

На правах рукописи



ВОРОБЬЕВА Анастасия Константиновна

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ
ОРЕГАНО И ЧАБЕРА В ОПЫТАХ *IN VIVO***

специальность 03.01.02 – «биофизика»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

МОСКВА – 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Бурлакова Елена Борисовна,
заведующая лабораторией физико-химических основ регуляции биологических систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики Российской академии наук

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Ямскова Виктория Петровна,
ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии процессов онтогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук

доктор биологических наук
Веселова Татьяна Владимировна,
старший научный сотрудник кафедры биофизики Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н.Семенова Российской академии наук

Защита состоится « ___ » _____ 2014 г. в _____ на заседании Диссертационного Совета (Д 002.039.01) при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу: 119334, Москва, ул. Косыгина, дом 4.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической физики им. Н.Н.Семенова РАН по адресу: 119991, Москва, Ленинский проспект, дом 38 и на сайте: <http://ibcp.chph.ras.ru/2014/>

Автореферат разослан « ___ » _____ 2014 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета Д 002.039.01,
кандидат химических наук



Л.И. Мазалецкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Для повышения антиоксидантного статуса организма широко используются синтетические антиоксиданты, в том числе являющиеся аналогами природных молекул. [1]. Ряд эффективных и нетоксичных антиоксидантов (АО), в основном производных экранированных фенолов и оксипроизводных азотистых гетероциклов, были синтезированы в ИХФ РАН. Были проведены широкие исследования противоракового действия АО и закономерностей их влияния на опухолевые процессы [2–4]. Эмануэлем Н.М. и Франкфурт О.С. в 1967 г. было обнаружено антиканцерогенное действие АО дибутилокситолуола [5]. Биологическое действие АО основано на их способности нейтрализовать свободные радикалы, а также влиять на пути передачи клеточных сигналов. Показано, что антиоксиданты нормализуют регуляцию клеточного цикла, предотвращают распространение опухоли и ангиогенез, подавляют воспаление, стимулируют активность ферментов детоксификации ксенобиотиков, и, таким образом, препятствуют канцерогенезу [6].

В ИХФ РАН более полувека назад было проведено кинетическое изучение модельных реакций старения и показана перспективность АО в качестве геропротекторов [7]. В последние годы особое внимание ученые всего мира уделяют поиску новых природных антиоксидантов, которые, в отличие от синтетических, практически не имеют побочных эффектов, при этом они обладают комплексом различных видов биологической активности. Особый интерес представляет изучение таких природных соединений, как эфирные масла (ЭМ), которые ответственны за фармакологические свойства многих лекарственных растений. Их благотворное действие на организм людей проявляется и при вдыхании воздуха, содержащего малые количества ЭМ. Отмечено, что в ряде стран Средиземноморья, Кавказа проживает самое большое число долгожителей. В жаркое время года в воздухе этих регионов содержатся летучие компоненты пряных трав (тимьяна, орегано, чабера, чабреца, лаванды, розмарина и других), которые постоянно попадают в организм живущих там людей. Кроме того, пряная зелень является обязательным компонентом питания и, безусловно, вносит положительный вклад в сохранение здоровья населения этих регионов. Вполне вероятно, что именно постоянное употребление малых доз летучих АО отвечает за долгую и здоровую жизнь этих людей. Однако исследований по этой проблеме не проводилось.

В последние годы активно изучается противопаразитарная, фунгицидная, анальгетическая, противовоспалительная, антирадикальная, антиоксидантная и противораковая активность ЭМ, при этом большая часть исследований выполнена в модельных экспериментах на культурах клеток *in vitro* [8]. К сожалению, работ с лабораторными животными *in vivo* практически нет, так же как нет данных о влиянии на организм и на продолжительность жизни долгосрочного приема ЭМ. Поэтому изучение действия ЭМ на физиологические и биохимические процессы *in*

vivo на различных этапах жизни от рождения до старости лабораторных животных является важной и актуальной задачей.

Целью работы являлось изучение влияния длительного систематического приема эфирных масел в малых дозах на физиологические и биохимические характеристики организма мышей в норме и при патологии.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать действие систематического приема эфирного масла орегано в малых дозах на протяжении всей жизни здоровыми мышами линии Balb/c на следующие показатели: продолжительность жизни животных, степень гемолиза и содержание продуктов ПОЛ в эритроцитах мышей, активность АО ферментов в клетках печени и жирнокислотный (ЖК) состав печени и мозга мышей.
2. Изучить действие эфирного масла орегано в малой дозе на прививаемость, размеры солидной опухоли карциномы Льюис и параметры ПОЛ у мышей-гибридов F1 DBA× C57 Black.
3. Исследовать влияние систематического приема эфирного масла чабера в малой дозе на продолжительность жизни, развитие спонтанного лейкоза и параметры ПОЛ у мышей высокорактовой линии AKR.

Научная новизна. Впервые в экспериментах *in vivo* установлено, что систематический прием эфирных масел в малых дозах на протяжении всей жизни здоровыми мышами линии Balb/c оказывал геропротекторное действие: средняя продолжительность жизни животных увеличивались на 120 дней (на 17% больше, чем в контроле). Такое действие основано на наличии у ЭМ орегано антибактериальной, противовоспалительной, противопаразитарной и противоопухолевой активности [9], а также биоантиоксидантных свойств. Найдено, что ЭМ орегано снижало уровень ПОЛ в органах и тканях мышей, модулировало ферментативную защитную систему печени, повышало антиоксидантный статус организма.

Впервые изучены изменения в составе ЖК в мозге и печени здоровых мышей Balb/c от рождения до старости. Выявлено, что в мозге стареющих животных снижалось содержание насыщенных и полиненасыщенных ЖК и значительно увеличивалось содержание мононенасыщенных ЖК. Прием ЭМ орегано защищал мозг от возрастных изменений, так как существенно улучшал ЖК состав мозга стареющих мышей, обогащая его полиненасыщенными ЖК.

Впервые в опытах *in vivo* установлена противораковая активность эфирных масел чабера и орегано. Прием ЭМ чабера снижал частоту лейкозов у мышей высокорактовой линии AKR, увеличивал среднюю продолжительность их жизни на 47 дней (20%), уменьшал интенсивность окислительного стресса в органах и тканях животных. Прием мышами-гибридами F1 DBA× C57 ЭМ орегано в течение 3-х месяцев повышал антиоксидантный статус организма, существенно снижал

степень прививаемости (в 1,8 раза) и максимальные размеры солидной опухоли карциномы Льюис (на 30%) у мышей опытных групп.

Практическое значение работы. Полученные в работе данные имеют важное практическое значение. Главным результатом является обнаруженная способность ЭМ орегано увеличивать продолжительность жизни здоровых мышей. Установлено, что при старении мышей происходило увеличение интенсивности ПОЛ в различных органах, изменялся состав ЖК в мозге мышей, что влияло на его функциональную активность. Систематический прием ЭМ орегано существенно снижал интенсивность ПОЛ в органах и тканях здоровых мышей, значительно улучшал баланс жирных кислот в мозге стареющих животных, уменьшал количество насыщенных ЖК и обогащал его полезными полиненасыщенными ЖК, уровень которых в процессе старения снижался.

Важнейшим результатом работы является найденная у ЭМ орегано и чабера противораковая активность. Оба ЭМ являются перспективными натуральными профилактическими геропротекторными средствами, и их систематический прием в малых дозах может быть эффективен для профилактики различных заболеваний.

Основные положения выносимые на защиту:

1. Эфирные масла чабера и орегано при систематическом приеме в течение всей жизни являются эффективными биоантиоксидантами в опытах *in vivo*, снижают уровень окислительного стресса в органах и тканях здоровых мышей и мышей со спонтанным лейкозом линии AKR.

2. Эфирное масло орегано проявляет свойства геропротектора. Ежедневный прием масла на протяжении всей жизни увеличивает продолжительность жизни мышей и нивелирует ряд изменений, происходящих при старении организма.

3. Эфирные масла орегано и чабера обладают противораковым действием. Систематический прием ЭМ чабера уменьшает частоту лейкозов и увеличивает среднюю продолжительность жизни мышей AKR, а ЭМ орегано снижает степень прививаемости и максимальные размеры и скорость роста опухоли у мышей-гибридов F1 DBA× C57 Black с карциномой Льюис.

Апробация работы. Основные материалы диссертации были доложены и обсуждены на Моск. Межд. конгрессе "Биотехнология: состояние и перспективы развития" (Москва, 2009, 2010, 2011, 2012), 5 Межд. конгрессе «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине» (С.-Петербург, 2009, 2012), Национальной научно-практ. конф. с межд. участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2009), VII Всеросс. конф. с молодежной научной школой (Уфа, 2009), IX, X и XI Ежегодных межд. конф. «ИБХФ РАН - ВУЗЫ» (Москва, 2009, 2010, 2011), Межд. конф. «Генетика продолжительности жизни и старения» (Сыктывкар, 2010), VI Всеросс. конф. «Химия и технология растительных веществ» (С.-Петербург, 2010), IX

Межд. симпозиуме «Биологические механизмы старения» (Харьков, 2010), VIII Межд. конф. «Биоантиоксидант» (Москва, 2010), III Евразийском конгрессе по медицинской физике и инженерии «Медицинская физика – 2010» (Москва, 2010), Первой Росс. конф. по медицинской химии (MedChem Russia-2013) с международным участием (Москва, 2013), Межд. научно-практической конф. «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине» (Новосибирск, 2013).

Финансовая поддержка работы. Работа выполнена в ИБХФ РАН рамках планов научно-исследовательских работ Института по теме «Природные и синтетические антиоксиданты. Синтез, кинетические характеристики, механизм действия в системах различной степени сложности, синергизм, специфическая активность, прикладные проблемы. Изучение антиоксидантной активности эфирных масел и ароматизаторов», а также при финансовой поддержке ОХНМ Президиума РАН: проект «Исследование биологической активности эфирных масел пряно-ароматических растений» - в 2009-2011 гг. и проект «Исследование антирадикальных и антиоксидантных свойств натуральных эфирных масел и экстрактов пряно-ароматических растений, обладающих физиологической активностью» - в 2012-2014 гг.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 39 работ: 8 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 14 статей в сборниках научных трудов и 17 публикаций в сборниках материалов конференций. Получен патент на изобретение № 2475258 от 20.02.13.

Личный вклад автора. Экспериментальные данные по изучению влияния эфирных масел на продолжительность жизни животных, результаты биохимических и биофизических опытов, характеризующие состояние ряда систем органов животных, а также цитогеронтологические данные получены автором лично или при его непосредственном участии. Постановка работы, планирование экспериментов, их интерпретация и обобщение результатов проводились совместно с научным руководителем. Анализ данных литературы и написание диссертации проведено автором лично. Материалы диссертации доложены автором в виде устных и стендовых докладов на конференциях, симпозиумах, конгрессах.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 136 страницах печатного текста, содержит 22 рисунка и 19 таблиц. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 253 источника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения работы были выбраны эфирные масла орегано (*Origanum vulgare* L.) и чабера садового (*Satureja hortensis* L.) производства компании Lionel Hitchen Ltd., Великобритания. Они имеют близкий качественный состав компонентов, обладают широким спектром биологического действия и являются эффективными антиоксидантами. Если орегано растет преимущественно в южных странах (Турция, Греция, Италия, Франция, Испания, Египет), то чабер можно успешно выращивать в средней полосе России и получать из него ЭМ или использовать высушенное растение в качестве пряно-ароматической добавки в пищу. Основными компонентами обоих ЭМ являются фенольные соединения – карвакрол и тимол, которые ответственны за их АО [10, 11].

Исследование ЭМ орегано и чабера в опытах *in vivo*. Для всех экспериментов животных получали из питомника Столбовая в возрасте 2 месяцев и содержали на общевиварном рационе. Мыши контрольной группы получали чистую питьевую воду. Животные опытных групп на протяжении всех экспериментов употребляли воду с добавлением ЭМ. Для этого готовили исходные растворы различных концентраций ЭМ в воде, которые затем добавляли в питьевую воду.

Мыши линии *Valb/c* в возрасте 2 месяцев случайным образом были разделены на 3 группы по 100 животных в каждой. Мыши двух опытных групп получали воду, содержащую ЭМ орегано в двух концентрациях: большая доза, 10^{-8} М или 0,15 мкг/мл (БД) и малая доза, 10^{-12} М или 0,015 нг/мл (МД). В возрасте 2, 5, 9, 16 и 25 месяцев определяли биохимические показатели крови, мозга и печени животных. По 75 животных в каждой группе доживали до естественной гибели. Данные по продолжительности жизни использовали для построения кривых смертности мышей в контрольной и опытных группах.

У мышей-гибридов *F1 DBA×C57 Black* (10 штук) в возрасте 2 месяцев были определены биохимические показатели в крови, печени и мозге. Оставшиеся 70 мышей были разделены случайным образом на 2 группы. Опытная группа получала воду, содержащую 0,15 мкг/мл ЭМ орегано. Через 3 месяца эксперимента в контрольной и опытной группах мышей определяли физико-химические характеристики крови и органов. Оставшимся животным контрольной (30 шт) и опытной групп (30 шт) перевивали солидную опухоль карциному Льюис путем внутримышечного введения суспензии опухолевых клеток в двух концентрациях: 5×10^4 или 5×10^5 клеток в инокуляте. Полученные таким образом 4 группы животных наблюдались в течение 1,5 месяцев, у них определяли степень прививаемости опухоли и ее размер.

Мыши линии *AKR* в возрасте 2 месяцев были разделены на 2 группы. Мыши опытной группы получали питьевую воду, содержащую ЭМ чабера садового в концентрации 0,15 мкг/мл. В возрасте 4, 6, 8 и 10 месяцев определяли биохимические показатели крови, мозга и печени животных в контрольной группе, в возрасте 4 и 6 месяцев – в опытной группе. Животные контрольной (100 шт) и опытной (90 шт) групп доживали до естественной гибели. На основании

полученных данных были построены кривые смертности животных в контрольной и опытной группах.

Определение степени гемолиза эритроцитов, позволяющее судить об устойчивости этих клеток к спонтанной механической дезинтеграции, проводили согласно методике, приведенной в [12].

Определение интенсивности ПОЛ проводили по содержанию ТБК-активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (малоновый диальдегид - МДА), в эритроцитах и гомогенатах тканей печени и головного мозга мышей при длине волны 532 нм на спектрофотометре СФ-2000 (ЗАО "ОКБ Спектр", Россия) [12-14].

Определение активности антиоксидантных ферментов печени проводили спектрофотометрически:

- активность Cu,Zn-супероксиддисмутазы – по ингибированию реакции восстановления нитросинего тетразолия супероксидными радикалами, генерируемыми ксантиоксидазой в реакции окисления ксантина [15];

- активность глутатионпероксидазы – по методу Mills в модификации Мальцева [16] по окислению восстановленного никотинамидаденинди-нуклеотидфосфата в сопряженной глутатионредуктазной реакции с использованием в качестве субстрата гидропероксида трет-бутила;

- активность глутатион-S-трансферазы – по скорости образования глутатион S-конъюгатов между глутатионом и 1-хлор-2,4-динитробензолом. Увеличение концентрации конъюгатов в ходе реакции регистрировали спектрофотометрически при длине волны 340 нм [17].

Газохроматографический анализ (ГЖХ) образцов эфирных масел и метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) гомогенатов печени и мозга животных осуществляли на хроматографе Кристалл 2000М (ЗАО СКБ "Хроматэк", Россия) с пламенно-ионизационным детектором и кварцевой капиллярной колонкой SPB-1 (50 м × 0,32 мм, слой фазы 0,25 мкм) [18].

Исследование ЭМ орегано in vitro проводили на культуре трансформированных клеток почки китайского хомячка линии B11-dii FAF28 (клон 237), полученных из Медико-генетического научного центра РАМН (Москва) по методике [19].

Математические расчеты и статистическую обработку результатов производили с помощью программ Microsoft Excel 2007 и SigmaPlot 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вместе с пищей человек ежедневно употребляет большое число биологически активных веществ, которые даже в малых дозах могут существенно влиять на биохимические процессы в организме. Поэтому важной необходимостью становится научно-обоснованное понимание их действия на здоровый организм в целом, на физиологические показатели и биохимические параметры отдельных органов и тканей. Одной из задач проведенного нами исследования было определение влияния длительного приема малых доз ЭМ орегано на организм

здоровых мышей Balb/c от рождения до естественной гибели, при этом мыши содержались в стандартных условиях без действия повреждающих факторов.

ЭМ орегано является смесью терпеноидов и содержит около 80% фенолов – карвакрола и тимола. Для определения безопасной концентрации и оценки его свойств были проведены исследования ЭМ на культуре клеток.

