

ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА МЫШЕЙ

Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, А.К. Воробьёва, Е.С. Алинкина. Е.Б. Бурлакова

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
119334, Москва, ул. Косыгина, 4; E-mail: tmish@rambler.ru

Пряно-ароматические растения очень давно и активно используются людьми в качестве вкусо-ароматических добавок в пищу. Тысячелетняя практика применения пряно-ароматических и лекарственных растений показала, что многие из них обладают терапевтическим действием, на основе знаний о таких свойствах создана область фармакологии – фитотерапия. Препараты для фитотерапии – это водные, спиртовые или масляные экстракты, которые содержат биологически активные компоненты из растений, такие как флавоноиды, алкалоиды, антоцианы, каротиноиды, витамины и др. В последние годы становится все более популярной ароматерапия, основанная на применении только летучих веществ пряно-ароматических растений, которые называют эфирными маслами. Несмотря на большое число руководств и описаний приемов ароматерапии все знания носят эмпирический характер. Экспериментальные доказательства реальной эффективности ароматерапии, а также изучение влияния эфирных масел на биохимические и физиологические показатели людей или животных практически отсутствуют.

С целью изучения биологической активности эфирных масел *in vivo* в ИБХФ РАН проведены трехлетние исследования влияния длительного приема малых доз эфирного масла орегано на продолжительность жизни, биохимические и физиологические показатели здоровых мышей.

Контрольная группа мышей линии Balb (70 мышей) получала чистую питьевую воду, опытная группа (70 мышей) – воду с добавлением эфирного масла орегано в концентрации 0.15 мкг /мл. Биохимические характеристики мышей определяли в возрасте 1, 4, 7, 14 и 24 месяцев. Наблюдение проводили в течение всей жизни подопытных животных, начиная с 1-месячного возраста, вплоть до естественной гибели, сроки которой регистрировали для каждой мыши во всех группах, и по полученным данным построили кривые выживаемости, характеризующие зависимость доли доживших мышей от возраста. Из данных по выживаемости определили показатель средней продолжительности жизни (среднее из суммы продолжительности жизни всех мышей в каждой группе), позволяющий количественно оценить влияние приема эфирного масла на продолжительность жизни подопытных животных. Средняя продолжительность жизни мышей в контрольной группе составила 710 дней, в опытной – на 120 дней больше. Таким образом, впервые достоверно установлено, что регулярный длительный прием малых доз с питьевой водой эфирного масла орегано увеличил среднюю продолжительность жизни здоровых мышей, то есть эфирное масло проявило свойства эффективного геропротектора.

На рисунке 1 приведены кривые выживаемости мышей контрольной и опытной групп. Видно, что мыши опытной группы позже вступали в период массовой гибели, скорость их гибели от старости была меньше, чем в контрольной группе. Мыши, принимавшие масло в течение жизни, не болели и имели нормальную массу тела. Мы считаем, что активными компонентами с геропротекторным действием в составе масла являются фенолы – тимол и карвакрол, поэтому можно предположить, что все масла, содержащие эти соединения или композиции эфирных масел на основе карвакрол- и тимолсодержащих масел, будут увеличивать продолжительность жизни при их систематическом приеме в течение жизни [1,2].

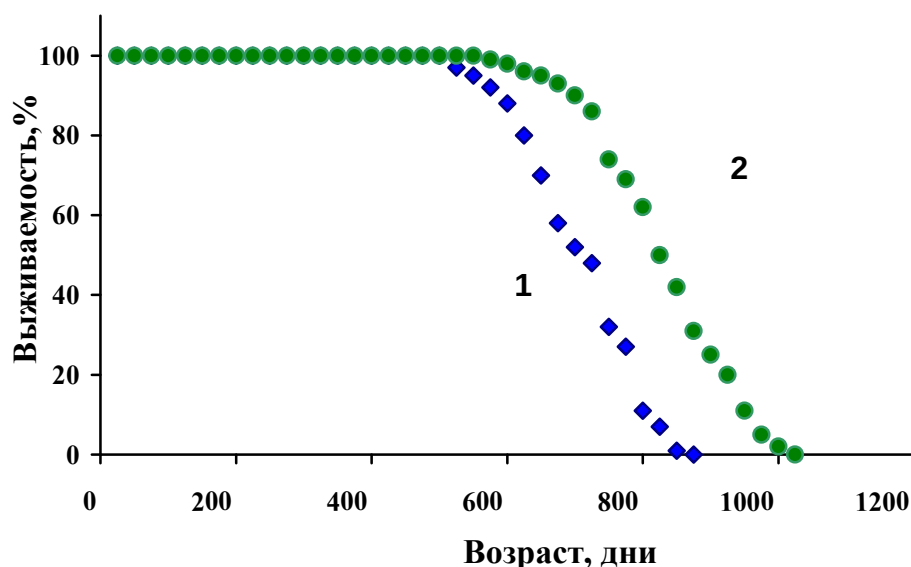


Рис.1 Влияние приема малых доз эфирного масла орегано на продолжительность жизни мышей линии Balb: 1- контрольная группа, 2 – опытная группа

