

Государственное бюджетное образовательное учреждение
Высшего профессионального образования
«Башкирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

УРАЗАЕВА АЛЬБИНА ИЛЬЯСОВНА

**МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ
(LAVANDULA VERA, SALVIA SCLARIA И EUCALYPTUS
GLOBULUS)**

**НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МЫШИНОЙ МИЕЛОМЫ Sp 2/0 Ag14
НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА**

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Князева Ольга Александровна,
доктор биологических наук

Уфа – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Канцерогенез: общая характеристика, метаболические изменения	12
1.2. Про- и антиоксидантная система при канцерогенезе.....	15
1.3. Влияние стресса на развитие онкологических заболеваний.....	17
1.4. Механизмы действия эфирных масел растений.....	21
1.5. Взаимосвязь нервной, эндокринной и иммунной систем.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	
2.1. Материалы исследования.....	36
2.2. Моделирование хронического стресса у мышей BALB/c	37
2.3. Методы исследования.....	37
2.3.1. Оценка противоопухолевого эффекта по увеличению продолжительности жизни.....	37
2.3.2. Определение концентрации иммуноглобулинов G в сыворотке крови	38
2.3.3. Определение концентрации кортизола в сыворотке крови	40
2.3.4. Определение уровня C3(H ₂ O) компонента комплемента в процессе инкубации сыворотки крови	41
2.3.5. Оценка «степени депрессии» у мышей BALB/c.....	42
2.3.6. Оценка поведенческих реакций у мышей.....	42
2.3.7. Ингаляционное введение эфирных масел.....	44
2.3.8. Определение конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида.....	44
2.3.9. Определение уровня спонтанной и металл-индуцируемой (Fe 2+-	

зависимой) окислительной модификации белков	45
2.3.10. Определение активности каталазы.....	46
2.3.11. Определение активности супероксиддисмутазы.....	47
2.3.12. Определение активности глутатионпероксидазы.....	48
2.3.13. Определение активности глутатионтрансферазы.....	48
2.3.14 Статистическая обработка результатов.....	49

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ГЛАВА 3.

3.1. Исследование влияния хронического стресса на процесс опухолевого роста клеток мышинной миеломы Sp 2/0 Ag14 у мышей BALB/c под действием эфирных масел <i>Lavandula vera</i> , <i>Salvia sclaria</i> и <i>Eucalyptus globulus</i>	50
3.2. Оценка влияния хронического стресса и эфирных масел на уровни ключевых молекул адаптивного гуморального иммунитета (иммуноглобулинов G) и эндокринной системы (кортизола) в сыворотке крови мышей BALB/c.....	57
3.3. Исследование влияния хронического стресса и эфирных масел <i>Lavandula vera</i> и <i>Salvia sclaria</i> на профиль спонтанного гидролиза C3 компонента комплемента в сыворотке крови мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14.....	61
3.4. Исследование активности антиоксидантных ферментов и перекисного окисления липидов в плазме крови и печени мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 под действием хронического стресса и эфирных масел <i>Lavandula vera</i> и <i>Salvia sclaria</i>	69
3.5. Исследование окислительной модификации белков в плазме крови и печени мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 под действием хронического стресса и эфирных масел <i>Lavandula vera</i> и <i>Salvia sclaria</i>	82
3.6. Оценка влияния хронического стресса и эфирных масел <i>Lavandula vera</i> ,	

Salvia sclaria и Eucalyptus globulus на поведенческие реакции и «степень депрессии» у мышей BALB/c.....	92
3.7. Анализ взаимосвязей между показателями нейроиммуноэндокринной системы при действии хронического стресса и ингаляционного введения эфирных масел и показателями опухолевого роста у мышей BALB/c.....	100
ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	110
ВЫВОДЫ.....	120
СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

По оценкам ВОЗ, глобальная смертность от рака к 2030 году возрастет на 45% по сравнению с уровнем 2007 года (с 7,9 миллиона до 11,5 миллиона случаев). За этот же период времени число новых случаев заболеваний возрастет с 11,3 миллиона в 2007 году до 15,5 миллиона случаев в 2030 году [37]. В связи с этим проблема профилактики злокачественных опухолей, которые по частоте смертности занимают второе место среди населения, в настоящее время стала наиболее острой.

Увеличение смертности от рака в первую очередь связывают с возрастающим воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды, а также стрессорных нагрузок. Кроме того, сам процесс развития опухоли в организме некоторыми авторами рассматривается как состояние хронического стресса [26, 134, 154]. Распространение опухолевых клеток и их рост является сложным многоэтапным процессом, который зависит, с одной стороны, от свойств этих клеток, а с другой – от противоопухолевой резистентности организма, которая во многом определяется состоянием нейроэндокринной и иммунной систем [1, 233]. Почти все имеющиеся противоопухолевые препараты в той или иной степени подавляют иммунитет, что негативно отражается на процессе лечения. В связи с этим большой интерес представляет поиск таких веществ, которые, наряду с противоопухолевой активностью, повышают иммунную защиту организма.

В перечне веществ, обладающих иммунокорректирующими свойствами, определенное место занимают эфирные масла.

Эфирные масла – природные соединения, которые в минимальных дозах способны оказывать регулирующее действие на основные системы организма: иммунную, эндокринную и нервную [229].

За последние 20 лет появился значительный интерес к

терапевтическому использованию эфирных масел с помощью ингаляционного введения [94, 131, 135, 220, 225, 229, 231]. Данный метод общепринят в составе как комплексного, так и альтернативного лечения. Так, показано, что под действием ингаляционного введения эфирных масел (ИЭМ) при начальных формах вторичных иммунодефицитов наблюдается увеличение количества Т-лимфоцитов, повышение функциональной активности В- и Т-клеток, активности киллерных клеток и лимфоцитов, стимуляции выработки лизоцима [70, 76]. Обнаружено повышение активности антиоксидантного фермента каталазы и корректирующее действие на процессы свободнорадикального окисления липидов [104, 137, 169], а также эффект понижения уровня маркеров онкологического риска [111]. Показано, что после курса ИЭМ происходит торможение развития асцита у мышей и существенное увеличение продолжительности их жизни, повышение уровня С3 компонента комплемента и изменение динамики его конформационных превращений в форму $C3(H_2O)$ в сторону контрольного при инкубации сыворотки крови онкобольных, а также лиц, составляющих группу онкологического риска [24, 61]. Однако механизмы подобных эффектов пока не раскрыты и требуют дальнейших исследований.

Данные литературы позволяют предположить, что эфирные масла оказывают уникальное терапевтическое действие на основные регуляторные системы организма: иммунную, эндокринную и нервную, которые тесно связаны между собой. Необычность действия этих веществ, вероятно, проявляется в том, что они корректируют отклонения в данных системах, приводя их в пределы нормы, независимо от знака отклонения [95]. Подтверждение или опровержение этих предположений возможно только в результате проведения целенаправленных экспериментальных и клинических исследований, что и обусловило цель настоящей работы.

Цель исследования

Оценить развитие асцитной опухоли Sp2/0 Ag14 и некоторые биохимические показатели иммунной, эндокринной, про- и антиоксидантной систем у мышей BALB/c при хроническом стрессе и действии эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*.

Задачи исследования

1. Исследовать влияние хронического стресса на процесс опухолевого роста клеток мышинной миеломы Sp 2/0 Ag14 у мышей BALB/c под действием эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*.

2. Оценить влияние хронического стресса и эфирных масел на уровни ключевых молекул адаптивного гуморального иммунитета (иммуноглобулинов G) и эндокринной системы (кортизола) в сыворотке крови мышей BALB/c.

3. Охарактеризовать влияние хронического стресса и эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* на оценочный критерий эффективности действия иммуномодулирующих средств: конформационную форму ключевого фактора естественного гуморального иммунитета – C3 компонента комплемента в сыворотке крови мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14.

4. Исследовать активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазу, каталазу, глутатионпероксидазу, глутатионтрансферазу), процессы перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в плазме крови и печени мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 под действием хронического стресса и эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*.

5. Сопоставить влияние хронического стресса и эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* на «степень депрессии» с

развитием опухолевого процесса и биохимическими показателями иммуноэндокринной, про- и антиоксидантной систем у мышей BALB/c.

Научная новизна работы

Показано, что хронический стресс способствует росту асцитной опухоли у мышей BALB/c с привитой миеломой Sp2/0 Ag14, а ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*, напротив, тормозит ее развитие.

Впервые выявлено, что при хроническом стрессе ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* оказывает корректирующее действие на показатели иммунной (IgG, C3 компонент комплемента) и эндокринной (кортизол) систем.

Установлено, что развитие асцитной опухоли Sp2/0 Ag14 у мышей BALB/c приводит к снижению активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы) в плазме крови и печени мышей BALB/c, возрастающей при действии хронического стресса, и, наоборот, повышение, при ингаляционном введении эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*.

Показано корректирующее действие данных эфирных масел на процессы перекисного окисления липидов и карбонилирования белков в плазме крови и печени животных-опухоленосителей, подвергнутых хронической стрессорной нагрузке.

Впервые определено, что при хронической стрессорной нагрузке у мышей BALB/c происходит повышение «степени депрессии», значительно снижающееся под действием ингаляционного введения эфирных масел и коррелирующее с показателями опухолевого роста, иммунной, эндокринной, про- и антиоксидантной систем.

Научно-практическая значимость

Получены новые данные, характеризующие механизмы воздействия эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* на подавление роста клеток перевиваемой мышинной миеломы Sp 2/0 Ag14 путем активации ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза), снижения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белка, а также снижения уровня стресс-гормона кортизола и повышения иммуноглобулина G при стрессорной нагрузке.

Показана возможность коррекции нейроиммуноэндокринной системы с помощью ингаляционного введения эфирных масел при неопластических состояниях.

Полученные результаты могут быть использованы для профилактики и повышения эффективности лечения онкологических заболеваний, а также последующих исследований новых эфирных масел.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Под действием хронического стресса увеличивается развитие опухоли у мышей BALB/c с привитой миеломой Sp2/0 Ag14, которое тормозится при ингаляционном введении эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*, что проявляется в уменьшении объема асцитической жидкости и увеличении продолжительности жизни мышей BALB/c.

2. Ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* при хроническом стрессе оказывает корректирующее действие на иммунную и эндокринную систему, выражающееся в повышении концентрации иммуноглобулинов G, выравнивании профиля спонтанного гидролиза C3 компонента комплемента

и снижении уровня кортизола в сыворотке крови мышей BALB/c.

3. Ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*, действуя через центральную нервную систему, корректирует изменения в анти- и прооксидантной системах у мышей BALB/c, повышая активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, существенно снижая интенсивность перекисного окисления липидов и карбонилирования белков, оказывая корректирующее действие на показатели иммунноэндокринной системы, тем самым способствуя торможению развития миеломы Sp 2/0 Ag14.

Апробация диссертации

Материалы диссертации были доложены на I Международной конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине» (Москва, МГУ, 2010), Международной научно-практической конференции «Научный прогресс на рубеже тысячелетий» (Прага, 2010); Международной научно-практической конференции «Перспективные инновации в науке, образовании, производстве и транспорте 2010» (Одесса, 2010); 76-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2011); International conference “Renewable Wood and Plant Resources: Chemistry, Technology, Pharmacology, Medicine” (St.Petersburg, 2011); на VI Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы естественных наук-2012» (Przemysl, 2012); на международной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения В.В. Кормачева (Чебоксары, 2012); XII Всероссийской научно-технической конференции «Приоритетные направления развития науки и технологий» (Тула, 2012); Miedzynarodowej naukowí-praktycznej konferencji “Europejska nauka XXI powieka-2013” (Przemysl, 2013); IX Всероссийской научной конференции «Химия и медицина» (Уфа-Абзаково, 2013); 9-ой международной научно-практической конференции «Научный потенциал мира-2013» (София, 2013);

Международной научно-практической интернет-конференции «Научные исследования и их практическое применение. Современное состояние и пути развития» (Одесса, 2013); на VIII Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ» (Сыктывкар-Калининград, 2013), Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 70-летию Южно-Уральского государственного медицинского университета и памяти профессора Р.И. Лифшица (Челябинск, 2014).

Внедрение результатов работы

Полученные в диссертационной работе результаты внедрены в научно-исследовательскую деятельность кафедры биологической химии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в практику работы Муниципального бюджетного учреждения здравоохранения Поликлиники № 33 г. Уфы и отделения общей онкологии Башкирского Республиканского клинического онкологического диспансера.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Канцерогенез: общая характеристика, метаболические изменения

Канцерогенез - многоуровневый, многошаговый процесс, в котором многочисленные экзо-эндогенные и наследственные факторы - носители канцерогенов и/или их индукторы влияют на клетки, ткани, органы и системы, приводя к мутациям молекулярно-генетического аппарата клетки и последующему появлению клеток, характеризующихся морфологическим, функциональным, биохимическим атипизмом, автономным ростом, «ускользанием» клеток от гуморальных и нервных влияний [54, 92, 210, 230].

Главные признаки новообразования:

1 - «прибавление клеточной массы и ткани», которое в отличие от регенерации и пролиферации не связано с потребностями организма;

2 - автономный характер роста, при котором трансформированный клон не реагирует на внешние сигналы, становясь независимым от потребностей организма.

В норме количество клеток регулируют два противоположных, но сбалансированных процесса - клеточное деление и клеточная элиминация.

При опухолевом росте клеток «прибавление клеточной массы» опережает клеточную гибель за счет 1- активации процессов деления; 2- угнетения системы репарации ДНК; 3 - угнетения супрессорной антимитотической системы [50].

Рассматривая последовательность этапов развития канцерогенеза, можно выделить несколько стадий: 1 - инициации, 2 - промоции, 3 - опухолевой прогрессии [54]. Стадия инициации характеризуется онкогенной трансформацией клеток под влиянием экзогенных или эндогенных факторов, хотя возможен и эпигеномный механизм воздействия канцерогенов [1, 62, 63].

Воздействие на организм различных физических, химических и биологических факторов может вызывать мутации ДНК, провоцирующие экспрессию протоонкогенов или депрессию антионкогенов [90, 208].

При эпигеномном действии канцерогенов экспрессия онкогенов возникает вследствие нарушения регуляции клеточного роста без повреждения генетического материала, при этом возникает инактивация белков – продуктов антионкогенов- или активация пострецепторных ростовых факторов.

Прямой генотоксический эффект канцерогенов возникает в процессе алкилирования, делеции, транслокации, амплификации генов. Если мутация затрагивает гены, регулирующие клеточное размножение, клетка становится инициированной - потенциально способной к неограниченному делению, но требующей для фенотипического проявления этого свойства дополнительных воздействий.

В механизмах развития промоции важная роль отводится нарушениям взаимодействия онкогенов и антионкогенов, которое приводит к увеличению синтеза онкобелков или их качественного изменения.

Заключительной фазой канцерогенеза является стадия опухолевой прогрессии, понятие которой было введено еще L.Foulds (1948), характеризуемой количественным увеличением опухолевых клеток и необратимыми качественными изменениями их свойств. В процессе опухолевой прогрессии образуются генетически устойчивые клоны к нервному, эндокринному, иммунному влиянию, а также, нередко, и к лекарственным воздействиям.

Биохимический атипизм раковых клеток проявляется снижением антиоксидантного потенциала, наличием в митохондриях аномальной кольцевой или одноцепочечной ДНК [12]. Одним из его проявлений является обратный эффект Пастера, характеризующийся преобладанием анаэробного гликолиза над аэробным в условиях оптимальной доставки кислорода и глюкозы. Для опухолевых клеток характерна чрезмерная активация

пентозного цикла окисления глюкозы – основного поставщика рибозо-5-фосфата, необходимого для синтеза нуклеиновых кислот. Опухолевые клетки интенсивно поглощают из крови глюкозу, жирные кислоты, холестерин, липопротеины, используя их в процессе внутриклеточных метаболических реакций, вызывая развитие «раковой» кахексии у больных.

Опухолевые клетки потенциально бессмертны (феномен иммортализации) в связи с высокой активностью теломеразы, а также подавлением апоптоза малигнизированных клеток.

Опухолевые клетки обладают свойствами индукции иммунного ответа к опухолеспецифическим антигенам. Поэтому ведутся разработки различных методов, повышающих эффективность специфического противоопухолевого иммунного ответа для использования в лечении онкологических заболеваний. Существующие в настоящее время методы используют различные сложные приемы, такие как, например, введение цитокинов, антигенов опухолевых клеток, дендритных вакцин, Т-клеток с факторами роста или активированными цитокинами и т.д. [53, 194]. Однако в большинстве случаев результаты исследований не являются положительными. Причинами этого являются то, что опухолевые клетки используют различные механизмы иммуносупрессии, приводящие к развитию толерантности к антигенам опухолевых клеток [165] или увеличению количества клеток-супрессоров. По мнению некоторых авторов, причиной ускользания опухолевых клеток от иммунного надзора может быть экспрессия на их поверхности специфических молекул - лигандов ингибиторных рецепторов цитотоксических клеток, взаимодействие которых с рецепторами на опухолеспецифических цитотоксических лимфоцитах приводит к усилению толерантности специфических к опухоли клеток [51, 169]. Одной из таких причин может быть посттрансляционная модификация белков иммунной системы, вследствие их взаимодействия с продуктами деструкции неопластических клеток [59], а также, возможно, за счет усиления свободнорадикального окисления (СРО), которому в настоящее

время отводится важная роль в канцерогенезе.

1.2 Про- и антиоксидантная система при канцерогенезе

Свободные радикалы (СР) – частицы, которые имеют неспаренный электрон, а в биологических системах они представлены, как СР кислорода. Последние образуются в процессе нормального клеточного метаболизма и при патологических состояниях, а также при воздействии на организм ксенобиотиков. Радикалами или активными формами кислорода (АФК) являются супероксидный ($O_2^{\cdot-}$) и гидроксильный (OH^{\cdot}) радикалы, а также перекись водорода (H_2O_2) и синглетный кислород (1O_2), которые не являются СР, но могут быть причиной их появления. Так, при взаимодействии H_2O_2 с супероксидным радикалом или с металлами переменных валентностей (железо, медь) образуется наиболее активный из радикалов – OH^{\cdot} , а при взаимодействии синглетного кислорода с биомолекулами образуются их перекисные соединения, которые являются источниками СР [84, 142, 216].

Показано, что СР, в первую очередь АФК, принимают участие во всех стадиях канцерогенеза [142, 187, 216]. Вызываемые ими окислительные повреждения ДНК соматических клеток могут привести к возникновению мутаций (стадия инициации). При этом повреждая гены, связанные с пролиферацией или апоптозом, АФК могут стимулировать рост инициированных клеток (стадии промоции). Последующие мутации генов, которые происходят при дальнейшем воздействии АФК, могут приводить к формированию злокачественного клеточного фенотипа (стадия прогрессии). Под воздействием АФК, помимо ДНК, могут окисляться мембранные липиды, белки, углеводы, в результате этого изменяется активность ряда ферментов, нарушается проницаемость клеточных мембран.

Защита от СРО как нормальных, так и опухолевых клеток осуществляется антиоксидантными ферментами (АОФ), которые Y. Sun разделяет на основные и вспомогательные [216]. К первым он относит

ферменты, непосредственно вовлекаемые в элиминацию АФК: Cu, Zn-содержащую супероксиддисмутазу (Cu, Zn-СОД) и Mn-содержащую СОД (Mn-СОД), каталазу и глутатионпероксидазу (ГПО). К вспомогательным он относит ферменты, способствующие детоксикации АФК путем снижения уровня органических гидроперекисей: например, глутатион-S-трансферазу (ГТ).

Также было показано, что АОФ способны противодействовать окислительному повреждению ДНК и трансформации клеток путем инактивации многих мутагенов [142, 216]. В большинстве опухолей отмечалось снижение активности Cu, Zn-СОД, Mn-СОД, каталазы и ГТ. Активность же ГПО варьировала в зависимости от органной принадлежности опухоли и ее гистологического типа [182, 216].

Повышение активности отдельных АОФ в опухолях многие авторы рассматривают как заместительную реакцию в ответ на снижение активности других, что приводит к дисбалансу АОФ и, как следствие, к наработке АФК злокачественными клетками. Так, например, при исследовании АОФ в карциномах толстой и прямой кишки человека было обнаружено снижение активности каталазы при одновременном увеличении активности Cu, Zn-СОД, ГПО [117]. Дисбаланс системы АОФ в опухолях кишечника приводит к накоплению в раковых клетках H_2O_2 и окислительному стрессу [186], чем многие авторы объясняют наличие в опухоли повышенного количества ДНК с основаниями, подвергшимися окислительной модификации, и вторичных продуктов ПОЛ.

Снижение активности и экспрессии АОФ (каталаза, ГПО, СОД) наблюдали также в ткани легочных карцином человека [182, 184]. Уменьшение активности каталазы и общей СОД при одновременном увеличении концентрации малонового диальдегида было обнаружено в ткани карцином шейки матки [81].

Поэтому можно предположить, что если бы на ранних этапах трансформации клеток (инициации и промоции) удалось создать

достаточный антиоксидантный потенциал, то это позволило бы предупредить или ограничить развитие опухолевого процесса.

Как известно, онкологической патологии зачастую сопутствует выраженное стрессорное воздействие, которое усиливает СРО, оказывая усугубляющее действие на течение болезни.

1.3. Влияние стресса на развитие онкологических заболеваний

В современном цивилизованном обществе у определенной части населения нарушены соотношения между стрессором и стрессорной реакцией. Такие нарушения, если они действуют в течение длительного времени, могут привести к серьезным заболеваниям, в том числе и к онкообразованию. Стрессовые нагрузки оказывают выраженное влияние на все функциональные системы организма. Наблюдения у людей и эксперименты на животных свидетельствуют о влиянии стресса на иммунную систему и о том, что изменение активности иммунной системы при эмоциональном стрессе, как и других органов и систем организма, зависит от 3 основных факторов: сила стрессорного воздействия, т.е от интенсивности стресс-реакции и ее продолжительности, времени действия стрессора относительно фазы иммунного ответа и резистентности организма и/или его иммунной системы к стрессорному повреждению. У здоровых людей умеренная стресс-реакция может вызывать стимуляцию активности иммунной системы, усиление естественной противоинойфекционной защиты либо незначительное и быстро проходящее состояние сниженной иммунореактивности. Тяжелая и длительная стресс-реакция сопряжена с продолжительным угнетением иммунного ответа вплоть до развития иммунодефицитного состояния [86, 139, 203].

Показано, что у студентов в период экзаменационной сессии увеличивается число В-лимфоцитов и уровень иммуноглобулинов в крови при незначительном уменьшении числа Т-лимфоцитов и, в частности Т-

супрессоров [28, 163]. При этом наиболее существенные изменения возникали у тех студентов, которые в большей мере испытывали чувство тревоги и страха. После каникул параметры иммунологической реактивности, как правило, нормализовались. У лиц со стабильным психоэмоциональным статусом, т.е. с незначительной стресс-реакцией или при ее отсутствии, показатели иммунологической реактивности оставались в пределах нормы. При умеренной стресс-реакции на эмоциональные стрессоры у здоровых людей может повышаться активность нормальных киллеров [123], т.е. клеток, которые осуществляют контроль антигенного гомеостаза и являются важным механизмом противоопухолевой защиты.

При действии стрессоров, вызывающих более сильную стресс-реакцию, возникает угнетение активности иммунной системы. Так, при сильном однократном эмоциональном стрессорном воздействии обнаружено значительное снижение активности нормальных киллеров. Угнетение механизма естественной противоопухолевой защиты является фактором риска онкологических заболеваний. Продолжительное и устойчивое снижение активности нормальных киллеров отмечено при длительном психоэмоциональном напряжении [164]. С этим может быть связана стимуляция опухолевого роста у лиц, тяжело переживающих психоэмоциональное состояние [9, 228].

При хроническом стрессорном воздействии происходит активация гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси с соответствующими нейроэндокринными нарушениями [183], вектор которых доходит до внутриклеточных изменений в мононуклеарах периферической крови [109], а стрессовые гормоны (адреналин, норадреналин и кортизол) существенно повышают инвазивный потенциал опухолевых клеток, экспрессирующих β -рецепторы [212]. Активация оси также вызывает гиперпродукцию глюкокортикоидов и это наряду с гиперпродукцией кортикотропин-рилизинг-гормона приводит к иммунодепрессии, что в свою очередь, может привести к развитию опухолевого роста клеток [80; 22].

Продолжительное влияние стресса на организм приводит к метаболическим изменениям в органах и тканях, усилению процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и образования активных форм кислорода, приводящим к оксидативному стрессу, при котором происходят повреждение клеточных мембран, снижение функций эндогенных антиоксидантов, повреждение структуры белков и липопротеинов. Причина этих негативных явлений кроется в быстрой инактивации пула ферментов свободными радикалами и в том, что для их последующего синтеза требуется значительное время [33, 67, 83, 86, 118], также занимающее ведущее место в онкогенезе [20, 46, 111].

Отмечено, что часто за несколько месяцев до начала развития онкологического заболевания, пациенты переживали стресс, чувство безнадежности, переходящее в депрессию [124, 158, 159, 162].

Психоэмоциональный стресс стимулирует секрецию кортиколиберина (КЛ), который по образному выражению Selye [204] является «рилизинг-фактором стресса». В норме КЛ стимулирует секрецию АКТГ и глюкокортикоидов, а через их посредство – секрецию цитокинов (ИЛ-1) в макрофагах. Эти гормоны и иммуномедиаторы, как упоминалось выше, участвуют с помощью механизмов отрицательной обратной связи в регуляции секреции инсулина S-клетками поджелудочной железы. В условиях эмоционального стресса, формирующего патологический очаг возбуждения, создаются условия для генерации нейропатологических синдромов, так называемой дисрегуляторной патологии [65], распространяющейся и на различные формы проявления аутоиммунной патологии.

Все это убедительно доказывает решающую роль стрессорных нагрузок в воздействии на иммунную систему и изменении гормонального равновесия, приводящих к повышенному производству атипичных клеток, что создает физические предпосылки для развития онкологического заболевания (рисунок 1).

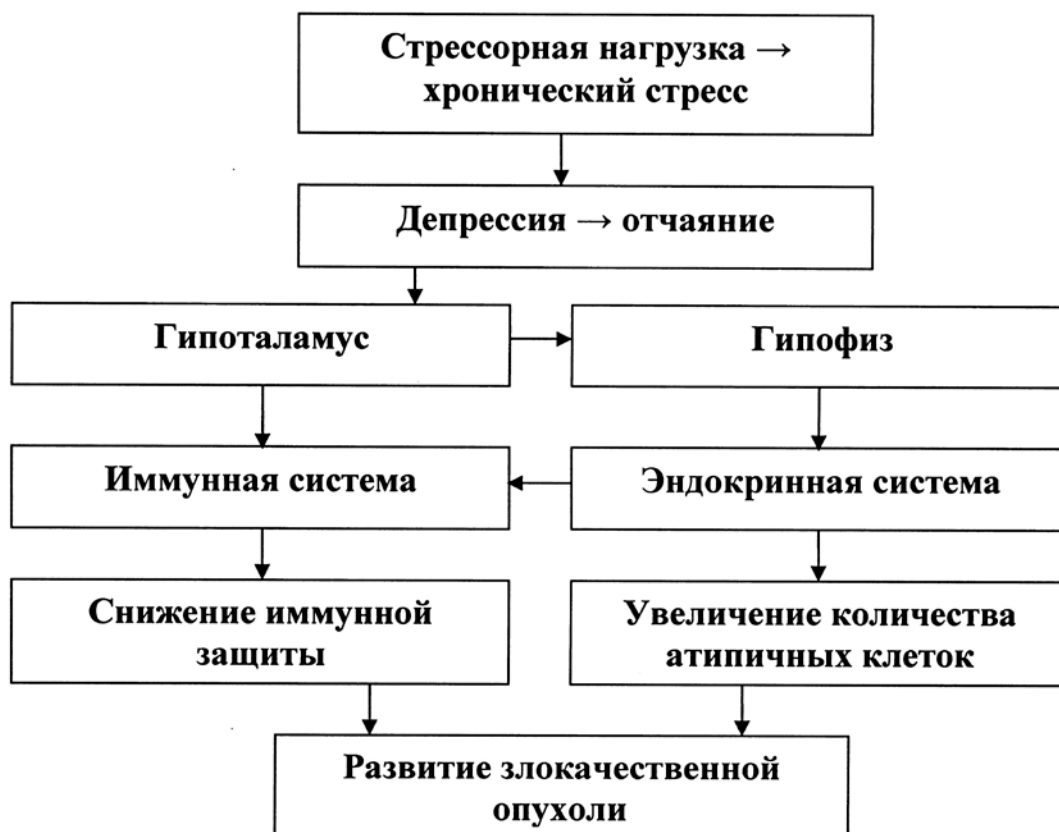


Рис. 1. Гипотетическая модель развития злокачественной опухоли при хронической стрессорной нагрузке

Приведенные выше данные свидетельствует о необходимости использования в лечении и профилактике онкологических заболеваний иммуномодулирующих средств, направленных на общую мобилизацию защитных сил организма, оптимизацию метаболических процессов, а также психоэмоциональную сферу.

К таким иммуномодулирующим средствам относятся природные эфирные масла растений, которые также активно влияют на эмоции и психологическое состояние, позволяют не только корректировать настроение и работоспособность, но и преодолевать стрессы и депрессивные расстройства.

1.4. Механизмы действия эфирных масел растений

Эфирные масла – это сложные многокомпонентные смеси летучих душистых и разнообразных по структуре органических веществ, образующихся в растениях в процессе жизнедеятельности. Представляют собой прозрачные, бесцветные или слегка окрашенные жидкости, имеющие выраженный характерный запах, обладающие свойством летучести, практически отсутствием растворимости в воде, способностью к окислению и осмолению под воздействием света и кислорода. В их состав входят вещества, относящиеся к различным классам органических соединений: алифатические, алициклические, ароматические и гетероциклические. Среди них встречаются углеводороды, спирты, кислоты, альдегиды, кетоны, фенолы, лактоны, оксиды, простые и сложные эфиры и другие соединения, количество которых варьирует от 120 до 500. [36, 102, 104, 167].

Интерес к эфирным маслам как к лечебным средствам основан на их биологической активности, которая во многом зависит от химического состава [167, 172]. Известно, что антиоксидантными и антирадикальными свойствами обладают многие терпены, причем активность циклических монотерпеновых углеводородов сопоставима с активностью α -токоферола и полифенолов [152].

К основным компонентам эфирных масел, составляющих группу терпенов, относятся: линалоол (3,7-dimetil-1,6-oktadien-3-ol) и линалилацетат (1,5-dimetil-1-vinil-4-heksenilacetat). Так, в эфирном масле из соцветий мускатного шалфея содержится почти исключительно линалилацетат (63%) и линалоол (21%), относящиеся к классу кислородсодержащих монотерпенов (рисунок 2). В эфирном масле лаванды содержание линалилацетата составляет 5 - 17%, а линалоола - 47-61% [102]. В эфирном масле эвкалипта шаровидного монотерпены представлены в основном цинеолом (71%) [45].

Применяются эфирные масла путем ароматизации помещений, массажа, ванн, компрессов и т.д. [10, 17, 143, 157, 205, 206]. Общим

термином для этих процедур является «ароматерапия», впервые введенный в 1928 году французским химиком, доктором Рене М. Гаттефоссе и означающий «использование запаха в качестве лекарства».

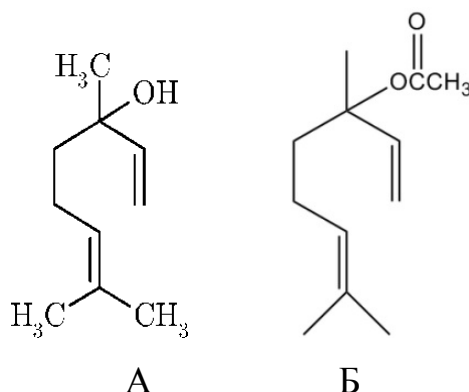


Рис. 2. Основные компоненты эфирных масел: терпеноиды
 А - линалоол (3,7-dimetil-1,6-oktadien-3-ol) и Б - линалилацетат
 (1,5-dimetil-1-vinil-4-heksenilacetat)

Метод лечения, при котором используются аэрозоли лекарственных средств естественного растительного происхождения, называют также аэрофитотерапией (в переводе с греческого «растительное воздухолечение»).

Несмотря на то, что практика применения эфирных масел в оздоровительных, лечебных и косметических целях насчитывает несколько тысяч лет, медицинская наука впервые стала исследовать и использовать их только в XX веке.

В настоящее время эфирные масла успешно применяются в медицинской практике, как самостоятельно, так и в комплексе с другими компонентами для усиления лечебных свойств последних [48, 130, 135, 168, 189, 190, 197].

Эфирные масла обладают бактерицидным, антисептическим, противовирусным, спазмолитическим, антидепрессантным, антиаллергическим, антиагрегантным, антиоксидантным, противовоспалительным действием, поэтому широко используются для лечения многих заболеваний, особенно,

верхних дыхательных путей, пневмонии, туберкулеза, в качестве ранозаживляющих средств [13, 32, 41, 97, 110, 114, 153, 168].

Эфирные масла воздействуют практически на все системы и органы, влияя на различные процессы в организме. Они обладают свойствами гормонов, активируют эндокринные железы, поддерживают механизм саморегуляции в организме [8, 134, 200, 214, 224]. Отмечено также их иммуностимулирующее, иммунокорригирующее [73, 149] и антиканцерогенное действие [15, 60, 88, 134, 214, 224].

Антиканцерогенные свойства эфирных масел

Антиканцерогенные свойства эфирных масел проявляются в торможении развития асцитной опухоли, увеличении продолжительности жизни животных [24], торможении взаимодействия канцерогенов с белками и образовании канцероген-белковых антигенов [75], корригирующем воздействии на маркеры онкологического риска (канцероген-белковых аддуктов) [87]. Причем подобное действие оказывают не только эфирные масла, но и отдельные терпеноиды. Так, растительные терпеноиды, например, активно способствуют синтезу долихолов, дефицит которых отмечается при различных патологиях, в том числе при неопластических процессах, нормализуя действие долихол-фосфатного цикла. Противоопухолевый эффект отмечен для терпена лимонена (metyl-4-isopropenyl cyclohexene) (рисунок 3), который содержится во многих эфирных маслах (в эфирных маслах [цитрусовых](#) до 90 % D-лимонена). Показано, что лимонен повышает уровень энзимов, включенных в цепочку элиминирования канцерогенов, что приводит к уменьшению их повреждающего действия [72, 225].

Антиканцерогенные свойства обнаружены у таких эфирных масел, как: гвоздичное, шалфейное, эвкалиптовое, жасминовое, анисовое, лавровое, пихтовое, эвгеноловое, а также у лавандового в смеси с шалфейным [58, 88, 126, 133, 191, 227].

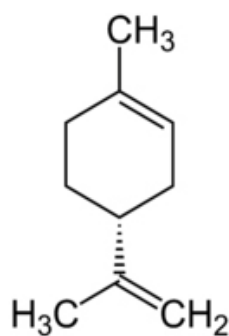


Рис. 3. Компонент эфирных масел – лимонен
(methyl-4-isopropenyl cyclohexene)

При этом у одних ЭМ выявлено воздействие преимущественно на В-иммунитет (анисовое и пихтовое масло), у других – на Т-иммунитет (эвкалиптовое), и третьи – как на Т-, так и В-звена иммунитета (шалфейное, гвоздичное, жасминовое, лавровое, эвгеноловое) [75].

