

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУНОАДГЕЗИВНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МУЛЬТИФИТОАДАПТОГЕНОМ В ПРОФИЛАКТИКЕ СПОНТАННЫХ ГЕПАТОКАРЦИНОМ

Е.В. Бочаров¹, О.А. Бочарова¹, Р.В. Карпова¹, В.Г. Кучеряну², И.В. Казеев¹,
Е.С. Иноземцева¹, Ю.М. Соловьев¹, З.С. Шпрах¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»;
Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, 8

Контакты: Регина Васильевна Карпова planta39@rambler.ru

Цель исследования. Изучение значимости коррекции экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови, а также сывороточного уровня цитокинов интерлейкина-6 (ИЛ-6) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) при профилактическом воздействии мультифитоадаптогена (МФА) в жидкой форме для снижения уровня спонтанных гепатокарцином и увеличения продолжительности жизни высококорковых мышей СВА.

Материалы и методы. Объект исследования — мыши-самцы высококорковой инбредной линии СВА (сублиния СВА/LacY). Опытные животные получали 10 % раствор МФА с питьевой водой в течение 1-го месяца постнатального онтогенеза, включая завершающий период дифференцировки ткани печени (профилактическое воздействие). В работе использовано 439 мышей. МФА — стандартизованный препарат, включает компоненты 40 растительных экстрактов, в том числе адаптогенов женьшеня, элеутерококка, родиолы розовой, а также соединения фенольной природы (флавоноиды, тритерпеновые гликозиды и др). Обладает антимутагенными, антиоксидантными, иммуномодулирующими свойствами. В возрасте 4, 8, 22 мес определяли экспрессию CD11a и CD11b антигенов на клетках периферической крови в реакции непрямой иммунофлуоресценции, сывороточный уровень цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 иммуноферментным методом, анализировали морфологию ткани печени мышей СВА. Частоту возникновения и объем опухолей определяли в возрасте 8 и 22 мес. В позднем онтогенезе оценивали двигательную активность, соматический статус животных (массу тела, состояние шерстного покрова). Среднюю продолжительность жизни животных и медиану выживаемости определяли методом Каплана—Майера. Статистический анализ результатов проводили с использованием программы STATISTICA 6.0.

Результаты. При спонтанном гепатоканцерогенезе у мышей было выявлено снижение экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови параллельно с возрастанием сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10, высокой частотой возникновения опухолей (100 %), увеличением их количества и размеров, а также средней продолжительностью жизни, не достигающей 2 лет. Выраженной инфильтрации лейкоцитами опухолей при этом не наблюдали. Профилактическое воздействие МФА в жидкой форме в течение 1-го месяца постнатального онтогенеза, захватывая завершающий период дифференцировки ткани, предрасположенной к возникновению опухолей, приводит к долговременному усилению экспрессии молекул гетеротипической адгезии лейкоцитарных интегринов LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18), обеспечивающих контактные взаимодействия иммунных эффекторов и клеток-мишеней. Последнее может способствовать повышению активности противоопухолевых реакций иммунитета при наблюдаемой нами инфильтрации спонтанных гепатокарцином лимфоцитами, а также деструкции опухолевой ткани. В результате получено снижение частоты возникновения, количества и размеров наследственных опухолей, а также повышение выживаемости и качества жизни животных.

Заключение. Усиление экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках крови, снижение сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10, сопровождающееся признаками лимфоцитарной инфильтрации и деструкции опухолевых узлов, при профилактическом воздействии МФА может иметь значение для подавления возникновения опухолей, повышения продолжительности и качества жизни высококорковых животных.

Ключевые слова: профилактика рака, гепатокарциномы, лейкоцитарные интегрины, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты, фитоадаптогены

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-78-87

IMMUNOADHESIVE REGULATION USING MULTIPHYTOADAPTOGENE FOR SPONTANEOUS HEPATOCARCINOMAS PREVENTION

E. V. Bocharov¹, O. A. Bocharova¹, R. V. Karpova¹, V. G. Kucheryanu², I. V. Kazeev¹, E. S. Inozemceva¹, Y. N. Soloviev¹, Z. S. Shprakh¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Institute of General Pathology and Patophysiology; 8 Baltiyskaya St., 125315 Moscow, Russia

The purpose of this investigation was to evaluate the efficacy of correcting the LFA-1 and Mac-1 leukocyte integrins expression on peripheral blood cells as well as IL-6 and IL-10 serum levels using liquid form multiphytoadaptogene preventive application for hepatocarcinomas incidence suppression and life-span increase of CBA inbred mice.

Materials and methods. The study was carried out on 439 males of inbred CBA mouse strain (subline CBA/LacY). The experimental mice received 10 % liquid form multiphytoadaptogene complex (MPAC) solution in drinking water during the first month of life including the final time period of liver differentiation (preventive administration). MPAC is the standardized herbal formula composed of 40 plant extracts components including adaptogenes *Panax ginseng*, *Eleutherococcus senticosus*, *Rhodiola rosea*, as well as compounds with phenolic structure (flavonoids, triterpene glycosides, etc). Anti-mutagenic, anti-oxidant, immunomodifying activities of MPAC were demonstrated. The CD11a and CD11b antigens expressions on peripheral blood cells were analyzed by indirect immunofluorescence reaction, serum cytokines IL-6 and IL-10 concentrations were determined by enzyme-linked immunosorbent assay as well as the liver tissue morphology were analyzed at the age of 4, 8, 22 months. Tumor incidence and volumes were evaluated at the age of 8 and 22 months. Motor activity and physical status (body weight, coat state) were estimated in the ontogenesis. The average life-span and survival median was analyzed by the Kaplan–Meier method. Statistical analysis was performed with the program STATISTICA 6.0.

Results. Inhibited expression of LFA-1 and Mac-1 leukocyte integrins on peripheral blood cells as well as elevated IL-6 and IL-10 serum levels, high incidence of liver tumors (100 % of mice-males), their high number and big sizes in the late period of postnatal ontogenesis in CBA high-cancer inbred mice, also as life-span not reaching two years was demonstrated. At the same time plural tumor-infiltrating lymphocytes were not found. Short-term MPAC preventive administration (during the first month of mouse life occupying the final differentiation period of liver tissue genetically predisposed to hepatomas incidence) revealed the long-term heterotypic adhesion molecules leukocyte integrins LFA-1 (CD11a/CD18) and Mac-1 (CD11b/CD18) up-regulated expression, providing the contact interactions of immune effectors and cancer cells. The events shown is able to enhance the anti-tumor activity of immune reactions including spontaneous hepatocarcinomas lymphocytes infiltration and destruction of tumor tissue. As a result, the hereditary tumors incidence, their number and sizes were reduced as well as life-span and life quality of animals were improved.

