



# Изменение метаболических показателей и двигательной активности у лабораторных мышей под воздействием микроводорослей (*Chlorella vulgaris*)

Е.Л. Завьялов<sup>1</sup>✉, Д.В. Петровский<sup>1</sup>, Г.В. Концевая<sup>1</sup>, В.В. Мак<sup>1</sup>, И.П. Уваров<sup>2</sup>, Я.Л. Завьялова<sup>3</sup>, О.А. Рожков<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение Новосибирской области «Управление ветеринарии города Новосибирска», Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский государственный педагогический университет, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup> Государственное бюджетное учреждение Новосибирской области «Управление ветеринарии Новосибирской области», Новосибирск, Россия

В последние годы микроводоросли привлекают все больший интерес как источник потенциальных фармакологически активных соединений. На фоне большого разнообразия микроводорослей выделяется зеленая водоросль хлорелла (*Chlorella vulgaris*), для которой показаны гипотензивные эффекты, антикоагулянтная, антиоксидантная и противоопухолевая активности. Целью настоящей работы было оценить эффекты суспензии хлореллы на массу тела животных, их двигательную активность и эритропоэз. Исследование выполнено на самцах и самках мышей линии ICR. Животным из экспериментальной группы на протяжении трех недель вместо воды предоставляли суспензию хлореллы при стандартной кормовой диете. Масса тела у самцов из контрольной и экспериментальной групп практически не изменялась, тогда как у самок в экспериментальной группе отмечалось увеличение массы тела уже через неделю. Аналогичная ситуация наблюдалась при анализе привеса массы тела животного относительно потребленного корма. В экспериментальной группе количество эритроцитов увеличивалось через три недели после начала исследования как у самок, так и у самцов. Гемоглобин также повышался через три недели после начала эксперимента, но только у самок. Суточная двигательная активность животных всех групп была одинаковой и не изменялась на протяжении исследования. Процедура взятия крови приводила к снижению двигательной активности самцов и самок из контрольной группы и самцов, которые употребляли хлореллу. Двигательная активность самок, которые получали суспензию хлореллы, не изменялась после взятия крови.

Ключевые слова: хлорелла; *Chlorella*; масса тела; двигательная активность; эритроциты; гемоглобин; лабораторные мыши.

## КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Завьялов Е.Л., Петровский Д.В., Концевая Г.В., Мак В.В., Уваров И.П., Завьялова Я.Л., Рожков О.А. Изменение метаболических показателей и двигательной активности у лабораторных мышей под воздействием микроводорослей (*Chlorella vulgaris*). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(7):841-847. DOI 10.18699/VJ17.304

## HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Zavjalov E.L., Petrovskii D.V., Kontsevaya G.V., Mak V.V., Uvarov I.P., Zav'yalova Y.L., Rozhkov O.A. Metabolic and motor activity effects of microalgae (*Chlorella vulgaris*) in laboratory mice. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(7):841-847. DOI 10.18699/VJ17.304 (in Russian)

Received 06.10.2017

Accepted for publication 27.10.2017

© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: zavjalov@ngs.ru

## Metabolic and motor activity effects of microalgae (*Chlorella vulgaris*) in laboratory mice

E.L. Zavjalov<sup>1</sup>✉, D.V. Petrovskii<sup>1</sup>, G.V. Kontsevaya<sup>1</sup>, V.V. Mak<sup>1</sup>, I.P. Uvarov<sup>2</sup>, Y.L. Zav'yalova<sup>3</sup>, O.A. Rozhkov<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Veterinary control of Novosibirsk, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia

<sup>4</sup> Veterinary control of Novosibirsk region, Novosibirsk, Russia

In recent years, the microalgae (*Chlorella vulgaris*) have increasingly attracted great interest as a potential source of pharmacologically active compounds. Showing anticoagulation, antioxidant and antitumor activities of *Chlorella* revealed its hypotensive properties. The aim of this study was to evaluate the effects of *Chlorella* suspension on the weight of the animals, their moving activity, and erythropoiesis. The study was performed on males and females of ICR mice. The animals from the experimental group drank only the *Chlorella* suspension during 3 weeks and were given standard food. Control animals drank during this period only water and had the same food. The body weight of males in the control and the experimental group with *Chlorella* did not change, while females in the experimental group showed an increase of body weight in a week. A similar pattern was obtained for estimation of animal body weight changes relative to food consumption. The number of red blood cells in females and males from group with *Chlorella* increased only after 3 weeks after the start of the experiment. Hemoglobin also increased only after 3 weeks after the start of *Chlorella* consumption, but only for females. All groups of animals had the same motor activity during experiment. Blood sampling resulted in a reduction of activity in control males and females as well as in males with *Chlorella*. The motor activity of females with *Chlorella* after blood sampling did not change. So, consumption of the *Chlorella* suspension by females leads to more effective digestion and resulted in increased body weight, improved erythropoiesis resulted in increased red blood cells and hemoglobin and also increased their resistance to acute stress. The males in the same situation increased only the erythropoiesis.

Key words: *Chlorella*; body weight; motor activity; red blood cells; hemoglobin; laboratory mice.

