



Влияние хлореллы на гематологические показатели и биодоступность питательных веществ рациона у макаков-резусов

Н. В. Гапонов^{1,2}, Ал. В. Панченко³, Ан. В. Панченко⁴, Ю. П. Чугуев⁵

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт люпина – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса» (ВНИИ люпина – филиал ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса»), пос. Мичуринский, Брянская обл., Россия

²⁻⁵ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП»), г. Сочи, Россия

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0002-5086-7943>, e-mail: nv.1000@bk.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-1294-751X>, e-mail: shmalij.a.v@gmail.com

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5346-7646>, e-mail: ando_pan@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-8111-2298>, e-mail: chuguev.yurii@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Хлорелла обладает широким спектром биологической активности, в частности, проявляет выраженную антиоксидантную активность, противовоспалительные, противоопухолевые и противовирусные свойства. Изучению кормовых достоинств этой одноклеточной зеленой водоросли при использовании в составе рационов для сельскохозяйственных животных посвящен ряд исследований, однако вопрос возможности включения разных видов *Chlorella* в рацион приматов практически не изучен. Целью данной работы была оценка возможности замещения высокопротеиновых кормов животного и растительного происхождения на хлореллу, определение коэффициентов переваримости питательных веществ рационов и влияния сухой и суспензионной форм водоросли на гематологические, биохимические показатели крови у самцов макаков-резусов. Полученные при проведении эксперимента данные свидетельствуют о том, что включение в рацион хлореллы как в сухом виде, так и в виде клеточной суспензии способствует лучшей усвояемости питательных веществ. Так, в группе животных, получавших суспензию водоросли, усвояемость сырого протеина увеличилась на 4,18% ($p < 0,05$), сырого жира – на 4,70% ($p < 0,01$), сырой клетчатки – на 4,14% ($p < 0,05$) и сырой золы – на 12,32% ($p < 0,001$). У приматов, в рецептуру комбикорма которых был введен порошок хлореллы, коэффициенты переваримости сырого протеина были выше на 6,83% ($p < 0,001$), сырой клетчатки – на 4,78% ($p < 0,05$) и сырой золы – на 18,93% ($p < 0,001$). Результаты гематологических исследований указывают на отсутствие побочных эффектов от длительного употребления хлореллы приматами. Введение в рацион сухой хлореллы способствовало повышению уровня глюкозы в крови до верхней границы контрольных значений, тогда как суспензия хлореллы не оказывала такого эффекта. Таким образом, хлорелла может быть успешно использована в качестве компонента сбалансированного лабораторного рациона для приматов или в качестве кормовой добавки.

Ключевые слова: хлорелла, переваримость, состав крови, биохимический анализ крови, суспензия, приматы

Для цитирования: Гапонов Н. В., Панченко Ал. В., Панченко Ан. В., Чугуев Ю. П. Влияние хлореллы на гематологические показатели и биодоступность питательных веществ рациона у макаков-резусов. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 349–356. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-349-356.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гапонов Николай Васильевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», 354376, Россия, Краснодарский край, г. Сочи, с. Веселое, ул. Мира, 177, e-mail: nv.1000@bk.ru.

Effect of *Chlorella* on hematological parameters and nutrient bioavailability in the diet of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*)

N. V. Gaponov^{1,2}, Al. V. Panchenko³, An. V. Panchenko⁴, Yu. P. Chuguev⁵

¹ All-Russian Lupine Research Institute – Branch of the Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, Michurinsky settlement, Bryansk Oblast, Russia

²⁻⁵ FSBSI “Research Institute of Medical Primatology” (FSBSI “RIMP”), Sochi, Russia

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0002-5086-7943>, e-mail: nv.1000@bk.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-1294-751X>, e-mail: shmalij.a.v@gmail.com

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5346-7646>, e-mail: ando_pan@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-8111-2298>, e-mail: chuguev.yurii@mail.ru

SUMMARY

Chlorella shows a wide spectrum of biological activity, in particular, it exhibits a pronounced antioxidant activity and demonstrates anti-inflammatory, antitumor and antiviral properties. A number of research works have been devoted to studying feed advantages of this unicellular green algae when used in the diets of livestock animals, but the possibility of including different *Chlorella* species in the diet of primates has not been practically studied. The aim of this work was to assess the possibility of replacing high-protein animal and vegetable feeds with *Chlorella*, to calculate the digestibility coefficients for the diet nutrients and the effect of algal dry and suspension forms on hematological and serum biochemical parameters in male rhesus monkeys. The data obtained during the experiment indicate that the inclusion of *Chlorella* in the diet both in the dry form and cell suspension improves nutrient digestibility. Thus, the digestibility of crude protein in the animals receiving algae suspension increased by 4.18% ($p < 0.05$), that of crude fat – by 4.70% ($p < 0.01$), crude fiber – by 4.14% ($p < 0.05$) and crude ash – by 12.32% ($p < 0.001$). The digestibility coefficients of crude protein in the primates receiving compound feed supplemented with *Chlorella* powder were higher by 6.83% ($p < 0.001$), those of crude fiber – by 4.78% ($p < 0.05$) and crude ash – by 18.93% ($p < 0.001$). The hematological study results indicate the absence of side effects from long-term *Chlorella* consumption by primates. The introduction of dry *Chlorella* into the diet increased blood glucose levels to the upper limit of the control values, while *Chlorella* suspension did not produce this effect. Thus, *Chlorella* can be successfully used as a component of a balanced laboratory diet for primates or as a feed additive.