Цитотоксичность ЭМ орегано и его геропротекторные свойства

В работе мы применили модель «стационарного старения» к культуре трансформированных клеток почки китайского хомячка [19]. Эта модель основана на предположении о том, что культивируемые клетки, достигнув стационарной фазы роста, начинают накапливать макромолекулярные повреждения, аналогичные тем, что накапливают клетки живого организма в течение жизни. Аппроксимация с использованием уравнения Гомпертца кривых выживаемости клеточных культур после достижения стационарной фазы роста позволяет моделировать процесс старения макроорганизма [20]. Также использование данной модельной системы позволяет оценить наличие геропротекторных свойств у исследуемых препаратов.

Действие ЭМ орегано на рост клеток в культуре было изучено в широком диапазоне концентраций от 1×10^{-15} М до 5×10^{-4} М (в пересчете на карвакрол). На основании полученных данных определена цитотоксическая доза ЭМ и для дальнейших экспериментов были выбраны только две концентрации ЭМ орегано: при концентрации $2,5 \times 10^{-4}$ М (250 мкМ) ЭМ орегано снижало плотность культуры клеток 4-х дневного «возраста» приблизительно в 2 раза, т.е. эта концентрация ЭМ была цитотоксичной; концентрация $2,5 \times 10^{-5}$ М (25 мкМ) оказалась максимальной, не проявляющей цитотоксического действия.

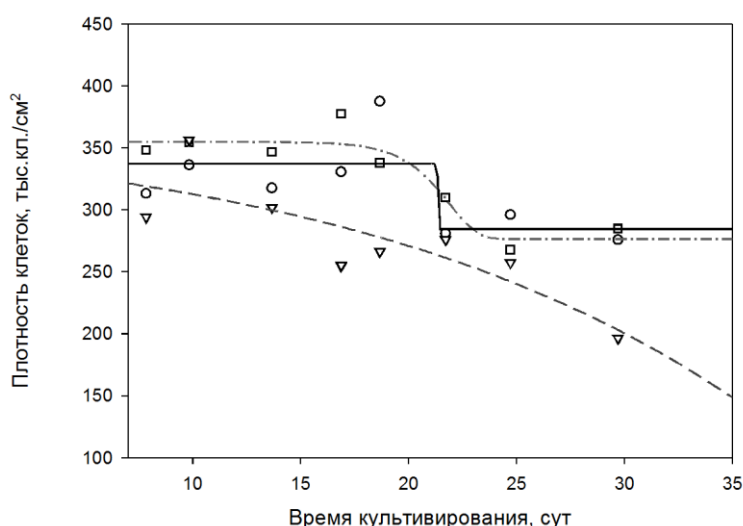


Рисунок 1. Влияние эфирного масла орегано в концентрации 25 мкМ и 250 мкМ (в пересчете на карвакрол) на кинетику гибели клеток в модели "стационарного старения" (□, контроль; ○, 25 мкМ; ▽, 250 мкМ). Кривые аппроксимированы с помощью уравнения Гомпертца (— контроль; —•— 25 мкМ; — — 250 мкМ)

Как видно из Рисунка 1, ЭМ орегано в концентрации 25 мкМ не влияло на ход экспериментальной кривой и на жизнеспособность клеток. Следует отметить, что пересчитанная на эфирное масло концентрация 25 мкМ (4 мкг/мл) была в 400 раз больше той, которую использовали в опытах *in vivo* (0,15 мкг/мл воды или

около 0,01 мкг/1г веса мыши/сутки). Интересно, что при концентрации 250 мкМ "стационарное старение" клеток ощутимо ускорялось (Рисунок 1), т.е. в данном случае ЭМ орегано проявило себя как геропромотор.

Влияние эфирного масла орегано на продолжительность жизни мышей Balb/c

На Рисунке 2 приведены данные по влиянию ЭМ орегано, принимаемого с питьевой водой, на смертность мышей. ЭМ добавляли в воду до концентрации 0,15 мкг/мл (что соответствовало дозе 0,3 мкг/сутки – большая доза) или 0,015 мкг/мл (доза 0,03 мкг/сутки – малая доза). Кривые смертности аппроксимированы уравнениями линейной регрессии. Из уравнений найдено, что прием ЭМ орегано в большой дозе увеличивал среднюю продолжительность животных (ПЖ) на 120 дней, максимальную – на 141 день и латентный период – на 99 дней по сравнению с контролем. Скорость гибели животных в этой группе была на 14% ниже, чем в контрольной. Величина латентного периода, средняя и максимальная ПЖ мышей, получавших ЭМ орегано в малой дозе, практически не отличались от контроля.

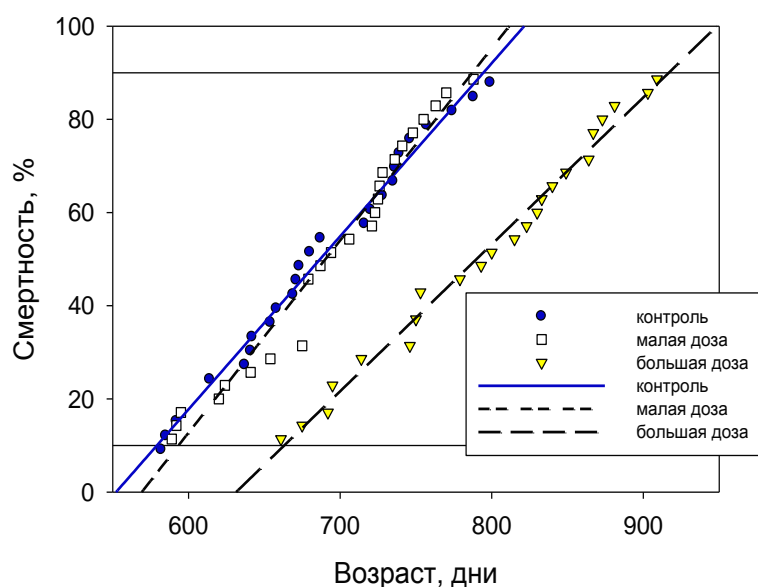


Рисунок 2. Кривые смертности мышей Balb/c в контроле и при употреблении эфирного масла орегано в разных дозах.

Кривые аппроксимированы уравнениями линейной регрессии: $y_{(контроль)} = 0,37x - 204,2$, $y_{(большая\ доза)} = 0,32x - 208,2$, $y_{(малая\ доза)} = 0,41x - 232,9$

Следует отметить, что не обнаружено статистически значимых отличий в массе тела и тимуса между опытной и контрольной группами животных на всех сроках жизни. По мере старения массы всех органов у мышей контрольной и опытных групп оставались практически одинаковыми.

Таким образом, ЭМ орегано в изученных дозах не оказывало токсического действия, его прием не влиял на массу тела и основных иммунокомпетентных органов мышей. Нами впервые установлено, что ЭМ орегано проявило себя как эффективный геропротектор [21]. Его регулярное употребление в дозе около 0,3 мкг/сутки на 120 дней (17%) увеличивало СПЖ мышей.

Влияние эфирного масла орегано на физико-химические характеристики клеток органов и тканей мышей Balb/c

Ранее было показано, что ЭМ орегано обладало не только высокой антирадикальной активностью в модельной системе, но его прием в течение 6 месяцев мышами влиял на параметры ПОЛ в органах мышей, как биоантиоксидант *in vivo* [22]. Необходимо отметить, что в этих экспериментах не изучалось влияние длительного и непрерывного на протяжении всей жизни приема ЭМ орегано на биохимические характеристики органов мышей в разном возрасте. В настоящей работе мы определили влияние долгосрочного приема ЭМ орегано на параметры ПОЛ в эритроцитах, печени и мозге мышей Valb/c в возрасте 2, 5, 9, 16 и 25 месяцев, то есть от рождения до глубокой старости в контрольной группе и в двух опытных. Результаты представлены в Таблице 1.

Было найдено, что с увеличением возраста у здоровых животных степень гемолиза эритроцитов монотонно снижалась. Употребление ЭМ орегано также снижало степень гемолиза, при этом по мере увеличения возраста различия в этом параметре для мышей контрольной и двух опытных групп увеличивались и достигали 44% в 25 месяцев по сравнению с контролем того же возраста. Снижение степени гемолиза может свидетельствовать об увеличении устойчивости мембран эритроцитов.