Conclusion. Up-regulated leukocyte integrins expression on peripheral blood cells, reduced IL-6 and IL-10 serum levels accompanied by tumors lymphocyte infiltration and destruction using MPAC preventive administration is essential for tumor incidence down-regulation. The herbal formula with multiple components is capable to control anti-tumor immune reactions, as well as the life-span and life quality of high-cancer animals. Hence, the regulation of adhesion violations involved in tumor incidence can be cancer preventive.

Key words: cancer prevention, hepatocarcinomas, leukocyte integrins, tumor-infiltrating lymphocytes, phytoadaptogene

Введение

На современном этапе развития медико-биологической науки все большее значение приобретает разработка подходов профилактики на различных этапах развития опухолей: канцерогенеза, метастазирования, рецидивирования. Активно исследуются нетоксичные природные средства, обладающие комплексным характером действия, в частности фитоадаптогены.

Известно, что растения, относящиеся к этому классу (женьшень, элеутерококк, аралия, родиола розовая и др.), имеют широкий спектр защитного влияния на организм, что важно для первичной профилактики рака, являются антимутагенами, усиливая корректорную активность ДНК-полимеразы [1, 2], обладают антиоксидантными свойствами, снижая образование токсичных продуктов перекисного окисления липидов [3, 4], являются выраженными иммуномодуляторами [5, 6].

Профилактическое воздействие фитоадаптогенов в отношении опухолеобразования может быть направлено на регуляцию адгезионных межклеточных взаимодействий, нарушение которых признается ключевым механизмом опухолевого процесса [7, 8].

Ранее было установлено, что устойчивость эпителиальных тканей к наследственному опухолеобразованию обеспечивается усилением межклеточной интеграции соответствующей ткани на заключительном этапе ее дифференцировки в раннем постна-

тальном онтогенезе. В эпителиальных тканях, predisposed к опухолям, усиления взаимной адгезивности клеток в критический период не происходит [9].

Значение этого явления для частоты спонтанного опухолеобразования было показано на высококачественных линиях мышей с помощью как эндогенного тканеспецифического адгезионного фактора – контактина, так и неспецифического – экстракта родиолы розовой. При введении животным указанных агентов в раннем постнатальном развитии с захватом этапа завершения дифференцировки соответствующей ткани взаимная адгезивность клеток ткани-мишени долговременно повышалась, частота спонтанных опухолей существенно снижалась [9–11]. При этом отмечено усиление функциональной активности Т-лимфоцитов. Вместе с тем применение экстракта родиолы розовой позже, на этапе созревания тимуса (с 2 до 3 мес) или в начальный период образования спонтанных гепатокарцином (с 7 до 8 мес), у мышей-самцов линии СВА не оказывало долговременного повышения указанных показателей. Частота наследственного опухолеобразования не отличалась от контрольных значений, а размеры опухолей у высокогепатомных мышей в возрасте 12–13 мес при этом сократились, т. е. скорость их роста замедлилась [11].

С точки зрения сочетанных воздействий практическое применение в профилактической онкологии могут найти не монопрепараты, а фитокомплексы на их основе, что позволяет решить проблему преодоления индивидуальной резистентности к отдельным адаптогенам [12].

Мультифитоадаптоген (МФА) представляет собой композицию на основе компонентов экстрактов 40 растений, в том числе фитоадаптогенов, таких как женьшень, элеутерококк, родиола розовая и др. Современными физико-химическими методами в МФА определены биологически активные вещества: три-терпеновые сапонины (гинзенозиды, аралозиды, элеутерозиды, салидрозид, глицирризиновая кислота), флавоноиды (гиперозид, рутин, нарингенин, кверцетин, лютеолин, апигенин), эфирные соединения, аминокислоты, витамины [13, 14].

Ранее в эксперименте *in vitro* был показан анти-мутагенный эффект МФА — уменьшение уровня спонтанных и индуцированных мутаций в клетках дрожжей *S. cerevisiae* [15]. Вместе с тем выявлено снижение частоты хромосомных обменов в лимфоцитах крови пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы в результате применения МФА [16]. Определены антиоксидантные, антистрессорные, гормонотормозяющие, противоопухолевые и иммуномодулирующие, в том числе адгезиогенные и интерферогенные, свойства МФА [17–20].

Следует отметить, что профилактические в отношении опухолей эффекты препаратов корректно выявлять либо при лечебном воздействии на предраковое заболевание, либо учитывая превентивное действие на спонтанное опухолеобразование у линейных животных. В предыдущих исследованиях уже был выявлен лечебный эффект МФА в отношении предракового заболевания — лейкоплакии слизистой оболочки полости рта [17].

Для изучения спонтанного гепатоканцерогенеза наиболее широко применяется инбредная линия мышей СВА. У самцов этой линии гепатокарциномы начинают возникать с 6-месячного возраста, а в возрасте 18–22 мес определяются в 100 % случаев [21, 22].

Целью данного исследования стало изучение значимости коррекции экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови, а также сывороточного уровня цитокинов интерлейкина-6 (ИЛ-6) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) при профилактическом воздействии МФА для снижения уровня спонтанных гепатокарцином и увеличения продолжительности жизни высококорковых мышей СВА.

Материалы и методы

В исследование были включены опытная группа ($n = 151$) и 2 контрольные группы (I группа — 198, II группа — 90) мышей-самцов высококорковой линии

СВА (сублиния СВА/LacY). Источник получения мышей: экспериментально-биологическая лаборатория ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе. МФА получали самки начиная с последних сроков беременности до отъема детенышей в возрасте 3 нед. Затем 1 нед детеныши-самцы пили воду с препаратом самостоятельно. Таким образом, опытные животные получали 10 % раствор МФА с питьевой водой в течение 1-го месяца постнатального развития, включая период завершения дифференцировки нормальной ткани печени (7–15-й день постнатального онтогенеза). Мыши I контрольной группы получали в качестве питья воду. Поскольку препарат является водно-спиртовым экстрактом, мыши II контрольной группы получали 3 % раствор этанола в воде (что соответствует концентрации этанола в получаемом животными препарате). Результаты определения изучаемых параметров в обеих контрольных группах не имели достоверных различий, поэтому мыши этих групп были объединены в 1 контрольную группу ($n = 288$). Всего в исследовании использовали 439 мышей.