В последние годы водоросли привлекают все больший интерес как источник потенциальных фармакологически активных соединений, обладающих противовирусной, антикоагулянтной, антиоксидантной или противоопухолевой активностью (Miyazawa et al., 1988; Guven et al., 1991; Duarte et al., 2001; Trento et al., 2001; Zhang et al., 2003). Многие биологически активные вещества, такие как полисахариды, белки, незаменимые жирные кислоты, бета-каротин и витамины, выделены из морских водорослей (Norziah, Ching, 2000; Aguilera-Morales et al., 2005). Среди всего разнообразия водорослей широкое применение нашли одноклеточные зеленые водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris*), которые живут в пресной воде и встречаются практически повсеместно. Интерес к этим микроводорослям возник еще в середине прошлого века, когда была продемонстрирована их способность продуцировать большое количество относительно дешевого белка (Fowden, 1951, 1952). Высокая биотехнологическая доступность микроводорослей привела к их широкой коммерциализации, в основном в виде пищевых добавок для человека и животных (Oh-Hama, Miyachi, 1988; Iwamoto, 2003; Pulz, Gross, 2004; Khan et al., 2005; Morris et al., 2008). Относительная простота выращивания хлореллы позволила использовать ее в качестве источника не только белка, но и хлорофилла, лютеина и ряда микроэлементов (Jeon et al., 2012; Vuono et al., 2014). Показано, что хлорелла оказывает благотворное воздействие на рост организма, состояние иммунной системы и антиоксидантную активность (Guzmán et al., 2001). В настоящее время зеленые водоросли применяются при лечении гипертензии и модуляции иммунных реакций человека (Merchant, Andre, 2001; Lin et al., 2005; Yang et al., 2006; An et al., 2010). Экстракты хлореллы используются при различных методах терапии опухолей (Tanaka et al., 1998) и бактериальных инфекций (Ibusuki, Minamishima, 1990; Queiroz et al., 2003; Santoyo et al., 2010), продемонстрирована их способность повышать выработку IFN- $\gamma$  и IL-2, а также активировать клетки Th1 для укрепления иммунной системы и иммунной защиты (An et al., 2008). Показано, что эти водоросли могут затормозить процессы оксидативного стресса, тем самым подавляя наработку провоспалительных медиаторов в макрофагах и печени (Lee et al., 2003). Однако гематологические эффекты хлореллы и ее влияние на поведение животных до сих пор мало изучены.

В настоящее время существует большое разнообразие форм хлореллы, которые используются в качестве пищевых добавок: высушенные порошкообразные микроводоросли, ферментированная хлорелла, экстракты и суспензии. Среди всего разнообразия выделяется высокотемпературный водный экстракт CGF (*chlorella growth factor*), богатый аминокислотами, пептидами, витаминами, минеральными и нуклеиновыми кислотами (Merchant, Andre, 2001). Употребление CGF пациентами на протяжении двух-трех месяцев способствовало снижению кровяного давления и уровня холестерина в крови, а также приводило к ускорению заживления ран у пациентов. Применение высушенной порошкообразной хлореллы, которую добавляли в рацион кур-несушек на протяжении 35 дней, приводило к улучшению качества яиц с повы-

шенным содержанием лютеина в яичных желтках (Jeon et al., 2012; An et al., 2014). Возможности промышленного производства биомассы хлореллы и расширение спектра ее использования выдвигают ряд задач перед микробиологами и биотехнологами в области поиска высокопродуктивных штаммов и оптимизации условий культивирования без потери уникальных свойств этих водорослей. Конечным результатом оценки качества полученного продукта будут эффекты, оказываемые микроводорослями на состояние организма у птиц или млекопитающих. Целью данной работы было исследование эффектов суспензии микроводорослей хлорелла, полученной в фитобиореакторе вихревого типа, на массу тела мышей линии ICR, их двигательную активность, число эритроцитов и уровень гемоглобина в крови.

### Материалы и методы

Исследование выполнено на 16 самцах и 16 самках мышей аутбредной линии ICR в возрасте 6–8 нед. Перед началом эксперимента животных из семейных групп рассаживали индивидуально в стандартные пластиковые клетки с решетчатой металлической крышкой и далее содержали в конвенциональном виварии Института цитологии и генетики СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI62114X0010) при естественном освещении, комнатной температуре и влажности. Кормили животных сухим гранулированным кормом для лабораторных животных «Чара» (производитель ЗАО «Ассортимент-Агро»). В первые семь дней (неделя «0») всем животным для питья предоставляли водопроводную воду *ad libitum*. Затем половину животных каждого пола на протяжении последующих трех недель продолжали поить водопроводной водой *ad libitum* (контрольная группа). Оставшимся восьмью самцам и восьмью самкам (экспериментальная группа) на протяжении трех недель (недели «1», «2» и «3») воду заменяли суспензией микроводорослей хлореллы (*C. vulgaris*), которую предоставляли *ad libitum*. Так как сухой остаток биомассы микроводорослей в водной суспензии хлореллы составлял около 0.1 %, воду экспериментальным животным на период проведения исследования не предоставляли. Суспензию хлореллы получали в фитобиореакторе вихревого типа Торнадо на минеральном субстрате, установленном в помещении с комнатной температурой и влажностью. При достижении концентрации микроводорослей в суспензии  $12 \times 10^7$  Ед/мл содержимое фитобиореактора использовали для поения животных.