Профилактическое действие эфирных масел может быть обусловлено наличием обнаруженного нами влияния малых доз эфирных масел на активность антиоксидантных и защитных ферментов печени [3]. Так, при приеме эфирного масла орегано мышами в течение жизни наблюдали устойчивую индукцию активности глутатионпероксидазы в цитозоле и в митохондриях печени, незначительное увеличение активности супероксиддисмутазы, в также увеличение активности глутатионтрансферазы (ГТ). Считается, что индукция детоксифицирующих ферментов, в том числе ГТ, при приеме растительных препаратов коррелирует с их противораковой активностью, то есть эфирное масло можно рассматривать в качестве потенциального ингибитора опухолевых процессов. Полученные данные показали, что в отсутствие экзогенного окислительного стресса эфирное масло оказывало позитивное влияние на антиоксидантный статус и формировало устойчивость к окислительному стрессу. Таким образом, прием эфирного масла орегано приводил к модуляции ферментативной защитной системы и индукции защитных ферментов.

Было установлено, что хроническое употребление эфирного масла орегано в малых дозах не влияло на массу тела, размеры иммунокомпетентных органов, количество лейкоцитов и гематологические показатели на протяжении всего времени эксперимента [4,5]. С увеличением возраста степень гемолиза эритроцитов снижалась в контрольной и опытных группах мышей, но в опытных группах она была меньше по сравнению с возрастным контролем на 35-40% (табл. 1). Содержание ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида) во всех органах мышей снижалось до возраста 7 мес, затем возрастало с увеличением возраста мышей. Прием эфирного масла снижал эти показатели на 24% в эритроцитах, на 18% в печени и на 20% в мозге мышей в возрасте 24 мес по сравнению с контролем. Изучение микровязкости различных областей клеточной мембраны дает возможность оценить качественные изменения в структуре мембран, не прибегая к их дезинтеграции и не нарушая естественной упаковки. Микровязкость липидных мембран оценивали методом ЭПР-спектроскопии с использованием 2-х включенных в мембрану парамагнитных спиновых зондов, которые различаются по своим гидрофобным свойствам: зонд 1 локализуется преимущественно в поверхностном слое липидной мембраны на расстоянии 2–4 Å, а зонд 2 – в глуболежащей зоне липидов на расстоянии 6–8 Å от поверхности мембраны. Определяли время вращательной корреляции зондов τ_c , которое представляет собой время переориентации зондов на угол $\sim \pi/2$ и характеризует микровязкость липидов в

мембране. Обнаружено, что микровязкость в обоих слоях липидов мембран эритроцитов незначительно изменялась с увеличением возраста мышей и при приеме эфирного масла.

Таким образом, длительный прием эфирного масла орегано снижал уровень перекисного окисления липидов в печени, мозге и эритроцитах стареющих мышей, но не оказывал существенного влияния на микровязкость мембран эритроцитов.

Табл. 1. Влияние эфирного масла орегано на параметры окислительного стресса в эритроцитах мышей линии BALB

Группа мышей и возраст	Степень гемолиза, %	Содержание ТБК-АП ПОЛ, нМ/л	Микровязкость мембран, $\tau_c 10^{-10}$ сек	
			Зонд 1	Зонд 2
Контроль, 1 мес	26,7 ± 2,2	87,9 ± 0,3	0,28 ± 0,02	1,33 ± 0,12
Контроль, 4 мес	30,6 ± 3,4	69,3 ± 0,3	0,38 ± 0,03	1,28 ± 0,13
Опыт, 4 мес	27,5 ± 2,2	67,3 ± 0,3	0,21 ± 0,01	0,92 ± 0,08
Контроль, 7 мес	17,1 ± 2,0	37,1 ± 0,5	0,20 ± 0,03	1,13 ± 0,12
Опыт, 7 мес	23,6 ± 1,8	41,2 ± 0,2	0,19 ± 0,04	1,22 ± 0,11
Контроль, 14 мес	9,6 ± 1,2	76,8 ± 0,5	0,26 ± 0,02	1,20 ± 0,10
Опыт, 14 мес	6,8 ± 1,7	66,0 ± 0,6	0,26 ± 0,02	1,00 ± 0,12
Контроль, 24 мес	13,9 ± 1,8	96,2 ± 0,9	0,36 ± 0,02	1,10 ± 0,10
Опыт, 24 мес	7,8 ± 1,6	73,0 ± 0,8	0,38 ± 0,02	1,07 ± 0,12