Keywords: *Chlorella*, digestibility, blood composition, biochemical blood test, suspension, primates

For citation: Gaponov N. V., Panchenko Al. V., Panchenko An. V., Chuguev Yu. P. Effect of *Chlorella* on hematological parameters and nutrient bioavailability in the diet of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 349–356. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-349-356.

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

For correspondence: Nikolay V. Gaponov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, FSBSI "Research Institute of Medical Primatology", 354376, Russia, Krasnodar Krai, Sochi, s. Veseloye, ul. Mira, 177, e-mail: nv.1000@bk.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Из пресноводных водорослей наибольшее приращение получила одноклеточная зеленая водоросль хлорелла (*Chlorella* spp.), которая оказалась удобной моделью для лабораторных исследований и использования в производственных условиях [1]. Одноклеточные вегетативные клетки этой водоросли обычно не превышают в диаметре 15 мкм, протопласт имеет один чашевидный хлоропласт с одним пиреноидом в утолщенной части. Размножается хлорелла исключительно автоспорами, возникающими обычно по 4–8 штук в одной клетке [2]. Хлорелла имеет длительную историю пищевого применения, по содержанию витаминов она превосходит все растительные корма и культуры сельскохозяйственного производства, в ее состав входят аминокислоты, в том числе незаменимые, что свидетельствует о ее перспективности как продуцента ценных органических соединений [3]. Кроме того, культивирование микроводорослей происходит в биореакторах на минеральных питательных средах, и выращенная суспензионная культура растительных клеток используется как генно-модифицируемая платформа для получения гетерологичных белков [4, 5].

Хлорелла является активным продуцентом белков, углеводов, липидов, витаминов с легко регулируемым соотношением этих соединений при изменении условий ее культивирования. В среднем высушенные водоросли состоят из 45% белка, 20% углеводов, 20% жира, 5–10% волокон, цинка, железа, магния, кальция, фосфора и т. д. Многие вещества, содержащиеся в хлорелле, накапливаются в культуральной среде, в структуре которой обнаружены витамин В1 (тиамин), В2 (рибофлавин), В3 (пантотеновая кислота), В5 (никотиновая кислота), В6 (пиридоксин), В12 (цианокобаламин), фолиевая кислота и ее производные, парааминобензой-

ная кислота, Н (биотин), инозит [6, 7]. Содержание этих витаминов в культуральной жидкости значительно превосходит их количество в клетках. Поэтому при использовании биомассы хлореллы в качестве кормовой добавки возможно также выпаивать животным суспензию клеток, не теряя находящиеся в ростовой среде витамины и другие биологически активные вещества.

Хлорелла обладает широким спектром биологической активности, в частности, проявляет выраженную антиоксидантную активность, противовоспалительные, противоопухолевые и противовирусные свойства [8]. Установлено, что водоросль защищает клетки INS-1 (832/13) поджелудочной железы от повреждения перекисью водорода, предотвращает повреждение мембран митохондрий, восстанавливает уровень аденозинтрифосфата и уменьшает клеточное содержание активных форм кислорода [9]. Компоненты, входящие в состав клеточной стенки хлореллы, обладают иммуностимулирующими свойствами, которые проявляются в усилении активности НК-клеток, повышении продукции интерферона- γ , интерлейкина-12, а также интерлейкина-1 β – Th1-ассоциированных цитокинов [10]. Применение хлореллы у людей с вирусным гепатитом С способствует снижению экспрессии РНК вируса, а также уровня аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы [11]. Сухой порошок *Chlorella pyrenoidosa* обладает химиопрофилактическим эффектом в отношении гепатоканцерогенеза у крыс [12]. Противоопухолевыми свойствами обладают как экстракты [13], так и полипептиды хлореллы [14]. Клинические испытания показали, что добавки, содержащие *Chlorella vulgaris*, могут облегчить состояние гиперлипидемии, гипергликемии, защитить от окислительного стресса, развития онкологических заболеваний и хронической обструктивной болезни

легких [3]. Кроме этого, применение хлореллы у беременных женщин способствует уменьшению переноса диоксинов в грудное молоко и повышению содержания в нем иммуноглобулинов [15].

Введение суспензии хлореллы в рацион сельскохозяйственных животных сокращает до минимума падеж молодняка, способствует лучшему усвоению корма, улучшает перистальтическую функцию кишечника, предотвращая застой и воспаление слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (дивертикулит), реабсорбцию токсических веществ, а также распространение несапрофитных микробов [7]. Противовоспалительные и антиоксидантные свойства водоросли обеспечивают снятие симптомов при язвенном колите, синдроме раздраженного кишечника и болезни Крона. Хлорелла обогащает организм многими необходимыми питательными веществами [16, 17], увеличивает сопротивляемость организма к инфекционным заболеваниям, что особенно важно при вольерном содержании животных в зимний период и является профилактическим средством против авитаминозных состояний в осенне-зимний период [7].

В рацион человеку и животным хлореллу можно добавлять в виде суспензии, пасты или сухой биомассы [7]. Однако вопрос возможности включения разных видов данной водоросли в рацион приматов практически не изучен. Учитывая разнообразие биологические эффекты добавок из хлореллы, необходимо проводить не только оценку влияния на переваримость веществ, но и на основные гематологические и биохимические параметры организма.

