы о том, что истощение дофамина в ЦНС приводит к снижению содержания дофамина периферического, что способствует, в свою очередь, подавлению пролиферации лимфоцитов и продукции ими ИЛ-2, ИФН-гамма, ослаблению их способности формировать конъюгаты с клетками-мишенями. Все это приводит к снижению противоопухолевой иммунореактивности и помогает опухолевому росту. Таким образом, с позиций центральных нейрональных нарушений также можно объяснить наличие множественных низкодифференцированных трабекулярно-ацинарных гепатокрцином, выявленных в нашей работе в позднем онтогенезе у высокогепатомных мышей-самцов СВА.

Полученные результаты не противоречат данным литературы о том, что ДАергические нейроны считают главными биомаркерами взросления, а их потеря является основой центрального механизма старения. Вместе с тем, данные настоящего исследования демонстрируют картину хронического стресса и развития гепатоканцерогенеза при потере ДАергических нейронов головного мозга.

Противоопухолевые эффекты в отношении гепатокарцином, повышение выживаемости и качества жизни высококорактовых мышей-самцов линии СВА с учетом антистрессорного, в том числе гормономодулирующего действия могут быть также поддержаны полученными в работе результатами восстановления (повышения) численности дофаминергических нейронов головного мозга в позднем онтогенезе при использовании КФА в разных режимах и формах.

Применение КФА в разных режимах и формах предотвращало снижение численности Дофаминергических нейронов головного мозга, сохраняя двигательную активность животных при снижении стресс-гормона кортизола, ИЛ-6 и ИЛ-10, повышении экспрессии молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитах, способных мигрировать и накапливаться в опухолях при подавлении образования гепатокарцином. Следовательно, можно полагать контроль процесса гепатоканцерогенеза при усилении противоопухолевой защиты и ослаблении стрессорных механизмов в том числе с участием возросшего содержания периферического ДА, оправдывая известные из литературы свойства последнего как эндогенного антидепрессанта и токсичного противоопухолевого агента.

В результате была показана высокая положительная корреляция между численностью Дофаминергических нейронов в позднем онтогенезе и продолжительностью жизни мышей: коэффициент корреляции  $r$  оказался положительным и равным  $0,91 \pm 0,02$ .

Проведя анализ корреляции численности Дофаминергических нейронов головного мозга и частоты спонтанных гепатокарцином у мышей-самцов линии СВА, получили высокий уровень обратной связи между этими показателями с коэффициентом корреляции  $r = - 0,90 \pm 0,03$ .

Наконец, оценив корреляцию частоты спонтанных гепатокарцином и продолжительности жизни высококорактовых мышей-самцов линии СВА, мы убедились в негативной зависимости этих параметров с коэффициентом корреляции  $r = - 0,92 \pm 0,01$ .

Учитывая вместе с тем известные из литературы геропротекторные,



антидепрессантные и противоопухолевые свойства дофамина, можно полагать единую логику событий (объединенную комплексом активности этого катехоламина), демонстрирующую вероятную роль центральных нейрональных процессов в контроле опухолевого процесса при заинтересованности адгезионных гетеротипических механизмов. Наряду с этим, результаты работы показали, что КФА может оказывать протекторное действие на ДАергическую систему головного мозга при вероятном прохождении через гемато-энцефалический барьер.

При снижении уровня пролиферативной активности нейронов в зубчатой фации гиппокампа у старых высокоракковых мышей КФА в данной ситуации на нейрогенез не повлиял. Учитывая при этом повышение численности ДАергических нейронов при воздействии КФА, полученные результаты сочетаются с данными литературы о том, что дофамин может ингибировать нейрогенез во взрослом гиппокампе [292; 372]. Действительно, выявленное предупреждение гибели ДА нейронов при старении под воздействием КФА, вероятно, снижает необходимость их восполнения. Таким образом, усиление пролиферации молодых нейрональных клеток в данном случае не является биологически оправданным.

На основании проведенных исследований с высокой вероятностью можно говорить о центральных нейрональных механизмах (при участии катехоламина ДА) контроля выживаемости высокоракковых мышей СВА при профилактическом и лечебном воздействии комплексного фитоадаптогена, проявляющего геропротекторные свойства.

Сопоставляя полученные результаты по увеличению продолжительности жизни экспериментальных мышей с данными других исследователей, можно отметить их значимость. В основном большинстве исследователи пытаются продлить жизнь мышам, используя низкокалорийную диету. Однако в этих исследованиях продление жизни зафиксировано у мышей без опухолевых патологий.

Вместе с тем, нашей работе ближе результаты, полученные при введении в

антибиотика рапамицина инбредным мышам C57Bl/6×BALB/c. Введение рапамицина в рацион мышей, начиная с возраста 270 и 600 дней, приводил к увеличению выживаемости на 14% у самок и 9% у самцов, замедляя рост опухолей, процессы старения, либо то и другое у мышей, предрасположенных к развитию опухолей. Рапамицин и низкокалорийная диета подавляют TOR-сигнальный путь, в том числе рапамицин-киназу и увеличивают таким образом выживаемость беспозвоночных, включая дрожжи, нематоды и дрозофилы. Низкокалорийная диета для продления жизни может применяться только, начиная с раннего онтогенеза. Иначе выживаемость не увеличивается. Низкокалорийная диета также вызывает снижение веса животного. Рапамицин может продлевать жизнь без снижения веса животных, если его применять и в среднем и в позднем онтогенезе. Однако рапамицин имеет побочные эффекты, являясь иммуносупрессором. Поэтому проводить испытания с рапамицином в качестве предполагаемого геропротектора на человеческом контингенте не представляется возможным.

Мы продемонстрировали увеличение выживаемости мышей при сохранении стабильной массы тела при воздействии без побочных эффектов нетоксичного КФА широкого спектра действия. Это отличает наши результаты от таковых с рапамицином и низкокалорийной диетой.

Предпосылками полученных в данной работе результатов явились адгезиогенные, иммуномодулирующие, антистрессорные, гормонотомодулирующие свойства КФА, выявленные при лейкоплакии слизистой оболочки полости рта, а также доброкачественной гиперплазии предстательной железы [26; 27]. Вместе с тем, в работах по изучению распространенного рака желудка были выявлены снижение опухолевых маркеров СА-19,9 и РЭА, а также увеличение продолжительности жизни больных, принимавших комплексный фитоадаптоген, до 15-16 мес (при 5-6 мес в контроле) [29]. При нейродегенеративной патологии болезни Паркинсона была показана нейропротекторная активность КФА в отношении дофаминергических нейронов [13].

Новым эффектом КФА, показанным в данной работе, является выявленная

при его воздействии инфильтрация опухолей цитотоксическими CD8+ лимфоцитами, экспрессирующими лейкоцитарные интегрин LFA-1 и Mac-1, с выраженной деструкцией спонтанных гепатокарцином высокогепатомных мышей-самцов СВА, что считают главной задачей противоопухолевой иммунотерапии.

Можно полагать, что эффекты КФА против опухолей могут быть связаны с входящими в состав препарата биологически активными соединениями фенольной природы. Являясь узкобороздочными лигандами они могут оказывать прямое или опосредованное действие на процессы репарации ДНК, проявляя антиканцерогенные эффекты [11; 301].

Благодаря своей структуре, сходной со стероидами, гинзенозиды, аралозиды, элеутерозиды, салидрозид и другие вещества фармкомпозиции имеют множество физиологических активностей [85]. Они являются индукторами дифференцировки, корректорами гомо- и гетеротипических контактных взаимодействий, предупреждают гибель дофаминергических нейронов вместе с усилением резистентности здоровых тканей к повреждению [124, 256; 356; 360 406]. Обладают антипролиферативной активностью и повышенной индукцией апоптоза в отношении клеток опухоли [406; 423].

Таким образом, в настоящей работе показано, что усиление экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на цитотоксических CD8+ лимфоцитах может иметь значение для их миграции в опухоль, образования контактов с клетками-мишенями, повышая вероятность элиминации опухолевых клеток и увеличения продолжительности жизни животных. Связь нарушения периферических иммуноадгезионных взаимодействий с потерей дофаминергических нейронов головного мозга при развитии опухолей детализирует стрессорный механизм опухолеобразования.

Возможность регуляции численности Дофаминергических нейронов головного мозга при коррекции периферических иммунных адгезионных взаимодействий с участием лейкоцитарных интегринов и сигнальной реактивности цитокинов, а также сывороточного содержания стресс-гормона кортикостерона и тестостерона предполагает роль центральных нейрональных и периферических

иммуноадгезионных механизмов в контроле злокачественного опухолеобразования и увеличения продолжительности и качества жизни.

Тест-система с использованием мышей СВА с наследственными гепатокарциномами и учитывающая иммуноадгезионные параметры периферической крови, фенотип опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, численность дофаминергических нейронов головного мозга, уровень опухолеобразования, а также выживаемость и соматический статус экспериментальных животных рекомендуется для скрининга *in vivo* нетоксичных иммуномодуляторов природного происхождения, перспективных в качестве компонентов профилактических и терапевтических воздействий в онкологии.

Широкий спектр эффектов КФА, обеспечивая сочетанное влияние на патогенетические механизмы и коррекцию разных звеньев патологической системы при опухолевом процессе, делает возможным понтирование лечебного и профилактического эффектов, что может соответствовать принципу комплексных патогенетических воздействий.

## ВЫВОДЫ

1. Экспрессия лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на лимфоцитах периферической крови, концентрация тестостерона в сыворотке крови, численность дофаминергических нейронов и пролиферирующих молодых нейронов в головном мозге снижены, а также повышены концентрации ИЛ-6, ИЛ-10 и кортикостерона в сыворотке крови высокогепатомных мышей-самцов СВА в позднем онтогенезе.
2. Частота опухолеобразования у высокогепатомных мышей-самцов СВА в 22-х месячном возрасте составила 100%, по морфологическому строению опухоли представляют собой умеренно- и низкодифференцированные трабекулярные и трабекулярно-ацинарные гепатокарциномы.
3. Средняя продолжительность жизни высокогепатомных мышей-самцов СВА составила 22 мес, что сопровождалось неудовлетворительным соматическим статусом животных (снижением двигательной активности и массы тела, нарушением волосяного покрова с признаками алопеции).
4. Профилактическое и лечебное воздействия комплексного фитоадаптогена в форме жидкого и сухого экстракта на показатели спонтанного гепатоканцерогенеза мышей-самцов линии СВА не имели статистически значимых различий.
5. При профилактическом и лечебном воздействии комплексного фитоадаптогена долговременно повышались экспрессия молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови, уровень гормона тестостерона в сыворотке крови, снижались - сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-10, стресс-гормона кортикостерона, частота возникновения (на 32% и 29% соответственно) и размеры наследственных гепатом, увеличивались продолжительности жизни (на 16% и 24% соответственно), двигательная активность мышей-самцов СВА с удовлетворительным волосяным покровом без алопеций и потери массы тела.
6. Профилактическое и лечебное воздействие комплексного фитоадаптогена предупреждало потерю дофаминергических нейронов в базальных ганглиях и

не влияло на уровень молодых пролиферирующих нейронов гиппокампа головного мозга в позднем онтогенезе высококорактовых мышей СВА.

7. Наличие опухоль-инфильтрирующих CD8<sup>+</sup> лимфоцитов с экспрессией LFA-1 и Mac-1 лейкоцитарных интегринов в гепатокарциномах может иметь значение для снижения частоты опухолеобразования и увеличения продолжительности жизни животных.
8. Показана положительная корреляция численности дофаминергических нейронов в позднем онтогенезе и продолжительности жизни мышей-самцов СВА ( $R = + 0,91$ ), отрицательная корреляция численности дофаминергических нейронов головного мозга и частоты спонтанных гепатокарцином ( $R = - 0,90$ ), а также отрицательная связь частоты спонтанных гепатокарцином и продолжительности жизни высокогепатомных мышей СВА ( $R = - 0,92$ ).
9. При разработке превентивных средств в отношении опухолевых патологий представляется перспективным учитывать коррекцию иммуноадгезионных нарушений.
10. Базой для возможного изучения комплексных фитоадаптогенов на предмет применения подобных препаратов в клинической онкологии может служить противоопухолевый эффект КФА, установленный при лечебном воздействии.
11. Учитывая возможность регуляции численности дофаминергических нейронов головного мозга, периферических иммунных адгезионных механизмов с участием лейкоцитарных интегринов и сигнальной реактивности цитокинов, сывороточного содержания стресс-гормона кортикостерона и тестостерона, а также частоты опухолей, выживаемости и качества жизни линейных мышей-самцов СВА, предрасположенных к развитию гепатокарцином, можно предполагать роль центральных нейрональных и периферических иммуноадгезионных механизмов в контроле развития злокачественного опухолеобразования.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ДА – дофамин

ДАергический – дофаминергический

ДАТ - дофаминовый транспортер (ДАТ)

ДР D2 - дофаминовый рецептор D2

ДС – депрессивный синдром

ДЭА - дегидроэпиандростерон

КФА – комплексный фитоадаптоген

ММП - металлопротеиназы

МНТФ - нейротрофический фактор

ОИЛ – опухоль-инфильтрирующие лейкоциты

ТГК - тирозингидроксилаза

ФА – фитоадаптогены

ЦНС – центральная нервная система

ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс

(5-НТ) - серотонин

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Альперина, Е.Л. Вклад дофаминергической системы в механизмы иммуномодуляции / Е.Л. Альперина // Успехи физиологических наук. – 2014. – Т. 45, № 3. – С. 45-56.
2. Альперина, Е.Л. Центральный характер взаимодействия нейромедиаторных систем в иммуномодуляции / Е.Л. Альперина, Г.В. Идова // Физиологический журнал СССР. – 1990. – Т. 76, № 4. - С. 453-458.
3. Альперина, Е.Л. Роль гипофиза в модулирующем влиянии на иммунный ответ дофаминергической и серотонинергической систем / Е.Л. Альперина, Г.В. Идова, Л.В. Девойно // Российский физиологический журнал. им. И.М. Сеченова. – 1985. – № 11. – С. 1428-1431.
4. Анисимов, В.Н. Средства профилактики преждевременного старения (геропротекторы) / В.Н. Анисимов // Успехи геронтологии. – 2002. – Т. 3. – С. 275-277.
5. Арушанян, Э.Б. Ритморганизующие структуры мозга и фармакологический эффект / Э.Б. Арушанян // Вестник РАМН. – 2000. – № 8. – С. 17-21.
6. Арушанян, Э.Б. Стимуляторы психических процессов / Э.Б. Арушанян // Ставрополь, – 2003. – 303 с.
7. Арушанян, Э.Б. Взаимосвязь психоэмоционального состояния и иммунной системы / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Успехи физиол. наук. – 2004. – Т. 35, № 4. – С. 44-64.
8. Арушанян, Э.Б. Ноотропные свойства препаратов Гинко Билоба / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 4. – С. 57-63.
9. Арушанян, Э.Б. Растительные адаптогены / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер. – Ставрополь: СтМУ, 2009. – 232 с.
10. Барышников, А.Ю. Современные проблемы биотерапии злокачественных опухолей / А.Ю. Барышников, Л.В. Демидов, З.Г. Кадагидзе и др. // Вестник московского онкологического общества. – 2008. – № 1. – С. 6-10.



