

МИРОШНИКОВ ПЕТР НИКОЛАЕВИЧ

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТОВ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И
САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА МОДЕЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Специальность: 1.5.5. Физиология человека и животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Новосибирск 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ)

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Жучаев Константин Васильевич

Официальные оппоненты: **Шацких Елена Викторовна**
доктор биологических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», заведующий кафедрой зооинженерии

Папуниди Эллада Константиновна
доктор биологических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»,
профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

Защита диссертации состоится «__» ____ 2025 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 35.2.025.01, созданного на базе ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ по адресу: 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ и на сайте <http://edubiotech.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Князев
Сергей Павлович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований и степень разработанности выбранной темы. Препараты на основе лекарственных растений представляют интерес для систем здравоохранения и ветеринарии ввиду наличия ряда преимуществ перед синтетическими аналогами, включая низкую токсичность, лучшую переносимость и сниженный риск выработки зависимости (Wang et al., 2023). Терапевтический эффект таких препаратов обеспечивают фитобиотики – природные соединения в составе растений, обладающие биологической активностью (Тимофеев, 2021). Адаптогенные свойства фитобиотиков способствуют укреплению системы естественной защиты живого организма, что может быть использовано в борьбе с такой критически важной проблемой, как окислительный стресс и его последствия (Коваль и др., 2016). Использование ряда фитобиотиков имеет перспективу в антибиотикозамещении благодаря наличию бактерицидных и бактериостатических свойств (Pandey et al., 2023).

В качестве перспективных источников фитобиотиков можно выделить душицу обыкновенную (лат. *Origanum vulgare* L.) и сабельник болотный (лат. *Comarum palustre* L.). Ранее проведенные исследования обнаружили у препаратов на основе душицы обыкновенной противомикробное (Kosakowska et al., 2021), антиоксидантное (Jafari et al., 2022) и седативное (Mohseni-Moghaddam et al., 2022) воздействие. Показано, что сабельник болотный повышает иммунитет животных (Титович и др., 2021) и оказывает общеукрепляющее действие при окислительных стрессах (Ярован, Комиссарова, 2015) и паразитарных заболеваниях (Титович, 2011). В то же время нет данных по биологической активности бесспиртовых экстрактов, исключающих проявления воздействия других компонентов экстрактов, например, этанола. Недостаточно изучено влияние препаратов на основе лекарственных растений, произрастающих на территории Западной Сибири и Алтая, на физиологические показатели и адаптивные качества модельных и продуктивных животных, включая особенности обмена веществ, этологические характеристики и стресс-реактивность. Недостаточно данных об испытаниях фитопрепаратов на нескольких видах животных в разных экспериментальных условиях. Выявление новых и комбинирование уже изученных эффектов фитобиотиков актуально для разработки биологически активных добавок и ветеринарных препаратов на основе лекарственных растений.

Цель исследований – оценка физиологических эффектов экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного при введении их в рацион модельных животных.

В связи с этим решались следующие **задачи**:

1. Разработать технологию получения бесспиртовых экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного, оценить биологическую активность полученных экстрактов по антиоксидантным и бактериостатическим свойствам;

2. Изучить изменения в морфологических и биохимических показателях крови, этологических и физиологических характеристиках лабораторных мышей при введении в рацион экстрактов;

3. Изучить изменения в морфофункциональных показателях тканей печени лабораторных мышей при введении в рацион экстрактов в норме и в условиях стресса;

4. Изучить изменения в морфологических и биохимических показателях крови, этологических и физиологических характеристиках поросят в молочный период и при отъеме от свиноматок.

Научная новизна. Впервые проведены комплексные исследования по оценке биологической активности бесспиртовых экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного, собранных на территории Алтайского края. Получены новые данные об изменениях в морфологических и биохимических показателях крови, этологических характеристиках, динамики роста, стресс-реактивности лабораторных и продуктивных животных при введении в рацион экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного, об антиоксидантных свойствах бесспиртовых экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного, а также о противомикробных свойствах и влиянии экстракта душицы обыкновенной на морфофункциональное состояние тканей печени мышей в условиях стресса. Впервые изучены противомикробные свойства и проведено исследование влияния бесспиртового экстракта сабельника болотного на морфофункциональное состояние тканей печени мышей в условиях стресса.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработана и запатентована методика получения экстрактов из сырья лекарственных растений. Проведены комплексные испытания экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного *in vitro* и *in vivo* на модельных животных для потенциального их использования в составах биологически активных добавок и функциональных продуктов. Материалы исследований включены в программу дисциплины «Физиология питания» учебного плана по направлению подготовки бакалавриата 19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания.

Методология и методы исследования. Методологическая основа исследований – комплексный подход к изучению объектов исследований, работы А.И. Овсянникова, J. Selye, C.S. Hall, Е.Б. Меньшиковой, С.Е. Северина и других. В ходе работы применялись физико-химические, химико-аналитические, микробиологические, этологические, биохимические и гематологические методы, методы модельного стрессирования, зоотехнические, морфометрические методы, а также методы анализа и статистической обработки полученных данных.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Бесспиртовые экстракты из растений душицы обыкновенной и сабельника болотного, собранных на территории Алтайского края, обладают высокой антиоксидантной активностью и бактериостатическим воздействием по отношению к золотистому стафилококку.
- Ответ организма животных на введение в рацион экстрактов зависит от ряда факторов, включая видовую принадлежность, пол и функциональное состояние.
- Введение в рацион двухмесячных самок мышей экстракта сабельника болотного приводит к интенсификации в их организме процессов белкового и углеводного обмена веществ.
- Введение в рацион экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного в экспериментальной дозировке приводит к антигенной нагрузке на печень лабораторных мышей, при этом в сочетании с модельным стрессом снижается уровень сублетальных повреждений гепатоцитов.
- В условиях производственной технологии введение в рацион поросят экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного вызывает адаптационный ответ организма.