Эксперименты на животных выполнены с соблюдением принципов гуманности в соответствии с директивой Европейского сообщества (86/609/ЕЕС). Оценку общей двигательной активности животного, когда регистрировались любые его движения в клетке (включая все вертикальные и горизонтальные), проводили непрерывно, начиная с 3-го дня эксперимента на протяжении всего периода исследования при помощи авторской системы автоматического мониторинга (Петровский и др., 2012). Основу используемой системы составляли подключенные к персональному компьютеру инфракрасные датчики движения (всего 32), смонтированные над каждой клеткой с животным. Такая конструкция позволяла независимо регистрировать индивидуальные данные от каждого

животного. Фиксировали суммарное время активности животных в секундах за каждые 10 мин наблюдений. Взвешивание животных, корма в кормушке и жидкости в поилке (воды или суспензии хлореллы) проводили один раз в неделю. Привес рассчитывали как изменение массы тела животного по сравнению с предыдущим взвешиванием. Величину потребления корма определяли по разнице значений массы гранулированного корма в кормушке между двумя точками взвешивания. Количество выпитой жидкости (воды или суспензии хлореллы) оценивали по разнице значений массы жидкости между двумя контрольными точками. Дополнительно рассчитывали отношение изменения массы тела животных за контрольный период к потребленному корму как показатель эффективности усвоения корма животным (Рядчиков, 2014). Два раза, через две и три недели после первого предоставления суспензии хлореллы у животных брали образцы крови из ретроорбитального синуса при местной анестезии, после аппликации ватного тампона с новокаином. Содержание эритроцитов и концентрацию гемоглобина определяли в цельной крови на автоматическом ветеринарном гемоанализаторе Hemascreeen 18P (Hospitex diagnostics, Италия), согласно инструкции к прибору. Эвтаназию животных после завершения эксперимента осуществляли цервикальной дислокацией. Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием многофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Все полученные результаты представлены в виде Mean ± SE.

## Результаты

Масса тела животных изменялась на протяжении всего эксперимента (рис. 1). Двухфакторный дисперсионный анализ привеса массы тела животных, где факторами служили экспериментальная группа и пол животного, показал достоверное влияние только пола как в конце недели «1», так и недели «2»:  $F_{1,31} = 7.14, p = 0.013$  и  $F_{1,31} = 18.85, p = 0.002$  соответственно. Влияния фактора принадлежности животных к контрольной или экспериментальной группам в конце недели «1» ( $F_{1,31} = 0.84, p = 0.367$  и недели «2» ( $F_{1,31} = 0.87, p = 0.359$ ), а также совместного влияния пола и группы в эти сроки ( $F_{1,31} = 1.62, p = 0.215$  и  $F_{1,31} = 3.06, p = 0.093$  соответственно) не обнаружено. Через три недели наблюдалась иная картина. Было обнаружено достоверное влияние на массу тела животных как пола ( $F_{1,31} = 17.64, p < 0.001$ ), так и принадлежности животных к контрольной или экспериментальной группам ( $F_{1,31} = 4.88, p = 0.037$ ), но совместного влияния этих факторов не наблюдалось ( $F_{1,31} = 0.23, p = 0.633$ ). Масса тела у самцов из контрольной и экспериментальной групп, а также у самок из контрольной группы практически не изменялась на протяжении исследования, тогда как у самок из экспериментальной группы отмечалось увеличение массы тела уже через неделю (см. рис. 1). В период недель «2» и «3» самки, получавшие хлореллу, имели большие показатели прироста массы тела по сравнению с самками из контрольной группы.

Аналогичная картина была получена при изучении данных привеса массы тела с учетом потребленного животными корма (рис. 2). Двухфакторный дисперсионный анализ этого показателя выявил влияние пола животного

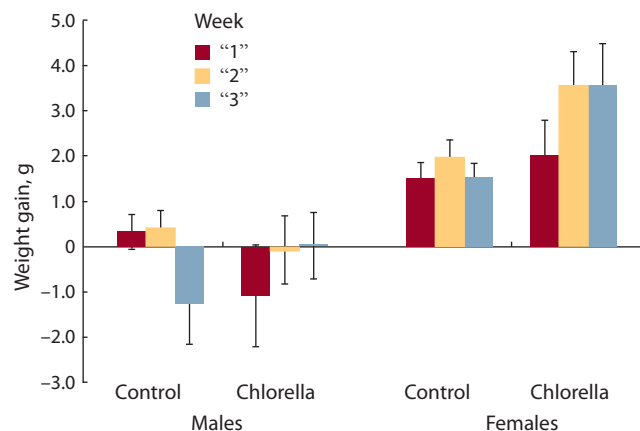


Fig. 1. Weight gain in males and females from the control and experimental groups after week 1, week 2, and week 3 of the experiment.

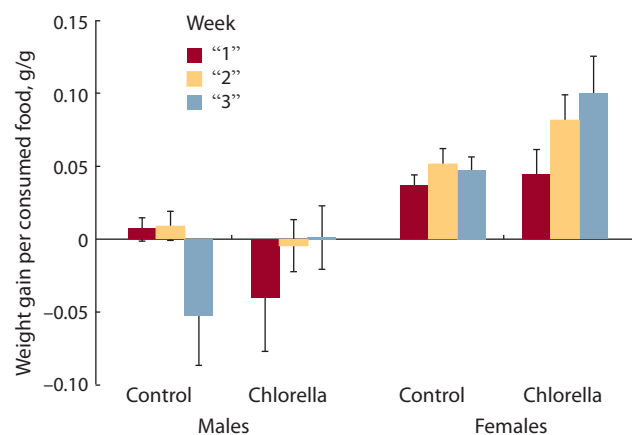
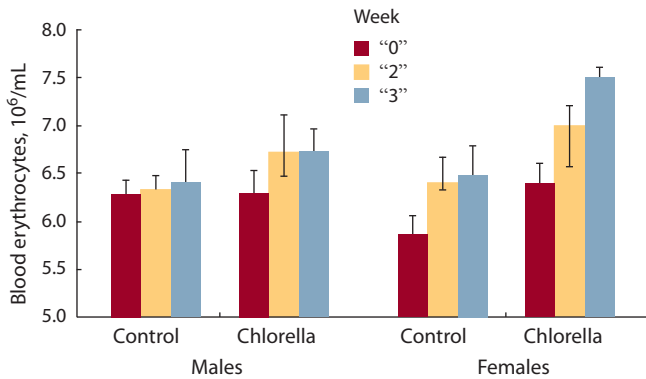