С увеличением возраста состав жирных кислот (ЖК) в печени мышей варьировался в следующих физиологических пределах: уровень насыщенных жирных кислот монотонно снижался на 11%, мононенасыщенных колебался от -10% до +40%, полиненасыщенных – от -5% до +12% по сравнению с 1-месячными мышами. Прием эфирного масла с питьевой водой в течение 24 месяцев приводил к незначительным различиям (2-3%) в содержании всех жирных кислот в печени мышей. Это означает, что длительный прием эфирного масла орегано в малых дозах не только не проявлял токсического действия, но и не влиял на синтез и метаболизм полиненасыщенных жирных кислот в печени мышей. Эти данные получены впервые.

Табл. 2. Влияние возраста и приема эфирного масла орегано на состав жирных кислот в печени мышей линии Balb

Жирная кислота	Содержание ЖК в печени мышей контрольной группы, отн. %					Содержание ЖК в печени мышей опытной группы (24 мес), отн. %
	1 мес	4 мес	7 мес	14 мес	24 мес	
16:0	22,56	22,55	22,00	19,49	18,77	20,12
17:0	0,25	0,25	0,23	0,26	0,28	0,22
18:0	11,29	10,63	10,77	11,14	11,65	10,22
20:0	0,10	0,09	0,04	0,13	0,15	0,12
22:0	0,30	0,25	0,21	0,19	0,11	0,31
23:0	0,15	0,12	0,16	0,13	0,07	0,49
24:0	0,25	0,21	0,18	0,18	0,21	0,38
Σ	34,90	34,10	33,59	31,52	31,24	31,86
16:1ω9	0,32	0,35	0,35	0,42	0,35	0,34
16:1ω7	1,98	1,99	3,35	2,40	1,77	2,13
18:1ω9	16,42	16,64	21,85	21,41	17,96	20,34
18:1ω7	3,79	2,75	4,34	3,74	2,85	3,82
20:1ω9	0,40	0,35	0,41	0,41	0,56	0,70
20:1ω7	0,02	0,02	0,04	0,05	0,04	0,06
24:1ω9	0,59	0,35	0,37	0,33	0,38	0,81
Σ	23,52	22,45	30,71	28,76	23,91	28,20
18:2ω6,	14,49	19,36	14,45	17,25	15,47	13,10
20:2ω6	0,35	0,37	0,27	0,26	0,32	0,36

18:3 ω 6	0,15	0,28	0,18	0,28	0,17	0,16
20:3 ω 6	1,31	1,09	0,98	0,90	0,94	0,94
20:4 ω 6	15,75	12,99	13,05	13,86	15,54	15,00
22:4 ω 6	0,72	0,69	0,57	0,64	0,95	0,91
22:5 ω 3	0,40	0,44	0,60	0,33	0,58	0,52
22:5 ω 6	1,49	0,55	0,34	0,71	0,78	0,83
22:6 ω 3	6,91	7,72	5,28	5,40	8,59	7,99
Σ	41,47	43,49	35,70	39,63	43,34	39,81

Возраст и прием эфирного масла оказывали заметное влияние на соотношение жирных кислот в мозге мышей. С увеличением возраста в мозге стареющих животных в 1,1-1,2 раза снижалась доля насыщенных и полиненасыщенных ЖК и в 1.4 раза увеличивалась доля мононенасыщенных ЖК (табл. 3).

Известно, что жирные кислоты играют главную роль в формировании структуры клеточных мембран мозга. Соотношение насыщенных и ненасыщенных кислот в клеточных мембранах определяет их функциональные свойства, влияет на текучесть, объем и упаковку мембран, изменяет свойства липидной фазы, модифицирует белок-липидные взаимодействия в специфичных микродоменах. Важнейшей кислотой в мозге является докозагексаеновая кислота 22:6 ω 3. Дефицит кислот этого класса изменяет способность белков мембраны связывать лиганды, влияет на активность ферментов и рецепторов, распознавание антигенов, передачу сигналов, подвижность липидного бислоя, на функции мозга и нервной системы. Так, арахидоновая кислота регулирует активность эндогенных фосфолипаз в фосфолипидах мембран. Арахидоновая и докозагексаеновая кислоты активируют транскрипцию генов, отвечающих за липид-связанные белки, за сигнальные пути, за функции обучения, памяти, поведения. Дефицит полиненасыщенных жирных кислот может быть одной из причин развития старческих заболеваний мозга. Прием эфирного масла орегано к 24 мес снижал в 1,2-1,5 раза долю насыщенных и мононенасыщенных кислот, в это же время доля полиненасыщенных кислот увеличивалась (табл. 3) . Важно, что уровень важнейшей для работы мозга кислоты 22:6 ω 3 сохранялся на уровне 1-4 месячных мышей.

