УДК 615.9; 615.322

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ И ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БАД «ЯГЕЛЬ ДЕТОКС»

Степанова А.В., Аньшакова В.В.

ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск, e-mail: biotexnologii@bk.ru

Проведены санитарно-химические, микробиологические и токсикологические испытания-определение безопасности и потенциальных токсических эффектов биопрепарата «Ягель Детокс». В ходе прижизненной фазы исследования у животных регистрировались клинические признаки возможной интоксикации, вес тела, потребление корма.По результатам токсикологического исследования признаков интоксикации организма животных не отмечено, случаи летальных исходов отсутствовали. Статистически значимых различий между животными, получавшими тестируемые препараты, и контрольными животными, получавшими физиологический раствор, по массе тела и ее приросту ни у самцов, ни у самок выявлено не было. После введения тестируемых препаратов у мышей не наблюдалось выраженных изменений биохимических показателей сыворотки крови, которые могли бы свидетельствовать о токсических изменениях во внутренних органах.

Ключевые слова: токсикология, механохимическая биотехнология, лишайники

TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC STUDIES OF FOOD SUPPLEMENT «YAGEL DETOX»

Stepanova A.V., Anshakova V.V.

North-Eastern Federal University, Yakutsk, e-mail: biotexnologii@bk.ru

Sanitary-chemical, microbiological and toxicological tests are carried out for determination of product safety and potential toxic effects of bioproduct «Yagel detox.» During clinical research phase of animals lifetime were regi stered signs as possible toxicity, body weight, food consumption.According to the results of toxicological studies of animals intoxication signs are not marked, there were no instances of fatal outcomes.Haven't been identified statistically significant differences between control animals treated with saline solution and animals that received the test drugs. In the control group which received saline solution weren't registereddifferences between individuals of both sexes in the parameters body weight gain. After the introduction in mice of study medication wasn't observed pronounced changes in biochemical parameters of blood serum, which could indicate a toxic changes in internal organs.

Keywords: toxicology, lichens, mechanochemical biotechnology

По международным стандартам, биологически активные добавки (БАД) – это природные (идентичные природным) биологически активные вещества, предназначенные для употребления одновременно с пищей или введения в состав пищевых продуктов.Разработанная в Северо-Восточном федеральном университете биологически активная добавка к пище «Ягель Детокс» из таллома лишайников используется как дополнительный источник полисахаридов, витамина В12, содержит лишайниковые кислоты антибиотическогодействия [5–8]. Производство БАД осуществляется инновационной экологически чистой, безотходной механохимической биотехнологией [1, 2, 9].

Уникальная технология обработки сырья позволяет получить межмолекулярные комплексы на основе полимерной матрицы природных олигосахаридов. Полученные комплексы состоят из «активного наполнителя» – лишайниковых β-олигосахаридов, образующихся в процессе механохимической переработки лишайниковых β-полисахаридов, и действующего вещества любой природы, в том числе, вносимых извне фармацевтических препаратов антибиотического, адаптагенного, иммуномодуляторного, цитостатического действия и витаминно-микроэлементных комплексов [3, 4]. В этой связи нами ведется планомерная работа для регистрации БАД как фармацевтического средства. Надлежащей практикой оценки применимости новых фармакологических веществ являются испытания безопасности их использования.

Целью исследования является определение безопасности и потенциальных токсических эффектов биологически активной добавки к пище «Ягель Детокс».

Материалы и методы исследований

Экспертиза образцов БАД к пище «Ягель Детокс» по показателям безопасности проводилась в аккредитованном испытательном лабораторном центре на основании нормативных и методических документов Государственной системы санитарно-эпидемиологического нормирования Российской Федерации с учетом требований Европейской конвенции по защите позвоночных животных, требований национального руководства и руководства учреждения по содержанию и использованию лабораторных животных.

Токсичность БАД изучали согласно требованиями к доклиническому изучению общетоксического действия фармакологических веществ [10, 11]. Животные Mussp. CD-1 (n=60 самок и n = 60 самцов) предоставлены Питомником лабораторных животных ФИБХ РАН г. Пущино в возрасте 7 недель и массой тела33,0 ± 0,6 г (самцы) и 25,4 ± 0,5 г (самки). Тестируемый препарат «Ягель Детокс» и контрольное вещество (физ. раствор) вводились животным внутрижелудочно объемом 10 мл/кг в двух различных дозах 1000 и 2000 мг/кг.