Мышей (по 10–22 из каждой группы) выводили из эксперимента в возрасте 4, 8, 22 мес. Определяли экспрессию лейкоцитарных интегринов LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18) на клетках крови животных (иммунофлуоресцентным методом), сывороточный уровень цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 (иммуноферментным методом), массу тела животных. В среднем (8 мес) и позднем (22 мес) онтогенезе оценивали частоту опухолеобразования и размеры гепатокарцином. Вместе с тем в позднем онтогенезе оценивали двигательную (поведенческую) активность животных, а также число мышей с признаками алопеции. Двигательную активность определяли, используя тест «открытого поля» в автоматическом режиме с помощью системы Opto-Varimex-3. Печень контрольных и опытных животных, помимо макроскопического исследования, подвергали гистологической обработке по стандартной методике и окрашиванию гематоксилином-эозином. Макроскопической ревизии подвергали и другие органы животных. Объем опухолей (мм^3) вычисляли стандартным методом. Среднюю продолжительность жизни (СПЖ) и медиану выживаемости определяли по методу Каплана–Мейера с оценкой достоверности различий между группами по критерию F-Кокса.

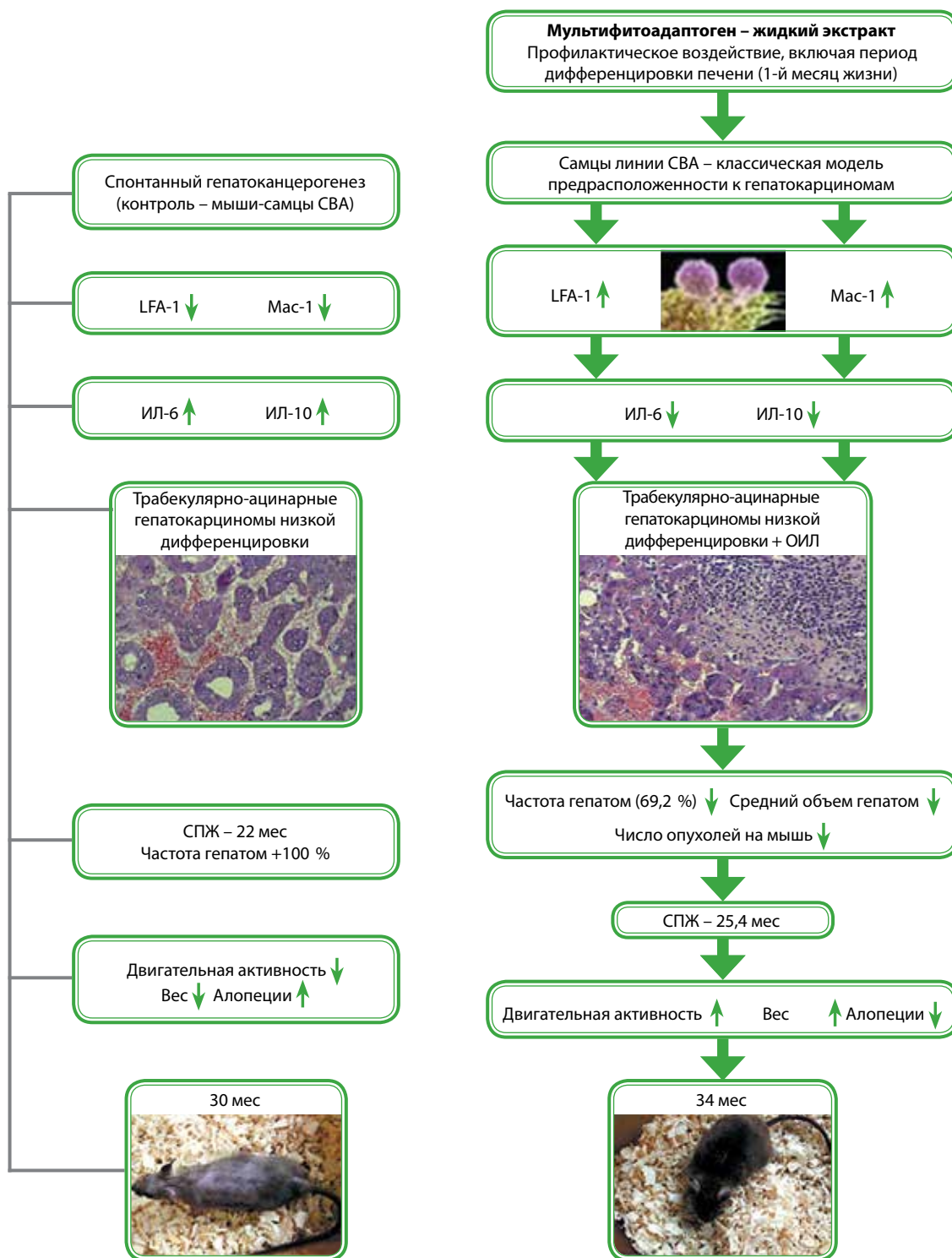
Статистический анализ результатов проводили с использованием программы STATISTICA 6.0, применяя дисперсионный анализ ONE-WAY ANOVA с последующей оценкой достоверности различий по критерию Ньюмена–Кейлса.

Результаты

В данной статье обобщены иммунобиологические подходы профилактики спонтанного опухолеобразования у мышей высокораковой линии СВА

на примере нетоксичного воздействия МФА в раннем постнатальном онтогенезе (см. рисунок).

В результате исследования было показано, что у 10 % мышей-самцов СВА в возрасте 8 мес возникли



Коррекция иммунобиологических реакций мультифитоадаптогеном при спонтанном гепатоканцерогенезе. ИЛ-6 – интерлейкин-6; ИЛ-10 – интерлейкин-10; СПЖ – средняя продолжительность жизни; ОИЛ – опухоль-инфильтрирующие лимфоциты.

опухоли, по морфологическому строению представляющие собой трабекулярные гепатокарциномы умеренной дифференцировки. Начиная с этого периода опухолевая прогрессия сопровождалась снижением экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18), обеспечивающих контактные взаимодействия иммунных эффекторов и опухолевых клеток. Вместе с тем в сыворотке крови животных определен повышенный уровень цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10. В позднем онтогенезе (22 мес) низкодифференцированные трабекулярно-ацинарные гепатокарциномы были выявлены у всех животных, т. е. в 100 % случаев. При этом инфильтрации лейкоцитами опухолей печени не выявлено [23–25].