Степень достоверности и апробация результатов исследований. Достоверность полученных результатов обеспечивается дизайном экспериментов, объемом исследуемого материала, набором адекватных методов исследований и статистической обработки данных. Результаты диссертационного исследования представлены: на заседаниях ученого совета биолого-технологического факультета ФГБОУ ВО Новосибирского ГАУ (2019, 2020, 2021, 2022), Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по СФО в ФГБОУ ВО Омский ГАУ (Омск, 2021), XVII Международной научно-практической конференции молодых ученых «Инновационные тенденции развития Российской науки» (секция «Ветеринарная медицина и биотехнологии») (Красноярск, 2024), финале программы поддержки Фонда содействия инновациям «Старт-Взлёт» (Новосибирск, 2024), IX Всероссийской (национальной) научной конференции «Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий» (Новосибирск, 2024). Работа была признана победителем в финале программы поддержки коммерчески ориентированных научно-технических проектов молодых ученых «УМНИК-2021» в секции «Биотехнология» и профинансирована грантом Новосибирского областного Фонда содействия инновациям (договор № 17983ГУ/2022 от 25.05.2022).

Публикации. Результаты диссертационного исследования опубликованы в девяти статьях, в том числе три - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук по специальности

1.5.5. «Физиология человека и животных». По результатам работы зарегистрирован один патент на изобретение.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 154 страницах печатного текста, содержит 14 таблиц, 19 рисунков и 1 приложение. Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, рекомендации по результатам исследований, библиографический список, приложения. Библиографический список (300 источников, из них 129 иностранных) занимает 39 страниц печатного текста.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе приведен аналитический обзор о возможности применения фитопрепаратов для борьбы с окислительным стрессом и в качестве альтернативы антибиотикам и гормональным стимуляторам роста. Представлены литературные данные о составе и биологическом воздействии душицы обыкновенной и сабельника болотного.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для оценки эффективности экстрактов душицы обыкновенной (ДО) и сабельника болотного (СБ) был проведен комплекс исследований, включающий определение содержания флавоноидов и антиоксидантной активности (АОА) экстрактов, оценку их противомикробных свойств, оценку влияния на физиологический статус лабораторных мышей, оценку влияния на морфофункциональные показатели тканей печени лабораторных животных в нормальных условиях и при модели стресса, оценку влияния на физиологический статус и продуктивность молодняка свиней (рисунок 1).

Сырьем для производства экстрактов стали растения ДО и СБ, произрастающие на территории Алтайского края. Технология изготовления бесспиртовых экстрактов описана в патенте № 2791450 «Способ получения экстрактов из лекарственного сырья» и включает в себя такие стадии, как сушка растительного сырья, измельчение, двухфазная спиртовая экстракция, вакуумная фильтрация и отгон спирта на роторном испарителе при 50° С.

Исследование содержания флавоноидов в экстрактах ДО и СБ выполнено на базе химико-аналитического отдела АО «Сибирский Центр Фармакологии и Биотехнологии». Использовали колориметрический метод с алюминий хлоридом с пересчетом на рутин, ориентированный на определение содержания групп веществ флавонолов и спектрофотометрический метод определения содержания проантоцианидинов в пересчете на процианидин В2 (ГОСТ 34623-2019).

Измерение оптического поглощения проводилось на спектрофотометре «Helios Omega UV/vis» (Thermo Scientific, США).



Рисунок 1 – Схема исследования

Определение АОА проводили в лаборатории кафедры химии Новосибирского государственного аграрного университета (НГАУ) на анализаторе АОА «Антиоксидант» (ООО «НПП Полиант», Томск) с использованием метода катодной вольтамперометрии, разработанного Е.И. Коротковой (2000). На основании полученных данных по содержанию в исследуемых экстрактах флавоноидов были предложены и использованы следующие экспериментальные дозировки: 20 мл на 1 кг живой массы (ЖМ) в сутки в опытах на мышах и 10 мл на 1 кг ЖМ в опытах на поросятах ежесуточно для обоих экстрактов.

Исследование противомикробной активности было проведено в условиях микробиологической лаборатории Испытательного лабораторного комплекса НГАУ. Для сравнительного анализа в опыте были использованы бесспиртовые (БЭ) и спиртовые экстракты (СЭ) ДО и СБ. Для оценки противомикробной активности экстрактов был использован метод луночной диффузии в агар (ГФ РФ, 2018). Для опыта были выбраны три распространенные в животноводстве патогенные культуры (Gerba, Smith, 2015) и соответствующие контрольные антибиотики: грамотрицательная кишечная палочка (амоксациллин) и сальмонелла энтерика

(гентамицин) и грамположительный золотистый стафилококк (оксациллин). Замеры зон подавления производили при помощи штангенциркуля, результаты выражали в виде среднего диаметра образованной зоны. Каждая культура микроорганизмов была исследована в 5 повторностях.

Исследования поведенческих признаков мышей проведены на базе лаборатории структуры и динамики популяций животных Института систематики и экологии животных. В опыте использовали 54 особи двухмесячных разнополых мышей линии ICR. Животные были приобретены в Научно-исследовательском институте экспериментальной и клинической медицины (Новосибирск). Эксперимент проводился в течение четырех недель. Животных содержали по три однополые особи с соблюдением зоогигиенических норм. Стандартный рацион (СР) животных контрольной группы состоял из гранулированного корма «Чара», мыши первой опытной дополнительно получали 20 мл на 1 кг ЖМ экстракта ДО, мыши второй опытной – 20 мл/кг экстракта СБ ежедневно. Оценка влияния потребления экстрактов на поведение грызунов была осуществлена в тесте «открытое поле» (Пермяков и др., 2015). Регистрировали латентное время выхода животного из центральной зоны арены, количество пересеченных им секторов отдельно для центра и периферии арены и общее (горизонтальная активность (ГА)), число вертикальных стоек (вертикальная активность (ВА)) и обнюхивания отверстий в полу арены, актов груминга, дефекации и уринации, подсчитывали число фекальных болюсов.