Отмечено положительное действие масел при лечении рака кожи. Многочисленные эксперименты свидетельствуют о возможности применения ЭМ герани, мускатного шалфея, кипариса, эвкалипта, чайного дерева, гвоздики в качестве дополнительных средств при лечении онкологических заболеваний [107].

Антиканцерогенные соединения классифицируются в соответствии с тем этапом канцерогенеза, на котором они эффективны. К первому типу ингибиторов относятся вещества, предотвращающие образование собственно канцерогенов из их предшественников, ко второму - блокирующие агенты, которые препятствуют доступу канцерогенов к критическим мишеням или взаимодействию с ними, к третьему - подавляющие агенты, препятствующие развитию опухолевого процесса в клетках, уже подвергшихся взаимодействию с канцерогеном [54].

Взаимодействие канцерогенов с нуклеиновыми кислотами и клеточными белками является ключевым звеном в процессах инициации канцерогенеза [44, 55]. Модификация клеточных белков, происходящая в результате их взаимодействия с канцерогенами, может обуславливать

повреждение процессов репликации, транскрипции и клеточного деления и, таким образом, модулировать трансформацию клеток или опухолевую прогрессию. Показано [75], что образующиеся при взаимодействии канцерогенов с белками КБА (канцероген-белковый антиген), являются высокоспецифическими маркерами канцерогенеза и могут быть использованы для выявления лиц с повышенным онкологическим риском среди промышленных рабочих, а также как эффективные маркеры контроля и регистрации антиканцерогенного действия изучаемых модуляторов канцерогенеза.

Выявлено [75] антиканцерогенное и иммуномодулирующее действие растительных ароматических веществ (шалфейное, гвоздичное, жасминовое, анисовое, эвгеноловое ЭМ, пихтовое ЭМ, масло лавра и эвкалиптовое) на мышцах линии СЗНА, получавших в течение 15 дней канцероген бензидин, который вызывает у людей образование опухоли мочевого пузыря, а у мышей этой линии - развитие гепатом. Ингаляционное введение мышам одновременно с бензидином эфирного масла шалфея мускатного вызывало полное подавление образования бензидин- и 3-оксиантранилат -содержащих КБА (канцероген-белковых аддуктов) в сыворотке крови и печени всех исследованных животных, а также стимуляцию образования антителообразующих В-клеток, розеткообразующих Т-лимфоцитов в селезенке, вилочковой железе и лимфатических узлах. Использование вместо шалфейного эвкалиптового эфирного масла подобного влияния на образование КБА не оказывало, но способствовало увеличению числа розеткообразующих Т-клеток (РОК) в селезенке, лимфатических узлах и вилочковой железе, а также числа антителообразующие клетки (АОК) в селезенке. Все эти результаты свидетельствуют о том, что ЭМ блокируют взаимодействие канцерогенов с критическими мишенями клетки и препятствуют их иммунодепрессивному действию на Т- и В-звена иммунитета.

В Крымском НИИ физических методов лечения и климатологии имени

И.М. Сеченова показано противоопухолевое действие эфирного масла эвкалипта [14, 103]. А также выяснено, что для профилактики возникновения опухолей у лиц с повышенным профессиональным онкологическим риском могут быть применены эфирные масла шалфея и лаванды [82, 103].

Выявлена также иммуномодулирующая активность эфирных масел шалфея мускатного, лаванды, кориандра, монарды, розы, и др., проявляющаяся в активном влиянии на первичный и вторичный иммунный ответ [95].

Кроме того, имеются многочисленные экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что в процессах инициации и промоции канцерогенеза важную роль играют свободные радикалы [20, 46, 99, 175].

Установлено, что некоторые эфирные масла (эфирное масло лимона, лаванды, монарды и шалфея) снижают образование токсичных продуктов перекисного окисления липидов в организме человека, в частности малонового диальдегида, повышая активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза и др.) [6, 30, 46, 70].

Обнаружено, что наиболее выраженными антиоксидантными свойствами обладают многие терпеноиды, являющиеся основными соединениями в эфирных маслах [23, 115, 116, 134]. Доказана антиоксидантная активность монотерпеновых углеводов [152].

В.В. Николаевский с соавторами [75] выделяют следующие механизмы действия ароматических веществ: 1 - ассоциативный, основанный на принципе запоминания запахов с привычными представлениями; 2 – подкорковый, безусловно-рефлекторный, связанный с развитием особых обонятельных рефлексов (тонизирующих, седативных, гипотензивных). Во втором случае носитель запаха должен быть комплементарен рецептору. Чтобы взаимодействие рецептора и соединения было успешным, вещество должно иметь молекулярную массу от 17 до 300 дальтон, только в этом диапазоне они воспринимаются человеком.

M.A Sayette и D.J.Parrott [202] предлагают три возможных механизма действия эфирных масел: 1 - фармакологический, согласно которому, вследствие использования эфирных масел в организме происходят химические изменения, вызванные взаимодействием составных частей эфирных масел с гормонами, ферментами, кислотами организма и др.; 2 - физиологический, с задействованием нервной системы, по которому эфирные масла оказывают стимулирующее или успокаивающее действие на органы или ткани организма; 3 - психологический, согласно которому результатом вдыхания ароматов эфирных масел является индивидуальный (сознательный или подсознательный) ответ организма на запах.

По теории профессора Букбауэра на мембранах обонятельных клеток слизистой оболочки носа (точки Боннье) в липидном слое существует около 120 видов G-протеинов, которые транспортируют запахи в клетки чувствительных рецепторов. Каждый из этих видов способен взаимодействовать только с молекулами строго определенной массы и формы. После захвата ароматического соединения G-протеин делится на три субъединицы: альфа-, бета-, гамма-, которые доставляют ароматическую молекулу к рецепторной клетке, индуцируя ее деполяризацию, после чего сигнал передается генерализованными импульсами в обонятельные зоны мозга. Затем альфа-, бета- и гамма-субъединицы вновь соединяются в G-протеин, готовый к переносу новых ароматических веществ. При этом показано, что концентрация аромата в воздухе не влияет на скорость распада и восстановления G-протеинов, вследствие чего высокие дозировки не усиливают эффективности действия эфирных масел.

Вышеописанный механизм создает блокировку восприятия ароматов через определенное количество времени, вследствие чего с течением времени происходит притупление остроты восприятия тождественного запаха. Чем проще вещество, тем меньшее количество видов G-протеинов участвует в его переносе. Поэтому восприятие синтетических ароматов заканчивается через 2-7 минут, а натуральных (макросоставных) – через 20-90 минут.

Сейчас уже доказано, что запах формируется не волнами инфракрасного излучения, как считали сторонники волновой теории запахов, а молекулами самого ароматического вещества. По стереохимической теории обоняния Монкриффа-Эймура молекулы ароматических веществ различаются друг от друга по форме и величине, при совпадении которых с формой и величиной рецепторных участков обонятельных клеток (по принципу “ключа и замка”), и осуществляется восприятие запаха. При смешивании отобранных ими семи первичных запахов, было возможно получение любого из известных ароматов, которым соответствовало 7 типов обонятельных рецепторов [25].

Однако все перечисленные теории не объясняют, каким образом эфирные масла проявляют противоопухолевую активность. Поэтому возникает необходимость изучения их воздействия с позиции взаимосвязи лимбической, эндокринной и иммунной систем.

1.5. Взаимосвязь нервной, эндокринной и иммунной систем

В настоящее время представления о регулирующем воздействии на иммунитет гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы экспериментально достаточно обоснованы [35, 107, 154, 155]. Так, цитокины иммунной системы, передающие сигналы от клетки к клетке, напоминают гормоны – основу функционирования эндокринной системы. В свою очередь, эндокринная система связана с головным мозгом через ось гипоталамус – гипофиз – надпочечники (рисунок 4).

Известно, что стресс, тяжелые переживания и другие состояния вызывают уменьшение активности лимфоцитов [176]. Лимфоидные органы иннервируются симпатическими и парасимпатическими нервными волокнами, а тимус формируется из эмбриональной нервной ткани и имеет общие антигены с головным мозгом. Лимфоциты продуцируют ряд соединений, которые можно рассматривать как гормоны или нейропептиды,

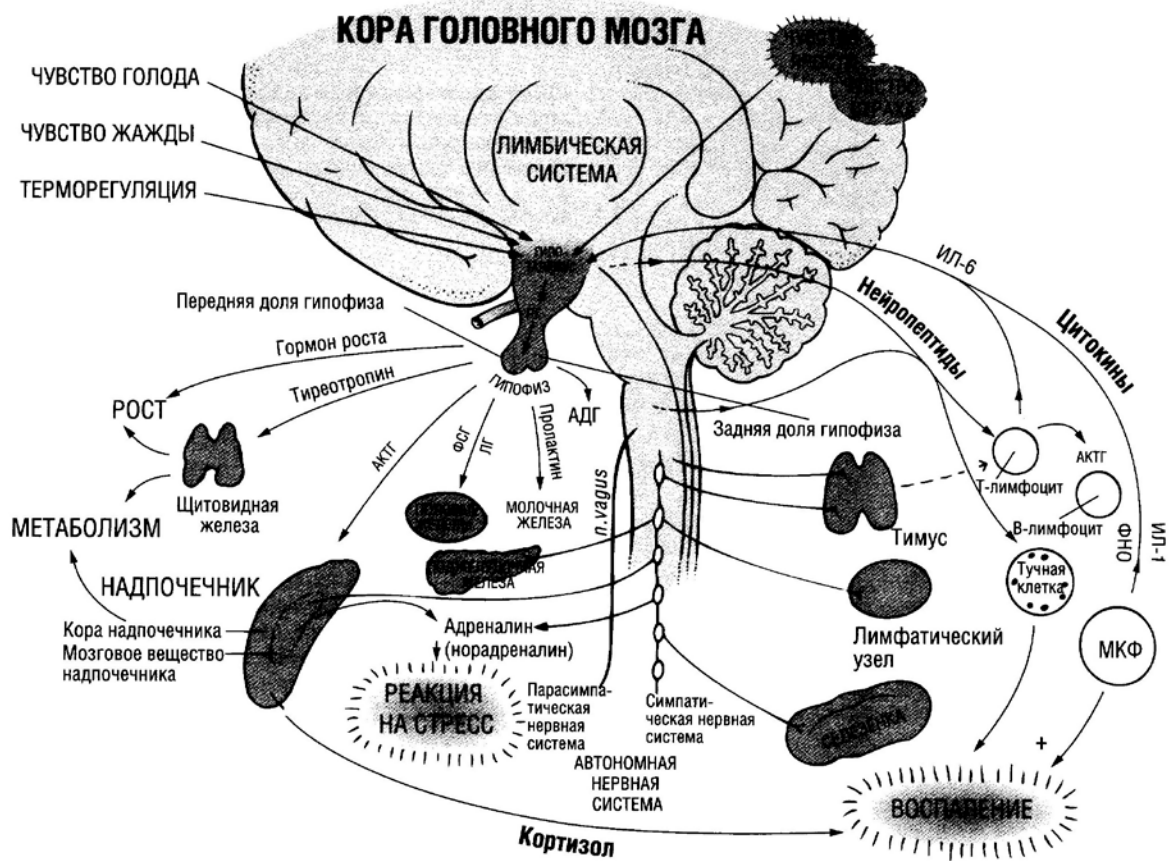


Рис. 4. Взаимосвязь нервной, эндокринной и иммунной систем по Плейфайеру Д. и Чейну Б. [85]

в свою очередь многие цитокины оказывают влияние на клетки мозга. Установлено, что изменения уровней аутоантител к некоторым белкам нервной ткани соответствуют различным соматовегетативным проявлениям и коррелируют со степенью депрессии [79].

Обнаруживается большое сходство в организации и функционировании нервной и иммунной систем. Нейроны, сохраняя специфическую организацию и функции, могут одновременно функционировать как эндокринные клетки, что можно сказать и о клетках иммунной системы. Участвуя в регуляции гомеостаза с помощью специфических иммунных механизмов, эти клетки способны экспрессировать рецепторы ко многим сигнальным молекулам, опосредующим воздействия нейроэндокринной системы [125, 176], а также синтезировать некоторые эволюционно древние

(консервативные) пептиды [148]. В их ряду заслуживают упоминания нейропептиды, тахикинины, инсулиновые гормоны, проопиомеланокортин, дериватом которого является АКТГ, и, наконец, гормон роста и пролактин, рецепторы которых относятся к большому семейству гемопозитиновых рецепторов к интерлейкинам (ИЛ), эритропоэтину, гранулоцитарно-макрофагальному колониобразующему фактору [219].

Имеются факты, свидетельствующие о способности гипоталамических нейросекреторных клеток экспрессировать не только рецепторы к ИЛ-1 [121], но и сам ИЛ-1 [120]. Кроме того, было показано, что клетки астроцитарной глии способны секретировать интерферон, выделение которого повышает экспрессию ИЛ-2 в нервных структурах мозга [215].

Анализ сходства в организации нервной и иммунной систем показывает, что обе системы состоят из большого числа фенотипически различающихся клеток, организованных в сложные сети [220]. В пределах такой сети клетки взаимосвязаны и функционируют по принципу обратной связи, когда пусковым сигналом служит адекватный раздражитель, а конечный ответ направлен на обеспечение полезного результата. Различие заключается в том, что в нервной системе клетки жестко фиксированы в пространстве, тогда как в иммунной они непрерывно перемещаются и лишь кратковременно взаимодействуют друг с другом.

Существует зависимость уровня иммунной реактивности организма от условно-рефлекторной функции ЦНС, а также способность разных отделов головного мозга существенно и дифференцированно влиять на иммунные реакции [106].

Функциональную близость нервной и иммунной клетки можно проследить на примере некоторых форм патологии. Так, феномен глутаматной гибели нейронов наблюдается в нейронах мозга, возбуждающим медиатором которых является глутамат – доминирующий нейромедиатор мозга. Этот феномен наблюдается в ишемизированных участках мозга. В глутаматэргических нейронах таких участков мозга регистрируются

высокочастотные разряды, создающие глутаматный каскад. Разряды, следующие один за другим, не позволяют потенциалзависимым кальциевым каналам закрываться, что приводит к избыточному поступлению Ca^{2+} в постсинаптические нейроны. Связываясь в них со своим рецептором кальмодулином, кальций активирует фермент NO-синтазу. Активированный фермент в присутствии восстановленного НАДФ катализирует превращение L-аргинина в газообразный промежуточный метаболит – окись азота (NO). Окись азота, диффузно выделяясь из клетки, взаимодействует с соседними нейронами. Её рецепторной мишенью является атом железа в активном центре молекулы фермента гуанилатциклазы. Связываясь с железом, NO инициирует конформационные изменения молекулы фермента, что приводит к активации последнего (аллостерический эффект) и к продукции цГМФ, выполняющего функцию вторичного мессенджера, который, взаимодействуя с G-белками, возбуждает соседние нейроны. Все это позволяет рассматривать NO, как нейромедиатор [127, 138].

Известно, что с возрастом снижаются реакции иммунной защиты и параллельно снижается активность гормона роста. Сходным образом при физиологических состояниях, сопровождающихся угнетением иммунной системы, например, при беременности снижается секреция пролактина, окситоцина и повышается секреция половых стероидов – эстрогенов и прогестерона. После родов, когда снижается секреция стероидных гормонов и вновь активизируется иммунная система, повышается секреция пролактина и окситоцина. Снижение функции иммунной защиты с возрастом идет параллельно с повышением секреции аденокортикотропного гормона (АКТГ) [35].

Другим примером тесного взаимодействия нервной, иммунной и эндокринной систем могут служить физиологические механизмы, лежащие в основе гипоталамической регуляции секреции одного из важных факторов поддержания гомеостаза – инсулина. Так, показано, что гипоталамус способен стимулировать выделение инсулина из S-клеток панкреатических

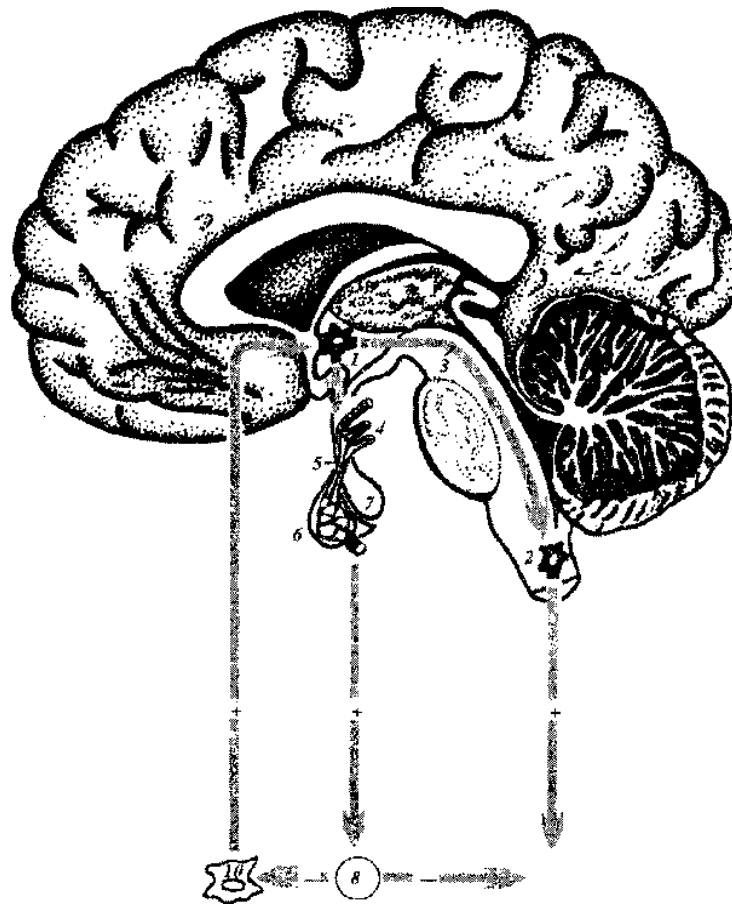


Рис. 5. Схематическое воспроизведение механизмов обратных связей, лежащих в основе взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем в процессе гипоталамической регуляции углеводного гомеостаза по Акмаеву И.Г. [2]:

1 – паравентрикулярное ядро гипоталамуса; 2 – дорсальное ядро вагуса в продолговатом мозге; 3 – паравентрикуловагусная система нервных связей; 4-6 – портальная система сосудов гипофиза: 4 – капиллярные корни портальных вен в стебле гипофиза; 5 – портальные вены гипофиза; 6 – распад портальных вен в передней доле гипофиза на вторичную сеть капилляров; 7 – задняя доля гипофиза; 8 – клетки коры надпочечников, секретирующие глюкокортикоиды; 9 – инсулинсекретирующие S-клетки панкреатических островков; 10 – макрофаги, секретирующие ИЛ-1

островков по нервнопроводниковому пути, который назвали «паравентрикуло-вагусным» [5, 112, 113]. Этот путь начинается от нервных

клеток паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гипоталамуса, переключается синаптически в продолговатом мозге на нейроны дорсального ядра вагуса и достигает в составе волокон вагуса панкреатических островков. По нему к S-клеткам поступают стимулирующие сигналы. Тормозящие сигналы приходят от нейронов ПВЯ гуморальным путем: в нейронах ПВЯ секретирется рилизинг-гормон кортиколиберин (КЛ), который стимулирует в гипофизе секрецию АКТГ и через его посредство секрецию глюкокортикоидов в коре надпочечников, которые тормозят выделение инсулина из S-клеток и одновременно стимулируют в макрофагах секрецию иммунного пептида ИЛ-1 (рисунок 5).

Показано, что в ответ на действие патогенных агентов из макрофагов выделяется ИЛ-1 [18]. Этот иммунный пептид способен проникать в мозг через гематоэнцефалический барьер в тех его участках, где существуют «окна» для подобного рода веществ. К ним относится система циркумвентрикулярных органов [170], в которых существуют специфические механизмы транспорта для цитокинов [122, 147]. Попав в мозг, ИЛ-1 стимулирует секрецию КЛ в вышеупомянутых нейронных популяциях ПВЯ гипоталамуса [146, 160], причем этот процесс является зависимым от присутствия простагландина E_2 [193]. В свою очередь, КЛ стимулирует секрецию АКТГ в гипофизе, что приводит к стимуляции секреции глюкокортикоидных гормонов в коре надпочечников. Последние при повышенной секреции способны тормозить секрецию ИЛ-1 в макрофагах и тем самым угнетать иммунный ответ в случае его избыточности.

Таким образом, здесь работают механизмы отрицательной обратной связи, в которых роль триггера выполняет иммунный пептид, а функции исполнителя – нейропептид и гормоны эндокринной системы [193].

С этими механизмами исследователи впервые столкнулись, изучая влияние иммунного стресса на состояние гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы крыс в условиях острого и хронического стресса [4, 144]. Иммунный стресс воспроизводился введением эндотоксина – антигена,

в качестве которого были использованы липополисахариды (ЛПС). Острый стресс моделировали однократным введением ЛПС в дозе 250мкг/100 г внутрибрюшинно, а хронический – длительным введением антигена в нарастающих дозах от 25 мкг до 250 мкг в течение 13 дней. Об активности нейроэндокринной оси судили по динамике экспрессии соответствующей мРНК (в паравентрикулярном ядре – мРНК КЛ, в гипофизе – мРНК проопиомеланокортина, являющегося предшественником АКТГ, в коре надпочечников – мРНК 11 β -гидроксилазы, ключевого фермента в биосинтезе кортикостерона) с помощью метода гибридизации *in situ*, а также по уровню циркулирующих гормонов (АКТГ и глюкокортикоидов), концентрация которых в плазме крови определялась с помощью стандартных методов. Полученные результаты оказались весьма любопытными. При моделировании острого стресса они свидетельствовали об активации всех звеньев нейроэндокринной оси, т.е. о повышенной секреции КЛ в нейронах ПВЯ и соответственно о высоком уровне секреции АКТГ в гипофизе и глюкокортикоидов в коре надпочечников. Что касается хронического стресса, был получен парадоксальный эффект: секреция КЛ в ПВЯ резко угнеталась, в то время как секреция АКТГ в гипофизе и глюкокортикоидов в коре надпочечников сохранялись на том же уровне, что и при остром стрессе. Подобная картина наблюдается и при ряде хронических воспалительных аутоиммунных заболеваний, таких как артрит, вызванный введением адьюванта, системная красная волчанка и аллергический энцефаломиелит [196, 220]. Подавление синтеза КЛ в этих случаях может быть связано как с длительным ингибиторным действием глюкокортикоидов, уровни которых повышены, так и с дисбалансом нейротрансмиттеров в гипоталамусе [145, 220]. В любом случае, при подавлении синтеза центрального нейрого르몬а гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной оси, отмечается парадоксальная активация ее гипофизарно-надпочечникового звена.

Имеется также ряд работ, экспериментально доказывающих, что эмоциональное состояние играет существенную роль в восприимчивости

всех болезней, в том числе онкологических [180, 198, 218, 223].

Таким образом, многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что: воздействие хронического стресса способствует злокачественному опухолевому росту клеток, существует тесная взаимосвязь между основными регуляторными системами организма (нервной, эндокринной, иммунной), любое воздействие на одну из систем способно оказывать влияние на другие. На основании этого можно полагать, что наибольшего антиканцерогенного эффекта можно достичь лишь при одновременном воздействии на все три системы.

Эфирные масла растений *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* наряду с противоопухолевой активностью проявляют антистрессорные и иммунокорригирующие свойства. Однако в доступной литературе мы не нашли данных о механизме этого действия и одновременном влиянии их на иммуно-эндокринную и лимбические системы.

Поэтому необходимо было изучить влияние эфирных масел на фоне хронического стресса у мышей:

- на противоопухолевую активность *in vivo*, выражающуюся в торможении развития асцита и увеличении продолжительности жизни;
- на некоторые показатели адаптивного (IgG) и естественного звена иммунитета (С3 компонент комплемента), а также эндокринной системы (кортизол);
- на антиоксидантную (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза) и прооксидантную системы (перекисное окисление липидов и карбонилирование белков);
- на поведенческие реакции, отражающие состояние центральной нервной системы животных, и сопоставить их с процессом роста опухолевых клеток и изменениями вышеуказанных биохимических показателей.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материал исследования

Работа основана на анализе биохимических показателей плазмы и сыворотки крови, а также печени 276 белых половозрелых лабораторных мышей линии BALB/c. Были использованы мыши-самцы, массой 25-28 г, одного года и одного месяца рождения с целью сведения к минимуму возрастных различий исследуемых биохимических и физиологических показателей нейроиммуноэндокринной (НИЭ) систем.

Первоначально мыши были получены в Филиале Института биоорганической химии АН РФ (Пушино). Затем линия поддерживалась нами путем близкородственного скрещивания (метод инбридинга). Часть мышей была получена из Института биофизики клетки РАН (Пушино).

При проведении экспериментов с мышами неуклонно соблюдались положения Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным [57].

В работе использовался штамм клеток мышинной миеломы линии Sp 2/0 Ag14, любезно предоставленный нам в Научно-производственном центре медицинской биотехнологии МЗ РФ (Москва) и ГНЦ НИИ ОЧБ (Санкт-Петербург).

В качестве иммуномодулирующих, антиоксидантных и антидепрессивных средств были использованы эфирные масла растений *Eucalyptus globulus*, *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* (Научно - производственная фирма «Царство ароматов», г. Судак, Крым).

Для сравнения антидепрессантной активности использовался препарат флуоксетин – производное пропиламина, механизм действия которого связан с избирательной блокадой обратного нейронального захвата серотонина в ЦНС (Биоком, Ставрополь).

Для определения $C3(H_2O)$ были использованы моноклональные

антитела H11C3 и G10, полученные в лаборатории А.М. Ищенко ГНЦ НИИ ОЧБ и любезно нам предоставленные.

Принадлежность других использованных в работе материалов указывается при их непосредственном упоминании в описании экспериментальных методов.

2.2. Моделирование хронического стресса у мышей BALB/c

Хронический стресс, вызывающий у мышей депрессивно-подобное состояние, моделировали в течение 2 недель, используя методику ежедневного 20-минутного «вынужденного плавания» [188].

Для этого животное погружали в прозрачный пластиковый цилиндр высотой 60 см диаметром 50 см, наполненный водой (температура 27-28°C) таким образом, чтобы оно не имело возможности опереться задними конечностями или хвостом о дно цилиндра и выбраться. Через 5-7 мин мыши прекращали попытки выбраться из цилиндра и начинали опускаться на дно. Такое поведение интерпретировалось как пассивная стратегия борьбы со стрессом – поведенческое отчаяние.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Оценка противоопухолевого эффекта по увеличению продолжительности жизни

Расчет увеличения продолжительности жизни мышей (УПЖ) проводили, руководствуясь рекомендациями [72], с учетом длительности эксперимента по формуле:

- 1 - по медиане продолжительности жизни (МПЖ),
- 2 - по увеличению продолжительности жизни (УПЖ) в сравнении с контролем.

УПЖ рассчитывали по формуле:

$УПЖ = [(МПЖ_о - МПЖ_к) / МПЖ_к] \cdot 100\%$, где

МПЖ_к – медиана продолжительности жизни в контрольной группе;

МПЖ_о – медиана продолжительности жизни в опытной группе.

Расчет торможения прироста массы тела проводили по следующей формуле (ТПМ):

$ТПМ = [(\Delta_k - \Delta_o) / \Delta_k] \cdot 100\%$, где

Δ_k - прирост массы тела в контрольной группе,

Δ_o - прирост массы тела в опытной группе.

Расчет торможения развитие асцита (ТРА) определяли по формуле:

$ТРА = [(АЖ_к - АЖ_о) / АЖ_к] \cdot 100\%$, где

АЖ_к - количество асцитической жидкости в контрольной группе,

АЖ_о - количество асцитической жидкости в опытной группе.

2.3.2. Определение концентрации иммуноглобулинов G в сыворотке крови мышей

Определение уровня иммуноглобулинов G проводили в сыворотке крови методом ИФА.

Забор периферической крови осуществляли из хвостовой вены. Для этого мышам надрезали кончик хвоста, кровь забирали микропипеткой в количестве 3-5 мкл и переносили в пробирки с 1000-кратным объемом холодного физиологического забуференного раствора (PBS), pH 7,4. После тщательного перемешивания пробирки с раствором центрифугировали при 1500 g 10 минут для осаждения форменных элементов. Сыворотку крови отделяли и определяли уровень иммуноглобулинов G с помощью твердофазного ИФА. Схема ИФА имела следующий вид:

1. Проводили иммобилизацию антигенов в 0,05 М натрий-бикарбонатном буферном растворе (pH 9,2) на полистироловых 96-ти луночных плоскодонных планшетах (“Flow”, Великобритания и “Costar”,

Нидерланды) по 50 мкл на лунку. В качестве антигенов использовали сыворотку крови мышей в конечном разведении 1:200.

2. Блокирование свободных центров проводили путем нанесения на полистироловые планшеты 10 %-ого раствора бычьего сывороточного альбумина (BSA) по 100 мкл в лунку.

3. Вносили конъюгат кроличьих антител против мышинных иммуноглобулинов G, конъюгированных с ПХ по 50 мкл в лунку в буферном растворе PBST (в рабочем разведении 1 : 1000).

4. Вносили по 100 мкл в лунку субстрата: раствор ортофенилендиамина (ОФД) – 5 мг на 10 мл 0,05 М цитратного буфера, pH 4,5, с добавлением 5 мкл 30% перекиси водорода.

5. Через 5-30 минут инкубации на шейкере (после развития окраски) для остановки реакции вносили 5% серную кислоту по 50 мкл в каждую лунку.

После каждого этапа (за исключением 5 этапа) планшеты с соответствующими растворами инкубировали при 37°C в течение 1 часа. После 2, 3 и 4 этапов планшеты отмывали 6-10 раз холодной водой и трижды раствором забуференный физиологический раствор (PBST).

Результаты учитывали на спектрофотометре “Multiskan” (“Flow”, Великобритания) при длине волны 492 нм, оптическом пути 3 мм (соответствует 100 мкл раствора в лунке 96-ти луночного планшета).

Концентрацию IgG определяли по калибровочному графику, построенному исходя из результатов титрования сыворотки крови интактных мышей (от 1/25 до 1/3200). Исходя из предыдущих исследований и литературных данных, за среднее значение концентрации IgG (1,4 мг/мл) принимали разведение сыворотки 1:200.

2.3.3. Определения концентрации кортизола в сыворотке крови мышей

Для определения концентрации кортизола проводили забор крови из глазной орбиты животных. Отобранную кровь обводили стальной иглой, инкубировали в термостате при 37°C в течение 30 минут и центрифугировали 10 мин при 1500 g, после чего отделяли сыворотку.

Уровень кортизола в сыворотке крови определяли с помощью ИФА набора (ЗАО «НВО Иммунотех», Москва), предназначенного для определения концентрации кортизола методом твердофазного ИФА на полистироловых планшетах.

Конкурентный одностадийный ИФА проводили, используя следующую схему (рисунок 6):

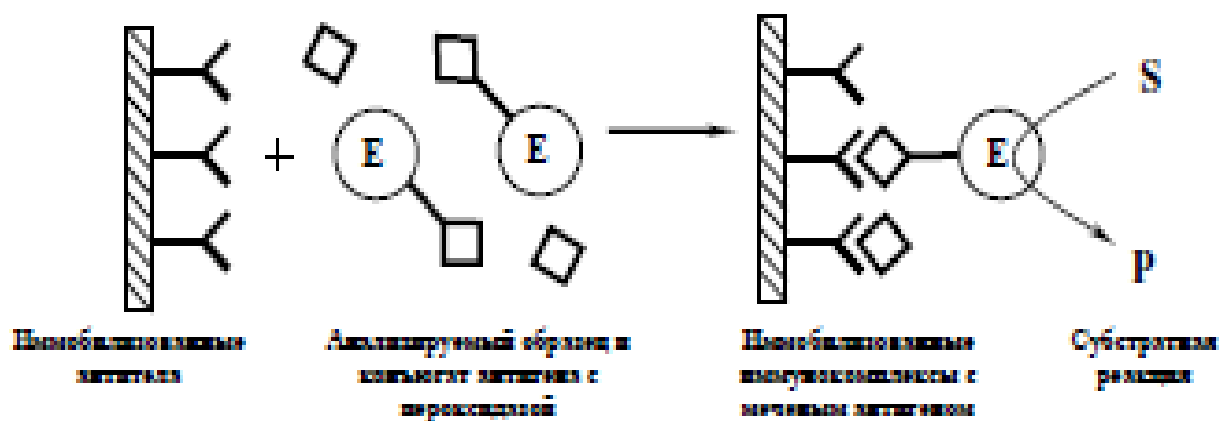


Рис. 6. Схема конкурентного одностадийного ИФА

1. Вносили в лунки планшета по 0,05 мл антитела к кортизолу, после чего инкубировали на шейкере 1 час при +37°C.

2. Промывали лунки планшета 6-10 раз холодной водой и трижды раствором PBST.

3. Вносили в каждую лунку планшета по 0,02 мл калибровочных проб, контрольной сыворотки, исследуемых сывороток крови, и сразу же по 0,1 мл конъюгата антител с пероксидазой. Инкубация 1 час при +37°C.

4. Вносили в лунки планшета по 0,1 мл субстратного раствора. Субстрат – 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ). Инкубация 10-15 мин при +37°C.

5. Вносили в лунки планшета по 0,1 мл стоп-реактива, содержащего 0,5 М серную кислоту.

6. Измеряли оптическую плотность на спектрофотометре “Multiskan” (“Flow”, Великобритания) при длине волны 450 нм, оптическом пути 3 мм.

Величина оптической плотности пропорциональна количеству кортизола в образце сыворотки крови. Концентрацию кортизола в определяемых образцах рассчитывали по калибровочному графику, построенного по стандартному раствору кортизола (мг/мл).

2.3.4. Определение уровня C3(H₂O) компонента комплемента в процессе инкубации сыворотки крови

Схема ИФА для определения C3(H₂O) имела следующий вид:

1 – проводили сенсibilизацию планшета мышинными моноклональными антителами H11C3, растворенными в 0,05 М натрий-бикарбонатном буфере, рН 9,2, в концентрации 10 мкг/мл, по 50 мкл в лунку;

2 – проводили сенсibilизацию раствором BSA 10 по 100 мкл в лунку;

3 – вносили исследуемую сыворотку в разведении 1/400-1/800 (при определении по 50 мкл в лунку; в контрольные лунки вносили донорскую сыворотку/плазму (пул = 50) в разведении от от 1:50 до 1:3200;

4 – вносили по 50 мкл в лунку моноклональные антитела G10, взаимодействующих с антигенной детерминантой, экспонированной на конформационной форме C3 компонента - C3(H₂O) (разведение в PBST 1/1000);

5 – вносили конъюгат кроличьих антител против IgG мыши с пероксидазой в разведении 1/1000.

После каждого этапа планшеты инкубировали в течение 1 часа при 37°

С, затем отмывали холодной водой и раствором PBST. После внесения субстрата инкубацию проводили в течение 15-20 минут до появления желтой окраски. Останавливали реакцию путем внесения 5% серной кислоты по 50 мкл в каждую лунку.

Уровень гидролизной формы С3 компонента комплемента определяли по калибровочному графику, построенному исходя из результатов титрования сыворотки крови интактных животных.

