

β_2 -ИНТЕГРИНЫ LFA-1, MAC-1 – МИШЕНЬ ДЛЯ УСИЛЕНИЯ ИММУНИТЕТА ПРОТИВ ОПУХОЛИ

О.А. Бочарова¹, Р.В. Карпова¹, Е.В. Бочаров¹, А.А. Вершинская¹, М.А. Барышников¹,
И.В. Казеев¹, Ю.Н. Соловьев¹, В.Г. Кучеряну²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр 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 экспрессии β_2 -интегринов LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18) на клетках крови у мышей CBA в онтогенезе, а также под влиянием сухого экстракта мультифитоадаптогена в 1-й месяц постнатального развития.

Материалы и методы. Исследование проведено на мышцах-самцах линии CBA (сублиния CBA/LacY). Животные опытной группы получали 0,3 % водный раствор сухого экстракта мультифитоадаптогена в течение 1-го месяца жизни (профилактическое применение). Препарат был изготовлен по технологии сублимирования из жидкой формы мультифитоадаптогена, включающего компоненты экстрактов 40 растений, в том числе *Panax ginseng*, *Eleutherococcus senticosus*, *Rhodiola rosea*, и другие адаптогены. В возрасте 4, 8, 22 мес определяли экспрессию CD11a- и CD11b-антигенов на клетках периферической крови в реакции непрямой иммунофлуоресценции. Статистический анализ результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты. При развитии гепатокарцином у генетически предрасположенных мышеч-самцов CBA наблюдали подавление продукции CD11a- и CD11b-антигенов на клетках крови. Введение сухого экстракта мультифитоадаптогена в 1-й месяц постнатального онтогенеза повышало экспрессию CD11a- и CD11b-антигенов. Активность исследуемого препарата в отношении данного показателя не отличалась от жидкой формы фитоадаптогена, показанной ранее.

Заключение. Улучшение продукции β_2 -интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках крови мышеч, генетически предрасположенных к раку печени, при введении сухого экстракта препарата в 1-й месяц постнатального развития способствует адгезии эффекторов иммунитета с клетками опухолей.

Ключевые слова: β_2 -интегрины LFA-1 и Mac-1, адгезионные взаимодействия, противоопухолевый иммунитет, спонтанные гепатомы, фитоадаптогены

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-19-1-53-58



LFA-1, MAC-1 LEUKOCYTE INTEGRINS – TARGET FOR TUMOUR IMMUNITY MAGNIFICATION

O.A. Bocharova¹, R.V. Karpova¹, E.V. Bocharov¹, A.A. Vershinskaya¹, M.A. Baryshnikova¹, I.V. Kazeev¹,
Y.N. Soloviev¹, V.G. Kucheryanu²

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;
24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478, Russia;

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

The aim of this investigation was to evaluate the expression of LFA-1 (CD11a/CD18) and Mac-1 (CD11b/CD18) β_2 integrins on blood cells in CBA mice in ontogeny as well as under the dry extract of multifitoadaptogen administration during the first month of postnatal development.

Materials and methods. The study was carried out on CBA male mice (CBA/LacY). The experimental mice received 0.3 % dry multifitoadaptogene extract water-solution during the first month of life (preventive administration). Preparation was produced by a desiccation technology of forty medical herbs (including *Panax ginseng*, *Eleutherococcus senticosus*, *Rhodiola rosea*) water-ethanol extracts components. The CD11a and CD11b antigens expressions on peripheral blood cells were analyzed by indirect immunofluorescence reaction at the age of 4, 8, 22 months. Statistical analysis was performed with the program Statistica 6.0.

Results. The development of genetically predisposed hepatocarcinomas in CBA male-mice was accompanied by a decrease in the expression of CD11a and CD11b antigens on blood cells. Dry multifitoadaptogene extract administration during the first month of postnatal ontogeny revealed the CD11a and CD11b antigens up-regulated expression. The effect of the dry multifitoadaptogene extract is comparable to that for the liquid form of multifitoadaptogen previously identified.

Conclusion. Up-regulated LFA-1 and Mac-1 β_2 integrins expression on blood cells using dry multifitoadaptogene extract administration during the first month of postnatal development is essential for enhance the contact interactions of immune effectors and cancer cells.

Key words: LFA-1, Mac-1 β_2 integrins, adhesive interaction, anti-tumour immunity, spontaneous hepatomas, CBA male-mice, phytoadaptogenes

Введение

β_2 -интегрины, к которым, в частности, относятся LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen-1, CD11a/CD18) и Mac-1 (monocyte adhesion complex CD11b/CB18), играют существенную роль в привлечении активированных цитотоксических лейкоцитов из периферической крови в опухолевую ткань. Контррецепторами LFA-1 и Mac-1 являются гистонеспецифические молекулы адгезии ICAM-1, участвующие также в поддержании гомотипической интеграции тканей [1].

Исследования ряда авторов показывают, что ослабленная экспрессия ICAM-1 на мембранах опухолевых клеток представляет собой механизм, подавляющий экспрессию LFA-1 и Mac-1, что снижает прикрепление иммунных эффекторов к клеткам-мишеням и тем самым – внутриопухолевую инфильтрацию лейкоцитов [2, 3]. Очевидно, изучение возможности восстановления адгезионных контактов при опухолевом процессе может внести вклад в реализацию противоопухолевого эффекта.

Интерес в данном аспекте представляют фитоадаптогены, которые продемонстрировали способность нормализовать межклеточную адгезию и усиливать реакции иммунитета против опухоли [4, 5].

В предыдущих исследованиях на модели спонтанного гепатоканцерогенеза у мышей CBA было выявлено, что кратковременное в раннем онтогенезе воздействие на примере комплексного мультифитоадаптогена (МФА) в форме жидкого экстракта приводит к усилению экспрессии интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови. Оно сопровождается признаками лейкоцитарной инфильтрации и деструкции гепатом, подавлением сывороточного уровня иммуносупрессивных интерлейкинов 6 и 10. Эти результаты оказались существенными для снижения частоты спонтанного опухолеобразования и увеличения продолжительности и качества жизни животных [6–9].

Однако до сих пор не определен фенотип клеток, инфильтрирующих опухоль, и вопрос о том, экспрессированы ли на этих клетках, в частности, молекулы лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 при использовании МФА, до конца не выяснен. Наряду с этим с фармакологической точки зрения более современной и перспективной является сухая форма экстракта, практически субстанция препарата.

В связи с этим исследование воздействия сухого экстракта мультифитоадаптогена (СМФА) на экспрессию лейкоцитарных интегринов, а также оценка

значимости коррекции нарушений для усиления контактных взаимодействий иммунных эффекторов с опухолевыми клетками является актуальным.

Цель исследования – изучение экспрессии β_2 -интегринов LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18) на клетках крови у мышей CBA в онтогенезе, а также под влиянием СМФА в 1-й месяц постнатального развития.

Материалы и методы

Работа проведена на мышках-самцах высокоразовой линии CBA, сублинии CBA/Lac Y [10]. Источник получения мышей: локальная колония НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Животных содержали и выводили из эксперимента в соответствии с требованиями Европейской директивы по охране животных, используемых в научных целях. Контрольные животные получали только воду в качестве питья. Животные опытной группы получали 0,3 % водный раствор СМФА в 1-й месяц постнатального развития (профилактическое применение). Препарат получали самки, начиная с последних сроков беременности до отъема детенышей в возрасте 3 нед. Затем 1 нед детеныши-самцы пили воду с препаратом самостоятельно.

Мультифитоадаптоген представляет собой нетоксичную фармацевтическую композицию на основе компонентов экстрактов 40 растений, в том числе фитоадаптогенов (женьшеня, элеутерококка, аралии и др.). В составе МФА определены тритерпеновые сапонины, флавоноиды, эфирные масла, аминокислоты, витамины и другие соединения. Разработаны способы его биологической и физико-химической стандартизации [11–13]. Определены антиоксидантные, антистрессорные, гормонотонизирующие, антимутагенные, противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства [14–17].

Сухой экстракт МФА был приготовлен из жидкой формы с использованием технологии сублимирования.