Гематологические исследования крови мышей проводились при помощи ветеринарного автоматического гематологического анализатора Exigo EOS (Boule Medical A.B., Швеция), биохимическое исследование плазмы проводилось на анализаторе иммуноферментных реакций АИФР-01 УНИПЛАН (Пикон, Россия) в лаборатории адаптации и благополучия животных НГАУ. Определяли содержание эритроцитов и гемоглобина, гематокрит и средний объем эритроцита, а также содержание лейкоцитов и лимфоцитов, содержание кальция, фосфора, холестерина, мочевины, глюкозы, триглицеридов, общего белка и альбуминов. В течение опыта велся учет динамики изменения живой массы животных и потребления жидкости.

Оценка влияния экстрактов на морфометрические характеристики тканей печени лабораторных мышей в условиях модели стресса проводилась на базе научно-образовательного центра «Экспериментальная и прикладная биология» Новосибирского государственного педагогического университета (НГПУ). Объектом исследования являлись 60 разнополых лабораторных мышей линии CD-1. Лабораторные животные содержались по 5 однополых особей в стандартных клетках в условиях вивария НГПУ с соблюдением зоогигиенических норм в течение четырех недель. Животные в опытных группах ежедневно подвергались воздействию стресса методом «tail handling» (Henderson et al., 2020) – в течение 5 минут мышь удерживается за

хвост в подвешенном состоянии, с увеличением времени удержания до 10 минут во второй половине опыта. Было сформировано 6 экспериментальных групп, по 10 особей в каждой: 1 – контрольная группа со СР; 2 – СР + 20 мл/кг живой массы экстракта СБ; 3 – СР + 20 мл/кг экстракта ДО; 4 – СР + воздействие стресса; 5 – СР + воздействие стресса + 20 мл/кг экстракта СБ; 6 – СР + воздействие стресса + 20 мл/кг экстракта ДО. Изучение общей морфологической картины осуществляли на обзорных препаратах, окрашенных гематоксилином Бёмера и эозином (Семченко и др., 2006). Распределение коллагена в тканях определяли по Маллори (Хонин и др., 2004). Гистологические препараты печени всех экспериментальных групп изучали в проходящем свете с помощью микроскопа Axio Imager.M2 с программным обеспечением для анализа изображений AxioVision Z2 M2 (CARL ZEISS, Германия).

Оценка влияния экстрактов на физиологические показатели и продуктивность молодняка свиней проведена на базе свинофермы учхоза «Тулинское». Объектом исследования стал молодняк свиней приобского типа скороспелой мясной породы (СМ-1) с 21-дневного до 52-дневного возраста, продолжительность эксперимента составила один месяц. По методу групп-аналогов (Овсянников, 1976) было сформировано три группы поросят: контрольная (10 голов), получавшая СР (зернобобовая каша на коровьем молоке), первая опытная (15 голов), получавшая в дополнение к СР 10 мл/кг экстракта ДО и вторая опытная (15 голов), получавшая в дополнение к СР 10 мл/кг экстракта СБ. На 21-й и 42-й дни жизни у всех животных был проведен забор крови для биохимического и гематологического анализов (содержание эритроцитов, гематокрит, средний объем эритроцита, содержание гемоглобина, содержание лейкоцитов, содержание кальция, фосфора, холестерина, мочевины, общий белок плазмы, содержание глюкозы и триглицеридов и концентрация кортизола), измерена живая масса и оценена стресс-чувствительность. Для оценки стресс-чувствительности поросят были использованы тест «иммобилизации» (Hessing et al., 1993) и метод «кризиса отъема» (Коваленко, 1988). Оценку пищевой активности проводили путем измерения времени, необходимого поросётам для полного сьедания корма.

Критическим уровнем значимости принято значение $p < 0,05$. В случае отсутствия значимых половых различий, соответствующие данные объединяли. Данные в тексте представлены как $M \pm SEM$, планки погрешностей на рисунках обозначают ошибки средних. Межгрупповую изменчивость анализировали с применением многофакторного дисперсионного анализа (Factorial ANOVA), дисперсионного анализа с повторными измерениями (Repeated measures ANOVA) и теста LSD из его арсенала. Влияние фактора внесения экстрактов на показатели крови анализировали с применением дисперсионного анализа (Main effect ANOVA). Для определения нормальности распределения применяли критерий Шапиро-Уилка, при нормальном

распределении применяли однофакторный дисперсионный анализ с расчетом t-критерия с использованием поправки Бонферрони, при несоответствии нормальному распределению – U-критерий Манна-Уитни. Все вычисления выполнены с использованием пакета статистического анализа данных STATISTICA 12 и пакета анализа данных в Microsoft Office Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Антиоксидантная и противомикробная активность экстрактов

Флавоноиды обладают высокой АОА и способны укреплять естественную антиоксидантную защиту в организме животных (Меньщикова, 2012). Основные группы флавоноидов, определяющие антиоксидантную активность экстрактов растений – проантоцианидины (Nallathambi et al., 2020) и флавонолы (Сенчук и др., 2001).

Результаты спектрофотометрических анализов экстрактов на содержание флавонолов и проантоцианидинов представлены в таблице 1. Согласно проведенным анализам, в составе экстракта СБ содержание флавонолов оказалось незначительным в сравнении с их высокой концентрацией в экстракте ДО, при этом средний показатель содержания проантоцианидинов в экстракте СБ составил 4,05 %, в экстракте ДО были обнаружены следы их присутствия (0,43 %). Для сравнения, содержание суммы проантоцианидинов СБ, произрастающего на территории Республики Беларусь, в среднем составляет около $3,8 \pm 0,1$ % (Ёршик и др., 2008), количественное содержание флавоноидов в ДО, произрастающей на территории Астраханской области, составляет 1,28 % (Полухина и др., 2017).

Таблица 1 – Содержание флавоноидов в опытных экстрактах, %

Показатель	ДО	СБ
Содержание флавонолов	$0,867 \pm 0,41$	$0,06 \pm 0,15$
Содержание проантоцианидинов	$0,43 \pm 0,08$	$4,05 \pm 0,14$
Всего	1,3	4,11

Исследование суммарной АОА образцов показало, что среднее значение коэффициента для экстракта СБ составило $11,63 \pm 1,17$ ммоль/л×мин, а для ДО $3,81 \pm 0,19$ ммоль/л×мин. Для сравнения были измерены коэффициенты стандартов природных антиоксидантов – галловой кислоты ($2,992 \pm 0,008$ ммоль/л×мин) и дигидрокверцетина ($1,46 \pm 0,001$ ммоль/л×мин).

Известно, что экстракты растений с высоким содержанием фенольных соединений обладают бактерицидными свойствами (Lomovski et al., 2023) и потенциально могут быть использованы в качестве альтернативны антимикробным препаратам.

Как спиртовые, так и бесспиртовые экстракты образовали зоны подавления по отношению к *Staphylococcus aureus* (рисунок 2). Наиболее значительные зоны подавления (1,86 см) были образованы вокруг лунок с БЭ ДО, которые были достоверно ($p < 0,01$) больше, чем в образцах со спиртовым экстрактом ДО.

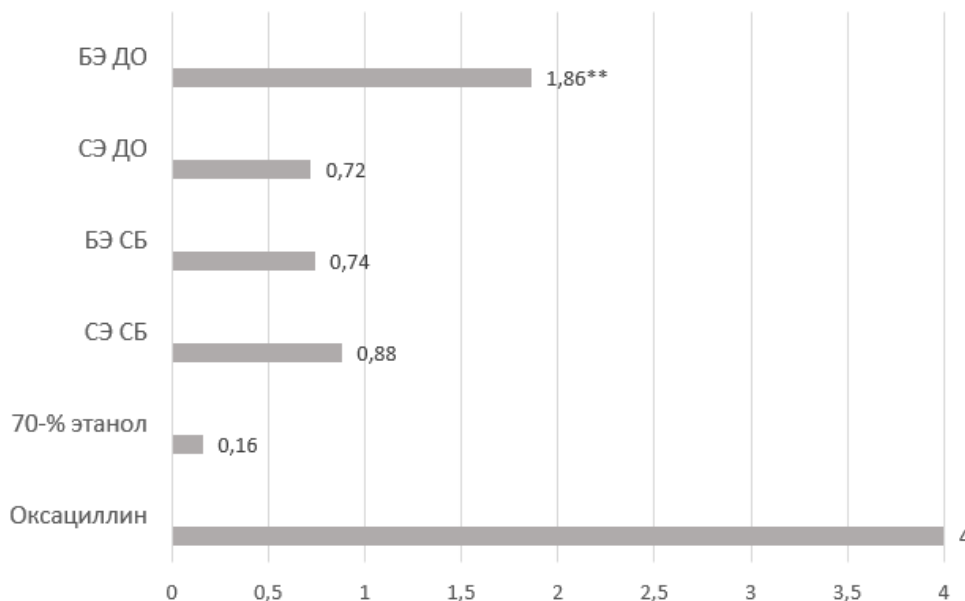


Рисунок 2 – Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus*, см. ** – $p < 0,01$

В эксперименте с *Escherichia coli* и *Salmonella enterica* исследуемые БЭ не проявили противомикробной активности. Небольшие зоны подавления образовали спиртовые экстракты и 70%-ный этанол, что, очевидно, является проявлением противомикробной активности этилового спирта.

Таким образом, исследуемые экстракты имеют высокую антиоксидантную активность и бактериостатические свойства.

3.2 Влияние экстрактов на этологические и физиологические показатели лабораторных мышей

Тест «открытое поле» показал, что во всех группах мышей (кроме самцов, потреблявших экстракт ДО) было обнаружено снижение латентного времени выхода животного из центральной зоны арены, снижение количества вертикальных стоек и суммарной ГА, увеличение количества актов груминга, дефекации (следовательно, и количества фекальных болюсов) и уринации (кроме самок, потреблявших экстракт ДО) в сравнении с фоновыми показателями (таблица 2). Вероятнее всего, это связано со спадом эффекта «новизны» тестирования (Вдовина и др., 2010).

Таблица 2 – Этологические показатели мышей на конец опыта

Показатель	Контроль, $\bar{x} \pm S \bar{x}$		ДО, $\bar{x} \pm S \bar{x}$		СБ, $\bar{x} \pm S \bar{x}$	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Латентное время	3,56±0,59	2,89±0,60	4,89±0,80	3,78±1,07	2,67±0,56	3,22±0,79
ВА	7,89±2,81	11,56±3,07	11,67±2,84	10,56±2,24	13,89±3,37	8,89±2,25
ГА в центре	16,56±4,35	13,44±3,40	15,78±4,86	9,89±3,27	20,78±5,68	16,11±3,75
ГА на периферии	51,44±4,46	54,33±5,39	52,44±6,67	46,78±3,28	47,89±5,03	57,11±5,54
ГА сумма	68,00±8,20	67,78±7,18	68,22±11,19	56,67±4,56	68,67±9,25	73,22±8,03
Груминг	0,89±0,59	0,55±0,19	0,22±0,16	0,78±0,16	0,56±0,19	0,78±0,24
Акты дефекации	2,22±0,61	1,89±0,45	1,44±0,83	2,00±0,43	2,11±0,48	2,78±0,52
Число фекальных боллюсов	3,33±0,97	2,22±0,58	1,44±0,83	2,22±0,49	2,22±0,46	3,11±0,62
Уринация	0,11±0,11	0,11±0,11	0,11±0,11	0,11±0,11	0,56±0,26	0,89±0,21
Обнюхивание отверстий	10,11±1,44	9,67±1,21	8,89±1,78	10,89±1,45	12,56±1,26	11,11±1,53