Содержание ТБК-АП пропорционально интенсивности процессов ПОЛ в органах и тканях. У молодых 2-месячных животных уровень ТБК-АП в эритроцитах был достаточно высоким (Таблица 1). С ростом и развитием организма до достижения зрелого возраста (9 месяцев) этот показатель снижался. Далее по мере старения организма мы наблюдали значительное увеличение концентрации ТБК-АП, то есть увеличение интенсивности процессов ПОЛ. Прием ЭМ орегано статистически достоверно не влиял на содержание ТБК-АП в эритроцитах. Возможно, слабое действие ЭМ как биоантиоксиданта на интенсивность ПОЛ в эритроцитах обусловлено коротким сроком их жизни и частым обновлением этих клеток. Также возможно, что в отсутствие повреждающих факторов антиоксидантная ферментативная система здоровых мышей успешно регулировала процессы ПОЛ в клетках эритроцитов.

Таблица 1. Физико-химические параметры эритроцитов мышей Valb/c (К – контроль, МД – малая доза, БД – большая доза)

Возраст, мес		2	5	9	16	25
Относительная степень гемолиза, %	МД	100	116	106	39	65
	БД		90	87	32	56
Относительное содержание ТБК-АП, %	МД	100	97	87	105	100
	БД		97	111	105	94

Длительный прием ЭМ орегано оказывал существенное влияние на окислительные процессы в печени мышей Valb/c: содержание ТБК-АП у мышей опытных групп в возрасте 16 и 25 месяцев было ниже, чем в контроле (Рисунок 3).

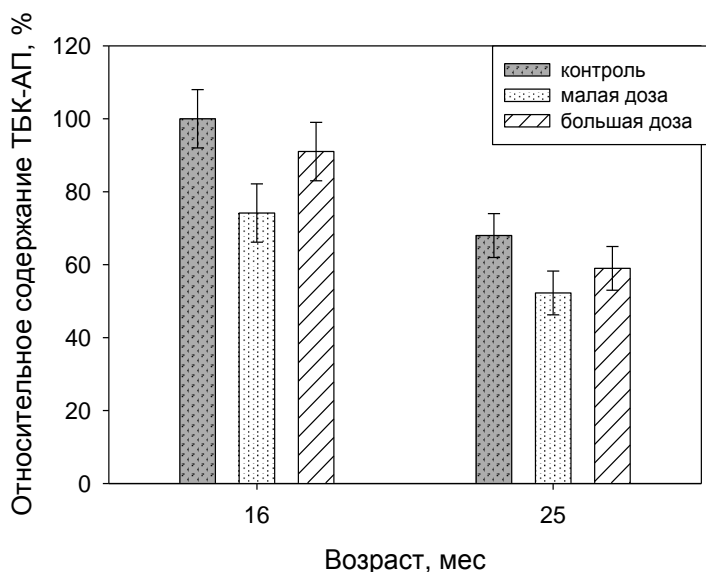


Рисунок 3. Относительное содержание ТБК-АП в печени мышей *Valb/c* при приеме ЭМ орегано

В Таблице 2 приведены активности ферментов в возрасте 5, 9 и 16 месяцев по отношению к контролю. Найдено, что чувствительность ферментов к действию ЭМ зависела от дозы препарата и длительности его употребления. У взрослых мышей в возрасте 9 месяцев активность

СОД и ГП в клетках печени мышей опытных групп была в 1,4 раза выше по сравнению с контролем. Для оценки функционирования ферментов как единой системы использовали отношение активностей СОД/ГП. Из Таблицы 2 видно, что этот параметр при действии масла в БД снижен почти в 1,5-2,0 раза. Известно, что снижение значения параметра СОД/ГП коррелирует с большей устойчивостью к окислительному стрессу, которая формировалась благодаря ЭМ орегано [23].

Активность ГТ была увеличена при приеме БД в возрасте 5 месяцев, затем она стабилизировалась. Увеличение активности СОД и ГТ в печени крыс было найдено при приеме ЭМ тимьяна [24]. Известно, что способность природных соединений индуцировать активность ГТ, связана с их противораковой активностью [25].

Таблица 2. Влияние эфирного масла орегано на активность антиоксидантных ферментов цитозоля печени мышей линии *Valb/c*

Доза ЭМ	Отношение активности, опыт/контроль					
	5 мес	9 мес	16 мес	5 мес	9 мес	16 мес
	СОД			ГТ		
БД	1,10	1,45	0,70	2,11	0,70	1,04
МД	1,27	1,21	1,20	1,48	0,65	0,61
	ГП			СОД/ГП		
БД	1,50	1,43	1,45	0,7	1,0	0,5
МД	0,80	1,20	0,78	1,6	1,0	1,5

ЭМ орегано модулировало активность важнейших антиоксидантных ферментов печени мышей и в отсутствие экзогенного окислительного стресса оказывало позитивное влияние на АО статус, увеличивало устойчивость печени мышей к окислительному стрессу. Возможно, что обнаруженное нами снижение

содержания ТБК-АП в печени мышей при приеме ЭМ орегано обусловлено увеличением активности ферментативной системы антиоксидантной защиты. Эти результаты свидетельствуют о том, что ЭМ орегано проявляет биоантиоксидантную активность в печени мышей при введении *in vivo*.

Были найдены физиологические пределы изменений содержания жирных кислот в печени мышей на протяжении жизни [26]. Так, содержание насыщенных ЖК (НЖК) монотонно снижалось с 34,9% до 31,2%, мононенасыщенных (МНЖК) изменялось в пределах 22,5% – 30,7%, полиненасыщенных (ПНЖК) варьировало от 35,7% до 43,5%. Аналогичные изменения найдены для основных жирных кислот – олеиновой, линолевой, арахидоновой и докозагексаеновой. Систематическое употребление ЭМ с питьевой водой на протяжении жизни приводило к незначительным (в пределах 2 – 3%) различиям в содержании всех ЖК в печени мышей по сравнению с контролем того же возраста. Таким образом, ЭМ орегано в малых дозах не только не проявляло токсического действия, но и не влияло на синтез и метаболизм полиненасыщенных ЖК в печени мышей. Эти данные получены впервые.

Прием ЭМ орегано оказывал значительное влияние на соотношение ЖК в мозге здоровых мышей (Таблица 3). В мозге интактных старых мышей содержание насыщенных ЖК было в 1,17 раза меньше, чем в мозге молодых, полиненасыщенных ЖК меньше в 1,1 раза, и существенно, в 1,4 раза, было больше содержание мононенасыщенных ЖК. Прием ЭМ орегано еще больше снижал долю насыщенных кислот – в 1,5 раза в возрасте 25 месяцев по сравнению с 2-месячными животными. Более важный вклад в свойства и функции клеток мозга оказывают моно- и полиненасыщенные ЖК. Эти ЖК являются основными составляющими фосфолипидов, которые формируют биологические мембраны клеток мозга. Сохранение высоким уровня полиненасыщенных ЖК крайне важно для мозга и всей нервной системы, так как эти кислоты обеспечивают поддержание электрофизиологических функций мозга, функций обучения, памяти, поведения. Процесс старения мышей сопровождался снижением доли полиненасыщенных кислот в их мозге. Постоянный прием в течение всей жизни эфирного масла орегано в обеих дозах увеличивал содержание ПНЖК в мозге мышей в 1,3 раза по сравнению с возрастным контролем. При этом увеличивался уровень линолевой, эйкозодиеновой, эйкозатриеновой и арахидоновой кислот, а также важнейшей для осуществления когнитивных функций мозга докозагексаеновой кислоты в случае приема обеих доз ЭМ.

Следовательно, систематический прием ЭМ орегано на протяжении жизни значительно улучшал ЖК состав мозга стареющих мышей, уменьшая количество насыщенных ЖК и обогащая его полезными полиненасыщенными ЖК, уровень которых в процессе старения снижался. Полученные нами данные по изменению содержания ЖК в мозге мышей в течение длительного промежутка времени, а именно, от рождения до глубокой старости, получены впервые.

Таблица 3. Жирнокислотный состав мозга мышей Balb/c при приеме ЭМ орегано

ЖК	группа	Содержание ЖК, % отн.				
		2 мес	5 мес	9 мес	16 мес	25 мес
Σ НЖК	К	47,6±1,5	44,6±3,0	41,7±2,0	40,5±1,8	40,2±2,0
	МД	—	44,9±2,0	42,3±2,0	40,1±1,8	32,7±1,4
	БД	—	40,8±1,8	41,8±2,0	38,0±1,6	39,0±1,6
ΣМНЖК	К	22,7±1,4	24,5±1,3	27,7±1,8	32,2±2,3	31,86±2,4
	МД	—	22,9±1,2	27,7±1,7	29,7±1,3	29,16±1,8
	БД	—	26,5±1,9	28,0±1,3	36,3±1,5	26,9±1,7
Σ ПНЖК	К	29,2±1,6	32,97±2,1	30,10±2,3	26,41±1,4	27,1±1,6
	МД	—	31,8±2,2	29,6±1,9	29,6±1,8	35,0±2,4
	БД	—	32,2±2,1	29,5±1,8	24,7±1,5	33,1±2,3

Влияние ЭМ орегано на прививаемость и развитие карциномы Льюис у мышей гибридов F1 DBA×C57 Власк

Противораковое действие ЭМ орегано изучали на мышьях-гибридах F1 DBA×C57 Власк, которым перевивали опухолевые клетки карциномы Льюис [27]. Мыши получали с питьевой водой ЭМ орегано (0,15 мкг/мл) в течение 3 месяцев до перевивания опухоли. Затем животным перевивали опухолевые клетки в двух концентрациях и регистрировали кинетику роста опухоли в контрольной и опытной группах. Полученные данные были использованы для построения графиков роста опухоли с увеличением времени (Рисунок 4). Эти графики были аппроксимированы уравнением линейной регрессии вида: $y = B + Ax$, где y – средний размер опухоли, A и B – коэффициенты линейной регрессии, x – время.

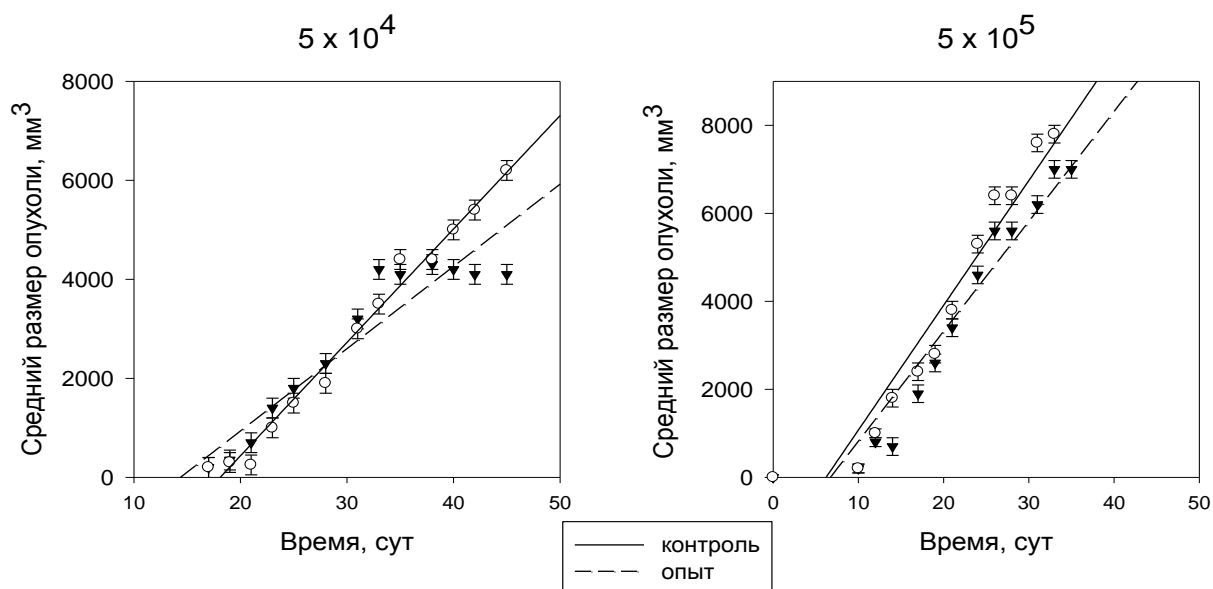


Рисунок 4. Кривые роста опухоли карцинома Льюис у мышьях-гибридов DBA×C57 Власк в контроле и при употреблении ЭМ орегано. Концентрация клеток в инокуляте: слева – 5×10^4 , справа – 5×10^5 . Данные аппроксимированы уравнением линейной регрессии ($p < 0,0001$).

Обнаружено, что даже 3-месячный прием ЭМ орегано в малых дозах оказывал значительное противораковое действие в изученной модели перевиваемой карциномы Льюис. Как видно из Рисунка 4, в опыте с большей концентрацией клеток в инокуляте (5×10^5 кл./мл) все животные погибли за 32-34 дня после перевивания опухоли. Степень прививаемости карциномы Льюис была одинаковой в обеих группах, но в опытной группе максимальный размер опухоли был на 10% меньше по сравнению с контролем, а скорость роста опухоли, которую оценивали по изменению коэффициента линейной регрессии А, в опыте была ниже, чем в контроле на 12% (Таблица 4). В группах мышей, которым перевивали опухолевые клетки в концентрации 5×10^4 кл./мл, различия оказались более значимыми: мыши жили с опухолью около 45 дней, степень прививаемости опухоли в контрольной группе составила 52%, а в опытной она была меньше в 1,8 раза и составила только 29% (Таблица 4). Кроме того, при этой концентрации клеток опухоль монотонно увеличивалась в размере до 50 дней в контрольной группе мышей, но в опытной группе она достигала максимального размера к 30 дням и более не увеличивалась вплоть до 60 дней. (Рисунок 4). В среднем ее максимальный размер был на 30% меньше у мышей опытной группы по сравнению с контролем, а скорость роста снизилась на 28% (Таблица 4).

Таблица 4. Влияние эфирного масла орегано на степень прививаемости карциномы Льюис, максимальный размер и скорость роста опухоли

Концентрация клеток карциномы Льюис, кл./мл	Степень прививаемости, %	Макс. размер опухоли, мм ³	Скорость роста опухоли (коэффициент А)	
5×10^5	Контроль (вода)	100	7800 ± 200	$283,5 \pm 25,9$
	Опыт	100	7100 ± 200	$249,9 \pm 21,7$
5×10^4	Контроль (вода)	52	6000 ± 200	$229,1 \pm 8,8$
	Опыт	29	4100 ± 200	$166,2 \pm 18,0$

Аналогичное противораковое действие было обнаружено для карвакрола. Краткосрочное употребление 2-месячными мышами растительного масла с добавлением карвакрола в дозе 100 мг/кг/сут уменьшало размеры опухолей после подкожного введения клеток мастоцитомы Р-815, а также увеличивало выживаемость животных [28]. Вероятно, противоопухолевое действие эфирного масла орегано обусловлено наличием у него установленного нами биоантиоксидантного действия.

Влияние ЭМ орегано на содержание ТБК-АП в печени и мозге приведены на Рисунке 5. Видно, что после 3-месячного употребления ЭМ орегано содержание ТБК-АП в печени мышей опытной группы снижалось на 35% по сравнению с контролем, тогда как в мозге изменения этого параметра находились в пределах ошибки опыта.

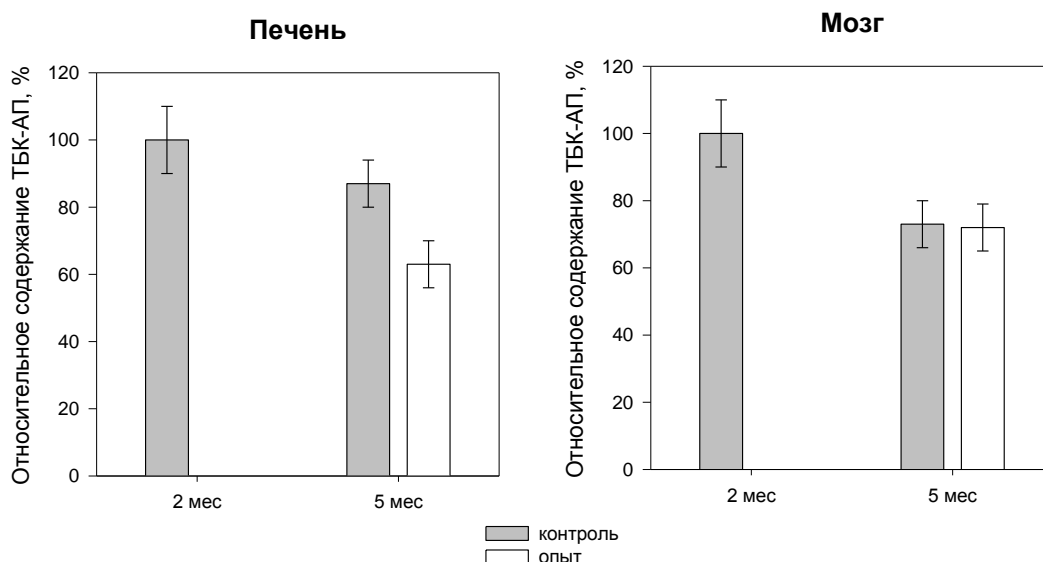


Рисунок 5. Относительное содержание ТБК-АП в липидах печени и мозга мышей-гибридов F1 DBA×C57 Black при приеме ЭМ орегано

