

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург - 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор биологических наук,

КНЯЗЕВА Ольга Александровна

Официальные оппоненты:

ДОЛГИХ Владимир Терентьевич доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой патологической физиологии ГБОУ ВПО "Омская государственная медицинская академия" Минздрава России

ЦЕЙЛИКМАН Вадим Эдуардович доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии ГБОУ ВПО "Южно-уральский государственная медицинский университет" Минздрава России

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__»_____2015 г. в __ч. на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 208.102.03, созданного на базе Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке имени В.И.Климова ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России по адресу: 620028, Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, с авторфератами на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: www.vak2.ed.gov.ru и на сайте университета: www.usma.ru

Автореферат разослан «__»_____2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

БАЗАРНЫЙ
Владимир Викторович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Согласно 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 [Дарий Е.В. и др., 2012]. В связи с этим проблема профилактики злокачественных опухолей 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.

Рост и распространение опухолевых клеток является сложным многоэтапным процессом, который зависит, с одной стороны, от свойств этих клеток, а, с другой стороны, от противоопухолевой резистентности организма [Абелев Г.И., 2004; Князева О.А. и др., 2008; Wrona D., 2006], на которую эфирные масла способны оказывать регулирующее действие [Umezu T., 2012].

За последние 20 лет появился значительный интерес к терапевтическому использованию эфирных масел [Николаевский В.В. и др., 1997; Сидоренко А.Ф. и др., 2000; Солдатченко, С.С. и др., 2002; Buckle J, 2003; Ching M, 1999; Tillett, J., 2010; Thachil A.F. et al., 2007; Umezu, T., 2012; Wilkinson S.M., 2007].

Данные литературы позволяют предположить, что эфирные масла оказывают уникальное терапевтическое действие на тесно связанные между собой основные регуляторные системы организма: иммунную, эндокринную и нервную, объединенные общим термином «нейроиммуноэндокринная система». 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 (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансферазы) в плазме крови и печени мышей BALB/c, возрастающей при действии хронического стресса, и, наоборот, повышению, 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.

Теоретическая и 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 концентрации иммуноглобулинов 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.

Результаты диссертационной работы 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.

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*, выражающееся 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* через центральную нервную систему корригирует 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 корригирующее действие на показатели иммунноэндокринной системы, тем самым способствуя торможению развития миеломы Sp 2/0 Ag14.

Личный вклад автора

Результаты, приведенные в диссертации, получены при непосредственном участии автора в проведении информационного поиска, анализе источников литературы, лабораторных исследований, оформлении первичной документации и статистической обработке результатов.

Апробация результатов диссертации

Материалы данной работы 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

naukowi-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).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 19 статей, из них 4 в рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ журналах.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав с описанием материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций. Текст изложен на 147 страницах компьютерного текста, включает 17 таблиц, 21 рисунок. Библиографический указатель содержит 233 источника (108 отечественных и 125 зарубежных).

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Работа основана на анализе лабораторных показателей сыворотки, плазмы крови и печени 276 белых половозрелых лабораторных мышей - самцов линии BALB/c, при проведении экспериментов с которыми неуклонно соблюдались положения Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным [Касаткина Т.Б., 2000].

В работе использовали клетки мышинной миеломы линии Sp 2/0 Ag14, любезно предоставленные нам в ГНЦ НИИ ОЧБ (Санкт-Петербург), эфирные масла *Eucalyptus globulus*, *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* (Научно-производственная фирма «Царство ароматов», г. Судак, Крым) в режиме ингаляционного введения (ИЭМ), заключающегося в распылении их с парами воды при температуре 80°C в помещении 18 м³ (до концентрации в воздухе 4-5 мг/м³) в течение 14 сеансов по 45 минут каждый.

Для оценки деятельности системы антиоксидантной защиты определяли активность ферментативных антиоксидантов: супероксиддисмутазы (СОД) [Чевари С. и др., 1985], каталазы [Королюк М.А. и др., 1988], глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионтрансферазы (ГТ) [Власова С.Н. и др., 1990]. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) [Коробейникова Э.Н., 1989]. Окислительную модификацию белков спонтанную (КБ сп) и индуцированную (КБинд) оценивали по уровню образования динитрофенилгидразонов [Дубинина Е.Е., 1995]. Уровень кортизола определяли с помощью ИФА набора (ЗАО «НВО Иммунотех», Москва). Уровень иммуноглобулинов G, гидролизной формы С3 компонента комплемента С3(Н₂О) проводили методом ИФА с помощью специфических моноклональных антител, любезно предоставленных нам в ГНЦ НИИ ОЧБ (Санкт-Петербург).