2.3.5. Оценка «степени депрессии» у мышей

Через 14 дней моделирования депрессивно-подобного состояния у мышей определяли «степень депрессии». Для этого проводили процедуру ежедневного 20-минутного «вынужденного плавания», во время которого в течение 5 мин регистрировали время неподвижного состояния животного, так называемого «зависания». В этом тесте неподвижность воспринимается как пассивная стресс-стратегия выживания или поведенческое отчаяние.

2.3.6. Оценка поведенческих реакций у мышей

Оценку индивидуальных показателей поведенческих реакций у мышей проводили в тесте «открытое поле». Процедура включала подготовительный период и собственно тестирование. «Открытое поле» представляло собой камеру 1 м в длину и 1 м в ширину, с высотой стенок 0,5 м, из белого пластика, дно которой было расчерчено на 25 равных квадратов. Освещение производилось лампой мощностью 100 Вт, подвешенной на высоте 1,5 м от дна камеры.

Подготовительный период

За 60 минут до тестирования животных помещали в затемненный картонный пенал размером 300×150×100 мм с отверстиями для доступа воздуха. Чтобы погрешность опыта имела систематический характер, в этот

период исключались перегруппировка животных, кормление, взятие в руки и другие активные манипуляции. Такие процедуры, как метка, перемещение из одной клетки в другую, формирование новых групп (перегруппировка) и т.д. проводили с животными за 24 часа до тестирования.

Собственно тестирование

1. Помещение животного в «Открытое поле».

Существуют два способа помещения животного в «Открытое поле» (ОП): в центр или у стенки. Поскольку мы не нашли информации о том, что способ помещения животного в «поле» влияет на его последующее поведение, мышь помещалась в центр поля.

Тест ОП был предложен [156] для регистрации поведения животных в ответ на "новые, потенциально опасные стимулы" [100].

2. Регистрируемые параметры (формы поведения).

В тесте ОП регистрировали количество пересеченных линий квадратов (горизонтальная двигательная активность), подъем на задние лапы (вертикальная стойка), заглядывание за край «поля» (ориентировочно-исследовательская активность), количество актов груминга (умываний) и дефекаций (эмоциональная реакция).

Горизонтальная двигательная активность животных в ОП включает пробежки по разным траекториям, вплоть до кружения вокруг одного места. Основным критерием для идентификации данной формы поведения является участие в перемещении животного всех четырех лап, поэтому за единицу перемещения при визуальной регистрации поведения принимали один пересеченный квадрат. Если животное находилось в пределах одного квадрата (всеми четырьмя лапами), а затем перешло в смежный с ним (задние лапы пересекли разделяющую их линию), то считалось, что пересечен один квадрат.

Вертикальная двигательная активность характеризуется поднятием передних лапок.

Заглядывание за край «поля» представлена двумя видами:

1 – задние лапы животного остаются на полу «поля», а передние упираются в стенку; 2 – обнюхивание краев «поля».

Эмоциональность (груминг) животных характеризуется 1-2 быстрыми круговыми движениями лап вокруг носа и небольшой области около него, а также умыванием области глаз, заведением лап за уши и переходом на умывание всей головы, лап, боков, туловища, аногенитальной области и хвоста.

Уровень дефекации считается индексом "эмоциональности" животного. Для определения уровня дефекации подсчитывали число болюсов, оставленных животным во время пребывания в экспериментальной установке.

Длительность эксперимента

Учитывая то, что поведение животных связано лишь в первые 2-4 минуты тестирования с такими эмоциогенными факторами, как внезапность, необычность и новизна, а затем переходит в поведение патрулирования, которое внешне не отличается от первоначального, то в наших экспериментах время наблюдения составляло 5 мин.

2.3.7. Ингаляционное введение эфирных масел

Проведение одного сеанса заключалось в распылении эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в соотношении 2:1 или *Eucalyptus globulus* с парами воды при температуре 80°C в помещении 18 м³ (до концентрации в воздухе 4-5 мг/м³) в течение 45 минут. Всего проводилось 14 сеансов.

2.3.8. Определение конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида

Принцип метода. Выявление и количественное определение малонового диальдегида определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой

(ТБК – реактивные продукты) на основе метода Э.Н. Коробейниковой.

Ход определения. Перед проведением ТБК-теста исследуемый образец разводили буфером (0,04 М Na-фосфатный буфер) до конечной концентрации порядка 1%. 2 мл этого разведения депротенировали добавлением 1 мл 28% ТХУ. Безбелковый экстракт отделяли 10-минутным центрифугированием при 1500 g. 2 мл депротейната смешивали с 1 мл раствора ТБК, которые затем помещали в кипящую водяную баню на 15 минут. Оптическую плотность регистрировали на спектрофотометре при 532 нм в односантиметровом оптическом слое. Экстинкцию измеряли против оптического контроля, который проводился через все вышеописанные этапы и содержало среду выделения вместо исследуемого образца.

Расчет проводили по формуле:

$$C = [\Delta E \cdot 10^6 \cdot V \text{ (мл)}] / 1,56 \cdot 10^5 C \text{ (г)},$$

где ΔE – оптическая плотность; V – объем водной фазы (мл). 10^6 – коэффициент пересчета в мкмоль; $1,56 \times 10^5$ – коэффициент молярной экстинкции;

C – исходный объем образца (мл).

2.3.9. Определение уровня спонтанной и металл-индуцируемой (Fe²⁺-зависимой) окислительной модификации белков

Окислительную модификацию белков оценивали по уровню образования динитрофенилгидразонов по Е.Е. Дубининой [40].

Принцип метода. Метод основан на том, что продукты свободнорадикального окисления белков реагировали с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. При этом происходило образование как минимум двух категорий продуктов, подлежащих спектрофотометрической детекции: альдегидфенилгидразонов, поглощающих монохроматический свет с длиной волны 270 нм, и кетондинитрофенилгидразонов, поглощающих

монохроматический свет с длиной волны 360-370 нм.

Ход определения. Определение спонтанного и индуцированного карбонилирования белков (КБсп и КБинд) проводили в 0,1 мл 10% гомогената печени или плазмы крови (для КБинд добавляли $\text{Fe}^{2+} / \text{H}_2\text{O}_2$). После обработки ГХУ, в опытную пробу добавляли 0,1 мл 0,1М раствора 2,4-динитрофенилгидразина (2,4-ДНФГ), а в контрольную – 0,1мл 2М раствора HCl . Далее пробы инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре, и для получения белкового осадка центрифугировали при 1500 g в течение 10 минут. Осадок промывали 2 раза в 5 мл смеси этанол-этилацетат (1:1) для экстракции липидов и 2,4-ДНФГ, который не прореагировал с карбонильными группами модифицированных белков. Полученный очищенный осадок высушивали для удаления растворителей и растворяли в 2,5 мл 8 М раствора мочевины. Для лучшего растворения белкового осадка в каждую пробу добавляли 15 мкл 2М раствора HCl . Оптическую плотность полученных растворов измеряли при 270 и 370 нм. Расчет проводили, исходя из коэффициента молярной экстинкции динитрофенилгидразонов.

2.3.10. Определение активности каталазы

Принцип метода. Метод основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Ход определения. Определение каталазы проводили по М.А. Королук с соавторами [64].

Реакция запускали добавлением 0,1 мл изучаемого образца к 2 мл 0,03 % раствора перекиси водорода. В холостую пробу вместо сыворотки вносили 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 минут добавлением 1 мл 4% молибдата аммония. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре при длине волны 410 нм против контрольной пробы, в которой вместо перекиси водорода вносили 2 мл воды.

Расчет:

$E = (E_{хол} - E_{оп}) \times V \times t \times K$ (мкат/л), где

E – активность каталазы в мкат/л;

A – оптическая плотность холостой и опытной проб;

V – объем вносимой пробы, 0,1 мл;

t – время инкубации, 600 сек;

K – коэффициент миллимолярной экстинкции перекиси водорода, равный $2,22 \times 10^3 \text{ мм}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

2.3.11. Определение активности супероксиддисмутазы

Принцип метода по Чевари С. с соавторами. [105] основан на способности СОД конкурировать с нитросиним тетразолием (НСТ) за супероксидные анионы, образующиеся в результате аэробного взаимодействия $\text{НАД} \cdot \text{Н} + \text{Н}^+$ и феназинметасульфата. Измерение содержания продуктов восстановления НСТ производят при длине волны 540 нм.

Ход определения. К 0,5 мл гомогената печени (или 0,2 мл плазмы крови) добавляли 0,2 этанола и 0,1 хлороформа. Выдерживали при постоянном помешивании 15 мин при 4°C . Центрифугировали 10 минут при 1500 g, после чего собирали супернатант. К 2,7 мл инкубационной смеси добавляли 0,2 мл полученного супернатанта. Фотометрировали полученный образец при 540 нм против воды. Добавляли 0,15 мл реактива П. Инкубировали 10 минут в темном месте и затем проводили второе измерение. Параллельно готовили контрольную пробу, в которую вместо исследуемого образца добавляли 0,2 мл этанола.

Расчет:

$$\text{Активность СОД} = \frac{(E_{см1} - E_{см2}) - (E_{о1} - E_{о2}) \times 100\%}{(E_{см1} - E_{см2}) \times \text{мг ткани в пробе} \times 50 \times 10}$$

2.3.12. Определение активности глутатионпероксидазы

Принцип метода основан на регистрации скорости накопления окисленного глутатиона. Определение активности глутатионпероксидазы в плазме крови и гомогенате печени проводили по Власовой С.Н. с соавторами. [21]

Ход работы:

В состав инкубационной смеси входили: 1,0 мл 0,3 М фосфатного буфера с 12 мМ азида натрия и 6 мМ ЭДТА (рН 7,4), 0,5 мл 2,5 мМ глутатиона восстановленного и 0,2 мл плазмы крови или гомогената печени, 0,5 мл 1,8 мМ перекиси водорода.

Реакцию запускали внесением перекиси водорода, останавливали 1,0 мл 10% ТХУ через 2 минуты. После этого центрифугировали при 1500 g 15 мин, и затем в депротеинатах определяли поглощение восстановленного глутатиона при 260 нм.

Активность ГПО выражали в мкМ окисленного глутатиона на 1 мг гомогената печени или белка плазмы в минуту.

2.3.13. Определение активности глутатионтрансферазы

Принцип метода основан на регистрации скорости образования глутатион-S-конъюгатов между восстановленным глутатионом и 1 – хлор-2, 4 – динитробензолом (ХДНБ). Определение активности глутатионтрансферазы проводили по Власовой С.Н. с соавторами [21].

Ход работы:

Реакционная смесь представляла собой:

2,5 мл 0,1 М калий-фосфатного буфера (рН 6,5)

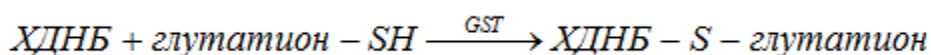
0,2 мл 0,015 М раствора GSH

0,1 мл гомогената печени (1/40).

Реакцию инициировали внесением в кювету 0,2 мл 0,015 М ХДНБ. Параллельно опытной пробе готовили контрольную пробу, в которую

вносили 0,1 М К,Na-фосфатный буфер (рН 6,5) и 0,015 М раствор GSH. Увеличение концентрации конъюгатов в ходе реакции регистрировали спектрофотометрически при длине волны 340 нм при $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ежесекундно в течение 1,5 минут.

Активность фермента рассчитывали, используя коэффициент экстинкции для ХДНБ-S-глутатион при длине волны 340 нм, равный $9,6\text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, и выражали в ммоль образующихся глутатион S-конъюгатов в минуту на мг белка:



2.3.14. Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили непараметрическими методами с применением современных программных пакетов математико-статистического анализа. Применяли программы: «Microsoft Excel» и «Statistica 10.0», работающие в операционной среде «Windows». Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для формулировки выводов использовали уровень статистической значимости [43, 89]. Для описания количественных признаков в малых выборках применяли медиану (Me) и интерквартильный размах (Q_1 - Q_3). Для расчета статистической значимости различия количественных признаков между группами был применен непараметрический критерий Манна-Уитни для двух независимых групп.

Для оценки взаимосвязей между признаками определяли коэффициенты ранговой корреляции Пирсона (r), и для оценки полученных результатов использовали следующую классификация силы корреляции в зависимости от значения коэффициента корреляции: $r < 0,3$ - слабая корреляция, $0,31$ - $0,7$ - корреляция средней силы; $r < 0,71$ - сильная корреляция.

ГЛАВА 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Исследование влияния хронического стресса на процесс опухолевого роста клеток мышинной миеломы Sp 2/0 Ag14 у мышей BALB/c под действием эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*

Эфирные масла растений обладают уникальной способностью воздействия на основные, тесно связанные между собой, регуляторные системы организма: иммунную, эндокринную и нервную [3, 27, 106]. При этом они способны корригировать различные отклонения, а некоторые из них оказывают подавляющее действие на опухолевый рост клеток [60, 103, 134, 199]. Однако механизмы противоопухолевого действия эфирных масел до конца не раскрыты, и это обусловило цель настоящей работы.

Для наших исследований на основании литературных данных были отобраны эфирные масла, обладающие помимо иммуномодулирующего действия антиканцерогенным: *Eucalyptus globulus*, *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*. [61, 76, 96].

Одним из мощных факторов, вызывающих ослабление противоопухолевой резистентности организма, являются стрессорные нагрузки. При остром стрессе через воздействие на ЦНС происходит выброс стимулирующих цитокинов, вызывающих гиперстимуляцию иммунной системы и ее истощение [140, 176, 209]. При хроническом стрессе, переходящем в депрессию, ЦНС продуцирует ингибиторные цитокины, подавляющие иммунную систему [68, 213], что способствует развитию злокачественной опухоли [86, 211].

Влияние эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria*, и *Eucalyptus globulus* на опухолевый рост клеток исследовали на белых мышах-самцах

линии BALB/c. Всем животным за сутки до начала эксперимента инъецировали внутривенно суспензию клеток миеломы штамма Sp 2/0 Ag14 из расчета 10^6 клеток на мыш. На следующий день после введения клеток миеломы животных делили на 4 равные группы, в каждой из которых количество особей составляло 12.

Таблица 1

Группы мышей BALB/c, сформированные для оценки влияния эфирных масел *Eucalyptus globulus*, *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* на рост клеток мышинной миеломы Sp 2/0 Ag14

Виды воздействия на животных	Группы мышей			
	1 (n=12)	2 (n=12)	3 (n=12)	4 (n=12)
	Контроль-миелома	Контроль-миелома+стресс	Миелома+стресс+ИЭМ ₁	Миелома+стресс+ИЭМ ₂
Введение клеток мышинной миеломы Sp 2/0 Ag14	+	+	+	+
Принудительное плавание + подвешивание за хвост	-	+	+	+
Ингаляция смесью эфирных масел лаванда+шалфей (ИЭМ ₁)	-	-	+	-
Ингаляция эфирным маслом эвкалипта (ИЭМ ₂)	-	-	-	+

Мышей 2-4 групп подвергали хроническому стрессу, моделируя у них депрессивно-подобное состояние, используя методику принудительного плавания [188] в течение 2 недель с последующим.

Группы представляли собой следующий вид: 1 – «контроль-миелома», животные с привитой миеломой без применения стресса; группа 2 – «контроль-миелома+стресс», животные с привитой миеломой на фоне воздействия хронического стресса; группа 3 – «миелома+стресс+ИЭМ₁» и группа 4 – «миелома+стресс+ ИЭМ₂», опытные группы животных с привитой миеломой, которым одновременно, ежедневно в течение двух недель проводили стрессорную нагрузку и ингаляцию эфирными маслами (ИЭМ), которая заключалась в 45 минутном распылении эфирных масел с парами воды при температуре 80°C (до концентрации в воздухе 4-5 мг/м³).

Использовали смесь эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в соотношении 2:1 (ИЭМ₁) - группа 3, и *Eucalyptus globulus* (ИЭМ₂) - группа 4. При этом контрольные группы (1-2) с эфирными маслами не контактировали (таблица 1).

Критериями противоопухолевой активности эфирных масел служили торможение развития асцита и продолжительность жизни мышей.

Торможение развития асцита оценивали двумя способами: 1 - непосредственно по уменьшению количества асцитической жидкости в мл на 16-е сутки после введения суспензии миеломных клеток относительно контроля (ТРА); 2 - косвенно, по торможению прироста массы тела, также на 16-е сутки после инъекции миеломных клеток относительно контроля (ТПМ).

Все расчеты ТПМ, ТРА и УПЖ произведены относительно контроля 2, т.к. в этой группе животных наблюдались наибольшие величины прироста массы тела и объема асцитической жидкости, а также наименьшая медиана продолжительности жизни.

Результаты эксперимента представлены в таблице 2. При сопоставлении полученных данных видно, что хронический стресс стимулирует рост асцитной опухоли у мышей, а применение ИЭМ, напротив, тормозит.

Влияние эфирных масел *Lavandula vera*+*Salvia sclaria* (ИЭМ₁) и *Eucalyptus globulus* (ИЭМ₂) на показатели роста асцитной опухоли Sp 2/0 Ag14 и продолжительность жизни у мышей BALB/c на фоне хронического стресса

Показатель	Группы мышей			
	1	2	3	4
	Контроль-миелома	Контроль-миелома+стресс	Миелома+стресс + ИЭМ ₁	Миелома+стресс + ИЭМ ₂
Число мышей	12	12	12	12
Масса тела до начала эксперимента, г M±σ	28,4±0,8	28,1±0,7	28,9±0,9	28,7±0,8
Прирост массы тела, г. M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	17,2±1,1 17,13 [16,34-18,22]	20,8±1,2 20,97 [19,89-21,82] p₁₋₂=0,034	8,2±0,7 8,17 [7,67-8,84] p₂₋₃=0,001 p ₃₋₄ =0,213	9,7±0,8 9,7 [9,08-10,44] p₂₋₄=0,001
Торможение прироста массы тела (ТПМ), %	17,3	0	60,5	53,4
Объем асцитической жидкости, мл. M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	9,8±0,9 9,93 [9,13-10,62]	12,9±1,1 12,8 [12,02-13,93] p₁₋₂=0,046	4,6±0,6 4,54 [4,07-5,14] p₂₋₃=0,001 p ₃₋₄ =0,322	5,3±0,7 5,21 [4,77-5,95] p₂₋₄=0,001
Торможение развития асцита, (ТРА), %	24	0	64,3	58,9
Медиана продолжит. жизни (МПЖ), дни	24,2	20,9	84,7	73,8
Увеличение продолжит.	15,8	0	305,3	253,1

жизни (УПЖ), %				
-------------------	--	--	--	--

Так, у всех животных с привитой миеломой на фоне экспериментального стресса по сравнению с группой контроль-миелома наблюдалось увеличение: количества асцитической жидкости (мл) в 1,3 раза (с $9,8 \pm 1,0$ до $12,9 \pm 1,1$, $p=0,046$); прироста массы тела (г) в 1,2 раза (с $17,2 \pm 1,1$ до $20,8 \pm 1,2$, $p=0,034$), а также снижение примерно в 1,2 раза медианы продолжительности жизни - с 24,2 до 20,9 дней.

В опытных группах (3,4) под действием ИЭМ происходило уменьшение объема асцитической жидкости (мл): более чем в 2 раза при ИЭМ₁ (с $9,8 \pm 1,0$ до $4,6 \pm 0,6$; $p=0,001$) и в 1,8 раза при ИЭМ₂ (до $5,3 \pm 0,7$; $p=0,001$); торможение прироста массы тела (г): при ИЭМ₁ в 2,5 раза (с $20,8 \pm 1,2$ до $8,2 \pm 0,7$; $p=0,001$) и при ИЭМ₂ в 2,1 раза (до $9,7 \pm 0,8$, $p=0,001$); а также увеличение медианы продолжительности жизни животных: при ИЭМ₁ в 4,1 раза (с 20,9 до 84,7 дней) и при ИЭМ₂ в 3,5 раза (до 73,8 дней).

Рисунок 7 демонстрирует стимулирующее влияние эфирных масел *Lavandula vera* + *Salvia sclaria* (ИЭМ₁) и *Eucalyptus globulus* (ИЭМ₂) на показатели противоопухолевой активности (торможение развития асцита и продолжительность жизни мышей). Хронический стресс, напротив, способствует развитию опухоли. Отчетливо видно, что у мышей 2-й группы наблюдается наибольшее увеличение количества асцитической жидкости, прироста массы тела и самая низкая медиана продолжительности жизни. Поэтому все процентные соотношения ТРА, ТПМ и УПЖ были рассчитаны относительно данной группы, принятой за нулевой уровень.

В 1-й контрольной группе животных с миеломой (без стрессорной нагрузки) ТРА, ТПМ и УПЖ составили соответственно: 24%, 17,3% и 15,8%.

В опытных группах (3,4) под действием ИЭМ₁ и ИЭМ₂ происходило торможение развития асцита, прироста массы тела и значительное возрастание продолжительности жизни животных. Так, при использовании смеси эфирных масел лаванды и шалфея ТРА составило 64,3%, ТПМ –

60,5%, УПЖ – 305,3%; при использовании эфирного масла эвкалипта – 58,9%, 64,3% и 253,1% соответственно.

Выжившие животные оставались здоровыми и активными на протяжении 6 месяцев, и далее в течение года каких-либо патологических отклонений у них не наблюдалось.

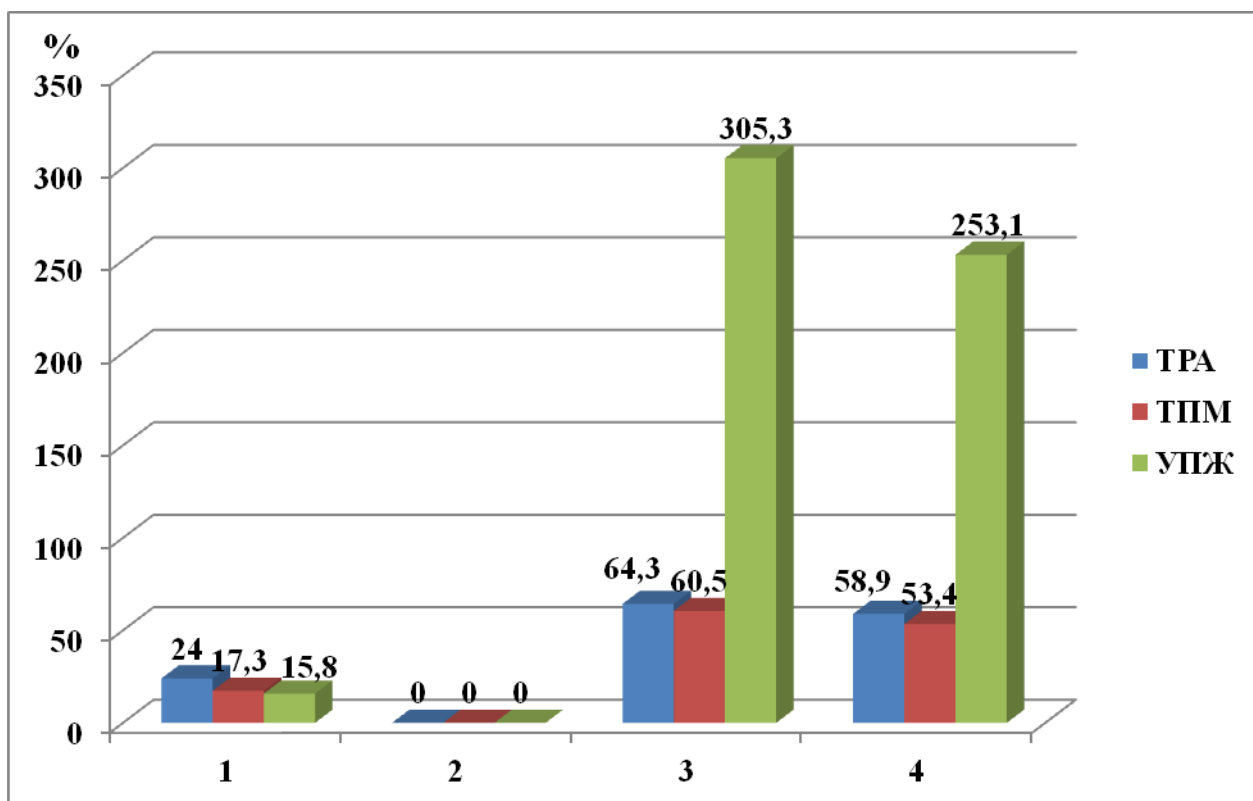


Рис. 7. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в соотношении 2:1 (ИЭМ₁) и *Eucalyptus globulus* (ИЭМ₂) на торможение развития асцита (ТРА), торможение прироста массы тела (ТПМ) и увеличение продолжительности жизни у мышей (УПЖ) на фоне хронического стресса

По оси X: 1 – контроль-миелома, 2 – контроль-миелома на фоне стресса, 3 – миелома на фоне стресса + ИЭМ₁; 4 – миелома на фоне стресса + ИЭМ₂

По оси Y: значения ТРА, ТПМ и УПЖ в %

Следовательно, результаты эксперимента свидетельствуют о том, что применение ИЭМ замедляет развитие асцита и увеличивает

продолжительность жизни мышей с привитой миеломой.

Таким образом, результаты данного эксперимента свидетельствуют о том, что хронический стресс индуцирует развитие и течение опухолевого процесса. Использование при этом эфирных масел *Lavandula vera* + *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* в режиме ИЭМ, напротив, вызывает торможение роста опухоли.

Для выяснения механизмов данного эффекта, было необходимо провести оценку влияния эфирных масел на отдельные показатели иммунной и эндокринной систем.

3.2. Оценка влияния хронического стресса и эфирных масел на уровни ключевых молекул адаптивного гуморального иммунитета (иммуноглобулинов G) и эндокринной системы (кортизола) в сыворотке крови мышей BALB/c

Противоопухолевая резистентность организма во многом определяется состоянием иммунной и нейроэндокринной систем. Одной из причин возникновения патологии при хроническом стрессе является высокий уровень гормона кортизола. В свою очередь постоянная активность гормонов коры надпочечников угнетает активность клеток иммунной системы, ослабляет устойчивость организма к различным заболеваниям. Известно, что активность защитных сил организма снижается у людей в состоянии уныния, отчаяния, мрачных предчувствий, страха, беспокойства. И, наоборот, иммунная система более устойчива у людей, настроенных оптимистично [16, 29, 94, 177].

По мнению некоторых исследователей, отрицательное воздействие стресса на иммунную систему способствует росту опухолей [165, 213]. Так, в исследованиях на животных с использованием моделированной депрессии, показано, что выброс организмом стресс-гормонов активизирует пролиферацию раковых клеток [173, 218].

Хронический стресс приводит к продолжительному подъему уровня кортизола. Диагностика же состояния иммунитета базируется в основном на определении титра антител. Поэтому целью данного этапа исследования явилось одновременное определение в сыворотке крови мышей при хронической стрессорной нагрузке уровня гормона кортизола и иммуноглобулинов G, а также оценка влияния на данные показатели эфирных масел *Lavandula vera*+*Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* в режиме ИЭМ.

Исследования проводили в отдельной серии экспериментов на белых лабораторных мышах линии BALB/c в четырех группах:

1. «Контроль - интактные» - мыши без воздействия хронического стресса и ИЭМ;
2. «Контроль - стресс» - мыши в депрессивно-подобном состоянии после воздействия хронической стрессорной нагрузки;
3. «Стресс+ ИЭМ₁» – мыши с применением ИЭМ смесью эфирных масел лаванды и шалфея на фоне стрессорной нагрузки;
4. «Стресс+ ИЭМ₂» – мыши с применением ИЭМ эфирным маслом эвкалипта на фоне стрессорной нагрузки.

Таблица 3

Уровень иммуноглобулинов G и кортизола в сыворотке крови мышей BALB/c на фоне хронического стресса с применением ингаляционного введения эфирных масел (ИЭМ₁ - лаванда+шалфей, ИЭМ₂ - эвкалипт)

Показатель ИЭС	Группы мышей			
	1 (n=12)	2 (n=12)	3 (n=12)	4 (n=12)
	Контроль - интактные	Контроль - стресс	Стресс+ ИЭМ ₁	Стресс+ ИЭМ ₂
IgG, мг/мл. M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	1,42±0,23 1,46 [1,27-1,54]	0,86±0,09 0,85 [0,8-0,92] p₁₋₂=0,014	1,76±0,18 1,78 [1,58-1,9] p₂₋₃=0,001	1,6±0,17 1,56 [1,51-1,61] p₂₋₄=0,002
Кортизол, нМ/л. M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	13,9±2,5 14,05 [12,31-15,18]	27,62±4,3 27,16 [24,23-29,23] p₁₋₂=0,023	12,32±1,8 12,34 [10,82-14,02] p₂₋₃=0,004	12,58±1,9 11,98 [11,06-14,22] p₂₋₄=0,009

Результаты данного исследования представлены в таблице 3, из которой видно, что при использовании ИЭМ₁ содержание IgG в крови

относительно группы «контроль-стресс» повысилось в 2,1 раза (с $0,86 \pm 0,09$ до $1,76 \pm 0,18$; $p=0,001$), а при ИЭМ₂ примерно в 1,9 раза (до $1,6 \pm 0,17$; $p=0,002$). В то же время содержание кортизола при ИЭМ₁ снизилось в 2,24 раза (с $27,62 \pm 4,3$ до $12,32 \pm 1,8$; $p=0,023$), а при ИЭМ₂ в 2,19 раза (до $12,58 \pm 1,9$; $p=0,004$). Из полученных данных следует, что эфирные масла в режиме ИЭМ на фоне хронического стресса оказывают корригирующее действие на показатели иммуноэндокринной системы (ИЭС), снижая уровень кортизола и повышая уровень IgG.

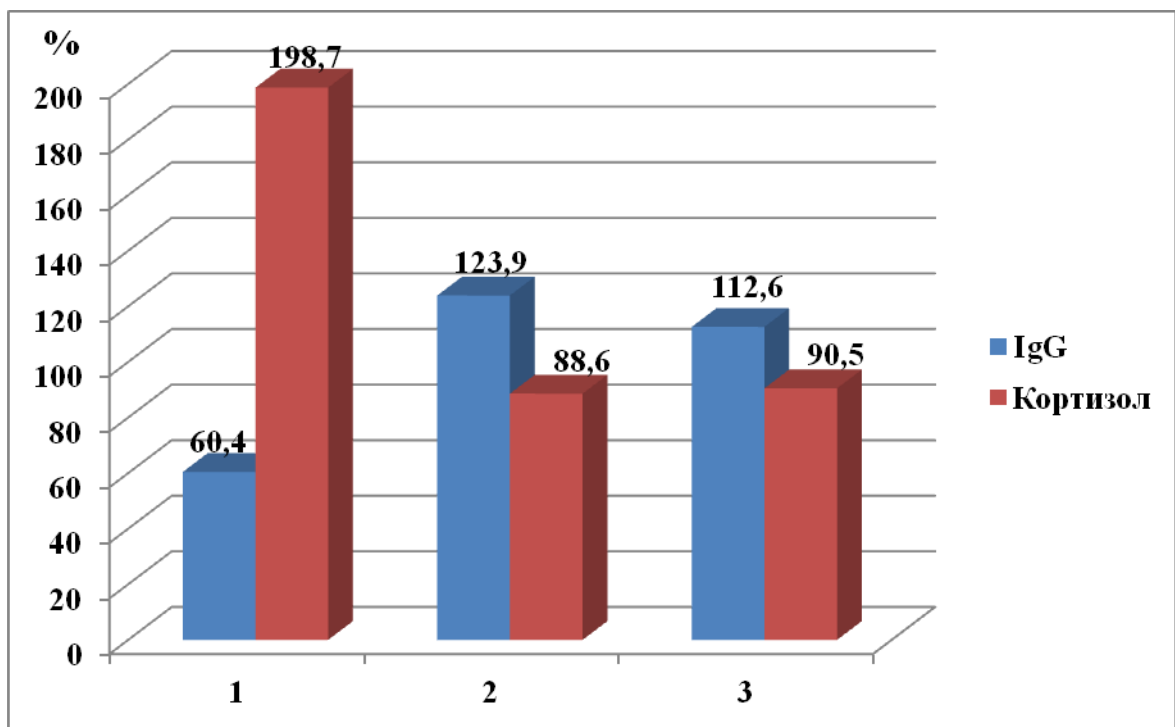


Рис. 8. Уровень IgG и кортизола в сыворотках крови мышей на фоне хронического стресса без ИЭМ (1), с ИЭМ₁ (2) и с ИЭМ₂ (3)

По оси X: 1 – контроль: показатели ИЭС у мышей после воздействия хронической стрессорной нагрузки; 2 – показатели ИЭС у мышей после воздействия ИЭМ₁ на фоне хронического стресса; 3 – показатели ИЭС у мышей после воздействия ИЭМ₂ на фоне хронического стресса

По оси Y: уровень IgG и кортизола в % (за 100% приняты показатели группы «контроль-интактные»)

На рисунке 8 наглядно показано, что под действием ИЭМ₁ (смесь эфирных масел лаванды и шалфея) у животных на фоне хронической стрессорной нагрузки уровень кортизола снижался на 110,1%, а иммуноглобулина G, напротив, возрастал на 63,5%. При использовании ИЭМ₂ (эфирное масло эвкалипта) результаты были аналогичны: уровень кортизола снижался на 108,2%, а иммуноглобулинов G повышался на 52,2% (примечание: все показатели IgG и кортизола рассчитаны исходя из значений показателей интактных животных, принятых за 100%).

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о корригирующем влиянии смеси эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*, а также *Eucalyptus globulus* в режиме ИЭМ на изменения показателей иммуноэндокринной системы мышей, вызванные воздействием хронического стресса.

пути.

Ранее было показано [19], что при опухолевом процессе происходит изменение профиля спонтанного гидролиза C3 компонента комплемента, причинами которого являются постсинтетическая модификация белка C3, снижение рН крови и увеличение количества протеолитических ферментов. При этом уровень конформационной формы C3(H₂O) коррелировал с содержанием опухолевого маркера СА-125 [19]. Данный факт послужил основанием для использования показателя C3(H₂O) в качестве критерия эффективности воздействия исследуемых эфирных масел.

Целью данного этапа работы явилось оценка влияния эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ИЭМ на уровень C3(H₂O) в сыворотке крови мышей с привитой миеломой на фоне хронического стресса.

Для проведения эксперимента 48 мышам BALB/c в брюшную полость вводили суспензию миеломных клеток Sp 2/0 Ag14 в PBS (примерно 10⁶ клеток на мышь).

Все инъецированные животные были разделены на четыре равные группы: группа 2 - с привитой миеломой без стрессорной нагрузки (контроль-миелома); группа 2* - с привитой миеломой без стрессорной нагрузки с применением ИЭМ (контроль-миелома+ИЭМ); группа 3 - с привитой миеломой на фоне стрессорной нагрузки; 3* - с привитой миеломой на фоне стрессорной нагрузки с применением ИЭМ. Для сравнения были сформированы еще две группы: 1 - из интактных мышей (контроль-интактные) и 1* - интактные мыши с применением ИЭМ. Количество особей в каждой из групп составляло 12.

В группах 3 и 3* ежедневно в течение двух недель моделировали хронический стресс, одновременно животные групп 1*, 2* и 3* подвергались ИЭМ смесью эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* (2:1). Экспозиция одного сеанса составляла 40 минут.

