

ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 619:616-07

doi: 10.30766/2072-9081.2018.63.2.81-84

Влияние экстракта из комплекса трав на клинико-гематологический статус белых мышей

А.А. Ивановский, Н.А. Латушкина, Е.Ю. Тимкина

ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», г. Киров, Российская Федерация

В статье представлены результаты исследований по изучению влияния экстракта фитокомплекса трав (левзея сафлоровидная, серпуха венценосная, лабазник вязолистный) на показатели клинического состояния (поведение, кровь, внутренние органы) неполовозрелых белых мышей обоего пола живой массой $30\pm1,0$ г в возрасте 3 месяцев. Животных распределили в контрольную и три опытных группы по 15 мышей в каждой. Мышам опытных групп в течение 7 дней перорально ежедневно вводили фитоэкстракт, разведенный в физиологическом растворе, в дозах: первая группа – 0,1 мл (0,65 мг экстрактивных веществ), вторая – 0,3 мл (1,95 мг) и третья – 0,5 мл (3,25 мг). В контроле вводили физиологический раствор в дозе 0,5 мл. В течение эксперимента вели наблюдения за общим состоянием животных. Перед постановкой и по окончании опыта мышей взвешивали. После завершения эксперимента у мышей была взята кровь для проведения ряда морфологических и биохимических исследований, в том числе характеризующих и антиоксидантный статус. Оценивали влияние экстракта на массу внутренних органов (печень, почки, селезенку). Результаты анализа крови показали, что у мышей второй опытной группы количество эритроцитов в сравнении с контролем ($4,2\times10^{12}$ кл/л) увеличилось на 45% ($6,1\times10^{12}$ кл/л), гемоглобина – на 6% (от 112 до 119 г/л); общего белка в сыворотке крови – на 7% (с 61,2 до 65,5 г/л), альбуминов – на 4% (с 73,5 до 76,5%), SH-группы белков – на 54% (с 2,2 до 3,4 ммоль/л), а-глобулинов снизились на 39% (с 14,2 до 8,7%), малонового диальдегида – на 45% (с 6,3 до 3,5 мкмоль/л) ($p<0,05$). Масса тела у мышей второй опытной группы возросла в сравнении с начальным результатом на 7,6%. В течение всего эксперимента у мышей всех групп отсутствовали какие-либо отклонения от физиологической нормы. Установлено, что патологий со стороны внутренних органов не наблюдалось. Масса исследуемых внутренних органов мышей во всех группах не имела достоверных ($p>0,05$) отличий и находилась в нормативных границах.

Ключевые слова: фитокомплекс, лабазник, левзея, серпуха, белые мыши, кровь

В настоящее время у целого ряда различных растений обнаружены вещества, обладающие широким спектром действия на организм животных и человека, способные повысить адаптационные возможности организма к условиям окружающей среды, укрепить естественную резистентность и иммунологическую реактивность. В первую очередь к таким веществам относятся фитоэcdистероиды, флавоноиды, витамины и другие метаболиты растений [1, 2, 3].

Однако ряд вопросов, связанных с пониманием механизма действия биологически активных веществ растительного происхождения, требует более глубокого изучения. В частности, определённый интерес представляют исследования по применению в ветеринарии фитокомплексов, созданных на основе трав, содержащих различные биологически активные метаболиты.

Результатом таких исследований может стать получение фитопрепаратов, обладающих экологической безопасностью, широким спектром действия на функциональные возможности организма. Богатая флора Северо-Востока России является, в этом смысле, неисчерпаемым источником лекарственных средств [4, 5, 6].

Ранее проведённые нами исследования показали, что травы: левзея сафлоровидная

(*R. carthamoides*), серпуха венценосная (*S. coronata*), лабазник вязолистный (*F. ulmaria*) содержат в своём составе протеин, сахара, витамины, аминокислоты, дубильные вещества и флавоноиды. Кроме этого, серпуха венценосная и левзея сафлоровидная содержат фитоэcdистероиды. Изучение токсических свойств экстракта из комплекса этих трав показало отсутствие у них каких-либо негативных эффектов для белых мышей [7].