11. Белицкий, Г.А. Механизмы антиканцерогенного действия флавоноидов / Г.А. Белицкий, К.П. Кирсанов, Е.А. Лесовая, М.Г. Якубовская // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – № 1. – С. 56-68.
12. Бочаров, Е.В. Влияние комплексного фитоадаптогена на МФТП-индуцированный паркинсонический синдром у мышей / Е.В. Бочаров, В.Г. Кучеряну, Г.Н. Крыжановский, О.А. Бочарова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 141, №5. – С. 495-498.
13. Бочаров, Е.В. Возможности фитоадаптогена-нейропротектора при лечении нейродегенеративного заболевания (на примере болезни Паркинсона) / Е.В. Бочаров, И.А. Иванова-Смоленская, В.В. Полещук, В.Г. Кучеряну и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 149, № 6. – С. 619-621.
14. Бочаров, Е.В. Нарушение иммунной и антиоксидантной защиты при болезни Паркинсона / Е.В. Бочаров, Г.Н. Крыжановский, В.В. Полещук и др. // Патогенез – 2012. – № 2. – С. 11-14.
15. Бочаров, Е.В. Исследование радиозащитной активности мультифитоадаптогена в эксперименте на мышах / Е.В. Бочаров, Р.В. Карпова, И.В. Казеев и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – № 3. – С. 55-58.
16. Бочарова, О.А. Изменение межклеточных контактов гепатоцитов в онтогенезе у мышей инбредных линий с высокой и низкой частотой спонтанных гепатом / О.А. Бочарова, Е.А. Модянова // Онтогенез. – 1982. – № 4. – С. 427-429.
17. Бочарова, О.А. Новый способ биологического тестирования препаратов адаптогенов / О.А. Бочарова, О.Н. Куренная, Р.В. Серебрякова и др. // Биотехнология. – 1993. – № 8. – С. 28-34.
18. Бочарова О.А. Испытание препаратов растительного происхождения для профилактики и нетоксической терапии онкологических заболеваний на экспериментальных моделях / О.А. Бочарова, Р.В. Серебрякова // Вестник РАМН. – 1994. – № 2. – С. 52-55.

19. Бочарова, О.А. Профилактический эффект *Rhodiola rosea* на спонтанное опухолеобразование в печени на модели высококорактовой линии мышей / О.А. Бочарова, Р.В. Серебрякова, Н.Б. Бодрова // Вестник РАМН. – 1994. – № 5. – С. 41-43.
20. Бочарова, О.А. Влияние экстракта *Rhodiola rosea* на частоту рецидивов поверхностного рака мочевого пузыря у людей / О.А. Бочарова, Б.П. Матвеев, А.Ю. Барышников и др. // Урология и нефрология. – 1995. – № 2. – С. 46-47.
21. Бочарова, О.А. Коррекция препаратом *Rhodiola rosea* адгезии клеток уротелия и иммунного статуса у больных поверхностным раком мочевого пузыря / О.А. Бочарова, К.М. Фигурин, Р.В. Серебрякова и др. // Иммунология. – 1997. – № 1. – С. 67-70.
22. Бочарова, О.А. Композиция ингредиентов для препарата Фитомикс-40 / О.А. Бочарова // Патент № 2099410. - 1998.
23. Бочарова, О.А. Токсикологическое изучение препарата Фитомикс-40 / О.А. Бочарова, Р.В. Карпова, В.А. Голубева и др. // Гигиена и санитария. – 1999. – №5 – С. 60-61.
24. Бочарова, О.А. Способ биологического контроля комплексного фитоадаптогена / О.А. Бочарова, М.А. Лыженкова, О.Н. Куренная и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 136, №12. – С. 694-696.
25. Бочарова, О.А. Иммуномодулирующий и интерферогенный эффекты комплексного фитоадаптогена при доброкачественной гиперплазии предстательной железы / О.А. Бочарова, Р.В. Карпова, В.Б. Матвеев и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2004. – Т. 3, №1. – С. 90-95.
26. Бочарова, О.А. Роль адгезионных нарушений в патогенезе лейкоплакии и возможности их коррекции неспецифическим иммуномодулятором / О.А. Бочарова, М.М. Пожарицкая, Т.Л. Чекалина и др. // Иммунология. – 2004. – Т. 25, №1. – С. 36-43.
27. Бочарова, О.А. Коррекция клинических и иммунобиологических показателей у мужчин с доброкачественной гиперплазией предстательной железы

- фитоадаптогеном / О.А. Бочарова, В.Б. Матвеев, Р.В. Карпова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2006. – Т. 141, №5. – С. 555-559.
28. Бочарова, О.А. Фитоадаптогены в онкологии и геронтологии (на примере изучения Фитомикса-40) / О.А. Бочарова, А.Ю. Барышников, М.И. Давыдов // М.: МИА. – 2008. – 218 с.
29. Бочарова, О.А. Перспективы применения фитоадаптогена в лечении распространенного рака желудка / О.А. Бочарова, М.И. Давыдов, А.А. Клименков и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Том 148, №7. – С. 96-99.
30. Бочарова О.А. Профилактическая онкология и фитоадаптогены // Вестник РАМН. – 2009. – № 7. – с. 41-45.
31. Бочарова, О.А. Лейкоцитарные интегринны при гепатоканцерогенезе мышей высококорактовой линии СВА / О.А. Бочарова, Р.В. Карпова, В.А. Ильенко и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 53-56.
32. Бочарова, О.А. Адгезионная концепция в биологии злокачественного роста / О.А. Бочарова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014. – №2. – С. 87-90.
33. Бочарова, О.А. Дофаминергическая система: стресс, депрессия, рак (часть 1) / О.А. Бочарова, Е.В. Бочаров, В.Г. Кучеряну и др. // Российский биотерапевтический журнал – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 6-14.
34. Бочарова, О.А. Дофаминергическая система: стресс, депрессия, рак (часть 2) / О.А. Бочарова, Е.В. Бочаров, В.Г. Кучеряну и др. // Российский биотерапевтический журнал – 2019. – Т. 18, № 4. – С. 25-33.
35. Бочарова, О.А. Изыскание фитоадаптогенов и возможности использования фитокомпозиций / О.А. Бочарова, Р.В. Карпова, Е.В. Бочаров и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2020. – Т. 19, № 4. – С. 22-31.
36. Бочков, Н.П. Частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы / Н.П. Бочков, О.А.

- Бочарова, А.А. Аксенов и др. // Медицинская генетика. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 15-19.
37. Брехман, И.И. Элеутерококк / И.И. Брехман // Л., Наука. – 1968. – 185 с.
38. Васильев, Ю.М. Механизмы инвазии нормальных и злокачественных клеток / Ю.М. Васильев // Вестник РАМН. – 2007. - № 11. – С. 35-37
39. Величковский, Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б.Т. Величковский // Вестник РАМН. – 2001. – № 6. – С. 45-52.
40. Воронина, Т.А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Т.А. Воронина, Р.У. Островская // В кн.: Руководство по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ. – Москва, – 2000. – С. 155-158.
41. Гольдберг, Е.Д. Растения в комплексной терапии опухолей / Е.Д. Гольдберг, Т.Г. Разина, Е.П.Зуева и др. // М., Изд-во РАМН; – 2008. – 432с.
42. Гомазков, О.А. Зачем мозгу нужны новые нервные клетки? / О.А. Гомазков // М.: Икар, – 2016. – 140 с.
43. Дардымов, И.В. Женьшень, элеутерококк. К механизму биологического действия / И.В. Дардымов // М.: Наука. – 1976. – 184 с.
44. Девойно Л.В. Нейромедиаторные системы мозга в модуляции иммунной реакции (дофамин, серотонин, ГАМК) / Л.В. Девойно, Г.В. Идова, Е.Л. Альперина // Нейроиммунология. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 11-18.
45. Карпова, Р.В. Радиозащитная эффективность мультифитоадаптогена в опытах на собаках / Р.В. Карпова, Е.В. Бочаров, И.В. Казеев и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – № 4. – С. 51-54.
46. Карпова, Р.В. Возможности использования высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией для количественного и качественного определения биологически активных веществ женьшеня в фитоэкстрактах / Р.В. Карпова, В.Е. Шевченко, Е.В. Бочаров и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 36-46.

47. Казев, И.В. Тандемная масс-спектрометрия в технологии определения аралозидов композиции фитоадаптогенов / И.В. Казев, О.А. Бочарова, В.Е. Шевченко, Р.В. Карпова и др. // Теоретические основы химической технологии. – 2020 – Т. 54, № 6. – С. 733-737.
48. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев // Фолиант, Санкт-Петербург. – 2008. – 550 с.
49. Колодняк, О.Л. Профилактика глюкокортикоидного остеопороза экстрактом родиолы розовой / О.Л. Колодняк, А.В. Кропотов, В.М. Колдаев // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2002. – № 1-2. – С. 56-57.
50. Кропотов, А.В. Сезонные особенности влияния адаптогенов на половое поведение экспериментальных животных / А.В. Кропотов, О.В. Лисаковская, Ю.С. Хотимченко // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т. 64, № 6. – С. 60-62.
51. Крыжановский, Г.Н. Болезнь Паркинсона: этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика / Г.Н. Крыжановский, И.Н. Карабань, С.В. Магаева и др. // Москва, Медицина. – 2002. – 372 с.
52. Крыжановский, Г.Н. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в норме и патологии / Г.Н. Крыжановский, И.Г. Акмаев, С.В. Магаева, С.К. Морозов // Медицинская книга, Москва. – 2010. – 283 с.
53. Крыжановский, Г.Н. Актуальные проблемы нейроиммунопатологии / Г.Н. Крыжановский, С.В. Магаева, С.Г. Морозова // Москва, – 2012. – С. 131-147.
54. Купин, В.И. Иммуномодулирующее действие экстракта элеутерококка у онкологических больных / В.И. Купин, Е.Б. Полевая, А.М. Сорокин // Советская медицина. – 1987. – С. 114-116.
55. Куренная, О.Н. Антимутагенез мультифитоадаптогена в клетках дрожжей-сахаромицетов / О.Н. Куренная, Р.В. Карпова, О.А. Бочарова и др. // Генетика. – 2013. – Т. 49, № 12. – С. 1364-1369.
56. Лишманов, Ю.Б. Кардиопротективные, инотропные и антиаритмические свойства адаптогенного препарата «тонизид» / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов,

- А.Г. Арбузов и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2008. – № 3. – С. 15-22.
57. Маленков, А.Г. Явление увеличения сил сцепления при межклеточном взаимодействии в эпителиальных тканях в раннем постнатальном периоде / А.Г. Маленков, О.А. Бочарова, Е.А. Модянова // Открытие № 330. – Гос. реестр открытий СССР. – 1987.
58. Маслов, Л.Н. Кардиопротекторные и антиаритмические свойства препаратов *Rhodiola rosea* / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 5. – С. 59-67.
59. Мастягина, О.А. Значение хронобиологического фактора для психостимулирующего и адаптогенного действия лекарственных веществ / О.А. Мастягина // Автореф. канд. дис. – М., – 2005. – 24 с.
60. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы организма / Ф.З. Меерсон // В кн.: Физиология адаптационных процессов. – М.: Наука. – 1986. – С. 524-621.
61. Мезенцева, М.В. Антипролиферативная и противовирусная активность Фитомикс-40 в перевиваемых линиях клеток млекопитающих / М.В. Мезенцева, О.А. Бочарова, А.Н. Наровлянский и др. // Материалы III съезда онкологов и радиологов СНГ. Минск. – 2004. – Часть 1. – С. 340-341.
62. Модянова, Е.А. Профилактическое действие контактинов-кейлонов на спонтанный канцерогенез у линейных мышей / Е.А. Модянова, О.А. Бочарова, А.Г. Маленков // Экспериментальная онкология. – 1983. – № 3. – С. 39-42.
63. Онкогеронтология: Руководство для врачей / под ред. Анисимова В.Н., Беляева А.М. // СПб.: Издательство АННМО «Вопросы онкологии», – 2017. – 512 с.
64. Пальцын, А.А. Возрастные изменения мозга / Пальцын А.А., Комиссарова С.В. // Патологическая физиология и эксперим. терапия. – 2015. – Том 59, № 4. – С. 108-116.
65. Пожарицкая, М.М. Современные аспекты патогенеза и лечения лейкоплакии слизистой оболочки полости рта / М.М. Пожарицкая, О.А. Бочарова, Т.Л.

- Чекалина, В.Ф. Воронин // Методическое пособие для врачей, М. ГОУ ВУНМЦ. – 2004 г. – 46с.
66. Саратиков, А.С. Радиола розовая (золотой корень) / А.С. Саратиков, Е.А. Краснов // Изд-во Томского университета, Томск – 2004. – 286 с.
67. Сепиашвили, Р.И. Физиология естественных киллеров / Р.И. Сепиашвили, И.П. Балмасова // М., Медицина – Здоровье. – 2005. – 455с.
68. Фактор, В.М. Уровень клеточной ДНК в спонтанных гепатомах мышей линии СВА / В.М. Фактор, Л.Я. Шипова и др. // Бюллетень экспериментальной онкологии и медицины. – 1984. – Т. 97, № 6. – С. 710-713.
69. Хаитов, Р.М. Иммунология: атлас / Р.М. Хаитов, А.А. Ярилин, Б.В. Пинегин // М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2011. – 624 с.
70. Хаитов, Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы / Р.М. Хаитов // Москва: “ГЭОТАР-Медиа”. – 2013. – 280 с.
71. Чулкова, С.В. Возможности повышения эффективности комплексного лечения распространенного рака желудка фитоадаптогеном / С.В. Чулкова, О.А. Бочарова, А.А. Клименков и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 85-89.
72. Шахматов, И.И. Влияние элеутерококка на систему гемостаза у иммобилизованных крыс / И.И. Шахматов, Ю.А. Бондарчук, В.М. Вдовин и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 2. – С. 45-47.
73. Шейченко, О.П. Определение химического состава летучих соединений фитоадаптогена Фитомикса-40 методом хромато-мас-спектрометрии / О.П. Шейченко, О.А. Бочарова, Б.А. Крапивкин и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – Т. 6, № 5. – С. 18-28.
74. Шейченко, О.П. Исследование комплексного фитоадаптогена методом ВЭЖХ / О.П. Шейченко, О.А. Бочарова, Б.А. Крапивкин, Е.В. Уютова и др. // Вопр. биол. мед. фарм. химии. – 2012. – № 10. – С. 52-59.
75. Яременко, К.В. Адаптогены как средства профилактической медицины / К.В. Яременко // Изд. Томск. Унив., Томск. – 1990. – 93 с.

76. Яременко, К.В. Злокачественные опухоли: лечение и лекарственная профилактика / К.В. Яременко, В.Г. Пашинский // СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2003. – 166 С.
77. Abdel-Wahab, N. Adverse Events in Cancer Immunotherapy. / N. Abdel-Wahab, A Alshawa, M.E. Suarez-Almazor // Adv Exp Med Biol. – 2017. – Vol. 995. – P.155-174.
78. Abtahi, S. Dual association of serum interleukin-10 levels with colorectal cancer. / S. Abtahi, F. Davani, Z. Mojtahedi, S.V. et al. // Cancer Res Ther. – 2017. – Vol. 13, №2. – P. 252-256.
79. Adams, S. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199 / S. Adams, R.J. Gray, S. Demaria, et al. // J Clin Oncol. – 2014. – Vol 32, № 27. – P. 2959-2966.
80. Aggarwal, B.B. The role of TNF and its family members in inflammation and cancer: lessons from gene deletion / B.B. Aggarwal, S. Shishodia, K. Ashikawa, A.C. Bharti // Curr Drug Targets Inflamm Allergy. – 2002. – Vol. 1, № 4. – P. 327-341.
81. Ahmed, N. Role of integrin receptors for fibronectin, collagen and laminin in the regulation of ovarian carcinoma functions in response to a matrix microenvironment / N. Ahmed, C. Riley, G. Rice, M. Quinn // Clin Exp Metastasis. – 2005. – Vol. 22, № 5. – P. 391-402.
82. Ali, H.R. Assotiation beteen CD8+ T-cell infiltration and brest cancer survival in 12,439 patients / H.R. Ali, E. Provenciano, S.-J. Dawson et al. // Clinical Trial. – 2014. – Vol. 25, № 8. – P. 1536-1543.
83. Allen, S. Cell Adhesion Molecules: Therapeutic Targets for Inhibition of Inflammatory States / S. Allen, N. Moran // Semin Thromb Hemost. – 2015. – Vol.41, № 6. – P. 563-571.
84. Alpini, G. Serotonin metabolism is dysregulated in cholangiocarcinoma, which has implications for tumor growth / G. Alpini, P. Invernizzi, E. Gaudio, et al. // Cancer Res. – 2008. – Vol. 68, №22. – P. 9184-9193.