На следующий день после окончания эксперимента у животных всех шести групп осуществляли забор крови из глазной орбиты. Кровь

центрифугировали при 1500 g, сыворотку отделяли и инкубировали алеквотами при +37° С в течение 1,5, 3, 5, 7, 9, 11, 24 часов, после чего замораживали при -70° С. Размораживали все препараты одновременно, непосредственно перед постановкой ИФА, который проводили с помощью моноклональных антител H11C3 и G10 (ГНЦ НИИ особо чистых биопрепаратов Санкт-Петербург).

В таблице 4 представлены результаты изменений содержания СЗ(H₂O) в сыворотках крови контрольной группы интактных мышей (группа 1), с привитой миеломой без стресса (группа 2) и на фоне стресса (группа 3) до ИЭМ, в сравнении с группами животных после применения ИЭМ (группы 1*, 2* и 3*).

Как видно из данных таблицы 4, в группе 2 (контроль-миелома) относительно группы 1 (контроль-интактные) через 1,5, 3, 7 и 9 часов статистически значимых отличий по уровню СЗ(H₂O) не наблюдалось. Возрастание его концентрации происходило лишь через 5 и 11 часов инкубации, особенно значительное к 11 ч ($p = 0,001$). Статистически значимых отличий в сыворотках крови у животных данной группы через 1,5, 3, 5, 7 и 9 часов не было также после проведения ИЭМ (группа 2*), но через 11 часов инкубации происходило снижение данного показателя ($p = 0,010$), а к 24 часам, наоборот, повышение ($p = 0,001$). В группе 2* относительно 1* статистически значимых отличий по уровню СЗ(H₂O) не наблюдалось через 1,5; 7 и 11 часов, но через 3, 5, 9, 11 и 24 инкубации сыворотки крови происходило его снижение ($p = 0,042$). В группе 3 (миелома+стресс) относительно группы 2 (миелома без стресса) отличия наблюдались лишь через 9 и 11 часов, причем к 9 часам уровень гидролизной формы СЗ снижался, а через 11 - возрастал ($p = 0,026$). После проведения ИЭМ (группа 3*) наблюдалось через 9 и 24 часа увеличение его концентрации ($p = 0,001$), а через 11, напротив, снижение ($p = 0,001$). По сравнению с группой интактных животных возрастание данного показателя наблюдалось через 5 ($p = 0,001$) и 11 часов инкубации ($p = 0,010$).

Таблица 4

Концентрация $C3(H_2O)$ в процессе инкубации сыворотки крови мышей: интактных, с привитой миеломой и с миеломой на фоне хронического стресса до и после курса ИЭМ

№ гр.	Часы	$C3(H_2O)$, мкг/мл						
		1,5	3	5	7	9	11	24
1	Контроль-интактные М±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	9,74±0,98 9,59 [9,02 – 10,73]	7,38±0,77 7,29 [7,08 – 7,99]	4,23±0,41 4,23 [3,91 – 4,57]	6,89±0,71 7,02 [6,36 – 7,53]	7,13±0,78 7,01 [6,35 – 7,84]	5,85±0,62 5,95 [5,23 – 6,23]	1,81±0,19 1,80 [1,68 – 1,90]
1*	Контроль-интактные после ИЭМ М±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	10,07±0,72 10,14 [9,70 – 10,48] $p_{1^*-.1}=0,356$	9,42±0,78 9,33 [8,69 – 9,97] $p_{1^*-.1}=0,266$	10,12±0,95 9,85 [9,42 – 10,98] $p_{1^*-.1}=0,001$	9,38±0,92 9,45 [9,15 – 9,88] $p_{1^*-.1}=0,043$	9,92±0,86 9,70 [9,39 – 10,64] $p_{1^*-.1}=0,024$	8,19±0,69 8,32 [7,76 – 8,62] $p_{1^*-.1}=0,016$	5,48±0,58 5,48 [5,05 – 5,71] $p_{1^*-.1}=0,001$

Продолжение таблицы 4

№ гр.	Часы	СЗ(Н ₂ O), мкг/мл						
		1,5	3	5	7	9	11	24
2	Контроль-миелома М± σ Me [Q ₁ -Q ₃]	8,98±0,89 9,01 [8,29 – 9,74] p ₂₋₁ =0,254 p ₂₋₁ *=0,427	8,97±0,88 8,96 [8,24 – 9,55] p ₂₋₁ =0,304 p ₂₋₁ *=0,206	8,93±0,97 8,88 [8,05 – 9,81] p ₂₋₁ =0,001 p ₂₋₁ *=0,105	8,14±0,96 8,44 [7,29 – 8,70] p ₂₋₁ =0,603 p ₂₋₁ *=0,401	5,76±0,64 5,80 [5,29 – 5,90] p ₂₋₁ =0,586 p ₂₋₁ *=0,125	11,93±1,12 11,84 [11,01 – 12,87] p₂₋₁=0,001 p₂₋₁*=0,018	1,13±0,16 1,16 [1,01 – 1,22] p₂₋₁=0,015 p ₂₋₁ *=0,344
2*	Контроль-миелома после ИЭМ М± σ Me [Q ₁ -Q ₃]	9,18±0,93 9,05 [8,31 – 10,08] p _{2*-1} *=0,324 p _{2*-2} =0,267	6,89±0,73 6,84 [6,33 – 7,43] p_{2*-1}*=0,042 p _{2*-2} =0,398	7,14±0,79 7,41 [6,90 – 7,62] p_{2*-1}*=0,027 p _{2*-2} =0,442	7,43±0,81 7,59 [6,92 – 8,04] p _{2*-1} *=0,256 p _{2*-2} =0,308	6,53±0,75 6,47 [5,91 – 6,99] p_{2*-1}*=0,019 p _{2*-2} =0,314	7,59±0,71 7,47 [7,07 – 8,08] p _{2*-1} *=0,314 p_{2*-2}=0,010	3,45±0,39 3,48 [3,14 – 3,77] p_{2*-1}*=0,016 p_{2*-2}=0,001

Продолжение таблицы 4

№ гр.	Часы	C3(H ₂ O), мкг/мл						
		1,5	3	5	7	9	11	24
3	Миелома+ стресс M± σ	7,07±0,76	7,05±0,78	6,92±0,71	5,95±0,62	3,88±0,42	16,28±1,59	0,87±0,09
	Me [Q ₁ -Q ₃]	7,27 [6,57 – 7,48] p₃₋₁=0,001 p ₃₋₂ =0,244	6,88 [6,40 – 7,81] p₃₋₁=0,001 p ₃₋₂ =0,319	6,74 [6,38 – 7,32] p₃₋₁=0,001 p ₃₋₂ =0,298	6,01 [5,39 – 6,33] p₃₋₁=0,001 p ₃₋₂ =0,386	3,93 [3,51 – 4,10] p₃₋₁=0,001 p₃₋₂=0,030	16,54 [14,89 – 17,37] p₃₋₁=0,001 p₃₋₂=0,026	0,86 [0,80 – 0,93] p₃₋₁=0,001 p ₃₋₂ =0,181
3*	Миелома+ стресс после ИЭМ M± σ	8,93±0,98	8,16±0,92	9,38±1,03	8,52±0,96	6,86±0,72	9,34±0,81	2,75±0,31
	Me [Q ₁ -Q ₃]	8,84 [8,06 – 9,88] p _{3*-1} =0,231 p_{3*-1}*=0,001 p _{3*-2} =0,515 p _{3*-3} =0,464	8,02 [7,38 – 8,73] p _{3*-1} =0,389 p_{3*-1}*=0,001 p _{3*-2} =0,355 p _{3*-3} =0,443	9,34 [8,48 – 10,30] p_{3*-1}*=0,001 p_{3*-1}*=0,001 p _{3*-2} =0,423 p _{3*-3} =0,206	8,22 [7,74 – 9,42] p _{3*-1} =0,243 p_{3*-1}*=0,001 p _{3*-2} =0,242 p_{3*-3}*=0,001	6,67 [6,31 – 7,70] p _{3*-1} =0,432 p_{3*-1}*=0,001 p _{3*-2} =0,178 p_{3*-3}*=0,001	9,40 [8,76 – 9,68] p_{3*-1}*=0,010 p _{3*-1} *=0,455 p_{3*-3}*=0,010 p _{3*-2} =0,304	2,75 [2,48 – 3,0] p_{3*-1}*=0,001 p_{3*-2}*=0,001 p_{3*-3}*=0,001

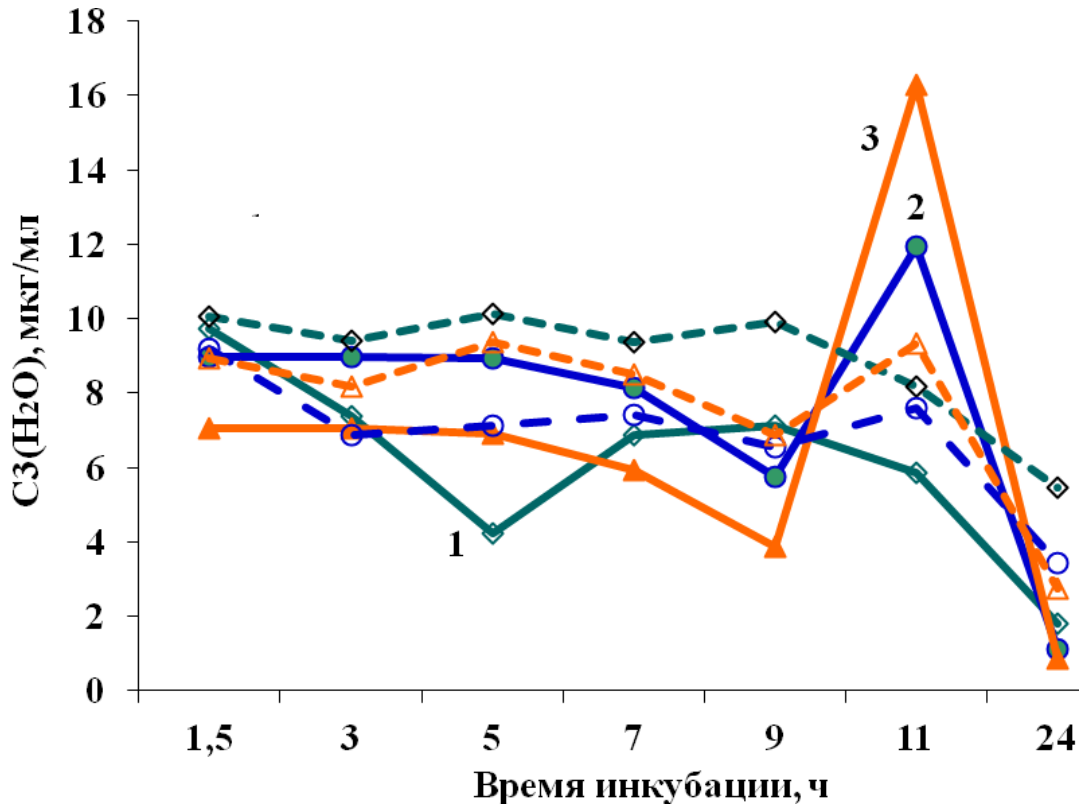


Рис. 10. Изменение уровня $C3(H_2O)$ в сыворотке крови до и после курса ИЭМ, соответственно: 1 (зеленая сплошная линия) – контроль-интактные, 1* (зеленая прерывистая линия) – интактные после ИЭМ; 2 (синяя сплошная линия) – контроль-миелома, 2* (синяя прерывистая линия) – контроль-миелома после ИЭМ; 3 (оранжевая сплошная линия) – миелома+стресс, 3* (оранжевая прерывистая линия) – миелома+стресс после ИЭМ.

Отличия статистически значимы ($p < 0,05$) между 2 и 2* через 11 и 24 ч, между 3 и 3* через 7, 9, 11 и 24 ч; между 2 и 1 – через 5, 11 и 24 ч; между 2* и 1* – через 3, 5, 9, и 24 ч; между 3 и 1 – через 1,5, 3, 5, 7, 9, 11 и 24 ч; между 3* и 1* – через 1,5, 3, 5, 7, 9, 11 и 24 ч.

На рисунке 10 продемонстрировано колебание уровня $C3(H_2O)$ при инкубации сыворотки крови интактных мышей, с привитой миеломой и с миеломой на фоне хронического стресса, как до, так и после проведения процедуры ИЭМ эфирными маслами *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*. При

сравнении этих кривых отчетливо видно, что изменение $C3(H_2O)$ в сыворотке крови животных группы 2 и 3 («контроль-миелома» и «миелома-стресс») явно отличается от такового у группы 1 (интактные). Особенно обращает на себя внимание то, что в группах 2 и 3 (контроль-миелома и миелома+стресс) после 11 часов инкубации наблюдалось резкое возрастание уровня $C3(H_2O)$, которое после ИЭМ исчезало (группы миелома+ИЭМ и миелома+стресс+ИЭМ) и незначительно отличалась от контрольного.

Таким образом, показано, что после курса ИЭМ в процессе инкубации сыворотки крови у мышей с привитой миеломой на фоне хронического стресса происходит коррекция профиля спонтанного гидролиза компонента комплемента $C3$, т.е. его конформационного перехода в гидролизную форму $C3(H_2O)$. Наблюдающиеся резкие «всплески» уровня $C3(H_2O)$ в сыворотках крови мышей с привитой миеломой после курса ИЭМ исчезали (статистически значимые отличия с контролем оставались лишь через 1,5 и 24 часа инкубации).

Из данных литературы известно о взаимосвязи между показателями иммунного статуса и перекисного окисления липидов [98], что свидетельствует о зависимости иммунной системы от баланса про- и антиоксидантной системы организма. Поэтому на следующем этапе исследования биохимических механизмов противоопухолевого действия эфирных масел, необходимо было оценить влияние эфирных масел на активность антиоксидантных ферментов, перекисное окисление липидов и карбонилирование белков на фоне хронического стресса.

3.4. Исследование активности антиоксидантных ферментов и перекисного окисления липидов в плазме крови и печени мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 под действием хронического стресса и эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*

Имеется ряд публикаций, свидетельствующих о том, что активные формы кислорода (АФК) стимулируют деление различных типов клеток [129]. Показано, что АФК могут запускать каскад реакций, передавая митотический сигнал при воздействии факторов роста, активирующих в клетке транскрипцию и трансляцию. Митогенное действие АФК может также проявляться через ингибирование фосфатаз - ферментов, инактивирующих передачу митогенного сигнала [195].

Литературные данные свидетельствуют также об участии радикальных окислительных реакций в клеточной пролиферации, опухолевой трансформации клеток и апоптозе. В трансформированных клетках и большинстве опухолей активность антиоксидантных ферментов снижена. Уже на ранних стадиях опухолевого роста возникают условия для продуцирования высокого уровня АФК по сравнению с нормальными клетками, и это является одним из факторов, способствующих избирательному росту опухолевых клеток на различных этапах промоции [93].

До настоящего времени остаются неизученными метаболические изменения, способствующие прогрессии опухолевого процесса и сопутствующие развитию рака на фоне стрессорной нагрузки, в частности, состояние процессов липопероксидации и антирадикальной защиты клеток [12]. Повышенное образование свободных радикалов может быть одним из патогенетических факторов канцерогенеза [67].

Установлено, что развитие злокачественных опухолей сопровождается значительными изменениями в липидном составе и интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [136, 175]. Антиоксиданты

обеспечивают связывание и модификацию свободных радикалов, предупреждают образование перекисей или разрушают их. Дисбаланс активности ПОЛ и антиоксидантной системы способствует возникновению оксидативного стресса [74].

В соответствии с вышеизложенным, целью данного этапа исследования явилось изучение влияния эфирных масел на активность антиоксидантных ферментов и процесс перекисного окисления липидов в плазме крови и печени у мышей с привитой миеломой на фоне стрессорной нагрузки.

В работе были использованы эфирные масла *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*, которые вводили с помощью ингаляции (ИЭМ) в соотношении 2:1.

Исследование проводили в четырех группах мышей: 1 – «интактные-контроль»; 2 – «стресс-контроль»; 3 – «стресс+миелома»; 4 – «стресс+миелома+ИЭМ».

Животным 3-4 опытных групп за один день до начала эксперимента внутрибрюшинно инъецировали суспензию клеток миеломы штамма Sp 2/0 Ag14 (10^6 на мышь). В четвертой группе в течение двух недель проводили ИЭМ. При этом три другие группы с эфирными маслами не контактировали. В качестве стрессорной нагрузки использовали методику «принудительного плавания».

Исследование активности про- и антиоксидантной системы проводили в плазме крови (таблица 5) и печени (таблица 6) опытных животных на следующий день после завершения ИЭМ. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) [56]. Для оценки деятельности системы антиоксидантной защиты (АОЗ) использовали звено ферментативных антиоксидантов, анализируя активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионтрансферазы (ГТ).

Изменение активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО) в плазме крови мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 под влиянием стрессорной нагрузки и ингаляционного введения эфирных масел

№ гр .	Показатель Эксп. группа	СОД, Е/мг/мин	Каталаза, мкМ/с·л	ГПО, мкМ/мг/мин
1. n = 12	Интактные-контроль, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	3,69±0,37 3,58 [3,39 – 4,08]	2,57±0,26 2,48 [2,36 – 2,81]	0,08±0,007 0,08 [0,07 – 0,08]
2. n = 12	Стресс-контроль, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	2,14±0,22 2,14 [2,0 – 2,25] p₁₋₂=0,006	0,71±0,07 0,71 [0,66 – 0,77] p₁₋₂=0,001	0,03±0,004 0,03 [0,03 – 0,03] p₁₋₂=0,001
3. n = 12	Стресс+миелома, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	1,73±0,18 1,72 [1,55 – 1,86] p₁₋₃=0,001 p ₂₋₃ =0,133 p₃₋₄=0,004	0,58±0,06 0,58 [0,53 – 0,61] p₁₋₃=0,001 p ₂₋₃ =0,208 p₃₋₄=0,001	0,02±0,003 0,02 [0,02 – 0,024] p₁₋₃=0,001 p ₂₋₃ =0,312 p₃₋₄=0,001
4. n = 12	Стресс+миелома+ИЭМ, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	3,12±0,32 3,14 [2,87 – 3,21] p₂₋₄=0,043 p₃₋₄=0,004	2,24±0,22 2,25 [2,05 – 2,42] p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,001	0,06±0,007 0,06 [0,055 – 0,060] p₂₋₄=0,002 p₃₋₄=0,001

Таблица 6

Изменение уровня малонового диальдегида (МДА) - продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионтрансферазы (ГТ) в печени мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 под влиянием стрессорной нагрузки и эфирных масел

№	Показатель Эксп. группа	МДА, мкМ/л	СОД, Е/мг/мин	Каталаза, мкМ/с·л	ГПО, мкМ/ мг/мин	ГТ, мМ/мг/ мин
1	2	3	4	5	6	7
1	Интакты е- n = 12 M± σ Me [Q ₁ -Q ₃]	15,66± 1,63 15,77 [14,69 – 16,5]	46,24± 4,36 45,84 [42,19 – 50,23]	18,73± 1,79 19,0 [17,11 – 19,89]	28,55± 2,63 27,49 [26,19 – 30,77]	7,63± 0,75 7,34 [7,08 – 8,17]
2	Стресс- контроль, n = 12 M± σ Me [Q ₁ -Q ₃]	29,74± 2,86 30,10 [27,05 – 31,96] p₁₋₂=0,001	22,46± 2,12 22,37 [20,91 – 23,36] p₁₋₂=0,001	10,78± 1,12 10,46 [9,87 – 11,90] p₁₋₂=0,007	13,43± 1,32 12,96 [12,51 – 14,72] p₁₋₂=0,001	1,91± 0,18 1,88 [1,80 – 1,97] p₁₋₂=0,001
3	Стресс+ миелома, n = 12 M± σ Me [Q ₁ -Q ₃]	48,08± 4,21 48,46 [43,62 – 51,66] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,013	14,93± 1,33 15,21 [13,75 – 15,75] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,020	8,99± 0,91 8,92 [8,46 – 9,21] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,412	7,48± 0,79 7,66 [6,72 – 7,94] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,008	0,85± 0,11 0,84 [0,75 – 0,96] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,001

Продолжение таблицы 6						
1	2	3	4	5	6	7
4	Стресс+ миелома +ИЭМ, n = 12 M± σ Me [Q ₁ -Q ₃]	24,37± 2,44 23,61 [23,11 – 25,29] p₁₋₄=0,019 p₂₋₄=0,201 p₃₋₄=0,001	43,02± 4,11 42,39 [39,70 – 46,45] p₁₋₄=0,223 p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,001	12,82± 1,32 12,89 [11,88 – 13,83] p₁₋₄=0,031 p₂₋₄=0,403 p₃₋₄=0,024	26,69± 2,71 26,48 [24,48 – 28,92] p₁₋₄=0,301 p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,001	4,79± 0,46 4,70 [4,48 – 4,97] p₁₋₄=0,010 p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,001

Одним из неблагоприятных последствий ПОЛ в результате действия радикалов кислорода и последующего разрыва полиеновых кислот, считается образование МДА – одного из конечных продуктов расщепления жирных кислот [34]. По изменению концентрации МДА можно судить об активации ПОЛ.

Нами было показано, что у животных при стрессорной нагрузке происходит статистически значимое увеличение в 1,8 раз содержания МДА (с 15,66±1,63 мкмоль/л до 29,74±2,86 мкмоль/л; p=0,001) при стрессорной нагрузке относительно интактных мышей и в 3 раза (до 48,08±4,21 мкмоль/л; p=0,001) с привитой миеломой.

После курса ИЭМ содержание МДА снижалось в 1,5 раза (до 24,37±2,44 мкмоль/л; p=0,001) относительно группы «стресс+миелома» и в 0,8 раза относительно «стресс-контроль» (различия статистически не значимы).

СОД – фермент, катализирующий реакции дисмутации активных супероксидных анионов в пероксид водорода и кислород. В современной литературе сведения об активности этого фермента в крови онкологических больных достаточно противоречивы. Ряд исследователей сообщает о низкой

активности СОД при метастазировании опухолей [11].

В результате проведенных исследований нами установлено, что активность СОД в плазме крови мышей после хронической стрессорной нагрузки снижалась в 1,7 раз (с $3,69 \pm 0,37$ Е/мг/мин до $2,14 \pm 0,22$ Е/мг/мин; $p=0,006$). У животных с привитой миеломой на фоне стресса снижение активности фермента происходило более глубоко - примерно в 2 раза (до $1,73 \pm 0,18$ Е/мг/мин; $p=0,001$). При этом применение ИЭМ вызывало повышение активности СОД в 1,6 раза, т.е. до $3,12 \pm 0,32$ Е/мг/мин ($p=0,003$) относительно группы «стресс-контроль», и в 1,8 раза относительно группы «стресс+миелома» ($p=0,043$) соответственно.

В печени происходило снижение активности СОД еще более значительно: при хронической стрессорной нагрузке примерно в 2 раза (с $46,24 \pm 4,36$ до $22,46 \pm 2,12$ Е/мг/мин; $p=0,001$) и в 3 раза с привитой миеломой (до $14,93 \pm 1,33$ Е/мг/мин; $p=0,001$).

Применение ИЭМ оказывало повышение активности фермента в 1,9 раза (с $22,46 \pm 2,12$ до $43,02 \pm 4,11$ Е/мг/мин; $p=0,001$) относительно группы «стресс-контроль» и примерно в 2,9 раз (с $14,93 \pm 1,33$ до $43,02 \pm 4,11$ Е/мг/мин; $p=0,001$) относительно группы «стресс+миелома».

На рисунке 11 продемонстрировано значительное увеличение активности СОД под действием ИЭМ относительно групп «стресс-контроль» и «стресс+миелома». В плазме крови (11 А) – на 27,9% ($p=0,043$) и 39,7% ($p=0,004$), в печени (11 Б) - на 43,7% и 59,3% ($p=0,001$) соответственно.

Пероксид водорода, инициирующий образование радикала ОН \cdot , разлагается под действием фермента каталазы. Данные об активности каталазы в динамике канцерогенеза противоречивы. Отмечена повышенная активность каталазы эритроцитов больных рака шейки матки в динамике прогрессирования заболевания [7], при базально-клеточном раке кожи [52]. В то же время ряд исследователей [66] отмечают снижение каталазной активности при опухолевом процессе, либо указывают, что активность каталазы остается стабильной и не зависит от стадии заболевания, например,

при раке молочной железы [11].

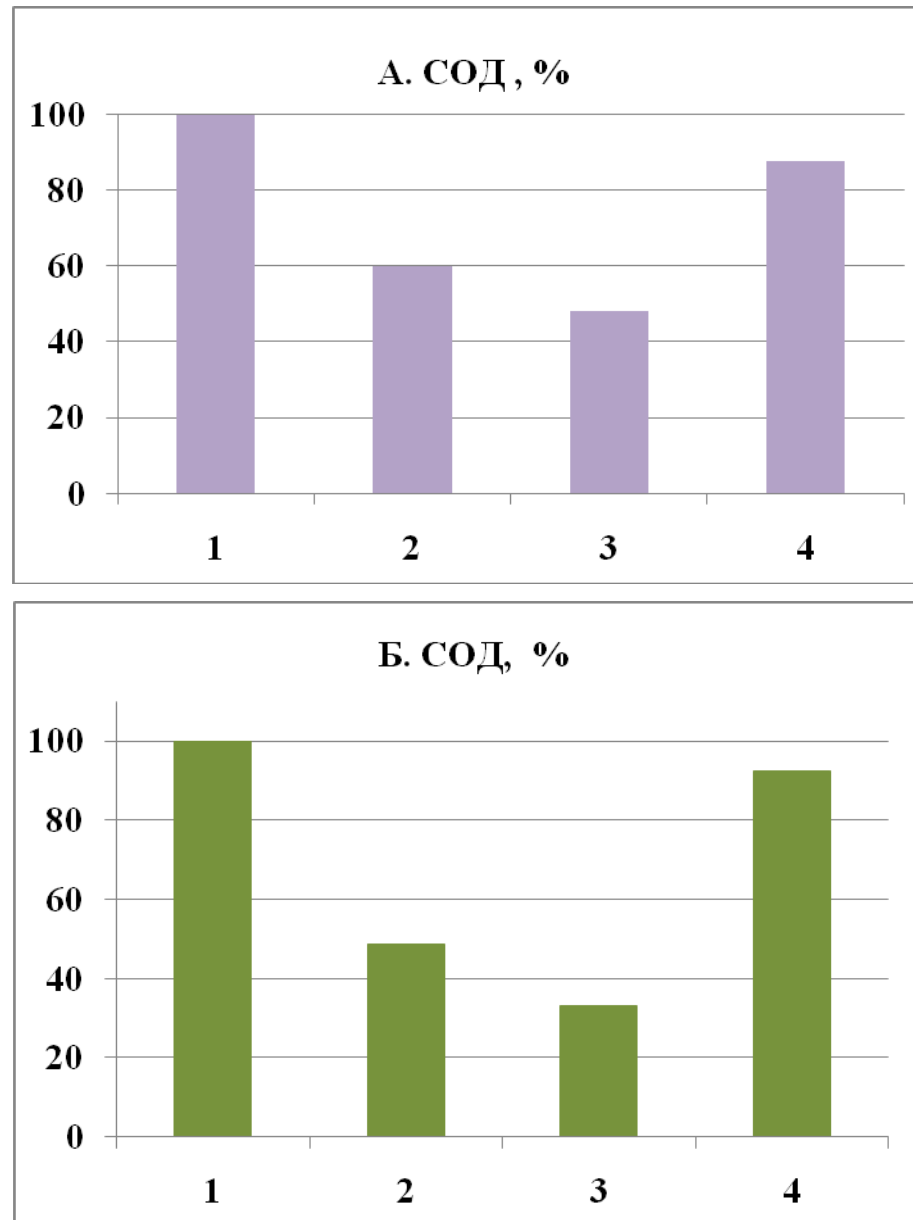


Рис. 11. Влияние ингаляционного введения смеси эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* на изменение активности супероксиддисмутазы (СОД) в плазме крови (А) и печени (Б) мышей BALB/c

Примечание: 1 – «интактные-контроль» (принят за 100%); 2 – «стресс-контроль»; 3 – «стресс+миелома»; 4 – «стресс+миелома+ИЭМ»

А. $p_{1-2}=0,006$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{3-4}=0,004$, $p_{2-4}=0,043$, $p_{3-4}=0,004$

Б. $p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{3-4}=0,02$, $p_{2-4}=0,001$, $p_{3-4}=0,001$

Нами установлено, что активность каталазы в плазме крови снижалась при хронической стрессорной нагрузке по сравнению с группой интактных животных в 3,6 раза (с $2,57 \pm 0,26$ Е/мг/мин до $0,71 \pm 0,07$ Е/мг/мин; $p=0,001$) и в 4,4 раза (до $0,58 \pm 0,06$ Е/мг/мин) с привитой миеломой на фоне стресса ($p=0,001$).

Под действием ИЭМ активность фермента повышалась до $2,24 \pm 0,22$ Е/мг/мин: в 3,2 раза относительно группы «стресс-контроль» ($p=0,001$) и в 3,9 относительно группы «стресс+миелома» ($p=0,001$).

В печени при стрессорной нагрузке происходило также снижение активности каталазы по сравнению с группой интактных мышей: в 1,73 раз (с $18,73 \pm 1,79$ Е/мг/мин до $10,78 \pm 1,12$ Е/мг/мин; $p=0,007$) и примерно в 2 раза (до $8,99 \pm 0,91$ Е/мг/мин; $p=0,001$) у животных с привитой миеломой на фоне стрессорной нагрузки.

Под действием ИЭМ активность фермента повышалась до $12,82 \pm 1,32$ Е/мг/мин: в 1,19 раз относительно группы «стресс-контроль» (различия статистически не значимы) и в 1,43 раза относительно группы «стресс+миелома» ($p=0,024$).

На рисунке 12 показано возрастание активности каталазы под действием ИЭМ:

12.А - в плазме крови это возрастание составило 62,1% и 67,3% относительно групп «стресс-контроль» и «стресс+миелома» соответственно ($p=0,001$);

12.Б - в печени составило 12,9% по сравнению с группой «стресс-контроль» (различия статистически не значимы) и 21% - по сравнению с группой «стресс+миелома» ($p=0,024$).

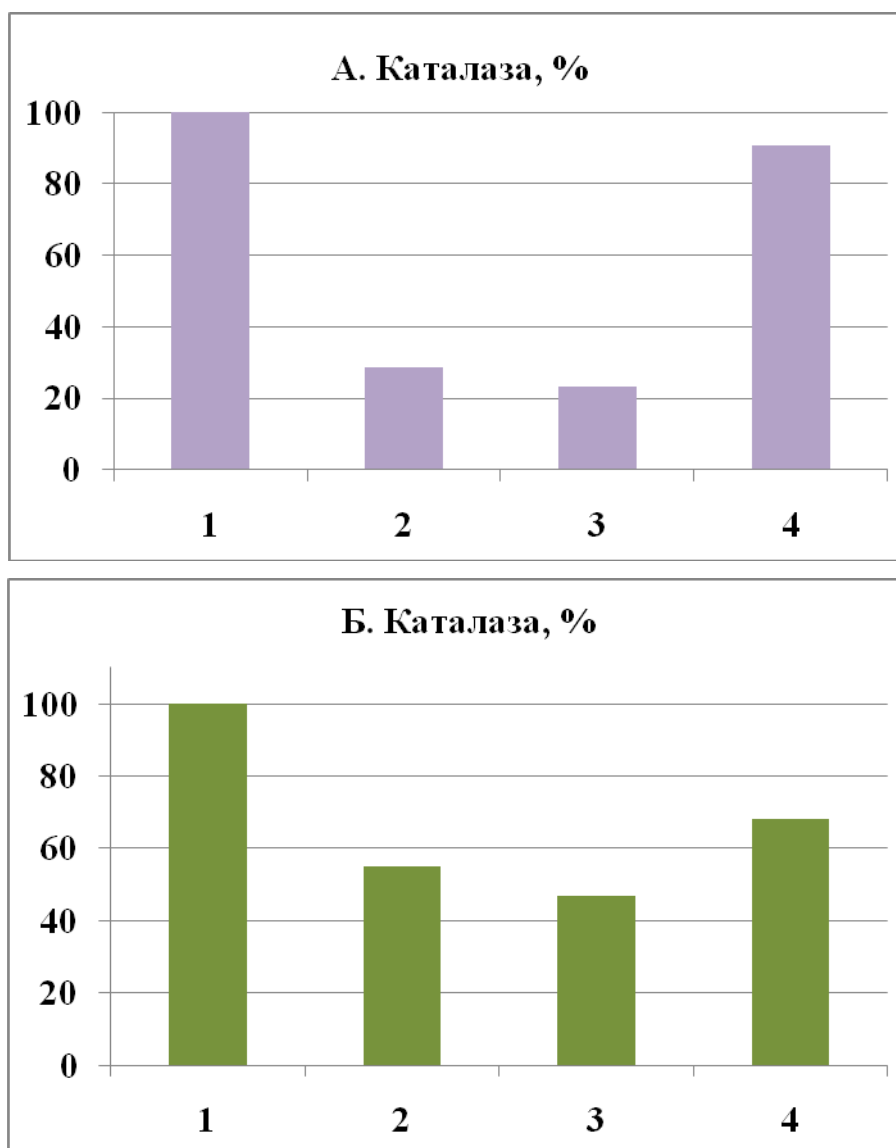


Рис. 12. Влияние ингаляционного введения смеси эфирных масел эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* на изменение активности каталазы в плазме крови (А) и печени (Б) мышей BALB/c

Примечание. 1 – «интактные-контроль» (принят за 100%); 2 – «стресс-контроль»; 3 – «стресс+миелома»; 4 – «стресс+миелома+ИЭМ»

А. $p_{1-2}=0,006$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{3-4}=0,004$, $p_{2-4}=0,043$, $p_{3-4}=0,004$

Б. $p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{3-4}=0,02$, $p_{2-4}=0,001$, $p_{3-4}=0,001$

ГПО – фермент, служащий для инактивации перекиси водорода, представляет собой тетрамер, состоящий из четырех идентичных сферических субъединиц, каждая из которых содержит по одному атому

селена, имеет два активных глутатион-связывающих центра. При уменьшении уровня ГПО снижается устойчивость организма к окислительному поражению, что может приводить к развитию свободнорадикальной патологии. ГПО катализирует реакцию восстановления глутатионом нестойких органических гидропероксидов, включая гидропероксиды полиненасыщенных жирных кислот. Подобно каталазе ГПО утилизирует перекись водорода.

В наших исследованиях активность этого фермента в плазме крови при стрессорной нагрузке снижалась в 2,7 раза (с $0,08 \pm 0,007$ Е/мг/мин до $0,03 \pm 0,004$; $p=0,001$) и в 4 раза с привитой миеломой на фоне стресса (до $0,02 \pm 0,003$ Е/мг/мин; $p=0,001$).

Под действием ИЭМ активность фермента возрастала до $0,06 \pm 0,007$ Е/мг/мин ($p=0,002$): в 2 раза по сравнению с группой «стресс-контроль» и в 3 раза относительно группы «стресс+миелома».