У контрольных и опытных животных в возрасте 4, 8, 22 мес на лимфоцитах периферической крови исследовали уровни экспрессии лейкоцитарных интегринов CD11a, CD11b методом непрямой иммунофлуоресценции. Оставшиеся животные находились под наблюдением вплоть до их естественной гибели.

Статистический анализ данных проводили с использованием программы Statistica 6.0, применяя дисперсионный анализ One-way ANOVA. Данные

выражены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего. Для оценки различий между группами применяли критерий Ньюмена–Кейлса. Статистически значимым считали различие при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены результаты воздействия СМФА на экспрессию CD11a-антигена клетками крови у мышей-самцов СВА в онтогенезе. Из таблицы видно, что в возрасте 4 и 8 мес у мышей обеих групп количество клеток, экспрессирующих CD11a-антиген, статистически не различалось ($p \geq 0,5$). К 22-месячному возрасту у мышей контрольной группы выявлено статистически достоверное снижение этого показателя с $45,9 \pm 3,4$ % (в возрасте 8 мес) до $36,5 \pm 1,9$ % ($p_{8-22} = 0,03$). У мышей опытной группы к 22 мес изменение экспрессии CD11a-антигена по сравнению с ранним периодом онтогенеза происходит статистически незначимо ($52,3 \pm 3,0$ и $44,6 \pm 2,1$ % соответственно, $p_{4-22} = 0,05$). По сравнению с 8-месячным возрастом этот показатель статистически не различался ($p_{8-22} = 0,2$). Вместе с тем значение этого показателя оказалось выше в сравнении с аналогичным периодом онтогенеза (22 мес) у мышей контрольной группы ($p_{1-2} = 0,01$).

Результаты воздействия СМФА на экспрессию CD11b-антигена клетками крови мышей СВА в онтогенезе представлены в табл. 2. Согласно этим данным у мышей контрольной группы количество лимфоцитов крови, экспрессирующих CD11b-антиген, в возрасте 8 мес ($12,1 \pm 1,7$ %) достоверно не отличалось

от такового у 4-месячных животных ($13,4 \pm 1,7$ %; $p_{4-8} = 0,6$). В возрасте 22 мес этот показатель статистически достоверно снизился до $6,8 \pm 1,1$ % ($p_{8-22} = 0,02$; $p_{4-22} = 0,004$). У мышей опытной группы уровни экспрессии CD11b-антигена в возрасте 4 и 8 мес не различались ($17,2 \pm 1,5$ % и $15,6 \pm 1,4$ %; $p_{4-8} = 0,5$), но имели тенденцию к повышению по сравнению с контрольными животными в аналогичные периоды онтогенеза ($p_{1-2} = 0,1$). К 22-месячному возрасту уровень экспрессии снизился до $12,1 \pm 1,1$ % ($p_{8-22} = 0,06$; $p_{4-22} = 0,01$). Вместе с тем в позднем онтогенезе в данной группе уровень экспрессии CD11b-антигена достоверно превышал значение у мышей контрольной группы в этом возрасте ($p_{1-2} = 0,003$).

Таким образом, полученные результаты показали, что при профилактическом воздействии СМФА у опытных мышей число лимфоцитов, экспрессирующих молекулы LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18), повышено по сравнению с контрольными животными.

Учитывая, что лигандами LFA-1 являются молекулы межклеточной адгезии ICAM-1, ICAM-2, можно полагать, что увеличение количества лимфоцитов, экспрессирующих лейкоцитарный интегрин CD11a, под воздействием СМФА способствует более высокой иммунореактивности таких животных в осуществлении киллинга клеток-мишеней эффекторами иммунитета (NK-клетками, цитотоксическими лимфоцитами) [18, 19].