85. Amsterdam, J.D. *Rhodiola rosea* L. as a putative botanical antidepressant / J.D. Amsterdam, A.G. Panossian // *Phytomedicine*. – 2016. – Vol. 23, № 7 – P.770-783.
86. Asada, M. Reduced tumor growth in a mouse model of schizophrenia, lacking the dopamine transporter / M. Asada, S. Ebihara, Y. Numachi, et al. // *Int. J. Cancer*. – 2008. – Vol. 123. – P. 511-518.
87. Asaduzzaman, M. LFA-1 and MAC-1 mediate pulmonary recruitment of neutrophils and tissue damage in abdominal sepsis / M. Asaduzzaman, S. Zhang, S. Lavasani, et al. // *Shock*. – 2008. – Vol. 30, № 3. – P. 254-259.
88. Attele, A. Antidiabetic effects of *Panax ginseng* berry extract and the identification of an effective component / A. Attele, Y. Zhou, J. Xie et al. // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51, № 6. – P. 1851-1858.
89. Aung, H.H. Cisplatin's tumoricidal effect on human breast carcinoma MCF7 cells was not attenuated by American ginseng / H.H. Aung, S.R. Mehendale, C.Z. Wang, et al. // *Cancer Chemoter. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 59, № 3. – P. 369-374.
90. Bäckman, L. The correlative triad among aging, dopamine, and cognition: Current status and future prospects / L. Bäckman, L. Nyberg, U. Lindenberger et al. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2006. – Vol. 30. – P. 791-807.
91. Bae, E. Metabolism of Ginsenoside Re by Human Intestinal Microflora and Its Estrogenic Effect / E. Bae, S. Jieun, D. Kim // *Pharm. Bull.* – 2005. – Vol. 28, № 10. – P. 1903-1908.
92. Balkwill, F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? / F. Balkwill // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002. – Vol. 13, № 2. – P. 135-141.
93. Bartke, A. Aging: All in the Head? / A. Bartke // *Cell Metabolism*. – 2007. – № 6. – P. 153-154.
94. Basu, S. Alteration of dopamine D2 receptors in human malignant stomach tissue. / S. Basu, P.S. Dasgupta // *Dig Dis Sci*. – 1997. – Vol.42, № 6. – P. 1260-1264.
95. Basu, S. Decreased dopamine receptor expression and its second-messenger AMP in malignant human colon tissue / S. Basu, P.S. Dasgupta // *Dig. Dis. Sci.* – 1999. – Vol. 44, № 5. – P. 916-921.

96. Basu, S. Dopamine, a neurotransmitter, influences the immune system / S. Basu, P. Dasgupta // *J. Neuroimmunol.* – 2000. – Vol. 102, № 2. – P. 113-124.
97. Basu, S. The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor / S. Basu, J.A. Nagy, S. Pal, et al. // *Nat. Med.* – 2001. – Vol.7, № 5. – P. 569-574.
98. Basu, S. Ablation of peripheral dopaminergic nerves stimulates malignant tumor growth by inducing vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis / S. Basu, C. Sarkar, D. Chakroborty et al. // *Cancer Res.* – 2004. – Vol. 64. – P. 5551–5555.
99. Beach, T.G. Marked microglial reaction in normal aging human substantia nigra: correlation with extraneuronal neuromelanin pigment deposits / T.G. Beach, L.I. Sue, D.G. Walker et al. // *Acta Neuropathol.* – 2007. – Vol. 114. – P. 419-424.
100. Beatty, P.L. Tumor immunology: basic and clinical advances / P.L. Beatty, S. Cascio, E. Lutz // *Cancer Res.* – 2011. – Vol. 71, № 13. – P. 4338-4343.
101. Beaulieu, J.M. Gainetdinov R.R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors / J.M. Beaulieu, R.R. Gainetdinov // *Pharmacol. Rev.* – 2011. – Vol. 63, N 1. – P. 182-217.
102. Bhattacharya, S.K. Adaptogenic activity of *Withania somnifera*: an experimental study using a rat model of chronic stress / S.K. Bhattacharya, A.V. Muruganandam // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2003. – Vol. 75 – P. 547- 555.
103. Bilger, A. A potent modifier of liver cancer risk on distal mouse chromosome 1: linkage analysis and characterization of congenic lines / A. Bilger, L. Bennett, R. Carabeo et al. // *Genetics.* – 2004. – T. 167. – № 2. – P. 859-866.
104. Bjorklund, A. Dopamine neuron systems in the brain: an update. / A. Bjorklund, S.B. Dunnet // *Trends Neurosci.* – 2007. – Vol. 30, № 5. – P. 194-202.
105. Blagosklonny, M. Impact papers on aging in 2009 / M. Blagosklonny, J. Campisi, D. Sinclair, A. Bartke et al. // *AGING* – 2010. – Vol. 2. – № 3. – P. 111-121.
106. Blank, C. ICAM-1 contributes to but is not essential for tumor antigen cross-priming and CD8+ T cell-mediated tumor rejection in vivo / C. Blank, I. Brown, A. K. Kacha et al. // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174, № 6. – P. 3416-3420.

107. Borcharding, D.C. Expression and therapeutic targeting of dopamine receptor-1 (D1R) in breast cancer / D.C. Borcharding, W. Tong, E.R. Hugo, D.F. Barnard et al. // *Oncogene*. – 2016. – Vol. 35, № 24. – P. 3103-3113.
108. Borges, C.R. Dopamine biosynthesis is regulated by S-glutathionylation: potential mechanism of tyrosine hydroxylase inhibition during oxidative stress / C.R. Borges, T. Geddes, J.T. Watson, D.M. Kuhn // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 48295–48302.
109. Brady, J. The interactions of multiple cytokines control NK cell maturation / J. Brady, S. Carotta, R. Thong, C. Chan et al. // *J. Immunol.* – 2010. – Vol. 185, № 11. – P. 6679-6688.
110. Cao, L.L. Effect of salidroside on mitochondria injury induced by sodium azide / L.L. Cao, G.H. Du, M.W. Wang // *Jao Xue Xue Bao*. – 2005. – Vol. 40, № 8. – P. 700-704.
111. Carboni, E. Dopamine reuptake by norepinephrine neurons: exception or rule? / E. Carboni, A. Silvagni // *Crit Rev Neurobiol.* – 2004. – Vol. 16, № 1-2. –P. 121-128.
112. Casasnovas, J.M. Lymphocyte function-associated antigen-1 binding residues in intercellular adhesion molecule-2 (ICAM-2) and the integrin binding surface in the ICAM subfamily / J.M. Casasnovas, C. Pieroni, T.A. Springer // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1999. – Vol 96, № 6. – P. 3017–3022.
113. Catalano, V. Tumor and its microenvironment: a synergistic interplay / V. Catalano, A. Turdo, S. Franco et al. // *Semin Cancer Biol.* – 2013. – Vol. 23. – P. 522-532.
114. Cattaneo, M.G. 5-HT1D receptor type is involved in stimulation of cell proliferation by serotonin in human small cell lung carcinoma / M.G. Cattaneo, E. Palazzi, G. Bondiolott, L.M. Vicentin // *Eur. J. Pharmacol.* –1994. – Vol. 268. – P. 425-430.
115. Chae, S. A. Comparative Study of the Potential Antioxidant Activities of Ginsenosides / S. Chae, K.A. Kang, U. Youn et al. // *J. Food Biochem.* – 2010. – Vol. 34. – P. 31 - 43.
116. Chakroborty, D. Depleted dopamine in gastric cancer tissues: dopamine treatment retards growth of gastric cancer by inhibiting angiogenesis / D. Chakroborty, C.

- Sarkar, R.B. Mitra et al. // *Clin. Cancer. Res.* – 2004. – Vol. 10, № 13. – P. 4349-4356.
117. Chakroborty, D. Dopamine regulates endothelial progenitor cell mobilization from mouse bone marrow in tumor vascularization / D. Chakroborty, U.R. Chowdhury, C. Sarkar et al. // *J Clin Invest.* – 2008. – Vol. 118, № 4. – P. 1380-1389.
118. Chakroborty, D. Catecholamines regulate tumor angiogenesis / D. Chakroborty, C. Sarkar, B. Basu et al. // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69, № 9. – P. 3727-30
119. Chan, A.S. Immuno-regulatory effects of CKBM on the activities of mitogen-activated protein kinases and the release of cytokines in THP-1 monocytic cells / A.S. Chan, E.C. Yip, L.Y. Yung et al. // *Biol Pharm Bull.* – 2005. – Vol. 28, № 9. – P. 1645-1650.
120. Chang Y. Ginsenosides Rgl and Rbl enhance glutamate release through activation of protein kinase A in rat cerebellocortical nerve terminals (synaptosomes) / Y. Chang, W.Y. Huang, L. Thien // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 78, № 1. – P. 28-36.
121. Charlett, A. Cortisol is higher in parkinsonism and associated with gait deficit / A. Charlett, R.J. Dobbs, A.G. Purkiss et al. // *Acta Neurol Scand.* – 1998.– Vol. 97, №2. – P. 77-85.
122. Chen, F. Reduction in cells of the Alzheimer's amyloid beta peptide after oral administration of ginsenosides / F. Chen, E.A. Eckman, C.B. Eckman // *FASEB. J.* – 2006. – Vol. 20, № 8. – P. 1269-1271.
123. Chen, H.F. Protocadherin 7 inhibits cell migration and invasion through E-cadherin in gastric cancer / H.F. Chen, R.P. Ma, J.Y. He, H. Zhang et al. // *Tumour Biol.* – 2017. – Vol. 39, № 4. – P. 1010-1017.
124. Chen, Z.Y. Neuroprotective effect of ginsenoside Rb1 on glutamate-induced neurotoxicity: With emphasis on autophagy / Z.Y. Chen, T.T. Lu, X.Y. Yue, N. Wei et al. // *Neurosci Lett.* – 2010. – Vol. 482. – P.264-268.
125. Chevalier, S. Vascular endothelial growth factor and signaling in the prostate: more than angiogenesis. / S. Chevalier, I. Defoy, J. Lacoste et al. // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2002. – Vol. 189. – P. 169-179.

126. Chiechi, A. Elevated TNFR1 and serotonin in bone metastasis are correlated with poor survival following bone metastasis diagnosis for both carcinoma and sarcoma primary tumors / A. Chiechi, C. Novello, G. Magagnoli et al. // *Clin Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19, № 9. – P. 2473-2485.
127. Chiou, S.H. Current concepts of tumor-infiltrating lymphocytes in human malignancies / SH Chiou, BC Sheu, WC Chang // *Reprod Immunol.* – 2005. – Vol. 67, № 1-2. – p. 35-50.
128. Chiu, P.J. Time-dependent enhancement in mitochondrial glutathione status and ATP generation capacity by schisandrin B treatment decreases the susceptibility of rat hearts to ischemia-reperfusion on injury / P.J. Chiu, K.M. Ko // *Biofactors.* – 2005. – Vol. 19, № 1. – P. 43-51.
129. Chiu, P.Y. Chronic schisandrin B treatment improves mitochondrial antioxidant status and tissue heat shock protein production in various tissues at young, adult and middle-age rats / P.Y. Chiu, H.Y. Leung, M. Poon // *Biogerontology.* – 2006. – Vol. 7, № 4. – P. 199-210.
130. Cho, J.Y. In-vitro and in-vivo immunomodulatory effects of syringin / J.Y. Cho, K.H. Nam, A.R. Kim, J. Park et al. // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 53, № 9. – P. 1287-1294.
131. Choi, K. Ginsenosides compound K and Rh2 inhibit tumor necrosis factor-alpha-induced activation of the NF-kappa B and JNK path-ways in human astroglial cells / K. Choi, M. Kim, J. Ryu // *Neurosci. Lett.* – 2007. – Vol. 421, № 1. – P. 37-41.
132. Chu, S. Ginsenoside Rg5 improves cognitive dysfunction and beta-amyloid deposition in STZ-induced memory impaired rats via attenuating neuroinflammatory responses / S. Chu, J. Gu, L. Feng et al. // *International Immunopharmacology.* – 2014. – Vol. 19, № 2. – P. 317–326.
133. Collingridge, G.L. Long-term depression in the CNS / G.L. Collingridge, S. Peineau, J.G. Howland, Y.T. Wang // *Nat Rev Neurosci.* – 2010. – Vol. 11. – P. 459–473.
134. Coman, D.R. A structural difference between the surfaces of normal and of carcinomatous epidermal cells / D.R. Coman, T.F. Anderson // *Cancer Res.* 1955.

- Vol. 15, № 8. – P. 541-543.
135. Conway, J.R. Cell matrix adhesion in cell migration / J.R. Conway, G. Jacquemet // *Essays Biochem.* – 2019. – Vol. 63, № 5. – P. 535–551.
136. Cools, A.R. Nijmegen high and low responders to novelty: a new tool in the search after the neurobiology of drug abuse liability / A.R. Cools, M.A. Gingras // *Pharmacol Biochem Behav.* – 1998. – Vol. 60, № 1. – P. 151-159.
137. Cruz-Muros, I. Aging of the rat mesostriatal system: Differences between the nigrostriatal and mesolimbic compartments / I. Cruz-Muros, D. Afonso-Oramas, P. Abreu et al. // *Exp Neurol.* – 2007. – Vol. 204. – P. 147-161.
138. Dai, D. Ginseng on Cancer: Potential Role in Modulating Inflammation-Mediated Angiogenesis / D. Dai, CF. Zhang, S. Williams et al. // *Am J Chin Med.* – 2017. – Vol. 45, № 1. – P.13-22.
139. Danese, S. Adhesion molecules in inflammatory bowel disease: therapeutic implications for gut inflammation / S. Danese, S. Semeraro, M. Marini et al. // *Dig Liver Dis.* – 2005. – Vol. 37, № 11. – P. 811-818.
140. Deans, D. Cancer cachexia is associated with the IL10-1082 gene promoter polymorphism in patients with gastroesophageal malignancy / D. Deans, B. Tan, J. Ross et al. // *Am J Clin Nutr.* – 2009. – Vol. 89. – № 4. – P. 1164-1172.
141. De Sanctis, R. In vitro protective effect of *Rhodiola rosea* extract against hydrochlorous acid-induced oxidative in human erythrocytes / R. De Sanctis, R. De Bellis, C. Scesa et al. // *Biofactors.* – 2004. – Vol. 20, № 3. – P.147-159.
142. Devoino, L. Dopaminergic stimulation of the immune reaction: interaction of serotonergic and dopaminergic systems in neuroimmunomodulation / L. Devoino, E. Alperina, G. // *Intern J Neurosci.* – 1988. – Vol 40. – P. 271-288.
143. Dewald, J.H. Role of Cytokine-Induced Glycosylation Changes in Regulating Cell Interactions and Cell Signaling in Inflammatory Diseases and Cancer / J.H. Dewald, F. Colomb, M. Bobowski-Gerard et al. // *Cells.* – 2016. – Vol. 5, №4. – pii: E43.