В печени активность ГПО также снижалась: при стрессорной нагрузке в 2,1 раза (с $28,55 \pm 2,63$ Е/мг/мин до $13,43 \pm 1,32$; $p=0,001$) и в 3,8 раза (до $7,48 \pm 0,79$ Е/мг/мин; $p=0,001$) с привитой миеломой на фоне стресса.

Под действием ИЭМ активность фермента возрастала до $26,69 \pm 2,1$ Е/мг/мин: примерно в 2 раза по сравнению с группой «стресс-контроль» и в 3,6 относительно группы «стресс+миелома» ($p=0,001$).

На рисунке 13 продемонстрировано возрастание активности фермента ГПО:

13 А - в плазме крови после применения ИЭМ активность фермента повысилась на 37,5% и 50% относительно групп «стресс-контроль» и «стресс+миелома» соответственно ($p=0,001$);

13 Б - в печени активность ГПО повысилась соответственно на 49,2% и 68,4% ($p=0,001$).

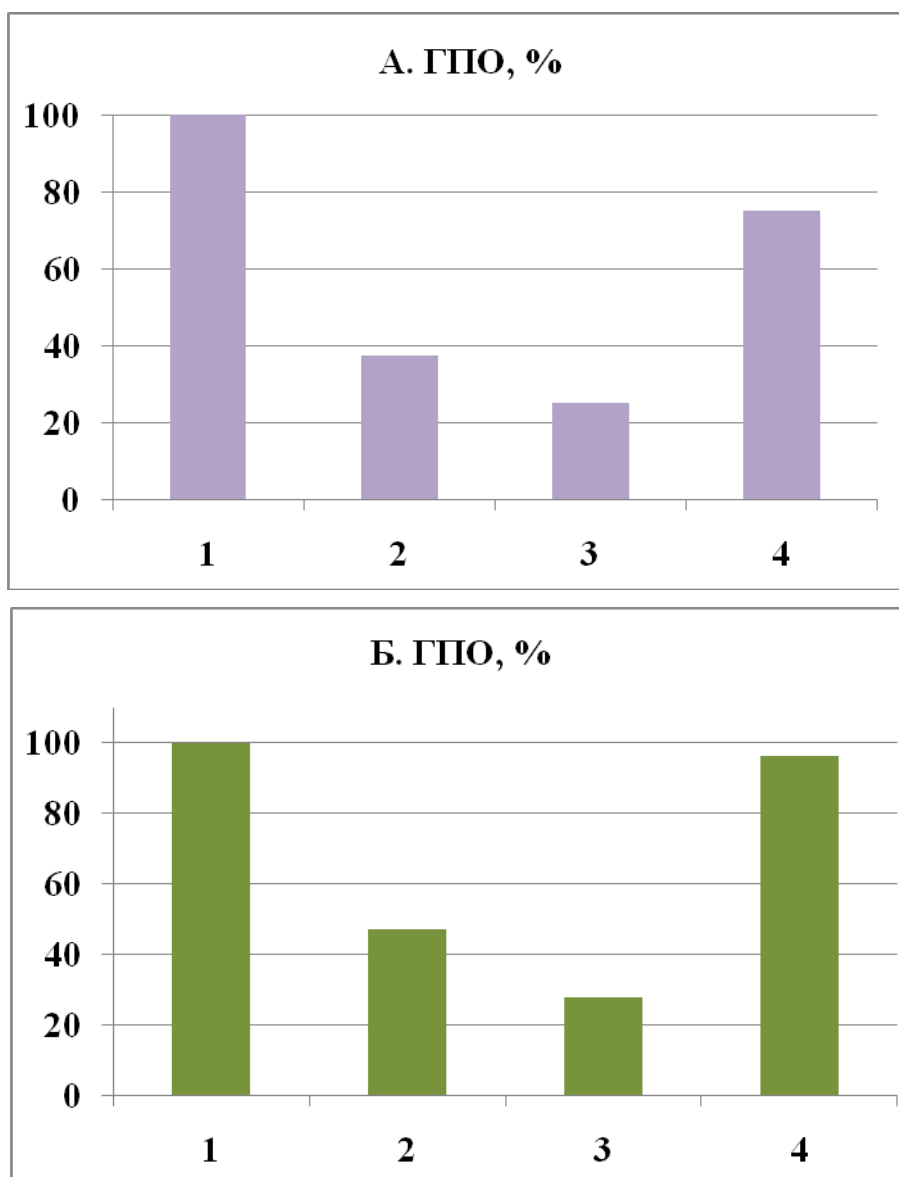


Рис. 13. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ИЭМ на изменение активности глутатионпероксидазы (ГПО) в плазме крови (А) и печени (Б) мышей BALB/c

Примечание. 1 – «интактные-контроль» (принят за 100%); 2 – «стресс-контроль»; 3 – «стресс+миелома»; 4 – «стресс+миелома+ИЭМ»

А. $p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{3-4}=0,001$, $p_{2-4}=0,002$, $p_{3-4}=0,001$

Б. $p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,008$, $p_{2-4}=0,001$, $p_{3-4}=0,001$

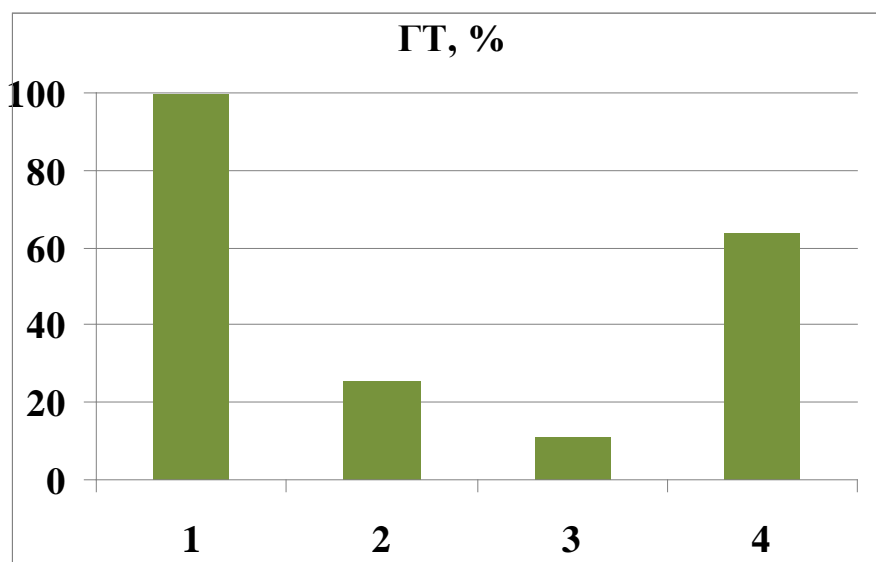


Рис. 14. Влияние ингаляционного введения смеси эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* на изменение активности глутатионтрансферазы (ГТ) в печени мышей BALB/c

Примечание. 1 – «интактные-контроль» (принят за 100%); 2 – «стресс-контроль»; 3 – «стресс+миелома»; 4 – «стресс+миелома+ИЭМ»

$p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,001$, $p_{1-4}=0,01$, $p_{2-4}=0,001$, $p_{3-4}=0,001$

ГТ входит в семейство ферментов, нейтрализующих токсическое влияние различных гидрофобных и электрофильных соединений путем их конъюгации с восстановленным глутатионом. Основная функция ГТ - защита клеток от ксенобиотиков и продуктов ПОЛ посредством их восстановления, присоединения к субстрату молекулы глутатиона или нуклеофильного замещения гидрофобных групп. Полагают, что результаты определения глутатионредуктазной активности могут иметь большое значение для диагностики опухолей и прогнозирования лечения лейкозов [31]. Есть сведения, что при раке почки в плазме крови и эритроцитах значительных изменений в состоянии глутатионового звена не наблюдается, а у онкологических больных с раком шейки матки активность глутатионредуктазы снижена [7].

По данным нашего исследования, активность ГТ в печени интактных

мышей составила $7,63 \pm 0,75$ ммоль/мг/мин. При стрессорной нагрузке уровень ГТ снижался в 3,9 раз (до $1,91 \pm 0,18$ Е/мг/мин; $p=0,001$) и 8,9 раз с привитой миеломой на фоне стрессорной нагрузки (до $0,85 \pm 0,11$ Е/мг/мин; $p=0,001$).

Под действием ИЭМ активность фермента повышалась до $4,79 \pm 0,46$ Е/мг/мин: в 2,5 раза по сравнению с группой «стресс-контроль» ($p=0,001$) и в 5,6 раз относительно группы «стресс+миелома» ($p=0,001$).

На рисунке 14 продемонстрировано возрастание активности ГТ в печени после применения ИЭМ относительно групп «стресс-контроль» и «стресс+миелома» соответственно на 38% и 52,6% ($p=0,001$).

Таким образом, анализ ферментативного звена антиоксидантной системы в плазме крови и печени мышей показал, что активность ферментов снижается при стрессе и еще более выражено - при опухолевом процессе на фоне хронической стрессорной нагрузки. Под действием эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ИЭМ происходит коррекция выявленных сдвигов.

3.5. Исследование окислительной модификации белков в плазме крови и печени мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 под действием хронического стресса и эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*

Свободные радикалы повреждают не только липиды, но и белковые молекулы, поэтому одновременная оценка ПОЛ и окислительной модификации белков (ОМБ) позволяет дать более полную характеристику повреждающему действию свободно-радикального окисления (СРО).

Карбониловые производные белков - это стабильные продукты, которые образуются при участии аминокислотных остатков пролина, аргинина, лизина, треонина с образованием аддуктов Михаэля. Их структура представлена на рисунке 15.

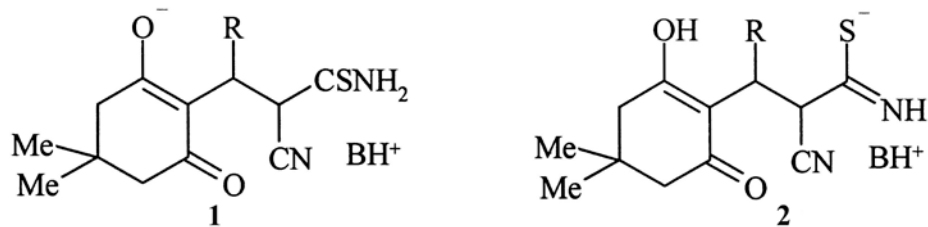


Рис. 15. Строение аддуктов Михаэля по Доценко В.В.[39]

Первоначально считалось, что эта структура имеет вид: 2-[3-амино-1-арил-3-тиоксо-2-цианопропил)-5,5-диметил-3-оксоцикло-гекс-1-ен-1-олатов аммония (1). Однако позже было показано, что в случае (R = 4-хлорфенил) отрицательный заряд локализован на атоме серы и аддукт имеет строение 3-(2-гидрокси-4,4-диметил-6-оксоциклогекс-1-енил)-3-(4-хлорфенил)-2-цианопропантиоимидата аммония (2).

Также карбониловые производные белков могут образовываться при участии аминокислотных остатков лизина, цистеина и гистидина с продуктами перекисного окисления липидов. Причем карбонилирование

аргинина и лизина сопровождается потерей одного или более атомов азота. Кроме этого, они могут образовываться в процессе гликирования или гликооксидации аминокрупп лизина. По мнению ряда исследователей, карбонильные производные формируются при металл-катализируемом окислении белков [185].

Основными индукторами ОМБ являются активные формы кислорода (АФК), увеличение свободного железа, продукты перекисного окисления липидов при снижении антиоксидантной защиты.

При действии АФК происходит нарушение нативной конформации белков с образованием крупных белковых агрегатов или фрагментация белковой молекулы [77].

Радикалы липидов могут также вызывать фрагментацию белковых молекул. Формирование агрегатов происходит, по всей видимости, вследствие нарушения нативной конформации ряда доменов белков, что приводит к увеличению числа гидрофобных остатков на поверхности глобул, и, как следствие этого – формированию крупных белковых конгломератов [137].

Выделяют два механизма окислительно-модификации белков:

Первый механизм предполагает конъюгацию липидных пероксидов с аминокислотными остатками в белках [185].

Второй механизм – окисление при участии АФК с образованием карбонильных производных - стабильных продуктов, формирующихся при металл-катализируемом окислении белков, а также дисульфидов Cys-S-S-Cys, цистеин-сульфеновой (SO), -сульфиновой (SO₂-) или -сульфоновой (SO₃-) кислот, сульфоксида метионина (MetSO). В поддержании тиосульфидного состояния белков и защите клеток от окислительного стресса существенную роль играет ферментативное звено антиоксидантной системы (АОС) [229].

К ОМБ некоторые авторы относят гликирование и гликооксидацию лизиновых и аспарагиновых остатков [137, 171].

Последствием ОМБ белков является инактивация ферментов. Альдегиды чаще всего взаимодействуют с остатками цистеина или гистидина киназ, что приводит к утрате их активности [178]. Они могут вызывать также инактивацию мембранных транспортеров, например, Na^+ - K^+ -АТФ-азы, ГЛЮТ в головном мозге, что является причиной нейродегенеративных расстройств. Инактивация альдегидами шаперона Hsp90 и протеин-дисульфидизомеразы, приводят к нарушению фолдинга [232].

ОМБ делает белки более чувствительными к протеолизу с помощью протеасом и протеаз, поэтому образование карбонильных производных абберантных белков с нарушенным фолдингом необходимо для их деградации, вследствие чего карбонилирование белков можно рассматривать также, как один из способов контроля качества фолдинга белков [181].

ОМБ рассматривается также как один из ранних индикаторов повреждения ткани при свободно-радикальной патологии [38]. Установлено возрастание карбонильных групп белков как в опухолевой, так и в асцитической жидкости крыс с экспериментальным раком яичников [78].

При различных патологиях для оценки ОМБ проводится определение карбонильных производных белков в плазме, сыворотке, клетках крови и тканях [42, 192].

В наших экспериментах мы определяли ОМБ в плазме крови (таблица 7) и печени (таблица 8).

Как видно из таблицы 7, в плазме крови у мышей при стрессорной нагрузке относительно группы «контроль-интактные» происходило статистически значимое увеличение в 1,3 раза содержания карбонилированных белков спонтанных (КБ сп) и индуцированных (КБ инд): с $171,2 \pm 14,7$ и $1063,2 \pm 99,7$ Ед/г/белка до $224,8 \pm 19,6$ и $1396,4 \pm 114,5$ Ед/г/белка ($p=0,018$ и $p=0,022$) соответственно. У мышей с привитой миеломой на фоне стресса количество карбонилированных белков возрастало еще больше: КБ сп - в 2,2 раза по сравнению с группой интактных мышей и в 1,7 - с группой «стресс-контроль» (до $383,7 \pm 33,4$; $p=0,001$), а также количество КБ инд до

1798,2±143,6 Ед/г/белка - в 1,7 раза относительно интактных животных (p=0,002) и в 1,3 по сравнению с группой «стресс-контроль» (p=0,027).

Таблица 7

Уровень карбонилированных белков (КБсп и КБинд)
в плазме крови у мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14

№ группы	Показатель Эксп. группа	КБ сп., Ед/г белка	КБ инд., Ед/г белка
1. n = 12	Интактные- контроль, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	171,2±14,7 173,25 [161,80 – 179,65]	1063,2±99,7 1091,07 [963,09 – 1123,94]
2. n = 12	Стресс- контроль, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	224,8±19,6 222,89 [207,71 – 237,71] p₁₋₂=0,018	1396,4±114,5 1387,75 [1290,90 – 1500,29] p₁₋₂=0,022
3. n = 12	Стресс+ миелома, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	383,7±33,4 383,32 [360,07 – 402,53] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,002	1798,2±143,6 1787,11 [1666,28 – 1929,14] p₁₋₃=0,002 p₂₋₃=0,027
4. n = 12	Стресс+ миелома +ИЭМ, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	193,4±17,8 192,0 [176,89 – 209,45] p ₁₋₄ =0,112 p₃₋₄=0,001	1243,4±112,5 1234,90 [1139,72 – 1345,38] p ₁₋₄ =0,342 p₃₋₄=0,020

Уровень карбонилированных белков (КБсп и КБинд)
в печени мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14

№ группы	Показатель Эксп. группа	КБ сп., Ед/г белка	КБ инд., Ед/г белка
1. n = 12	Интактные- контроль, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	172,6±16,8 171,51 [156,58 – 187,42]	673,4±61,7 662,21 [639,33 – 717,50]
2. n = 12	Стресс-контроль, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	237,9±20,6 236,31 [218,86 – 256,33] p₁₋₂=0,024	898,6±80,1 892,71 [824,43 – 970,99] p₁₋₂=0,014
3. n = 12	Стресс+ миелома, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	373,0±32,1 374,69 [359,18 – 387,37] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,033	1187,2±101,4 1202,58 [1101,82 – 1278,23] p₁₋₃=0,001 p₂₋₃=0,017
4. n = 12	Стресс+ миелома +ИЭМ, M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	184,4±17,3 183,44 [167,94 – 194,40] p ₁₋₄ =0,210 p₂₋₄=0,010 p₃₋₄=0,001	812,3±79,2 806,48 [738,99 – 883,85] p ₁₋₄ =0,302 p ₂₋₄ =0,415 p₃₋₄=0,020

После курса ИЭМ содержание КБсп и КБинд относительно группы «стресс-контроль» снижалось в 1,2 раза, хотя различия не были статистически значимыми. Относительно группы «стресс+миелома» содержание карбонилированных белков КБсп снижалось примерно в 2 раза (с $383,7 \pm 33,4$ до $193,4 \pm 17,8$; $p=0,001$) и КБинд - в 1,4 раза (с $1798,2 \pm 143,6$ до $1243,4 \pm 112,5$ Ед/г/белка; $p=0,020$).

Содержание КБсп и КБинд в печени (таблица 8) при стрессорной нагрузке относительно группы интактных мышей увеличивалось в 1,6 раза (с $172,6 \pm 16,8$ и $673,4 \pm 61,7$ до $237,9 \pm 20,6$ Ед/г/белка; $p=0,024$) и в 1,3 раза (до $898,6 \pm 80,1$ Ед/г/белка; $p=0,014$) соответственно. У мышей с привитой миеломой на фоне стресса содержание КБ возрастало еще больше: КБсп в 2,2 раза (до $373,0 \pm 32,1$; $p=0,001$) и КБинд в 1,8 раза (до $1187,2 \pm 101,4$ Ед/г/белка; $p=0,001$). Относительно группы «стресс-контроль» уровень КБсп увеличивался в 1,6 ($p=0,033$) и КБинд - в 1,3 раза ($p=0,017$).

После курса ИЭМ содержание КБсп и КБинд относительно группы «стресс-контроль» снижалось в 1,3 раза (с $237,9 \pm 20,6$ до $184,4 \pm 17,3$; $p=0,010$) и относительно группы «стресс+миелома» - примерно в 2 раза (с $373,0 \pm 32,1$ до $184,4 \pm 17,3$; $p=0,001$) и в 1,5 раза (с $1187,2 \pm 101,4$ до $812,3 \pm 79,2$ Ед/г/белка; $p=0,020$) соответственно.

На рисунках 16-17 продемонстрировано влияние ИЭМ на содержание карбонилированных белков в плазме крови и печени мышей четырех экспериментальных групп: 1 – интактные; 2 – стресс-контроль; 3 – стресс+миелома; 4 – стресс+миелома+ИЭМ.

На рисунке 16 показано снижение концентрации карбонилированных белков в плазме крови под воздействием ИЭМ. КБсп (16А) - на 17,7% ($p=0,001$) и примерно на 110,3% (различия статистически незначимы) относительно групп «стресс+миелома» и «стресс-контроль». КБинд (16 Б) - на 50,6% ($p=0,020$) и примерно 14% (различия статистически незначимы) соответственно.

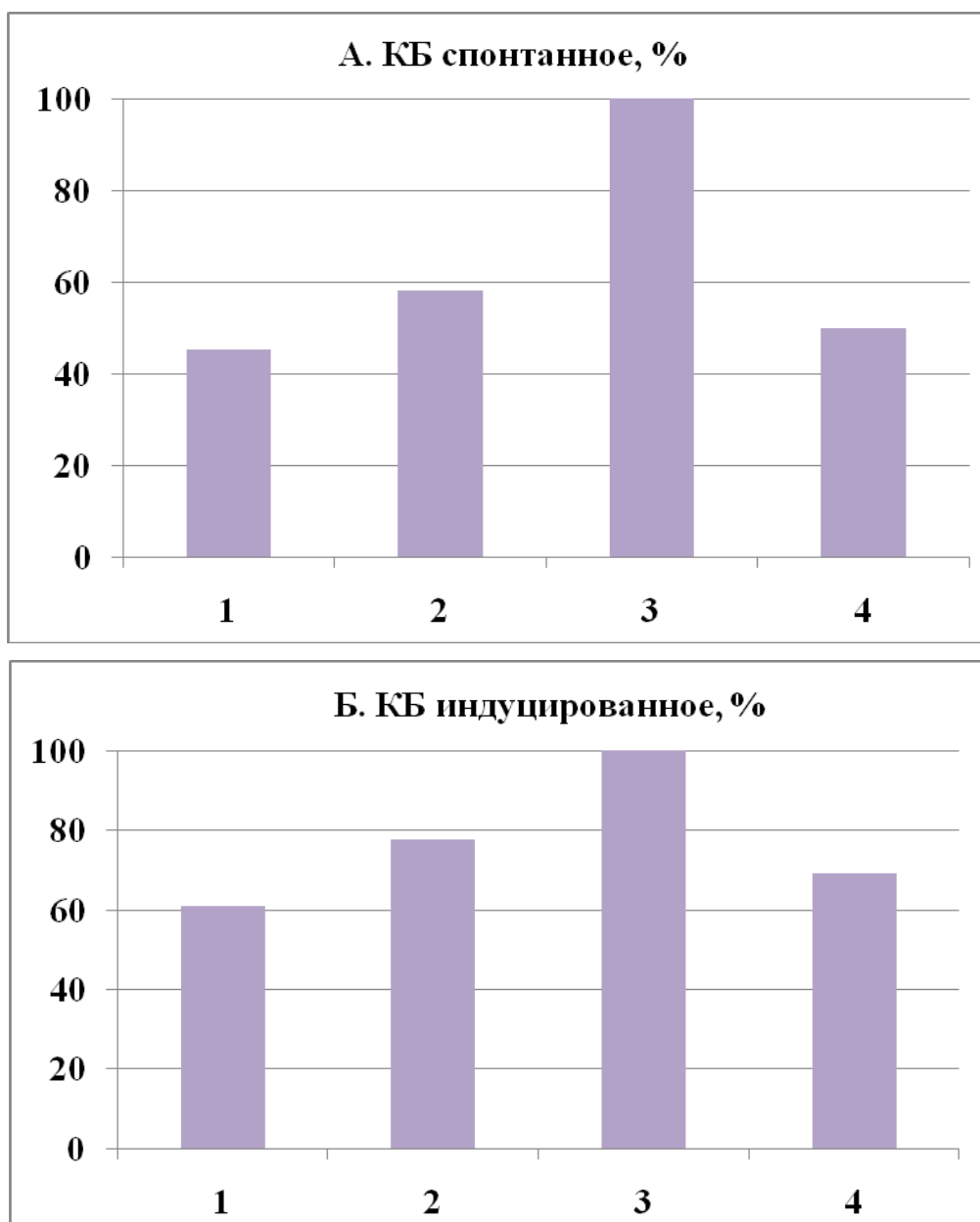


Рис. 16. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ИЭМ на изменение уровня спонтанного (КБсп) (А) и индуцированного (КБинд) карбонилирования белков (Б) в плазме крови экспериментальных животных

Примечание: 1 - интактные; 2 – стресс-контроль; 3 – стресс+миелома (принят за 100%); 4 – стресс+миелома+ИЭМ;

$p_{1-2}=0,018$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,002$, $p_{3-4}=0,001$

$p_{1-2}=0,022$, $p_{1-3}=0,002$, $p_{2-3}=0,027$, $p_{3-4}=0,02$

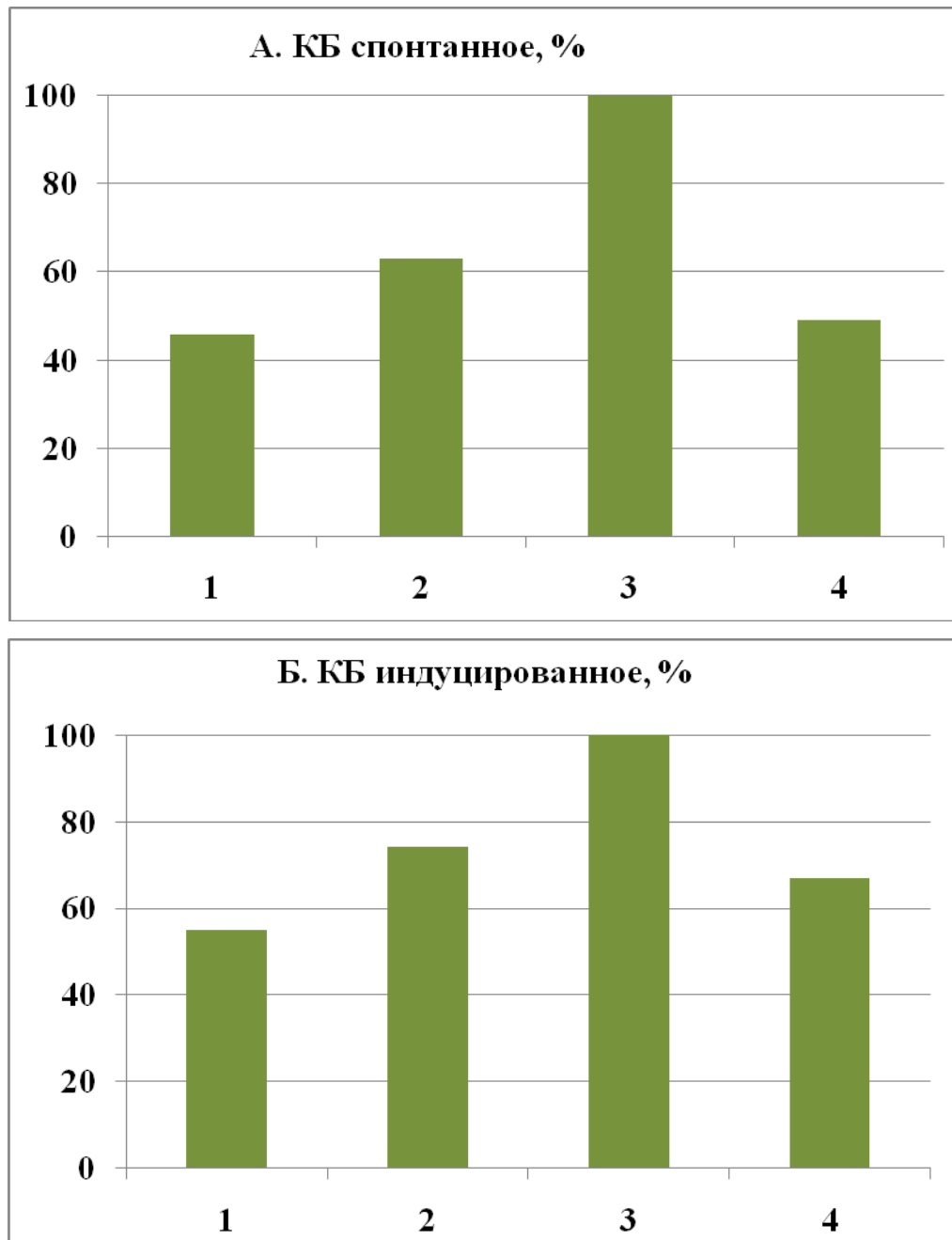


Рис. 17. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ИЭМ на изменение уровня спонтанного (КБсп) (А) и индуцированного (КБинд) карбонилирования белков (Б) в печени экспериментальных животных

Примечание: 1 - интактные; 2 – стресс-контроль; 3 – стресс+миелома (принят за 100%); 4 – стресс+миелома+ИЭМ;

$p_{1-2}=0,024$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,033$, $p_{2-4}=0,01$, $p_{3-4}=0,001$

$p_{1-2}=0,014$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,017$, $p_{3-4}=0,02$

На рисунке 17 продемонстрировано снижение концентрации карбонилированных белков в печени после применения ИЭМ. КБсп (17 А) - на 30,8% ($p=0,010$) и на 111,5% ($p=0,001$) относительно групп стресс-контроль и стресс+миелома. КБинд (17 Б) - на 13% и 60% (различия статистически незначимы) и 31,6% ($p=0,020$) соответственно.

Факт усиления ПОЛ в крови при злокачественных новообразованиях у животных и человека не вызывает сомнений. Основными показателями этого являются различные нарушения ферментативной антиоксидантной защиты тканей, причинами которой могут быть угнетение активности каталазы и нарушение ее синтеза; изменения качественного и количественного состава изоферментов СОД, как правило, снижения активности ГПО и уменьшение сродства фермента к субстрату [34].

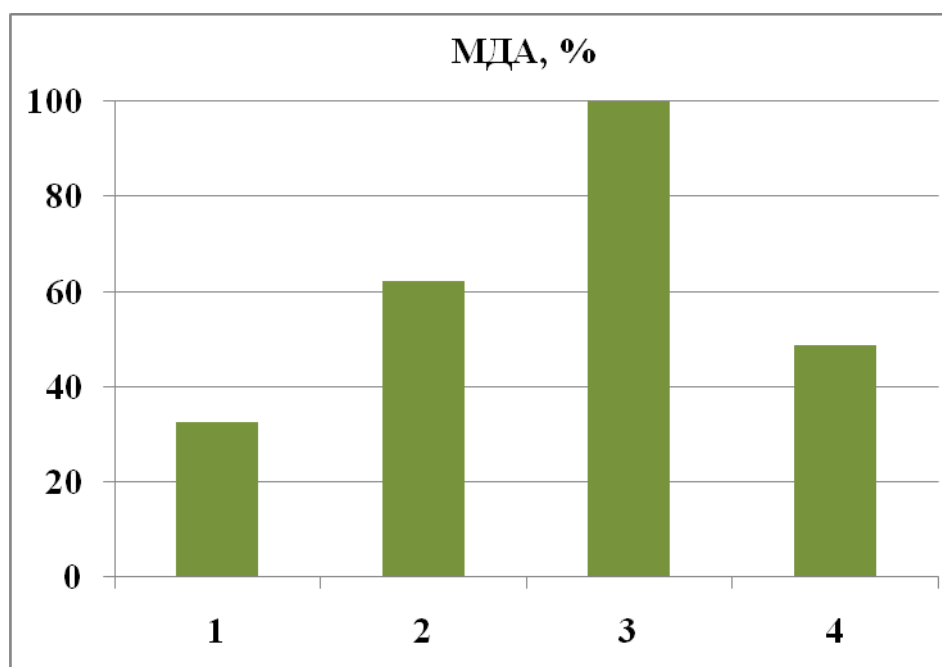


Рис. 18. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ИЭМ на изменение уровня МДА в печени экспериментальных животных

Примечание: 1 - интактные; 2 – стресс-контроль; 3 – стресс+миелома (принят за 100%); 4 – стресс+миелома+ИЭМ;

$p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,02$, $p_{2-4}=0,001$, $p_{3-4}=0,001$

Как видно из рисунка 18, при использовании ИЭМ у мышей с привитой миеломой на фоне экспериментальной депрессии наблюдалось уменьшение уровня МДА в печени относительно группы контроль-миелома на 157,3% ($p=0,001$) и относительно группы стресс-контроль - на 41% (различия статистически незначимы).

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют об увеличении концентрации карбонилированных белков как спонтанных, так и индуцированных, а также накоплении МДА в плазме крови и печени животных-опухоленосителей. Выявленные сдвиги возрастали под действием хронического стресса и нивелировались после применения ИЭМ.

3.6. Оценка влияния хронического стресса и эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* на поведенческие реакции и «степень депрессии» у мышей BALB/c

Наиболее разрушительным фактором в подавлении иммунной системы является хронический стресс, переходящий в депрессию. Поэтому необходимо было оценить изменение поведенческих реакций и «степени депрессии» у мышей BALB/c при применении ингаляционного введения эфирных масел на фоне хронического стресса.

Сравнение показателей поведенческих реакций, косвенно отражающих состояние центральной нервной системы, проводили в пяти группах мышей, в каждой из которых количество животных составляло 12, всего n=60 (таблица 9).

Таблица 9

Группы мышей BALB/c, сформированные для оценки влияния эфирных масел *Eucalyptus globulus*, *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ИЭМ на поведенческие реакции

Виды воздействия на мышей	Группы мышей				
	1 (n=12)	2 (n=12)	3 (n=12)	4 (n=12)	5 (n=12)
	Контроль-интактные	Контроль-стресс	Флуоксетин + стресс	ИЭМ ₁ + стресс	ИЭМ ₂ + стресс
Хронический стресс	-	+	+	+	+
Ингаляция эф.маслами	-	-	-	+	+
Введение антидепрессанта флуоксетина	-	-	+	-	-

В качестве антистрессорных средств использовали эфирные масла и для сравнения препарат флуоксетин – один из основных представителей группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, антидепрессивное действие которого сочетается со стимулирующим, снижая напряженность, тревожность и чувство страха.

Воздействие ингаляционного введения эфирных масел на показатели поведенческих реакций в депрессивно-подобном состоянии оценивали, используя методику «открытого поля», регистрируя количество пересеченных линий квадратов (горизонтальная двигательная активность), подъем на задние лапы (вертикальная стойка), заглядывание за край «поля» (ориентировочно-исследовательская активность), количество дефекаций и актов груминга (умываний), отражающих эмоциональную реакцию.

Из данных, представленных в таблице 10, видно, что у мышей под действием ИЭМ₁ (лаванда + шалфей) происходило увеличение (примерно в 1,9 раз) показателей: горизонтальной двигательной активности с $19,1 \pm 1,9$ до $35,6 \pm 3,4$ ($p=0,002$), вертикальной с $9,4 \pm 0,9$ до $18,3 \pm 1,8$ ($p=0,001$), ориентировочно-исследовательской с $7,8 \pm 0,9$ до $14,5 \pm 1,6$ ($p=0,001$). При этом наблюдалось снижение эмоциональной реакции, выражающейся в уменьшении количества умываний (груминг) в 2,4 раза (с $13,1 \pm 1,1$ до $5,45 \pm 0,5$; $p=0,001$) и дефекаций в 2,6 раза (с $2,9 \pm 0,3$ до $1,1 \pm 0,1$; $p=0,001$).

Проведение ИЭМ₂ (эвкалипт) оказывало подобное влияние: происходило увеличение показателей горизонтальной двигательной активности в 1,6 раз (с $19,1 \pm 1,9$ до $31,3 \pm 3,1$; $p=0,003$), вертикальной - в 1,7 раз (с $9,4 \pm 0,9$ до $16,4 \pm 1,6$; $p=0,003$), ориентировочно-исследовательской - примерно в 2 раза (с $7,8 \pm 0,9$ до $15,3 \pm 1,1$; $p=0,001$), а также уменьшение количества умываний в 1,8 раз (с $13,1 \pm 1,1$ до $7,4 \pm 0,7$; $p=0,001$) и дефекаций - в 1,7 раз (с $2,9 \pm 0,3$ до $1,7 \pm 0,15$; $p=0,002$). Т.е. относительно ИЭМ₁ изменения показателей горизонтальной, вертикальной и ориентировочно-исследовательской двигательной активности были несколько ниже, но эти отличия статистически не значимы. По эмоциональной реакции отличия

оказались более выраженными: количество актов груминга было меньшим в 1,3 ($p=0,037$), дефекаций – в 1,5 раз ($p=0,009$).