Цель исследований – изучение влияния экстракта из фитокомплекса трав, включающего *R. carthamoides*, *S. coronata*, *F. ulmaria*, на показатели клинического состояния (поведение, кровь, внутренние органы) белых мышей.

Материал и методы. Работа проводилась в лаборатории ветеринарной биотехнологии ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока и областной ветеринарной лаборатории (г. Киров) в 2017 г. Объектом исследования являлись неполовозрелые белые мыши обоего пола с живой массой $30\pm1,0$ г в возрасте 3-х месяцев. Для проведения эксперимента мыши в каждой серии опытов распределялись на три опытные и одну контрольную группы по 15 животных в каждой. Фитоматериал был предоставлен к.б.н. Н.П. Тимофеевым (КХ «Био», г. Коряжма).

Высушенные и измельченные травы (*R. carthamoides*, *S. coronata*, *F. ulmaria*) соединялись в равных объемах и помещались в стеклянную колбу с 70% этанолом в соотношении фитокомплекс (г) – экстрагент (мл) 1:10 для экстракции в темном месте, при температуре 20-25 °C в течение 30 дней. Полученный экстракт предварительно высушивали, затем определяли массу сухого остатка и разводили его в физиологическом растворе для дальнейшего применения мышам.

Фармакологические свойства экстракта из фитокомплекса испытывали на белых мышах в соответствии с [8].

Мышам ежедневно перорально в течение 7 дней вводили взвесь фитоэкстракта в следующих дозах: первая группа – 0,1 мл; вторая – 0,3 мл и третья – 0,5 мл. Мышам контрольной группы аналогичным способом применяли физиологический раствор в объеме 0,5 мл. В течение всего периода эксперимента отслеживали клинический статус животных. По окончании эксперимента у мышей была взята кровь для проведения ряда морфологических и биохимических исследований. Содержание гемоглобина определяли при помощи гемометра Сали, общий белок в сыворотке крови – рефрактометрическим методом, белковые фракции – нефелометрическим методом, малоновый диальдегид (МДА) – по тесту с тиобарбитуровой кислотой, сульфгидрильные

(SH) группы белков – фотоколориметрическим ультрамикрометодом. Фитоэкдистероиды методом высокоеффективной обратно-фазовой жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Перед началом и по окончании эксперимента мышей взвешивали. Состояние внутренних органов (печень, почки, селезенка) и их массу оценивали после эвтаназии и вскрытия [9].

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы Microsoft office 2007 (ASD). Достоверность полученных результатов – в соответствии с t-критерием Стьюдента при $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение. В сухом остатке водно-спиртового экстракта содержалось 6,5 мг/мл экстрактивных веществ фитокомплекса изучаемых трав (серпуха, левзея, лабазник). Соответственно, в 0,1 мл жидкого экстракта находилось 0,65 мг ($\approx 0,02$ г/кг живой массы), в 0,3 мл – 1,95 мг ($\approx 0,06$ г/кг) и в 0,5 мл – 3,25 мг ($\approx 0,1$ г/кг) сухого экстракта.

Динамика морфологических показателей крови у мышей в зависимости от дозы фитокомплекса представлена в таблице 1. Как видно из результатов исследований, достоверные изменения ($p<0,05$) отмечены у мышей 2-ой опытной группы: количество эритроцитов и гемоглобина увеличилось в сравнении с контролем на 45 и 6% соответственно.