В процессе опухолеобразования у животных отмечалась потеря массы тела, т. е. в той или иной степени были выражены кахектические явления, которые сопровождались нарушением шерстного покрова в виде алопечий [26]. Кахексия животных, вероятно, связана как с возрастными изменениями, так и с наличием опухолевого процесса. Вместе с тем в патогенезе кахексии может участвовать и повышенный сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-10, способствуя увеличению С-реактивного белка и расщеплению мышечных белков [27, 28].

На фоне спонтанного гепатоканцерогенеза у животных также происходило снижение двигательной (поведенческой) активности. СПЖ мышей СВА в данном случае не достигла 2-летнего возраста (21,7 мес, или 672 дня), медиана выживаемости составила 20,7 мес (или 631 день) [26].

Кратковременное профилактическое воздействие МФА в течение 1-го месяца постнатального онтогенеза обеспечило длительный по времени эффект повышения экспрессии молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках крови мышей опытной группы, а также снижение сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10 по сравнению с контрольными животными [23]. В возрасте 8 мес макро- и микроскопически гепатомы не были определены ни у одного из исследованных животных. В позднем онтогенезе (22 мес) опухоли были выявлены у 69,2 % мышей, т. е. частота наследственного опухолеобразования снизилась на 31 % по сравнению с контролем. При этом отмечено уменьшение числа опухолей и объема опухолевой массы на 1 животное [24]. Выявлена инфильтрация активированными лимфоцитами трабекулярно-ацинарных гепатокарцином. В опухолевой ткани также выражены деструктивные признаки [25]. Соматическое состояние старых мышей СВА при профилактическом воздействии МФА было удовлетворительным — без признаков похудения и алопечий. Двигательная активность опытных мышей была выше, чем в контрольной группе [26].

В итоге СПЖ высокоракковых мышей под воздействием МФА увеличилась на 17,1 % (до 25,4 мес, или 775 дней). Медиана выживаемости увеличилась на 25,6 % (до 26 мес, или 793 дней). Вместе с тем ни одно животное контрольной группы не пережило 1000 дней (около 33 мес), в то время как при воздействии МФА указанный срок пережили 2 мыши. Самый высокий показатель выживаемости в данном случае составил 1038 дней (34 мес и 4 дня), что соответствует примерно 98 человеческим годам по сравнению с 60 годами при экстраполяции на человека возраста контрольных мышей. Эти результаты, вероятно, имеют значение, если принять во внимание тот факт, что при этом определен противоопухолевый эффект.

Учитывая результаты настоящего исследования, можно полагать, что у высокоракковых мышей при спонтанном гепатоканцерогенезе на иммунных эффекторах, в том числе на Т-лимфоцитах, НК-клетках и других снижена экспрессия лигандов из семейства интегринов для соответствующих гистонеспецифических молекул гомотипической адгезии (ICAM 1–2), которые находятся в дефиците на опухолевых клетках [29]. Последнее, вероятно, является следствием недостатка гистоспецифических факторов адгезии, связанного с нарушением регуляции процессов деления и дифференцировки ткани-мишени [30].

В результате в том числе нарушается рецепторный ансамбль, отвечающий за взаимодействие с опухолевыми клетками-мишенями. Вместе с тем особенности ингибирования цитолитических потенций иммунных эффекторов связаны с изменением уровня ряда цитокинов [31, 32]. Действительно, выявленному в позднем онтогенезе мышей СВА снижению экспрессии молекул LFA-1 и Mac-1 сопутствует повышение, в частности, сывороточного содержания ИЛ-6 и ИЛ-10. Вероятно, возросшее содержание ИЛ-6 усиливает образование антител, экранирующих антигены опухолевых клеток [33]. Наряду с этим повышение уровня ИЛ-10 может активировать еще больший рост содержания ИЛ-6, подавлять экспрессию молекул адгезии ICAM-1 на клетках ткани-мишени, синтез цитотоксических реактивных интермедиатов кислорода и азота, а также продукцию гамма-интерферона, интерлейкина-2, интерлейкина-12 и факторов некроза опухоли, в том числе Т-лимфоцитами, дендритными клетками, НК-клетками и др. [34]. Все эти события способствуют блокированию иммунореактивности в отношении опухоли. В результате можно объяснить в том числе наличие множественных низкодифференцированных трабекулярно-ацинарных гепатокарцином у этих мышей.

Воздействие МФА, вероятно, устраняет дефицит гистоспецифических факторов адгезии, восстанавливает регуляцию пролиферативных процессов, что

может приводить к снижению частоты возникновения спонтанных гепатом на 31 %. Вместе с тем нормализация гистоспецифических факторов адгезии может способствовать коррекции экспрессии 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 сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10 способствует подавлению усиленного образования антител, которые могут экранировать антигены опухолевых клеток, тем самым уменьшая защиту последних от разрушения иммунными эффекторами, в частности при спонтанном гепатоканцерогенезе. Воздействие МФА в данном исследовании снимало блокирование иммунологического надзора в отношении опухолей [35]. В результате было выявлено достоверное снижение числа опухолей ($1,0 \pm 0,3$) и объема опухолевой массы на мышь ($268 \pm 82 \text{ мм}^3$) по сравнению с контролем ($2,7 \pm 3$, $p \leq 0,001$ и $1044 \pm 193 \text{ мм}^3$, $p \leq 0,05$ соответственно) [24].

Вместе с тем снижение сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10, определенное параллельно с более высокой массой опытных животных в позднем онтогенезе, может негативно регулировать патогенез кахексии животных, снижая сывороточный уровень С-реактивного белка и предупреждая при этом расщепление мышечных белков [27, 28].

Также уменьшение содержания ИЛ-6 сочетается с полноценным шерстным покровом животных опытной группы в результате стимуляции функциональной активности волосяных фолликулов при подавлении воспалительного процесса в кожном покрове [36].

Усиление экспрессии лейкоцитарных интегринов (в том числе LFA-1 и Mac-1) способствует миграции, накоплению лимфоцитов в патологическом очаге и обеспечивает контактное взаимодействие эффекторов иммунитета с клетками-мишенями. При этом в клетки опухоли активно проникают факторы разрушения, в том числе протеиназы, лимфотоксины и реактивные интермедиаты кислорода, азота, водорода. Также возможен несекреторный лизис опухолевых клеток при активации на них FasAPO1 или CD95-антигена (члена семейства факторов некроза опухоли) — рецептора, запускающего механизм апоптоза клетки. В этом процессе участвуют каспазы (цистеин/аспартат протеиназы), которые расщепляют клеточные белки, что в конечном итоге приводит к фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты и гибели клетки. Все эти процессы могут иметь значение при восстановлении иммунореактивности в отношении опухолевых клеток при новообразованиях [37, 38].

Очевидно, иммуноадгезионные реакции имеют значение для подавления возникновения и прогрес-

сии спонтанных гепатокарцином, а также, соответственно, повышения выживаемости и улучшения соматического состояния животных.

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 [39].

Вместе с тем нашей работе ближе результаты, полученные при введении скрещенным инбредным мышам (C57Bl/6 × BALB/c) антибиотика рапамицина. Рапамицин, вводимый в пищу мышам 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. Известно, что рапамицин и низкокалорийная диета подавляют TOR-сигнальный путь, в том числе рапамицикиназу, 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 [40, 41]. Поэтому проводить испытания с рапамицином в качестве предполагаемого геропротектора на человеческом контингенте не представляется возможным.

Мы продемонстрировали, что МФА, который является нетоксичным препаратом широкого спектра действия, применяемый в раннем онтогенезе, увеличивал выживаемость мышей, повышал вес животных и оказывал иммуномодулирующее действие, не обладая побочными эффектами. Это отличает наши результаты от таковых с рапамицином и низкокалорийной диетой.

Вместе с тем коррекция клинической симптоматики и иммунобиологических показателей при спонтанном гепатоканцерогенезе линейных мышей-самцов линии СВА в значительной степени связана с разносторонним характером действия МФА, а именно с его антимуtagenной, антистрессорной, антиоксидантной, гормонотомулирующей, противоопухолевой и иммуномодулирующей, в том числе адгезиогенной и интерферонотомогенной, активностью, выявленной ранее [11, 17–19, 42, 43].

Можно полагать, что профилактический эффект МФА в отношении опухолей может быть связан

с тем, что в состав препарата входят соединения фенольной природы, в том числе флавоноиды, фенологликозиды, тритерпеновые гликозиды (гинзенозиды, аралозиды, элеутерозиды, салидрозид, гиперозид, нарингенин, кверцетин, розавин, рутин, розиридин, родионин, схизандрин, схизантерин, стипулеанозид, лютеолин, апигенин, арбутин, урсоловая кислота, олеаноловая кислота, глицирризиновая кислота и др.) [13, 14]. С учетом того, что в качестве узкобороздочных лигандов последние могут оказывать прямое или опосредованное действие на процессы репарации ДНК, проявляя антиканцерогенные эффекты, данные соединения могут быть эффективными в составе препаратов для профилактики рака [44, 45].

Тем не менее следует принять во внимание, что многие из этих соединений, в том числе тритерпеновые гликозиды (гинзенозиды, элеутерозиды, глицирризиновая кислота и др.) способны атаковать мультирецепторные системы плазматических мембран, так же как и активировать внутриклеточные стероидные рецепторы. Это обусловлено структурной и функциональной связью этих соединений со стероидами. Например, многие из них принадлежат к семейству стероидных сапонинов [46, 47]. Последние благодаря своей структуре имеют множество физиологических активностей. Например, стероидный скелет обеспечивает способность молекулы встраиваться в плазматические мембраны. Также стероиды могут связывать ядерные рецепторы, действуя непосредственно на транскрипцию мРНК и, соответственно, на синтез белка [48], являются индукторами дифференцировки, корректорами гомо- и гетеротипических адгезионных взаимодействий, сочетая противоопухолевые эффекты с усилением резистентности здоровых тканей к повреждению [49–51], обладают антипролиферативной активностью и повышенной индукцией апоптоза в отношении клеток опухоли [52].

Следовательно, разносторонний характер действия МФА, обеспечивая сочетанное влияние на патогенетические механизмы и коррекцию разных звеньев патологической системы при возникновении опухолей и процессах старения, вероятно, позволяет потенцировать профилактический эффект, что может соответствовать принципу комплексных патогенетических воздействий.

Таким образом, при спонтанном гепатоканцерогенезе у мышей было выявлено снижение экспрессии лейкоцитарных интегринов параллельно с возрастанием сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10, высокой частотой возникновения опухолей (100 %), увеличением их количества и размеров, а также СПЖ, не достигающей 2-летнего возраста. Выраженной инфильтрации лейкоцитами опухолей при этом не наблюдали.

Кратковременное введение МФА с адгезиогенным действием, захватывая завершающий период дифференцировки ткани печени, предрасположенной к возникновению гепатокарцином, приводит к долговременному усилению экспрессии молекул гетеротипической адгезии лейкоцитарных интегринов LFA (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18), обеспечивающих контактные взаимодействия иммунных эффекторов и клеток-мишеней. Последнее может способствовать повышению активности противоопухолевых реакций иммунитета при инфильтрации спонтанных гепатокарцином активированными лимфоцитами и деструкции опухолевой ткани. В результате получено снижение частоты возникновения, количества и размеров наследственных опухолей, а также повышение выживаемости и качества жизни животных.

Изменение экспрессии молекул лейкоцитарных интегринов LFA и Mac-1 на поверхности иммунных эффекторов может обеспечиваться коррекцией их контррецепторов – гистонеспецифических молекул адгезии на опухолевых клетках (ICAM), регуляцию которых, в свою очередь, могут осуществлять гистоспецифические факторы клеточных контактов, способствующие нормализации гомотипической межклеточной адгезии и устранению нарушений пролиферации и дифференцировки ткани печени. Таким образом, может происходить восстановление регуляции гетеротипических адгезионных взаимодействий с помощью молекул из семейства ICAM с их лигандами – лейкоцитарными интегринными, обуславливающими прикрепление иммунных эффекторов к клеткам опухоли, способствуя элиминации последних.

Выводы

Воздействие МФА в раннем онтогенезе, включая завершающий период дифференцировки нормальной ткани печени, снижало уровень спонтанных гепатокарцином на 31 %, увеличивало продолжительность жизни мышей-самцов высокоракетной линии СВА на 17,1 % и медиану выживаемости на 25,6 % по сравнению с контрольными животными.

Лучшую выживаемость мышей-самцов линии СВА, получавших МФА профилактически, сопровождала удовлетворительная двигательная активность без признаков похудения и алопеций.