Таким образом, целью исследования была оценка возможности замещения высокопротеиновых кормов животного и растительного происхождения на хлореллу, определение коэффициентов переваримости питательных веществ рационов и влияния сухой и суспензионной форм водоросли на гематологические, биохимические показатели крови у самцов макаков-резусов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В опытах использовали 15 самцов макаков-резусов (*Macaca mulatta*) в возрасте от 7 до 15 лет (питомник ФГБНУ «НИИ МП»), которых содержали в индивидуальных клетках. По методу пар-аналогов с учетом возраста животные были распределены на три группы – контрольную и две опытные (по 5 голов в каждой), которые различались по рациону питания [18].

Эксперименты на животных проводили в соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Хельсинкской декларации (2000 г.) и Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Исследование было одобрено биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ МП».

Состав используемых кормов. В экспериментах использовали полнорационный гранулированный комбикорм, который изготавливали на производственном участке ФГБНУ «НИИ МП». В его составе на долю пшеницы приходилось 21,40%, жмыха соевого – 17,42%, жмыха подсолнечного – 13,83%, сухого обезжиренного молока – 14,39%, кукурузы – 13,35%, глютена кукурузно-

Таблица 1
Биохимический состав полнорационного комбикорма и хлореллы

Table 1
Complete feed and chlorella powder biochemical composition

Показатели (на 1 кг)	Полнорационный комбикорм	Полнорационный комбикорм с порошком хлореллы (13,25%)	Порошок хлореллы
Обменная энергия (приматы), МДж	13,36	13,32	21,14
Сухое вещество, г	818	813	983
Сырой протеин, г	269	278	500
Переваримый протеин (приматы), г	227	231	–
Лизин, г	88	91	51
Метионин + цистин, г	6,8	9,3	36
Триптофан, г	3,3	4,3	15,0
Сырой жир, г	70	67	259
Сырая клетчатка, г	39	40	10
Безазотистые экстрактивные вещества, г	284	280	356
Крахмал, г	242	241	–
Сахар, г	192	191	–
Кальций, г	16,3	16,4	11,0
Фосфор, г	8,8	9,6	18,0
Магний, г	2,6	2,6	0,7
Калий, г	5,9	5,8	9,8
Сера, г	2,4	2,3	2,5
Железо, мг	75	120	528
Медь, мг	14,5	14,7	5,0
Цинк, мг	20,9	19,0	3,0
Марганец, мг	20,1	20,0	2,2
Кобальт, мг	10,5	10,4	0,2
Йод, мг	0,18	0,42	3,0
Каротин, мг	1,3	1,3	6,5
Витамин А, МЕ	800	158	1700
Витамин Д, МЕ	15	14	127
Витамин Е, мг	6,1	6,0	8,7
Витамин В1, мг	5,2	5,2	2,5
Витамин В2, мг	3,0	2,9	9,6
Витамин В3, мг	5,4	5,3	2,2
Витамин В4, мг	735	717	2175
Витамин В5, мг	243,4	241,9	1,6
Витамин В12, мкг	14,3	12,0	11,0

го – 11,24%, яичного порошка – 3,30% и сахара – 4,27%. Рацион животных контрольной группы сбалансировали в энергетическом отношении введением 0,80% масла подсолнечного. Биохимический состав кормов и хлореллы приведен в таблице 1.

Таблица 2
Схема проведения опытов

Table 2
Experimental design

Группы	Количество животных, гол.	Условия кормления
I Контрольная	5	Полнораационный комбикорм
II Опытная	5	Полнораационный комбикорм + суспензия хлореллы 2,8 мл/кг живой массы
III Опытная	5	Полнораационный комбикорм + содержание сухой хлореллы 13,25%. На сухую хлореллу замещены 90% сухого молока и 9% яичного порошка

Хлореллу (*Chlorella vulgaris*, штамм ИФР № С-111) в рационах опытных групп приматов применяли в форме суспензии с концентрацией клеток 55–60 млн/см³ (ООО «Биоцентр «Геофлора», Россия) и сухого порошка (ООО «Грин», Россия). Суспензию хлореллы вводили с питьевой водой по 2,8 мл/кг массы тела в сутки дополнительно к полнораационному комбикорму. При введении в рацион порошка хлореллы, доля которой составила 13,25%, в рецептуре комбикорма содержание сухого обезжиренного молока снизилось на 90%, а яичного порошка – на 9%.

Схема постановки эксперимента представлена в таблице 2.

В первой (контрольной) группе приматы потребляли полнораационный гранулированный комбикорм

и водопроводную воду, в рацион второй (опытной) группы включали суспензию хлореллы. В третьей (еще одной опытной) группе животные получали модифицированный порошок хлореллы комбикорм. Длительность эксперимента составила 35 сут.

На первом этапе в течение 5 сут осуществляли подготовку животных к условиям клеточного содержания, а также замену рациона для исключения влияния предшествующего кормления. Режим кормления приматов во всех группах был одинаковым.

На втором этапе в течение 5 сут проводили тщательный учет потребленного корма и выделенных экскрементов. Кал собирали ежедневно в одно и то же время (утром и вечером), взвешивали и растирали в ступке. При каждом сборе на анализ брали 50% гомогенизированной массы. Собранные порции хранили в холодильнике. После окончания учетного периода в собранных образцах кала определяли первоначальную влагу высушиванием при 60–70 °С до постоянной массы.

Неорганическую часть биохимического состава полнораационного комбикорма определяли на рентгенофлуоресцентном волнодисперсионном спектрометре «СПЕКТРОСКАН МАКС-GVM» (ООО «НПО «СПЕКТРОН», Россия) в соответствии с «Методикой измерения массовой доли Mg, Al, Si, Zn, P, S, Cl, K, Ca, Ba, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Br, Rb, Sr в порошковых пробах растительных материалов рентгенофлуоресцентным методом с применением аппаратов рентгеновских для спектрального анализа СПЕКТРОСКАН МАКС (M-049-PM/12)», ФР.1.31.2014.17343. Остальные показатели определяли на спектральном анализаторе кормов NIRS DS2500F (FOSS, Дания).

Таблица 3
Гематологические показатели у макаков-резусов

Table 3
Hematological parameters in rhesus monkeys

Показатель	Группа I (контрольная)		Группа II (опытная)		Группа III (опытная)		Референтные значения*
	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	9,8 ± 1,6	10,8 ± 2,0	12,6 ± 1,0	13,4 ± 1,8	11,5 ± 1,6	10,2 ± 1,4	3,1–12,1
Эритроциты, ×10 ¹² /л	6,30 ± 0,05	6,43 ± 0,17	6,31 ± 0,18	5,84 ± 0,09	6,14 ± 0,39	6,14 ± 0,19	4,39–7,02
Гемоглобин, г/л	143 ± 1	145 ± 1	145 ± 6	137 ± 4	135 ± 9	137 ± 4	96–143
Гематокрит, л/л	0,43 ± 0,01	0,43 ± 0,00	0,43 ± 0,02	0,41 ± 0,01	0,41 ± 0,03	0,41 ± 0,01	0,26–0,47
Средний объем эритроцита, ×10 ⁻¹⁵ л	67,8 ± 0,4	68,2 ± 0,4	68,4 ± 1,1	69,8 ± 1,0	66,0 ± 0,8	67,2 ± 0,8	67,6–77,5
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	22,8 ± 0,3	22,8 ± 0,3	22,9 ± 0,5	23,5 ± 0,4	22,0 ± 0,4	22,3 ± 0,4	18,7–26,0
Анизоцитоз эритроцитов, %	13,0 ± 0,2	13,2 ± 0,3	13,3 ± 0,4	13,1 ± 0,4	13,4 ± 0,3	13,6 ± 0,3	12,7–15,2
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л	308 ± 18	316 ± 26	418 ± 23	366 ± 60	292 ± 48	273 ± 27	155–619
Средний объем тромбоцитов, ×10 ⁻¹⁵ л	9,7 ± 0,2	9,9 ± 0,3	9,0 ± 0,4	9,8 ± 0,3	9,5 ± 0,4	10,0 ± 0,5	8,0–14,8
СОЭ, мм/ч	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,5 ± 0,3	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,4	0,5–5,0

Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки, n = 5 для всех групп.

* референтные значения приведены по B.-S. Koo et al. [22].

Data are presented as mean and standard error, n = 5 for all groups.

* reference values are given based on B.-S. Koo et al. [22].

Таблица 4
Биохимические показатели сыворотки крови приматов

Table 4
 Serum biochemical parameters in primates

Показатель	Группа I (контрольная)		Группа II (опытная)		Группа III (опытная)		Референтные значения*
	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	
Глюкоза, ммоль/л	4,43 ± 0,44	3,32 ± 0,38	5,46 ± 0,78	3,68 ± 0,33	4,59 ± 0,46	6,73 ± 0,51 ^{a,b}	1,83–6,66
Общий билирубин, мкмоль/л	6,99 ± 2,74	6,98 ± 1,47	8,93 ± 2,77	4,16 ± 0,66	6,87 ± 5,11	10,38 ± 5,28	1,71–11,97
Фосфор, ммоль/л	1,17 ± 0,19	0,61 ± 0,12	0,88 ± 0,18	0,44 ± 0,14	1,33 ± 0,17	0,77 ± 0,17	1,06–2,13
Кальций, ммоль/л	2,56 ± 0,06	2,01 ± 0,17	2,47 ± 0,06	2,04 ± 0,10	2,65 ± 0,11	2,75 ± 0,12	1,75–2,45
Общий белок, г/л	89 ± 8	80 ± 2	86 ± 3	82 ± 5	104 ± 3 ^c	89 ± 3	39–78

Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки, $n = 5$ для всех групп.

* референтные значения приведены по В.-С. Koo et al. [22];

^a $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой;

^b $p < 0,05$ по сравнению с началом опыта;

^c $p < 0,05$ по сравнению со II опытной группой.

Data are presented as mean and standard error, $n = 5$ for all groups.

* reference values are given based on В.-С. Koo et al. [22];

^a $p < 0,001$ as compared to control group;

^b $p < 0,05$ as compared to the beginning of the experiment;

^c $p < 0,05$ as compared to experimental group II.

Клинический и биохимический анализы крови. Материалом для исследования служила венозная кровь и полученная из нее сыворотка. Образцы крови (2,5–3,0 мл) брали из локтевой либо из бедренной вены натошак до начала использования хлореллы и через 35 сут после завершения эксперимента. Цельную кровь стабилизировали раствором гепарина и проводили гематологический анализ на автоматическом анализаторе Coulter AcT 5diff CP (Beckman Coulter, США). Определяли уровень эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, анизцитоз эритроцитов. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) оценивали по методу Панченкова.