144. Dizeyi, N. Expression of serotonin receptors 2B and 4 in human prostate cancer tissue and effects of their antagonists on prostate cancer cell lines / N. Dizeyi, A. Bjartell, P. Hedlund et al. // *Eur Urol.* – 2005. – Vol. 47, № 6. – P. 895-900.
145. Dolma, S. Inhibition of Dopamine Receptor D4 Impedes Autophagic Flux, Proliferation, and Survival of Glioblastoma Stem Cells / S. Dolma, H.J. Selvadurai, X. Lan, L. Lee et al. // *Cancer Cell.* – 2016. – Vol. 29, № 6. – P. 859-873.
146. Drozdov, I. Autoregulatory effects of serotonin on proliferation and signaling pathways in lung and small intestine neuroendocrine tumor cell lines / I. Drozdov, M. Kidd, B.I. Gustafsson et al. // *Cancer.* – 2009. – Vol. 115. – P. 4934–4945.
147. Dunn, G. Interferons, immunity and cancer immunoediting / G. Dunn, K. Koebel, R. Schreiber // *Nat Rev Immunol.* – 2006. – Vol. 6. – P. 836-848.
148. Edelman, G.M. Morphoregulation / G.M. Edelman // *Dev Dyn.* – 1992. – Vol. 193, № 1. – P. 2-10.
149. Eisenhofer, G. Substantial production of dopamine in the human gastrointestinal tract / G. Eisenhofer, A. Aneman, P. Friberg et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1997. – Vol. 82, № 11. – P. 3864-3871.
150. Eisenhofer, G. Dopamine sulphate: an enigma resolved / G. Eisenhofer, M.W. Coughtrie, D.S. Goldstein // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 1999. – Vol. 26. –P. 41-53.
151. Eisenhofer, G. Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine / G. Eisenhofer, I.J. Kopin, D.S. Goldstein // *Pharmacol Rev.* – 2004. – Vol. 56, № 3. – P. 331-349.
152. Enns, A. Integrins can directly mediate metastatic tumor cell adhesion within the liver sinusoids / A. Enns, P. Gassmann, K. Schliter et al. // *J Gastrointest Surg.* – 2004. – Vol. 8, №8. – P. 1049-1059.
153. Eukaszewicz, M. Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) as a prognostic factor of cancer disease / M. Eukaszewicz, B. Mroczko, M. Szmitkowski // *Pol Arch Med Wewn.* – 2007. – Vol. 117, № 5-6. – P.247-251.

154. Evans, M.D. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance / M.D. Evans, M. Dizdaroglu, M.S. Cooke // *Mut Res.* – 2004. – Vol. 567. – P. 1-61.
155. Eyob, T. Impact of chemotherapy on cancer-related fatigue and cytokines in 1312 patients: a systematic review of quantitative studies / T. Eyob, T. Ng, R. Chan, A. Chan // *Curr Opin Support Palliat Care.* – 2016. – Vol. 10, №2. – P. 165-179.
156. Fang, F. Multi-faced neuroprotective effects of Ginsenoside Rg1 in an Alzheimer mouse model / F. Fang, X. Chen, T. Huang et al. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease.* – 2012. – Vol. 1822, № 2. – P. 286 - 292.
157. Fenimore, J. Regulation of IFN- $\gamma$  Expression / J. Fenimore, H.A Young // *Adv Exp Med Biol.* – 2016. – Vol. 941. – P. 1-19.
158. Feng, L. Serum levels of IL-6, IL-8 and IL-10 are indicators of prognosis in pancreatic cancer / L. Feng, Q. Qi, P. Wang et al. // *Int Med Res.* – 2018. – Vol. 46, № 12. – P. 5228-5236.
159. Finn, O.J. Cancer immunoprevention / O.J. Finn, P.L. Beatty // *Curr Opin Immunol.* – 2016 – Vol. 39. – P.52-58.
160. Fintelman, V. Efficacy and tolerability of Rhodiola rosea extract in adults with physical and cognitive deficiencies / V. Fintelman, Y. Gruenwald // *Adv Ther.* – 2007. – Vol. 24, № 4. – P. 929-939.
161. Fiszer, U. Selected aspects of immunological disorders in Parkinson s disease / U. Fiszer // *Neurol Neurochir Pol.* – 2004. – Vol. 38. – P. 63-66.
162. Flint, T.R. Connecting the Metabolic and Immune Responses to Cancer / T.R. Flint, D.T. Fearon, T. Janowitz // *Trends Mol Med.* – 2017. – Vol. 23, №5. – P. 451-464.
163. Frankhauser, P. Characterization of the neuronal dopamine transporter DAT in human blood platelets / P. Frankhauser, Y. Grimmer, P. Bugert et al. // *Neurosci Lett* – 2006. – Vol. 399, № 3. – P. 197-201.
164. Friedman, A. Decoding of dopaminergic mesolimbic activity and depressive behavior / Friedman A., Deri I., Friedman Y. et al. // *J Mol Neurosci.* – 2007. – Vol. 32, № 1. – P. 72-79.



165. Ganguly, S. Dopamine, by acting through its D2 receptor, inhibits insulin-like growth factor-I (IGF-I)-induced gastric cancer cell proliferation via up-regulation of Krüppel-like factor 4 through down-regulation of IGF-IR and AKT phosphorylation / S. Ganguly, B. Basu, S. Shome, T. Jadhav et al. // *Am J Pathol.* – 2010 – Vol. 177. – P. 2701-2707.
166. Gao, H.M. Critical role for microglial NADPH oxidase in rotenone-induced degeneration of dopaminergic neurons / H.M. Gao, B. Liu, J.S. Hong // *J Neurosci.* – 2003. – Vol. 23. – P. 6181-6187.
167. Geginat, J. The light and the dark sides of Interleukin-10 in immune-mediated diseases and cancer / J. Geginat, P. Larghi, M. Paroni et al. // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2016. – Vol. 30. – P. 87-93.
168. Ghandadi, M. Interleukin-6: A Critical Cytokine in Cancer Multidrug Resistance / M. Ghandadi, A. Sahebkar // *Curr Pharm Des.* – 2016. – Vol. 22, №5. – P. 518-526.
169. Glathaar-Saalmuller, B. Antiviral activity of an extract derived from roots of *Eleuterococcus senticosus* / B. Glathaar-Saalmuller, F. Sacher, A. Esperester // *Antiviral Res.* – 2001. – Vol. 50, № 3. – P. 223-228.
170. Gooden, M.J. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis / M.J. Gooden, G.H. de Bock, N. Leffers et al. // *Br J Cancer.* – 2011. – Vol. 105, № 1. – P. 93-103.
171. Griffin, G.D. Post-traumatic stress disorder: revisiting adrenergics, glucocorticoids, immune system effects and homeostasis / G.D. Griffin, D. Charron, R. Al-Daccak // *Clin Transl Immunology.* – 2014. – Vol. 3, № 11. – P. 113-117
172. Gruden, M.A. Correlation between protective immunity to  $\alpha$ -synuclein aggregates, oxidative stress and inflammation. / M.A. Gruden, K. Yanamandra, V.G. Kucheryanu et al. // *Neuroimmunomodulation.* – 2012. – Vol. 19, № 6. – P. 334-342.
173. Guan, Y.Y. Ginsenoside-Rd from panax notoginseng blocks  $Ca^{2+}$  influx through receptor- and store-operated  $Ca^{2+}$  channels in vascular smooth muscle cells / Y.Y. Guan, J.G. Zhou, Z. Zhang et al. // *Eur J Pharmacol.* – 2006. – Vol. 548. – P. 129-136.

174. Gum, S.I. A Distinctive Pattern of *Beauveria bassiana*-biotransformed Ginsenoside Products Triggers Mitochondria/FasL-mediated Apoptosis in Colon Cancer Cells / S.I. Gum, M.K. Rahman, J.S. Won, M.K. Cho // *Phytother Res.* – 2016 – Vol. 30, №1. – P.136- 143.
175. Guo, L. Panaxydol inhibits the proliferation and induces the differentiation of human hepatocarcinoma cell line HepG2 / L. Guo, L. Song, Z. Wang et al. // *Chem Biol Interact.* – 2009. – Vol. 181, № 1. – P.138-143.
176. Ha, Z. The effect of rhodiola and acetazolamide on the sleep architecture and blood oxygen saturation in men living at high altitude / Z. Ha, Y. Zhu, X. Zhang et al. // *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* – 2002. – Vol. 25, № 9. – P. 527-530.
177. Halliwell, B. Proteasomal dysfunction: a common feature of neurodegenerative diseases? Implications for the environmental origins of neurodegeneration / B. Halliwell // *Antioxid Redox Signal.* – 2006. – Vol. 8. – P. 2007–719.
178. Ham, B. The diverse roles of the TNF axis in cancer progression and metastasis / B. Ham, MC Fernandez, Z. D'Costa, P. Brodt // *Trends Cancer Res.* – 2016. –Vol. 11, №1. – P. 1-27.
179. Ham, Y.M. Ginsenoside-Rh2-induced mitochondrial depolarization and apoptosis are associated with reactive oxygen species-and Ca<sup>2+</sup>-mediated c-jun NH<sub>2</sub> terminal kinase 1 activation in HeLa cells / Y.M. Ham, J.H. Lim, H.K. Na et al. // *J Pharmacol. Exp Ther.* – 2006. – Vol. 319, № 3. – P. 1276-1285.
180. Han, G.C. Compound K enhances insulin secretion with beneficial metabolic effects in db/mice / G.C. Han, S.K. Ko, J.H. Sung // *J. Agric Food Chem.* – 2007. – Vol. 55, № 26. - P. 641-648.
181. Harrison, D.E. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice / D.E. Harrison, R. Strong, Z.D. Sharp et al. // *Nature.* – 2009. – Vol. 460. – № 7253. –P. 392-395
182. He, L. STING signaling in tumorigenesis and cancer therapy: A friend or foe? / L. He, X. Xiao, X. Yang et al. // *Cancer Lett.* – 2017. – Vol. 402. – P. 203-212.
183. Heinrich, E. Neuroendocrine tumor cells in prostate cancer: evaluation of the neurosecretory products serotonin, bombesin, and gastrin – impact on angiogenesis

- and clinical follow-up. / E. Heinrich, L. Trojan, D. Friedrich et al. // *Prostate*. - 2011. - Vol. 71. - P. 1752–1758.
184. Hiraoka, N. CXCL17 and ICAM2 are associated with a potential anti-tumor immune response in early intraepithelial stages of human pancreatic carcinogenesis / N. Hiraoka, R. Yamazaki-Itoh, Y Ino et al. // *Gastroenterology*. - 2011. - Vol. 140, № 1. - P. 310–321.
185. Horvathova, M. Adhesion molecules as the strategic goal of immunotherapy. / M. Horvathova, M. Ferencik // *Lec Listy*. - 2000. - Vol. 101, №3. - P. 146-151.
186. Hu, G. Ginsenoside Rd blocks AIF mitochondrio-nuclear translocation and NF- $\kappa$ B nuclear accumulation by inhibiting poly(ADP-ribose) polymerase-1 after focal cerebral ischemia in rats / G. Hu, Z. Wu, F. Yang et al. // *Neurological Sciences*. - 2013. - Vol. 34, № 12. - P. 2101-2106.
187. Huang, H. Dopamine D2 receptor suppresses gastric cancer cell invasion and migration via inhibition of EGFR/AKT/MMP-13 pathway / H. Huang, K. Wu, J. Ma et al. // *Int Immunopharmacol*. - 2016. - Vol. 39. - P. 113-120.
188. Hwang, S.H. Gintonin, a ginseng derived lypophosphatidic acid receptor ligand, attenuates alzheimer's disease-related neuropathies: involvement of non-amyloidogenic processing / S.H. Hwang, E.J. Shin, T.J. Shin, B.H. Lee et al. // *Journal of Alzheimer's Disease*. - 2012. - Vol. 31, № 1. - P. 207 - 223.
189. Ichikawa, H. Withanolides potentiate apoptosis, inhibit invasion, and abolish osteoclastogenesis through suppression of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) activation and NF-kappaB-regulated gene expression. / H. Ichikawa, Y. Takada, S. Shishodia et al. // *Mol. Cancer Ther*. - 2006. - Vol. 6. - P. 1434 - 1445.
190. Italiano, A. Head and neck squamous cell carcinoma in patients aged  $>$  or  $=$  80 years: patterns of care and survival / A. Italiano, C. Ortholan, o. Dassonville O. et al. // *Cancer*. 2008 - Vol. 113, N 11. - P. 3160-3168.
191. Iversen, S.D., Iversen L.L. Dopamin: 50 years in perspective. / S.D. Iversen, L.L. Iversen // *Trends Neurosci*. - 2007. - Vol 30, № 5. - P. 188-193.
192. Jain, R.K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy / R.K. Jain // *Science*. - 2005. - Vol. 307. - P. 58-62.

193. Jandaghi Pal. Expression of DRD2 is Increased in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Inhibitors Slow Tumor Growth in Mice // *Gastroenterology* 2016. – Vol. 151, N 6. – P. 1218-1231.
194. Jeong, H.G. Induction of cyclooxygenase-2 by ginsenoside Rd via activation of CCAAT-enhancer binding proteins and cyclic AMP response binding protein / H.G. Jeong, Y.R. Pokharel, E.H. Han // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – Vol. 359, № 1. – P. 51-56.
195. Jewett, A. MHC-Class I antigens regulate both the function and the survival of human peripheral blood NK cells role of endogenously secreted TNF-alpha / A. Jewett, B. Bonavida // *Clin Immunol.* – 2000. – Vol. 96. – P.19-28.
196. Jia, L. Current evaluation of the millennium phytomedicine - ginseng (I): etymology, pharmacognosy, phytochemistry, market and regulations / L. Jia, Y. Zhao // *Current Medicinal Chemistry.* – 2009. – Vol. 16, № 19. – P. 2475–2484.
197. Jian, H. Proteins induced by telomere dysfunction and DNA damage represent biomarkers of human aging and disease. / H. Jian, E. Schiffer, S. Song et al. // *PNAS.* – 2008. – Vol. 105, № 32. – P. 11299-11304.
198. Jin, J.H. UVB induced oxidative stress in human keratinocytes and protective effect of antioxidant agent / J.H. Jin, Y. Liu, S.Z. Jin // *Radiol Environ Biophys.* – 2007. – Vol. 46, № 1. – P. 61-68.
199. Jin, Y. American ginseng suppresses inflammation and DNA damage associated with mouse colitis / Y. Jin, V.S. Kotakadi, L. Ying, A.B. Hofseth et al. // *Carcinogenesis.* – 2008. – Vol. 29. – P. 2351-2359.
200. Jones, S. IL-6 trans-signalling: the in vivo consequences / S. Jones, P. Richards, J. Scheller, S. Rose-John // *J Interferon Cytokine Res.* – 2005. – Vol. 25. – P. 241-253.
201. Kadioglu, A. The integrins Mac-1 and alpha4beta1 perform crucial roles in neutrophil and T cell recruitment to lungs during *Streptococcus pneumoniae* infection / A. Kadioglu, K. De Filippo, M. Bangert et al. // *J Immunol.* – 2011. – Vol. 186, № 10. – p. 5907-5915.

202. Kallioliias, G.D. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies / G.D. Kallioliias, L.B. Ivashkiv // *Nature Reviews Rheumatology*. – 2016. – Vol. 12. – P. 49–62.
203. Kammertoens, T. Tumour ischaemia by interferon- $\gamma$  resembles physiological blood vessel regression / T. Kammertoens, C. Friese, A. Arina et al. // *Nature*. – 2017.– Vol. 545, № 7652. – P. 98-102.
204. Kan, C. Cancer Cell Colonisation in the Bone Microenvironment. / C. Kan, G. Vargas, FL. Pape, P. Clézardin. // *Int J Mol Sci*. – 2016. – Vol.17, №10. – pii: E 1674.
205. Kang, K.S. Protective effect of heat-processed American ginseng against diabetic renal damage in rats / KS Kang, HY Kim, N Yamabe et al. // *Free Radic Res*. – 2007. – Vol.41, №10. – P.1181-1188.
206. Kang, K.S. ESR study on the structure and hydroxyl radical-scavenging activity relationships of ginsenosides isolated from *Panax ginseng* / K.S. Kang, T. Yokozawa, N.Yamode et al. // *Biol Pharm Bull*. – 2007. – Vol. 30, № 5. – P. 917-921.
207. Kanupriva Prasad, D. Cytoprotective and antioxidant activity of *Rhodiola imbricate* against tert-butyl hydroperoxide induced oxidative injury in U-937 human macrophages / D. Kanupriva Prasad, M. Sai Ram, R. Kumar et al. // *Mol Cell Biochem*. – 2005. – Vol. 275, № 1-2. – P. 1-6.
208. Kaplanski, G. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation / G. Kaplanski, V. Marin, F. Montero-Julian et al. // *Trends Immunol*. – 2003. – Vol. 24. – P. 25-29.
209. Kato, Y. Frequent loss of E-cadherin and/or catenins in intrabronchial lesions during carcinogenesis of the bronchial epithelium / Y. Kato, T. Hirano, K. Yoshida et al. // *Lung Cancer*. – 2005. – Vol. 48, № 3. – P. 323-330.
210. Katz, N.S. Effects of acute and sustained administration of the catecholamine reuptake inhibitor nomifensine on the firing activity of monoaminergic neurons / N.S. Katz, B.P. Guiard, M. E.I. Mansari, P. Blier // *J Psychopharmacol*. – 2010. – Vol. 24, № 8. – P. 1223-1235.