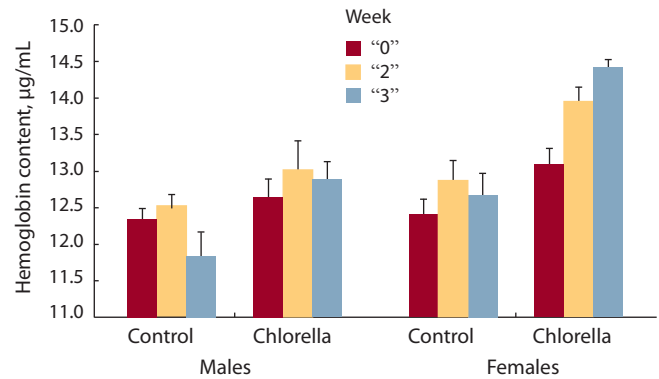
Fig. 2. Weight gain per consumed food in males and females from the control and experimental groups after 1, 2, and 3 weeks of the experiment.

как в конце недели «1» ( $F_{1,31} = 10.07, p = 0.004$ ), так и недели «2» ( $F_{1,31} = 20.43, p < 0.001$ ). Влияния фактора принадлежности животных к контрольной или экспериментальной группам и совместного эффекта факторов группы и пола как для недели «1» ( $F_{1,31} = 0.16, p = 0.690$  и  $F_{1,31} = 1.66, p = 0.210$  соответственно), так и для недели «2» ( $F_{1,31} = 1.49, p = 0.294$  и  $F_{1,31} = 2.97, p = 0.098$  соответственно) не обнаружено. Для недели «3» отмечалось достоверное влияние как пола ( $F_{1,31} = 18.16, p < 0.001$ ), так и группы ( $F_{1,31} = 4.85, p = 0.035$ ) на значения этого показателя. Совместного достоверного влияния этих факторов на привес массы тела с учетом потребленного животными корма не наблюдалось ( $F_{1,31} = 0.61, p = 0.441$ ).

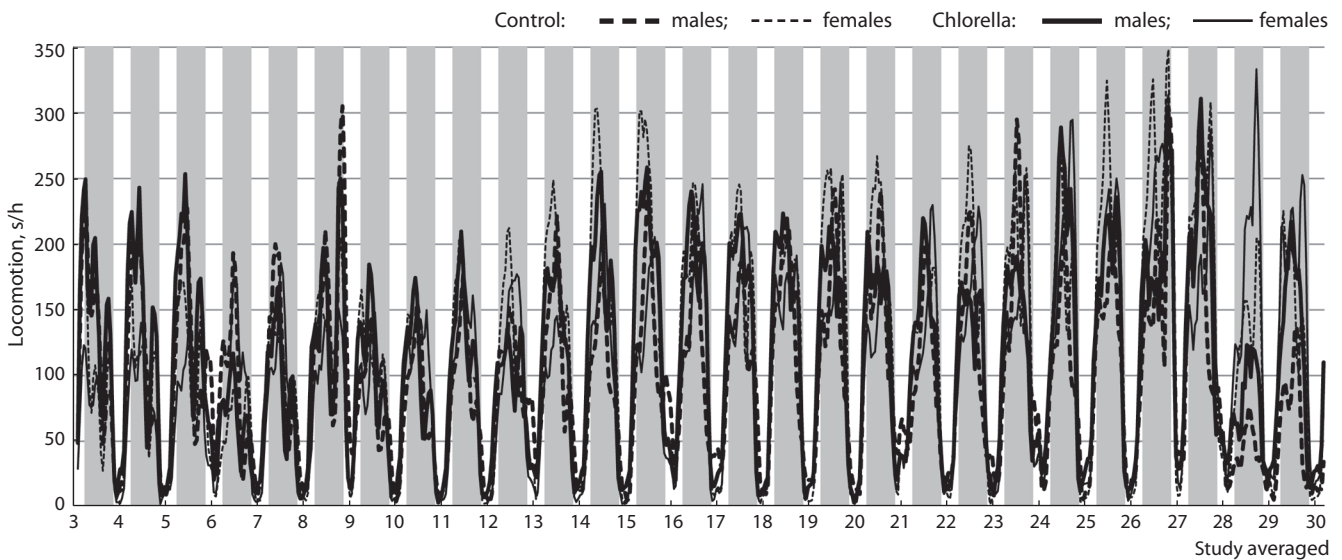
Анализ эффектов потребления микроводорослей на содержание эритроцитов в образцах крови показал, что и самцы, и самки демонстрировали повышение значений этого показателя (рис. 3). Двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние потребления микроводорослей только через три недели ( $F_{1,31} = 6.45, p = 0.018$ ) после начала предоставления хлореллы. Через две недели эффекты потребления хлореллы были на грани достовер-



**Fig. 3.** Erythrocytes in the blood of males and females from the control and experimental groups before the experiment (week 0), at the end of week 2, and at the end of week 3.



**Fig. 4.** Blood hemoglobin in males and females from the control and experimental groups before the experiment (week 0), at the end of week 2, and at the end of week 3.



**Fig. 5.** Locomotor activities of animals in the study averaged over groups. Gray and white stripes are night and day times, respectively.

ности ( $F_{1,31} = 3.49, p = 0.074$ ). Пол животных как для недели «2», так и для недели «3» после начала эксперимента не оказывал влияния на содержание эритроцитов в крови животных ( $F_{1,31} = 0.42, p = 0.521$  и  $F_{1,31} = 2.55, p = 0.123$  соответственно). Перед началом эксперимента (неделя «0») различий по полу или принадлежности животного к группе в уровне эритроцитов не обнаружено ( $F_{1,31} = 0.65, p = 0.429$  и  $F_{1,31} = 1.83, p = 0.189$  соответственно).