Сыворотку крови получали из венозной крови без антикоагулянтов, которую отстаивали в центрифужной стеклянной пробирке при температуре 15–20 °С до образования сгустка. Тонкой стеклянной палочкой осуществляли декантирование и центрифугировали в течение 10 мин при 1000–1500 г. Биохимический анализ (содержание общего белка, глюкозы, общего билирубина, кальция, фосфора) сывороток крови без гемолиза проводили в течение 2–3 ч после получения с помощью коммерческих наборов компании High Technology, Inc. (США) на полуавтоматическом анализаторе BioChem SA (High Technology, Inc., США) в соответствии с инструкциями производителя.

Статистический анализ. Полученные результаты обрабатывали статистически в программе GraphPad Prism 8.0 (США) и выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Статистическую значимость различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующими апостериорными поправками на множественные сравнения по методу Тьюки и Сидака. Принятый уровень статистической значимости – $p < 0,05$ [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения в системе крови – один из первых признаков изменений, происходящих в организме в целом, что имеет важное диагностическое значение при алиментарных нарушениях [21]. Результаты проведенного гематологического анализа крови приматов представлены в таблице 3.

Установлено, что количество лейкоцитов в опытных группах незначительно превышало верхнюю границу референтных значений в начале эксперимента. В конце опыта значимых изменений уровня лейкоцитов не наблюдали. Количество эритроцитов и тромбоцитов было в пределах референтных значений во всех группах, как в начале, так и в конце опыта, без значимых отличий между группами. Уровень содержания гемоглобина и среднее содержание гемоглобина в эритроците не отличались между группами ни в начале, ни в конце опыта.

Значения СОЭ как в начале эксперимента, так и после применения хлореллы находились в пределах физиологической нормы. Установленные в крови уровни лейкоцитов и СОЭ свидетельствуют об отсутствии воспалительных процессов у подопытных животных, содержащихся и на стандартном, и на экспериментальных рационах.

Таким образом, при длительном использовании в рационе хлореллы в виде суспензии или сухого порошка в составе гранулированных комбикормов значимого изменения показателей гемограммы как между группами, так и относительно референтных значений выявлено не было.

Для оценки влияния хлореллы на обмен веществ определяли некоторые биохимические показатели сыворотки крови (табл. 4).

В начале опыта уровень глюкозы находился в пределах физиологической нормы во всех группах. В конце

Таблица 5
Коэффициенты переваримости

Table 5
Digestibility coefficients

Группы	Сырой протеин, %	Сырой жир, %	Сырая клетчатка, %	Сырая зола, %	Сырые БЭВ, %	Кальций, %	Фосфор, %
I (контрольная)	65,34 ± 1,04	38,09 ± 0,98	25,88 ± 1,01	41,58 ± 0,88	78,05 ± 1,12	44,37 ± 1,94	59,79 ± 2,01
II (опытная)	69,52 ± 0,95*	42,79 ± 0,79**	30,02 ± 0,90*	53,90 ± 1,00***	79,90 ± 2,03	53,66 ± 1,58**	60,51 ± 1,61
III (опытная)	72,17 ± 0,96***	40,70 ± 0,87	30,66 ± 1,12*	60,51 ± 1,21***	82,20 ± 2,03	58,17 ± 1,96***	67,86 ± 3,12

Данные получены путем усреднения пяти измерений для каждого животного и среднего значения для группы ($n = 5$).

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой. Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки.

Data obtained by averaging five measurements for each animal and the mean for the group ($n = 5$).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ as compared to control group. Data are presented as mean and standard error.

эксперимента в опытной группе III после введения в структуру рациона сухой хлореллы уровень глюкозы статистически значимо увеличился до верхних значений физиологической нормы. Проведенный анализ коэффициента переваримости (табл. 5) для безазотистых экстрактивных веществ (БЭВ) свидетельствует об отсутствии статистически значимого увеличения ($p > 0,05$) поступления углеводов в организм животных группы II (79,90 ± 2,03%) по сравнению с контролем (78,05 ± 1,12%). Однако показатель переваримости БЭВ был наибольшим в группе III (82,20 ± 2,03%) по сравнению с контролем ($p > 0,05$). Известно, что хлорелла и ее компоненты обладают гипогликемическим действием [23, 24], а также могут увеличивать содержание глюкозы в крови животных [25]. Возможно, эффект зависит от доли хлореллы в рационе. Таким образом, требуются более детальные исследования влияния сухой хлореллы на углеводный обмен с оценкой его зависимости от дозы в рационе.

В начале эксперимента уровень билирубина, образующегося из гемоглобина в клетках печени желчного пигмента, находился в пределах референтных значений. В конце опыта среднее значение уровня билирубина в опытной группе III (10,38 ± 5,28 мкмоль/л) относительно контрольной (6,98 ± 1,47 мкмоль/л) было выше на 48%, однако статистической значимости различия не достигли ($p > 0,05$).

Уровень кальция и фосфора в крови животных всех трех групп в начале опыта находился в пределах референтных значений. К завершению эксперимента эти показатели статистически значимо не изменились, однако уровень фосфора был ниже границы референтного диапазона во всех группах (табл. 4), несмотря на более высокие коэффициенты усвояемости фосфора в группах II и III (табл. 5).

Уровень белка в крови животных как в начале, так и в конце эксперимента был выше референтных значений во всех группах (табл. 4). В начале опыта в группе III отмечено большее содержание белка сыворотки крови (104 ± 3 г/л) по сравнению с контрольной группой (89 ± 8 г/л, $p > 0,05$). Повышенный уровень белка сыворотки крови в группе II в начале опыта, вероятно, был транзиторным, не связанным с действием хлореллы в рационе животных.