Чтобы отнести поведенческий акт к одной из функционально-мотивационных групп, был использован факторный анализ. Фактор двигательной активности был сформирован следующими элементами: ГА и ВА, а также отрицательным значением латентного времени выхода животного из центральной зоны. Фактор эмоциональной активности включал следующие элементы: акты дефекации и число фекальных боллюсов (Hall, 1934). Анализ показал, что при повторном тестировании двигательная активность животных снизилась во всех группах, без значимого влияния опытных экстрактов. По показателю эмоциональности между группами наблюдались различия: у самцов, потреблявших экстракт ДО, эмоциональность была ниже, чем у самцов контрольной группы ($p<0.05$) и группы, потреблявшей экстракт СБ ($p<0.05$) (рисунок 3). Это соотносится с литературными данными о наличии у ДО седативных свойств (Боков, Морохина, 2012; Mohseni-Moghaddam et al., 2022).

Достоверных различий по динамике изменения живой массы между опытными группами и контролем обнаружено не было. Наиболее выраженные тенденции (при $p=0.08$) изменения в живой массе наблюдались у самок, потреблявших экстракт СБ: их масса была на 6% больше, а среднесуточный прирост был на 14,3 % выше, чем в контрольной группе. Потребление жидкости с экстрактом СБ ко 2-й неделе эксперимента значительно увеличилось ($p<0,05$) по сравнению с фоном, как и потребление жидкости с экстрактом ДО ($p<0,001$), превзошедшее другие группы. К концу опыта на 4-й неделе потребление жидкости во всех группах уравнилось.

Показатели крови во всех группах не выходили за пределы референсных значений по М.В. Мирошникову и М.Н. Макарову (2021). Отмечены такие возрастные изменения, как понижение содержания лейко- и лимфоцитов, кальция, фосфора, триглицеридов; повышение содержания

глюкозы и мочевины (таблица 3). Показатель общего белка увеличился у самцов и снизился у самок. Дисперсионный анализ показал, что фактор потребления исследуемых экстрактов значимо ($F=2.30$, $p<0.05$) повлиял на такие показатели, как содержание глюкозы, холестерина и общего белка в сыворотке крови мышей.

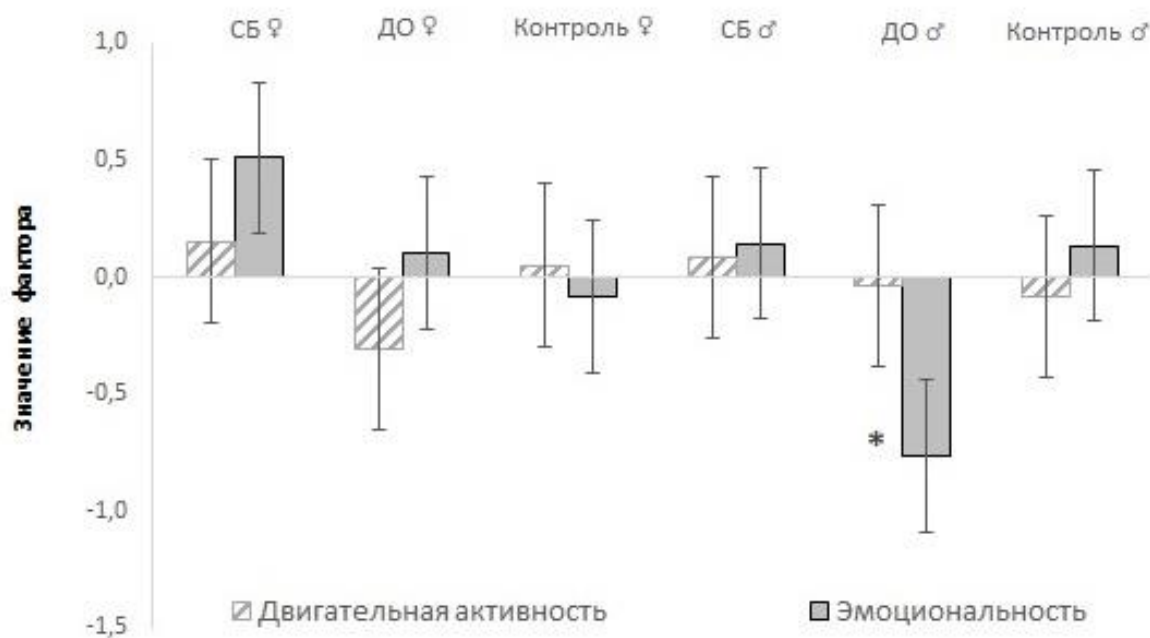


Рисунок 3 – Различия в поведении у разных экспериментальных групп при повторном тестировании. * – $p < 0,05$

Наиболее выраженные изменения были зафиксированы у самок, потреблявших экстракт СБ. В данной группе отмечено значимое увеличение показателей содержания глюкозы и общего белка и снижение содержания холестерина в сравнении с контролем. Так как снижение концентрации холестерина часто сопровождается обменными сдвигами в пользу углеводов и белков, а рациональное использование повышенных концентраций глюкозы возможно только при сохранении белкового баланса (Рослый, 2021), то данные изменения могут говорить о более активно протекающем процессе глюконеогенеза и интенсификации всего обмена веществ (Сержантова, Себежко, 2004).