Уровень гемоглобина в крови исследуемых животных изменялся синхронно с количеством эритроцитов (рис. 4). При двухфакторном дисперсионном анализе в начале эксперимента (неделя «0») не отмечались различия в уровне гемоглобина по полу ( $F_{1,31} = 0.57, p = 0.457$ ), принадлежности животного к группе ( $F_{1,31} = 2.22, p = 0.149$ ) или их совместному действию ( $F_{1,31} = 0.34, p = 0.565$ ). Аналогичная картина наблюдалась через две недели после начала эксперимента. Эффектов пола ( $F_{1,31} = 1.55, p = 0.225$ ), экспериментальной группы ( $F_{1,31} = 2.42, p = 0.133$ ) и их совместного действия ( $F_{1,31} = 0.32, p = 0.577$ ) не обнаружено. Через три недели после начала употребления животными микроводорослей наблюдалось увеличение гемогло-

бина в крови по сравнению с контрольными животными ( $F_{1,31} = 8.49, p = 0.008$ ), причем у самок это увеличение было более выраженным ( $F_{1,31} = 5.96, p = 0.022$ ). Совместного действия пола и экспериментальной группы на показатели гемоглобина не выявлено ( $F_{1,31} = 0.53, p = 0.475$ ).

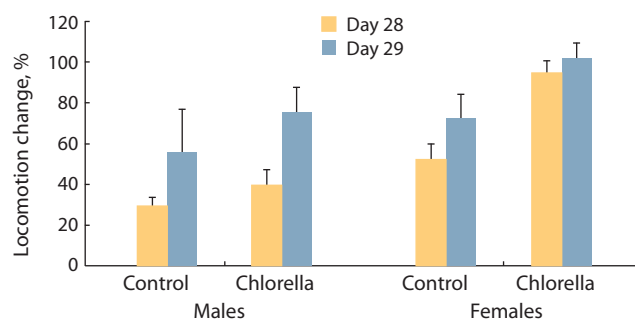
Самцы и самки из контрольной и экспериментальной групп имели одинаковую высокую двигательную активность в ночное время. В дневные часы активность животных снижалась, достигая практически нулевых значений (рис. 5). На протяжении всего эксперимента ночная активность животных менялась незначительно, кроме нескольких суток после взятия крови.

Исследование поведения животных показало, что животные из экспериментальной группы слабо реагировали на стрессирующую процедуру взятия крови на 28-й день эксперимента (неделя «3») в отличие от животных из контрольной группы в этот же период (рис. 6). Результаты трехфакторного дисперсионного анализа выявили, что двигательная активность животных определялась как принадлежностью к контрольной или экспериментальной группе ( $F_{1,31} = 9.73, p = 0.003$ ), так и полом животных

( $F_{1,31} = 13.89, p < 0.001$ ) или продолжительностью воздействия ( $F_{1,31} = 7.75, p = 0.009$ ). В первые сутки после взятия крови двигательная активность самцов снижалась, но в экспериментальной группе она была выше ( $39.13 \pm 8.04$  %), чем в контрольной ( $29.12 \pm 4.34$  %). На вторые сутки двигательная активность самцов увеличивалась как в экспериментальной, так и контрольной группе. Самцы, которым предоставляли хлореллу, были более активны и на вторые сутки по сравнению с контрольными животными:  $75.03 \pm 12.51$  и  $39.13 \pm 8.04$  % соответственно. Самки в меньшей степени реагировали на процедуру взятия крови, чем самцы. Самки, которым предоставляли хлореллу, очень слабо реагировали на процедуру взятия крови. В первые и вторые сутки после взятия крови активность самок мало отличалась от исходного уровня и составляла  $94.09 \pm 6.28$  % и  $101.33 \pm 7.53$  % соответственно. В контрольной группе активность самок снижалась в первые сутки до значений  $51.74 \pm 7.81$  % и на вторые сутки частично восстанавливалась до уровня  $72.26 \pm 11.82$  % от исходной активности (см. рис. 6).

### Обсуждение

Благодаря своим уникальным свойствам и доступности, микроводоросли уже нашли широкое применение в сельском хозяйстве (Oh-Nama, Miyachi, 1988; Iwamoto, 2003; Pulz, Gross, 2004; Khan et al., 2005; Morris et al., 2008). Прежде всего, показаны положительные эффекты этих микроорганизмов на увеличение массы тела у сельскохозяйственных животных. Так, например, у свиней отмечалось увеличение массы тела при употреблении хлореллы (Yan et al., 2012). Добавление в рацион бройлеров хлореллы также способствовало увеличению их массы тела по сравнению с контрольными птицами (An et al., 2016; Choi et al., 2016). Аналогичные результаты получены для пекинской утки (Oh et al., 2015). Включение в рацион этих птиц хлореллы на протяжении шести недель не только приводило к заметному увеличению массы, но и сопровождалось повышением качества мяса птиц, в котором отмечалось увеличение содержания каротиноидов, величины pH и способности задерживать воду. Полученные нами высокие показатели роста массы тела мышей, которые употребляли суспензию хлореллы, согласуются с литературными данными. Однако увеличение массы тела при употреблении суспензии хлореллы наблюдалось только у самок мышей через три недели приема микроводорослей. Аналогичная картина наблюдалась и при анализе изменения массы тела животного с учетом потребленного корма. Оказалось, что только самки, употреблявшие хлореллу, более эффективно усваивают корм и набирают массу тела по сравнению с контрольными животными (см. рис. 2). У самцов достоверного увеличения массы тела не наблюдалось. Возможно, это было связано с недостаточно долгим периодом употребления хлореллы животными и низким процентом водорослей в суспензии. Действительно, обнаруженные другими исследователями эффекты хлореллы на массу тела животных получены при употреблении большого количества водорослей более продолжительное время. Например, увеличение массы тела у пекинской утки фиксировалось через шесть недель приема 0.2 % хлореллы (Oh et al., 2015). У свиней наблюдали увеличение массы