Учет съеденных животными кормов за сутки, количества кала и анализ их химического состава по-

зволили определить коэффициенты переваримости питательных веществ в разных рационах (табл. 5). Данный показатель у приматов опытных групп был статистически значимо выше, чем у животных в контрольной группе. Так, в группе II, получавшей суспензию хлореллы, коэффициенты переваримости сырого протеина были выше на 4,18% ($p < 0,05$), сырого жира – на 4,70% ($p < 0,01$), сырой клетчатки – на 4,14% ($p < 0,05$), сырой золы – на 12,32% ($p < 0,001$). В группе III, где животным в структуру рациона включали порошок хлореллы, коэффициенты переваримости сырого протеина были выше на 6,83% ($p < 0,001$), сырой клетчатки – на 4,78% ($p < 0,05$), сырой золы – на 18,93% ($p < 0,001$).

Полученные данные свидетельствуют об улучшении переваримости ряда питательных веществ при введении в рацион приматов хлореллы (по сравнению с традиционным комбикормом), что согласуется с представленными в литературе результатами изучения усвояемости питательных веществ при включении микроводорослей *Chlorella vulgaris* в рацион бурских коз [25] и с ранее полученными нами данными по увеличению переваримости сырого протеина, сырой клетчатки и усвояемости кальция при обогащении рациона сухой хлореллой или ее суспензией [26]. Повышение переваримости сырого протеина, представляющего наиболее ценную часть корма, является наиболее важным результатом введения в рацион хлореллы [27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование сухой хлореллы в структурах рационов приматов как заменителя высокопротеиновых кормов растительного и животного происхождения оказало положительное влияние на переваримость питательных веществ. При этом результаты гематологических анализов в целом свидетельствуют о безопасности длительного потребления хлореллы приматами (в течение 35 сут). Приготовление полнорационных гранулированных комбикормов с использованием порошка хлореллы позволяет сбалансировать рацион по питательным и биологически активным веществам. Подобными закономерностями характеризуется и использование суспензии хлореллы, в результате экспериментов с которой были отмечены лучшие показатели по переваримости, свидетельствующие о том, что применение суспензии этой зеленой

водоросли позволяет значительно повысить уровень обмена веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Liu J., Chen F. Biology and industrial applications of *Chlorella*: Advances and prospects. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2016; 153: 1–35. DOI: 10.1007/10_2014_286.
- Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.-Y., Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2014; 35: 265–278. DOI: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
- Panahi Y., Darvishi B., Jowzi N., Beiraghdar F., Sahebkar A. *Chlorella vulgaris*: A multifunctional dietary supplement with diverse medicinal properties. *Curr. Pharm. Des.* 2016; 22 (2): 164–173. DOI: 10.2174/1381612822666151112145226.
- Dvoretzky D., Dvoretzky S., Peshkova E., Temnov M. Optimization of the process of cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* biomass with high lipid content for biofuel production. *Chemical Engineering Transactions.* 2015; 43: 361–366. DOI: 10.3303/CET1543061.
- Yang B., Liu J., Jiang Y., Chen F. *Chlorella* species as hosts for genetic engineering and expression of heterologous proteins: Progress, challenge and perspective. *Biotechnol. J.* 2016; 11 (10): 1244–1261. DOI: 10.1002/biot.201500617.
- Шалыго Н. Микроводоросли и цианобактерии как биоудобрение. *Наука и инновации.* 2019; 3: 10–12. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_37314804_36473977.pdf.
- Богданов Н. И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных. Пенза: НИЦ ПГУ; 2006. 54 с. eLIBRARY ID: 28340038.
- Barkia I., Saari N., Manning S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Mar. Drugs.* 2019; 17 (5):304. DOI: 10.3390/md17050304.
- Lin C.-Y., Huang P.-J., Chao C.-Y. *Chlorella* protects against hydrogen peroxide-induced pancreatic β -cell damage. *J. Med. Food.* 2014; 17 (12): 1273–1280. DOI: 10.1089/jmf.2013.3002.
- Kwak J. H., Baek S. H., Woo Y., Han J. K., Kim B. G., Kim O. Y., Lee J. H. Beneficial immunostimulatory effect of short-term *Chlorella* supplementation: enhancement of natural killer cell activity and early inflammatory response (randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). *Nutr. J.* 2012; 11:53. DOI: 10.1186/1475-2891-11-53.
- Azocar J., Diaz A. Efficacy and safety of *Chlorella* supplementation in adults with chronic hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19 (7): 1085–1090. DOI: 10.3748/wjg.v19.i7.1085.
- Takekoshi H., Mizoguchi T., Komasa Y., Chubachi H., Inoue Y., Imanishi H., Nakano M. Suppression of glutathione S-transferase placental form-positive foci development in rat hepatocarcinogenesis by *Chlorella pyrenoidosa*. *Oncol. Rep.* 2005; 14 (2): 409–414. DOI: 10.3892/or.14.2.409.
- Reyna-Martinez R., Gomez-Flores R., López-Chuken U., Quintanilla-Licea R., Caballero-Hernandez D., Rodriguez-Padilla C., et al. Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus* sp. microalgae native of Nuevo León State, México. *Peer J.* 2018; 6:e4358. DOI: 10.7717/peerj.4358.
- Wang X., Zhang X. Separation, antitumor activities, and encapsulation of polypeptide from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biotechnol. Prog.* 2013; 29 (3): 681–687. DOI: 10.1002/btpr.1725.
- Nakano S., Takekoshi H., Nakano M. *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*) supplementation decreases dioxin and increases immunoglobulin a concentrations in breast milk. *J. Med. Food.* 2007; 10 (1): 134–142. DOI: 10.1089/jmf.2006.023.
- Гапонов Н. В., Гамко Л. Н., Ленкова Т. Н. Определение уровня биоактивности питательных веществ у приматов. *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет).* 2020; 4: 65–72. DOI: 10.31677/2072-6724-2020-57-4-65-72.
- Шацких Е. В., Гафаров Ш. С., Бояринцева Г. Г., Сафронов С. Л. Использование кормовых добавок в животноводстве. Екатеринбург: УрГСХА; 2006. 100 с. eLIBRARY ID: 21222020.
- Овсянников А. И. Основы опытного дела в животноводстве. М.: Колос; 1976. 304 с.
- National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington: National Academies Press; 2011. 246 p. DOI: 10.17226/12910.
- Реброва О. Ю. Описание статистического анализа данных в оригинальных статьях. Типичные ошибки. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2010; 110 (11): 71–74. eLIBRARY ID: 16597037.
- Руководство для врачей. Под ред. Н. Н. Мамаева. 3-е изд., доп. и испр. СПб.: СпецЛит; 2019. 639 с.
- Коо В.-S., Lee D.-H., Kang P., Jeong K. J., Lee S., Kim K., et al. Reference values of hematological and biochemical parameters in young-adult cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) and rhesus monkey (*Macaca mulatta*) anesthetized with ketamine hydrochloride. *Lab. Anim. Res.* 2019; 35:7. DOI: 10.1186/s42826-019-0006-0.