Вместе с тем молекула Mac-1 экспрессируется на нейтрофилах, лимфоцитах и NK-клетках, являясь

Таблица 1. Уровень экспрессии CD11a-антигена лимфоцитами крови у мышей СВА при воздействии сухого экстракта мультифитоадаптогена в 1-й месяц постнатального развития

Table 1. The CD11a antigen expression by blood lymphocytes in CBA mice under multiphytoadaptogen dry extract administration during the first month of postnatal development

| Группа животных Animal group | CD 11a + лимфоциты, % CD 11a + lymphocytes, % | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------|
| | 4 мес 4 months | 8 мес 8 months | 22 мес 22 months | p |
| 1-я Контроль (интактные), n = 33 1 Control (intact), n = 33 | 49,4 \pm 3,6 n = 11 | 45,9 \pm 3,4 n = 10 | 36,5 \pm 1,9 n = 11 | $p_{4-8} = 0,5$ $p_{8-22} = 0,03$ $p_{4-22} = 0,005$ |
| 2-я Опыт (воздействие СМФА), n = 36 2 Experiment (MDE exposure), n = 362 | 52,3 \pm 3,0 n = 12 | 49,0 \pm 2,9 n = 12 | 44,6 \pm 2,1 n = 12 | $p_{4-8} = 0,4$ $p_{8-22} = 0,2$ $p_{4-22} = 0,05$ |
| p | $p_{1-2} = 0,5$ | $p_{1-2} = 0,5$ | $p_{1-2} = 0,01$ | |

Примечание. Здесь и в табл. 1, 2: СМФА – сухой экстракт мультифитоадаптогена; n – количество животных; p_{1-2} – различие показателей между группами; p_{4-8} – различие показателей на 4-м и 8-м месяце; p_{8-22} – различие показателей на 8-м и 22-м месяце; p_{4-22} – различие показателей на 4-м и 22-м месяце.

Note. Here and in the table 1, 2: MDE – multiphytoadaptogen dry extract; n – animals number; p_{1-2} – intergroup difference; p_{4-8} – 4–8 months difference; p_{8-22} – 8–22 months difference; p_{4-22} – 4–22 months difference.

Таблица 2. Уровень экспрессии CD11b-антигена лимфоцитами крови у мышей СВА при воздействии сухого экстракта мультифитоадаптогена в 1-й месяц постнатального развития

Table 2. The CD11b antigen expression by blood lymphocytes in CBA mice under multiphytoadaptogen dry extract administration during the first month of postnatal development

| Группа животных Animal group | CD 11b + лимфоциты, % CD 11b + lymphocytes, % | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------|----------------------|------------------------------------------------------------|
| | 4 мес 4 months | 8 мес 8 months | 22 мес 22 months | p |
| 1-я Контроль (интактные), n = 36 1 Control (intact), n = 36 | 13,4 ± 1,7 n = 12 | 12,1 ± 1,7 n = 12 | 6,8 ± 1,1 n = 12 | $p_{4-8} = 0,6$ $p_{8-22} = 0,02$ $p_{4-22} = 0,004$ |
| 2-я Опыт (воздействие СМФА), n = 36 2 Experiment (MDE exposure), n = 36 | 17,2 ± 1,5 n = 12 | 15,6 ± 1,4 n = 12 | 12,1 ± 1,1 n = 12 | $p_{4-8} = 0,5$ $p_{8-22} = 0,06$ $p_{4-22} = 0,01$ |
| p | $p_{1-2} = 0,1$ | $p_{1-2} = 0,1$ | $p_{1-2} = 0,003$ | |

лигандом ICAM-1. Поэтому аналогичные выводы уместны и в отношении повышенного уровня экспрессии CD11b-антигена у мышей опытной группы по сравнению с контрольными животными. В данном случае также возможна активация способности иммунных эффекторов инфильтрировать опухоль, контактировать с клетками-мишенями, что помогает гибели последних [20].

На основании предшествующих и настоящих исследований можно полагать, что у мышей при спонтанном гепатоканцерогенезе сниженная активность Т-лимфоцитов обусловлена недостатком экспрессии молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на эффекторах иммунитета. Фитоадаптогены, обладающие адгезиогенным действием, способны нормализовать обозначенные показатели.

Таким образом, при введении СМФА в течение 1-го месяца постнатального онтогенеза высокогепато-

номным мышам, включая завершающий период дифференцировки нормальной ткани печени (5–15-й день постнатального развития), можно обеспечить длительный по времени эффект повышения экспрессии на клетках крови молекул лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1.