Под действием препарата сравнения – флуоксетина наблюдалась также нормализация данных показателей, но в меньшей степени. Так, происходило увеличение (примерно в 1,4 раза) показателей двигательной активности с $19,1 \pm 1,9$ до $26,2 \pm 2,6$ ($p=0,029$), вертикальной - с $9,4 \pm 0,9$ до $13,4 \pm 1,3$ ($p=0,031$), ориентировочно-исследовательской - с $7,8 \pm 0,9$ до $11,15 \pm 1,2$ ($p=0,016$). А также снижение количества актов груминга (в 1,4 раза) с $13,1 \pm 1,1$ до $9,6 \pm 0,9$ ($p=0,021$) и дефекаций (в 1,2 раза) - с $2,9 \pm 0,3$ до $2,35 \pm 0,2$ ($p=0,020$).

При ингаляционном введении эфирных масел также было отмечено значительное снижение показателя «степени депрессии», свидетельствующее о снижении уровня тревожности: время «зависания» при применении ИЭМ₁ (лаванда + шалфей) относительно стресс-контроля уменьшалось в 5 раз (с $54,5 \pm 5,6$ до $10,9 \pm 1,1$; $p=0,001$); при ИЭМ₂ (эвкалипт) – примерно в 3,7 (до $14,9 \pm 1,4$; $p=0,001$) и флуоксетина – в 3,1 раз (до $17,8 \pm 1,7$; $p=0,002$). Причем при ИЭМ₁ снижение данного показателя происходило в большей степени: относительно ИЭМ₂ примерно в 1,4 раза ($p=0,017$) и флуоксетина - в 1,6 раз ($p=0,001$).

Таблица 10

Показатели тестов «открытое поле» и «вынужденное плавание» у лабораторных мышей на фоне хронического стресса с применением эфирных масел (лаванда+шалфей, эвкалипт)

№ п/ п	Исслед. группа животных	Показатели тестов					
		Пересеченные квадраты	Вертикальная стойка	Заглядывание за край «поля»	Груминг	Количество дефекаций	Время «зависания»
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Контроль – интактные M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	36,0±3,5 35,72 [32,74 – 39,16]	17,8±1,8 18,09 [16,22 – 19,09]	15,6±1,4 14,94 [14,61 – 16,58]	4,6±0,4 4,55 [4,47 – 4,90]	1,5±0,1 1,46 [1,42 – 1,60]	9,6±1,1 9,5 [8,7 – 10,5]
2.	Контроль - стресс M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	19,1±1,9 19,92 [17,29 – 20,50] p₁₋₂=0,002	9,4±0,9 9,05 [8,78 – 10,52] p₁₋₂=0,002	7,8±0,9 7,70 [7,22 – 8,17] p₁₋₂=0,001	13,1±1,1 13,03 [12,19 – 13,73] p₁₋₂=0,001	2,9±0,3 2,91 [2,64 – 3,18] p₁₋₂=0,001	54,5±5,6 53,6 [49,3 – 59,8] p₁₋₂=0,001
3.	Стресс + флуоксетин M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	26,2±2,6 25,45 [23,65 – 28,03] p₂₋₃=0,029	13,4±1,3 13,51 [12,88 – 14,45] p₂₋₃=0,031	11,15±1,2 11,0 [10,69 – 12,19] p₂₋₃=0,016	9,6±0,9 9,39 [8,97 – 10,26] p₂₋₃=0,021	2,35±0,2 2,31 [2,22 – 2,45] p₂₋₃=0,020	17,8±1,7 16,5 [16,3 – 19,1] P₂₋₃=0,002

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4	5	6	7	8
4.	Стресс + ИЭМ ₁ (лаванда и шалфей) M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	35,6±3,4 35,43 [33,26 – 35,81] p₂₋₄=0,002 p₃₋₄=0,032 p ₄₋₅ =0,124	18,3±1,8 17,87 [16,63 – 20,10] p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,029 p ₄₋₅ =0,215	14,5±1,6 14,60 [12,94 – 15,63] p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,044 p ₄₋₅ =0,312	5,45±0,5 5,52 [5,03 – 5,91] p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,001 p ₄₋₅ =0,037	1,1±0,1 1,12 [1,02 – 1,16] p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,001 p ₄₋₅ =0,009	10,9±1,1 10,1 [9,9 – 11,7] p₂₋₄=0,001 p₃₋₄=0,001 p ₄₋₅ =0,017
5.	Стресс + ИЭМ ₂ (эвкалипт) M±σ Me [Q ₁ -Q ₃]	31,3±3,1 31,46 [29,63 – 33,58] p₂₋₅=0,003 p ₃₋₅ =0,424	16,4±1,6 16,42 [15,05 – 17,38] p₂₋₅=0,004 p ₃₋₅ =0,235	15,3±1,1 15,46 [14,53 – 15,88] p₂₋₅=0,001 p₃₋₅=0,026	7,4±0,7 7,61 [6,75 – 8,02] p₂₋₅=0,001 p₃₋₅=0,041	1,7±0,15 1,68 [1,60 -1,82] p₂₋₅=0,002 p₃₋₅=0,03	14,9±1,4 13,8 [13,6 – 15,8] p₂₋₅=0,001 p₃₋₅=0,016

На рисунке 19 наглядно продемонстрировано, что ингаляционное введение эфирных масел вызывало у мышей на фоне хронической стрессорной нагрузки нормализацию всех наблюдаемых показателей теста «открытое поле».

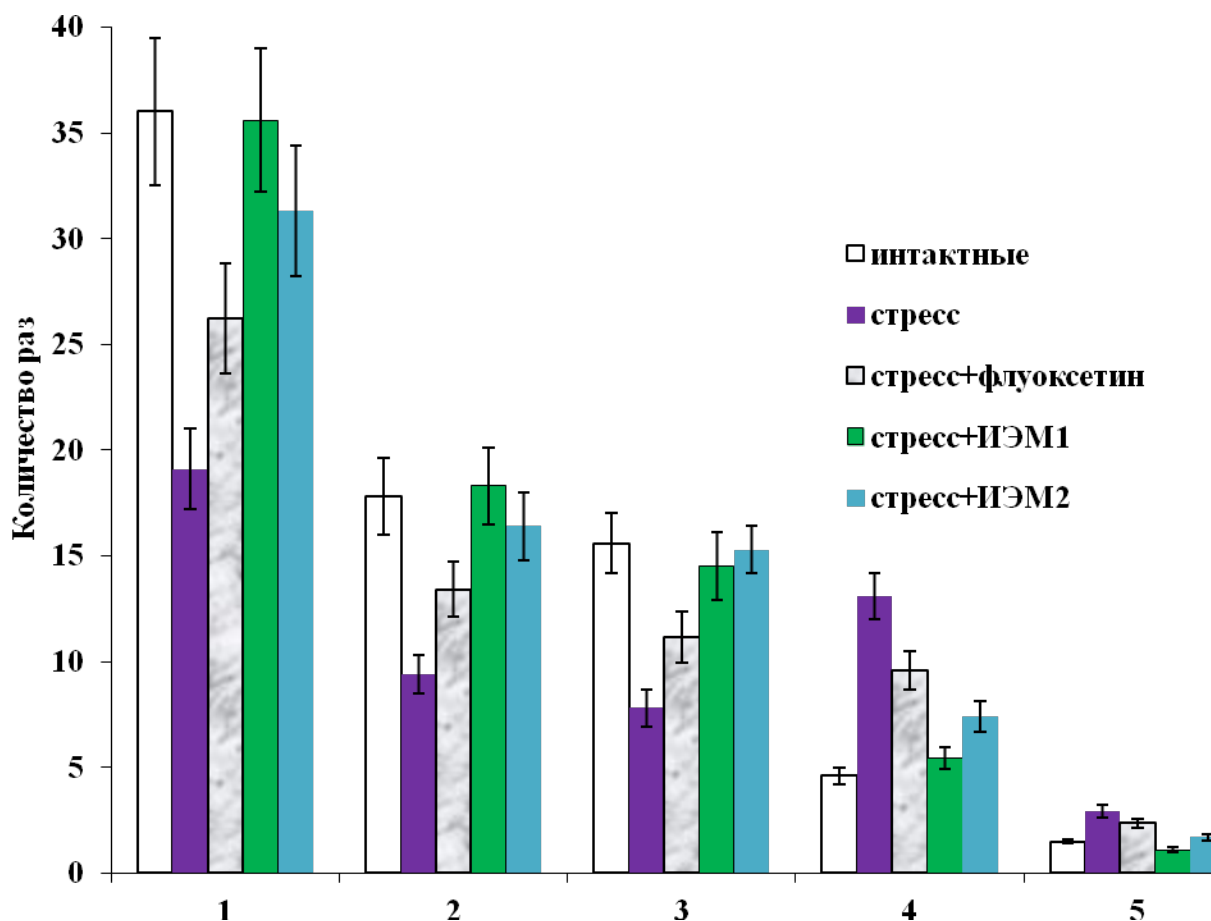


Рис. 19. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* (ИЭМ₁) и *Eucalyptus globulus* (ИЭМ₂) в сравнении с флуоксетином на показатели теста «открытое поле» у мышей BALB/c на фоне хронического стресса: 1 - пересеченные квадраты; 2 - вертикальная стойка; 3 - заглядывание за край "поля"; 4 - груминг; 5 - количество дефекаций

Так, при использовании ИЭМ₁ происходило увеличение горизонтальной двигательной активности на 46,3%, вертикальной – на 48,6%, ориентировочно-исследовательской – на 46,2% , а также уменьшение эмоциональной активности на 58,3% (груминг) и 62% (количество

дефекаций).

Под действием ИЭМ₂ горизонтальная двигательная активность возрастала на 38,9%, вертикальная - на 42,6%, ориентировочно-исследовательская - на 49%, а эмоциональная активность снижалась: груминг - на 43,5% и количество дефекаций - на 41,3%.

При использовании флуоксетина происходило увеличение двигательной активности на 27,1%, вертикальной – на 29,8%, ориентировочно-исследовательской – на 30%, снижение эмоциональной активности на 26,7% (груминг) и 18,9% (количество дефекаций).

Показатели «степени депрессии» у мышей
на фоне хронического стресса

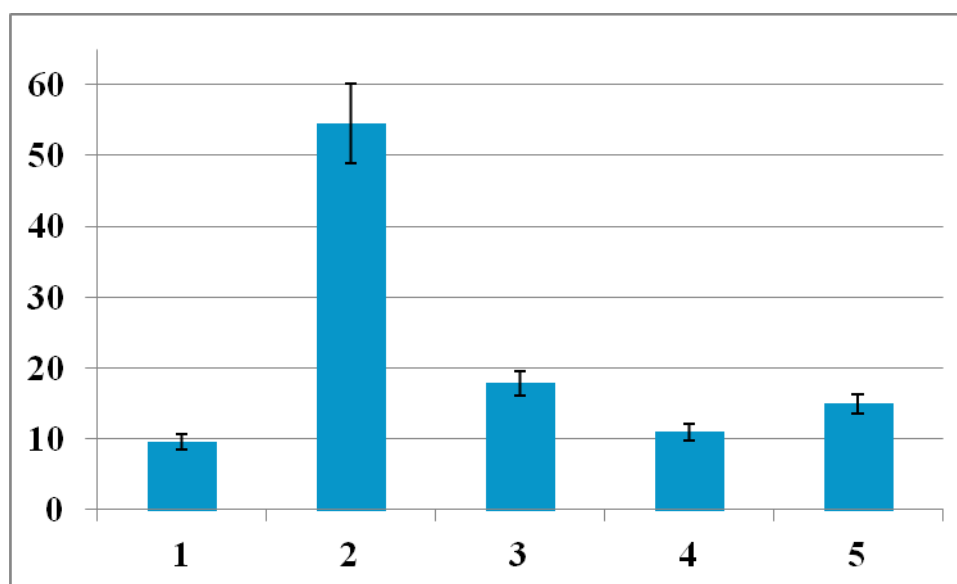


Рис. 20. Влияние эфирных масел на «степень депрессии» (время зависания, сек) в тесте «принудительное плавание»: 1 - контроль-интактные; 2 - контроль-стресс; 3 - флуоксетин; 4 - ИЭМ₁; 5 - ИЭМ₂

Рисунок 20 демонстрирует снижение «степени депрессии», резко возрастающей при использовании хронической стрессорной нагрузки. Использовании ИЭМ₁ вызывало снижение «степени депрессии» на 80%,

ИЭМ₂ - на 72,7%. При использовании флуоксетина «степень депрессии» снижалась на 67,3%.

Таким образом, проведенные эксперименты свидетельствуют об антистрессорном действии данных эфирных масел в режиме ИЭМ. Представленные результаты также показывают, что корректирующее действие ИЭМ₁ (смесь эфирных масел лаванды и шалфея) является более эффективным чем ИЭМ₂ (эфирное масло эвкалипта): выявлены отличия по эмоциональной активности на 26,3% (груминг) и 35,3% (количество дефекаций), а также «степени депрессии» - на 26,8%.

3.7. Анализ взаимосвязей между показателями нейроиммуноэндокринной системы при действии хронического стресса и ингаляционного введения эфирных масел и показателями опухолевого роста у мышей BALB/c

С целью анализа и обобщения изученных показателей нейроиммуноэндокринной системы был проведен корреляционный непараметрический анализ наших данных по Пирсону, который выявил следующие закономерности.

Так, было показано, что между «степенью депрессии» и показателями опухолевого роста (таблица 11), существует тесная положительная связь. Со «степенью депрессии» в группе «стресс+миелома» без применения ИЭМ коррелировали прирост массы тела ($r=0,695$; $p=0,033$) и объема асцитической жидкости ($r=0,845$; $p=0,061$). Прямая положительная взаимосвязь присутствовала также между показателями «степени депрессии» и прироста массы тела, объема асцитической жидкости в группах с применением ИЭМ₁ ($r=0,871$; $p=0,041$ и $r=0,863$; $p=0,027$) и ИЭМ₂ ($r=0,831$; $p=0,069$ и $r=0,911$; $p=0,066$).

Полученные статистические данные свидетельствуют о стимулирующем влиянии хронического стресса на увеличение объема асцитической жидкости у мышей BALB/c и ингибирующем действии эфирных масел *Lavandula vera*+*Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* в режиме ИЭМ, и подтверждают высказанные нами ранее предположения о существенной роли хронического стресса в развитии онкологических заболеваний и корригирующем действии ИЭМ.

Кроме того была установлена зависимость между показателями «степени депрессии» и опухолевого роста клеток с показателями окислительной модификации белка в плазме крови и печени (КБсп и КБинд). Из данных, представленных в таблице 12 видно, что между показателями «степени депрессии» как без ИЭМ ($r=0,798$; $p=0,024$ и $r=0,798$; $p=0,020$ - в

плазме крови; $r=0,999$; $p=0,089$ и $r=0,798$; $p=0,071$ - в печени), так и с применением ИЭМ ($r=0,799$; $p=0,020$ и $r=0,799$; $p=0,027$ - в плазме крови; $r=0,799$; $p=0,075$ - в печени, только с КБинд) наблюдается сильная корреляция с КБсп и КБинд.

Таким образом, данные таблицы свидетельствует о зависимости ОМБ от хронического стресса, что может быть причиной ослабления иммунной и эндокринной систем.

В свою очередь, показатели опухолевого роста, прироста массы тела и объема асцитической жидкости имеют тесную положительную связь с КБсп и КБинд. ПМТ с КБсп и КБинд в плазме крови – $r=0,811$; $p=0,003$ и $r=0,815$; $p=0,031$; КБинд в печени – $r=0,816$; $p=0,079$. ОАЖ с КБсп и КБинд в плазме крови – $r=0,993$; $p=0,079$ и $r=0,993$; $p=0,078$; КБинд в печени – $r=0,993$; $p=0,083$. Эти данные подтверждают, что существенную роль в развитии опухолевого процесса имеет окислительная модификация белков, выражающаяся в увеличении содержания карбонилированных белков, как в крови, так и печени.

В таблице 13 показано, что между показателями «степени депрессии» и эндокринной (кортизол), иммунной (IgG, С3 компонент комплемента) систем существует корреляция средней силы. Наблюдается обратная взаимосвязь между «степенью депрессии» и уровнем IgG, а также уровнем гидролизованной формы С3 компонента комплемента и кортизолом ($r= -0,330$; $p=0,044$, $r=-0,377$; $p=0,018$ и $r=-0,348$; $p=0,039$) соответственно.

Выявленная зависимость свидетельствует также об отрицательном влиянии хронического стресса на иммунную и эндокринную системы, и, напротив, положительном - эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*.

Корреляционная зависимость средней силы обнаружена между показателями иммунной и эндокринной систем с показателями окислительной модификации белка (КБсп и КБинд в плазме крови и печени) (таблица 14). Так, показано существование прямой зависимости между

уровнями IgG и КБсп (в печени) без применения ИЭМ ($r=0,378$; $p=0,045$), а при использовании ИЭМ с КБсп и КБинд в плазме крови - обратная зависимость ($r= -0,347$; $p=0,021$ и $r=-0,328$; $p=0,011$), а также положительная связь между уровнем кортизола и КБсп с КБинд в печени ($r=0,542$; $p=0,069$ и $r=0,499$; $p=0,033$).

Полученные результаты указывают на важнейшую роль ОМБ в нарушении функций иммунной системы, а также в очередной раз подчеркивают стимулирующее влияние ИЭМ.

Также была выявлена корреляция средней силы между показателями опухолевого роста, иммунной, эндокринной систем и показателями антиоксидантной системы и ПОЛ (таблицы 15 и 16). Между приростом массы тела, объемом асцитической жидкости и уровнем ферментов обнаружена обратная корреляционная взаимосвязь: ГПО в плазме крови - ($r= -0,437$; $p=0,045$ и $r= -0,437$; $p=0,045$), каталазой печени ($r= -0,357$; $p=0,013$ и $r= -0,327$; $p=0,016$).

Прямая взаимосвязь наблюдалась между показателями прироста массы тела, объема асцитической жидкости и уровнем МДА в печени ($r=0,392$; $p=0,044$ и $r=0,553$; $p=0,061$), уровнем ГПО в плазме крови ($r=0,485$; $p=0,042$ и $r=0,491$; $p=0,060$) и печени ($r=0,426$; $p=0,033$ и $r=0,443$; $p=0,025$); уровнем каталазы в плазме крови ($r=0,504$; $p=0,020$ и $r=0,521$; $p=0,043$), а также между содержанием кортизола с МДА ($r=0,619$; $p=0,053$) и уровнем каталазы ($r=0,542$; $p=0,064$).

В таблице 17 отражена взаимосвязь иммунной и эндокринной систем, что выражается в прямой зависимости между показателями иммунной (IgG) и эндокринной (кортизол) при использовании ИЭМ ($r=0,470$; $p=0,056$).

В совокупности все эти данные свидетельствуют о снижении активности антиоксидантной защиты при прогрессировании опухолевого процесса, зависящего от стрессорных нагрузок и, напротив, увеличении ее активности при использовании эфирных масел.

Корреляционный анализ показателей «степени депрессии» и опухолевого роста клеток (ПМТ и ОАЖ) у мышей BALB/c с привитой миеломой Sp2/0 Ag14 на модели хронического стресса с применением ИЭМ₁ (Lavandula vera+Salvia sclaria) и ИЭМ₂ (Eucalyptus globules)

ПОКАЗАТЕЛИ	ПМТ при стресс+миелома	ПМТ при стресс+миелома+ИЭМ ₁	ПМТ при стресс+миелома+ИЭМ ₂	ОАЖ при стресс+миелома	ОАЖ при стресс+миелома+ИЭМ ₁	ОАЖ при стресс+миелома+ИЭМ ₂
«степень депрессии» в группе «стресс без ИЭМ»	r=0,695 p=0,033	r=0,871* p=0,041	r=0,863* p=0,027	r=0,845* p=0,061	r=0,831* p=0,069	r=0,911* P=0,066
«степень депрессии» в группе «стресс+ИЭМ ₁ »	r=0,690 p=0,012	r=0,873* p=0,020	r=0,865* p=0,065	r=0,847* p=0,071	r=0,834* p=0,077	r=0,912* p=0,084
«степень депрессии» в группе «стресс+ИЭМ ₂ »	r=0,695 p=0,006	r=0,872* p=0,032	r=0,863* p=0,078	r=0,846* p=0,050	r=0,832* p=0,055	r=0,913* p=0,051

Корреляционный анализ показателей «степени депрессии» / опухолевого роста клеток (ПМТ, ОАЖ) и окислительной модификации белков (КБсп и КБинд) на модели хронического стресса у мышей BALB/c с привитой миеломой Sp2/0 Ag14 при действии эфирных масел *Lavandula vera*+*Salvia sclaria*

ПОКАЗАТЕЛИ	КБсп в эритроцитах «стресс+миелома»	КБсп в эритроцитах «стресс+миелома»+ИЭМ	КБинд в эритроцитах «стресс+миелома»	КБинд в эритроцитах «стресс+миелома»+ИЭМ	КБсп в печени «стресс+миелома»	КБсп в печени «стресс+миелома»+ИЭМ	КБинд в печени «стресс+миелома»	КБинд в печени «стресс+миелома»+ИЭМ
«степень депрессии» «стресс без ИЭМ»	r=0,273 p=0,005	r=0,798* p=0,024	r=0,798* p=0,019	r=0,798* p=0,020	r=0,218 p=0,005	r=-0,243 p=0,009	r=0,999* p=0,089	r=0,798* p=0,071
«степень депрессии» «стресс+ИЭМ»	r=0,263 p=0,002	r=0,799* p=0,020	r=0,799* p=0,023	r=0,799* p=0,027	r=0,198 p=0,012	r=-0,239 p=0,011	r=0,999* p=0,091	r=0,799* p=0,075
ПМТ при стресс+миелома	r=0,492 p=0,012	r=0,811* p=0,003	r=0,814* p=0,038	r=0,815* p=0,031	r=0,334 p=0,022	r=-0,188 p=0,002	r=0,695 p=0,054	r=0,816* p=0,079
ПМТ при стресс+миелома+ИЭМ	r=0,471 p=0,014	r=0,988* p=0,008	r=0,988* p=0,067	r=0,988* p=0,077	r=0,379 p=0,025	r=-0,091 p=0,001	r=0,870* p=0,061	r=0,988* p=0,095
ОАЖ при стресс+миелома	r=0,461 p=0,003	r=0,993* p=0,079	r=0,993* p=0,077	r=0,993* p=0,078	r=0,389 p=0,020	r=-0,066 p=0,006	r=0,845* p=0,061	r=0,993* p=0,083
ОАЖ при стресс+	r=0,482 p=0,035	r=0,995* p=0,090	r=0,996* p=0,080	r=0,996* p=0,083	r=0,399 p=0,025	r=-0,065 p=0,007	r=0,831* p=0,059	r=0,996* p=0,093

миелома+ИЭМ							
-------------	--	--	--	--	--	--	--

Таблица 13

Корреляционный анализ показателей «степени депрессии» и показателей приобретенного (IgG), естественного иммунитета (С3(Н₂О)), эндокринной системы (кортизол) на модели хронического стресса у мышей BALB/c с применением ИЭМ эфирными маслами *Lavandula vera*+*Salvia sclaria*

ПОКАЗАТЕЛИ	IgG стресс	IgG стресс+ ИЭМ	С3(Н ₂ О) миелома	С3(Н ₂ О) стресс+ миелома	С3(Н ₂ О) стресс+ миелома+ ИЭМ	Кортизол стресс	Кортизол стресс+ ИЭМ
«степень депрессии» в группе «стресс без ИЭМ»	r=-0,186 p=0,004	r=-0,330 p=0,044	r=-0,329 p=0,029	r=-0,377 p=0,018	r=0,062 p=0,002	r=0,039 p=0,012	r=-0,348 p=0,039
«степень депрессии» в группе «стресс+ИЭМ»	r=-0,179 p=0,010	r=-0,331 p=0,052	r=-0,328 p=0,013	r=-0,364 p=0,026	r=0,072 p=0,017	r=0,031 p=0,013	r=-0,352 p=0,042

Таблица 14

Корреляционный анализ показателей приобретенного (IgG) / естественного иммунитета (СЗ(Н₂О)/ эндокринной системы (кортизол) и окислительной модификации белков (КБсп и КБинд) на модели хронического стресса у мышей BALB/c с применением ИЭМ *Lavandula vera*+*Salvia sclaria*

ПОКАЗАТЕЛИ	КБсп в эритроцитах «стресс+миелома»	КБсп в эритроцитах «стресс+миелома»+ИЭМ	КБинд в эритроцитах «стресс+миелома»	КБинд в эритроцитах «стресс+миелома»+ИЭМ	КБсп в печени «стресс+миелома»	КБсп в печени «стресс+миелома»+ИЭМ	КБинд в печени «стресс+миелома»	КБинд в печени «стресс+миелома»+ИЭМ
IgG стресс	r=-0,202 p=0,018	r=0,368 p=0,023	r=-0,182 p=0,002	r=0,028 p=0,007	r=0,378 p=0,045	r=0,035 p=0,008	r=0,027 p=0,004	r=0,027 p=0,015
IgG стресс+ИЭМ	r=-0,347 p=0,021	r=0,039 p=0,008	r=-0,328 p=0,011	r=-0,149 p=0,013	r=-0,209 p=0,026	r=-0,139 p=0,010	r=-0,150 p=0,010	r=-0,150 p=0,011
СЗ(Н ₂ О) миелома	r=0,400 p=0,036	r=0,062 p=0,020	r=-0,329 p=0,015	r=-0,159 p=0,023	r=0,443 p=0,052	r=-0,014 p=0,003	r=-0,156 p=0,013	r=-0,158 p=0,022
СЗ(Н ₂ О) стресс+миелома	r=-0,260 p=0,019	r=-0,149 p=0,001	r=-0,377 p=0,016	r=-0,155 p=0,026	r=-0,340 p=0,046	r=0,587 p=0,052	r=-0,155 p=0,017	r=-0,154 p=0,018
СЗ(Н ₂ О) стресс+миелома+ИЭМ	r=0,261 p=0,022	r=0,261 p=0,013	r=0,065 p=0,005	r=0,272 p=0,032	r=-0,232 p=0,022	r=0,052 p=0,008	r=0,273 p=0,029	r=0,272 p=0,032
Кортизол стресс	r=0,169 p=0,009	r=0,196 p=0,007	r=0,041 p=0,004	r=0,276 p=0,041	r=0,356 p=0,042	r=0,278 p=0,015	r=0,271 p=0,033	r=0,273 p=0,031
Кортизол	r=-0,167	r=0,465	r=-0,347	r=-0,173	r=-0,214	r=-0,172	r=-0,178	r=-0,175

стресс+ИЭМ	p=0,011	p=0,021	p=0,032	p=0,004	p=0,012	p=0,008	p=0,012	p=0,021
------------	---------	----------------	----------------	---------	---------	---------	---------	---------

Корреляционный анализ показателей опухолевого роста клеток (ПМТ, ОАЖ)/
IgG/кортизол и антиоксидантных ферментов в плазме крови на модели хронического стресса
у мышей BALB/c с привитой миеломой при действии ИЭМ *Lavandula vera*+*Salvia sclaria*

ПОКАЗАТЕЛИ	СОД стресс+ миелома+	СОД стресс+ миелома+ ИЭМ	Каталаза стресс+ миелома	Каталаза стресс+ миелома+ ИЭМ	ГПО стресс+ миелома	ГПО стресс+ миелома+ ИЭМ
ПМТ при стресс+миелома	r=0,042 p=0,008	r=0,250 p=0,023	r=0,509 p=0,033	r=-0,079 p=0,016	r=-0,437 p=0,045	r=0,451 p=0,033
ПМТ при стресс+ миелома+ИЭМ	r=-0,154 p=0,012	r=0,175 p=0,003	r=0,504 p=0,042	r=-0,168 p=0,012	r=-0,437 p=0,051	r=0,485 p=0,042
ОАЖ при стресс+ миелома	r=-0,125 p=0,009	r=0,162 p=0,024	r=0,510 p=0,020	r=-0,161 p=0,013	r=-0,437 p=0,045	r=0,482 p=0,048
ОАЖ при стресс+ миелома+ИЭМ	r=-0,123 p=0,007	r=0,188 p=0,044	r=0,521 p=0,043	r=-0,147 p=0,009	r=-0,433 p=0,050	r=0,491 p=0,060
IgG - стресс	r=-0,184 p=0,022	r=-0,081 p=0,035	r=0,422 p=0,028	r=-0,138 p=0,014	r=0,189 p=0,016	r=0,106 p=0,010
IgG -стресс+ ИЭМ	r=0,212 p=	r=0,143 p=0,016	r=0,078 p=0,004	r=0,094 p=0,008	r=-0,303 p=0,001	r=0,243 p=0,033
Кортизол - стресс	r=-0,009 p=0,010	r=-0,052 p=0,034	r=0,112 p=0,011	r=0,542 p=0,064	r=0,168 p=0,012	r=0,115 p=0,021
Кортизол - стресс+ИЭМ	r=-0,234 p=0,012	r=-0,146 p=0,019	r=-0,096 p=0,013	r=-0,194 p=0,018	r=-0,053 p=0,015	r=-0,499 p=0,033

Таблица 16

Корреляционный анализ показателей опухолевого роста клеток (ПМТ, ОАЖ)/
IgG/кортизол и МДА, антиоксидантных ферментов в печени на модели хронического стресса
у мышей BALB/c с привитой миеломой при действии ИЭМ *Lavandula vera*+*Salvia sclaria*

ПОКАЗА- ТЕЛИ	МДА стресс+ миелома	МДА стресс+ мие- лома+ ИЭМ	СОД стресс+ миелома	СОД стресс+ мие- лома+ ИЭМ	Каталаза стресс+ миелома	Каталаза стресс+ мие- лома+ ИЭМ	ГПО стресс+ миелома	ГПО стресс+ мие- лома+ ИЭМ	ГТ стресс+ миелома	ГТ стресс+ мие- лома+ ИЭМ
ПМТ стресс+ миелома	r=-0,026 p=0,003	r=0,392 p=0,044	r=0,096 p=0,003	r=-0,009 p=0,010	r=0,105 p=0,015	r=-0,253 p=0,019	r=0,210 p=0,012	r=-0,154 p=0,002	r=0,126 p=0,030	r=0,094 p=0,007
ПМТ стресс+ миелома +ИЭМ	r=-0,170 p=0,013	r=0,532 p=0,060	r=0,365 p=0,043	r=-0,183 p=0,011	r=-0,150 p=0,012	r=-0,357 p=0,013	r=0,426 p=0,033	r=-0,051 p=0,013	r=0,190 p=0,012	r=-0,071 p=0,021
ОАЖ стресс+ миелома	r=-0,131 p=0,009	r=0,553 p=0,061	r=0,391 p=0,033	r=-0,164 p=0,012	r=-0,140 p=0,010	r=-0,340 p=0,022	r=0,426 p=0,039	r=-0,048 p=0,024	r=0,183 p=0,015	r=-0,060 p=0,022
ОАЖ стресс +миелома +ИЭМ	r=-0,132 p=0,010	r=0,548 p=0,034	r=0,391 p=0,037	r=-0,150 p=0,030	r=-0,123 p=0,031	r=-0,327 p=0,016	r=0,443 p=0,025	r=-0,032 p=0,012	r=0,200 p=0,010	r=-0,051 p=0,030
IgG+стресс	r=0,094 p=0,002	r=0,042 p=0,008	r=-0,013 p=0,009	r=-0,002 p=0,014	r=0,205 p=0,023	r=-0,016 p=0,003	r=0,207 p=0,010	r=0,167 p=0,013	r=0,509 p=0,034	r=-0,036 p=0,013
IgG+стресс +ИЭМ	r=-0,109 p=0,013	r=-0,078 p=0,012	r=-0,260 p=0,015	r=-0,401 p=0,029	r=-0,100 p=0,012	r=0,491 p=0,053	r=-0,443 p=0,041	r=0,551 p=0,033	r=0,160 p=0,012	r=0,133 p=0,011
Кортизол - стресс	r=-0,073 p=0,005	r=0,619 p=0,053	r=0,239 p=0,003	r=0,050 p=0,012	r=0,259 p=0,026	r=-0,020 p=0,010	r=0,226 p=0,003	r=-0,245 p=0,007	r=0,557 p=0,033	r=-0,053 p=0,040

Кортизол - стресс+ИЭМ	r=0,191 p=0,015	r=-0,017 p=0,003	r=-0,168 p=0,012	r=-0,143 p=0,011	r=0,421 p=0,020	r=0,067 p=0,031	r=-0,602 p=0,010	r=-0,072 p=0,011	r=0,151 p=0,021	r=0,453 p=0,029
--------------------------	--------------------	---------------------	---------------------	---------------------	----------------------------------	--------------------	-----------------------------------	---------------------	--------------------	----------------------------------

Корреляционный анализ показателей приобретенного иммунитета (IgG) и эндокринной системы (кортизол) / естественного иммунитета (СЗ(Н₂О)), на модели хронического стресса с применением ИЭМ

Lavandula vera+*Salvia sclaria*

ПОКАЗАТ ЕЛИ	Кортизол - стресс	Кортизол - стресс +ИЭМ	СЗ(Н ₂ О) миелома	СЗ(Н ₂ О) стресс+ миелома	СЗ(Н ₂ О) стресс+ миелома +ИЭМ
IgG+стресс	r=-0,009 p=0,011	r=0,208 p=0,018	r=0,501 p=0,055	r=0,551 p=0,059	r=0,397 p=0,033
IgG+стресс + ИЭМ	r=-0,234 p=0,032	r=0,470 p=0,056	r=0,531 p=0,060	r=0,302 p=0,010	r=0,433 p=0,055

Примечание. В таблицах 11-17 **r < 0,3** - слабая корреляция, **0,31-0,7** - корреляция средней силы; **r > 0,71*** - сильная корреляция.

Таким образом, все перечисленное указывает на то, что ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*, воздействуя на центральную нервную систему, корригирует изменения в анти- и прооксидантной системе у мышей BALB/c, повышая активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, существенно снижая интенсивность перекисного окисления липидов и карбонилирования белков, оказывая корригирующее действие на показатели иммунной и эндокринной систем, и тем самым запуская механизмы торможения опухолевого процесса.

ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время смертность от онкологических заболеваний имеет тенденцию к увеличению. Этот неопровержимый факт многие авторы связывают с возрастающим воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды, т.е. стрессорных нагрузок. Литературные данные свидетельствуют о том, что хронический психологический стресс, переходящий в депрессию, воздействуя на основные системы организма: нервную, иммунную и эндокринную, представляющих единую схему, получившую общее название «нейроиммуноэндокринная система», способствует повышенному производству атипичных клеток, что может явиться предпосылкой для развития злокачественной опухоли.

Механизмы воздействия эфирных масел до конца не изучены, но, не вызывает сомнений, что они связаны с воздействием афферентной стимуляции летучих эфирных масел на сенсорноспецифичные области ЦНС, а также эффектами, возникающими вследствие наличия связей последних с ассоциативными и неспецифическими структурами мозга. Считается, что существует прямая связь обоняния с лимбической системой и формирование модулирующих эффектов запахов ароматических веществ на физиологические системы организма обусловлено изменением нейрофизиологической активности структур лимбической системы путем включением гипофизарно-адреналовой системы [108].