**Fig. 6.** Daily averaged locomotory activities of animals one day (day 28 of the experiment) and two days (day 29) after blood sampling in comparison with the baseline level of daily activity. The daily activity averaged over the previous three days (days 25, 26, and 27 of the experiment) is taken to be 100 %.

тела после шести недель включения в рацион 0.1 и 0.2 % хлореллы (Yan et al., 2012). Отмеченное увеличение массы тела животных, принимавших хлореллу, возможно, связано с найденными в этих водорослях стимуляторами роста, которые могут влиять на показатели массы тела животных (Han et al., 2002). С другой стороны, в эксперименте на мышах показано, что хлорелла способна защитить животных от иммуносупрессивного действия стресса и связанного с этим образования язвы желудка (Hasegawa et al., 2000). Возможно, протективные свойства хлореллы на состояние желудочно-кишечного тракта также могут реализовываться через повышение эффективности пищеварения в увеличении массы тела животных.

Потребление микроводорослей только у самок мышей приводило к изменению количества эритроцитов и уровня гемоглобина в крови. Но этот эффект отмечался только через три недели потребления хлореллы, когда уровень гемоглобина (см. рис. 4) и содержание эритроцитов (см. рис. 3) достоверно увеличивались. Ранее было показано, что у крыс на фоне анемии присутствие в рационе 5 и 10 % хлореллы через месяц приводило к повышению уровня гемоглобина и эритроцитов в крови, тогда как прием 1 % хлореллы таких эффектов не оказывал (Matsuura et al., 1991). В исследовании эффектов другой микроводоросли, спирулины, прием на протяжении 12 недель у пожилых женщин и мужчин сопровождался подъемом уровня гемоглобина, но количество эритроцитов за этот период увеличивалось только у мужчин. С другой стороны, в литературе имеются данные об отсутствии стимулирующего эффекта микроводорослей на показатели крови у животных. Так, включение в рацион свиней 0.1 и 0.2 % суспензии хлореллы на протяжении шести недель не приводило к изменению уровня эритроцитов, лейкоцитов и лимфоцитов в крови (Yan et al., 2012). Таким образом, эффекты микроводорослей во многом определяются их количеством в рационе и продолжительностью употребления. Отсутствие значимых эффектов употребления хлореллы у самцов может быть связано с недостаточной продолжительностью приема микроводорослей.

Исследование эффектов хлореллы на поведение животных не выявило видимых половых различий. Однако анализ поведения животных после стрессорного воз-

действия, которое отмечается при взятии крови у животного, обнаружил значительные различия между контрольными и экспериментальными животными. Оказалось, что активность самок, употреблявших хлореллу, не изменялась после взятия крови, а активность самцов восстанавливалась уже на вторые сутки после воздействия (см. рис. 6). Несмотря на многочисленные исследования, в которых были показаны антиоксидантные и противовоспалительные свойства хлореллы, противоопухолевые или другие положительные эффекты на организмы животных или человека (Vijayavel et al., 2007; Wang et al., 2010; Panahi et al., 2012a, b, 2013; Kim et al., 2015; Kubatka et al., 2015), работы по влиянию микроводорослей на поведение практически отсутствуют. Тем не менее при исследовании эффектов хлореллы, которую использовали как дополнение к стандартной схеме терапии антидепрессантами пациентов с диагнозом Большое депрессивное расстройство (БДР), характеризующееся в том числе утратой интересов, снижением энергичности и повышенной утомляемостью, была показана ее эффективность (Panahi et al., 2015). У пациентов, принимавших антидепрессанты на фоне употребления хлореллы, отмечалось более значительное улучшение физического состояния и когнитивных способностей по сравнению с группой, где для лечения использовали только антидепрессанты. Известно, что длительное негативное стрессирующее воздействие сопровождается угнетением многих функций организма, приводит также к снижению физической активности и развитию депрессивного состояния (Slavich, Irwin, 2014). Полученные нами данные о более эффективном восстановлении активности животных, употреблявших хлореллу, в ответ на стрессирующее воздействие согласуются с результатами, выявленными при изучении эффектов хлореллы в терапии БДР (Panahi et al., 2015), и свидетельствуют о потенцирующем влиянии хлореллы на активность животных. Аналогичные результаты получены при исследовании стрессирующих эффектов принудительного плавания на выносливость мышей (Mizoguchi et al., 2011). Показано, что самцы мышей линии BALB/c, употреблявшие хлореллу в концентрации 0.5 %, обладали большей выносливостью и плавали дольше, чем животные из контрольной группы.

Таким образом, употребление суспензии хлореллы приводит у самок к более эффективному усвоению корма и, как следствие, к увеличению их массы тела, улучшает эритропоэз и увеличивает содержание гемоглобина в эритроцитах через три недели употребления микроводорослей, а также повышает их устойчивость к воздействию острого стресса. У самцов употребление хлореллы приводит только к увеличению эритроцитов в крови.