Одной из причин такого снижения уровня ПОЛ в печени может быть увеличение активности антиоксидантных ферментов в печени мышей, принимавших ЭМ орегано (Таблица 5). Показано, что через 3 месяца после приема масла активности практически всех ферментов были выше по сравнению с контролем. Известно, что карвакрол является основным компонентом ЭМ орегано, и, будучи фенольным соединением, обладает мощным антиоксидантным действием. Поскольку обменные процессы в печени идут намного быстрее, чем в мозге, компоненты эфирного масла, такие как карвакрол и тимол, попадая в печень, влияют на активность антиоксидантных ферментов и участвуют в свободнорадикальных реакциях. Наши исследования доказали, что трехмесячный прием малых доз эфирного масла орегано, обладающего антиоксидантными свойствами, проявлял профилактическое действие в отношении карциномы Льюис, снижая степень прививаемости и уменьшая скорость роста и размер опухоли.

Таблица 5. Активность антиоксидантных ферментов в цитозоле и митохондриях печени мышей-гибридов F1 DBA×C57 Black контрольной и опытной групп в возрасте 5 мес

Фермент	Отношение активности, опыт/контроль	
	цитозоль	митохондрии
СОД	1,01	1,50
ГП	1,26	1,18
ГТ	2,67	1,82

Влияние ЭМ чабера на организм мышей высококорактовой линии АКР

Нами изучено действие ЭМ чабера на развитие опухолевого процесса у мышей со спонтанным лейкозом линии АКР [29]. Для животных этой линии

характерно возникновение спонтанного лейкоза в 65-100% случаев в возрасте 6-11 месяцев. Известно, что именно спонтанные лейкозы мышей по происхождению и клиническим проявлениям, по сходству патологических и морфологических особенностей течения являются наиболее близкими к лейкозам человека [30]. Мыши AKR в опытной группе на протяжении всей жизни получали ЭМ чабера в концентрации 0,15 мкг/мл с питьевой водой. Данные по продолжительности жизни мышей в контроле и опыте использовали для построения кривых смертности.

На Рисунке 6 приведены участки кривых смертности, где наблюдалась массовая гибель животных от лейкоза, аппроксимированные уравнением линейной регрессии. Видно, что ЭМ чабера при длительном приеме в течение всей жизни мышей оказывало заметное противолейкозное действие: кривая смертности мышей опытной группы значительно сдвинута вправо по сравнению с контролем (Рисунок 6). Параметры, рассчитанные из уравнений для опытной и контрольной группы, приведены в Таблице 6. Видно, что у мышей, принимавших ЭМ чабера, СПЖ была на 26%, а максимальная продолжительность жизни – на 12% выше, чем в контрольной группе. Кроме того, регулярное употребление ЭМ чабера увеличивало на 82 дня латентный период лейкоза, оказывая профилактическое действие в отношении данного заболевания.

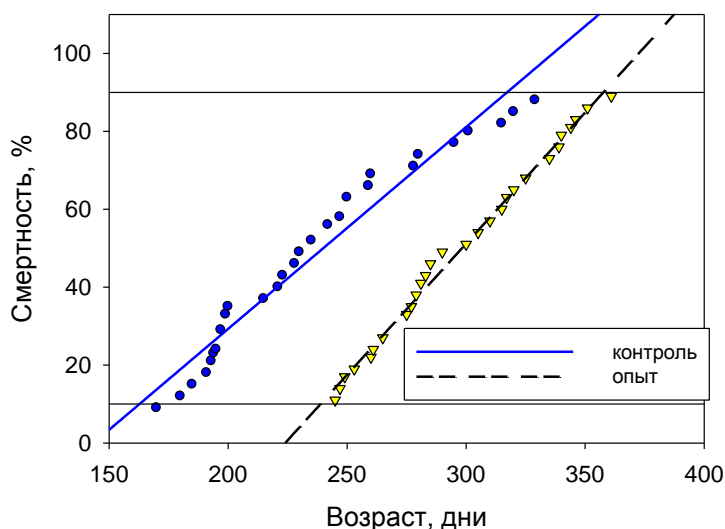


Рисунок 6. Участки кривых смертности мышей AKR в контроле и при употреблении эфирного масла чабера. Аппроксимацию проводили с использованием уравнений линейной регрессии: $y_{(контроль)} = 0,52x - 74,3$, $y_{(опыт)} = 0,67x - 150,8$ ($P < 0,0001$).

Скорость гибели мышей, определяемая по величине коэффициента регрессии А, в опытной группе была на 29% выше, чем в контрольной. Ускорение развития опухолевых

процессов на более поздних стадиях при употреблении антиоксидантов отмечалось и другими авторами [31]. Динамика развития лейкозного процесса нами не изучалась, поэтому вполне вероятно, что отмена ЭМ чабера на стадии прогрессирования опухолевого роста могла бы способствовать снижению скорости гибели и еще большему увеличению максимального срока жизни мышей AKR в опытной группе. Таким образом, в опытах *in vivo* впервые установлено наличие противоопухолевой активности эфирного масла чабера.

Таблица 6. Математическая обработка кривых смертности мышей АКР в контроле и при употреблении эфирного масла чабера (опыт).

Параметры	Контроль	Опыт
Скорость гибели (коэффициент регрессии А)	0,52 ± 0,02	0,67 ± 0,01
Средняя продолжительность жизни, дни	239	300
Максимальная продолжительность жизни, дни	335	374
Латентный период, дни	143	225

ЭМ чабера влияло на состав ЖК в печени лейкозных мышей [18]. У опытных животных по сравнению с возрастным контролем снижалось суммарное содержание МНЖК и увеличивался синтез ПНЖК (Таблица 7).

Таблица 7. Жирнокислотный состав печени мышей АКР в возрасте 6 мес

ЖК	Содержание ЖК, %	
	Контроль	Опыт
Σ НЖК	36,7 ± 2,6	36,2 ± 2,5
Σ МНЖК	18,5 ± 1,3	13,0 ± 0,9
Σ ПНЖК	44,0 ± 3,0	50,4 ± 3,5

Исследование физико-химических характеристик эритроцитов мышей АКР (Рисунок 7) показало, что с увеличением возраста содержание ТБК-АП в эритроцитах контрольных мышей монотонно увеличивалось, возможно, из-за развития лейкозного процесса. Прием ЭМ в течение 1 и 3 месяцев снижал этот показатель. Обнаруженные различия в содержании жирных кислот в печени и мозге мышей и параметрах ПОЛ показали, что употребление ЭМ чабера снижало уровень отклонений этих характеристик от нормальных значений и стабилизировало биохимические показатели.

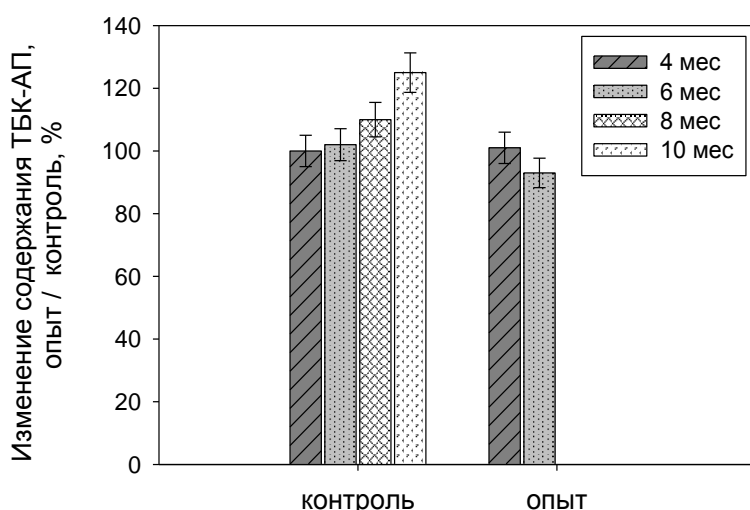


Рисунок 7. Влияние приема ЭМ чабера на содержание ТБК-АП в эритроцитах мышей линии АКР

Таким образом, в диссертационной работе впервые получены новые данные о влиянии систематического приема малых доз эфирных масел, обладающих

антиоксидантными свойствами в модельных системах, на физиологические и биохимические характеристики организма мышей от рождения до старости, в норме и при патологии. Эфирные масла орегано и чабера влияли на окислительные

процессы в организме мышей, увеличивали активность антиоксидантных ферментов в печени, повышали антиоксидантный статус организма, благотворно влияли на соотношение жирных кислот в липидах клеток органов.

В работе впервые в экспериментах *in vivo* установлено, что ЭМ орегано обладало геропротекторным действием, его систематический прием в малых дозах на протяжении всей жизни здоровыми мышами линии Balb/c на 17% увеличивал среднюю продолжительность жизни животных. Это свойство ЭМ защищено патентом РФ.

Важнейшим результатом проведенной работы является найденная в опытах *in vivo* противоопухолевая активность эфирных масел. ЭМ чабера снижало частоту лейкозов у мышей высокорасовой линии AKR, увеличивало среднюю продолжительность их жизни на 26% и латентный период лейкоза. У мышей-гибридов F1 DBA×C57Black ЭМ орегано снижало степень прививаемости, скорость роста и максимальные размеры солидной опухоли карциномы Льюис. Вероятно, действие ЭМ основано на их способности нейтрализовать свободные радикалы, а также влиять на пути передачи клеточных сигналов. Как известно, биоантиоксиданты способны нормализовать регуляцию клеточного цикла, предотвращать распространение опухоли и ангиогенез, стимулировать активность ферментов детоксификации ксенобиотиков и, таким образом, препятствовать канцерогенезу [32]. Экстраполируя полученные данные о влиянии систематического приема малых доз эфирных масел с биоантиоксидантным действием на людей, можно предположить, что найденные эффекты лежат в основе механизма ароматерапевтического действия эфирных масел. Результаты исследований в этом направлении могут существенно повысить уровень и качество жизни людей, увеличить ее продолжительность, уменьшить риски возникновения заболеваний, связанных со старением организма.

Полученные в работе результаты свидетельствуют о том, что оба ЭМ являются перспективными натуральными профилактическими геропротекторными и противоопухолевыми средствами, и их систематический прием в малых дозах можно рекомендовать для профилактики различных заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Впервые в экспериментах *in vivo* установлено, что систематический прием эфирного масла орегано в малых дозах на протяжении всей жизни здоровыми мышами линии Balb/c оказывал геропротекторное действие: увеличивалась средняя и максимальная продолжительность жизни, увеличивался латентный период и снижалась скорость гибели животных от старости. Найдено отсутствие токсического действия эфирного масла на организм мышей при длительном и регулярном приеме.
2. Найдено, что эфирное масло орегано в опытах *in vivo* проявляло биоантиоксидантные свойства при его приеме на протяжении всей жизни. Эфирное

масло приводило к снижению содержания продуктов ПОЛ и к модуляции активности ферментов антиоксидантной защиты в печени мышей.

3. Обнаружено, что систематический прием малых доз масла орегано на протяжении всей жизни животных стабилизировал состав жирных кислот мозга, сохраняя на высоком уровне долю полиненасыщенных жирных кислот и увеличивая содержание важной для когнитивных функций докозагексаеновой кислоты в мозге стареющих мышей линии Balb/c.

4. Установлено, что эфирное масло орегано обладало противоопухолевой активностью, его прием существенно снижал степень прививаемости и максимальный размер опухоли карцинома Льюис у мышей-гибридов F1 DBA× C57 Black.

5. Выявлено, что эфирное масло чабера, близкое по составу к маслу орегано, обладало противораковым действием в экспериментах на мышах со спонтанным лейкозом линии AKR. Его систематический прием на протяжении всей жизни уменьшал частоту возникновения лейкоза, увеличивал латентный период заболевания и продолжительность жизни мышей AKR. Найдено, что ЭМ чабера обладало свойствами биоантиоксиданта, снижало содержание продуктов ПОЛ в крови и печени мышей AKR.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Бурлакова Е.Б. Влияние летучих антиоксидантов растительного происхождения на развитие спонтанного лейкоза у мышей / Е.Б. Бурлакова, В.Н. Ерохин, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, А.В. Кременцова, В.А. Семенов, М.Б. Теренина, **А.К. Воробьева**, А.Н. Голощапов // Известия РАН. Сер. биол. – 2010. – Т.37. – № 6. – С.711–718.
2. Бурлакова Е.Б. Изменения в составе жирных кислот мозга и печени мышей с увеличением возраста и при приеме эфирного масла чабера / Е.Б. Бурлакова, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова, В.Н. Ерохин, **А.К. Воробьева** // Доклады РАН. – 2011. – Т.437. – № 3. – С. 409–412.
3. Мишарина Т.А. Изменения в составе жирных кислот мозга и печени с увеличением возраста мышей высококорактовой линии AKR и влияние приема эфирного масла чабера на лейкозный процесс / Т.А. Мишарина, Е.Б. Бурлакова, Л.Д. Фаткуллина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова, **А.К. Воробьева**, В.Н. Ерохин, А.Н. Голощапов // Биомедицинская химия. – 2011. – Т.57. – № 6. – С.604–614.
4. Пат. 2475258 Российская Федерация, МПК А 61 К 36/53, А 61 Р 43/00. Профилактическое средство, способствующее увеличению продолжительности жизни (варианты) / Е.Б. Бурлакова, С.Д. Варфоломеев, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, **А.К. Воробьева**, Е.С. Алинкина, А.Н. Голощапов ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение

науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН. – № 2011145158/15 ; заявл. 09.11.2011 ; опубл. 20.02..2013, Бюл. №5.

5. Бурлакова Е.Б. Торможение процессов старения мышечной ткани при приеме композиции эфирных масел / Е.Б. Бурлакова, Т.А. Мишарина, **А.К. Воробьева**, Е.С. Алинкина, Л.Д. Фаткуллина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова // Доклады РАН. – 2012. – Т.444. –№ 6. – С.676–679.
6. Мишарина Т.А. Влияние эфирного масла орегано на прививаемость и развитие карциномы Льюис у мышечных гибридов F1 DBA C57 Black / Т.А. Мишарина, Е.Б. Бурлакова, Л.Д. Фаткуллина, Е.С. Алинкина, **А.К. Воробьева**, И.Б. Медведева, В.Н. Ерохин, В.А. Семенов, Л.Г. Наглер, А.И. Козаченко // Прикладная биохимия и микробиология. –2013. – Т.49. – № 4. – С.423–428.
7. Алинкина Е.С. Цитогеронтологические исследования биологической активности эфирного масла орегано / Е.С. Алинкина, **А.К. Воробьева**, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, Е.Б. Бурлакова, А.Н. Хохлов // Вестник МГУ. Сер. 16. Биология. – 2012. – № 2. – С.13–18.

Другие издания:

1. **Воробьева А.К.** Влияние длительного употребления эфирных масел на состав жирных кислот в органах мышечной ткани / А.К. Воробьева, Е.С. Алинкина, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова, Е.Б. Бурлакова. // Труды 10 ежегодной молодежной конференции ИБХФ РАН - ВУЗы «Биохимическая физика». – М. – 2010. – С.41–45.
2. **Воробьева А.К.** Изменение показателей окислительного стресса у мышечной ткани со спонтанным лейкозом при действии эфирного масла чабера / А.К. Воробьева, Л.Д. Фаткуллина, Т.А. Мишарина, Е.Б. Бурлакова, М.Б. Теренина, А.Н. Голощапов // Материалы докладов Международной конференции «Генетика продолжительности жизни и старения». – Сыктывкар. –2010. – С.18–23.
3. **Воробьева А.К.** Действие эфирных масел на продолжительность жизни и антиоксидантный статус мышечной ткани / А.К. Воробьева, Е.С. Алинкина, Л.Д. Фаткуллина, Т.А. Мишарина, Е.Б. Бурлакова // «Биохимическая физика»: Труды XI Межд. мол. конференции ИБХФ РАН-ВУЗы. – М.: РУДН. –2012. – С.73–76.
4. Бурлакова Е.Б. Противораковое и профилактическое действие малых доз эфирных масел на мышечную ткань / Е.Б. Бурлакова, Т.А. Мишарина, **А.К. Воробьева**, Л.Д. Фаткуллина, Е.С. Алинкина // Материалы V Всероссийской конференции с межд. участием «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». – Барнаул: АГУ. – 2012. – С. 324–326.
5. **Vorobyova A.K.** Effect of long-term administration of essential oils on the fatty acid composition of mice organs / A.K. Vorobyova, E.S. Alinkina, T.A. Misharina, L.D. Fatkullina, M.B. Terenina, N.I. Krikunova, E.B. Burlakova // In: Modern Problems in Biochemical Physics: New Horizont. – Ed.: G. E. Zaikov, S. D. Varfolomeev, E.B. Burlakova and A. A. Popov. – Nova Science Publ., Inc. New York. – 2012. – Ch.31. – P.247–253.