23. Jeong H., Kwon H. J., Kim M. K. Hypoglycemic effect of *Chlorella vulgaris* intake in type 2 diabetic Goto-Kakizaki and normal Wistar rats. *Nutr. Res. Pract.* 2009; 3 (1): 23–30. DOI: 10.4162/nrp.2009.3.1.23.

24. Noguchi N., Konishi F., Kumamoto S., Maruyama I., Ando Y., Yanagita T. Beneficial effects of *Chlorella* on glucose and lipid metabolism in obese rodents on a high-fat diet. *Obes. Res. Clin. Pract.* 2013; 7 (2):e95–e105. DOI: 10.1016/j.orcp.2013.01.002.

25. Kholif A. E., Hamdon H. A., Kassab A. Y., Farahat E. S. A., Azzaz H. H., Matloup O. H., et al. *Chlorella vulgaris* microalgae and/or copper supplementation enhanced feed intake, nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood metabolites and lactational performance of Boer goat. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 2020; 104 (6): 1595–1605. DOI: 10.1111/jpn.13378.

26. Gaponov N. V., Neverova O. P., Gorelik O. V., Stepanov A. V. Probiotics and animal feed in primates feeding. *E3S Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference "Development of the Agro-Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad" (DAIC 2020).* 2020; 222:02006. DOI: 10.1051/e3s-conf/202022202006.

27. Gaponov N. V., Lenkova T. N. Biotransformation of nutrients in the body of primates. *Innovative Scientific Research.* 2020; 12-1 (2): 5–14. DOI: 10.5281/zenodo.4444589.