Таблица 1

Морфологические показатели крови белых мышей в зависимости от дозы фитоэкстракта ($n = 15$) ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (физ. раствор)	Опыт (фитоэкстракт)		
		1 группа	2 группа	3 группа
Доза, мл	0,5	0,1	0,3	0,5
Эритроциты, $\times 10^{12}$ кл/л	$4,2 \pm 0,5$	$5,2 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,4^*$	$5,5 \pm 0,55^*$
Лейкоциты, $\times 10^9$ кл/л	$9,4 \pm 0,7$	$8,4 \pm 0,2$	$9,0 \pm 1,0$	$8,5 \pm 0,3$
Гемоглобин, г/л	$112 \pm 1,0$	$114 \pm 1,0$	$119 \pm 1,0^*$	$116 \pm 1,0$

* Достоверно по отношению к контролю при $p<0,05$

Результаты биохимических исследований представлены в таблице 2. Проведенный анализ показал, что общий белок в сыворотке крови мышей 2-ой опытной группы превышал результат в контроле на 7% ($p<0,05$), содержание альбуминов возросло на 4%, а-глобулинов снизилось на 39%, SH-группы белков сыворотки крови возросло на 54%, а МДА оказался ниже контрольного результата на 45% ($p<0,05$).

Некоторое возрастание альбуминов в протеинограмме сыворотки крови, SH-групп белков и снижение малонового диальдегида свидетельствует об улучшении антиоксидантного статуса в организме мышей. Влияние фитоэкстракта на

изменение некоторых морфо-биохимических показателей, с нашей точки зрения, объясняется воздействием флавоноидов и экдистероидов (основных индикаторов биологически активных веществ фитоэкстракта) на метаболические процессы в организме животных, что подтверждается и другими исследователями [2, 3, 6]. Изменения массы тела белых мышей в эксперименте представлено в таблице 3.

Достоверные изменения массы тела отмечены у мышей 2-ой опытной группы, масса тела которых возросла в сравнении с начальным результатом на 7,6%. В течение всего эксперимента у мышей всех групп отсутствовали

какие-либо отклонения от нормы в поведении, приеме корма, воды, мочеиспускании и дефекации. После извлечения печени, селезенки и почек путем визуального осмотра установлено, что

патологические изменения со стороны внутренних органов отсутствуют. Масса исследуемых внутренних органов белых мышей во всех группах не имела достоверных ($p>0,05$) отличий.

Таблица 2

Биохимические показатели крови белых мышей в зависимости от дозы фитоэкстракта ($n = 15$) ($M \pm m$)

Показатель крови	Контроль (физ. раствор)	Опыт (фитоэкстракт)		
		1 группа	2 группа	3 группа
Общий белок, г/л	61,2±0,2	62,2±0,5	65,5±0,3*	63,3±0,1
Альбумины, %	73,5±0,2	74,5±0,2	76,5±0,1	75,2±0,2
α-глобулины, %	14,2±0,1	13,2±0,1	8,7±0,1*	11,2±0,1*
β-глобулины, %	8,8±0,2	7,8±0,2	11,2±0,1	8,0±0,1
γ-глобулины, %	3,5±0,1	4,5±0,1	3,7±0,1	5,6±0,1*
SH -группы, ммоль/л	2,2±0,1	3,3±0,1*	3,4±0,1*	3,0 ±0,1*
МДА, мкмоль/л	6,3±0,5	4,3±0,5*	3,5±0,6*	3,4±0,5*

* Достоверно по отношению к контролю при $p<0,05$

Таблица 3

Масса тела мышей в зависимости от дозы фитоэкстракта, г ($n = 15$) ($M \pm m$)

Наименование	Контроль (физ. раствор)	Опыт (фитоэкстракт)		
		1 группа	2 группа	3 группа
Начало опыта	33,7±0,9	32,1±0,7	30,2±0,7	31,2±0,7
Окончание опыта	33,2±0,9	33,4±0,9	32,5±0,9*	32,4±0,2

* Достоверно в сравнении с началом опыта при $p<0,05$

Выходы. 1. В результате исследований установлено, что экстракт из фитокомплекса *Rhaponticum carthamoides*, *Serratula coronata*, *Filipendula ulmaria* при пероральном введении белым мышам не оказывал негативного влияния на показатели крови и внутренние органы. 2. Фитокомплекс способствовал оптимизации показателей антиоксидантного статуса организма (МДА, SH-группы) у мышей всех опытных групп. 3. Доза фитокомплекса 0,3 мл повышала концентрацию эритроцитов и гемоглобина в крови белых мышей, а масса тела возрастила в сравнении с начальным результатом на 7,6%.