Эфирные масла растений обладают уникальной способностью воздействия на нейроиммуноэндокринную систему, корректируя различные отклонения, а в некоторых случаях оказывая подавляющее действие на опухолевый рост клеток [104, 134, 199]. Эффективным методом воздействия эфирных масел является их введение в низких концентрациях в смеси с парами воды непосредственно в дыхательные пути, при котором они мгновенно достигают гипоталамуса. Как известно, на этом уровне

объединяются два потока информации – нервный и гормональный. Нервные импульсы, поступающие от различных отделов головного мозга, воздействуют на секрецию клетками гипоталамуса нейропептидов, регулирующих выделение гормонов гипофиза, которые в свою очередь влияют на секрецию гормонов в периферических железах, таким образом, оказывая действие на все метаболические процессы.

Обоняние является самым тонким из ощущений человека, превалирующим над вкусовыми ощущениями, несмотря на то, что из внешнего мира через него поступает всего лишь 2% информации (через зрение 90% , через слух- 5% , через осязание -3%).

Человеческий организм может различать до 4000 запахов и воспринимать на расстоянии до 4 метров. Обоняние – это физико-химическое явление, т.к. запах чувствуется только при тесном контакте молекул вещества с обонятельными рецепторами. Оно является самым сильным из всех чувств, которое быстрее всего переносит внешнее раздражение в мозг. Восприимчивость к запахам специфична и зависит от порога обоняния, под которым подразумевается самая меньшая концентрация ароматического соединения, вызывающая ощущение запаха.

В верхней части носового хода существует зона носа, чувствительная к запаху, в которую при спокойном дыхании попадает лишь небольшая часть вдыхаемого воздуха. Органы обоняния, при помощи которых осуществляется восприятие запаха, включают в себя: обонятельные рецепторы (поля Бонье), расположенные в зоне верхних носовых ходов, тонких обонятельных нервных нитей, обонятельных луковиц и обонятельного тракта, заканчивающегося в обонятельном центре коры больших полушарий головного мозга в области височных долей. В зоне верхних носовых ходов имеется участок слизистой, площадью 2,5 см в каждом носовом ходе, который несет обонятельную функцию. Эпителиальные обонятельные нейросекреторные клетки в форме бокала с двумя отростками – периферическим и центральным. Периферические отростки являются

цилиндрическими палочкообразными структурами диаметром приблизительно 1 микрон и от 20 до 90 микрон в длину, которые доходят до слизистой оболочки носа и заканчиваются небольшим булавовидным утолщением - обонятельным пузырьком, от него берут начало несколько (6-8 отростков) очень тонких нитевидных структур диаметром менее 0,2 микрона. Эти структуры, воспринимают информацию о запахах и реагируют на содержащиеся в воздухе или пище молекулы веществ [25].

Носовая полость включает в себя не только обонятельный эпителий, а также хемосенсорный вомероназальный орган (ВО), нейрональные проекции которого идут прямо в кору головного мозга, проходя мимо таламуса (в отличие от обонятельного анализатора) [179]. Современная теория дуального обоняния предполагает существование у позвоночных главной и второстепенной обонятельных систем [71, 150, 207]. Первая из них является основной в восприятии запахов, связанных с питанием, поведением в системе "хищник-жертва" и распознаванием индивидуальных запахов особей. Вторая отвечает за восприятие биологических маркеров - летучих хемосигналов, управляющих нейроэндокринными, поведенческими реакциями [161], рецепторную роль которой играет ВО [141, 221]. У человека ВО сообщается через вспомогательный обонятельный путь с медиальными зонами гипоталамуса и миндалинами. Участки гипоталамуса, которые имеют входы от ВО, принимают участие в регуляции репродуктивного, защитного, пищевого поведения, а также регулируют нейрогуморальную секрецию, с чем, видимо, и связана эффективность действия эфирных масел.

Для наших исследований были отобраны эфирные масла, обладающие иммуномодулирующим и антиканцерогенным действием: *Eucalyptus globulus*, *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* [24, 76, 96].

В ходе проведенных экспериментов было доказано, что хронический стресс, моделируемый у животных с помощью методики «вынужденного плавания», создает неблагоприятный фон для развития и течения опухолевого процесса. Так, при воздействии повторяющейся в течение двух

недель стрессорной нагрузки, у мышей с привитой миеломой происходило статистически значимое увеличение в 1,3 раза количества асцитической жидкости ($p=0,046$), прироста массы тела - в 1,2 раза ($p=0,034$), а также снижение примерно в 1,2 раза медианы продолжительности жизни. При этом применение ИЭМ эфирными маслами растений *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* оказывало противоопухолевый эффект, выражающийся в снижении объема асцитической жидкости более чем в 2 раза при использовании смеси лавандового и шалфейного масел ($p=0,001$) и в 1,8 раза эвкалиптового ($p=0,001$), в торможении в 2,5 ($p=0,001$) и в 2,1 раза ($p=0,001$) прироста массы тела, а также в увеличении медианы продолжительности жизни животных в 4,1 и 3,5 раза соответственно. Причем более эффективное действие было выявлено при использовании смеси эфирных масел лаванды и шалфея, что, видимо, связано с их более выраженными антистрессорными свойствами.

В ходе наших исследований было также показано негативное влияние стресса и корригирующее действие ИЭМ на состояние иммунноэндокринной системы. Так, содержание в крови IgG - ключевых молекул приобретенного гуморального иммунитета, возрастало в 2,1 раза ($p=0,001$) при использовании смеси лавандового и шалфейного масел, и в 1,9 раза ($p=0,002$) - эвкалиптового относительно стресс-контроля, а содержание гормона кортизола, напротив, снижалось в 2,24 ($p=0,004$) и 2,19 раза ($p=0,009$) соответственно. Эти результаты хорошо сопоставляются с литературными данными о регуляторной роли гормонов на иммунологический гомеостаз: низкие концентрации активируют, а высокие супрессируют иммунные механизмы [106].

Выявленная ранее корреляция между изменением профиля спонтанного гидролиза ключевой молекулы естественного гуморального иммунитета - компонента комплемента C3 и содержанием опухолиассоциированного маркера СА-125 [19], дала основание для использования данного показателя в качестве оценочного критерия

эффективности воздействия исследуемых эфирных масел. Экспериментально было показано, что через 11 часов инкубации сыворотки крови мышей с привитой миеломой наблюдалось возрастание в 2 раза ($p=0,001$) уровня $C3(H_2O)$, который на фоне стресса увеличивался еще в 1,4 раза ($p=0,026$), а после курса ИЭМ снижался в 1,7 раз ($p=0,01$), не имея статистически значимых отличий с данными контрольной группой животных после применения эфирных масел.

Как известно, любая стрессовая реакция организма сопровождается изменениями свободно-радикального окисления. При анализе антиоксидантной системы ферментов в плазме крови и печени у подопытных мышей было показано, что их активность заметно снижалась при опухолевом процессе, причем на фоне стрессорной нагрузки эти изменения происходили более глубоко. Так, активность СОД в плазме крови при стрессе снижалась в 1,7 раз ($p=0,006$), а при миеломе со стрессорной нагрузкой - в 2 раза ($p=0,001$), в печени соответственно - в 2 и 3 раза ($p=0,001$); каталазы - в 3,6 ($p=0,001$) и в 4,4 раза ($p=0,001$), в печени - в 1,7 ($p=0,007$) и в 2 раза ($p=0,001$) соответственно. Активность ГПО в плазме крови снижалась в 2 ($p=0,002$) и 3 раза ($p=0,001$), в печени - в 2,1 и 3,8 раза ($p=0,001$); уровень ГТ в печени снижался в 3,9 и в 8,9 раз ($p=0,001$) соответственно.

Одновременно было показано, что при стрессорной нагрузке в печени у мышей происходило повышение ПОЛ (по возрастанию концентрации МДА) в 1,8 раз, и у мышей с привитой миеломой на фоне стресса - в 3 раза ($p=0,001$).

Использование ИЭМ смесью эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* корригировало изменения про- и антиоксидантной систем. Так, после курса ИЭМ происходило повышение активности ферментов в плазме крови и печени относительно группы «миелома+стресс»: СОД - на 44,6% ($p=0,003$) и 65,3% ($p=0,001$); каталазы - на 74,1% ($p=0,001$) и 29,9% ($p=0,024$); ГПО - на 75% и 71,9% ($p=0,001$) соответственно. Активность ГТ в печени после применения ИЭМ возрастала на 82,3% ($p=0,001$). При этом содержание МДА

под действием ИЭМ, напротив, снижалось - в 1,5 раза ($p=0,001$).

Поскольку АФК повреждают не только липиды, но и белковые молекулы, для более полной характеристики их воздействия необходимо было оценить влияние стресса, опухолевого процесса и ИЭМ на окислительную модификацию белков, а именно, уровень спонтанных и индуцированных карбонилированных белков.

Из данных литературы известно, что ОМБ может происходить путем конъюгации липидных пероксидов с аминокислотными остатками белков [185], а также путем образования при участии АФК карбонильных производных - стабильных продуктов, формирующихся при металл-катализируемом окислении белков [229]. Чаще всего при взаимодействии образующихся альдегидов с остатками цистеина или гистидина ферментов, происходит утрата активности последних [178]. Обнаружено, что при взаимодействии клеточных белков с канцерогенами, модификация белков возрастает, что приводит к нарушению процессов репликации, транскрипции, клеточного деления и, как следствие этого, модуляции роста опухолевых клеток [76].

В ходе наших исследований было показано, что у мышей с привитой миеломой на фоне стрессорной нагрузки в плазме крови и печени происходило статистически значимое увеличение содержания КБсп и КБинд. Так, в группе «стресс-контроль» уровень КБсп и КБинд в плазме крови возрастал в 1,3 раза ($p=0,018$; $p=0,022$ соответственно), а с привитой миеломой на фоне стресса КБсп - в 2,2 раза по сравнению с группой интактных мышей и в 1,7 - относительно «стресс-контроля» ($p=0,001$); соответственно КБ инд - в 1,7 раза ($p=0,002$). В печени при стрессорной нагрузке содержание КБсп возрастало в 1,6 раза ($p=0,024$), КБинд - в 1,3 ($p=0,014$), у мышей с привитой миеломой на фоне стресса соответственно в 2,2 и 1,8 раза ($p=0,001$).

Под воздействием ИЭМ происходило снижение концентрации спонтанных и индуцированных КБ: в плазме крови - на 49,6% ($p=0,001$) и

30,6% ($p=0,020$), печени - на 50,6% ($p=0,001$) и 31,6% ($p=0,020$) соответственно.

Все полученные результаты показали важную роль в развитии опухолевого процесса эмоционального фона, который связан с состоянием ЦНС. Поэтому необходимо было посмотреть, какое влияние оказывают воздействие стресса и эфирных масел на показатели поведенческих реакций и «степень депрессии» животных. Для этого был проведен ряд экспериментов, которые доказали антистрессорное действие ИЭМ, выражающееся в снижении «степени депрессии» (определяемой по времени полной неподвижности животного во время плавания в течение определенного времени): в 5 раз при использовании смеси лавандового с шалфейным масел и в 3,7 раз - эвкалиптового ($p=0,001$). При этом при использовании ИЭМ₁ у мышей происходило также увеличение (примерно в 2 раза) показателей поведенческих реакций: горизонтальной, вертикальной и ориентировочно-исследовательской двигательной активности ($p=0,001$), а также снижение примерно в 2,5 раза эмоциональных реакций ($p=0,001$). При ИЭМ₂ горизонтальная двигательная активность возрастала в 1,6 раз ($p=0,003$), вертикальная - в 1,7 раз ($p=0,004$), ориентировочно-исследовательская - в 2 раза ($p=0,001$), а снижение эмоциональных реакций - в 1,8 (груминг, $p=0,001$) и 1,7 раз (дефекации, $p=0,002$).

У мышей, получавших препарат сравнения флуоксетин – ингибитор обратного захвата серотонина, наблюдалась также нормализация данных показателей, но в меньшей степени. Так, уменьшение показателя «степени депрессии» происходило в 3 раза ($p=0,002$), увеличение показателей двигательной, вертикальной и ориентировочно-исследовательской активности - примерно в 1,4 раза ($p=0,029$; $p=0,031$; $p=0,016$ соответственно), а снижение эмоциональных реакций - около 1,2 раз ($p=0,021$).

Проведенный корреляционный непараметрический анализ по Пирсону выявил существование зависимости между «степенью депрессии» и показателями опухолевого роста без ИЭМ и при ее использовании,

свидетельствующей о ведущей роли хронического стресса в развитии онкологических заболеваний и корригирующем действии ИЭМ.

Корреляционная зависимость была обнаружена также между показателями иммунной и эндокринной систем с показателями окислительной модификации белка (КБсп и КБинд в плазме крови и печени), между показателями опухолевого роста, иммунной, эндокринной систем и показателями про- и антиоксидантной систем, как без ИЭМ, так и с ее использованием. Все эти результаты свидетельствовали об уменьшении активности антиоксидантной защиты при прогрессировании опухолевого процесса, и, напротив, увеличении при использовании ИЭМ, а также указывали на важнейшую роль окислительной модификации белков в нарушении функций иммунной системы и стимулирующем влиянии исследуемых эфирных масел в режиме ИЭМ.

Таким образом, наши исследования свидетельствуют о том, что хронические стрессорные нагрузки увеличивают опухолевый рост клеток, оказывая угнетающее действие на все показатели нейроиммуноэндокринной системы, выражающееся в повышении «степени депрессии» и эмоциональной активности, уровня кортизола, продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков при сниженной активности антиоксидантной защиты и уровня иммуноглобулинов G.

Эфирные масла *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*:

1. Обладают противоопухолевой активностью, оказывая ингибирующее действие на рост и развитие клеток мышинной миеломы Sp 2/0 Ag14, выражающееся в торможении развития асцитной опухоли у мышей и существенном увеличении продолжительности их жизни.

2. Оказывают корригирующее действие на иммуноэндокринную систему, снижая уровень кортизола, повышая уровень иммуноглобулина G и сглаживая профиль спонтанного гидролиза C3.

3. Корригируют нарушения ферментативной антиоксидантной защиты

тканей, повышая активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, снижая при этом интенсивность процессов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков.

4. Оказывают корректирующее действие на поведенческие реакции и «степень депрессии», отражающие состояние центральной нервной системы.

В совокупности эфирные масла *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globules*, действуя через ЦНС на про-антиоксидантную систему, оказывают корректирующее действие на иммуноэндокринную систему, тем самым, запуская механизмы торможения процесса опухолевого роста клеток (рисунок 21).

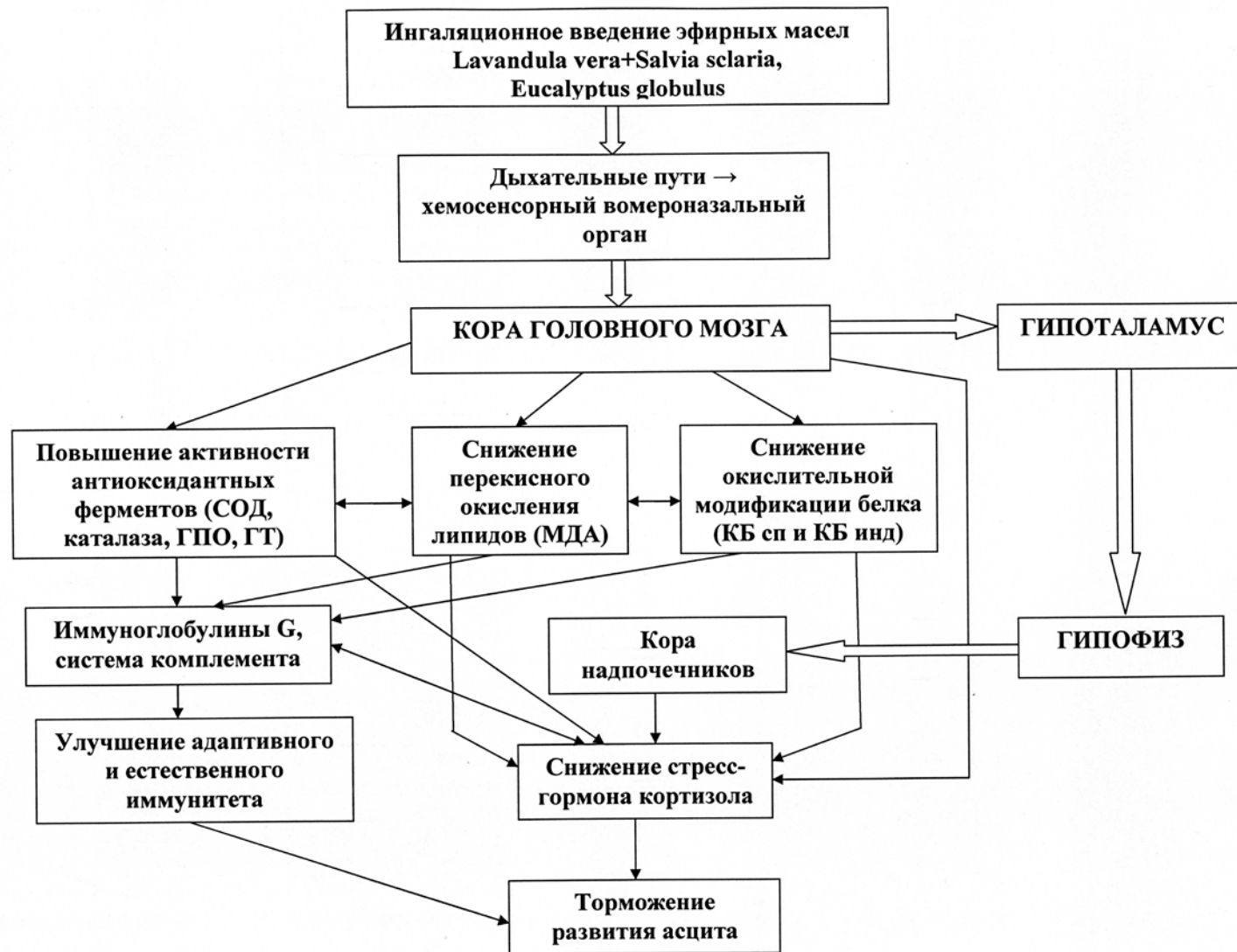


Рис. 21. Гипотетическая схема противоопухолевого действия ингаляционного введения эфирных масел

Lavandula vera+Salvia sclaria и Eucalyptus globules

ВЫВОДЫ

1. Хронический стресс способствует развитию асцитной опухоли у мышей BALB/c с привитой миеломой Sp2/0 Ag14, а ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*, напротив, тормозит ее развитие.

2. Ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* при хронической стрессорной нагрузке оказывает корректирующее действие на иммуноэндокринную систему, вызывая у мышей BALB/c снижение уровня кортизола, повышение иммуноглобулинов G и снижение 11-часового «пика» профиля спонтанного гидролиза компонента комплемента C3.

3. Хронический стресс способствует снижению активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы), а также возрастанию перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в плазме крови и печени мышей BALB/c с привитой миеломой.

4. Ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*, действуя через центральную нервную систему, повышает активность ферментов антиоксидантной защиты, снижает процессы перекисного окисления липидов, окислительной модификации белка, тем самым, запуская механизмы торможения процесса опухолевого роста клеток.

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АЖк – количество асцитической жидкости в контрольной группе
АЖо - количество асцитической жидкости в опытной группе
АКТГ – адренкортикотропный гормон
АОК – антителообразующие клетки
АОЗ – антиоксидантная защита
АФК – активные формы кислорода
ВО – вомероназальный орган
ГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
ГПО – глутатионпероксидаза
ГТ – глутатионтрансфераза
ДНФГ – динитрофенилгидразин
ИЛ – интерлейкин
ИФА – иммуноферментный анализ
ИЭМ - ингаляционное введение эфирных масел
ИЭС – иммуноэндокринная система
КБ – карбонилирование белков
КБинд – индуцированное карбонилирование белков
КБсп – спонтанное карбонилирование белков
КБА – канцероген-белковый аддукт
КЛ – кортиколиберин
ЛПС – липосахарид
МДА – малоновый диальдегид
МПЖ – медиана продолжительности жизни
МПЖк - медиана продолжительности жизни в контрольной группе
МПЖо - медиана продолжительности жизни в опытной группе
НАДФ – никотинамидадениндинуклеотид фосфат
НЭИС – нейроэндокринно-иммунологическая система
ОМБ – окислительная модификация белков

- ОП – открытое поле
- ОФД – ортофенилендиамин
- ПВЯ – паравентрикулярное ядро
- ПОЛ – перекисное окисление белков
- ПХ – пероксидаза хрена
- РОК – розеткообразующие Т-клетки
- СОД – супероксиддисмутаза
- СРО – свободно-радикальное окисление
- ТБК – тиобарбитуровая кислота
- ТНФА – тионитрофенольный анион
- ТМБ – тетераметилбензидин
- ТПМ – торможение прироста массы тела
- ТХУК – трихлоруксусная кислота
- УПЖ – увеличение продолжительности жизни
- ФМС – феназинметасульфат
- ФЭК – фотоэлектроколориметр
- ЦНС – центрально-нервная система
- ЭДТА – этилендиаминтетраацетат
- ЭМ – эфирное масло (масла)
- BSA – бычий сывороточный альбумин
- С – компонент системы комплемента
- С3 – третий компонент системы комплемента
- Ig – иммуноглобулины
- IgG– иммуноглобулины класса G
- PBS – забуференный физиологический раствор
- PBST – забуференный физиологический раствор с 0,05% твином 20

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абелев, Г.И. Иммунология опухолей человека / Г.И. Абелев // Канцерогенез / под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – С. 474-782.
2. Акмаев, Г.И. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: экспериментальные и клинические аспекты // Сахарный диабет. – 2002. – №1. – С. 2-9.
3. Акмаев, И.Г. Нейроэндокринология: вчера и сегодня [Электронный ресурс]. – 2009. – Режим доступа: <http://sarcoidosis.by.ru/other/stress16.htm/> [Дата обращения: 1 ноября 2012].
4. Акмаев, И.Г. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии / И.Г. Акмаев, В.В. Гриневич // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 1. – С. 22-32.
5. Акмаев, И.Г. Паравентрикуловагусный путь регуляции углеводного гомеостаза – перспективная биологическая модель в исследовании нейроиммуноэндокринных взаимодействий / И.Г. Акмаев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 127, № 2. – С. 124-128.
6. Антиоксическое и антиоксидантное действие спиртовых извлечений из *Imela helenium* (Asteraceal) / К.Л. Зеленская, Т.Н. Поветьева, В.Г. Пашинский [и др.] // Растительные ресурсы. – 2006. – Т. 42, Вып. 3. – С. 141-145.
7. Антонеева, И.И. Уровень перекисного окисления липидов и ферментное звено антиоксидантной системы эритроцитов при раке матки / И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, Е.Г. Сидоренко // Сибирский онкологический журнал. – 2010. - Прил. 1. – С. 17.
8. Аромовоздействие как фактор оптимизации функционального состояния человека / А.Т. Быков, Т.Н. Маляренко, Ю.Е. Маляренко, А.М. Менджеричский // Валеология. – 2006. - № 2. – С. 23-34.
9. Арушанян, Э.Б. Системные и клеточные механизмы

противоопухолевой активности растительных адаптогенов / Э.Б. Арушанян // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 15-23.

10. Бальнеологический опыт применения концентрата для ванн, содержащего ксидифон и растительные эфирные масла имбиря, мускатного ореха и сандала / В.Д. Григорьева, Т.А. Дашина, Э.А. Юрьева, Т.А. Матковская // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2001. - № 6. – С. 35-36.

11. Барсуков, В.Ю. Закономерности паранеопластических расстройств при отечно-инфильтративной форме рака молочной железы / В.Ю. Барсуков, В.Н. Плохов, Н.П. Чеснокова // Современные проблемы науки и образования. – 2008. - № 1. – С.13-19.

12. Барсуков, В.Ю. Канцерогенез – патофизиологические и клинические аспекты / В.Ю. Барсуков, В.М. Попков, Н.П. Чеснокова. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2011. – 600 с.

13. Бикмурзин, Н.И. Натуральные растительные и эфирные масла для дыхания, питания и здоровья / Н.И. Бикмурзин, С.В. Каракуцев. – Тверь: ООО Изд-во «Сатори», 2003. – 32 с.

14. Биологически активные масла и продукты на их основе / Л.В. Кричковская, С.И. Чернышов, Г.В. Донченко [и др.]. – Харьков: Модель Вселенной, 2008. – 267 с.

15. Бочарова, О.А. Фитоадаптогены в онкологии и геронтологии / О.А. Бочарова, А.Ю. Барышников, М.И. Давыдов. – М.: МИА, 2008. – 218 с.

16. Булгаков, О.С. Иммуитет и различные стадии стрессорного воздействия / О.С. Булгаков // Успехи современного естествознания. – 2011. - № 4. – С.31-35.

17. Быков, В.А. Аэрофитокомплексы для улучшения среды обитания и здоровья человека / В.А. Быков, А.М. Рабинович, А.В. Черкасов // Современные проблемы фитодизайна: матер. междунар. науч.-практич. конф. – Белгород, 2007. – С. 125-130.

18. Варюшина, Е.А. Изучение механизмов местного

иммуностимулирующего действия интерлейкина-1 бета. Повышение продукции противовоспалительных цитокинов в очаге воспаления под влиянием интерлейкина-1 бета / Е.А. Варюшина // Иммунология. – 2000. – № 4. – С. 45-48.

19. Взаимосвязь между изменением под действием химиотерапии уровня конформационной формы комплемента и опухолеассоциированного антигена СА-125 в плазме крови больных раком яичников / О. А. Князева, Д.Д. Сакаева, Ф.Х. Камилов, В.А. Вахитов // Вопросы онкологии : научно-практический журнал. - 2007. – Т. 53, № 6. - С. 696-698

20. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и антиоксидантная активность / Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН. – 1998. - № 7. – С. 43-51.

21. Власова С. Н. Активность глутатионзависимых ферментов в эритроцитах при хронических заболеваниях печени у детей. / С.Н. Власова, Е. И.Шабунина, И. А. Переслегина // Лабораторное дело. – 1990. – №8. – С. 19–22.

22. Влияние длительной физической тренировки на иммунные реакции *in vitro* и *in vivo* у экспериментальных животных / О.Т. Кудаева, О.П. Колесникова, И.Н. Оськина, В.А. Козлов // Иммунология. – 2007. - № 2. – С. 102-105.

23. Влияние состава эфирных масел лимона на их антиоксидантные свойства и стабильность компонентов / Т.А. Мишарина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова, М.А. Калинин // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 87-92.

24. Влияние эфирных масел *LAVANDULA VERA* и *SALVIA SCLARIA* на противоопухолевую активность и динамику спонтанного гидролиза С3 компонента комплемента / О.А. Князева, И.Г. Конкина, А.В. Князев [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т. 6, № 1. – С. 86-89.

25. Водяницкий, А.А. Ароматерапия. Практическое пособие по применению ароматических растительных масел фирмы «Новое время» /

А.А. Водяницкий. – Харьков, 2001. [http: // www.newt.h1.ru/AromTerp/](http://www.newt.h1.ru/AromTerp/) [Дата обращения: 14 ноября 2012]

26. Возможности использования фитосбора «АЛФИТ» в комплексной терапии злокачественных новообразований / Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, Е.Н. Амосова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2006. - № 2 (18). – С. 47-50.

27. Возможности новых медицинских технологий на основе растительных веществ / А.А. Семенов, В.И. Луцкий, А.С. Громова [и др.] // Химия растительных веществ и органический синтез: сб. докл. и тез. Всерос. конф. – Сыктывкар, 2009. – С. 122-125.

28. Ганджа, И.М. Иммунная реакция у здоровых лиц в условиях эмоционального стресса и однократной пищевой нагрузки липидами / И.М. Ганджа, И.П. Мягкая, М.В. Бобрик // Терапевтический архив. – 1979. - № 5. – С. 50-52.

29. Ганковская, Л.В. Патогенетические подходы к иммунокоррекции герпетической инфекции / Л.В. Ганковская // Аллергология и иммунология. - 2007. - № 1. - С.4-9.

30. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений: монография / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комисаренко, С.Е. Дмитрук; отв. ред. Т.П. Березовская. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1990. – 336 с.

31. Герасименко, М.Н. Состояние про- и антиоксидантной системы крови при раке почки / М.Н. Герасименко, И.В. Пургина, Р.А. Зуков // Современные проблемы клинической медицины. Онкоурология: материалы всероссийской научно-практической конференции. - 2010. - С. 47-49.

32. Головкин, А.В. Эфирные масла при гриппе и других вирусных респираторных инфекциях, воспалительных поражениях дыхательных путей и легких / А.В. Головкин, Г.Ф. Кащенко, В.А. Головкин. – Симферополь: Таврида, 2006. – 96 с.

33. Горден, М.В. Особенности пострессовых изменений ПОЛ и стресслимитирующих эффектов альфа-токоферола в печени и плазме молодых и старых крыс / М.В. Горден, Д.Л. Теплый // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 3. – С. 272-277.

34. Горожанская, Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях: лекция / Э.Г. Горожанская // Клиническая лабораторная диагностика. - 2010. - № 6. - С. 28-44.

35. Гриневич, В.В. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем / В.В. Гриневич, И.Г. Акмаев, О.В. Волкова. – СПб.: Symposium, 2004. – 158 с.

36. Губанова, Е.А. Фармакогностическое изучение травы шалфея мускатного (*Salviasclarea* L.): автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 14.04.02 / Губанова Елена Анатольевна. – Пятигорск, 2010. – 23 с.

37. Дарий, Е.В. Клинически незначимый рак предстательной железы: современная тактика выбора терапии / Е.В. Дарий, Д.А. Бедретдинова, Т.Н. Гарманова // Экспериментальная и клиническая урология. – 2012. - № 1. – С. 51-56.

38. Дейчман, Г. И. Естественный отбор и ранние изменения фенотипа опухолевых клеток *in vivo*: приобретение новых механизмов защиты / Г. И. Дейчман // Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 1. – С. 92–111.

39. Доценко, В.В. Синтез, строение и свойства 2-[3-амино-1-(4-метилфения)-3-тиоксо-2-цианопропил]-3-оксоциклогекс-1-ен-1-олатаN-метилморфолина / В.В. Доценко // Вестник Харьковского национального университета. Сер. Химия. – 2010. - № 932. – Вып. 19 (42). – С. 46-52.

40. Дубинина, Е.Е. Окислительная модификация белков крови человека. Метод выделения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24-26.

41. Дубовицкая, О.Ю. Оздоровление детских организмов путем использования аэрофитотерапевтических модулей в открытом грунте / О.Ю.

Дубовицкая, А.М. Рабинович // Человек и лекарство: тез. докл. VIII Рос. нац. конгр. – М., 2001. – С. 456.

42. Жаворонок, Т. В. Участие тиосульфидной системы в регуляции окислительной модификации белков в нейтрофилах при окислительном стрессе / Т. В. Жаворонок, Е. А. Степовая, Г. В. Петина // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 12. – С. 383.

43. Зайцев, В.М. Прикладная медицинская статистика / В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндский, В.И., Маринкин. – СПб.: Фолиант, 2006. – 432 с.

44. Заридзе, Д.Г. Эпидемиология, механизмы канцерогенеза и профилактика рака / Д.Г. Заридзе // Проблемы клинической медицины. – 2005. - № 2. – С. 10.

45. Зилфикаров, И.Н. Химический анализ и стандартизация препаратов *Eucalyptus viminalis* / И.Н. Зилфикаров, В.А. Челолепитько // Материалы 7 Междунар. Симпозиума по химии природных соединений 16-18 октября 2007г. – 2007. – С.344.

46. Зозуля, Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – М.: Знание, 2000. – 326 с.

47. Изменение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и иммунной систем при отборе животных на доместикационное поведение / И.Н. Оськина, Ю.Э. Гербек, С.Г. Шихевич [и др.] // Вестник ВОГ и С. – 2008. – Т. 12, № ½. – С. 39-48.

48. Изучение тиреотропных свойств травы зюзника европейского *Lycopus europaeus* L. / А.С. Айвазова, В.К. Колхир, Т.Е. Трумпе [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – № 1. – С. 34-37.

49. Иммунофизиология / Е.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, В.Г. Климин [и др.]. – Екатеринбург: УрО РАН, 2002. – 257 с.

50. Имянитов, Е.Н. Молекулярная генетика в клинической онкологии / Е.Н. Имянитов, К.П. Хансон // Сибирский онкологический журнал. – 2004. –

№ 2-3. – С. 40-47.

51. Индукция экспрессии молекулы HLA-E на поверхности опухолевых клеток интерфероном-гамма приводит к защите опухолевых клеток от цитотоксического действия лимфоцитов / А.Е. Бережной, А.Д. Чернышева, И.Р. Закеева [и др.] // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 2. – С. 224-229.

52. К вопросу патогенеза развития рецидивов базальноклеточного рака кожи / Л.Я. Розенко, Е.М. Франциянц, Ф.Р. Джабаров [и др.] // Сибирский онкологический журнал. - 2009. - № 3 (39). - С. 14-19.

53. Кадагидзе, З.Г. Регуляторные Т-клетки и их роль в противоопухолевом иммунном ответе / З.Г. Кадагидзе, А.И. Черткова, Е.Г. Славина // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 269-277.

54. Канцерогенез: общая характеристика, этиологические факторы. Роль свободных радикалов в механизмах онкогенной трансформации клеток и опухолевой прогрессии [Электронный ресурс] / В.М. Попков, Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков, Т.Д. Селезнев // Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этнологии. – М.: Академия Естествознания, 2012. – гл. 5. – Режим доступа: [http:// www.rae. ru / monographs / 178-5586](http://www.rae.ru/monographs/178-5586).

55. Канцерогенез: руководство / под ред. Д.Г. Заридзе. – М., 2004. – 418 с.

56. Карманный справочник по диагностическим тестам: справочное издание / пер. с англ. Р.В. Пармелова, Д.А. Струтынского; под ред. В.С. Камышникова. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 463 с.

57. Касаткина, Т.Б. Этика экспериментальных исследований животных в космической биологии и медицине / Т.Б. Касаткина, А.С. Капланский // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2000. - № 2. - С. 17-21.

58. Кащенко, Г.Ф. Эфирные масла и фитопрепараты для мужчин и

женщин / Г.Ф. Кащенко, В.А. Головкин, Л.К. Лысенко. – Симферополь: Таврида, 2006. – 272 с.

59. Князева, О. А. Взаимодействие комплемента с иммуноглобулинами G и конформационные изменения компонента C3 при неопластических процессах: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.04, 03.00.02 / Князева Ольга Александровна. – Уфа, 2008. – 46 с.

60. Князева, О.А. Корректирующее влияние крымских эфирных масел (*Lavandula vera* и *Salvia sclaria*) при процессах канцерогенеза / О.А. Князева, И.Г. Конкина, А.В. Князев // Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения: сб. тез. докл. междунар. науч.-практич. конф. – Киев, 2009. – С. 311-312.

61. Князева, О.А. Комплемент и антитела при онкологических заболеваниях. Результаты исследований / О.А. Князева, Ф.Х. Камилов. - Германия: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2011. – 284 с.

62. Копнин, Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза (обзор) / Б.П. Копнин // Биохимия. – 2000. – Т. 65, Вып. 1. - С. 5-33.