Вместе с тем эффективность профилактического воздействия СМФА на уровень экспрессии лейкоцитарных интегринов сравнима с таковой для жидкой формы фитоадаптогена, выявленной в предыдущем исследовании [6].

Выводы

Улучшение продукции β_2 -интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках крови мышей, генетически предрасположенных к раку печени, при введении сухого экстракта препарата в 1-й месяц постнатального развития способствует адгезии эффекторов иммунитета с клетками опухолей.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Schttenhelm L., Hilkens C.M., Morrison V.L. β_2 Integrins as regulators of dendritic cell, monocyte, and macrophage function. *Front Immunol* 2017;20(8):1866–77. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01866.
- Бочарова О.А. Адгезионная концепция в биологии злокачественного роста. Патологическая физиология и экспериментальная терапия 2014;58(2):87–93. DOI: 10.25557/0031-2991.2014.02.87–93. [Bocharova O.A. Adhesive concept in biology of malignant growth. *Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimentalnaya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy* 2014;58(2):87–93. (In Russ.).]
- Takeichi T., Mocevicius P., Deduchovas O. et al. $\alpha_1\beta_2$ integrin is indispensable for CD8⁺ T-cell recruitment in experimental pancreatic and hepatocellular cancer. *Int J Cancer* 2012;130(9):2067–76. DOI: 10.1002/ijc.26223.
- Бочарова О.А. Профилактическая онкология и фитоадаптогены. Вестник РАМН 2009;7:41–5. [Bocharova O.A. Preventive oncology and phytoadaptogens. *Vestnik RAMN = Bull RAMS* 2009;7:41–5. (In Russ.).]
- 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.
- Бочарова О.А., Карпова П.В., Ильенко В.А. и др. Лейкоцитарные интегрины при гепатоканцерогенезе мышей высокорасовой 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. Rossijskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2013;12(3):53–6. (In Russ.)].
7. Бочарова О.А., Бочаров Е.В., Карпова Р.В. и др. Снижение возникновения гепатом при воздействии фитoadаптогена у высококорактовых 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. Rossijskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2014;13(2):73–6. (In Russ.)].
8. Бочаров Е.В., Карпова Р.В., Вершинская А.А. и др. Лимфоцитарная инфильтрация гепатокарцином мышей высококорактовой линии СВА при воздействии мультифитoadаптогена 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. Rossijskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2015;14(2):85–90. (In Russ.)].
9. Бочаров Е.В., Карпова Р.В., Бочарова О.А. и др. Воздействие мультифитoadаптогена в раннем постнатальном онтогенезе, улучшающее выживаемость и соматическое состояние мышей высококорактовой линии. Российский биотерапевтический журнал 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. Rossijskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2017;16(1):76–81. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-1-76-81.
10. Модянова Е.А., Бочарова О.А., Маленков А.Г. Профилактическое действие контактинов-кейлонов на спонтанный канцерогенез у линейных 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. Eksperimentalnaya onkologiya = Experimental oncology 1983;5(3):39–42. (In Russ.)].
11. Бочарова О.А., Барышников А.Ю. Фитoadаптогены в онкологии. Зоо-МедВет 2004. 138 с. [Bocharova O.A., Baryshnikov A.Y. Phytoadaptogens in oncology. ZooMedVet 2004. 138 p. (In Russ.)].
12. Шейченко В.И., Бочарова О.А., Шейченко О.П. и др. Аналитические возможности метода ЯМР для определения компонентов препарата Фитомикс-40. Заводская лаборатория. Диагностика материалов 2006;72(8):15–23. [Shejchenko V.I., Bocharova O.A., Schejchenko O.P. et al. Analytical opportunities of NMR method for determination of Fitomix-40 preparation composition. Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov = Factory laboratory. Material diagnostics 2006;72(8):15–23. (In Russ.)].
13. Шейченко О.П., Бочарова О.А., Крапивкин Б.А. и др. Исследование комплексного фитoadаптогена методом ВЭЖХ. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2012;10:52–9. [Shejchenko O.P., Bocharova O.A., Krapivkin B.A. et al. Study of complex phytoadaptogen by HPLC method. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry 2012;10:52–9. (In Russ.)].
14. Бочарова О.А., Пожарицкая М.М., Чекалина Т.Л. и др. Роль адгезионных нарушений в патогенезе лейкоплакии и возможности их коррекции неспецифическим иммуномодулятором. Иммунология 2004;25(1):36–43. [Bocharova O.A., Pozharitskaya M.M. Adhesive impairments in the pathogenesis of leukoplakia and potentialities of their correction by immunomodulator. Immunologiya = Immunology 2004;25(1):36–43. (In Russ.)].
15. Бочаров Е.В., Кучеряну В.Г., Крыжановский Г.Н. и др. Влияние комплексного фитoadаптогена на МФТП-индуцированный паркинсонический синдром у мышей. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2006;141(5):495–8. [Bocharov E.V., Kucheryanu V.G., Kryzhanovsky G.N. et al. The effect of complex phytoadaptogen on MPTP-induced Parkinson's syndrome in mice Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2006;141(5):495–8. (In Russ.)].
16. Бочарова О.А., Давыдов М.И., Клименков А.А. и др. Перспективы применения фитoadаптогена в лечении распространенного рака желудка. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2009;148(7):96–9. [Bocharova O.A., Davydov M.I., Klimentov A.A. et al. Prospects of using phytoadaptogen in the treatment of diffuse stomach cancer. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2009;148(7):96–9. (In Russ.)].
17. Куренная О.Н., Карпова Р.В., Бочарова О.А. и др. Антимутагенез мультифитoadаптогена в клетках дрожжей-сахаромисетов. Генетика 2013;49(12):1364–9. DOI: 10.7868/S0016675813120059. [Kurenная O.N., Karpova R.V., Bocharova O.A. et al. Antimutagenesis of multiphytoadaptogene in yeast saccharomyces. Genetika = Russian Journal of Genetics 2013;49(12):1364–9. (In Russ.)].
18. Li N., Yang H., Wang M. et al. Ligand-specific binding forces of LFA-1 and Mac-1 in neutrophil adhesion and crawling. Mol Biol Cell 2018;29(4):408–18. DOI: 10.1091/mbc.E16-12-0827.
19. Sharma A., Lawry S.M., Klein B.S. et al. LFA-1 Ligation by high-density ICAM-1 is sufficient to activate IFN- γ release by innate T-lymphocytes. J Immunol 2018;201(8):2452–61. DOI: 10.4049/jimmunol.1800537.
20. Sasada T., Suekane S. Variation of tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers: controversy on clinical significance. Immunotherapy 2011;3(10):1235–51. DOI: 10.2217/imt.11.106.

ORCID авторов/ ORCID of authors

О.А. Бочарова/O.A. Bocharova: <https://orcid.org/0000-0002-6365-2888>

Р.В. Карпова/R.V. Karpova: <https://orcid.org/0000-0003-4893-1472>

Е.В. Бочаров/E.V. Bocharov: <https://orcid.org/0000-0003-2342-9881>

В.Г. Кучеряну/V.G. Kucheryanu: <https://orcid.org/0000-0002-5071-3581>

Вклад авторов

О.А. Бочарова: разработка дизайна исследования, планирование работы, анализ рукописи;

Р.В. Карпова, Е.В. Бочаров: получение и анализ данных, написание текста рукописи;

А.А. Вершинская: получение и анализ данных;

М.А. Барышникова, Ю.Н. Соловьев: анализ рукописи;

И.В. Казеев: получение и анализ данных;

В.Г. Кучеряну: обзор публикаций по теме исследования.

Authors' contributions

O.A. Bocharova: developing the research design, study planning, manuscript analysis;

R.V. Karpova, E.V. Bocharov: data collection and analysis, writing the manuscript;

A.A. Vershinskaya: data collection and analysis;

M.A. Baryshnikova, Y.N. Soloviev: manuscript analysis;

I.V. Kazeev: data collection and analysis;

V.G. Kucheryanu: reviewing of publications of the article's theme.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Compliance with principles of bioethics. The study was performed in accordance with ethical principles adopted by the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

Статья поступила: 01.10.2019. Принята к публикации: 19.12.2019.

Article submitted: 01.10.2019. Accepted for publication: 19.12.2019.