Таблица 3 – Гематологические и биохимические показатели крови мышей в экспериментальных группах в конце опыта

Показатель	Контроль, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$		ДО, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$		СБ, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,09±1,23	9,43±0,20	8,19±1,04	9,34±0,23	8,15±1,37	8,75±0,73
Ср. объем эритроц., fl	47,88±1,34	49,74±1,65	46,98±0,94	46,71±0,37	46,80±0,82	46,61±0,70
Гемоглобин, г/л	115,33±19,88	158,67±2,38	132,67±16,11	156,67±2,74	119,56±23,42	144,67±11,91
Гематокрит, %	34,59±6,22	46,80±1,47	37,93±4,69	43,60±0,91	35,54±7,33	40,76±3,51
Лейкоциты, $10^9/л$	7,12±1,29	8,14±0,51	8,16±1,43	7,68±0,37	6,42±1,39	7,43±0,86
Лимфоциты, $10^9/л$	5,07±0,95	6,28±0,36	5,61±0,90	5,85±0,22	4,22±0,89	5,44±0,62
Са, ммоль/л	2,63±0,11	2,94±0,17	2,71±0,08	2,56±0,07	2,63±0,11	2,53±0,09
Р, ммоль/л	2,69±0,41	3,59±0,85	3,59±0,87	2,38±0,23	2,08±0,19	2,37±0,43
Глюкоза, ммоль/л	8,27±0,57	7,67±0,43	9,33±0,61	8,49±0,46	9,21±0,64	9,18±0,44*
Общий белок, г/л	53,17±1,60	50,98±1,14	53,21±1,51	51,75±1,39	53,97±3,19	56,03±1,51**
Мочевина, ммоль/л	7,75±0,14	7,56±0,32	8,01±0,32	7,94±0,33	9,10±0,82	8,02±0,33
Холестерин, ммоль/л	2,57±0,13	2,79±0,38	2,38±0,16	2,31±0,21	2,16±0,24	1,88±0,23*
Триглицериды, ммоль/л	1,01±0,11	0,88±0,11	1,15±0,07	1,12±0,05	1,07±0,17	1,07±0,08

Примечание: различия с контрольной группой достоверны при * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Учитывая также тенденцию к увеличению прироста живой массы, можно сделать вывод, что введение в рацион экстракта СБ обуславливает в организме самок преобладание анаболических процессов над катаболическими (Дурнова и др., 2021).

3.3 Влияние экстрактов на морфофункциональные показатели лабораторных мышей в условиях стресса

Гистологический анализ показал, что печень мышей контрольной группы имела характерное для данного органа морфологическое строение. В группах, получавших экстракты, отмечено повышение количества тканевых макрофагов, свидетельствующее о действии экстрактов как фактора антигенной нагрузки, повышающего функциональный резерв клеток печени. В группе, получавшей СБ, выявлено высокое содержание и активность двуядерных гепатоцитов, расширение кровеносных капилляров и повышение экспрессии коллагена.

В препаратах печени мышей с моделью стресса обнаружено нарушение тинкториальных свойств паренхимы. Обнаруживалось снижение реакции в цитоплазме гепатоцитов всех зон на РНК и белки (рисунок 4 А). Типичной характеристикой в группе являлся высокий уровень мобилизации гликогена (рисунок 4 Б). При сублетальном повреждении в цитоплазме гепатоцитов отмечалась локализация обширных оптически прозрачных участков, характерных для гидропической дистрофии. При летальном повреждении выявлялись клетки как с признаками

колликвационного некроза, так и апоптоза (рисунок 4 Б, В). В строме печени, как результат повреждения ее структурных элементов, отмечалось усиление функциональной активности макрофагов и повышенный уровень экспрессии коллагена (рисунок 4 В, Г).

Локализация структурно-функциональных нарушений в дольке печени экспериментальной группы с экстрактом СБ и моделью стресса была преимущественно ограничена интермедиарной зоной (рисунок 5 А). Однако, повреждения паренхимы печени в своем большинстве были ограничены гидропической дистрофией гепатоцитов (рисунок 5 Б), что в известной мере является обратимым процессом. Морфологическая картина органа дает основания считать, что применение экстракта привело к адаптивной цитофизиологической перестройке.

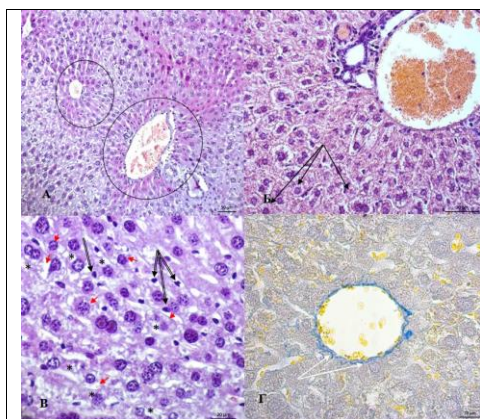


Рисунок 4 – Образцы печени мышей четвертой группы (СР + стресс)

Примечание. А, Б, В – окрашивание гематоксилином и эозином; Г- по Маллори.

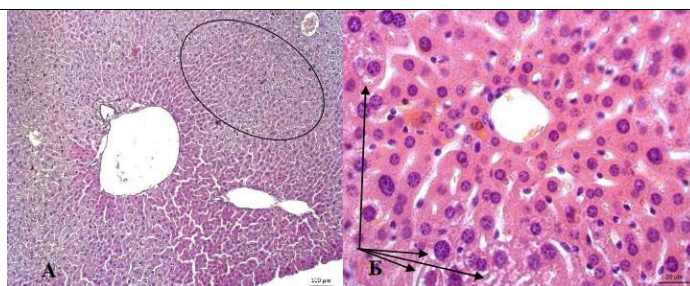


Рисунок 5 – Образцы печени мышей пятой группы (СР + СБ + стресс)