## Acknowledgments

The purchase of laboratory animals was supported by State Budgeted Project 0324-2017-0004 (Bioresource Collections). Work in the Shared Access Center was supported by the Russian Ministry of Education and Science, project RFMEFI62117X0015.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Aguilera-Morales M., Casas-Valdez M., Carrillo-Domínguez S., González-Acosta B., Pérez-Gil F. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potential food source. *J. Food Comp. Anal.* 2005;18(1):79-88.
- An B.K., Jeon J.Y., Kang C.W., Kim J.M., Hwang J.K. The tissue distribution of lutein in laying hens fed lutein-fortified chlorella and production of chicken eggs enriched with lutein. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 2014;34:172-177.
- An B.K., Kim K.-E., Jeon J.Y., Lee K.W. Effect of dried *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* growth factor on growth performance, meat qualities and humoral immune responses in broiler chickens. *Springerplus.* 2016;5(1):718-725. DOI 10.1186/s40064-016-2373-4.
- An H.J., Rim H.K., Jeong H.J., Hong S.H., Um J.Y., Kim H.M. Hot water extracts of *Chlorella vulgaris* improve immune function in protein-deficient weanling mice and immune cells. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2010;32(4):585-592.
- An H.J., Rim H.K., Lee J.H., Kim N.H., Myung N.Y., Moon P.D., Choi I.Y., Na H.J., Jeong H.J., Park H.S., Han J.G., Um J.Y., Kim H.M. Effect of *Chlorella vulgaris* on immune-enhancement and cytokine production *in vivo* and *in vitro*. *Food Sci. Biotechnol.* 2008;17(5):953-958.
- Buono S., Langellotti A.L., Martello A., Rinna F., Fogliano V. Functional ingredients from microalgae. *Food Funct.* 2014;5:1669-1685. DOI 10.1039/C4FO00125G.
- Choi H., Jung S.K., Kim J.S., Kim K.W., Oh K.B., Lee P.Y., Byun S.J. Effects of dietary recombinant chlorella supplementation on growth performance, meat quality, blood characteristics, excreta microflora, and nutrient digestibility in broilers. *Poult. Sci.* 2016;pew345. DOI 10.3382/ps/pew345.
- Duarte M.E., Nosedá D.G., Nosedá M.D., Tulio S., Pujol C.A., Damonte E.B. Inhibitory effect of sulfated galactans from the marine alga *Bostrychia montagnei* on herpes simplex virus replication *in vitro*. *Phytomedicine.* 2001;8(1):53-58.
- Fowden L. The quantitative recovery and colorimetric estimation of amino-acids separated by paper chromatography. *Biochem J.* 1951; 48(3):327-333.
- Fowden L. The composition of the bulk proteins of *Chlorella*. *Biochem. J.* 1952;50(3):355-358.
- Guzmán S., Gato A., Calleja J.M. Antiinflammatory, analgesic and free radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricorutum*. *Phyther. Res.* 2001;15:224-230. DOI 10.1002/ptr.715.
- Guyen K.C., Ozsoy Y., Ulutin O.N. Anticoagulant, fibrinolytic and antiagregant activity of carrageenans and alginic acid. *Bot. Mar.* 1991; 34(5):429-432.
- Han J.G., Kang G.G., Kim J.K., Kim S.H. The present status and future of *Chlorella*. *Food Sci. Ind.* 2002;6:64-69.
- Hasegawa T., Noda K., Kumamoto S., Ando Y., Yamada A., Yoshikai Y. *Chlorella vulgaris* culture supernatant (CVS) reduces psychological stress-induced apoptosis in thymocytes of mice. *Int. J. Immunopharmacol.* 2000;22(11):877-885.
- Ibusuki K., Minamishima Y. Effect of *Chlorella vulgaris* extracts on murine cytomegalovirus infections. *Nat. Immun. Cell Growth Regul.* 1990;9(2):121-128.
- Iwamoto H. Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species – *Chlorella*. Ed. A. Richmond. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.* Oxford: Blackwell Science, 2004;255-263.
- Jeon J.Y., Kim K.E., Im H.J., Oh S.T., Lim S.U. The production of lutein-enriched eggs with dietary *Chlorella*. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 2012;32:13-17.
- Khan Z., Bhadouria P., Bisen P.S. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2005;6:373-379. DOI 10.2174/138920105774370607.
- Kim W., Lee W.-B., Lee J.-W., Min B.-I., Baek S.K., Lee H.S., Cho S.-H. Traditional herbal medicine as adjunctive therapy for breast cancer: A systematic review. *Compl. Ther. Med.* 2015;23(4):626-632.