211. Kavelaars, A. Changes in innate and acquired immune responses in mice with targeted deletion of the dopamine transporter gene / A. Kavelaars, P.M. Cobelens, M.A. Teunis, C.J. Heijnen // *J. Neuroimmunol.* – 2005. – Vol. 161, № 1-2. – P. 162-168.
212. Kawaguchi, T. Cancer metastasis: characterization and identification of the behavior of metastatic tumor cell and the adhesion molecules, including carbohydrates / T. Kawaguchi // *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disor.* – 2005. – Vol. 5, № 1. – P. 39-64.
213. Kemik, O. The relationship among acute phase response proteins, cytokines and hormones in various gastrointestinal cancer types patients with cachectic / O. Kemik, A. Kemik, H. Bejenik, F. Erdur et al. // *Hum Exp Toxicol.* – 2011. – Vol. 25, № 9. – P. 117-121.
214. Keum, J.S. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF-kappa B activation and tumor promotion / J.S. Keum, S.S. Han, K.S. Chun et al. // *Mutat Res.* – 2003. – Vol. 523. - P. 75-85.
215. Kim, C. Korean Red Ginseng Extract Enhances the Anticancer Effects of Sorafenib through Abrogation of CREB and c-Jun Activation in Renal Cell Carcinoma / C. Kim, J.H. Lee, S.H. Baek et al. // *Phytother Res.* – 2017 – Vol. 31, № 7. – P.1078 - 1089.
216. Kim, D. Clinical significance of preoperative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in operable gastric cancer / D. Kim, S. Oh, H. Kwon, S. Lee et. al. // *Cancer.* – 2009. – Vol. 20, № 9. – P.155-161.
217. Kim, D.H. The inhibitory effect of ginseng saponines on the stress-induced plasma interleukin-6 level in mice / D.H. Kim, Y.S. Moon, T.H. Lee et al. // *Neurosci Lett.* – 2003. – Vol. 353. – P. 13-16.
218. Kim, D.H. Chemical diversity of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium*, and *Panax notoginseng* / D.H. Kim // *Journal of Ginseng Research.* – 2012. – Vol. 36, № 1. – P. 1 - 15.
219. Kim, M.S. Ginsenoside Re and Rd enhance the expression of cholinergic markers and neuronal differentiation in Neuro-2a cells / M.S. Kim, J.M. Yu, H.J. Kim, H.B.

- Kim et al. // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 2014. – Vol. 37, № 5. – P. 826-833.
220. Kim, S. Hippocampus-dependent cognitive enhancement induced by systemic gintonin administration / S. Kim, M.S. Kim, K. Park, H.J. Kim et al. // *Journal of Ginseng Research*. – 2016. – Vol. 40, № 1. – P. 55-61.
221. Kim, S.W. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by ginsenoside Rg(3) / S.W. Kim, H.Y. Kwon, D.W. Chi // *Biochem Pharmacol*. – 2003. – Vol. 65, № 1. – P. 75-82.
222. Kim, Y.S. Ginsenoside Rh2 induces apoptosis via activation of caspase-1 and -3 and upregulation of Bax in human neuroblastoma / Y.S. Kim, S.H. Jin // *Arch Pharm Res*. – 2004. – Vol. 27, № 8. – P. 834-839.
223. Kioukia-Fougia, N. The effects of stress exposure on hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels / N. Kioukia-Fougia, K. Antoniou, S. Bekris et al. // *Prog Neuropharmacol Biol Psychiatry*. – 2002. – Vol. 26. – P. 823-830.
224. Kitagawa, S. Inhibitory effects of ginsenosides and their hydrolyzed metabolites on daunorubicin transport in KB-C2 cells / S. Kitagawa, T. Takahashi, T. Nabekura et al. // *Biol. Pharm. Bull*. – 2007. – Vol. 30, № 10. – P. 1979-1981.
225. Kopparapu, P.K. Expression of cyclin d1 and its association with disease characteristics in bladder cancer / P.K. Kopparapu, S.A. Boorjian, B.D. Robinson et al. // *Anticancer Res*. – 2013. – Vol. 33, № 12. – P. 5235-5242.
226. Kormosh, N. Effect of a combination of extract from several plants on cell-mediated and humoral immunity of patients with advanced ovarian cancer / N. Kormosh, K. Laktionov, M. Antoshechkina // *Phytother. Res*. – 2006. – Vol. 20, № 5. – P. 424-425.
227. Kourtzelis, I. From leukocyte recruitment to resolution of inflammation: the cardinal role of integrins / I. Kourtzelis, I. Mitroulis, J. von Renesse et al. // *J Leukoc Biol*. – 2017. – Vol. 102, № 3. – P. 677-683.
228. Kovalovich, K. Interleukin-6 protects against Fas-mediated death by establishing a critical level of anti-apoptotic hepatic proteins FLIP, Bcl-2 and Bcl-x<sub>l</sub> / K.

- Kovalovich, W. Li, R. DeAngelis et al. // *J. Biol Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 26605-26613.
229. Krizanova, O. Stress, catecholaminergic system and cancer. / O. Krizanova, P. Babula, K. Pacak // *Stress.* – 2016. – Vol. 19, № 4. – P. 419-428.
230. Krummel, M.F. T-cell migration, search strategies and mechanisms. / M.F. Krummel, F. Bartumeus, A. Gérard // *Nat Rev Immunol.* – 2016. – Vol. 16, № 3. – P. 193-201.
231. Krzystek-Korpaczka, M. Acute-phase response proteins are related to cachexia and accelerated angiogenesis in gastroesophageal cancers / M. Krzystek-Korpaczka, M. Matusiewicz, D. Diakowska, K. Grabowski et al. // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2008. – Vol. 46, № 3. – P. 359-364.
232. Kubis, N. Preservation of midbrain catecholaminergic neurons in very old human subjects. / N. Kubis, B.A. Faucheux, G. Ransmayr et al. // *Brain.* – 2000. – Vol. 123, № 20. – P. 366-373.
233. Kucinskaite, A. Experimental analysis of therapeutic properties of *Rhodiola rosea* L and it's possible application In medicine / A. Kucinskaite, V. Briedis, A. Savickas // *Medicina.* – 2004. – Vol. 40, № 7. – P. 614-619.
234. Kumari, N. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance / N. Kumari, BS. Dwarakanath, A. Das, AN. Bhatt // *Tumour Biol.* – 2016. – Vol 37, №9. – P. 11553-11572.
235. Kursunel, M.A. The untold story of IFN- $\gamma$  in cancer biology / MA Kursunel, G. Esendagli // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2016. – Vol. 31. – P. 73-81.
236. Ladiges, W. Lifespan extension in genetically modified mice / W. Ladiges, H. Van Remen, R. Strong, Y. Ikeno et al. // *Aging Cell.* – 2009. – № 8. – P. 346-352.
237. Lascombe, I. N-cadherin as a novel prognostic marker of progression in superficial urothelial tumors / I. Lascombe, A. Clairotte, S. Fauconnet // *Clin Cancer Res.* – 2006. – Vol. 12, № 9. – P. 2780-2787.
238. Lattanzio, G. Defective development of pristane-oil-induced plasmacytomas in interleukin-6-deficient BALB/c mice / G. Lattanzio, C. Libert, M. Aquilina et al. // *Am J Pathol.* – 1997. – Vol. 151, № 3. – P. 689-696.



239. Lawson, C. ICAM-1 signaling in endothelial cells / C. Lawson, S. Wolf // *Pharmacol Rep.* – 2009. – Vol. 61, №1. – P. 22-32.
240. Lee, B.H. Identification of ginsenoside interaction sites in 5-MT3A receptors / B.H. Lee, Y.H. Lee, S.M. Lee, S.M. Jeong et al. // *Neuropharmacology.* – 2007. – Vol. 52, № 4. – P. 1139-1150.
241. Lee, B. Ginsenoside Rg3 alleviates lipopolysaccharide-induced learning and memory impairments by anti-inflammatory activity in rats / B. Lee, B. Sur, J. Park et al. // *Biomolecules and Therapeutics.* – 2013. – Vol. 21, № 5. – P.381-390.
242. Lee, J.H. Ginsenoside Rg1 helps mice resist to disseminated candidiasis by Th1 type differentiation of CD4<sup>+</sup> T cell / J.H. Lee, Y. Han // *Int. Immunopharmacol.* – 2006. – Vol. 6, № 9. – P. 1424-1430.
243. Lee, J.Y. Antitumor promotional effects of a novel intestinal bacterial metabolite (JH-901) derived from the protopanaxodiol-type ginsenosides in mouse skin /J.Y. Lee, J.W. Shin, K.S. Chung et al. // *Carcinogenesis.* – 2005. – Vol. 26, № 2. – P. 359-367.
244. Lee, S. Antioxidant activities of *Acanthopanax senticosus* stems and their lignan components / S. Lee, D. Son, J. Ryu, Y.S. Lee et al. // *Arch. Pharm. Res.* – 2004. – Vol. 27, № 1. – P. 106-110.
245. Lee, S.K. In vitro immunomodulatory activities of a newly concocted traditional Chinese medicine formula: VI-28 / S.K. Lee, C.K. Wong, P.M. Poon Ip P.S. et al. // *Phytother Res.* – 2006. – Vol. 20, № 10. – P. 883-888.
246. Leung, K.W. Neuroprotective effects of ginsenoside-Rg1 in primary nigral neurons against rotenone toxicity / K.W. Leung, K.K. Jung, N. Mak // *Neuropharmacol.* – 2007. – Vol. 52, № 3. – P. 827-835.
247. Leung, K.W. Ginsenoside Rb1 inhibits tube-like structure formation on endothelial cells by regulating pigment epithelium-derived factor through the oestrogen beta receptor / K.W. Leung, L.W. Cheung, Y.L. Poon et al. // *Br J Pharmacol.* – 2007. – Vol. 152, № 2. – P. 207-215.
248. Levite, M. Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T

- cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases / M. Levite // *Acta Physiol.* – 2016. – Vol. 216, № 1. – P. 42-89.
249. Li, B.H. Antioxidants potentiate American ginseng-induced killing of colorectal cancer cells / B.H. Li, C.Z. Wang, T.C. He et al. // *Cancer Lett.* 2010. – Vol. 289. – P. 62-70.
250. Li, J. The prognostic value of tumor-infiltrating T-lymphocytes in ovarian cancer / J. Li, J. Wang, R.Chen et al. // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 9. – P. 15621-15631.
251. Li, J.Q. An essential role of Nrf2 in American ginseng-mediated anti-oxidative actions in cardiomyocytes / J.Q. Li, T. Ichikawa, Y. Jin et al. // *J. Ethnopharmacol.* – 2010. – Vol. 130. – P. 222-230.
252. Li, L. Schisandrin B enhances doxorubicin-induced apoptosis of cancer cells but not normal cells / L. Li, Q. Lu, Y. Shen // *Biochem Pharmacol.* – 2006. – Vol. 71, № 5. – P. 584-595.
253. Li, L. Protective effects of ginsenoside Rd against okadaic acid-induced neurotoxicity in vivo and in vitro / L. Li, J. Liu, X. Yan, K. Qin et al. // *Journal of Ethnopharmacology.* – 2011. – Vol. 138, № 1. – P. 135-141.
254. Li, N. Protective effects of ginsenoside Pg2 against glutamate-induced neurotoxicity in PC12 cells / N. Li, B. Liu, D.E. Dluzen // *J. Ethnopharmacol.* – 2007. – Vol. 111, № 3. – P. 458-463.
255. Liang, C. Serotonin promotes the proliferation of serum-deprived hepatocellular carcinoma cells via upregulation of FOXO3a / C. Liang, W. Chen, X. Zhi, T. Ma et al. // *Mol Cancer.* – 2013. – Vol. 12. – P. 14.
256. Lian-Wen, Qi. Ginsenosides from American ginseng: chemical and pharmacological diversity / Qi. Lian-Wen, Wang. Chong-Zhi, Yan Chun-Su // *Phytochemistry.* – 2011. – Vol. 72. – P. 689-699.
257. Lim, K. Visualization of integrin Mac-1 in vivo / K. Lim, Y.M. Hyun, K. Lambert-Emo et al. // *J Immunol Methods.* – 2015. – Vol. 426. – P. 120–127.
258. Lin, M. Ginsenoside Rg1 protects against transient focal cerebral ischemic injury and suppresses its systemic metabolic changes in cerebral injury rats / M. Lin, W.