Примечание. А, Б – окрашивание гематоксилином и эозином

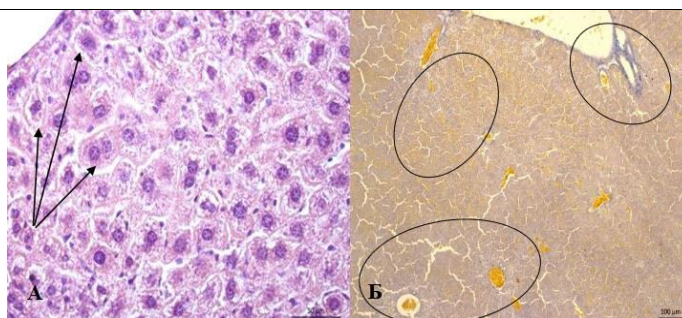


Рисунок 6 – Образцы печени мышей шестой группы (СР + ДО + стресс)

Примечание. А – окрашивание гематоксилином и эозином; Б – по Маллори

Данные морфологического анализа позволяют считать, что компоненты экстракта ДО прямо или опосредованно снизили уровень повреждения структурных компонентов клеток. Доказательством данного заключения являлось ограничение локуса обводнения цитоплазмы клеток преимущественно субмембранным компартментом (рисунок 6 А) и снижение уровня экспрессии коллагена, которое заметно по тинкториальным характеристикам печени при окрашивании на данный белок по Маллори (рисунок 6 Б).

3.4 Влияние экстрактов на физиологические показатели и продуктивность молодняка свиней

При планировании опыта на молодняке свиней были учтены два критически важных периода – достижение поросятами 21-го дня жизни и отъем, когда поросята подвергаются воздействию комбинации стрессоров и наиболее уязвимы к факторам внешней среды (Карпуть, Бабина, 2006).

На протяжении всего опыта сохранность животных во всех группах составила 100%. Введение в рацион поросят опытной группы экстракта ДО позволило получить дополнительный прирост живой массы 2,17% с тенденцией увеличения среднесуточного прироста на 6,87% в сравнении с контрольной группой. Введение экстракта СБ позволило увеличить прирост живой массы на 3,96% и статистически значимо ($p < 0.05$) увеличить среднесуточный прирост на 11,09 % в сравнении с контрольной группой.

Тест «иммобилизации» выявил преобладание во всех трех группах стресс-чувствительных животных, с увеличением их количества до 90% при повторном тестировании. Метод «кризис отъема» показал, что в контрольной и опытной группе с экстрактом СБ половина поросят сложнее перенесли отъем, при этом в группе с экстрактом ДО 2/3 поросят проявили тенденцию ($p = 0,07$) к стресс-резистентности.

Исследование пищевой активности показало, что, начиная со второй половины опыта, поросята в опытных группах стали поедать корм быстрее и охотнее (на 19,2 % для СБ и 5,7 % для ДО), в контрольной же группе пищевая активность снизилась на 5,9 %. В опытной группе с экстрактом СБ скорость поедания корма в этот период была достоверно ($p < 0.01$) выше в сравнении как с контролем, так и с показателями в первой половине опыта.

Результаты анализа крови поросят после потребления экстрактов в течение трех недель представлены в таблице 4. У поросят во всех трех группах показатели среднего объема эритроцита и гематокрит находились ниже референсных норм, что может быть связано с распространенной у свиней в молочном периоде склонностью к железодефицитной анемии (Дельцов, 2008). В группах также обнаружено низкое содержание фосфора (соотношение к кальцию более 1:5), очевидно, алиментарного характера и сниженная концентрация лимфоцитов, ниже рекомендуемых возрастных норм (48-57 % против 90 %) (Петряков, Денисова, 2021). Содержание кортизола в крови всех животных было выше референсных значений во всех экспериментальных группах. Согласно закону отклонения гомеостаза (Дильман, 1982), любая адаптивная реакция сопровождается выбросом гормонов, включая глюкокортикоиды, которые приводят к значительным биохимическим изменениям. Также повышенное содержание кортизола сопровождается торможением клеточного иммунного ответа (Agey, 1991).

Таблица 4 – Гематологические и биохимические показатели крови свиней в экспериментальных группах в конце опыта

Показатель	Контроль, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	ДО, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	СБ, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Референсные значения (Борисенко, Петряков)
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,01±0,37	5,74±0,57	5,95±0,42	3,9-5,5
Ср. объем эритроц., fl	48,63±1,62	53,76±1,18**	53,69±0,56***	76-97
Гемоглобин, г/л	97,50±5,03	116,1±5,28	113,8±65,82	103-141
Гематокрит, %	28,96±1,63	31,18±2,89	32,07±2,36	31,7-42,2
Лейкоциты, $10^9/л$	14,0±1,65	15,79±3,12	18,67±1,41*	5-14,5
Лимфоциты, $10^9/л$	7,97±1,19	7,51±1,53	9,12±0,74	13,6±0,4
Са, ммоль/л	2,65±0,09	2,64±0,06	2,67±0,09	2,0-3,5
Р, ммоль/л	0,65±0,06	0,54±0,05	0,52±0,05	1,5-3,5
Глюкоза, ммоль/л	7,34±0,60	6,68±0,35	6,01±0,45	2,9-8,1
Общий белок, г/л	67,96±5,13	56,89±2,64*	56,70±3,31*	51-90
Мочевина, ммоль/л	4,46±0,25	4,30±0,10	4,14±0,09	1,2-8,9
Холестерин, ммоль/л	2,06±0,04	1,91±0,04*	1,95±0,05	1,0-3,3
Триглицериды, ммоль/л	0,63±0,04	0,59±0,03	0,61±0,03	0,5 – 1,0
Кортизол, ммоль/л	122,0±10,30	116,47±11,12	128,33±9,17	70-105

Примечание: различия с контрольной группой достоверны при * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

В условиях производства в опытных группах поросят, получавших экстракты, зафиксированы адаптационные изменения. Обнаружено превышающее нормы содержание лейкоцитов. По показателям метаболического обмена отмечена тенденция к снижению содержания глюкозы, холестерина, мочевины и значимое ($p < 0,05$) снижение концентрации общего белка, что свидетельствует как о снижении белково-синтетической функции печени под воздействием антигенной нагрузки опытных экстрактов, так и о более интенсивном использовании белка организмом (Камышников, 2009), что опосредованно подтверждается увеличением прироста массы животных.