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В ТЕКСТЕ

АО – антиоксидант

ГЖХ – газожидкостная хроматография

ГП – глутатион-пероксидаза

ГТ – глутатион-S-трансфераза

ДГК – докозагексаеновая кислота

ДМСИ – Дюльбекко модифицированная среда Игла – питательная среда для культивирования клеток

ЖК – жирная кислота

МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты

НЖК – насыщенные жирные кислоты

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СОД – супероксиддисмутаза

ПЖ – продолжительность жизни

ТБК-АП – активные продукты окисления, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой

ЭМ – эфирное масло

ЭПР – электронный парамагнитный резонанс

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Эмануэль, Н.М. Торможение процессов окисления жиров / Н.М. Эмануэль, Ю.Н. Лясковская. – М: Пищепромиздат, 1961. – 358 с.
2. Бурлакова, Е.Б. Антирадикальная активность и радиозащитные свойства ингибиторов свободнорадикальных реакций / Е.Б. Бурлакова, В.Д. Гаинцева, Л.В. Слепухина и др. // Докл. АН СССР. –1965. – №. 155. – С. 1398-1400.
3. Бурлакова, Е.Б. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте / Е.Б. Бурлакова, А.В. Алесенко, Е.М. Молочкина и др. – М: Наука, 1975. – 214 с.
4. Бурлакова, Е.Б. Антиоксиданты в химиотерапии опухолей / Е.Б. Бурлакова, Н.П. Пальмина // Вопросы онкологии. – 1990. – Т. 36, № 10. – С. 1155–1162.
5. Франкфурт, О.С. Влияние 4-метил-2,6-дитретбутилфенола (инола) на индукцию опухолей печени у крыс / О.С. Франкфурт, Л.П. Липчина, Г.В. Бунта и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1967. Т. 64, № 8. – С. 86–88.
6. Mates, J.M. Antioxidant enzymes and human diseases / J.M. Mates, C. Perez-Gomez, I.N. De Castro // Clin. Biochem. – 1999. – Vol. 32, № 8. – P. 595–603.
7. Emanuel, N.M. Types of experimental delay in aging patterns / N.M. Emanuel, L.K. Obukhova // Exp. Gerontol. –1978. – Vol. 13, № 1–2. –P. 25–29.
8. Edris, A.E. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review / A.E. Edris // Phytotherapy Res. – 2007. – Vol. 21, № 4. – P. 308–323.

9. Baser, K.H.C. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils / K.H.C. Baser // *Curr. Pharmacol. Des.* – 2008. – Vol. 14, № 29. – P. 3106–3119.
10. Ruberto, G. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems / G. Ruberto, M.T. Baratta // *Food Chem.* – 2000. – Vol. 69, № 2. – P. 167–174.
11. Мишарина, Т.А. Антиоксидантные свойства эфирных масел / Т.А. Мишарина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 2009. – Т. 45, № 6. – С. 642–647.
12. Банкова, В. В. Роль малонового диальдегида в регуляции перекисного окисления липидов в норме и патологии: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Банкова Валентина Васильевна. – М., 1990. – 38 с.
13. Valenzuela, A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. / A. Valenzuela // *Life Sci.* – 1991. – Vol. 48, №4 – P. 301–309.
14. Mihara, M. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency / M. Mihara, M. Uchiyama, K. Fukuzawa // *Biochem. Med.* – 1980. – Vol. 23, № 3. – P. 302–311.
15. Fridovich, I. Superoxide Dismutases / I. Fridovich // *Ann. Rev. Biochem.* – 1975. – Vol. 44, № 1. – P. 147–159.
16. Мальцев, Г.Ю. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г.Ю. Мальцев, Н.В. Тышко // *Гигиена и санитария.* – 2002. № 2. – С. 69–72.
17. Habig, W.H. Glutathione s-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation / W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jakoby // *J. Biol. Chem.* – 1974. – Vol. 249, № 22. – P. 7130–7139.
18. Мишарина, Т.А. Изменения в составе жирных кислот мозга и печени с увеличением возраста мышей высококорактовой линии АКР и влияние приема эфирного масла чабера на лейкозный процесс / Т.А. Мишарина, Е.Б. Бурлакова, Л.Д. Фаткуллина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова, А.К. Воробьева, В.Н. Ерохин, А.Н. Голощапов // *Биомедицинская химия.* – 2011. – Т.57, № 6. – С.604–614.
19. Алинкина, Е.С. Цитогеронтологические исследования биологической активности эфирного масла орегано / Е.С. Алинкина, А.К. Воробьева, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, Е.Б. Бурлакова, А.Н. Хохлов // *Вестник МГУ. Сер. 16. Биология.* – 2012. – № 2. – С.13–18.
20. Khokhlov A.N. The cell kinetics model for determination of organism biological age and for geroprotectors or geropromoters studies / A.N. Khokhlov // *Biomarkers of aging: expression and regulation. Proceeding* / Ed. by F. Licastro and C. M. Caldarera. – CLUEB Bologna, – 1992. – P. 209–216.

21. Профилактическое средство, способствующее увеличению продолжительности жизни: пат 2475258 Рос. Федерация. №2011145158/15; заявл. 09.11.2011; опубл. 20.02.2013, Бюл. №5.
22. Алинкина, Е.С. Антиоксидантные и антирадикальные свойства эфирных масел *in vivo* и *in vitro*: 03.01.02. / дисс. ...канд. биол. наук: Алинкина Екатерина Сергеевна – М., 2013. – 148 с.
23. Меньщикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфакин. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
24. Youdim, K.A. Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain / K.A. Youdim, S.G. Deans // Br. J. Nutr. – 2000. – Vol. 83, № 1. – P. 87–93.
25. Lam, L.K. Inhibition of benzo[a]pyrene-induced forestomach neoplasia in mice by citrus limonoids / L.K. Lam, S. Hasegawa // Nutr. Cancer. – 1989. – Vol. 12, № 1. – P. 43–47.
26. Бурлакова, Е.Б. Торможение процессов старения мышей при приеме композиции эфирных масел / Е.Б. Бурлакова, Т.А. Мишарина, А.К. Воробьева, Е.С. Алинкина, Л.Д. Фаткуллина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова // Доклады РАН. – 2012. – Т.444, № 6. – С.676–679.
27. Мишарина, Т.А. Влияние эфирного масла орегано на прививаемость и развитие карциномы Льюис у мышей-гибридов F1 DBA C57 Black / Т.А. Мишарина, Е.Б. Бурлакова, Л.Д. Фаткуллина, Е.С. Алинкина, А.К. Воробьева, И.Б. Медведева, В.Н. Ерохин, В.А. Семенов, Л.Г. Наглер, А.И. Козаченко // Прикладная биохимия и микробиология. –2013. – Т.49, № 4. – С.423–428.
28. Jaafari, A. Differential antitumor effect of essential oils and their major components of *Thymus broussonetii*: relationship to cell cycle and apoptosis induction / A. Jaafari, H.A. Mouse, L.A. MBark et al. // Herba Polonica. – 2009. – Vol. 55, № 2. – P. 36–50.
29. Бурлакова, Е.Б. Влияние летучих антиоксидантов растительного происхождения на развитие спонтанного лейкоза у мышей / Е.Б. Бурлакова, В.Н. Ерохин, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, А.В. Кременцова, В.А. Семенов, М.Б. Теренина, А.К. Воробьева, А.Н. Голощапов // Известия РАН. Сер. биол. – 2010. – Т.37, № 6. – С.711–718.
30. Бландова, З.К. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований / З.К. Бландова, В.А. Душкин, А.М. Милашенко и др. – М: Наука, 1983. – 192 с.
31. Hercberg, S. The history of β -carotene and cancers: from observational to intervention studies. What lessons can be drawn for future research on polyphenols? / S. Hercberg // Am. J. Clin. Nutr. – 2005. – Vol. 81, № 1. – P. 218S–222S.
32. Копнин, Б.П. Неопластическая клетка: основные свойства и механизмы их возникновения / Б.П. Копнин // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 229-235 .