Коррекция экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на эффекторах иммунитета и сывороточного уровня цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 при профилактическом воздействии нетоксичного МФА может иметь значение для повышения цитолитических потенциалов иммунной системы в отношении опухолей.

Инфильтрация спонтанных гепатокарцином лимфоцитами может способствовать усилению

противоопухолевых реакций иммунитета, а также повышению продолжительности и качества жизни животных.

Учитывая профилактическое действие МФА в жидкой форме при развитии спонтанных гепатокарцином у высокоракковых мышей СВА, его лечебный эффект при лейкоплакии слизистой оболочки полости рта у людей, антимутагенные и антиокси-

дантные свойства, можно полагать, что дальнейшие исследования препарата, содержащего соединения фенольной природы (флавоноиды, тритерпеновые гликозиды и др.), могут быть перспективными при создании нетоксичных лекарств-геропротекторов для эффективной профилактики и лечения новообразований, возрастных патологий, а также для увеличения продолжительности жизни человека.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Hassan A.M., Abdel-Aziem S.H., El-Nekeety A.A., Abdel-Wahhab M.A. Panax ginseng extract modulates oxidative stress, DNA fragmentation and up-regulate gene expression in rats sub chronically treated with aflatoxin B1 and fumonisin B1. *Cytotechnology* 2015;67(5):861–71. DOI: 10.1007/s10616-014-9726-z. PMID: 24748134.
- Panwar M., Kumar M., Samarth R., Kumar A. Evaluation of chemopreventive action and antimutagenic effect of the standardized Panax ginseng extract, EFLA400, in Swiss albino mice. *Phytother Res* 2005;19(1):65–71. DOI: 10.1002/ptr.1584. PMID: 15799001.
- Xie J.T., Shao Z.H., Vanden Hoek T.L. et al. Antioxidant effects of ginsenoside Re in cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol* 2006;532(3):201–7. PMID: 16497296.
- Kim N.D., Pokharel Y.R., Kang K.W. Ginsenoside Rd enhances glutathione levels in H4IIE cells via NF-kappaB-dependent gamma-glutamylcysteine ligase induction. *Pharmazie* 2007;62(12):933–6. PMID: 18214346.
- Гольдберг Е.Д., Разина Т.Г., Зуева Е.П. и др. Растения в комплексной терапии опухолей. М.: Изд-во РАМН, 2008. 432 с. [Goldberg E.D., Razina T.G., Zueva E.P. et al. Plants in complex therapy of tumors. M.: Izdatel'stvo RAMN = RAMS publishing house, 2008. 432 p. (In Russ.)].
- Jin Y., Kotakadi V.S., Ying L. et al. American ginseng suppresses inflammation and DNA damage associated with mouse colitis. *Carcinogenesis* 2008;29(12):2351–9. DOI: 10.1093/carcin/bgn211. PMID: 18802031.
- Бочарова О.А. Адгезионная концепция в биологии злокачественного роста. Патологическая физиология и экспериментальная терапия 2014;2:87–90. [Bocharova O.A. Adhesive concept in biology of malignant growth. *Patologicheskaya fiziologiya* i ehksperimentalnaya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy 2014;2:87–90 (In Russ.)].
- Allen S., Moran N. Cell Adhesion Molecules: Therapeutic Targets for Inhibition of Inflammatory States. *Semin Thromb Hemost* 2015;41(6):563–71. DOI: 10.1055/s-0035-1556588. PMID: 26322694.
- Бочарова О.А., Модянова Е.А. Изменение межклеточных контактов гепатоцитов в онтогенезе у мышей инбредных линий с высокой и низкой частотой спонтанных гепатом. Онтогенез 1982;13(4):427–29. [Bocharova O.A., Modyanova E.A. Hepatocyte cell-cell contacts alterations during ontogenesis of inbred strains of mice with high and low frequency of spontaneous hepatomas. *Ontogenesis* 1982;13(4):427–29 (In Russ.)].
- Модянова Е.А., Бочарова О.А., Маленков А.Г. Профилактическое действие контактинов-кейлонов на спонтанный канцерогенез у линий мышей. Экспериментальная онкология 1983;5(3):39–42. [Modyanova E.A., Bocharova O.A., Malenkov A.G. The kontaktins-chalones preventive action on spontaneous carcinogenesis in mice inbred strains. *Ehksperimentalnaya onkologiya* = Experimental oncology 1983;5(3):39–42 (In Russ.)].
- Бочарова О.А., Серебрякова Р.В., Бодрова Н.Б. Профилактический эффект *Rhodiola rosea* на спонтанное опухолеобразование в печени на модели высокоракковой линии мышей. Вестник РАМН 1994;5:41–3. [Bocharova O.A., Serebryakova R.V., Bodrova N.B. *Rhodiola rosea* preventive effect on spontaneous tumorigenesis in the liver in high-cancer inbred mice. *Vestnik RAMN* = Bulletin of RAMS 1994;5:41–3 (In Russ.)].
- Zhang H.M., Chen S.W., Xie C.G. Effects and mechanism of ShenQi compound recipe on inflammation marker in GK rats. *Zhong Yao Cai* 2006;29(3):249–53. PMID: 16850723.
- Шейченко О.П., Бочарова О.А., Крапивкин Б.А. и др. Исследование комплексного фитоадаптогена методом ВЭЖХ. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2012;10:52–9. [Sheichenko O.P., Bocharova O.A., Krapivkin B.A. et al. Study of complex phytoadaptogen by HPLC method. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmstsevticheskoy khimii* = Connected Questions of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry 2012;10:52–9 (In Russ.)].
- Карпова Р.В., Шевченко В.Е., Бочаров Е.В. и др. Возможности использования высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией для количественного и качественного определения биологически активных веществ женьшеня в фитоэкстрактах. Российский биотерапевтический журнал 2016;15(2):36–46. DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-2-00-00. [Karpova R.V., Shevchenko V.E., Bocharov E.V. et al. Possibility of using high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry for qualitative and quantitative determination of biologically active substances in the ginseng phytoextracts. *Rossysky bioterapevtichesky zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2016;15(2):36–46. (In Russ.)].
- Куренная О.Н., Карпова Р.В., Бочарова О.А. и др. Антимутагенез мультифитоадаптогена в клетках дрожжей-сахаромицетов. Генетика 2013;49(12):1364–69. [Kurenay O.N., Karpova R.V., Bocharova O.P. et al. Multiphytoadaptogen antimutagenesis in yeast cells of *Saccharomyces*. *Genetika* = Russian Journal of Genetics 2013;49(12):1364–69. (In Russ.)].
- Бочков Н.П., Бочарова О.А., Аксенов А.А. и др. Частота хромосом-