ВЫВОДЫ

1. Бесспиртовые экстракты из растений душицы обыкновенной (лат. *Origanum vulgare* L.) и сабельника болотного (лат. *Comarum palustre* L.), собранные на территории Алтайского края, обладают высокой антиоксидантной активностью и бактериостатическими свойствами по отношению к *Staphylococcus aureus*. Экстракт сабельника болотного с общей преобладающей концентрацией флавоноидов в составе (4,11%) продемонстрировал существенно ($p < 0,001$) больший коэффициент суммарной антиоксидантной активности (11,63 ммоль/л×мин). Экстракт душицы обыкновенной образовал более выраженные зоны подавления роста колоний золотистого стафилококка ($X=1,86$ см).

2. Выявлены различия в реакции на экстракты в связи с видом, полом и функциональным состоянием животных. В лабораторных условиях у двухмесячных самок мышей, употреблявших экстракт сабельника болотного, отмечено снижение содержания холестерина и увеличение уровня глюкозы и общего белка в сыворотке крови, что является признаками интенсификации обмена веществ. В производственных условиях свиноводческой фермы у молодняка свиней употребление опытных экстрактов привело к повышению концентрации лейкоцитов и понижению содержания белка в крови, что может быть интерпретировано как признаки антигенной нагрузки.

3. У мышей в опытных группах с экстрактами обнаружены признаки антигенной нагрузки в тканях печени в виде повышения экспрессии коллагена и увеличения численности тканевых макрофагов. Однако при сочетании моделирования стресса с введением экстрактов выявлен меньший уровень повреждения тканей печени, ограниченный в своем большинстве обратимой гидропической дистрофией гепатоцитов.

4. Седативное действие бесспиртового экстракта душицы обыкновенной в опыте на мышах выражалось в снижении показателя эмоциональной активности самцов мышей при сохранении фоновых значений латентного времени выхода из центральной зоны арены в тесте «открытое поле». В опыте на свиньях в группе с душицей выявлена тенденция к большей устойчивости поросят к отъемному стрессу.

5. Животные в опытных группах достоверно активнее потребляли воду и корм в сравнении с контролем, высокая пищевая активность сопровождалась улучшением динамики прироста живой массы. Это делает перспективным использование исследуемых экстрактов в качестве функциональных вкусо-ароматических добавок.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследовать возможность использования бесспиртовых экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного (патент № 2791450 от 07.03.2023) в составах гиполипидимических, противомикробных, адаптогенных, антиоксидантных и общеукрепляющих биологически активных добавок и функциональных продуктов.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Влияние экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного на физиологический статус и продуктивность молодняка свиней / **П.Н. Мирошников**, К.В. Жучаев, Е.А. Борисенко [и

др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 256, № 4. – С. 168-177.

2. Влияние экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного на поведение модельных животных в тесте «открытое поле» / **П.Н. Мирошников**, П.А. Задубровский, Е.А. Новиков, К.В. Жучаев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2024. – Т. 260, № 4. – С. 138-147.

3. Влияние экстрактов лекарственных растений Алтайского края на гематологический и биохимический профили лабораторных мышей / **П.Н. Мирошников**, К.В. Жучаев, П.А. Задубровский [и др.] // Генетика и разведение животных. – 2024. – № 2. – С. 5-11.

патент

4. Патент № 2791450 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/00, В01Д 11/02. Способ получения экстрактов из лекарственного сырья: № 2022112703: заявл. 05.05.2022: опубл. 07.03.2023 / **П.Н. Мирошников**, О.Н. Сороколетов, К.В. Жучаев; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования "Новосибирский государственный аграрный университет".

в других изданиях

5. Влияние экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного на морфофункциональное состояние тканей печени мышей при остром стрессе / **П.Н. Мирошников**, А.В. Сахаров, В.И. Лошенко [и др.] // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2024. – № 4(73). – С. 239-249.

6. **Мирошников, П.Н.** Антиоксидантная активность экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного, произрастающих в Алтайском крае, в связи с содержанием в них флавоноидов / **П.Н. Мирошников**, К.В. Жучаев, Ю.И. Коваль // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2024. – № 3(72). – С. 213-220.

7. **Мирошников, П.Н.** О возможности применения экстрактов лекарственных растений Алтая в качестве натуральных стимуляторов роста животных / **П.Н. Мирошников**, К.В. Жучаев // Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий: Сборник IX Всероссийской (национальной) научной конференции с международным участием, Новосибирск, 20 декабря 2024 года. – Новосибирск: ИЦ НГАУ "Золотой колос", 2024. – С. 372-375.

8. **Мирошников, П.Н.** Применение экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного как пищевых аттрактантов для мышей / **П.Н. Мирошников** // Инновационные тенденции развития Российской науки: Материалы XVII международной научно-практической конференции молодых ученых, Красноярск, 04–06 марта 2024 года. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2024. – С. 179-183.

9. **Мирошников, П.Н.** Применение эфирных масел в животноводстве как альтернатива кормовым антибиотикам / **П.Н. Мирошников**, К.В. Жучаев // Инновации и продовольственная безопасность. – 2020. – № 4(30). – С. 59-64.

10. Оценка противомикробной активности экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий / **П.Н. Мирошников**, К.В. Жучаев, Л.А. Осинцева [и др.] // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2023. – № 4(69). – С. 233-240.