В ходе прижизненной фазы исследования у животных регистрировались клинические признаки возможной интоксикации, вес тела, потребление корма. Половина животных была подвергнута эвтаназии через две недели после начала введения тестируемых препаратов. Вторая половина была подвергнута эвтаназии через 8 недель после начала введения тестируемых препаратов. У животных были выполнены измерения гематологических показателей периферической крови, биохимический анализ сыворотки крови, массы органов. В рамках данного исследования гистологический анализ не потребовался.

Для всех количественных данных была применена описательная статистика: подсчитаны средние значения и стандартная ошибка среднего. Нормальность распределения вариант в группе определяли тестом Shapiro-Wilk при 5%-ном уровне значимости. Данные веса тела и потребления корма были проанализированы двухфакторным дисперсионным анализом ANOVA с последующим тестом Newman-Keuls или Duncan. Данные гематологии, биохимии и веса органов были проанализированы с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим тестом Newman-Keuls или непараметрического критерия Kruskal-Wallis с последующим тестом Dunn в зависимости от типа распределения количественных данных.

Статистический анализ проводили программой Statisticaver. 7.1. Различия определяли при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам определения микробиологических исследований БАД к пище было установлено отсутствие патогенной микрофлоры во всех пробах, что свидетельствует о высокой степени микробиологической чистоты биопродукции. Также по обследованным показателям токсичных элементов и пестицидов биопрепарат соответствует нормативам, установленным для БАД (СанПиН 2.3.2.1290-03).

В ходе токсикологического исследования признаков интоксикации организма животных не отмечено, случаи летальных исходов отсутствовали. Статистически значимых различий между животными, получавшими тестируемые препараты, и контрольными животными, получавшими физиологический раствор, по массе тела и ее приросту ни у самцов, ни у самок выявлено не было.

После введения тестируемых препаратов у мышей не наблюдалось выраженных изменений биохимических показателей сыворотки крови, которые могли бы свидетельствовать о токсических изменениях во внутренних органах (табл. 1).

Таблица 1

Биохимические показатели крови животных (самки, n = 60)

Биохимический параметр	Срок эвтаназии, день	Значение биохимического параметра/препарат		
		Контроль (физ. раствор)	Ягель Детокс, доза 1 (1000 мг/кг)	Ягель Детокс, доза 2 (2000 мг/кг)
1	2	3	4	5
Мочевина, ммоль/л	15-й	10,1 ± 3,6	8,6 ± 1,5	8,3 ± 1,3
	60-й	8,4 ± 2,9	10,2 ± 3,7	9,1 ± 2,4
Холестерин, ммоль/л	15-й	2,4 ± 0,5	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,7
	60-й	3,2 ± 1,4	2,9 ± 0,9	3,1 ± 0,9
Триглицериды, ммоль/л	15-й	0,7 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,6 ± 0,2
	60-й	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,4	0,8 ± 0,3
АЛТ, Ед/л	15-й	35,1 ± 14,3	26,0 ± 3,8	32,0 ± 3,4
	60-й	27,9 ± 12,7	31,5 ± 4,6	30,8 ± 2,3
АСТ, Ед/л	15-й	86,8 ± 34,1	59,4 ± 9,4	73,8 ± 31,0
	60-й	67,5 ± 24,8	63,2 ± 19,0	72,9 ± 32,1
Билирубин, мкмоль/л	15-й	3,8 ± 1,9	4,7 ± 1,1	4,8 ± 1,5
	60-й	4,1 ± 2,0	3,9 ± 2,5	4,6 ± 1,7
Креатинин, мкмоль/л	15-й	63,3 ± 14,0	53,0 ± 16,4	56,6 ± 8,5
	60-й	57,8 ± 9,1	61,2 ± 19,3	55,4 ± 7,2
ЩФ, Ед/л	15-й	119,0 ± 22,3	100,4 ± 22,9	114,9 ± 35,5
	60-й	115,3 ± 12,6	107,9 ± 21,4	116,5 ± 27,7