Список литературы

- Ивановский А.А., Латушкина Н.А., Тимкина Е.Ю. Применение фитокомплекса на основе левзеи сафловидной и пробиотиков для повышения жизнеспособности поросят-отъемышей // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2015. №3 (46). С. 50-55.
- Амосова Е.Н., Харина Т.Х. Фармакологическая активность экстракта из *Serratula coronata* // Растительные ресурсы. 1989. Вып. 2. С. 258-262.
- Балтаев У.А. Фитоэcdистероиды: структура, источники и пути биосинтеза в растениях // Био-
- органическая химия. 2000. Т. 26. №12. С. 892-925.
- Мишурев В.П., Портнягина И.В., Рубан Г.А. Интродукция серпухи венценосной на Севере // Интродукция растений на европейском Северо-Востоке: Труды Коми ИЦ УрО РАН. Сыктывкар, 1995. 911 с.
- Милков А.А., Ивановский А.А. Применение серпухи венценосной телятам в составе кормовой смеси // Иппология и ветеринария. 2016. №1 (19). С. 84-90.
- Тимофеев Н.П. Исследования по эcdистероидам: использование в медицине, интернет-ресурсы, источники и биологическая активность // Биомедицинская химия. 2004. Т. 50. С. 133-152.
- Ивановский А.А., Латушкина Н.А., Тимкина Е.Ю. Исследование химического состава и токсических свойств фитокомплекса, содержащего биологически активные вещества // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2017. №4 (59). С. 58-62.
- Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. 832 с.
- Антонов Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: Биохимические и микологические. М.: Агропромиздат, 1991. 286 с.

Сведения об авторах:

Ивановский Александр Александрович, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией, Латушкина Наталья Александровна, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник, Тимкина Елена Юрьевна, кандидат сельскохозяйственных наук, учёный секретарь, e-mail: timkina.elena@mail.ru
ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», ул. Ленина, д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru

Effect of extract from herbal complex on the clinical and hematological status of white mice**A.A. Ivanovsky, N.A. Latushkina, E.Yu. Timkina**

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V.Rudnitsky, Kirov, Russian Federation

The article provides the results of studies conducted in 2017 on investigating the effect of the herbal extract of herbs (*R.carthamoides*, *S. coronata*, *F. ulmaria*) on the indices of the clinical condition (behavior, blood, internal organs) of non-linear white mice of both sexes with live weight 30 ± 1.0 g at the age of 3 months. The animals were divided into one control and three experimental groups of 15 mice each. The phytoextract dissolved in physiological solution was administered orally daily to the mice of the experimental groups for 7 days in doses: the first group 0.1 ml (0.65 mg of extractive substances), the second group 0.3 ml (1.95 mg) and the third group 0.5 ml (3.25 mg). In control - physiological solution in a dose of 0.5 ml. During the experiment, the general condition of the animals was observed. Before and after the experiment, the mice were weighed. When the experiment was completed, the mice were taken blood for a number of morphological and biochemical studies, including characterizing and antioxidant status. The effect of internal organs (liver, kidneys, spleen) on the mass was evaluated. The results of blood tests showed that in mice of the second experimental group, the number of erythrocytes in comparison with the control (4.2×10^{12} kl / l) increased by 45% (6.1×10^{12} kl / l), hemoglobin - by 6% (from 112 up to 119 g / l); total protein in serum by 7% (from 61.2 to 65.5 g / l), albumin - by 4% (from 73.5 to 76.5%), SH-group of proteins - by 54% (from 2.2 to 3.4 mmol / l), α -globulins decreased by 39% (from 14.2 to 8.7%), malonic dialdehyde - by 45% (from 6.3 to 3.5 μ mol / l) ($P < 0.05$). The body weight in the mice of the second test group increased in comparison with the initial result by 7.6%. During the whole experiment, the mice of all groups had no deviations from the physiological norm. It was established that there were no pathologies from internal organs. The mass of the studied internal organs of mice in all groups did not have significant ($P > 0.05$) differences and was within the regulatory limits.