- Sun, W. Gong et al. // *Acta Pharmaceutica Sinica B.* – 2015. – Vol. 5, № 3. – P. 277-284.
259. Lippitz, B.E. Cytokine patterns in cancer patients: a review of the correlation between interleukin 6 and prognosis / B.E., Lippitz, R.A. Harris // *Oncoimmunology.* – 2016 – Vol. 5, № 5. – :e1093722.
260. Lissoni, P. Therapy implications of the role of interleukin-2 in cancer. / P. Lissoni // *Expert Rev Clin Immunol.* – 2017. – Vol.13, № 5. – P. 491-498
261. Liu, J. Neuroprotective effects of ginsenoside Rb1 on hippocampal neuronal injury and neurite outgrowth / J. Liu, J. He, L. Huang et al. // *Neural Regeneration Research.* – 2014. – Vol. 9, № 9. – P. 943–950.
262. Liu, K. Cooperative disengagement of Fas and intercellular adhesion molecule-1 function in neoplastic cells confers enhanced colonization efficiency / K. Liu, S.A. Caldwell, S.I. Abrahams // *Cancer. Res.* – 2005. – Vol. 65, № 3. – P. 1045-1054.
263. Liu, T. Ginsenoside 20(S)-Rg3 suppresses ovarian cancer migration via hypoxia-inducible factor 1 alpha and nuclear factor-kappa B signals / T. Liu, L. Zhao, H. Hou et al. // *Tumour Biol.* – 2017. – Vol. 39, № 5. doi: 10.1177/1010428317692225.
264. Liu, Y.W. Panaxadiol glycosides that induce neuronal differentiation in neurosphere stem cells / Y.W. Liu, S.Y. Thian, Y. de Barry // *J Nat Prod.* – 2007. – Vol. 70, № 8. – P. 1329-1334.
265. Liu, Z.Q. In vitro study of the relationship between the structure of ginsenoside and its antioxidant or prooxidative activity in free radical induced hemolysis of human erythrocytes / Z.Q. Liu, X.Y. Luo, G.Z. Liu et al. // *J Agric Food Chem.* – 2003. – Vol. 51, № 9. – P. 2555-2558.
266. Lo Presti, E. Tumor-Infiltrating  $\gamma\delta$  T Lymphocytes: Pathogenic Role, Clinical Significance, and Differential Programming in the Tumor Microenvironment. / E. Lo Presti, F. Dieli, S. Meraviglia // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 24, № 5. – P. 607-611.
267. Lu, G.H. Differentiation of Asian ginseng, American ginseng and Notoginseng by Fourier transform infrared spectroscopy combined with two-dimensional

- correlation infrared spectroscopy / G.H. Lu, Q.K. Zhou, S.Q. Sun et al. // *J Mol Struct.* – 2008. – Vol. 883, № 3. – P. 91– 98.
268. Lu, J. Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Actinidia macrosperma* / J. Lu, J. Fan, Y. Zhao et al. // *Asia Pac J Clin Nutr.* – 2007. – Vol. 16. – Suppl 1. – P. 261-265.
269. Lu, P. Increased infiltration of activated tumor-infiltrating lymphocytes after high intensity focused ultrasound ablation of human breast cancer / P. Lu, XQ. Zhu, ZL. Xu et al. // *Surgery.* – 2009. – Vol. 145, № 3. – P.286-293.
270. Luo, F.C. Protective effect of panaxatriol saponins extracted from *Panax notoginseng* against MPTP-induced neurotoxicity in vivo / F.C. Luo, S.D. Wang, L. Qi et al. // *J Ethnopharmacol.* – 2011. - Vol. 133, № 2. – P. 448–453.
271. Maimon, Y. Botanical Formula LCS101: A Multi-Targeted Approach to Cancer Care / Y. Maimon, N. Samuels, Z. Cohen // *Integr Cancer Ther*– 2018. – Vol. 17, № 4. – P. 1020–1026.
272. Magnini, F. T-cell subpopulations express a different pattern of dopaminergic markers in intra- and extra-thymic compartments / F. Magnini, M. Sabbatini, M. Capacchietti et al. // *J. Biol Regul Homeost Agents.* – 2013. – Vol. 27, № 2. – P. 463-475.
273. Majewska, A. Antiproliferative and antimitotic effect S phase accumulation and induction of apoptosis and necrosis after treatment of extract from *Rhodiola rosea* rhizomes on ML-60 cells / A. Majewska, G. Hoser, K. Furmanowa et al. // *J Ethnopharmacol.* – 2006. – Vol. 103, № 1. – P. 43-52.
274. Maksan, S.M. Immune escape mechanism: defective resting and stimulated leukocyte-endotelium interaction in hepatocellular carcinoma of the rat / S.M. Maksan, P.M. Araib, E. Ryschin et al. // *Dig Dis Sci.* – 2004. – Vol. 49, № 5. – P. 859-865.
275. Mannino, M.H. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. / M.H. Mannino, Z. Zhu, H. Xiao et al. // *Cancer Lett.* – 2015. – Vol. 367, №2. – P. 103-107.

276. Mărgineanu, E. Correlation between E-cadherin abnormal expressions in different types of cancer and the process of metastasis / E. Mărgineanu, C.E. Cotrutz, C. Cotrutz // *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. – 2008. – Vol. 112, № 2. – P. 432-436.
277. Melstrom, L.G. The pancreatic cancer microenvironment: A true double agent / L.G. Melstrom, M.D. Salazar, D.J. Diamond // *J Surg Oncol*. – 2017. – Vol. 116, №1. – P. 7-15.
278. Meredith, E.J. Dopamine targets cycling B cells independent of receptors/transporter for oxidative attack: Implications for non-Hodgkin's lymphoma / E.J. Meredith, M.J. Holder, A. Rosén et al. // *Proc Nat Acad Sci U SA*. – 2006. – Vol. 103. – P. 13485–13490.
279. Meydani, M. Antioxidants in the prevention of chronic diseases / M. Meydani // *Nutr Clin Care*. – 2002. – Vol. 5, № 2. – P. 47-49.
280. Miller, R.A. Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice / R.A. Miller, D.E. Harrison, C.M. Astle et al. // *J Gerontol A Biol Med Sci*. – 2011. – Vol. 66, № 2. – P. 191-201.
281. Min, J.K. 20(S)-Ginsenoside Rg3 prevents endothelial cell apoptosis via inhibition of a mitochondrial caspase pathway / J.K. Min, J.H. Kim, Y.L. Cho et al. // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2006 – Vol. 349, № 3. – P. 987-994.
282. Mishra, K.P. Aqueous extract of *Rhodiola imbricate* rhizome stimulates proinflammatory mediators via phosphorylated kappaB and transcription factor nuclear factor-kappa B / K.P. Mishra, Y.S. Padwad, M. Jain et al. // *Immunopharmacol Immunotoxicol*. – 2006. – Vol. 28, № 2. – P. 201-212.
283. Mitroulis, I. Leukocyte integrins: role in leukocyte recruitment and as therapeutic targets in inflammatory disease / I. Mitroulis, V.I. Alexaki, I. Kourtzelis et al. // *Pharmacol Ther*. – 2015. – Vol. 147. – P. 123–135.
284. Mitsou, I. Proteoglycans, ion channels and cell-matrix adhesion / I. Mitsou, H. Multhaup, J. R. Couchman // *J Biochem*. – 2017. – Vol. 474, № 12. – P. 1965-1979.
285. Mittal, R. Neurotransmitters: the critical modulators regulating gut-brain axis / R. Mittal, L.H. Debs, A.P. Patel, et al. // *J Cell Physiol*. – 2017. – Vol. 232, № 9. – P.

- 2359-2372.
286. Mocellin, S. The dual role of IL-10 / S. Mocellin, M.C. Panelli, E. Wang et al. // Trends Immunol. – 2003. – Vol. 24. – P. 36-43.
287. Moore, K.W. Interleukin-10 and the Interleukin-10 receptor / K.W. Moore, R.W. Malefyt, R.L.Coffman, A. O'Garra // Annu Rev Immunol. – 2001. – Vol. 19. – P.683-765.
288. Moreno-Smith, M. Dopamine blocks stress-mediated ovarian carcinoma growth / M. Moreno-Smith, C. Lu, M.M. Shahzad, G.N. Pena et al. // Clin Cancer Res. – 2011. – Vol. 17, № 11. – P. 3649-3659.
289. Moreno-Smith, M. Biologic effects of dopamine on tumor vasculature in ovarian carcinoma / M. Moreno-Smith, S.J. Lee, C. Lu, A.S. Nagaraja et al. // Neoplasia. – 2013. – Vol. 15, № 5. – P. 502-510.
290. Moretta, A. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity / A. Moretta, C. Bottino, M. Vitale, D. Pende et al. // Annu Rev Immunol. – 2001. – Vol. 19. – P. 197-223.
291. Morice, E. Parallel loss of hippocampal LTD and cognitive flexibility in a genetic model of hyperdopaminergia / E. Morice, J.M. Billard, C. Denis et al. // Neuropsychopharmacology. – 2007. – Vol. 32. – P. 2108–2116.
292. Morrison, B.E. Discovery of nigral dopaminergic neurogenesis in adult mice / B.E. Morrison // Neural Regen Res. – 2016. – Vol. 11, N 6. – P. 878-882.
293. Moscona, A. Rotation-mediated histogenetic aggregation of dissociated cells / A. Moscona // Exp Cell Res. – 1961. – Vol. 22. – P. 455-470.
294. Mukoyama, Y. T-cadherin enhances cell-matrix adhesiveness by regulating beta1 integrin trafficking in cutaneous squamous carcinoma cells / Y. Mukoyama, A. Utani, S. Matsui et al. // Genes Cells. – 2007 – Vol. 12, № 6. – P. 787-796.
295. Murphy, L.L. Ginsenosides Re and Rh2 inhibit MCF-7 cell proliferation through distinctly different mechanisms / L.L. Murphy, J.A. Rice, W. Zong // Mol Biol Cell. – 2001. – Vol. 12. – P. 141.
296. Nabavi, S.F. Ginsenoside Rd and ischemic stroke; a short review of literatures / S.F. Nabavi, A. Sureda, S. Habtemariam, S.M. Nabavi // J Gins Research. – 2015.

- Vol. 39, № 4. – P. 299–303.
297. Nah, S.Y. Ginsenosides: are any of them candidates for drugs acting on the central nervous system? / S.Y. Nah, D.H. Kim, H. Rhim // *CNS Drug Rev.* – 2007. – Vol. 13, №4. – P.381 - 404.
298. Nakaya, Y. The phytoestrogen ginsenoside Re activates potassium channels of vascular smooth muscle cells through PI3K/Akt and nitric oxide pathways / Y. Nakaya, K. Mawatari, A. Takahashi et al. // *J Med Invest.* – 2007. – Vol. 54. – P.381-384.
299. Nan, J.X. Protective effect of *Rhodiola sachanensis* extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats / J.X. Nan, Y.Z. Jiang, E. Park et al. // *J. Ethnopharmacol.* – 2003. – Vol. 84, № 23. – P.143-148.
300. Naval, M.V. Neuroprotective effect of a ginseng (*Panax ginseng*) root extract on astrocytes primary culture / M.V. Naval, M.P. Gomez-Servanillos, M.E. Carretero // *J.Ethnopharmacol.* – 2007. – Vol. 112, № 2. – P. 262-270.
301. Nekkanti, S. Targeting DNA Minor Groove by Hybrid Molecules as Anticancer Agents / S. Nekkanti, R. Tokala, N. Shankaraiah // *Curr Med Chem.* – 2017. –Vol. 24 № 26. – P. 2887–2907.
302. Ni, W. 5-hydroxytryptamine in the cardiovascular system: focus on the serotonin transporter (SERT) / W. Ni, S.W. Watts // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2006. – Vol. 33, № 7. – P. 575-583.
303. Ni, G. Manipulating IL-10 signalling blockade for better immunotherapy / G. Ni, T. Wang, S. Walton et al. // *Cell Immunol.* – 2015. – Vol. 293, №2. – P. 126-129.
304. Ni, W. Antitumor activities and immunomodulatory effects of ginseng neutral polysaccharides in combination with 5-fluorouracil / W. Ni, X. Zhang, B. Wang et al. // *J Med Food.* – 2010. – Vol. 13, № 2. – P.270-277.
305. Niu, H.S. Hypoglycemic effect of syringin from *Eleuterococcus senticosus* in streptozotocin-induced diabetic rats / H.S. Niu, J.M. Liu, J.T. Cheng et al. // *Planta Med.* – 2008. – Vol. 74, № 2. – P. 109-113.

306. Oble, D. Focus on TILs: Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human melanoma / D. Oble, R. Loewe, P. Yu, M. Mihm // *Cancer Immun.* – 2009. – Vol. 9, № 3. – P. 245-251.
307. Odenthal, J. Plasticity of tumor cell invasion: governance by growth factors and cytokines / J. Odenthal, R. Takes, P. Friedl // *Carcinogenesis.* – 2016. – Vol. 37, №12. – P.1117-1128.
308. Oh, G. S. 20(S)-Protopanaxatriol, one of ginsenoside metabolites, inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expressions through inactivation of nuclear factor-kappaB in RAW 264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide / G.S. Oh, H.O. Pae, B.M. Choi, E.A. Seo et al. // *Cancer Lett.* – 2005. – Vol. 205, №1. – P. 23-29.
309. Oh, Y.J. Caspase-3-dependent protein kinase c delta activity is required for the progression of ginsenoside-Rh2-induced apoptosis in SK-HEP-1 cells / Y.J. Oh, K.H. Chun, S.H. Joo et al. // *Cancer Lett.* – 2005. – Vol. 230, № 2. – P. 228-238.
310. Old, L. Tumor necrosis factor (TNF) / L. Old // *Science.* – 1985. – Vol. 230. – P. 630-632.
311. Oliynyk, S. Actoprotective effect of ginseng: improving mental and physical performance / S.Oliynyk, S.Oh // *J Ginseng Res.* – 2013 – Vol. 37, № 2. – P.144-166.
312. Onder, S. High expression of SALL4 and fascin, and loss of E-cadherin expression in undifferentiated/dedifferentiated carcinomas of the endometrium: An immunohistochemical and clinicopathologic study / S. Onder, O.C. Taskin, F. Sen et al. // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – Vol. 96, № 10. – P. 624-628.
313. Osinga, T.E. Dopamin concentration in blood platelets is elevated in patients with head and neck paragangliomas / T.E. Osinga, A.N. van der Horst-Schrivers, M. van Faassen et al. // *Clin Chem Lab Med.* – 2016. – Vol. 54, № 8. – P. 1395-1401.
314. Ota, T. Plant-glycoside modulation of cell surface related to control of differentiation in cultured B16 melanoma cells / T. Ota, K. Fujikawa-yamamoto, Z.P. Zong et al. // *Cancer Res.* - 1987. - Vol. 15, № 14. - P. 3863-3867.



315. Pacheco-Lopes, G. Central catecholamin depletion inhibits peripheral lymphocyte responsiveness in spleen and blood / G. Pacheco-Lopes, M.B. Niemi, W. Kou, A. Bildhauser et al. // *J Neurochem.* – 2003. – Vol.86, № 4. – P. 1024-31.
316. Pagès, F. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored / F. Pagès, J. Galon, M.C. Dieu-Nosjean et al. // *Oncogene.* – 2010. – Vol. 29, № 8. – P. 1093-1102.
317. Paladini, C.A. Generating bursts (and pauses) in the dopamine midbrain neurons / C.A. Paladini, J. Roeper // *Neuroscience.* – 2014. – Vol. 282. – P. 109–121.
318. Panossian, A. Stimulating effect of adaptogens: an overview with particular reference to their efficacy following single dose administration / A. Panossian, H. Wagner // *Phytoter Res.* – 2005. – Vol. 19, № 10. – P. 819-838.
319. Panossian, A. Comparative study of Rhodiola preparations on behavioral despair of rats / A. Panossian, N. Nikoyan, N. Okanyan et al. // *Phytomedicine.* – 2008. – Vol. 15, № 1. – P. 84-91.
320. Panossian, A. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy / A. Panossian, G. Wikman, J. Sarris // *Phytomedicine.* – 2017. – Vol.17, № 7. – P. 481-493.
321. Parameswaran, N. Tumor necrosis factor- $\alpha$  signaling in macrophages / N. Parameswaran, S. Patial // *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* – 2010. – Vol. 20, № 2. – P. 87-103.
322. Park, J.S. The therapeutic effect of tissue cultured root of wild *Panax ginseng* C.A. Mayer on spermatogenetic disorder / J.S. Park, S.Y. Hwang, W.S. Lee et al. // *Arch Pharm Res* – 2006. – Vol. 29, № 9. – P. 800-807.
323. Park, S.C. Induction of apoptosis in human lung carcinoma cells by the water extract of *Panax notoginseng* is associated with the activation of caspase-3 through downregulation of Akt / S.C. Park, H.S. Yoo, C. Park et al. // *Int J Oncol.* – 2009. – Vol. 35, № 1 – P. 121-127.
324. Park, W. Inhibitory effects of ginsenoside-Rb1 on activation of the 12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate-induced cyclooxygenase-2 promoter / W. Park, W. Lim, Y. Cho et al. // *Planta Med.* – 2006. – Vol. 72, № 3. – P. 272-275.

325. Parkinson, G.M. Increased mitochondrial DNA deletions in substantia nigra dopamine neurons of the aged rat / G. . Parkinson, C.V. Dayas, D.W. Smith // *Curr Aging Sci.* – 2014. – Vol. 7, № 3. – P. 155-160.
326. Papapetropoulos, A.A. Ginseng-derived oestrogen receptor beta (ER beta) against Rbl ginsenoside, attenuates capillary morphogenesis / A.A. Papapetropoulos // *Br J Pharmacol.* – 2007. – Vol. 152, № 2. – P. 172-174.
327. Patel, H.J. TNF- $\alpha$  and cancer cachexia: Molecular insights and clinical implications / H.J. Patel, B.M. Patel // *Life Sci.* – 2017. – Vol. 170. – P. 56-63.
328. Patella, V. The adhesion molecule ICAM-1 is overexpressed in patients with Hymenoptera venom allergy and decreases after ultrarush venom immunotherapy / V. Patella, C. Incorvaia, L. Ricciardi et al. // *J Biol Regul Homeost Agents.* – 2011 – Vol. 25, № 3. – P. 465-468.
329. Peppia, D. Blockade of immunosuppressive cytokines restores NK cell antiviral function in chronic hepatitis B virus infection / D. Peppia, L. Micco, A. Javaid et al. // *PloS Pathol.* – 2010. – Vol. 16. – № 2. – P. 101-107.
330. Peralta, E.A. American ginseng inhibits induced COX-2 and NFKB activation in breast cancer cells / E.A. Peralta, L.L. Murphy, J. Minnis et al. // *J Surg Res.* – 2009. – Vol. 157. – P. 261-267.
331. Peters, M.A. Dopamine and serotonin regulate tumor behavior by affecting angiogenesis / M.A. Peters, A.M. Walenkamp, I.P. Kema et al. // *Drug Resistance Update.* – 2014. – Vol. 17, № 4-6. – P. 96-104.
332. Peverelli, E. Dopamine receptor type 2 (DRD2) inhibits migration and invasion of human tumorous pituitary cells through ROCK-mediated cofilin inactivation / E. Peverelli, E. Giardino, D. Treppiedi et al. // *Cancer Lett.* – 2016. – Vol. 381, № 2. – P. 279-286.
333. Pinedo, H.M. Involvement of platelets in tumour angiogenesis? / Pinedo H.M., H.M. Verheul, R.J. D'Amato, J. Folkman // *Lancet.* – 1998. – Vol. 352. – P. 1775-1777.

334. Pirozhok, I. Serotonin and melatonin do not play a prominent role in the growth of prostate cancer cell lines / I. Pirozhok, A. Meye, O.W. Hakenberg et al. // *Urol Int.* – 2010. – Vol. 84, № 4. – P.452-460.
335. Ponomarev, E.D. Fresh evidence for platelets as neuronal and innate immune cells: their role in the activation, differentiation and deactivation of Th1, Th17 and Tregs during tissue inflammation // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 2, № 9. – P. 406-412.
336. Pop, V.V. IL-6 roles - Molecular pathway and clinical implication in pancreatic cancer - A systemic review / V.V. Pop, A. Seicean, I. Lupan et al. // *Immunol Lett.* – 2017. – Vol. 181. – P. 45-50.
337. Popovich, D.G. Structure-function relationship exists for ginsenosides in reducing cell proliferation and inducing apoptosis in the human leukemia (THP-1) cells line / D.G. Popovich, D.D. Kitts // *Arch. Biochem Biophys.* – 2002. – Vol. 406, № 1. – P. 1-8.
338. Porcelli, S. Mechanisms of antidepressant action: an integrated dopaminergic perspective / S. Porcelli, A. Drago, C. Fabbri, A. Serretti // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* – 2011. – Vol. 35, № 7. – P. 1532-1543.
339. Portielje, J.E. Il-12: a promising adjuvant for cancer vaccination / J.E. Portielje, J.W. Gratama, H.H. van Ojik et al. // *Cancer Immunol Immunother.* – 2003. – Vol. 52, № 3. – P. 133-144.
340. Radad, K. Ginsenosides and their CNS Targets / K. Radad, R. Moldzio, W.D. Rausch // *CNS Neuroscience and Therapeutics.* – 2011. – Vol. 17, № 6. – P. 761–768.
341. Rangel-Barajas, C. Dopamine receptors and neurodegeneration / C. Rangel-Barajas, I. Coronel, B. Floran // *Aging Dis.* – 2015. – Vol.6, № 5. – P. 349 - 368.
342. Rausch, W.D. Neuroprotective effects of ginsenosides./ W.D. Rausch, S. Liu, G. Gille, K. Radad // *Acta Neurobiol. Exp.* – 2006. – Vol. 66. – P. 369-375.
343. Reeves, S. Ageing and the nigrostriatal dopaminergic system / S. Reeves, C. Bench, R. Howard // *Int J Geriatr Psychiatry.* – 2002. – Vol. 17. – P. 359 - 370.

344. Rivera, E. The Rbl fraction of ginseng elicits a balanced Th1 and Th2 immune response / E. Rivera, F. Ekkolm Petterson, M. Inganas et al. // *Vaccine*. – 2005. – Vol. 23, № 46-47. – P. 5411-5419.
345. Roberts, C.A. TNF Blockade Maintains an IL-10(+) Phenotype in Human Effector CD4(+) and CD8(+) T Cells / CA. Roberts, LE Durham, V. Fleskens et al. // *Front Immunol*. – 2017. – Vol. 8. – P.157.
346. Rollo, C.D. Dopamine and aging: intersecting facets. / C.D. Rollo // *Neurochem Res*. – 2009. – Vol. 34, № 4. – P. 601-629.
347. Rutz, S. Regulation of Interleukin-10 Expression / S. Rutz, W. Ouyang // *Adv Exp Med Biol*. – 2016. – Vol. 941. – P. 89-116.
348. Sarkar, C. Dopamine increases the efficacy of anticancer drugs in breast and colon cancer preclinical models. / C. Sarkar, D. Chakroborty, U.R. Chowdhury et al. // *Clin Cancer Res*. – 2008. – Vol. 14. – P. 2502-2510.
349. Sarkar, C. Dopamine in vivo inhibits VEGF-induced phosphorylation of VEGFR-2, MAPK, and focal adhesion kinase in endothelial cells / C. Sarkar, D. Chakroborty, R.B. Mitra et al. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2004. – Vol. 287. – P. 1554-1560.
350. Sarkar, C. The immunoregulatory role of dopamine: an update / C. Sarkar, B. Basu, D Chakroborty // *Brain Behave Immun*. – 2010. – Vol. 24, № 4. – P. 525-528.
351. Sasada, T. Variation of tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers: controversy on clinical significance / T. Sasada, S. Suekane // *Immunotherapy*. – 2011. – Vol. 3, № 10. – P. 1235-1251.
352. Schumacher, B. Delayed and accelerated aging share common longevity assurance mechanisms / B. Schumacher, I. van der Pluijm, M. Moorhouse, T. Kosteas et al. // *PLoS Genet*. – 2008. –Vol. 4, № 8. – P. 1050-1061.
353. Sen, M. Mechanism of action of selective inhibitors of IL-6 induced STAT3 pathway in head and neck cancer cell lines / M. Sen, PA Johnston, NI Pollock, K. DeGrave et al. // *J Chem Biol*. – 2017. – Vol. 10, № 3. – P.129-141.

354. Senogles, S.E. D2 dopamine receptor-mediated antiproliferation in a small cell lung cancer cell line, NCI-H69 / S.E. Senogles // *Anticancer. Drugs.* – 2007. – Vol. 18, № 7. – P. 801-817.
355. Shang, G.S. IL-6 and TNF- $\alpha$  promote metastasis of lung cancer by inducing epithelial-mesenchymal transition. / G.S. Shang, L. Liu, Y.W. Qin // *Oncol Lett.* – 2017. – Vol. 13, №6. – P.4657-4660.
356. Shanmugam, M.K. Cancer prevention and therapy through the modulation of transcription factors by bioactive natural compounds / M.K. Shanmugam, J.H. Lee, E.Z. Chai, M.M. Kanchi et al. // *Semin Cancer Biol.* – 2016.– Vol. 40-41. – P. 35-47.
357. Sharp, J.G. The incidence, pathology and transplantation of hepatomas in CBA mice / J.G. Sharp, A.C. Riches, V. Littlewood, D.B. Thomas // *J Pathol.* – 1976. – Vol. 119, № 4. – P. 211-220
358. Shen, Y. In mice, production of plasma IL-1 and IL-6 in response to MPTP is related to behavioral lateralization / Y. Shen Y, G. Heber, Y. Su // *Brain Res.* – 2005. – Vol 1045, № 1-2. – P.31-37.
359. Shikov, A.N. Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications / A.N. Shikov, O.N. Pozharitskaya, V.G. Makarov, H. Wagner et al. // *J Ethnopharmacol.* – 2014. – Vol. 154, № 3. – P.481-536.
360. Shikov, AN. *Aralia elata* var. *mandshurica* (Rupr. & Maxim.) J.Wen: An overview of pharmacological studies /A.N. Shikov, O.N. Pozharitskaya, V.G. Makarov // *Phytomedicine.* – 2016 – Vol. 23, № 12. – P. 1409-1421.
361. Shin, B.K. Chemical diversity of ginseng saponins from *Panax ginseng* / B.K. Shin, S.W. Kwon, J.H. Park // *J Gins Res.* – 2015. – Vol. 39, № 4. – P. 287-298.
362. Shin, H.C. Immunohistochemical expression of E-cadherin and beta-catenin in the normal and malignant human endometrium: an inverse correlation between E-cadherin and nuclear beta-catenin expression / H.C. Shin, T. Shiozawa, T. Miyamoto et al. // *Anticancer Res.* – 2004. – Vol. 24, № 6. – P. 3843-3850.

363. Siddiqui, E.J. The effect of serotonin and serotonin antagonists on bladder cancer cell proliferation / E.J. Siddiqui, M.A. Shabbir, D.P. Mikhailidis et al. // *BJU Int.* – 2006. – Vol. 97. – P. 634-639.
364. Silva, M. Cell-Specific Variation in E-Selectin Ligand Expression among Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Implications for Immunosurveillance and Pathobiology / M. Silva, R. Fung, C.B. Donnelly et al. // *J Immunol.* – 2017. – Vol. 198, № 9. – P. 3576-3587.
365. Singh, N. Inflammation and cancer / N. Singh, D. Baby, J.P. Rajguru et al. // *Ann Afr Med.* – 2019. – Vol. 18, № 3. – P. 121-126.
366. Smith, M.J. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity / M.J. Smith, G.P. Dunn, R.D. Schreiber // *Adv immunol.* – 2006. – Vol. 90. – P. 1-50.
367. Soares, N.M. Cortisol levels, motor, cognitive and behavioral symptoms in Parkinson's disease: a systematic review / N.M. Soares, G.M. Pereira, V. Altmann et al. // *J Neural Transm (Vienna).* – 2019. – Vol. 126, N 3. – P. 219-232.
368. Soll, C. Expression of serotonin receptors in human hepatocellular cancer / C. Soll, M.O. Riener, C.E. Oberkofler, C. Hellerbrand et al. // *Clin Cancer Res.* – 2012. – Vol. 18, № 21. – P.5902-5910.
369. Song, X.Y. Ginsenoside Rg1 attenuates okadaic acid induced spatial memory impairment by the GSK3 $\beta$ /tau signaling pathway and the A $\beta$  formation prevention in rats / X.Y. Song, J.F. Hu, S.F. Chu, Z. Zhang et al. // *Eur J Pharmacol.* – 2013. – Vol. 710, № 3. – P. 29-38.
370. Sonier, B. The 5-HT<sub>2A</sub> serotonergic receptor is expressed in the MCF-7 human breast cancer cell line and reveals a mitogenic effect of serotonin / B. Sonier, M. Arseneault, C. Lavigne et al. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2006. – Vol. 343, № 4. – P. 1053-1099.
371. Spalding, K.L. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans / K.L. Spalding, O. Bergmann, K. Alkass et al. // *Cell.* – 2013. – Vol. 153, № 6. – P. 1219-1227.

372. Speranza, L. The Neuromodulator of Long Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control / L. Speranza, U. di Porzio, D. Viggiano et al. // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, N 4. – P. 735-738.
373. Springer, T.A. Integrin inside-out signaling and the immunological synapse / T.A. Springer, M.L. Dustin // *Curr Opin Cell Biol*. – 2012. – Vol. 24, № 1. – P. 107–115.
374. Sugiyama, K. The Japanese herbal medicine «saiko-keishi-to» activates GABA A receptors of rat sensory neurons in culture / K. Sugiyama, T. Muteki, T. Kano // *Neurosci Lett*. – 1996. – Vol. 216, № 3. – P. 147-150.
375. Sumagin, R. LFA-1 and Mac-1 define characteristically different intraluminal crawling and emigration patterns for monocytes and neutrophils in situ / R. Sumagin, H. Prizant, E. Lomakina et al. // *J Immunol*. – 2010. – Vol. 185, № 11. – P. 7057-7066.
376. Sun, F. Interleukin-10 gene polymorphisms influence susceptibility to cachexia in patients with low-third gastric cancer in a Chinese population / F. Sun, Y. Sun, Z. Yu et al. // *Mol Diagn Ther*. – 2010. – Vol. 14, № 2. – P. 95-100.
377. Tadano, T. The effects of traditional tonics on fatigue in mice differ from those of the antidepressant imipramine: a pharmacological and behavioral study / T. Tadano, O. Nakagawassai, F. Nijima et al. // *Am J Chin Med*. – 2000. – Vol. 28, № 1. – P. 97-104.
378. Takada, Y. The integrins / Y. Takada, X. Ye, S. Simon // *Genome Biol*. – 2007. – Vol. 8, № 5. – P. 215-220.
379. Takatsuki, H. Adhesion of gastric carcinoma cells to peritoneum mediated by alpha3beta1 integrin (VLA-3) / H. Takatsuki, S. Komatsu, R. Sano et al. // *Cancer Res*. – 2004. – Vol. 64, № 17. – P. 6065-6070.
380. Tan, R. Expression and significance of Twist, estrogen receptor, and E-cadherin in human breast cancer cells and tissues / R. Tan, L. Wang, J. Song et al. // *J Cancer Res Ther*. – 2017 – Vol. 13, № 4. – P. 707-714
381. Tan, X. Ginseng improves cognitive deficit via the RAGE/NF-κB pathway in advanced glycation end product-induced rats / X. Tan, J.Gu, B. Zhao, S.Wang et al. // *J Gins Res*. – 2015. – Vol. 39, № 2. – P. 116-124.

382. Tanaka, H. ICAM-2 gene therapy for peritoneal dissemination of scirrhous gastric carcinoma / H. Tanaka, M. Yashiro, T. Sunami et al. // *Clin Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10, № 14. – P. 4885-4892.
383. Tanaka, T. Il-6 in inflammation, immunity and disease. / T.Tanaka, M. Narazaki, T. Kishimoto // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2014. – Vol. 6, № 10. - P. a016295.
384. Tao, H. Effect of angiogenesis inhibitor Rg3 on the growth and metastasis of gastric cancer in SCJD mice / H. Tao, M. Yao, S. Zou et al. // *Zhounghua Wai Ke Za Zhi.* – 2002. – Vol. 40, № 8. – P. 606-608.
385. Tarkowská, D. Plant ecdysteroids: plant sterols with intriguing distributions, biological effects and relations to plant hormones / D. Tarkowská, M. Strnad // *Planta.* – 2016 – Vol. 244, № 3. – P.545-555.
386. Teunis, M.A. Reduced tumor growth, experimental metastasis formation, and angiogenesis in rats with a hyperreactive dopaminergic system / M.A. Teunis, A. Kavelaars, E. Voest et al. // *FASEB J.* – 2002. – Vol. 16, № 11. – P. 1465–1517.
387. Teunis, M.A. Reduced splenic natural killer cell activity in rats with a hyporeactive dopaminergic system / M.A. Teunis, C.J. Heijnen, A.R. Cools, A. Kavelaars A // *Psychoneuroendocrinology.* – 2004. – Vol. 29, № 8. – P. 1058-1064.
388. Thase, M.E. Bipolar depression: diagnostic and treatment considerations. / M.E. Thase // *Dev psychopathol.* – 2006 – Vol. 18, № 4. – P. 1213-1230.
389. Tian, L. Ginsenoside Rg3 inhibits epithelial-mesenchymal transition (EMT) and invasion of lung cancer by down-regulating FUT4 / L. Tian, D. Shen, X. Li et al. // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, №2. – P. 1619-32.
390. Tian, Y.Z. Antitumor activity of ginsenoside Rd in gastric cancer via up-regulation of caspase-3 and caspase-9 / Y.Z. Tian, Y.P. Liu, S.C. Tian et al. // *Pharmazie.* – 2020. – Vol. 75, № 4. – P. 147-150.
391. Torres, G.E. Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. / G.E. Torres, R.R. Gainetdinov, M.G. Caron // *Nat Rev Neurosci.* – 2003. – Vol. 4. – P. 13–25.