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
Альбумин, г/л	15-й	32,9 ± 2,1	31,8 ± 1,7	31,9 ± 2,1
	60-й	33,5 ± 3,0	34,2 ± 2,8	32,5 ± 3,1
Кальций, ммоль/л	15-й	2,5 ± 0,2	2,4 ± 0,05	2,4 ± 0,1
	60-й	2,4 ± 0,1	2,7 ± 0,8	2,6 ± 0,3
Фосфор, ммоль/л	15-й	3,8 ± 1,0	3,4 ± 0,5	3,3 ± 0,2
	60-й	3,5 ± 2,0	3,3 ± 0,7	3,4 ± 0,1
Общий белок, г/л	15-й	45,3 ± 2,9	43,7 ± 2,6	44,0 ± 3,6
	60-й	41,9 ± 3,0	44,6 ± 1,9	45,6 ± 2,1
Глобулины, г/л	15-й	12,4 ± 1,2	11,9 ± 1,2	12,1 ± 1,7
	60-й	12,8 ± 1,3	10,9 ± 2,0	12,8 ± 2,6

Результаты гематологического анализа показали, что внутрижелудочное введение тестируемого препарата «Ягель Детокс» мышам CD-1 не выявило токсических эффектов на систему крови (табл. 2).

Таблица 2

Гематологические показатели животных (самки, n = 60)

Параметр	Срок эвтаназии, день	Значение параметров гематограммы / препарат		
		физ. раствор	Ягель Детокс, доза 1 (1000 мг/кг)	Ягель Детокс, доза 2 (2000 мг/кг)
1	2	3	4	5
Количество лейкоцитов (WBC), г/л	15-й	3,2 ± 1,2	4,0 ± 1,9	3,3 ± 1,0
	60-й	3,9 ± 0,9	3,5 ± 1,6	3,8 ± 1,4
Количество эритроцитов (RBC), т/л	15-й	9,16 ± 0,12	10,02 ± 0,36	9,18 ± 0,49
	60-й	10,29 ± 0,26	9,45 ± 0,74	9,97 ± 0,68
Уровень гемоглобина (Hb), г/л	15-й	152 ± 3	138 ± 4	129 ± 5
	60-й	147 ± 7	129 ± 6	135 ± 4
Гематокрит (HCT), л/л	15-й	0,482 ± 0,024	0,457 ± 0,037	0,457 ± 0,023
	60-й	0,471 ± 0,035	0,445 ± 0,062	0,439 ± 0,027
Средний объем эритроцита (MCV), фл	15-й	51,8 ± 0,2	51,4 ± 0,4	49,9 ± 3,6
	60-й	50,3 ± 0,4	52,1 ± 0,9	49,7 ± 2,2
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	15-й	316 ± 0,1	307 ± 0,4	282 ± 12
	60-й	293 ± 0,5	314 ± 0,2	301 ± 4
Количество тромбоцитов (PLT), г/л	15-й	816 ± 0,12	902 ± 0,36	854 ± 185
	60-й	875 ± 23	892 ± 35	868 ± 119
Средний объем тромбоцитов (MPV), фл	15-й	5,2 ±0,3	4,8 ± 0,4	4,9 ± 0,2
	60-й	4,9 ± 0,2	5,0 ± 0,3	5,1 ± 0,3
Тромбокрит (PCT), сл/л	15-й	0,489 ± 0,023	0,517 ± 0,073	0,393 ± 0,076
	60-й	0,457 ± 0,038	0,522 ± 0,069	0,420 ± 0,034
Широта распределения тромбоцитов по объему,%	15-й	11,8 ± 0,2	11,4 ± 0,4	10,7 ± 1,3
	60-й	11,5 ± 0,3	11,6 ± 0,7	11,8 ± 1,4
Лейкограмма				
Нейтрофилы палочкоядерные, г/л	15-й	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,04
	60-й	0,01 ± 0,03	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,05
Нейтрофилы сегментоядерные, г/л	15-й	1,50 ± 0,27	2,06 ± 0,40	0,30 ± 0,16
	60-й	1,44 ± 0,35	1,86 ± 0,84	0,32 ± 0,17
Эозинофилы, г/л	15-й	0,07 ± 0,04	0,11 ± 0,05	0,03 ± 0,02
	60-й	0,09 ± 0,03	0,05 ± 0,04	0,08 ± 0,02
Базофилы, г/л	15-й	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	60-й	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5
Лимфоциты, г/л	15-й	5,63 ± 1,30	6,76 ± 1,52	2,90 ± 0,81
	60-й	4,45 ± 1,60	5,19 ± 1,43	3,22 ± 0,64
Моноциты, г/л	15-й	0,02 ± 0,02	0,08 ± 0,07	0,04 ± 0,01
	60-й	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,04	0,08 ± 0,02

Статистически значимых различий по массе органов между группами животных, получавших тестируемые препараты, и контрольными животными в ходе исследования также выявлено не было (табл. 3).Данные в табл. 1 – 3 приведены для самок, у самцов результаты аналогичны.

Таблица 3

Масса органов животных (самки, n = 60)

Орган	Срок эвтаназии, день	Масса органов, г/препарат		
		Контроль (физ. раствор)	Ягель Детокс, доза 1 (1000 мг/кг)	Ягель Детокс, доза 2 (2000 мг/кг)
Семенники/ яичники	15-й	0,0217 ± 0,001	0,021 ± 0,001	0,0232 ± 0,001
	60-й	0,0199 ± 0,001	0,0223 ± 0,001	0,0211 ± 0,001
Селезенка	15-й	0,1028 ± 0,008	0,1118 ± 0,01	0,112 ± 0,008
	60-й	0,1048 ± 0,01	0,1250 ± 0,012	0,1095 ± 0,01
Почки	15-й	0,3460 ± 0,02	0,3292 ± 0,01	0,3353 ± 0,02
	60-й	0,3542 ± 0,04	0,3485 ± 0,08	0,3352 ± 0,06
Надпочечники	15-й	0,0091 ± 0,001	0,0103 ± 0,001	0,0123 ± 0,001
	60-й	0,0110 ± 0,001	0,0099 ± 0,001	0,0110 ± 0,001
Печень	15-й	1,1994 ± 0,03	1,1354 ± 0,03	1,1868 ± 0,03
	60-й	1,1761 ± 0,06	1,1494 ± 0,05	1,1645 ± 0,04
Тимус	15-й	0,0491 ± 0,004	0,0512 ± 0,008	0,0468 ± 0,004
	60-й	0,0468 ± 0,005	0,0495 ± 0,01	0,0501 ± 0,03
Сердце	15-й	0,1297 ± 0,005	0,123 ± 0,003	0,1247 ± 0,005
	60-й	0,1315 ± 0,009	0,1286 ± 0,007	0,1252 ± 0,006
Легкие	15-й	0,1653 ± 0,01	0,1658 ± 0,005	0,1578 ± 0,01
	60-й	0,1722 ± 0,009	0,1684 ± 0,007	0,1595 ± 0,015

При плановой некропсии животных в ходе визуального осмотра внешнего состояния тела, внутренних поверхностей и проходов, полости черепа, грудной, брюшной и тазовой полостей с находящимися в них органами и тканями, шеи с органами и тканями, каркаса и скелетно-мышечной системы, а также мест введения морфологических признаков отклонений от общепринятой нормы, связанных с действием исследуемых препаратов, выявлено не было.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать заключение о том, что тестируемый препарат «Ягель Детокс «прошел токсиколого-гигиеническую экспертизу и может быть рекомендован для проведения дальнейших доклинических испытаний.

Список литературы

1. Аньшакова В.В. Биотехнологическая механохимическая переработка лишайников рода Cladonia. – М.: Изд. дом «Акад. Естествознания», 2013. 116 с.

2. Аньшакова В.В. Механохимическая технология получения биокомплексов на основе лишайникового сырья // Биофармацевтический журнал. –2011. –Т. 3. № 5. – С. 33 – 42.

3. Аньшакова В.В. Механохимическая нанобиотехнология получения высокоэффективных комплексов на основе универсального наполнителя // Нанотехнологии и охрана здоровья. –2012. –Т.4. № 4. – С.18 – 25.

4. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Биологически активная добавка актопротекторного, адаптогенного действия из растительного сырья и способ ее получения // Патент России № 2477143 С1. 2011.

5. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Биопрепараты на основе ягеля как детоксиканты внутренних сред организма // Биофармацевтический журнал. – 2013. – № 4. – С. 16 – 20.

6. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Способ получения высокоактивного твердофазного биопрепарата антибиотического действия ЯГЕЛЬ из слоевищ лишайников // Патент России № 2467 063 С1. 2011.

7. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., Корякина В.В, Иванова И.К. Низкодозовые антибактериальные биопрепараты на основе лишайников рода Cladonia// Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4. – С. 172 – 176.

8. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., Шарина А.С., Каратаева Е.В. Способ получения сорбционного материала из слоевищ лишайников // Патент России № 2464997. 2011.

9. Аньшакова В.В., Степанова А.В. Биотехнологическая переработка возобновляемого сырья Якутии // Современные проблемы науки и образования. – 2013. № 2. – URL: http://www.science–education.ru/108–8860 (дата обращения: 20.05.2014).

10. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических веществ (утв. Упр. госконтроля лекарственных средств и медтехники Минздрава России 29.12.1997).

11. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище // МУК 2.3.2.721–98. – URL: http://www.opengost.ru (дата обращения: 20.04.2014).

References

1. Anshakova V.V. Bioteknologicheskaya mekhanokhimic heskaya pererabotka lishaynikov roda Cladonia. Moscow: Izd. dom Aka.Estestvoznanija, 2013. 116 p.

2. Anshakova V.V. Mekhanokhimicheskaya tekhnologiya polucheniya biokompleksov na osnove lishaynikovogo syrya // Russian Journal of Biopharmaceuticals, 2011, Vol. 3, no 5. pp. 33–42.

3. Anshakova V.V. Mekhanokhimicheskay ananobiotekhno logiya polucheniya vysokoeffektivnykh kompleksov na osnove universalnogo napolnitelya // Nanotekhnologi i iohrana zdorovya, 2012, Vol.4, no 4. pp.18–25.

4. Anshakova V.V., Kershengolts B.M. Biologicheski aktivnaya dobavka aktoprotektornogo, adaptogennogo dejstviya iz rastitelnogo syrya i sposob ee polucheniya // Patent Rossii no. 2477143 S1. 2011.

5. Anshakova V.V., Kershengolts B.M.Biological preparations on the basis of Reindeer moss as detoxifier internal environment of the organism // Russian Journal of Biopharmaceuticals, 2013, no 4, pp. 16–20.

6. Anshakova V.V., Kershengolts B.M. Sposob poluchenija vysoko aktivnogo tverdofaznogo biopreparata antibioticheskogo deystviya YAGEL iz sloevisch lishaynikov // Patent Rossii no. 2467 063 S1. 2011.

7. Anshakova V.V., Kershengolts B.M., Koryakina V.V, Ivanova I.K. Nizkodozovye antibakterialnye biopreparaty na osnove lishaynikov roda Cladonia // Fundamentalnye i ssledovaniya, 2012, no. 4. pp. 172–176.

8. Anshakova V.V., Kershengolts B.M., Sharina A.S., Karataeva E.V. Sposob polucheniya sorbtsionnogo materiala iz sloevisch lishaynikov // Patent Rossii no. 2464997. 2011.

9. Anshakova V.V., Stepanova A.V. Bioteknologicheskaya pererabotka vozobnovlyaemogo syrya Yakutii // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya, 2013, no 2. URL: http://www.science–education.ru/108–8860 (data obrascheniya: 20.05.2014).

10. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu obschetoksicheskogo deystviya farmakologicheskikh veschestv (utv. Upr. goskontrolya lekarstvennykh sredstv i medtehniki Minzdrava Rossii 29.12.1997).

11. Opredelenie bezopasnosti i effektivnosti biologicheski aktivnyh dobavok k pische // MUK 2.3.2.721–98. URL: http://www.opengost.ru (data obrascheniya: 20.04.2014).

Рецензенты:

Кершенгольц Б.М., д.б.н., профессор, зам. директора по науке Института биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск;

Борисова Н.В., д.м.н., зам. директора по учебной работе Медицинского института ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г. Якутск.

Работа поступила в редакцию 04.06.2014.