Табл. 3. Влияние возраста и приема эфирного масла орегано на состав жирных кислот мозга мышей линии Balb						
Жирная кислота	Содержание ЖК в мозге мышей контрольной группы, отн. %					Содержание ЖК в мозге мышей опытной группы (24 мес), отн. %
	1 мес	4 мес	7 мес	14 мес	24 мес	
16:0	22,94	20,45	17,73	17,12	16,95	17,12
18:0	22,72	22,48	21,21	20,22	20,54	19,00
20:0	0,60	0,47	0,59	0,75	0,45	0,49
22:0	0,52	0,50	0,77	0,94	0,90	0,80
24:0	0,79	0,72	1,37	1,47	1,40	1,62
Σ НЖК	47,57	44,62	41,67	40,50	40,24	39,03
16:1 ω 9	0,45	0,47	0,43	0,78	1,15	0,47
18:1 ω 9	14,42	15,41	15,70	17,86	17,65	14,58
18:1 ω 7	3,62	3,39	3,54	3,92	3,94	3,30
20:1 ω 9	1,64	2,53	2,62	3,52	2,99	2,07
20:1 ω 7	0,36	0,47	0,49	0,60	0,50	0,36
22:1 ω 9	0,17	0,16	0,25	0,25	0,45	0,22
22:1 ω 7	0,12	0,11	0,18	0,16	0,15	0,14
24:1 ω 9	2,00	1,93	4,50	5,14	5,03	5,74
ΣМНЖК	22,78	24,47	27,71	32,23	31,86	26,88
18:2 ω 6	0,52	1,68	0,50	0,78	0,75	0,66
20:2 ω 6	0,12	0,36	0,14	0,12	0,15	0,12
20:3 ω 6	0,36	0,36	0,32	0,22	0,20	0,27
20:4 ω 6	9,89	10,51	9,60	8,21	8,92	9,47
22:4 ω 6	2,84	3,00	3,5	3,95	3,79	3,83
22:6 ω 3	15,45	17,06	16,00	13,13	13,26	18,80
ΣПНЖК	29,18	32,97	30,10	26,41	27,07	33,15

Таким образом, систематический прием эфирного масла орегано значительно улучшал жирнокислотный состав мозга стареющих мышей, уменьшая количество насыщенных ЖК и обогащая его полезными полиненасыщенными ЖК, уровень которых в процессе старения снижался. Поиск средств, которые способны защитить мозг от возрастных изменений является актуальнейшей проблемой. С увеличением продолжительности жизни доля пожилых людей в популяции увеличивается, поэтому социальная значимость когнитивных способностей неуклонно растет.

Хорошо известно, что с возрастом у подавляющего большинства пожилых людей развивается стойкий выраженный когнитивный дефицит, который приводит к утрате трудоспособности и бытовой независимости, и определяется как мягкое когнитивное снижение (МКС). Этот синдром представляет собой состояние, переходное между снижением познавательных функций и памяти и начальной (доклинической) стадией болезни Альцгеймера (БА). Ранняя диагностика синдрома МКС и назначение соответствующих лекарственных средств может отсрочить наступление деменции или даже способствовать обратному развитию когнитивных расстройств, характерных для начальных этапов БА. В связи с этим полученные нами данные о влиянии приема малых доз эфирного масла орегано на соотношение насыщенных, моно- и полиненасыщенных жирных кислот являются важным доказательством геропротекторных свойств у эфирных масел. Это позволяет рассматривать эфирные масла как новый класс натуральных биологически активных соединений с профилактическим геропротекторным действием, способным существенно влиять на изменения, происходящие в мозге при старении.

PROTECTIVE EFFECT OF LOW DOSES OF ESSENTIAL OILS ON MICE

Misharina T.A., Fatkullina L.D., Vorobyova A.K., Alinkina E.S., Burlakova E.B.

Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow; **E-mail:** tmish@rambler.ru

Литература

1. Мишарина Т.А., Теренина М.Б., Крикунова Н.И. //Прикладная биохим. и микробиол. **2009**. Т. 45. № 6. С. 710-716.
2. Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н., Мишарина Т.А. и др. // Изв. РАН. Сер. Биол.. **2010**. № 6. С.612-618.
3. Козаченко А.И., Гуревич. С.М., Наглер Л.Г. и др. // Тезисы VIII Межд. конф. Биоантиоксидант. Москва. 4-6 окт. **2010**. С. 211-212.
4. Бурлакова Е.Б., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д. и др.//ДАН. **2011**. Т.437. № 3.
5. Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Фаткуллина Л.Д., Воробьева А.К.// Прикл. биохимия и микробиология. **2011**. Т. 47. № 4. С. 490-494.