- ных aberrаций в лимфоцитах пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы. Медицинская генетика 2005;4(1):15–9. [Bochkov N.P., Bocharova O.A., Aksyonov A.A. et al. The frequency of chromosomal aberrations in lymphocytes of patients with benign prostatic hyperplasia. *Meditinskaya genetika* = *Medical Genetics* 2005;4(1):15–9 (In Russ.)].
17. Пожарицкая М.М., Бочарова О.А., Чекалина Т.Л., Воронин В.Ф. Современные аспекты патогенеза и лечения лейкоплакии слизистой оболочки полости рта. Методическое пособие для врачей. М.: ГОУ ВУНМЦ, 2004. 46 с. [Pozharitskaya M.M., Bocharova O.A., Chekalina T.L., Voronin V.F. Modern aspects of pathogenesis and treatment of the oral mucosa leukoplakia. *Methodological manual for doctors*. M.: GOU VUNMTs, 2004. 46 p. (In Russ.)].
 18. Бочарова О.А., Матвеев В.Б., Карпова Р.В. и др. Коррекция клинических и иммунобиологических показателей у мужчин с доброкачественной гиперплазией предстательной железы фитоадаптогеном. БЭБиМ 2006;141(5):555–59. [Bocharova O.A., Matveev V.B., Karpova R.V. et al. Correction of immunological and clinical parameters in men with benign prostatic hyperplasia by phytoadaptogen. *BEhBiM* = *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2006;141(5):555–59 (In Russ.)].
 19. Чулкова С.В., Бочарова О.А., Клименков А.А. и др. Возможности повышения эффективности комплексного лечения распространенного рака желудка фитоадаптогеном. Российский биотерапевтический журнал 2006;5(2):85–92. [Chulkova S.V., Bocharova O.A., Klimenkov A.A. et al. Possibilities of increasing the effectiveness of integrated treatment of advanced gastric cancer by phytoadaptogen. *Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal* = *Russian Journal of Biotherapy* 2006;5(2):85–92 (In Russ.)].
 20. Хаиндрава В.Г., Козина Е.А., Кудрин В.С. и др. Экспериментальное моделирование клинической и преклинической стадий болезни Паркинсона. БЭБиМ 2010;150(11):495–98. [Khaindrava V.G., Kozina E.A., Kudrin V.S. et al. Experimental modeling of clinical and preclinical stages of Parkinson's disease. *BEhBiM* = *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2010;150(11):495–98. (In Russ.)].
 21. Sharp J., Riches A., Littlewood V., Thomas D. The incidence, pathology and transplantation of hepatomas in CBA mice. *J Pathol* 1976;119(4):211–20. DOI: 10.1002/path.1711190405. PMID: 182943.
 22. Модянова Е.А., Бочарова О.А., Ушаков В.Ф. Механические свойства межклеточных контактов гепатоцитов у мышей инбредных линий и предрасположенность к спонтанному гепатомам. БЭБиМ 1980;89(4):459–62. [Modyanova E.A., Bocharova O.A., Ushakov V.F. The mechanical properties of hepatocytes cell-cell contacts in mice inbred strains and susceptibility to spontaneous hepatomas. *BEhBiM* = *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 1980;89(4):459–62 (In Russ.)].
 23. Бочарова О.А., Карпова Р.В., Ильенко В.А. и др. Лейкоцитарные интегрин при гепатоканцерогенезе мышей высокоракетной линии СВА. Российский биотерапевтический журнал 2013;12(3):53–6. [Bocharova O.A., Karpova R.V., Ilyenko V.A. et al. Leukocyte integrins at hepato carcinogenesis in high-cancer CBA strain of mice. *Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal* = *Russian Journal of Biotherapy* 2013;12(3):53–6 (In Russ.)].
 24. Бочарова О.А., Бочаров Е.В., Карпова Р.В. и др. Снижение возникновения гепатом при воздействии фитоадаптогена у высокоракетных мышей СВА. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(2):73–6. [Bocharova O.A., Bocharov E.V., Karpova R.V. et al. Reduced occurrence of hepatomas in phytoadaptogen exposed high-cancer CBA strain of mice. *Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal* = *Russian Journal of Biotherapy* 2014;13(2):73–6 (In Russ.)].
 25. Бочаров Е.В., Карпова Р.В., Вершинская А.А. и др. Лимфоцитарная инфильтрация гепатокарцином мышей высокоракетной линии СВА при воздействии мультифитоадаптогена в раннем постнатальном онтогенезе. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(2):85–90. [Bocharov E.V., Karpova R.V., Verzhinskaya A.A. et al. Hepatocarcinomas infiltration lymphocytes in high-cancer CBA mice when multiphytoadaptogen exposed in early postnatal ontogenesis. *Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal* = *Russian Journal of Biotherapy* 2015;14(2):85–90 (In Russ.)].
 26. Бочаров Е.В., Карпова Р.В., Бочарова О.А. и др. Воздействие мультифитоадаптогена в раннем постнатальном онтогенезе, улучшающее выживаемость и соматическое состояние мышечной высокоракетной линии. Российский биотерапевтический журнал 2017;16(1):76–81. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-1-76-81. [Bocharov E.V., Karpova R.V., Bocharova O.A. et al. Multiphytoadaptogen effect in early postnatal ontogenesis improves survival and mice somatic condition of high-cancer CBA strain of mice. *Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal* = *Russian Journal of Biotherapy* 2017;16(1):76–81 (In Russ.)].
 27. Deans D., Tan B., Ross J. et al. Cancer cachexia is associated with the IL10–1082 gene promoter polymorphism in patients with gastroesophageal malignancy. *Am J Clin Nutr* 2009;89(4):1164–72. DOI: 10.3945/ajcn.2008.27025. PMID: 19244371.
 28. Kim D., Oh S., Kwon H. et al. Clinical significance of preoperative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in operable gastric cancer. *BMC Cancer* 2009;20(9):155–61. DOI: 10.1186/1471-2407-9-155. PMID: 19457231.
 29. Spizzo G., Went P., Dirnhofer S. et al. Overexpression of epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) is an independent prognostic marker for reduced survival of patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2006;103(2):483–8. PMID: 16678891.
 30. Heidemann J., Maaser C., Ljgering A. et al. Expression of vascular cell adhesion molecule-1 (CD 106) in normal and neoplastic human Esophageal squamous epithelium. *Int J Oncol* 2006;28(1):777–85. PMID: 16327982.
 31. Сепиашвили Р.И., Балмасова И.П. Физиология естественных киллеров. М.: Медицина, 2005. 455 с. [Sepiashvili R.I., Balmasova I.P. *Physiology of natural killer*. Moscow: Meditsina, 2005. 455 p. (In Russ.)].
 32. Fillon M. Biomarkers and prostate cancer progression. *J Natl Cancer Inst* 2011;103(21):1570–71. DOI: 10.1093/jnci/djr444. PMID: 22010173.
 33. Jones S., Richards P., Scheller J., Rose-John S. IL-6 trans-signalling: the *in vivo* consequences. *J Interferon Cytokine Res* 2005;25(5):241–53. PMID: 15871661.
 34. Peppas D., Micco L., Javadi A. et al. Blockade of immunosuppressive cytokines restores NK cell antiviral function in chronic hepatitis B virus infection. *PLoS Pathol* 2010;16(2):101–07. DOI: 10.1371/journal.ppat.1001227. PMID: 21187913.
 35. Danese S., Semeraro S., Marini M. et al. Adhesion molecules in inflammatory bowel disease: therapeutic implications