392. Toth, B. Role of periferal and brain-derived dopamine (DA) in immune regulation / B. Toth B, M. Vecsernyes, T. Zelles // *Adv Neuroimm Biology*. – 2012. – Vol. 3. – P.111-155.
393. Trifunović, J. Pathologic patterns of interleukin 10 expression--a review / J. Trifunović, L. Miller, Ž. Debeljak, V. Horvat // *Biochem Med (Zagreb)*. – 2015. – Vol. 25, №1. – P. 36-48.
394. Tsai, S.C. Stimulation of the secretion of luteinizing hormone by ginsenoside-Rbl in male rats / S.C. Tsai, Y.C. Chiao, C.C. Lu // *Chin J Physiol*. – 2003. – Vol. 46, № 1. – P. 1-7.
395. Tsanou, E. The E-cadherin adhesion molecule and colorectal cancer. A global literature approach / E. Tsanou, D. Peschos, A. Batistatou et al. // *Anticancer Res*. – 2008. – Vol. 28, № 6A. – P. 3815-3826.
396. Tsao, C.W. Effect of dopamine on immune cell proliferation in mice / C.W. Tsao, Y.S. Lin, J.T. Cheng // *Life Sci*. – 1997. – Vol. 61, № 24. – P. 361-371.
397. Umerava, K. Localization of vitronectin- and fibronectin-receptors on cultured human glioma cells / K. Umerava, S. Asakura, Y.M. Jim et al. // *Brain Res*. – 1994. – Vol. 659, № 1-2. – P. 23-32.
398. Van der Horst, P.H. Progesterone inhibits epithelial-to-mesenchymal transition in endometrial cancer / P.H. van der Horst, Y. Wang, I. Vandenput, L.C. Kühne et al. // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 1: e30840.
399. Van Kampen, J.M. Panax ginseng is neuroprotective in a novel progressive model of Parkinson's disease / J.M. Van Kampen, D.B. Baranowski, C.A. Shaw, D.G. Kay // *Exp Gerontology*. – 2014. – Vol. 50, № 1. – P. 95–105.
400. Vucetic, Z. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes / Z. Vucetic, J. Kimmel, K. Totoki et al. // *Endocrinology*. – 2010. – Vol 151, № 10. – P. 4756-4764.
401. Vidal-Vanaclocha, F. IL-18 regulates IL-1beta-dependent hepatic melanoma metastasis via vascular cell adhesion molecule-1 / F. Vidal-Vanaclocha, G. Fantuzzi, L. Mendoza, AM Fuentes et al. // *ProcNatI AcadSci U S A*. – 2000. – Vol. 97, №2. – P. 734-739.

402. Wakabayashi, C. An intestinal bacterial metabolite of ginseng protopanaxadiol saponins has the ability to induce apoptosis in tumor cells / C. Wakabayashi, K. Murakami, H. Hasegawa et al. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2002. – Vol. 246. – P. 725-730.
403. Wakita, D. Tumor-infiltrating IL-17 producing  $\gamma\delta$  T cells support the progression of tumor by promoting angiogenesis / D. Wakita, K. Sumida, Y. Iwakura et al. // *Eur J Immunol.* – 2010 – Vol. 40. – P. 1927-1937.
404. Walling, B.L. LFA-1 in T Cell Migration and Differentiation / B.L. Walling, M. Kim // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 952-960.
405. Wang, C.Z. Red ginseng and cancer treatment / C.S. Wang, S. Anderson, T.C. He, C.S. Yuan // *Chin J Nat Med.* – 2016. – Vol. 14, № 1. – P. 7-16.
406. Wang, C. Ginsenoside 20(S)-Rh2 Induces Apoptosis and Differentiation of Acute Myeloid Leukemia Cells: Role of Orphan Nuclear Receptor Nur77 / C. Wang, H. He, G. Dou et al. // *J Agric Food Chem.* – 2017. – Vol. 65, № 35. – P. 7687-7697.
407. Wang, C.Z. Natoginseng enhances anti-cancer effect of 5-fluorouracil on human colorectal cancer cells / C.Z. Wang, X. Luo, B. Zhang, W.X. Song et al. // *Cancer Chemother Pharmacol.* – 2007. – Vol. 60, № 1. – P. 69-79.
408. Wang, H. Ginseng extract inhibits lipolysis in rat adipocytes in vitro by activating phosphodiesterase 4 / H. Wang, L.A. Reaves, N.K. Edens // *J Nutr* – 2006. – Vol. 136, № 2. – P. 337-342.
409. Wang, J. Experimental study of the effects on proliferation and apoptosis of A549 cell line adenocarcinoma of the lung with compatibility of Radix ex Rhizoma ginseng and Fatces Trogopteroi / J. Wang, Y.L. Ren // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* – 2006. – Vol. 31, № 7. – P. 585-588.
410. Wang, N. Comparative study on saponin fractions from Panax notoginseng inhibiting inflammation-induced endothelial adhesion molecule expression and monocyte adhesion / N. Wang, J.B. Wan, S.W. Chan et al. // *Chin Met.* – 2011. – Vol. 6. – P.37.

411. Watanabe, Y. Dopamine selectively induces migration and homing of naive CD8+ T cell via dopamine receptor D3 / Y. Watanabe, T. Nakayama, D. Nagakubo. // *J Immunol.* – 2006. – Vol. 176. – P. 848-856.
412. Weaver, I.C. Epigenetic programming by maternal behavior / I.C. Weaver, N. Cervoni, F.A. Champagne et al. // *Nat Neurosci.* – 2004. – Vol. 7, № 8. – P. 847–854.
413. Weaver, I.C. Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life / I.C. Weaver, F.A. Champagne, S.E. Brown et al. // *J Neurosci* – 2005. – Vol. 25, № 47. – P. 11045-11054.
414. Weber, G.F. Integrins and cadherins join forces to form adhesive networks / G.F. Weber, M.A. Bjerke, D.W. Desimone // *J Cell Sci.* – 2011. – Vol.124 (Pt 8). – P. 1183-1193.
415. Weisler, R.H. Efficacy of quetiapine monotherapy for the treatment of depressive episodes in bipolar I disorder: a post hoc analysis of combined results from 2 double-blind, randomized, placebo-controlled studies / R.H. Weisler, J.R. Calabrese, M.E. Thase et al. // *J Clin Psychiatry.* – 2008. – Vol. 69, № 5. – P. 769-782.
416. Wick M.M. The chemotherapy of malignant melanoma / M.M. Wick // *J Invest Dermatol.* – 1983. – Vol. 80. – P. 61-62.
417. Wildfeuer, A. The effect of plant preparations on cellular functions in body defense / A. Wildfeuer, D. Mayerhafer // *Arzneimittel-forschung.* – 1994. – Vol. 44, № 3. – P. 361-366.
418. Wise R.A. Forebrain substrates of reward and motivation / R.A. Wise // *J Comp Neurol.* – 2005. – Vol. 493, №1. – P. 115-21.
419. Won, S.J. Suppression of natural killer cell activity in mouse spleen lymphocytes by several dopamine receptor antagonists. / S.J. Won, Y.C. Chuang, W.T. Huang et al. // *Experientia.* – 1995 – Vol. 51, № 4. – P. 343-348.
420. Wong, J.H. Apoptosis and anti-cancer drug discovery: the power of medicinal Fungi and plants / J.H. Wong, S.C. Sze, T.B. Ng et al. // *Curr Med Chem.* – 2018. –

- Vol. 25, № 40. – P. 5613-5630.
421. Wu, R.C. Detection and characterization of a novel subset of CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup> T cells in metastatic melanoma with an incompletely differentiated phenotype / R.C. Wu, S. Liu, J.A. Chacon et al. // *Clin Cancer Res.* – 2012. – Vol. 18, № 9. – P. 2465-2477.
422. Wu, S.D. Ginsenoside-Rd promotes neurite outgrowth of PC12 cells through APK/ERK and PI3K/AKT-dependent pathways / S.D. Wu, F. Xia, X.M. Lin et al. // *Int J Mol Sciences.* – 2016. – Vol. 17, № 2. – P. 177.
423. Xia, T. Ginsenoside Rh2 and Rg3 inhibit cell proliferation and induce apoptosis by increasing mitochondrial reactive oxygen species in human leukemia Jurkat cells / T. Xia, Y.N. Wang, C.X. Zhou, L.M. Wu et al. // *Mol Med Rep.* – 2017 – Vol. 15, № 6. – P.3591- 3598.
424. Xiang, Y.Z. A comparison of the ancient use of ginseng in traditional Chinese medicine with modern pharmacological experiments and clinical trials / Y.Z. Xiang, H.C. Shang, X.M. Gao, B.L. Zhang // *Phytotherapy Research.* – 2008. – Vol. 22, № 7. – P. 851-858.
425. Xie, J.T. Antidiabetic effect of ginsenoside Re in ob/ob mice / J.T. Xie, S.R. Mehendale, X. Li, R. Quigg et al. // *Biochim Biophys Acta.* – 2005. – Vol. 740, № 3. – P. 319-325.
426. Xie, J.T. Antioxidant effects of ginsenoside Re in cardiomyocytes / J.T. Xie, Z.H. Shao, T. Vanden Hack // *Eur J Pharmacol.* – 2006. – Vol. 533, № 3. – P. 201-207.
427. Xie, J.T. American ginseng berry juice intake reduces blood glucose and body weight in ob/ob mice / J.T. Xie, C.Z. Wang, M. Ni et al. // *J Food Sci.* – 2007. – Vol. 72, № 8. – P. 5590-5594.
428. Xing, J.H. Clinical study on effect of ginsenoside in inducing rectal cancer cell apoptosis / J.H. Xing, Y.Q. Chen, M.X. Ji // *Zhongguo Zhong Xi Yi Yie He Za Zhi.* – 2001. – Vol. 21, № 4. – P. 260-261.
429. Xu, L. Two forms of long-term potentiation induced by different compounds / L. Xu, X.Y. Wang, S.L. Liu // *J Asian Nat Prod Res.* – 2007. – Vol. 9, № 3-5. – P. 217-222.

430. Yamazaki, T. (+)-Syringasin-di-O-beta-D-glucoside, a phenolic compound from *Acanthopanax senticosus* Harmus, suppressed proinflammatory mediators in SW982 human synovial sarcoma cells by inhibiting activating protein-1 and/or nuclear factor-kappa B activities / T. Yamazaki, S. Shimosava, H. Sasaki // *Toxicol In Vitro*. – 2007. – Vol. 2, № 8. – P. 1530-1537.
431. Yan, X. Tumor-associated immune factors are associated with recurrence and metastasis in non-small cell lung cancer / X. Yan, SC Jiao, GQ Zhang et al. // *Cancer Gene Ther*. – 2017. – Vol. 24, №2. – P. 57-63.
432. Yan, Z. Induction of apoptosis in human promyelocytic leukemia HL60 cells by panaxynol and panaxydol / Z. Yan, R. Yang, Y. Jiang et al. // *Molecules*. – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 5561-5573.
433. Yang, L. Metabolism and pharmacokinetics of ginsenosides / L. Yang, Y. Liu, C.X. Liu // *Asian J Pharmacodynamics and Pharmacokinetics*. – 2006. – Vol.6, № 2. – P. 103-120.
434. Ye, R. Ginsenoside Rd attenuates redox imbalance and improves stroke outcome after focal cerebral ischemia in aged mice / R. Ye, X. Kong, Q. Yang et al. // *Neuropharmacology*. – 2011. – Vol. 61, № 4. – P. 815–824.
435. Yokozawa, T. Role of ginsenoside-Rd in cisplatin induced renal injury: special reference to DNA fragmentation / T. Yokozawa, E. Dong // *Nephron*. – 2001. – Vol. 89, № 4. – P. 433-438.
436. Yoon, S.H. Antidiabetic effects of compound K versus metformin versus compound K-metformin combination therapy in diabetic db/db mice / S.H. Yoon, E.J. Han, J.H. Sung // *Biol Pharm Bull*. – 2007. – Vol. 30, № 11. – P. 2196-2200.
437. Yoshimuda, A. Signal transduction of inflammatory cytokines and tumor development / A. Yoshimuda // *Cancer Sci*. – 2006. – Vol. 97. – № 6. – P. 439-447
438. Yu, J.L. Protopanaxatriol-type ginsenosides differentially modulate type 1 and type 2 cytokines production from murine splenocytes / JL Yu, DQ Dou, XH Chen et al. // *Planta Med*. – 2005. – Vol.71, № 3. – P. 202-207.

439. Yu, J.Y. Antiplatelet and antithrombotic activities of Korean Red Ginseng / J.Y. Yu, Y.R. Jin, J.J. Lee, J.H. Chung et al. // Arch Pharm Res. – 2006. – Vol. 29, № 10. – P. 898-903.
440. Yu, M. Interleukin-6 cytokine family member oncostain M is a hair-follicle-expressed factor with hair growth inhibitory properties / M. Yu, S. Kissling, P. Freyschmidt-Paul et al. // Exp. Dermatol. – 2008. – Vol. 17, № 1. – P. 12-19.
441. Yue, P.J. Pharmacogenomics and the Yin/Yang actions of ginseng: anti-tumor, angiomodulating and steroid-like activities of ginsenosides / P.J. Yue, N.K. Mak, J.K. Cheng et al. // Chin Med. – 2007. – Vol. 2. – P. 6-10.
442. Yue, P.Y. The angiosuppressive effects of 20 (R)- ginsenoside Rg3 / P.Y. Yue, D.Y. Wong, P.K. Wu et al. // Biochem Pharmacol. – 2006. – Vol. 72, № 4. – P. 437-445.
443. Zeng, X.L. Induction of differentiation by ginsenoside Rh2 in hepatocarcinoma cell SMNIC-7721 / X.L. Zeng, Z.G. Tu // Ai Zheng. – 2004. – Vol. 23, № 8. – P. 879 - 884.
444. Zhang, H.S. Ginsenoside Rg1 inhibits tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)-induced human arterial smooth muscle cells (HASMCs) proliferation / H.S. Zhang, S.Q. Wang // J. Cell Biochem. – 2006. – Vol. 98, № 6. – P. 1471-1481.
445. Zhang, J.T. Nootropic mechanisms of ginsenoside Rg1-influence on neuronal plasticity and neurogenesis / J.T. Zhang // Yao Xue Xue Bao. – 2005. – Vol. 40. - №5. – P. 385-388.
446. Zhang, Q. Antiangiogenic effect of low-dose cyclophosphamide combined with ginsenoside Rg3 on Lewis lung carcinoma / Q. Zhang, X. Kang, W. Zhao // Biochem Biophys Res Commun. – 2006. – Vol. 342, № 3. – P. 824-828.
447. Zhang, X. Ginsenoside Rd promotes glutamate clearance by up-regulating glial glutamate transporter GLT-1 via PI3K/AKT and ERK1/2 pathways / X. Zhang, M. Shi, M. Bjørås, W. Wang et al. // Front Pharmacol. – 2013. – Vol. 4. – P. 152 - 158.
448. Zhang, Y. Ginsenoside-Rd attenuates TRPM7 and ASIC1a but promotes ASIC2a expression in rats after focal cerebral ischemia / Y. Zhang, L. Zhou, X. Zhang et al. // Neuro Sciences. – 2012. – Vol. 33, № 5. – P. 1125–1131.

449. Zheng, S.Y. Protective effect of shen-fu on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats / S.Y. Zheng, J. Sun, X. Zhao // *Am J Chin Med.* – 2004. – Vol. 32, № 2. - P. 209-220.