63. Копнин, Б.П. Современные представления о механизмах злокачественного роста / Б.П. Копнин // Материалы X Российского онкологического конгресса. – М.: Изд-во РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2006. – С. 99-102.

64. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы // М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. - № 1. – С. 16-17.

65. Крыжановский, Г.Н. Введение в общую патофизиологию / Г.Н. Крыжановский. – М.: Наука, 2000. – 71 с.

66. Кудряшова, Е.В. Изменение антиоксидантного статуса эритроцитов онкопульмонологических больных / Е.В. Кудряшова, Н.М. Титова // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии: сб. науч. трудов. - Томск, 2004. - Вып. 1. – С. 115.

67. Курникова, В.В. О роли активации процессов липопероксидации при гиперпластических процессах эндометрия / В.В. Курникова // Успехи современного естествознания. - 2003. - № 2. - С. 88.
68. Лаврова, Т.Н. К вопросу о факторах и механизмах клинического полиморфизма невротической депрессии у женщин / Т.Н. Лаврова, Д.М. Давыдов // Российский психиатрический журнал. – 2001. - № 1. – С. 17-23.
69. Леонова, Н.С. Система иммунитета и влияние на нее биологически активных веществ растений / Н.С. Леонова // Новая аптека. – 2001. – № 2. – С. 5-10.
70. Макаров, В.Г. Изучение механизма антиоксидантного действия витаминов и флавоноидов / В.Г. Макаров, М.Н. Макарова, А.И. Селезнева // Вопросы питания. – 2005. – Т. 52, № 3. – С. 10-13.
71. Макарчук, Н.Е. Обоняние и поведение / Н.Е. Макарчук, А.В. Калуев. – Киев: КСФ, 2000. – 134 с.
72. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ / Е.М. Трещалина, О.С. Жукова, Г.К. Герасимова [и др.]; под ред. Р.У. Хабриева. – М.: Медицина, 2005. – С. 637-351.
73. Мишарина, Т.А. Антиоксидантные свойства эфирных масел. Автоокисление эфирных масел лавра, фенхеля и их смеси с эфирным маслом кориандра / Т.А. Мишарина, А.Н. Полшков // Прикладная биохимия и микробиология. – 2005. – Т. 41, № 6. – С. 693-702.
74. Нагоева, Б.С. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма у больных бактериальной ангиной / Б.С. Нагоева, М.Х. Нагоева // Доклады Адыгской (Черкесской) Международной академии наук. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 149-154.
75. Николаевский, В.В. Ароматерапия в медицине, на производстве и в быту / В.В. Николаевский, В.И. Зинькович, А.Ю. Разыков. – Тольятти, 1997. – 158 с.
76. Николаевский, В.В. Ароматерапия: справочник / В.В.

Николаевский. – М.: Медицина, 2000. – 332 с.

77. Окислительная модификация белков. Проблемы и перспективы исследования / Л.Е. Муравлева, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Ключев [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2010. – № 1 – С. 74-78.

78. Окислительно-восстановительный потенциал неоплазмы и асцитической жидкости в динамике экспериментального канцерогенеза / Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова, Д.Р. Арсланова [и др.] // *Известие высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. – 2012. - № 3 (23). – С. 3-9.

79. Особенности гуморального иммунитета у женщин с невротическими депрессиями / Г.В. Морозов, Л.М. Аксанов, Т.Н. Лавров [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. – 2000. – Т. 100, № 9. – С. 39-44.

80. Особенности структурного состояния пула растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы / В.В. Новиков, А.В. Караулов, А.Ю. Барышников [и др.] // *Молекулярная медицина*. – 2009. - № 4. – С. 27-33.

81. Паранеопластические процессы в эритроцитах и плазме крови в динамике рака шейки матки (в эксперименте) / О.С. Воронова, Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 9–1. – С. 22-25;

82. Пекли, Ф.Ф. Ароматология: монография / Ф.Ф. Пекли. – М.: Медицина, 2001. – 288 с.

83. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин, Ю.Б. Кудряшов; отв. ред. В.И. Чумаков. – СПб.: Наука. СПб. отд-ние, 1992. – 148 с.

84. Петрович, Ю.А.. Свободно-радикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса / Ю.А. Петрович, Д.В. Гуткин // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. – 1986. - № 5. – С. 85-92.

85. Плейфейер, Дж. Х.Л. Наглядная иммунология: пер. с англ. / Дж. Х.Л. Плейфейер, Б.М. Чейн; под ред. А.В. Караулова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 120 с.

86. Пшенникова, М.Г. Феномен стресса, эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Г. Пшенникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2001. - № 4. – С. 28-40.

87. Разработка метода ксеногенной противоопухолевой вакцинации мышей в предварительно инкапсулированный полиакриламидный гель (модель меланомы мыши В-16) / В.И. Чиссов, Н.С. Сергеева, С.Е. Северин [и др.] // Молекулярная медицина. – 2004. - № 2. – С. 24-28.

88. Растения в комплексной терапии опухолей / Е.Д. Гольдберг, Т.Г. Разина, Е.П. Зуева [и др.]. – М.: Изд-во РАМН, 2008. – 232 с.

89. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: Медиасфера, 2002. – 312 с.

90. Свердлов, Е.Д. Очерки современной молекулярной генетики. Очерк 8. Болезни генома и новая молекулярная генетика: (Часть 2. Рак – болезнь генома. «Гены рака» и передача сигнала клетке) / Е.Д. Свердлов // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1999. - № 2. – С. 3-12.

91. Сидоренко, А.Ф. Ароматерапия: некоторые механизмы терапевтического действия эфирных масел / А.Ф. Сидоренко, С.И. Кедров // Вестник ВГУ. Сер. Химия, биология. – 2000. – № 2. – С. 66-69.

92. Сидоренко, Ю.С. Стратегия и тактика превентивной онкологии / Ю.С. Сидоренко, А.В. Шапошников // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 6. – С. 671-678.

93. Сидорова, И.С. Особенности антиоксидантной системы в патогенезе миомы матки / И.С. Сидорова, А.Л. Унанян // <http://www.mosmedclinic.ru/articles/9/2241/> [Дата обращения: 12 мая 2014].

94. Смык, А.В. Иммунологическая и психофизиологическая разнородность больных бронхотальной астмой / А.В. Смык // Клиническая иммунология. - 2008. - № 2-3. - С. 139-141.

95. Солдатченко, С.С. Ароматерапия. Профилактика и лечение заболеваний эфирными маслами. 3-е изд. испр. и доп. / С.С. Солдатченко, Г.Ф. Кащенко, А.В. Пидаев. – Симферополь: Таврида, 2005. – 256 с.

96. Солдатченко, С.С. Эфирные масла – рекомендации к применению [Электронный ресурс] / С.С. Солдатченко. – 2010. – Режим доступа: <http://pro-krasoty.panweb.com/biblioteka/efirmasla> [Дата обращения: 15 июня 2010].

97. Солдатченко, С.С. Эфирные масла – аромат здоровья: Древний и современный опыт профилактики и лечения заболеваний эфирными маслами/ С.С. Солдатченко, Г.Ф. Кащенко, А.В. Пидаев [и др.] // Симферополь: Таврида, 2003. – 192 с.

98. Состояние про- и антиоксидантной системы у женщин с сочетанными гиперпластическими процессами матки / Э.Н. Попов, Р.Г. Гвасалия, Д.А. Ниаури [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. - № 3. – С. 62-66.

99. Сравнительное исследование активности ферментов обмена глутатиона и антиоксидантных ферментов в злокачественных и доброкачественных опухолях легкого человека / Р.Н. Короткина, Г.Н. Мацкевич, А.Ш. Девликанова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 333, № 6. – С. 697-700.

100. Судаков, С.К. Определение уровня тревожности у крыс в тестах «открытое поле», «крестообразный приподнятый лабиринт» и тесте Фогеля / С.К. Судаков, Р.А. Назарова, Е.В. Алексеева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 3. – С. 268-270.

101. Сюрин, С.А. Ароматерапия в реабилитации больных хронической обструктивной болезнью легких / С.А. Сюрин, А.А. Деревоедов // Физиотерапия, бальнеология, реабилитация. – 2005. - № 4. – С. 10-13.

102. Танасиенко, Ф.С. Эфирные масла: содержание и состав в

растениях / Ф.С. Танасиенко. – Киев: Наукова Думка, 1985. – 264 с.

103. Турищев, С.Н. Современная фитотерапия / С.Н. Турищев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 448 с.

104. Флавоноиды и эфирное масло цветков лаванды колосовой / М. Ламрини, В.А. Куркин, П.Г. Мизина [и др.] // Фармация. – 2008. – № 1. – С. 16-19.

105. Чевари, С. Спектрофотометрический метод определения супероксиддисмутазы / С.Чевари, И.Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. – 1981. – № 11. – С.678 – 680.

106. Черешнев В.А. Иммунофизиология: проблемы и перспективы развития: Докл.6 Всероссийская научная конф. «Дни иммунологии», Санкт-Петербург, 20-23 мая, 2002. / В.А.Черешнев, Б.Г.Юшков // Мед. иммунология. - 2002. - Т.4, №2. - С. 135-136.

107. Чиссов, В.И. Онкология / В.И. Чиссов; ред. С.Л. Дарьялова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 556 с.

108. Шутова, С.В. Ароматерапия: физиологические эффекты и возможные механизмы (обзор литературы) // Вестник ТГУ. - 2013. - Т.18, №4. - С. 1330-1336.

109. A mechanism coverting psychosocial stress into monoclear cell activation / A. Biethaus, J. Wolf, M. Andrassy [et al.] // Prog. Nat. Acad. Sci. – 2003. – Vol. 100. – P. 1920-25.

110. A review on the effects of Aromatherapy for patients with depressive symptoms / V.W.C. Yim, A.K.Y. Ng, H.W. Tsang [et al.] // J. Altern. Complement. Med. – 2009. – Vol. 15, № 2. – P. 187-95.

111. Accelerated telomere shortening in reponse to life stress / E.S. Epel, E.H. Blackbum, J. Lin [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2004. – Vol. 101. – P. 17112-15.

112. Akmayev, I.G. CNS-endocrine pancreas system. V. The paraventriculo-vagal concept on regulation of the endocrine pancreas / I.G. Akmayev // Exp. Clin. Endocrinol. – 1986. – Vol. 88. – P. 129-41.

113. Akmayev, I.G. The paraventriculo-vagal neuron system as convenient model in studying neuro-immuno-endocrine interactions / I.G. Akmayev // *Int. J. Thymol.* – 1996. – Vol. 4, Suppl. 1. – P. 30-35.
114. Antibacterial activity of some selected medicinal plants of Pakistan / Y. Bibi, S. Nisa, F.M. Chaudhary, M. Zia // *BMC Complem. Altern. Med.* – 2011. – Vol. 11, № 1. – P. 52.
115. Antioxidant activity of essential oils from various species / M.N. Dang, M. Takascova, D.V. Nguyen, K. Kristianova // *Nahrung.* – 2001. – Vol. 45, № 1. – P. 64-66.
116. Antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) leaf extracts / G. Cervato, M. Carabelli, S. Gervasio [et al.] // *J. Food Biochem.* – 2000. – Vol. 24. – P. 453-65.
117. Antioxidant status and lipid peroxidation in colorectal cancer / E. Skrzydlewska, A. Stankiewicz, M. Sulowska [et al.] // *J. Toxicol. Environ. Health.* – 2001. – Vol. 64. – P. 213-222.
118. Antonova, L. Hydrocortisone down-regulates the tumor suppressor gene BRCA1 in mammary cells: A possible molecular link between stress and breast cancer / L. Antonova, C.R. Mueller // *Gen. Chromosom. Cancer.* – 2008. – Vol. 4, № 4. – P. 341-352.
119. Aromatherapy for health care. An overview of systematic reviews / M.S. Lee, J. Choi, P. Posadzki, E. Ernst // *Maturitas.* – 2012. – Vol. 71, № 3. – P. 257-60.
120. Ban, E. Brain interleukin 1 gene expression induced by peripheral lipopolysaccharide administration / E. Ban, E. Haour, R. Lenstra // *Cytokine.* – 1992. – Vol. 4. – P. 48-54.
121. Ban, E. Interleukin-1 binding sites on astrocytes / E. Ban, L. Sarlieve, F. Haour // *Neuroscience.* – 1993. – Vol. 52. – P. 725-33.
122. Banks, W.A. Permeability of the blood-brain barrier to soluble cytokine receptors / W.A. Banks, S.R. Plotkin, A.S. Kastin // *Neuroimmunomodulation.* – 1995. – Vol. 2. – P. 161-65.

123. Baras, M. Studies in psychoneuroimmunology: the galphar / M. Baras, Y. Ben-Zur // *J. Neuroimmunol.* – 1991. – Suppl. 1. – P. 27.
124. Besedovsky, H.O. Cytokines as mediators of central and peripheral immune-neuroendocrine interactions / H.O. Besedovsky, A. Del Rey // *Psychoneuroimmunology.* – 2001. – Vol. 1, № 3. – P. 1-17.
125. Blalock, J.E. The syntax of immune-neuroendocrine communication / J.E. Blalock // *Immunol. Today.* – 1994. – Vol. 15. – P. 504-11.
126. Boehm, K. Aromatherapy as an adjuvant treatment in cancer care – a descriptive systematic review / K. Boehm, A. Büssing, Th. Ostermann // *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* – 2012. – Vol. 9. – P. 503-18.
127. Bredt, D.S. Nitric oxide, a novel neuronal messenger / D.S. Bredt, S.H. Snyder // *Neuron.* – 1992. – Vol. 8. – P. 3-11.
128. Buckle, J. Clinical aromatherapy / J. Buckle. – Churchill Livingstone, 2003. – 236 p.
129. Burdon, R. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation / R. Burdon // *Free Radical Biol Med.* – 1995. – № 18. – P. 775-794.
130. Cavanagh, H. Lavender essential oil: a review / H. Cavanagh, J. Wilkinson // *Aust. Infect. Control.* – 2005. – Vol. 10, № 1. – P. 35-37.
131. Chaturvedi Santosh, K. New research in psychooncology / K. Chaturvedi Santosh, C. Venkateswaran // *Curr. Opin. Psychiatr.* – 2008. – Vol. 21, № 2. – P. 206-10.
132. Ching, M. Contemporary therapy: aromatherapy in management of acute pain / M. Ching // *Contempr. Nurs.* – 1999. – Vol. 8, № 4. – P. 146-51.
133. Chioca, L.R. Anosmia does not impair the anxiolytic – like effect of lavender essential oil inhalation in mice / L.R. Chioca, D.C. Antunes // *Life Sci.* – 2013. – Vol. 92, № 20-21. – P. 971-75.
134. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods / J. Sacchetti, S. Maietti, M. Muzzoli [et al.] // *Food Chem.* – 2005. – Vol. 91. – P. 621-32.

135. Crow, D. Clary sage: peaceful rejuvenation / D. Crow. - URL: <http://www.yogitimes.com/los-angeles/articles/11-201/> [March 24, 2012].
136. Das, U.N. A radical approach to cancer / U.N. Das // *Med. Sci. Monot.* - 2002. - Vol. 8, № 4. – P. 79-92.
137. Davies, K.J. Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. ... / K.J. Davies, M.E. Delsignore, S.W. Lin // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262, № 20. – P. 9902–9907.
138. Dawson, T.M. Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain / T.M. Dawson, S.H. Snyder // *J. Neurosci.* – 1994. – Vol. 14. – P. 5147-59.
139. Desai, P. Stress spectrum disorders in oncology / P. Desai, A. Ronson // *Curr. Opin. Oncol.* – 2008. – Vol. 20, № 4. – P. 378-85.
140. Dinarello, C.A. The biology of interleukin-1 / C.A. Dinarello // *Mol. Biol. Immunol.* – 1992. – Vol. 25. – P. 1063-1066.
141. Doving, K.B. Structure and function of the vomeronasal organ / K.B. Doving, D. Trotier // *J. Exp. Biol.* – 1998. – Vol. 201. – P. 2913-25.
142. Dreher, D. Role of oxygen free radicals in cancer development / D. Dreher, A.F. Junod // *Europ. J. Cancer.* – 1996. - Vol. 32 A. – P. 30-38.
143. Dunn, C. Sensing an improvement: an experimental study to evaluate the use Aromatherapy, massage and periods of rest in an intensive care unit / C. Dunn, S. Sleep, D. Collett // *J. Adv. Nursing.* – 1995. – Vol. 21. – P. 34-40.
144. Effect of repeated lipopolysaccharide administration on tissue cytokine expression and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in rats / V. Grinevich, X.M. Ma, J. Herman [et al.] // *J. Neuroendocrinol.* – 2001. – Vol. 13. – P. 711-23.
145. Endogenous substance P inhibits the expression of corticotropin-releasing hormone during a chronic inflammatory stress / H.S. Chowdrey, P.J. Larsen, M.S. Harbuz [et al.] // *Life Sci.* – 1995. – Vol. 57. – P. 2021-29.
146. Endotoxin-induced corticotropin-releasing hormone gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus is mediated centrally by interleukin-1 /

I. Kakucska, Y. Qi, B.D. Clark [et al.] // *Endocrinology*. – 1993. – Vol. 133. – P. 815-21.

147. Ericsson, A. Pathway and mechanisms for interleukin-1 mediated regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis / A. Ericsson, M. Ek, I. Wahlstorm // *Stress: molecular genetic and neurobiological advances* / ed. by R. McCarty [et al.]. – N.Y., 1996. – P. 101-20.

148. Expression of preprotachykinin-A and neuropeptide-Y messenger RNA in the thymus / A. Ericsson, V. Geenen, F. Robert [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 1990. – Vol. 4. – P. 1211-18.

149. Fellows, D. Aromatherapy and massage for symptom relief in patients with cancer / D. Fellows, K. Barnes, S. Wilkinson // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2004. – № 2. – CD002287.

150. Flemming, K. Review: aromatherapy massage is associated with small transient reductions in anxiety / K. Flemming // *Evid. Bas. Nurs.* – 2000. – Vol. 3, № 4. – P. 118.

151. Forlenza, M.J. Psychosocial influences on cancer progression: alternative cellular and molecular mechanisms / M.J. Forlenza, A. Baum // *Curr. Opin. Psychiatr.* – 2000. – Vol. 13, № 6. – P. 639-45.

152. Foti, M.C. Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by γ -terpinene, an unusual and potentially useful hydrocarbon antioxidant / M.C. Foti, K.U. Ingold // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – Vol. 51, № 9. – P. 2758-65.

153. Frank, N.L. Aromatherapy and pediatric oncology / N.L. Frank // *Beginnings*. – 2008. – Vol. 28, № 3. – P. 18-19.

154. Gidron, Y. Psychosocial factors, biological mediators, and cancer prognosis: a new look at an old story / Y. Gidron, A. Ronson // *Curr. Opin. Oncol.* – 2008. – Vol. 20, № 4. – P. 386-92.

155. Gold, P.W. New insights into the role of cortisol and the glucocorticoid receptor in severe depression / P.W. Gold, W.C. Drevets, D.S. Charney // *Biol. Psychiatr.* – 2002. – Vol. 52. – P. 381-85.

156. Hall, C.S. Emotional behavior in the rat. Defecation and urination as

measures of individual differences in emotionality / C.S. Hall // J. Comp. Psychol. – 1934. – № 18. – P. 385-403.

157. Holistic-online. Aromatherapy infocenter. – URL: <http://www.holistic/Aromatherapy/hol-aroma.htm>. [Accessed. March 24, 2012].

158. Implementing a comprehensive approach to the study of health dynamics using the psychoneuroimmunology paradigm / N.L. McCain, D.P. Gray, J.M. Walter, J. Robins // Adv. Nurs. Sci. Physiol. Health Outcomes. – 2005. – Vol. 28. – P. 320-32.

159. Increased emotional distress in daughters of breast cancer patients is associated with decreased natural cytotoxic activity, elevated levels of stress hormones and decreased secretion of Th1 cytokines / M. Cohen, E. Klein, G.G. Friend [et al.] // Int. J. Cancer. – 2002. – Vol. 100. – P. 347-54.

160. Interleukin-1 stimulates corticotropin-releasing factor gene expression in rat hypothalamus / T. Suda, E. Tozawa, T. Ushiyama [et al.] // Endocrinology. – 1990. – Vol. 126. – P. 1223-28.

161. Jacob, S. Psychological state and mood effects of steroidal chemosignals in women and men / S. Jacob, M.K. McClintock // Horm. Behav. – 2000. – Vol. 37. – P. 1-23.

162. Jacoben, P. Screening for psychological distress in cancer patients: challenges and opportunities / P. Jacoben, H. Moffit // J. Clin. Oncol. – 2007. – Vol. 25. – P. 4526-27.

163. Jemmot, J.B. Academic stress, power motivation and decrease in secretion rate of salivary secretory immunoglobulins / J.B. Jemmot, M. Borisenko // Lancet. – 1983. - № 8339. – P. 1400-1402.

164. Kiecolt-Glaser, J.K. Psychological modifiers of immunocompetence in medical students / J.K. Kiecolt-Glaser // Psychosom. Med. – 1984. – Vol. 46. – P. 7-14.

165. Kim, R. Cancer immunosuppression and autoimmune disease: beyond immunosuppressive networks for tumor immunity / R. Kim, M. Emi, K. Tanabe // Immunology. – 2006. – Vol. 119. – P. 254-64.

166. 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. 424-25.
167. Koroch, A.R. Bioactivity of essential oils and components / A.K. Koroch, H.R. Juliani, J.A. Zygadlo // *Flavour and Fragrances* / ed. R.G. Berger. – N.Y.: Springer, 2007. – P. 87-115.
168. Lee, W. Aromatherapy for depression and anxiety / W. Lee, T. Hongratanaworakit // *FACT.* – 2012. – Vol. 17, № 4. – P. 235-36.
169. Leibson, P.J. The regulation of lymphocyte activation by inhibitory receptors / P.J. Leibson // *Curr. Opin. Immunol.* – 2004. – Vol. 16. – P. 328-36.
170. Leonhardt, H. Ependym und circumventriculare organ / H. Leonhardt // *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen* / ed. A. Oksche. – Berlin: Springer, 1980. – Bd. 4. – S. 177-666.
171. Levine, R.L. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease / R.L. Levine // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32. – P. 790–796.
172. Limonene [Электронный ресурс] // *Phytochemicals.* - URL: <http://www.phytochemicals> [Asseced. April, 30. 2010].
173. Lindfors, P. Is low cortisol release an indicator of positive health / P. Lindfors, U. Lundberg // *Stress Health.* – 2002. – Vol. 18. – P. 153-60.
174. Lipid peroxidation and antioxidant status in human cervical carcinoma / M.I. Ahmed, S.T. Fayed, H. Hossein, F.M. Tash // *Disease Markers.* – 1999. – Vol. 15(4). – P. 283-291.
175. Lipid peroxidation free radical production and antioxidant status in breast cancer / J. Ray, S. Batala, N.K. Sliucla [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2000. – Vol. 50, № 2. – P. 657-667.
176. Maier, S.F. Bi-directional immune-brain communication: Implications for understanding stress, pain, and cognition / S.F. Maier // *Brain Behav. Immunol.* – 2003. – Vol. 17. – P. 69-85.

177. Melroe, G.T. Herpes simplex virus type 1 has multiple mechanisms for blocking virus-induced interferon production // *J. Virol.* - 2004. - № 16. - P. 8411-8420.
178. Modification of heat shock protein 90 by 4-hydroxynonenal in a rat model of chronic alcoholic liver disease / D.L. Carbone, J.A. Doorn, Z. Kiebler [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 2005. - Vol. 315, № 1. - P. 8-15.
179. Monti-Bloch, L. The human vomeronasal system: a review / L. Monti-Bloch, C. Jennings-White, D.L. Berliner // *Olfaction and taste, Ann. NY Acad. Sci.* - 1998. - № 885. - P. 373 - 389.
180. Nielsen, N.R. Stress and breast cancer: a systematic up date on current knowledge / N.R. Nielsen, M. Gronback // *Nat. Clin. Pract. Oncol.* - 2006. - Vol. 3. - P. 612-20.
181. Nyström, T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence / T. Nystrom // *Eur. Mol. Biol. Organizat.* - 2005. - Vol. 24. - P. 1311-1317.
182. Oberley, T.D. Antioxidant enzyme levels in cancer / T.D. Oberley, I.W. Oberley // *Histol. Histopathol.* - 1997. - Vol. 12. - P. 525-535.
183. Ostrander, M.M. Hypoactivity of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis during recovery from chronic variable stress / M.M. Ostrander, Y.H. Ulrichai, D.C. Choi // *Endocrinology.* - 2006. - Vol. 147. - P. 2008-17.
184. Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer / P. Jaruga, T.H. Zastawny, J. Skokowski [et al.] // *FEBS lett.* - 1994. - Vol. 341. - P. 59-64.
185. Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes / P. A. Grimsrud, H. Xie, T. J. Griffin, D.A. Bernlohr // *J. Biol. Chem.* - 2008. - Vol. 283, № 32. - P. 21837-21841.
186. Ozdemirler, G. Increased lipoperoxide levels and antioxidant system in colorectal cancer / G. Ozdemirler, H. Pabuccuoglu // *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.* - 1998. - Vol. 124. - P. 555-559.
187. Persistent oxidative stress in cancer / S. Toyokuni, K. Okamoto, J.

Yodoi, H. Hiai // FEBS Letters. – 1995. – Vol. 358. – P. 1-3.

188. Porsolt, R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M.L. Pinchon // Nature. – 1977. – № 266. – P. 730-32.

189. Price, A. The treatment of depression in patients with advanced cancer undergoing palliative care / A. Price, M. Hotopf // Curr. Opin. Supp. Palliat. Care. – 2009. – Vol. 3, № 1. – P. 61-66.

190. Price, S. Aromatherapy for health professionals / S. Price, L. Price. - Churchill Livingstone, 2007. – 400 p.

191. Protective effects of total saponin from stem and leaf of *Panax ginseng* against cyclophosphamide – induced genotoxicity and apoptosis in mouse bone marrow cells and peripheral lymphocyte cells / Q.H. Zhang, C.F. Wu, L. Duan, J.Y. Yang // Food Chem. Toxicol. – 2008. – Vol. 46, № 1. – P. 293-302.

192. Proteomic identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part I: creatine kinase BB, glutamine synthase, and ubiquitin carboxyterminal hydrolase L-1 / A. Gastegna, M. Aksenov, M. Aksenova [et al] // Free Radic. Biol. Med. – 2002. – V. 33. – P. 562–571.

193. Rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro is stimulated by interleukin-1 in an eicosanoid-dependent manner / R. Bernardini, A.E. Calogero, G. Mauceri [et al.] // Life Sci. – 1990. – Vol. 47, № 17. – P. 1601-607.

194. Recent advances and current challenges in tumor immunology and immunotherapy / B.A. Guinn, N. Kasahara, F. Farzaneh [et al.] // Mol. Ther. – 2007. – Vol. 15. – P. 1065-71.

195. Redox regulation of NF-kappa B activation / L. Flohe, R. Brigelius-Flohe, C. Saliou, [et al.] // Free Radic Biol Med. – 1997. - № 22. – P.1115-1126.

196. Reduced corticotropin-releasing factor and enhanced vasopressin gene expression in brains of mice with autoimmunity-induced behavioral dysfunction / B. Sakic, N. Laflamme, L.S. Crnic [et al.] // J. Neuroimmunol. – 1999. – Vol. 96. – P. 80-91.

197. Roller, S. The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillinsensitive and resistant *Staphylococcus aureus* / S. Roller, N. Ernest, J. Buckle // *J. Altern. Complem. Med.* – 2009. – Vol. 15, № 3. – P. 275-79.
198. Ronson, A. Stress and allostatic load: perspectives in psycho-oncology / A. Ronson // *Bull. Cancer.* – 2006. – Vol. 93. – P. 289-95.
199. Rozza, A.L. Essential oils from medicinal and aromatic plants: a review of the gastroprotective and ulcer – healing activities / A.L. Rozza, C.H. Pellizzon // *Fund Clin. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 27, № 1. – P. 51-63.
200. Ruberto, G. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems / G. Ruberto, M. Baratta // *Food Chem.* – 2002. – Vol. 69, № 1. – P. 167-74.
201. Sahu, A. Structure and biology of complement protein C3, a connecting link between innate and acquired immunity / A. Sahu, J.D. Lambris // *J. Immunol.* – 2001. – Vol. 180. – P. 35-48.
202. Sayette, M.A. Effects of olfactory stimuli on urge reduction in smokers / M.A. Sayette, D.J. Parrott // *Exp. Clin. Psychopharmacol.* – 1999. – Vol. 7, № 2. – P. 151-9.
203. Self reported stress and risk of breast cancer: prospective cohort study / N.R. Nielsen, Z.F. Zhang, T.S. Kristensen [et al.] // *Brit. Med. J.* – 2005. – Vol. 331. – P. 548.
204. Selye, H. The stress of life / H. Selye. – N.Y.: McCraw-Hill Book, 1976. – 515 p.
205. Seo, H.K. A study on the effects of aroma inhalation method using clary sage essential oils on stress in middle – ageb women / H.K. Seo, K.S. Park // *Korean J. Women Health Nurs.* – 2003. – Vol. 9. – P. 70-79.
206. Seo, J.Y. The effects of Aromatherapy on stress and stress responses in adolescents / J.Y. Seo // *J. Korean Acad. Nurs.* – 2009. – Vol. 39, № 3. – P. 357-65.
207. Shauer, M. Alternative approach *Lavandula vera* – an introduction to

aromatherapy / M. Shauer // *Nursing Today*. – 1998. – Vol. 6, № 3. – P. 14.

208. Solomon, E. Chromosome aberration and cancer / E. Solomon, J. Borrow, A.D. Joddord // *Science*. - 1991. – Vol. 254. – P. 1153-1160.

209. Sternberg, E.M. Overview of neuroimmune stress interactions / E.M. Sternberg, J. Licino // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1995. – Vol. 771. – P. 364-371.

210. Stratton, M.R. The cancer genome / M.R. Stratton, P.B. Campbell, P.A. Futreal // *Nature*. – 2009. – Vol. 458. – P. 719-24.

211. Stress and coping strategies of patients with cancer / H.S. Kim, H.A. Yeom, Y.S. Seo [et al.] // *Cancer Nurs.* – 2002. – Vol. 25, № 6. – P. 425-31.

212. Stress hormonemediated invasion of ovarian cancer cell / A.K. Sood, R. Bhalty, A.A. Kamat [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – Vol. 12. – P. 369-75.

213. Stress, immunity, and cervical cancer: quality of life associated immune modulation / E.L. Nelson, L.B. Wenzel, K. Osann [et al.] // *J. Immunother.* – 2006. – Vol. 29. – P. 668.

214. Stringer, J. Aromastiks in cancer care: an innovation not to be Sniffed at / J. Stringer, G. Donald // *Complem. Ther. Clin. Pract.* – 2011. – Vol. 17, № 2. – P. 116-21.

215. Suggestive evidence for receptors for morphine and methionine-enkephalin on normal human blood T lymphocytes / J. Wybran, T. Appelboom, J.P. Famaey [et al.] // *J. Immunol.* – 1979. – Vol. 123. – P. 1068-71.

216. Sun, Y. Free radicals, anttioxidant enzymes, and carcinogenesis / Y. Sun // *Free Radic. Biol. Med.* - 1990. – Vol. 8. – P. 583-599.

217. Thachil, A.F. The evidence base of complementary and alternative therapies in depression / A.F. Thachil, R. Mohan, D. Bhugra // *J. Affect. Dis.* – 2007. – Vol. 97. – P. 23-35.

218. Thaker, P. The neuroendocrine impact of chronic stress on cancer / P. Thaker, A. Sood // *Semin. Cancer Biol.* – 2008. – Vol. 18. – P. 164-70.

219. The growth hormone/prolactin receptor family / P.A. Kelly, S. Ali, M. Rozakis [et al.] // *Res. Progr. Horm. Res.* – 1993. – Vol. 48. – P. 123-64.

220. The role of endogenous serotonin in adjuvant-induced arthritis in the rat / M.S. Harbuz, Z. Perveen-Gill, M.D. Lalies [et al.] // *Br. J. Rheumatol.* – 1996. – Vol. 35. – P. 112-16.
221. The vomeronasal cavity in adult humans / D. Trotier, C. Eloit, M. Wasset [et al.] // *Chem. Sences.* – 2000. – Vol. 25. – P. 369-80.
222. Tillett, J. The uses of aromatherapy in women's health / J. Tillett, D. Ames // *J. Prenat. Neonat. Nurs.* – 2010. – Vol. 24, № 3. – P. 238-45.
223. Todd, B.L. Stressors, stress response, and cancer recurrence / B.L. Todd, M.C. Moskowitz // *Cancer Nurs.* – 2013. – Vol. 37, № 4. – P. 1-12.
224. Ueba, J. Aromatherapy as symptom relief for cancer patients / J. Ueba, K. Ishii // *Palliat. Med.* – 2012. – Vol. 26, № 4. – P. 572.
225. Ueno, T. Formation mechanism of p-methylacetophenone from citral via a tert-alkoxy radical intermediate / T. Ueno, H. Masuda, C.T. Ho // *J. Agrik. Food Chem.* – 2004. – Vol. 52, № 18. – P. 5677-84.
226. Umezu, T. Evaluation of the Effects of Plant-derived Essential oils on central nervous system function using discrete shuttle-type conditioned avoidance response in mice / T. Umezu // *Phytother. Res.* – 2012. – Vol. 26, № 6. – P. 884-91.
227. Use of complementary and alternative medicine among children, adolescent, and young adult cancer survivors: a survey study / D.H. Ndao, E.J. Ladas, Y. Bao [et al.] // *J. Ped. Hematol. Oncol.* – 2013. – Vol. 35. – P. 281-88.
228. Vedhara, K. Human psychoneuroimmunology / K. Vedhara, M. Irwin. – N.Y.: Oxford University Press, 2005. – 364 p.
229. Walters, D. M. Oxidative stress and antioxidants in the pathogenesis of pulmonary fibrosis: a potential role for Nrf2 / D. M. Walters, H. Y. Cho, S. R. Kleberger // *Antioxidants & redox signaling.* – 2008. – V. 10, № 2. – P. 321–332.
230. Weinberg, R.A. Cancer: a genetic disorder / R.A. Weinberg // *The Molecular Basis of Cancer.* – Philadelphia, 2008. – P. 3-16.
231. Wilkinson, S.M. Effectiveness of aromatherapy massage in the management of anxiety and depression in patients with cancer: a multicenter

randomized controlled trial / S.M. Wilkinson, S.B. Love, A.M. Westcombe // J. Clin. Oncol. – 2007. – Vol. 25. – P. 532-39.

232. Wong, C. Heat Shock Protein 90 Inhibitors: New Targeted Therapy to Overcome Aromatase Inhibitor Resistance Presented at San Antonio Breast Cancer Symp. (2010) / C. Wong, X. Wang, S. Chen / [http // www.abstracts 2 view.com / sabcs 10 / viewp.php.nu](http://www.abstracts2view.com/sabcs10/viewp.php.nu) [Accesed March, 2014].

233. Wrona, D. Neural – immune interactions : An integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems / D. Wrona // J. Neuroimmunol. – 2006. – Vol. 172. – P. 38-58.