Хроническое стрессорное воздействие моделировали ежедневно в течение двух недель, используя методику «вынужденного плавания» по 20 минут, регистрируя «степень депрессии» по времени «зависания» - неподвижного состояния животного в течение 5 минут [Porsolt R.D., et al., 1977].

Статистическую обработку результатов проводили непараметрическими методами с применением современных программных пакетов математико-статистического анализа: «Microsoft Excel» и «Statistica 10.0». Для расчета статистической значимости различий 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).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

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, корригируя различные отклонения, а в некоторых случаях оказывая подавляющее действие на рост опухолевых клеток [Турищев С.Н., 2007; Sacchetti G. et al., 2005; Rozza A.L., 2013;].

Для наших исследований на основании литературных данных были отобраны эфирные масла, обладающие иммуномодулирующим и антиканцерогенным действием [Николаевский В.В., 2000; Солдатченко С.С., 2010; Князева О.А. и др., 2011]. Для оценки их противоопухолевой активности были использованы такие критерии, как торможение развития асцита (ТРА), медиана продолжительности жизни (МПЖ) и увеличение продолжительности жизни мышей (УПЖ), которые оценивали в следующих экспериментальных группах: 1 – «контроль-миелома», животные с привитой миеломой без применения стресса; 2 – «контроль-миелома+стресс», животные с привитой миеломой на фоне стресса; 3 – «миелома+стресс+ИЭМ₁» и 4 – «миелома+стресс+ ИЭМ₂», животные с привитой миеломой, которым одновременно проводили стрессорную нагрузку и ингаляцию эфирными маслами (ИЭМ). За сутки до начала эксперимента мышам инъецировали внутривентриально суспензию клеток миеломы штамма Sp 2/0 Ag14 из расчета 10^6 клеток на мышь и на 16-е сутки оценивали торможение развития асцита: непосредственно по уменьшению

количества асцитической жидкости в мл и косвенно - по величине торможения прироста массы тела. Все расчеты производили относительно контроля «миелома+стресс», т.к. в этой группе животных наблюдались наибольшие значения прироста массы тела, объема асцитической жидкости и наименьшие значения МПЖ и УПЖ.

Таблица 1

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

Показатель	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
Масса тела до начала эксперимента, г. М±m	28,4±0,8	28,1±0,7	28,9±0,9	28,7±0,8
Прирост массы тела, г. Ме [Q ₁ -Q ₃]	17,13 [16,34-18,22]	20,97 [19,89-21,82] p₁₋₂=0,034	8,17 [7,67-8,84] p₂₋₃=0,001	9,7 [9,08-10,44] p₂₋₄=0,001 p ₃₋₄ =0,213
Объем асцитической жидкости, мл. Ме [Q ₁ -Q ₃]	9,93 [9,13-10,62]	12,8 [12,02-13,93] p₁₋₂=0,046	4,54 [4,07-5,14] p₂₋₃=0,001	5,21 [4,77-5,95] p₂₋₄=0,001 p ₃₋₄ =0,322
Торможение развития асцита, (ТРА), %	24	0	64,3	58,9
Медиана продолжительности жизни (МПЖ), дни	24,2	20,9	84,7	73,8
Увеличение продолжительности жизни (УПЖ), %	15,8	0	305,3	253,1

Из представленных в таблице 1 данных видно, что хронический стресс стимулирует процесс опухолевого роста клеток у мышей с привитой миеломой, а ингаляционное воздействие эфирных масел, напротив, тормозит.

Так, у животных с привитой миеломой на фоне стресса по сравнению с группой «контроль-миелома» наблюдалось увеличение объема асцитической жидкости в 1,28 раза, прироста массы тела в 1,22 раза, а также снижение примерно на 14% МПЖ и 16% УПЖ.

В группах (3, 4), под действием эфирных масел происходило, напротив, уменьшение объема асцитической жидкости (в 2,8 раза при ИЭМ₁ и в 2,4 раза при ИЭМ₂), прироста массы тела (в 2,56 раза при ИЭМ₁ и в 2,16 раза при ИЭМ₂), а также увеличение: МПЖ примерно на 75% и 72%; УПЖ - на 305% и 253% соответственно.

Выжившие животные оставались здоровыми и активными на протяжении 6 месяцев наблюдения, и далее в течение года.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что хронический стресс способствует развитию опухолевого процесса, а ингаляционное введение эфирных масел *Lavandula vera* в смеси с *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*, напротив, вызывает торможение роста опухоли.

Оценка влияния хронического стресса и эфирных масел на показатели иммунной (IgG, С3) и эндокринной систем (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 кортизола. В свою очередь постоянная повышенная секреция гормонов коры надпочечников угнетает активность клеток иммунной системы, ослабляет устойчивость организма к различным заболеваниям. По мнению некоторых авторов, отрицательное воздействие стресса на иммунную систему стимулирует рост опухолей [Kim, R., 2006; Nelson E.L., 2006; Lindfors, P., 2002; Thaker P.H. et al., 2008].

Целью данного этапа исследований явилось изучение влияния указанных эфирных масел на уровень кортизола – маркера стрессорного воздействия и иммуноглобулинов G – ключевых белков адаптивного гуморального иммунитета в сыворотке крови мышей.

Таблица 2

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 Me [Q ₁ -Q ₃]	1,46 [1,27-1,54]	0,85 [0,8-0,92] p₁₋₂=0,014	1,78 [1,58-1,9] p₂₋₃=0,001	1,56 [1,51-1,61] p₂₋₄=0,002
Кортизол, нМ/л. Me [Q ₁ -Q ₃]	14,05 [12,31-15,18]	27,16 [24,23-29,23] p₁₋₂=0,023	12,34 [10,82-14,02] p₂₋₃=0,004	11,98 [11,06-14,22] p₂₋₄=0,009

Из представленных в таблице 2 данных видно, что при стрессорной нагрузке по сравнению с группой «контроль-интактные» происходило снижение концентрации IgG в 1,71 раз, а повышение кортизола в 1,93 раз.

Применение ИЭМ₁ вызывало возрастание содержания IgG в крови относительно группы «контроль-стресс» примерно в 2,09 раза, а ИЭМ₂ - в 1,95 раза. В то же время содержание кортизола снижалось, соответственно, в 2,2 и 2,27 раза.

Система комплемента играет ведущую роль в механизмах иммунологической толерантности и патогенезе многих заболеваний, в число которых входят и онкологические. Центральное положение в данной системе

занимает компонент СЗ, который является связующим звеном между врожденным и приобретенным иммунитетом [Sahu A. et al., 2001; Xin-pei Yu et al., 2004]. Благодаря конформационной подвижности, глобулярный белок СЗ находится в динамическом равновесии нативной и обратимо «развернутой» формы, в которой тиоэфирная связь гидролизуеться в форму СЗ(Н₂О).

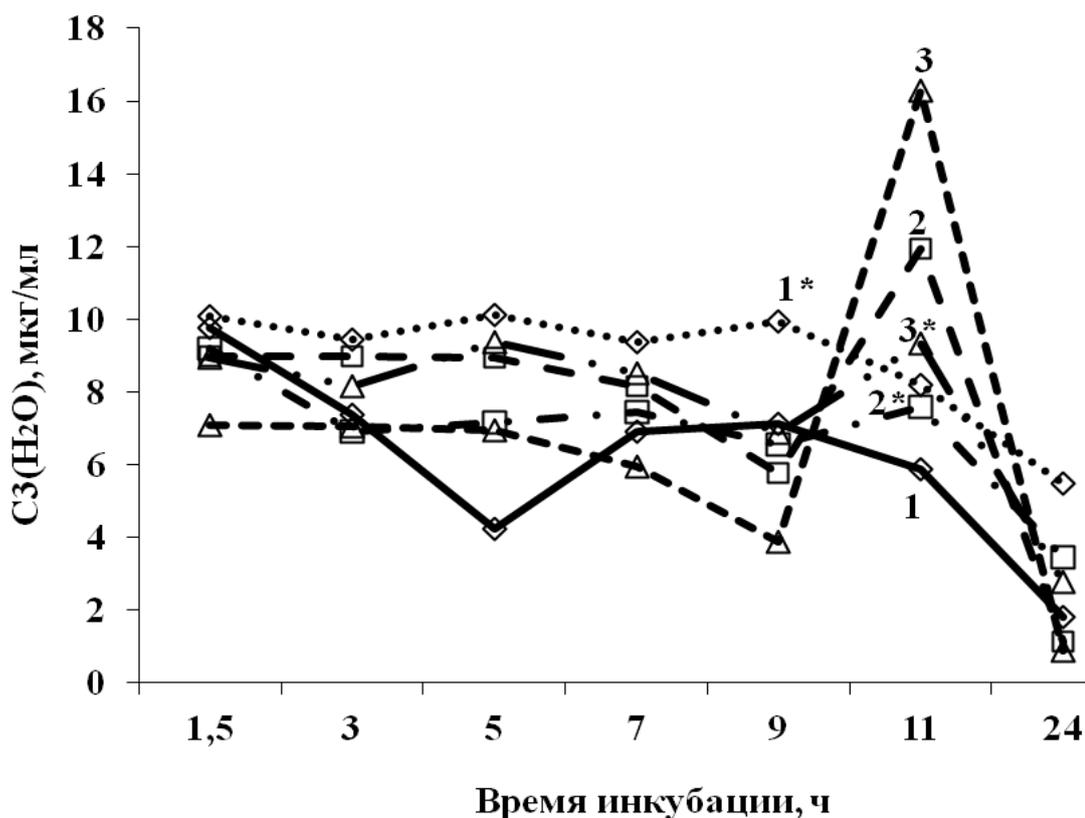


Рисунок 1. Изменение уровня СЗ(Н₂О) в сыворотке крови до и после курса ИЭМ, соответственно: 1 – контроль-интактные, 1* – интактные после ИЭМ; 2 – контроль-миелома, 2* – контроль-миелома после ИЭМ; 3 – миелома+стресс, 3* – миелома+стресс после ИЭМ. Отличия статистически значимы ($p < 0,05$) между 2 и 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 и 24 ч

Ранее было показано, что уровень C3(H₂O) коррелирует с содержанием опухолевого маркера СА-125 [Князева О.А. и др., 2007], что явилось основанием для использования данного показателя в качестве критерия иммуномодулирующего воздействия используемых эфирных масел.

На рисунке 1 продемонстрировано колебание уровня C3(H₂O) при инкубации сыворотки крови интактных мышей с привитой миеломой и с миеломой на фоне хронического стресса, как до, так и после проведения процедуры ингаляции эфирными маслами *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*.

Полученные результаты свидетельствуют, что после курса ингаляции эфирными маслами в процессе инкубации сыворотки крови происходит коррекция профиля спонтанного гидролиза C3 компонента комплемента: повышение уровня C3(H₂O) через 11 часов с привитой миеломой, возрастающее при стрессорной нагрузке и исчезающее после ингаляционного введения эфирных масел.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о корригирующем влиянии ингаляционного введения эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus* на изменения показателей иммуноэндокринной системы у мышей, вызванные воздействием хронического стресса.

Исследование активности антиоксидантных ферментов, 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*

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.

Повышенное образование свободных радикалов может быть одним из патогенетических факторов канцерогенеза [Курникова В.В., 2003]. Поэтому

целью данного этапа исследования явилось изучение активности антиоксидантных ферментов в плазме крови и печени мышей с привитой миеломой в сочетании с перекисным окислением липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков (ОМБ) на фоне стрессорной нагрузки и ингаляционного введения эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria*.

Полученные данные представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3

Уровень антиоксидантных ферментов в плазме крови
у мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14

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

Показано, что под действием ИЭМ происходит значительное увеличение активности супероксиддисмутазы (СОД) относительно групп «стресс-контроль» и «стресс+миелома»: в плазме крови – на 27,9% (p=0,043) и 39,7% (p=0,004), в печени - на 43,7% и 59,3% (p=0,001). Соответственно возрастание активности каталазы под действием эфирных масел в плазме крови составило 62,1% и 67,3% (p=0,001), в печени относительно группы

«стресс+миелома» - 21% ($p=0,024$).

Таблица 4

Уровень продуктов ПОЛ и антиоксидантных ферментов
в печени мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14

№	Показат. Эксп. гр.	МДА, мкМ	СОД, Е/мг/мин	Каталаза, мкМ/с	ГПО, мкМ/мг/мин	ГТ, мМ/мг/мин
1	2	3	4	5	6	7
1. $n = 12$	Интакт., Ме [Q ₁ -Q ₃]	15,77 [14,69 – 16,5]	45,84 [42,19 – 50,23]	19,0 [17,11 – 19,89]	27,49 [26,19 – 30,77]	7,34 [7,08 – 8,17]
2. $n = 12$	Стресс-контроль, Ме [Q ₁ -Q ₃]	30,10 [27,05 – 31,96] $p_{1-2}=0,001$	22,37 [20,91 – 23,36] $p_{1-2}=0,001$	10,46 [9,87 – 11,90] $p_{1-2}=0,007$	12,96 [12,51 – 14,72] $p_{1-2}=0,001$	1,88 [1,80 – 1,97] $p_{1-2}=0,001$
3. $n = 12$	Стресс+миелома, Ме [Q ₁ -Q ₃]	48,46 [43,62 – 51,66] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,013$	15,21 [13,75 – 15,75] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,020$	8,92 [8,46 – 9,21] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,412$	7,66 [6,72 – 7,94] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,008$	0,84 [0,75 – 0,96] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,001$
4. $n = 12$	Стресс+миелома+ИЭМ, Ме [Q ₁ -Q ₃]	23,61 [23,11 – 25,29] $p_{1-4}=0,019$ $p_{2-4}=0,201$ $p_{3-4}=0,001$	42,39 [39,70 – 46,45] $p_{1-4}=0,223$ $p_{2-4}=0,001$ $p_{3-4}=0,001$	12,89 [11,88 – 13,83] $p_{1-4}=0,031$ $p_{2-4}=0,403$ $p_{3-4}=0,024$	26,48 [24,48 – 28,92] $p_{1-4}=0,301$ $p_{2-4}=0,001$ $p_{3-4}=0,001$	4,70 [4,48 – 4,97] $p_{1-4}=0,010$ $p_{2-4}=0,001$ $p_{3-4}=0,001$

Активность фермента глутатионпероксидазы (ГПО) после ингаляционного введения эфирных масел повышалась относительно групп «стресс-контроль» и «стресс+миелома» в плазме крови на 37,5% и 50% ($p=0,001$), а в печени - на 49,2% и 68,4% ($p=0,001$). Активность глутатионтрансферазы (ГТ) в печени после ингаляционного введения

эфирных масел также возрастала: на 38% и 52,6% ($p=0,001$) соответственно.

В то же время, как видно из таблицы 4, при использовании эфирных масел у мышей с привитой миеломой на фоне стрессорной нагрузки наблюдалось снижение уровня продукта ПОЛ - малонового диальдегида (МДА) на 51,3% по сравнению с группой «стресс+миелома» ($p=0,001$).

Поскольку свободные радикалы повреждают не только липиды, но и белковые молекулы, оценка окислительной модификации белков (ОМБ), как один из ранних индикаторов повреждения ткани, позволяет дать более полную характеристику повреждающему действию свободно-радикального окисления.

Результаты по определению содержания в плазме крови и печени мышей с привитой миеломой карбонилированных белков, как спонтанных, так и индуцированных (КБсп и КБинд), представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5

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, Ме [Q ₁ -Q ₃]	173,25 [161,80 – 179,65]	1091,07 [963,09 – 1123,94]
2. $n = 12$	Стресс-контроль, Ме [Q ₁ -Q ₃]	222,89 [207,71 – 237,71] $p_{1-2}=0,018$	1387,75 [1290,90 – 1500,29] $p_{1-2}=0,022$
3. $n = 12$	Стресс+миелома, Ме [Q ₁ -Q ₃]	383,32 [360,07 – 402,53] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,002$	1787,11 [1666,28 – 1929,14] $p_{1-3}=0,002$ $p_{2-3}=0,027$
4. $n = 12$	Стресс+миелома +ИЭМ, Ме [Q ₁ -Q ₃]	192,0 [176,89 – 209,45] $p_{1-4}=0,112$ $p_{3-4}=0,001$	1234,90 [1139,72 – 1345,38] $p_{1-4}=0,342$ $p_{3-4}=0,020$

При их сопоставлении было отмечено, что в плазме крови животных при стрессорной нагрузке происходит увеличение содержания КБ сп по сравнению с группой «контроль-интактные» на 12,9% и КБ инд на 16,6% ($p=0,018$ и $p=0,022$). У мышей с привитой миеломой на фоне стресса количество КБ возрастало еще более значительно: КБ сп – на 54,8% ($p=0,001$) и КБ инд - на 38,9% ($p=0,002$). После курса ИЭМ содержание КБ относительно группы «стресс+миелома», напротив, снижалось: КБсп - примерно на 49,9% ($p=0,001$) и КБинд – на 30,9% ($p=0,020$).

Содержание КБсп и КБинд в печени изменялось сходным образом: при стрессорной нагрузке - на 17,3% ($p=0,024$) и 19,1% ($p=0,014$). С привитой миеломой на фоне стресса - на 54,2% ($p=0,001$) и 44,9% ($p=0,001$). После курса ИЭМ уровень КБсп и КБинд снижался - соответственно на 51% ($p=0,001$) и 32,9% ($p=0,020$).

Таблица 6

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, Ме [Q ₁ -Q ₃]	171,51 [156,58 – 187,42]	662,21 [639,33 – 717,50]
2. $n = 12$	Стресс-контроль, Ме [Q ₁ -Q ₃]	236,31 [218,86 – 256,33] $p_{1-2}=0,024$	892,71 [824,43 – 970,99] $p_{1-2}=0,014$
3. $n = 12$	Стресс+миелома, Ме [Q ₁ -Q ₃]	374,69 [359,18 – 387,37] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,033$	1202,58 [1101,82 – 1278,23] $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,017$
4. $n = 12$	Стресс+миелома + ИЭМ, Ме [Q ₁ -Q ₃]	183,44 [167,94 – 194,40] $p_{1-4}=0,210$ $p_{2-4}=0,010$ $p_{3-4}=0,001$	806,48 [738,99 – 883,85] $p_{1-4}=0,302$ $p_{2-4}=0,415$ $p_{3-4}=0,020$

Примечание: расчеты активности ферментов в процентах проводились относительно группы интактных животных, а показателей ПОЛ и КБ относительно группы «стресс+миелома», принятых за 100%.

Одновременно было доказано антистрессорное действие эфирных масел, выражающееся в снижении «степени депрессии»: в 5 раз при использовании смеси лавандового и шалфейного масел и в 3,7 раз - эвкалиптового ($p=0,001$). У мышей, получавших препарат сравнения флуоксетин (антидепрессант, ингибитор обратного захвата серотонина), уменьшение показателя «степени депрессии» происходило в 3 раза ($p=0,002$) (рис. 2).

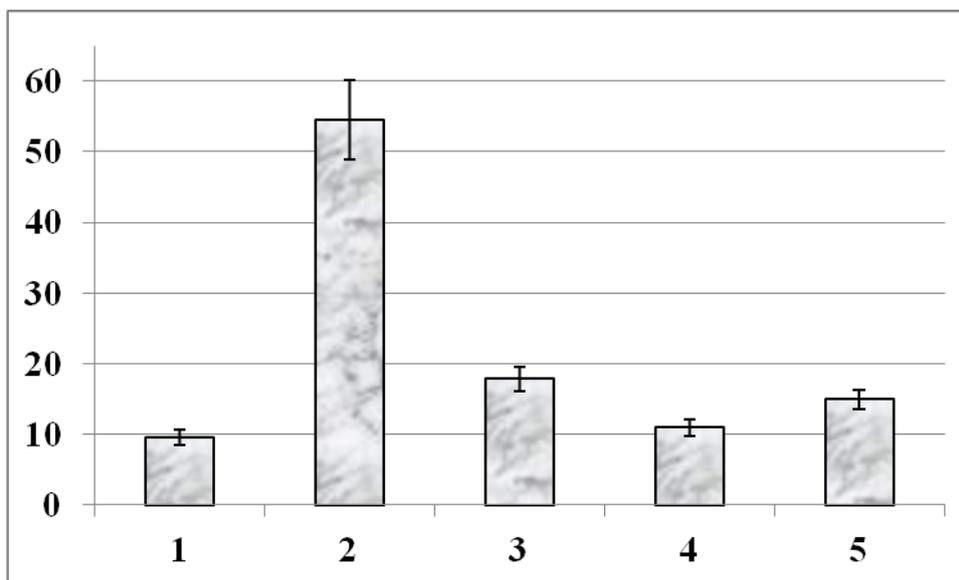


Рисунок 2. Влияние эфирных масел на «степень депрессии» (время зависания, сек) в тесте «принудительное плавание»: 1 - контроль-интактные; 2 - контроль-стресс; 3 - флуоксетин; 4 - ИЭМ₁; 5 - ИЭМ₂. Отличия достоверны: $p_{1-2}=0,001$, $p_{2-3}=0,002$, $p_{2-4}=0,001$, $p_{3-4}=0,001$, $p_{2-5}=0,001$, $p_{3-5}=0,016$

Проведенный корреляционный непараметрический анализ по Пирсону выявил существование сильной корреляционной зависимости между показателями «степени депрессии» и показателями опухолевого роста как без ($r=0,845$), так и при использовании эфирных масел ($r=0,863$),

свидетельствующей о ведущей роли хронического стресса в развитии онкологических заболеваний и корригирующем действии ингаляционного введения эфирных масел.

Корреляционная зависимость средней силы была обнаружена между показателями иммунной и эндокринной систем с показателями окислительной модификации белка ($r=0,378-0,542$), между показателями опухолевого роста, иммунной, эндокринной систем и показателями про- и антиоксидантной систем ($r=0,392-0,619$).

Все эти результаты свидетельствуют об уменьшении активности антиоксидантной защиты при прогрессировании опухолевого процесса, и, напротив, увеличении при ингаляционном введении эфирных масел, а также указывают на важнейшую роль окислительной модификации белков в нарушении функций иммунной системы и стимулирующем влиянии эфирных масел *Lavandula vera*, *Salvia sclaria* и *Eucalyptus globulus*.

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 корригирующее 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 (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России

1. Князева, О.А. Корректирующее действие ароматерапии на нейроэндокринноиммунологическую систему и опухолевый рост клеток у мышей с моделированной депрессией / О.А. Князева, А.И. Уразаева, А.В. Князев, О.Н. Целебровская // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т.6. - №.3 – С. 262-264.

2. Зейферт, Д.В. Оценка фитотоксичности глюконатов и хлоридов ряда d-элементов с использованием кресс-салата (*Lepidium sativum*) / Д.В. Зейферт, И.Г. Конкина, Ф.Р. Опарина, Н.Р. Тукумбетова, О.А. Князева, А.И. Уразаева // Башкирский химический журнал. 2012. - № 4. – С. 20-23.

3. Уразаева, А.И. Влияние эфирных масел на метаболические изменения в эритроцитах у мышей с привитой миеломой / А.И. Уразаева, О.А. Князева, Э.Ф. Аглетдинов // Фармация. – 2014. – №1. – С. 42-44.

4. Уразаева, А.И. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* в режиме ароматерапии на окислительную модификацию белков в плазме крови и печени BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 на фоне стрессорной нагрузки / А.И. Уразаева, О.А.Князева, Э.Ф.Аглетдинов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т.9. - №4. – С.49-51.

Статьи в прочих изданиях

5. Князева, О.А. К вопросу о механизмах терапевтического действия ароматерапии при неопластических процессах / О.А. Князева, А.И. Уразаева, А.В. Князев // Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Научный прогресс на рубеже тысячелетий». – Т.21. – Чехия, Прага: Publishing House “Education and Science” s.r.o., 2010. – С. 56-58.

6. Князева, О.А. Влияние эфирного масла *Eucalyptus globulus* на развитие опухолевого процесса у мышей линии *BALB/c* в состоянии депрессии / О.А., Князева, А.И. Уразаева, А.В. Князев // Сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции «Перспективные инновации в науке, образовании, производстве и транспорте 2010» – Одесса, 2010. – Т. 15, С. 60-61.

7. Уразаева, А.И. Изменение некоторых показателей нейроэндокринноиммунологической системы у мышей в состоянии депрессии под действием эфирного масла *Eucalyptus globules* / А.И. Уразаева, О.А. Князева // Материалы I международной конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине». – М.: Парк-медиа, 2010. – С.141.

8. Насретдинова, А.Ф. Оценка цитотоксической, противоопухолевой активности глюконатов переходных металлов и наблюдения за развитием асцита у мышей *BALB/c* при воздействии стрессорных факторов / А.Ф. Насретдинова, А.И. Уразаева // Материалы 76-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых «Вопросы теоретической и практической медицины». – Уфа, 2011. – Т.2, С. 61-63.

9. Уразаева, А.И. Влияние ароматерапии на нервную, эндокринную, иммунную системы и развитие опухолевого процесса у мышей линии *BALB/c* в состоянии депрессии / А.И. Уразаева, С.И. Уразаева // Материалы 76-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых «Вопросы теоретической и практической медицины». – Уфа, 2011. – Т.2, С.

156-158.

10. Knyazeva, O.A. Biochemical mechanisms of influence essential oils of plants of tumor cell growth / O.A. Knyazeva, I.G. Konkina, A.I. Urazaeva, A.V. Knyazev // International conference “Renewable Wood and Plant Resources: Chemistry, Technology, Pharmacology, Medicine”. – St.Petersburg, 2011. – P. 90-91.

11. Князева, О.А. Влияние глюконатов переходных металлов на опухолевый рост клеток у мышей BALB/c при стрессорной нагрузке / О.А. Князева, И.Г. Конкина, А.И. Уразаева, А.В. Князев // Материалы VI Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы естественных наук-2012» – Т.36. Медицина: Польша, Przemysl «Nauka i studia», 2012. – С. 75-77.

12. Князева, О.А. Координационные соединения металлов корректируют показатели ЦНС при депрессии у мышей / О.А. Князева, И.Г. Конкина, А.И. Уразаева, Ю.И. Муринов // Современные проблемы химической науки и образования: сб. материалов Всерос. Конф. С международным участием, посвященной 75-летию со дня рождения В.В. Кормачева: в 2 т.- Т.II. – Чебоксары: Изд-во Чуваш. Ун-та, 2012. – С. 142-143.

13. Конкина, И.Г. Влияние комплексов 3-d элементов на уровень иммуноглобулина IgG на модели стресса у мышей / И.Г. Конкина, О.А. Князева, А.И. Уразаева, Ю.И. Муринов // Приоритетные направления развития науки и технологий: тезисы докладов XII Всероссийской научн.-техн. конф.; под общ.ред. В.М.Панарина. - Тула: Изд-во «Инновационные технологии», 2012. – С. 58-59.

14. Уразаева, А.И. Оценка влияния эфирных масел *Lavandula Vera* и *Salvia Sklaria* на нервную систему в тесте «Открытое Поле» / А.И. Уразаева, О.А. Князева, И.Г. Конкина // Materialy ix Miedzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji “Europejska nauka XXI powieka-2013” V. 24. Nauk biologicznych. Chemia I chemiczne technologie.: Przemysl. Nauka I studia, 2013. – S. 23-25.

15. Князева, О.А. Влияние металлосодержащих соединений на показатели ЦНС и иммунной системы при некоторых патологических состояниях / О.А. Князева, И.Г. Конкина, А.И. Уразаева, Ю.И. Муринов // Сборник научных трудов по материалам IX Всероссийской научной конференции «Химия и медицина». Уфа-Абзаково, 2013. – С. 74-75.

16. Уразаева, А.И. Влияние эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* на метаболические изменения в печени мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 на фоне стрессорной нагрузки / А.И. Уразаева, О.А. Князева, И.Г. Конкина, Э.Ф. Аглетдинов // Материалы 9-ой международной научно-практической конференции «Научный потенциал мира-2013». - Том 16. Биология. Химия и химические технологии. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2013 – С. 43-45.

17. Уразаева, А.И. Действие эфирных масел *Lavandula vera* и *Savia sclaria* на метаболические изменения в эритроцитах крови мышей с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14 на фоне стрессорной нагрузки / А.И. Уразаева, О.А. Князева // Сборник научных трудов SWorld. – Выпуск 3. Том 44. – Одесса: КУПРИЕНКО СВ. 2013. – ЦИТ: 313-0787. – С. 6-8.

18. Уразаева, А.И. Антидепрессантная активность эфирных масел *Lavandula vera* и *Salvia sclaria* / А.И. Уразаева, О.А. Князева, И.Г. Конкина // Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов VIII Всероссийской научной конференции. Сыктывкар-Калининград, 2013. – С. 219.

19. Urazaeva, A.I. Effect of essential oils of *Lavandula vera* and of *Salvia sclaria* on metabolic changes in the red blood cells of mice grafted with myeloma Sp 2/0 ag14 under stress load / A.I. Urazaeva, O.A. Knyazeva // In Modern scientific research and their practical application, edited by Alexandr G. Shibaev, Alexandra D. Markova. Vol.J21301 (Kupriyenko SV, Odessa, 2013) – URL: <http://www.sworld.com.ua/e-journal/J21301.pdf> - Article CID J 21301-031. – P. 200-202.