- for gut inflammation. *Dig Liver Dis* 2005;37(11):811–8. PMID: 16168725.
36. Yu M., Kissling S., Freyschmidt-Paul P. et al. Interleukin-6 cytokine family member oncostatin M is a hair-follicle-expressed factor with hair growth inhibitory properties. *Exp Dermatol* 2008;17(1):12–9. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2007.00643.x. PMID: 17979974.
 37. Kovalovich K., Li W., DeAngelis R. et al. Interleukin-6 protects against Fas-mediated death by establishing a critical level of anti-apoptotic hepatic proteins FLIP, Bcl-2 and Bcl-xl. *J Biol Chem* 2001;276(28):26605–13. PMID: 11349125.
 38. Narimatsu M., Maeda H., Itoh S. et al. Tissue-specific autoregulation of the STAT3 gene and its role in interleukin-6-induced survival signals in T-cell. *Mol Cell Biol* 2001;21(19):6615–25. PMID: 11533249.
 39. Blagosklonny M., Campisi J., Sinclair D. et al. Impact papers on aging in 2009. *AGING* 2010;2(3):111–21. DOI: 10.18632/aging.100132. PMID: 20351400.
 40. Harrison D.E., Strong R., Sharp Z.D. et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 2009;460(7253):392–95. DOI: 10.1038/nature08221. PMID: 19587680.
 41. Miller R.A., Harrison D.E., Astle C.M. et al. Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. *J Gerontol A Biol Med Sci* 2011;66(2):191–201. DOI: 10.1093/gerona/glq178. PMID: 20974732.
 42. Бочаров Е.В., Карпова Р.В., Казеев И.В. и др. Исследование радиозащитной активности мульти-фитоадаптогена в эксперименте на мышах. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2013;3:55–8. [Bocharov E.V., Karpova R.V., Kazeev I.V. et al. Multiphytoadaptogen study of radioprotective activity in experiments on mice. *Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimental'naya terapiya* = Pathologic physiology and experimental therapy 2013;3:55–8 (In Russ.)].
 43. Карпова Р.В., Бочаров Е.В., Казеев И.В. и др. Радиозащитная эффективность мультифитоадаптогена в опытах на собаках. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2013;4:51–4. [Karpova R.V., Bocharov E.V., Kazeev I.V. et al. The radioprotective multifitoadaptogen efficacy in experiments on dogs. *Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimental'naya terapiya* = Pathologic physiology and experimental therapy 2013;4:51–4 (In Russ.)].
 44. Белицкий Г.А., Кирсанов К.И., Лесовая Е.А., Якубовская М.Г. Механизмы антиканцерогенного действия флавоноидов. *Успехи молекулярной онкологии* 2014;1:56–68. [Belitskij G.A., Kirsanov K.I., Lesovaya E.A., Yakubovskaya M.G. The mechanisms of flavonoids anticancer action. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = Advances in molecular oncology 2014;1:56–68 (In Russ.)].
 45. Nekkanti S., Tokala R., Shankaraiah N. Targeting DNA minor groove by hybrid molecules as anticancer agents. *Curr Med Chem* 2017;24(26):2887–2907. DOI: 10.2174/0929867324666170523102730. PMID: 28545367.
 46. Oliynyk S., Oh S. Actoprotective effect of ginseng: improving mental and physical performance. *J Ginseng Res* 2013;37(2):144–66. DOI: 10.5142/jgr.2013.37.144. PMID: 23717168.
 47. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarov V.G. *Aralia elata* var. *mandshurica* (Rupr. & Maxim.) J. Wen: An overview of pharmacological studies. *Phytomedicine* 2016;23(12):1409–21. DOI: 10.1016/j.phymed.2016.07.011. PMID: 27765361.
 48. Amsterdam J.D., Panossian A.G. *Rhodiola rosea* L. as a putative botanical antidepressant. *Phytomedicine* 2016;23(7):770–83. DOI: 10.1016/j.phymed.2016.02.009. PMID: 27013349.
 49. Lian-Wen Qi, Chong-Zhi Wang, Chun-Su Yan. Ginsenosides from American ginseng: chemical and pharmacological diversity. *Phytochemistry* 2011;72(8):689–99. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.02.012. PMID: 21396670.
 50. Shanmugam M.K., Lee J.H., Chai E.Z. et al. Cancer prevention and therapy through the modulation of transcription factors by bioactive natural compounds. *Semin Cancer Biol* 2016;40–41:35–47. DOI: 10.1016/j.semcancer.2016.03.005. PMID: 27038646.
 51. Wang C., He H., Dou G. et al. Ginsenoside 20(S) – Rh2 Induces Apoptosis and Differentiation of Acute Myeloid Leukemia Cells: Role of Orphan Nuclear Receptor Nur77. *J Agric Food Chem* 2017;65(35):7687–97. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b02299. PMID: 28793767.
 52. Xia T., Wang Y.N., Zhou C.X. et al. Ginsenoside Rh2 and Rg3 inhibit cell proliferation and induce apoptosis by increasing mitochondrial reactive oxygen species in human leukemia Jurkat cells. *Mol Med Rep* 2017;15(6):3591–98. DOI: 10.3892/mmr.2017.6459. PMID: 28440403.