- Kubatka P., Kapinová A., Kružliak P., Kello M., Výbohá D., Kajo K., Novák M., Chripková M., Adamkov M., Pěč M., Mojžiš J., Bojková B., Kassayová M., Stollárová N., Dobrota D. Antineoplastic effects of *Chlorella pyrenoidosa* in the breast cancer model. *Nutrition*. 2015;31(4):560-569. DOI 10.1016/j.nut.2014.08.010.
- Lee H.S., Choi C.Y., Cho C., Song Y. Attenuating effect of *Chlorella* supplementation on oxidative stress and NFκB activation in peritoneal macrophages and liver of C57BL/6 mice fed on an atherogenic diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2003;67(10):2083-2090.
- Lin Y.L., Liang Y.C., Lee S.S., Chiang B.L. Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* induced activation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells by the NF-κB and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *J. Leukoc. Biol.* 2005;78(2):533-543.
- Merchant R.E., Andre C.A. A review of recent clinical trials of the nutritional supplement *Chlorella pyrenoidosa* in the treatment of fibromyalgia, hypertension, and ulcerative colitis. *Altern. Ther. Health Med.* 2001;7(3):79-91.
- Miyazawa Y., Murayama T., Ooya N., Wang L.F., Tung Y.C., Yamaguchi N. Immunomodulation by a unicellular green algae (*Chlorella pyrenoidosa*) in tumor-bearing mice. *J. Ethnopharmacol.* 1988;24(2-3):135-146.
- Mizoguchi T., Arakawa Y., Kobayashi M., Fujishima M. Influence of *Chlorella* powder intake during swimming stress in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011;404:121-126.
- Morris H.J., Almarales A., Carrillo O., Bermúdez R.C. Utilisation of *Chlorella vulgaris* cell biomass for the production of enzymatic protein hydrolysates. *Bioresour. Technol.* 2008;99:7723-7729.
- Norziah M.H., Ching C.Y. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chem.* 2000;68(1):69-76.
- Oh S.T., Zheng L., Kwon H.J., Choo Y.K., Lee K.W., Kang C.W., An B.K. Effects of dietary fermented *Chlorella vulgaris* (CBT<sup>®</sup>) on growth performance, relative organ weights, cecal microflora, tibia bone characteristics, and meat qualities in Pekin ducks. *Asian-Austr. J. Anim. Sci.* 2015;28(1):95-101. DOI 10.5713/ajas.14.0473.
- Oh-Hama T., Miyachi S. *Chlorella*. Eds. M.A. Borowitzka, L.J. Borowitzka. *Microalgal Biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press, 1988;3-26.
- Queiroz M.L.S., Rodrigues A.P.O., Bincoletto C., Figueirêdo C.A.V., Malacrida S. Protective effects of *Chlorella vulgaris* in lead-exposed mice infected with *Listeria monocytogenes*. *Int. Immunopharmacol.* 2003;3(6):889-900.
- Panahi Y., Badeli R., Karami G.R., Badeli Z., Sahebkar A. A randomized controlled trial of 6-week *Chlorella vulgaris* supplementation in patients with major depressive disorder. *Complement. Ther. Med.* 2015;23(4):598-602. DOI 10.1016/j.ctim.2015.06.010.
- Panahi Y., Ghamarchehreh M.E., Beiraghdar F., Zare M., Jalalian H.R., Sahebkar A. Investigation of the effects of *Chlorella vulgaris* supplementation in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial. *Hepatogastroenterology*. 2012a;59:2099-2103.
- Panahi Y., Mostafazadeh B., Abrishami A., Saadat A., Beiraghdar F., Tavana S., Pishgoo B., Parvin S., Sahebkar A. Investigation of the effects of *Chlorella vulgaris* supplementation on the modulation of oxidative stress in apparently healthy smokers. *Clin. Lab.* 2013;59:579-587.
- Panahi Y., Tavana S., Sahebkar A., Masoudi H., Madanchi N. Impact of adjunctive therapy with *Chlorella vulgaris* extract on antioxidant status, pulmonary function, and clinical symptoms of patients with obstructive pulmonary diseases. *Sci. Pharm.* 2012b;80:719-730.
- Petrovskii D.V., Mak V.V., Romashchenko A.V., Kontsevaya G.V., Kolesova I.E., Lomovsky O.I., Odonmazhig P., Amgalan Zh., Moshkin M.P. The influence of nanobiocomposite obtained by mechanochemical synthesis from barren parts of sea-buckthorn on seasonal adaptive rearrangements in Djungarian hamsters. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya = Chemistry for Sustainable Development*. 2012;4:449-456. (in Russian)
- Pulz O., Gross W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2004;65:635-648.
- Ryadchikov V.G. *Osnovy pitaniya i kormleniya sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh [Fundamentals of Nutrition and Feeding of Farm Animals]*. Krasnodar, 2014. (in Russian)
- Tanaka K., Yamada A., Noda K., Hasegawa T., Okuda K., Shoyama Y., Nomoto K. A novel glycoprotein obtained from *Chlorella vulgaris* strain CK22 shows antimetastatic immunopotentiality. *Cancer Immunol. Immunother.* 1998;45(6):313-320.
- Trento F., Cattaneo F., Pescador R., Porta R., Ferro L. Antithrombin activity of an algal polysaccharide. *Thromb. Res.* 2001;102(5):457-465.
- Santoyo S., Plaza M., Jaime L., Ibañez E., Reglero G., Señorans F.J. Pressurized liquid extraction as an alternative process to obtain antiviral agents from the edible microalga *Chlorella vulgaris*. *J. Agric. Food Chem.* 2010;58(15):8522-8527.
- Slavich G.M., Irwin M.R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychol. Bull.* 2014;140(3):774-815. DOI 10.1037/a0035302.
- Vijayavel K., Anbuselvam C., Balasubramanian M.P. Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Mol. Cell Biochem.* 2007;303:39-44.
- Wang H.M., Pan J.L., Chen C.Y., Chiu C.C., Yang M.H., Chang H.W., Chang J.S. Identification of anti-lung cancer extract from *Chlorella vulgaris* C-C by antioxidant property using supercritical carbon dioxide extraction. *Process Biochem.* 2010;45:1865-1872.
- Yan L., Lim S.U., Kim I.H. Effect of fermented *Chlorella* supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, fecal microbial and fecal noxious gas content in growing pigs. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2012;25(12):1742-1747. DOI 10.5713/ajas.2012.12352.
- Yang F., Shi Y., Sheng J., Hu Q. In vivo immunomodulatory activity of polysaccharides derived from *Chlorella pyrenoidosa*. *Eur. Food Res. Technol.* 2006;224(2):225-228.
- Zhang Q., Li N., Zhou G., Lu X., Xu Z., Li Z. In vivo antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacol. Res.* 2003;48(2):151-155.