REFERENCES

- Liu J., Chen F. Biology and industrial applications of *Chlorella*: Advances and prospects. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2016; 153: 1–35. DOI: 10.1007/10_2014_286.
- Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.-Y., Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2014; 35: 265–278. DOI: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
- Panahi Y., Darvishi B., Jowzi N., Beiraghdar F., Sahebkar A. *Chlorella vulgaris*: A multifunctional dietary supplement with diverse medicinal properties. *Curr. Pharm. Des.* 2016; 22 (2): 164–173. DOI: 10.2174/1381612822666151112145226.
- Dvoretzky D., Dvoretzky S., Peshkova E., Temnov M. Optimization of the process of cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* biomass with high lipid content for biofuel production. *Chemical Engineering Transactions.* 2015; 43: 361–366. DOI: 10.3303/CET1543061.
- Yang B., Liu J., Jiang Y., Chen F. *Chlorella* species as hosts for genetic engineering and expression of heterologous proteins: Progress, challenge and perspective. *Biotechnol. J.* 2016; 11 (10): 1244–1261. DOI: 10.1002/biot.201500617.
- Shalygo M. Microalgae and cyanobacteria as a bio-fertilizer. *Science and Innovations.* 2019; 3: 10–12. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_37314804_36473977.pdf. (in Russ.)
- Bogdanov N. I. Suspenziya khlorelly v ratsione sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh = *Chlorella* suspension in the diet of livestock animals. Penza: NITs PGU; 2006. 54 p. eLIBRARY ID: 28340038. (in Russ.)
- Barkia I., Saari N., Manning S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Mar. Drugs.* 2019; 17 (5):304. DOI: 10.3390/md17050304.
- Lin C.-Y., Huang P.-J., Chao C.-Y. *Chlorella* protects against hydrogen peroxide-induced pancreatic β -cell damage. *J. Med. Food.* 2014; 17 (12): 1273–1280. DOI: 10.1089/jmf.2013.3002.
- Kwak J. H., Baek S. H., Woo Y., Han J. K., Kim B. G., Kim O. Y., Lee J. H. Beneficial immunostimulatory effect of short-term *Chlorella* supplementation: enhancement of natural killer cell activity and early inflammatory response (randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). *Nutr. J.* 2012; 11:53. DOI: 10.1186/1475-2891-11-53.
- Azocar J., Diaz A. Efficacy and safety of *Chlorella* supplementation in adults with chronic hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19 (7): 1085–1090. DOI: 10.3748/wjg.v19.i7.1085.
- Takekoshi H., Mizoguchi T., Komasa Y., Chubachi H., Inoue Y., Imanishi H., Nakano M. Suppression of glutathione S-transferase placental form-positive foci development in rat hepatocarcinogenesis by *Chlorella pyrenoidosa*. *Oncol. Rep.* 2005; 14 (2): 409–414. DOI: 10.3892/or.14.2.409.
- Reyna-Martinez R., Gomez-Flores R., López-Chuken U., Quintanilla-Licea R., Caballero-Hernandez D., Rodriguez-Padilla C., et al. Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus* sp. microalgae native of Nuevo León State, México. *Peer J.* 2018; 6:e4358. DOI: 10.7717/peerj.4358.
- Wang X., Zhang X. Separation, antitumor activities, and encapsulation of polypeptide from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biotechnol. Prog.* 2013; 29 (3): 681–687. DOI: 10.1002/btpr.1725.
- Nakano S., Takekoshi H., Nakano M. *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*) supplementation decreases dioxin and increases immunoglobulin a concentrations in breast milk. *J. Med. Food.* 2007; 10 (1): 134–142. DOI: 10.1089/jmf.2006.023.
- Gaponov N. V., Gamko L. N., Lenkova T. N. Determination of the level of bioconversion of nutrients in primates. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University).* 2020; 4: 65–72. DOI: 10.31677/2072-6724-2020-57-4-65-72. (in Russ.)

17. Shatskikh E. V., Gafarov Sh. S., Boyarintseva G. G., Safronov S. L. Use of feed additives in animal husbandry. Ekaterinburg: Urals State Agricultural University; 2006. 100 p. eLIBRARY ID: 21222020. (in Russ.)
18. Ovsyannikov A. I. Osnovy opytnogo dela v zhivotnovodstve = Fundamentals of animal experiments. Moscow: Kolos; 1976. 304 p. (in Russ.)
19. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington: National Academies Press; 2011. 246 p. DOI: 10.17226/12910.
20. Rebrova O. Yu. Description of statistical analysis of data in original articles. Typical errors. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S. S. Korsakova*. 2010; 110 (11): 71–74. eLIBRARY ID: 16597037. (in Russ.)
21. Rukovodstvo dlya vrachei = A guide for doctors. Ed. by N. N. Mamaev. 3rd ed., revised and updated. Saint Petersburg: SpetsLit; 2019. 639 p. (in Russ.)
22. Koo B.-S., Lee D.-H., Kang P., Jeong K. J., Lee S., Kim K., et al. Reference values of hematological and biochemical parameters in young-adult cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) and rhesus monkey (*Macaca mulatta*) anesthetized with ketamine hydrochloride. *Lab. Anim. Res.* 2019; 35:7. DOI: 10.1186/s42826-019-0006-0.
23. Jeong H., Kwon H. J., Kim M. K. Hypoglycemic effect of *Chlorella vulgaris* intake in type 2 diabetic Goto-Kakizaki and normal Wistar rats. *Nutr. Res. Pract.* 2009; 3 (1): 23–30. DOI: 10.4162/nrp.2009.3.1.23.
24. Noguchi N., Konishi F., Kumamoto S., Maruyama I., Ando Y., Yanagita T. Beneficial effects of *Chlorella* on glucose and lipid metabolism in obese rodents on a high-fat diet. *Obes. Res. Clin. Pract.* 2013; 7 (2):e95–e105. DOI: 10.1016/j.orcp.2013.01.002.
25. Kholif A. E., Hamdon H. A., Kassab A. Y., Farahat E. S. A., Azzaz H. H., Matloup O. H., et al. *Chlorella vulgaris* microalgae and/or copper supplementation enhanced feed intake, nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood metabolites and lactational performance of Boer goat. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 2020; 104 (6): 1595–1605. DOI: 10.1111/jpn.13378.
26. Gaponov N. V., Neverova O. P., Gorelik O. V., Stepanov A. V. Probiotics and animal feed in primates feeding. *E3S Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference "Development of the Agro-Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad" (DAIC 2020)*. 2020; 222:02006. DOI: 10.1051/e3s-conf/202022202006.
27. Gaponov N. V., Lenkova T. N. Biotransformation of nutrients in the body of primates. *Innovative Scientific Research*. 2020; 12-1 (2): 5–14. DOI: 10.5281/zenodo.4444589.

Поступила в редакцию / Received 20.04.2021

Доработана после рецензирования / Revised 01.06.2021

Принята к публикации / Accepted 31.08.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гапонов Николай Васильевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Панченко Алла Вячеславовна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Панченко Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Чугуев Юрий Петрович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Nikolay V. Gaponov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.

Alla V. Panchenko, Candidate of Science (Medical), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.

Andrey V. Panchenko, Doctor of Science (Medical), Chief Researcher, Laboratory of Molecular Biology, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.

Yuri P. Chuguev, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.