Key words: phytocomplex, *F. ulmaria*, *R. carthamoides*, *S. coronata*, white mice, blood

References

- Ivanovskiy A.A., Latushkina N.A., Timkina E.Yu. *Primenenie fitokompleksa na osnove levzei saflorovidnoy i probiotikov dlya povysheniya zhiznesposobnosti porosyat-ot"emyshey*. [The use of a phytocomplex on the basis of levsea safflower and probiotics for increasing the viability of piglets-weaners]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2015. Vol. 46. no. 3. pp. 50-55.
- Amosova E.N., Kharina T.Kh. *Farmakologicheskaya aktivnost' ekstrakta iz Serratula coronata*. [Pharmacological activity of extract from *Serratula coronata*]. *Rastitel'nye resursy*. [Plant resources]. Moscow, 1989. Vol. 2. pp. 258-262.
- Baltaev U.A. *Fitoekdisteroidy: struktura, is-tochniki i puti biosinteza v rasteniyakh*. [Phytoecdysteroids: structure, sources and ways of bio-synthesis in plants]. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2000. Vol. 26. no. 12. pp. 892-925.
- Mishurov V.P., Portnyagina I.V., Ruban G.A. *Introduksiya serpukhi ventsenosnoy na Sever*. [Introduction of *S. coronata* in the North]. *Introduksiya rasteniy na evropeyskom Severo-Vostoke: Trudy Komi ITS UrO RAN*. [The introduction of plants in the European North-East: Proceedings of the Komi IC of the UrB RAS]. Syktyvkar, 1995. pp. 911.
- Milkov A.A., Ivanovskiy A.A. *Primenenie serpukhi ventsenosnoy telyatam v sostave kormovoy smesi*. [The use of *S. coronata* for calves in the composition of the feed mixture]. *Ippologiya i veterinariya*. 2016. Vol. 19. no. 1. pp. 84-90.
- Timofeev N.P. *Issledovaniya po ekdisteroidam: ispol'zovanie v meditsine, internet-resursy, is-tochniki i biologicheskaya aktivnost'*. [Studies on ecdysteroids: use in medicine, Internet resources, sources and biological activity]. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2004. Vol. 50. pp. 133-152.
- Ivanovskiy A.A., Latushkina N.A., Timkina E.Yu. *Issledovanie khimicheskogo sostava i toksicheskikh svoystv fitokompleksa, soderzhashchego biologicheski aktivnye veshchestva*. [Study of the chemical composition and toxic properties of a phytocomplex containing biologically active substances]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2017. Vol. 59. no. 4. pp. 58-62.
- Khabriev R.U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskemu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*. [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow: OAO "Izdatel'stvo "Meditina", 2005. 832 p.
- Antonov B.I. *Laboratornye issledovaniya v veterinarii: Biokhimicheskie i mikologicheskie*. [Laboratory tests in veterinary medicine: Biochemical and mycological]. Moscow: Agropromizdat, 1991. 286 p.

Information about the authors:

A.A. Ivanovsky, Doctor in Veterinary sciences, leading researcher, Head of the laboratory,
 N.A. Latushkina, PhD in Veterinary sciences, researcher,
 E.Yu. Timkina, PhD in Agricultural sciences, scientific secretary, e-mail: timkina.elena@ail.ru

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky,
 Lenina str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru