

UDC 615

SCOPUS CODE 3005

ТОКСИКОЛОГИЯ БИОАКТИВНОЙ ДОБАВКИ “GRAIL”

Р.Г. Мелкадзе

Департамент пищевой индустрии, Грузинский технический университет, Грузия, 0175,
Тбилиси, ул. М. Костава 68^ა
E-mail: remeisi@mal.ru

Рецензенты:

Л. Гулуа, доктор биологических наук Аграрного университета кампус Кахи Бендукидзе
E-mail: agruni.edu.ge

Т. Мегрелидзе, профессор Департамента пищевой индустрии факультета транспорта и машиностроения ГТУ
E-mail: tmegrelidze@yahoo.com

АННОТАЦИЯ. Изучена острая и хроническая токсичность биоактивной добавки “Grail”, представляющая собой многокомпонентную настойку более 25 лекарственных растений, продуктов пчеловодства и виноделия. Подопытными животными служили мыши, крысы и собаки.

Установлено, что в дозах 3 и 10 мл/кг к весу животных (превосходящих от 6 до 20 раз рекомендуемые для применения у человека) “Grail” не вызывает отклонений в жизнедеятельности животных, не оказывает отрицательного влияния на систему кроветворения, не обладает паренхиматозной токсичностью, не влияет на функциональное состояние печени и почек.

Судя по результатам биохимических исследований крови, “Grail” не вызывает нарушения основных обменных процессов в организме, не влияет на функции эндокринных органов и электролитный баланс.

Введение препарата в испытанных дозах оказало, вместе с тем, положительное заметное влияние на прирост массы тела животных и общий физический статус, оцениваемый по нагрузочно-координационному тесту тредмилл.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биоактивная добавка; дозы; острая токсичность; подопытные животные; хроническая токсичность.

ВВЕДЕНИЕ

Растительные компоненты в биоактивной добавке “Grail” (далее БД) [1] содержатся в дозах, которые не превышают 1/5-1/3 терапевтических доз фитопрепаратов из тех же растений. Однако сумма компонентов по ряду общих направлений биоактивности достигает одной терапевтической дозы и может ее превышать. Учитывая при этом, что многие химические вещества, входящие в состав БД, могут обладать непредсказуемым эффектом при взаимодействии или проявлять взаимопотенцирующие свойства, доказательства токсикологической безопасности данной многокомпонентной растительной композиции является первым и главным условием возможности применения БД в качестве пищевого продукта с лечебными свойствами [2-5].

В соответствии со стандартными требованиями к изучению лекарственных средств и лечебных продуктов в данной работе в экспериментах на 3 видах животных – мышах, крысах и собаках обоего пола проведено изучение острой и хронической токсичности и переносимости БД при пероральном (интрагастральном) введении.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ

Острая токсичность для мышей

Опыты проведены на 40 самцах и самках мышей массой 21-23 г. Перед экспериментом животные выдерживались в течение 2 недель в карантинных условиях на стандартном пищевом рационе. Для опыта отбирали здоровых особей с чистым и гладким шерстным покровом и нормальной поведенческой активностью. Из общей партии отобранных животных формировали равноценные группы (по 5 мышей каждого пола на дозу), которые рассаживали по отдельным клеткам и брали в эксперимент после внутригрупповой адаптации. Доступ к воде и корму был свободным, световой режим – естественным [6-8].

БД вводили интрагастрально с помощью иглы-зонда в объемах 0.1, 0.3 и 1 мл на 10 г массы тела (10-100 мл/кг), т.е. в предельных количествах для данного вида животных. Большие объемы препарата (1 мл/10 г) вводили в 3 приема с интервалом 3-4 минуты, достаточным для эвакуации жидкости из желудка. В качестве биологического контроля использовали животных той же партии, которым вводили водопроводную воду в объеме 0.3 мл/10 г (плацебо) [9-11].

Острая токсичность для крыс

Эксперименты проведены на 40 крысах линии Вистар, массой 130-140 г (самцы) и 110-120 г (самки), содержащихся на стандартном пищевом рационе. Перед опытом животные взвешивались и распределялись по массе на равноценные группы, включающие по 5 особей каждого пола. БД вводили в дозах 3, 10 и 30 мл/кг интрагастрально, учитывая низкую ее токсичность для мышей. Следует отметить, что доза 30 мл/кг, составляющая 3% массы тела, является предельной по объему для введения крысам. Эту дозу во избежание перерастяжения желудка вводили в 3 приема.

Наблюдения за животными проводили в течение 14 суток с регистрацией выживаемости общего неврологического статуса (по Irvin) и весового прироста. Нейротоксичность оценивали по состоянию простых и сложных моторных рефлексов, изменению двигательной активности, абдоминальному тону, состоянию мышечной силы (хватательному рефлексу), наличию каталептоидных явлений, пилоэрекции, гип-

отермии, состоянию дыхания, наличию мидриаза или миоза, рефлексу испуга, реакции на хендлинг, состоянию диуреза, дефекации, саливации.

По окончании 2-недельного наблюдения исследовали гематологические показатели – содержание эритроцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов в периферической крови, оценивали состояние диуреза (при водной нагрузке), проводили гексеналовый тест на обезвреживающую функцию печени. На 16-е сутки животных забивали эфирным наркозом и подвергали аутопсии с целью патологоанатомического исследования внутренних органов.

Острая токсичность для собак

Эксперименты проведены на 12 беспородных собаках обоего пола массой 5.3 – 6.8 кг.

Животных перед опытом выдерживали в карантине в течение 3 недель. Для эксперимента отбирали здоровых особей по данным гематологического анализа крови и наблюдения за общим состоянием, функцией пищеварительного тракта, температурой тела. В группы из 4 собак (на дозу) включали по 2 самца и самки.

Собак в течение недели до эксперимента приучали ежедневно к процедуре измерений артериального давления (осциллографическим методом на голени) и записи ЭКГ, которые проводили у животных без фиксации в положении стоя.

Накануне эксперимента снимали фоновые показатели двигательной активности животных методом визуальной актометрии в течение 5 часов. Количественная визуальная актометрия основывалась на регистрации поведения и позы животных в покое (спонтанная двигательная активность – СДА) и реакции животных на контакт с экспериментатором (вызванная двигательная активность – ВДА). СДА и ВДА оценивали по 5-балльной шкале за каждые 15 минут наблюдения. Суммарные показатели активности за каждый час наблюдения сравнивали с соответствующими (по срокам) фоновыми значениями показателей, полученными накануне эксперимента у тех же собак в стандартных условиях. Статистическую значимость изменений СДА и ВДА в динамике интоксикации оценивали методом парных сравнений по Т-критерию Вилкоксона.

В день эксперимента перед введением БД в обстановке покоя снимали фоновые значения артериального давления, ЭКГ, ректальной температуры. БД

вводили интрагастрально желудочным зондом в дозах 1 и 3 мл на кг массы тела. Контрольным собакам в качестве плацебо инстиллировали водопроводную воду в объеме 3 мл/кг.

Наблюдение за животными проводили непрерывно в течение первых 5 часов после инъекции. Оценивали общее состояние, двигательную активность (СДА и ВДА), функцию желудочно-кишечного тракта, проводили измерения ректальной температуры, артериального давления и ЭКГ с интервалом 1-3 часа. В дальнейшем на протяжении 14 суток (1 раз в неделю)

регистрировали артериальное давление, ЭКГ, ежедневно оценивали общий неврологический статус, поедание корма, состояние дефекации и мочеиспускания, проводили анализ крови через 1, 7 и 14 суток.

2. ИЗУЧЕНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ

Условия проведения испытаний и критерии оценки

Исследование субхронической токсичности БД проведено в экспериментах на мышах по следующему протоколу:

Животные	Пол	Число животных	Дозы БГ, мл/кг	Продолжительность введения	Исследуемые показатели
Мыши [СВАХС ₅₇ В1 ₆] F ₁ 17-20 г	Самцы, самки	60	Плацебо 3.0 10.0	21 день	Масса тела, гематологические показатели, неврологический статус, патанатомическое исследование и весовые коэффициенты внутренних органов, биохимия крови, обезвреживающая функция печени.

Препарат вводили интрагастрально в объеме 0.1 мл/10 г массы тела ежедневно до 10 часов утра. Контрольные мыши получали внутрь водопроводную воду в том же объеме.

Общетоксическое действие БД оценивали по динамике массы тела животных при взвешивании 2 раза в неделю, гематологическим показателям – при исследовании крови 1 раз в неделю в течение курса введения и в конце эксперимента [12].

Нейротоксичность определяли по комплексу тестов, характеризующих функциональное состояние различных уровней организации мозга (рефлекс опрокидывания, зрачковый и роговичный рефлекс, реакция постановки лапы на опору, хватательный рефлекс, способность удерживать равновесие на перекладине), мышечную силу – по способности подтягиваться на горизонтально натянутой проволоке. Моторно-координационные функции оценивали в тесте на тредмилл.

Вегетативный статус характеризовали по состоянию слизистых, шерстного покрова, ширины глазных щелей, наличию саливации, диареи, опрятности животных.

Клеточный состав периферической крови определяли, используя стандартные методики подсчета

клеток в камере Горяева или автоматический счетчик. Пробы крови брали под эфирным наркозом из наружного орбитального синуса. Через сутки после последнего введения основы ставили гексеналовый наркотический тест для оценки функционального состояния печени [13-14].

Через 2 суток после проведения всех тестов у мышей под эфирным наркозом производили забор крови сердечной пункцией в объеме до 1.5 мл. Кровь подвергали свертыванию, центрифугировали, сыворотку отсасывали и хранили при -20°C до момента биохимического анализа. После этого животных вскрывали, оценивали патанатомическое состояние внутренних органов, затем внутренние органы (мозг, сердце, печень, легкие, почки, надпочечники, селезенка, семенники, яичники, тимус) извлекали и взвешивали для определения весовых коэффициентов, которые рассчитывали по отношению к массе тела [15-16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Острая токсичность у мышей

Проявления общего действия БД при интрагастральном введении мышам представлены в табл.1.

ТАБЛИЦА 1

Проявления общего действия БД у мышей¹⁾

Дозы мл/кг	Число ²⁾ мышей	Реакция животных
10.0	10	Слабовыраженное кратковременное (до 1ч.) повышение возбудимости, в дальнейшем отклонений в поведении и состоянии животных не отмечается. Гибели нет.
30.0	10	Слабовыраженное, быстро проходящее повышение возбудимости. В дальнейшем на протяжении 14 суток состояние и поведение животных не отличалось от контроля. Гибели не наблюдалось.
100.0	10	Кратковременное угнетение, проходящее в течение часа. В дальнейшем на протяжении 14 суток отклонений в поведении и состоянии мышей не отмечается. Гибели нет.

Примечания: ¹⁾ – реакция идентична у животных обоего пола; ²⁾ – самцы и самки.

Наблюдение за животными проводили непрерывно на протяжении первого дня после введения препарата, и в последующем состояние животных отмечали дважды в сутки в течение 14 дней. Регистрировали клиническую картину интоксикации, неврологический статус и поведение животных, состояние вегетативных функций, шерстного покрова, поедание корма, потребление воды, динамику массы тела при ежедневном взвешивании. По истечении 14 суток у подопытных и контрольных мышей анализировали клеточный состав крови и проводили наркотический гексеналовый тест для выявления возможной гепатотоксичности препарата.

Испытания на мышах показали, что БД в дозах от 10 до 100 мл/кг, предельных для введения мышам и превосходящих среднюю дозу, рассчитанную на человека (0.5 мл/кг), в 20 – 200 раз, не оказывает видимого общего действия на поведение и состояние животных и не вызывает их гибели. Мыши сохраняют

обычную для них исследовательскую реакцию, локомоторные функции и координацию движений, болевую чувствительность. Не отмечается расстройств дефекации, мочеиспускания, других вегетативных симптомов и признаков нейротоксичности. Небольшое повышение возбудимости, возникающее у части мышей в течение 1-го часа после введения препарата, является проходящим. На протяжении последующих двух недель наблюдения изменений в общем состоянии и поведении животных, как и случаев гибели, не отмечено.

Двухнедельное наблюдение за животными, получившими БД в дозах 10-100 мл/кг, показало, что препарат не оказывает отрицательного последствия. У мышей не выявлено существенных изменений; 2-недельного прироста массы тела (табл.2), отклонений гематологических показателей (табл.3), нарушений функционального состояния печени, судя по результатам гексеналовой пробы (табл.4)

ТАБЛИЦА 2

Влияние однократного интрагастрального введения БД в дозах 10-100 мл/кг на динамику массы тела мышей при последующем 14-суточном наблюдении (г, M±m)

Группы	Дозы БД, мл/кг	Сутки после введения			
		0	3	7	14
Контроль	Вода	22.0±0.3	23.4±0.3	25.1±0.4	26.6±0.1
БД	10.0	22.2±0.3	23.7±0.4	25.6±0.6	27.1±0.1
БД	30.0	22.1±0.4	23.4±0.4	24.8±0.5	26.4±0.1
БД	100.0	22.3±0.5	23.1±0.6	24.5±0.6	26.3±0.1

ТАБЛИЦА 3

Влияние однократного интрагастрального введения БД в дозах 10-100 л/кг на клеточный состав периферической крови¹⁾ у мышей через 14 суток (n=10)

Группы	Дозы мл/кг	Эритроциты 10 ³ /мкл	Лейкоциты 10 ³ /мкл	Нейтрофилы 10 ³ /мкл	Тромбоциты 10 ⁶ /мкл
Контроль	Плацебо	8,8±0,5	10,5±1,3	1,71±0,23	0,91±0,07
БД	10.0	8,1±0,5	8,9±1,0	1,47±0,30	0,94±0,18
БД	30.0	8,7±0,4	8,4±0,8	1,25±0,25	0,89±0,08
БД	100.0	8,5±0,6	9,3±1,1	1,57±0,32	0,86±0,12

Примечание¹⁾ – кровь брали из наружного орбитального синуса.

ТАБЛИЦА 4

Влияние однократного интрагастрального введения БД в дозах 10-100 мл/кг на результаты гексеналовой пробы у мышей через 14 суток (n=5)

Группы	Дозы мл/кг	Продолжительность наркоза ¹⁾ мин.	P _t ²⁾
Контроль	Вода	36.0±2.73	
БД	10.0	29.8±3.28	> 0.2
БД	30.0	32.2±3.12	> 0.2
БД	100.0	38.7±3.24	> 0.2

Примечания: ¹⁾ – продолжительность бокового положения после внутрибрюшного введения гексенала в дозе 70 мг/кг; ²⁾ – P_t – вероятность нулевой гипотезы при оценке различий по t-критерию Стьюдента.

При вскрытии животных, забитых в конце наблюдения, не обнаружено существенных патоморфологических изменений внутренних органов.

Таким образом, исследования на мышах показали, что БД нетоксичен для животных этого вида в дозах до 100 мл/кг, превосходящих до 200 раз расчетную дозу на прием человеком.

Острая токсичность у крыс

Картина общего действия БД у крыс в дозах 3-30 мл/кг суммирована в табл.5.

Установлено, что БД в дозе 3 мл/кг не оказывает обнаруживаемого влияния на поведение, неврологический статус и состояние вегетативных функций у крыс на протяжении всего периода наблюдения.

ТАБЛИЦА 5

Проявление общего действия БД у крыс

Дозы мл/кг	Число ¹⁾ крыс	Реакция животных
3.0	10	Изменений в общем состоянии и поведении не наблюдается.
10.0	10	Кратковременное повышение возбудимости, в дальнейшем изменений поведения, неврологического статуса и вегетативных функций не обнаруживается, гибели нет.
30.0	10	Кратковременное угнетение (0.5-1 час). В дальнейшем изменения отсутствуют, гибели нет.

Примечания: ¹⁾ – самцы и самки.

В дозе 10 мл/кг у крыс, как и у мышей, отмечена кратковременная фаза повышения общей возбудимости ЦНС после введения препарата. В последующем состояние и поведение крыс не отличалось от нормы по всему комплексу поведенческих тестов. В дозе 30 мл/кг БД вызывает небольшую общую депрессию у животных, сохраняющуюся не более часа и обусловленную, возможно, большим объемом вводимой жидкости.

Во всех испытанных дозах (до 30 мл/кг) однократное введение БД не оказывало существенного влия-

ия на последующую жизнедеятельность животных. Так, при двухнедельном наблюдении у подопытных крыс отмечался нормальный весовой прирост (табл.6), не выявлено признаков нейротоксичности по моторно-координационному тесту (табл.7), существенных изменений гематологических показателей (табл.8) и диуреза (табл.9), не отмечено отклонений в состоянии печени, судя по гексеналовой пробе (табл.10). При аутопсии животных, забитых в конце наблюдения, не найдено патологоанатомических признаков токсичности препарата.

ТАБЛИЦА 6

Острая токсичность БД для крыс и влияние однократного введения препарата на прирост массы тела¹⁾

Дозы мг/кг	Число ²⁾ животных (n)	Летальность на указанные сутки			Прирост массы тела на 14-е сутки, %	
		1	7	14	Самцы	Самки
Контроль	10	0	0	0	33.2±4.8	30.6±3.5
3.0	10	0	0	0	37.0±4.5	31.3±3.2
10.0	10	0	0	0	36.6±4.1	32.3±4.2
30.0	10	0	0	0	37.8±4.3	27.6±3.9

Примечания:¹⁾ – БД вводили интрагастрально, контрольным крысам в качестве плацебо вводили водопроводную воду по 3 мл/100 г. ²⁾ – в группы входило по 5 самцов и 5 самок.

ТАБЛИЦА 7

Результаты тестирования моторно-координационных функций у крыс после однократного введения БД

Дозы мл/кг	Частота выявления моторно-координационных расстройств ¹⁾ в указанные сроки после введения			
	1 сут	3 сут	7 сут	14 сут
Плацебо	0/10	0/10	0/10	0/10
3.0	0/10	0/10	0/10	0/10
10.0	0/10	0/10	0/10	0/10
30.0	0/10	0/10	0/10	0/10

Примечание:¹⁾ – моторно-координационные функции тестировали по удержанию крыс на вращающемся барабане тредмилла при скорости 18 об/мин. Критерием нормы служило время удержания в течение 3 минут.

ТАБЛИЦА 8

Клеточный состав периферической крови у крыс (M±m) на 4-е
 сутки после однократного введения БД

Дозы мл/кг	Эритроциты, 10 ³ /мкл	Лейкоциты, 10 ³ /мкл	Нейтрофилы, 10 ³ /мкл	Тромбоциты, 10 ⁶ /мкл
Контроль	8.3±0.4	6.7±1.1	1.3±0.2	0.81±0.11
3.0	8.6±0.5	7.2±1.3	1.6±0.3	0.84±0.13
10.0	8.2±0.5	7.5±1.2	1.2±0.2	0.88±0.14
30.0	7.8±0.3	7.1±1.0	1.4±0.3	0.82±0.10

Примечание: в группы входило по 5 самцов и самок

ТАБЛИЦА 9

Влияние однократного введения БД на водный диурез у крыс на 16-е сутки после
 однократного введения (проба с водной нагрузкой¹⁾)

Дозы препарата, мл/кг	n	Выведение воды за 5 часов после водной нагрузки, % (M±m)	P _t
Контроль	5	89.0±7.3	
3.0	5	78.7±7.9	NS
10.0	5	84.5±7.2	NS
30.0	5	88.3±7.6	NS

Примечания: ¹⁾ – опыты на самцах. NS – отсутствие достоверных различий с контролем при P_t ≤ 0.05

ТАБЛИЦА 10

Результаты проведения гексеналового теста у крыс на 15 сутки после
 однократного введения БД¹⁾

Дозы препарата, мл/кг	n	Продолжительность ²⁾ гексен- алового наркоза мин., (M±m)	Достоверность ³⁾ различий
Контроль	5	36.4±4.8	
3.0	5	33.7±4.5	NS
10.0	5	41.0±3.7	NS
30.0	5	38.3±5.2	NS

Примечания: ¹⁾ – тест проведен на самках крыс на 15-е сутки после введения препарата или плацебо;
²⁾ – гексенал вводили внутрибрюшинно в дозе 75 мг/кг, наркотический эффект оценивали по длительности
 бокового положения. ³⁾ – оценено по t-критерию Стьюдента, F-критерию Фишера и U-критерию Манна-Уи-
 тни, NS – различия с контролем недостоверны при P ≤ 0.05 по всем указанным критериям.

Острая токсичность у собак у собак в первые сутки и на протяжении последующих
 В испытанных дозах – 1 и 3 мл/кг – БД при одно- 14 дней наблюдения (табл.11).
 кратном введении не вызывает токсических эффектов

ТАБЛИЦА 11

Общее действие БД у собак при введении внутрь

Дозы мл/кг	Число ¹⁾ собак	Наблюдаемые эффекты в первые 6 часов после введения
Плацебо	4	Краткосрочная эмоциональная реакция.
1.0	4	В первые 1.5-2.5 часа повышены СДА, внимание, контактность, положительные эмоциональные реакции. В дальнейшем изменений в общем состоянии и поведении не обнаруживается.
3.0	4	Повышение двигательной и эмоциональной активности. Контактности в течение 2-3 часов. Вегетативные, неврологические и диспепсические нарушения отсутствуют. В течение 14 суток последующего наблюдения собаки не отличаются от контрольных.

Примечание: ¹⁾ – в группах по 2 самца и 2 самки.

Вместе с тем у собак, получивших БД, в течение 1.5-3 часов после введения отмечено повышение общей двигательной активности, эмоционального тонуса и реакции на контакт с экспериментатором (табл.12). Эти эффекты носили умеренно выраженный характер и не достигали степени возбуждения. В последующем состоянии животных практически не отличалось от исходного – не обнаруживалось вегетативных дисфункций (дефекации, мочеиспускания) и отклонений от нормы неврологического статуса и поведения.

ТАБЛИЦА 12

Влияние БД на спонтанную (СДА) и вызванную (ВДА) двигательную активность собак (M±m)¹⁾

Вид активности	Дозы мл/кг	n	Часы после введения препарата				
			1	2	3	4	5
СДА	Плацебо	4	11±3	9±1	8±1	8±1	7±1
	1.0	4	15±3*	12±3	9±1	9±2	8±1
	3.0	4	17±2*	12±3	8±1	8±1	8±2
ВДА	Плацебо	4	12±2	11±2	9±1	9±1	9±1
	1.0	4	17±2*	15±1*	11±1	10±2	10±2
	3.0	4	18±1*	17±1*	12±1	11±1	9±1

Примечание: ¹⁾ – средняя сумма баллов за 1 час наблюдения при регистрации активности каждые 15 минут; * - достоверное различие с плацебо по T-критерию Вилкоксона.

Однократное введение БД не влияло на гематологические показатели крови (табл. 13), существенно не изменяло параметры артериального давления и показатели ЭКГ. Таким образом, БД переносится у собак в дозах до 10 мл/кг без токсических и побочных эффектов.

ТАБЛИЦА 13

Гематологические показатели у собак после однократного
 интрагастрального введения БД

Сутки после введения	Дозы мл/кг	Гемоглобин г/л	Эритроциты 10 ¹² /л	Ретикулоциты 10 ⁹ /л	Тромбоциты 10 ⁹ /л	Лейкоциты 10 ⁹ /л	Нейтрофилы 10 ⁹ /л
Фон	-	158± 7	.3±0.5	25±5.4	460±46	9.1±0.9	6.8±0.9
1	3	162±11	.2±0.4	20±4.8	440±63	.4±1.1	6.5±1.0
	10	157± 9	6.3±0.6	27±4.3	480±66	9.5±1.2	6.9±0.9
7	3	155±10	6.1±0.5	19±4.2	463±49	.7±0.8	6.5±0.8
	10	159± 8	5.8±0.7	28±5.7	442±57	9.3±1.0	6.2±0.6
15	3	163±11	6.2±0.6	20±4.1	425±52	8.6±0.9	5.7±0.7
	10	164± 7 *	6.0±0.4	23±5.4	439±46	8.9±0.8	6.3±0.7

Примечание: кровь брали из подкожной вены голени; каждое индивидуальное значение показателя является средним из подсчетов трех отдельных проб. В таблице приведены средние групповые показатели со стандартной ошибкой.

Хроническая токсичность

Общее действие

Проведенные испытания показали, что 3-недельное введение БД в дозах 3 и 10 мл/кг существенно не влияло на общее состояние животных и не вызывало случаев гибели. В ходе всего эксперимента

животные оставались активны, не отличаясь по своему поведению от контрольных. Ни в одном случае у животных не было выявлено неврологических расстройств или признаков нарушения вегетативных функций, возбудимости и эмоционального статуса (табл.14).

ТАБЛИЦА 14

Вегетативный и неврологический статус у мышей при 3-недельном
 ежедневном введении БД в дозе 10 мл/кг

Показатели	Наличие отклонений в указанные сроки		
	7 сутки	14 сутки	21 сутки
Вегетативные функции	0/10	0/10	0/10
Поведение, двигательная активность	0/10	0/10	0/10
Моторная координация и мышечный тонус	0/10	0/10	0/10
Болевая чувствительность	0/10	0/10	0/10
Эмоциональность	0/10	0/10	0/10

Примечание: состояние мышей тестировали по Irvin, результаты обобщены за каждый интервал наблюдений.

В течение курса введения БД подопытные животные несколько опережали контрольных по приросту массы тела и в конце эксперимента это различие

достигло статистической значимости по критерию Фишера (ANOVA) в обеих группах подопытных животных (табл. 15).

ТАБЛИЦА 15

Влияние 3-недельного введения БД на прирост массы тела у мышей
 (в % к исходному весу, (M±m))

Группы	Дозы мл/кг	n	Исходная масса, г	Прирост массы в %		
				Недели введения		
				1	2	3
Самцы						
Плацебо	-	10	19.1±0.4	4.5±1.2	9.8±1.4	1.4±1.3
БД	3.0	10	18.9±0.3	5.5±1.2	10.7±1.2	16.8±1.4*
БД	10.0	10	19.3±0.3	5.9±1.4	11.4±1.3	17.2±1.5*
Самки						
Плацебо	-	10	18.2±0.2	3.7±0.8	7.5±0.9	11.3±1.1
БД	3.0	10	18.0±0.3	4.4±0.6	8.4±0.8	13.6±1.3*
БД	10.0	10	18.1±0.2	4.6±1.0	8.9±1.1	14.3±1.3*

Примечание: БД и плацебо (водопроводную воду) вводили интрагастрально в объеме 0.1 мл/10 г 1 раз в сутки в утренний период (9-10 часов); животных взвешивали непосредственно перед введением препарата с точностью до 0.5 г 2 раза в неделю. * - Достоверное различие с контролем по критерию Фишера ($P \leq 0.05$, ANOVA).

Возможность кумулятивного нейротропного действия БД была оценена по тесту скоростной выносливости мышей при беге по вращающемуся барабану тредмилла.

Результаты исследований, представленные в табл. 16, показывают, что в испытанных дозах БД повышал скоростную выносливость животных до 40 об/мин, которая является предельной при данном испытании.

ТАБЛИЦА 16

Влияние субхронического введения БД в дозах 3 и 10 мл/кг на моторно-координационную функцию и скоростную выносливость мышей (тест тредмилл), оцениваемую через 30-40 мин.
 После назначения БД (об/мин, M±m, n=10)

Сутки опыта	Контроль	3 мл/кг	10 мл/кг
7	36 ± 1.4 ¹⁾	39 ± 0.3	> 40
14	37 ± 1.3	> 40	> 40
21	> 40 ²⁾	> 40	> 40

Примечания: ¹⁾ – предельная скорость вращения барабана тредмилла (об/мин, M± m), при которой мыши способны бежать, не падая с барабана, более 10 с; ²⁾ – в данном и других подобных случаях (при V=40) все мыши выдерживали максимально возможную скорость вращения барабана.

Проведенные исследования позволяют заключить, что основа БД при 3-недельном введении в дозах 3-10 мл/кг не только не оказывает общетоксического действия, оцениваемого по весовому приросту, потреблению корма, состоянию локомоторных функций, двигательной активности и эмоционального статуса, но, напротив, способствует более полноценному физическому развитию животных.

Влияние на гемопоз

Результаты исследований, представленные в табл. 17, показывают, что длительное введение основы БД в дозах 3-10 мл/кг не оказывало существенного влияния на клеточный состав периферической крови и содержание гемоглобина у мышей.

ТАБЛИЦА 17

Влияние субхронического ежедневного введения БД на клеточный состав периферической крови, у мышей (M±m, n=10, самцы и самки)

Сутки	Дозы, мл/кг	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, 10 ¹² /л	Ретикулоциты, 10 ⁹ /л	Тромбоциты, 10 ⁹ /л	Лейкоциты, 10 ⁹ /л	Нейтро-филы 10 ⁹ /л
7	Плацебо	143±4	9.2±0.3	94±13	1210±57	9.3±0.5	1.4±0.2
	3.0	141±4	9.0±0.4	72±10	1180±64	8.4±0.6	1.3±0.2
	10.0	139±4	9.3±0.5	71± 9	1290±75	9.8±0.9	1.6±0.3
14	Плацебо	139±4	9.1±0.2	155± 5	1300±62	13.0±0.9	1.4±0.2
	3.0	141±3	8.8±0.2	123±13	1175±72	11.3±0.8	1.5±0.5
	10.0	136±4	8.7±0.3	135±16	1225±53	10.7±1.1	1.3±0.3
21	Плацебо	142±4	9.5±0.2	95± 9	1270±74	12.7±1.2	1.0±0.1
	3.0	140±3	9.2±0.3	112±11	1163±86	12.0±0.9	1.2±0.2
	10.0	139±4	8.9±0.3	131±14	1310±78	11.7±0.9	1.1±0.2

Примечание: венозную кровь брали при надрезе наружного орбитального синуса под эфирным наркозом.

Оценка паренхиматозной токсичности

Токсичность БД для паренхиматозных органов была изучена комплексно по влиянию препарата на весовые коэффициенты внутренних органов, микроскопическую структуру тканей и биохимические показатели крови, характеризующие состояние основных метаболических процессов в организме, эндо-

кринный и электролитный гомеостаз.

Результаты исследований, представленные в табл.18, свидетельствуют, что 3-недельное введение БД в дозах 3 и 10 мл/кг не влияет на весовые коэффициенты внутренних органов, рассчитанные на единицу массы тела.

ТАБЛИЦА 18

Весовые коэффициенты внутренних органов мышей после 3-недельного интрагастрального введения БД и плацебо (M±m, n=10)¹⁾

Органы	Ед. Изм. ²⁾	Дозы препарата, мл/кг		
		Контроль	3.0	10.0
Головной мозг	%	1.50±0.03	1.44±0.03	1.48±0.04
Сердце	%	0.49±0.02	0.47±0.03	0.50±0.03
Печень	%	5.34±0.10	5.40±0.12	5.14±0.13
Почки	%	1.32±0.03	1.25±0.04	1.34±0.04
Легкие	%	0.61±0.02	0.58±0.03	0.65±0.03
Селезенка	%	0.37±0.02	0.33±0.03	0.43±0.04
Тимус	мг%	88±10	115±12	134±15
Надпочечники	мг%	21± 2	20± 2	23± 2
Семенники	мг%	570±13	580±16	595±19

Примечание: ¹⁾ – самцы и самки; ²⁾ – вес органа в % (мг%) к массе тела.

Макроскопическое исследование внутренних органов мышей показало, что данный препарат не вызывает у животных общепатологических, и тем более, специфических деструктивных изменений в органах и тканях.

Биохимические показатели крови изучены у мышей после 3-недельного интрагастрального введения БД в дозе 10 мл/кг.

Кровь брали у животных внутрисердечной пункцией на 23-ие сутки опыта после проведения остальных тестов. В сыворотке крови определяли 15 биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние паренхиматозных органов, функции печени,

почек, эндокринный статус и электролитный баланс.

Определения проводили на биохимическом анализаторе „Kone Ultra“ с использованием стандартных наборов реагентов.

Результаты, представленные в табл.19, свидетельствуют, что 3-недельное введение БД в дозе 10 мл/кг (превышающей в 20 раз среднюю дозу потребления препарата человеком), не оказывает существенного влияния на активность, в сыворотке крови у мышей обоего пола аланин – и аспартаттрансфераз, щелочной фосфатазы, амилазы, содержание белка, альбуминов, холестерина, креатинина, мочевины, глюкозы, ионов натрия, калия, кальция, хлора и железа.

ТАБЛИЦА 19

Биохимические показатели крови у мышей после 3-недельного ежедневного введения БД в дозе 10 мл/кг (M±m, n=5)

Показатели	Самцы		Самки	
	Контроль	БД	Контроль	БД
АЛТ, ед/л	58±5	67 ±8	62±4	56±5
АСТ, ед/л	76±5	85±5	81±3	70±6
Щ.Ф., ед/л	399±21	587±61	450±11	408±27
Амилаза, ед/л	1215±49	1682±97	1298±114	1326±70
Белок, г/л	59±0.4	51±4.1	63±1.1	61±1.0
Альбумин, г/л	11±0.3	11±1.0	13±0.6	13±0.9
Холестерин, мм/л	1.0±0.8	1.3±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1
Креатинин, мм/л	11±2	10±3	15±2	14±4
Мочевина, мм/л	5.2±0.1	4.8±0.3	5.0±0.2	5.3±0.2
Глюкоза, мм/л	5.6±0.1	5.9±0.3	5.2±0.1	5.7±0.3
Ca ⁺⁺ , мм/л	2.2±0.02	2.6±0.1	2.2±0.1	2.4±0.1
K ⁺ , мм/л	4.3±0.1	3.9±0.2	3.9±0.1	3.7±0.1
Na ⁺ , мм/л	148±1	156±2	143±1	124±2
Cl ⁻ , мм/л	114±1	117±2	107±1	116±2
Fe ⁺⁺⁺ , мм/л	19±2	19±1	34±2	30±2

Полученные результаты дают основание заключить, что БД при хроническом введении по меньшей мере в дозе до 10 мл/кг не оказывает токсического действия на паренхиматозные органы, не влияет на функции печени, почек, эндокринных органов и электролитный баланс.

Влияние на обезвреживающую функцию печени

С целью характеристики действия БД на метабо-

лические процессы, осуществляющие детоксикацию чужеродных веществ в печени, был проведен гексеналовый тест на мышах, получавших препарат в течение 3 недель в дозе 10 мл/кг.

Результаты проведения гексеналовой пробы (табл. 20) показывают, что 3-недельное введение БД не оказывает существенного влияния на функциональное состояние обезвреживающей функции печени.

Результаты гексеналовой пробы¹⁾ у мышей после 3-недельного
 интрагастрального введения БД в дозе 10 мл/кг и плацебо (n=10)

Группы	Продолжительность бокового положения, мин (M±m)			
	Самцы	P _t	Самки	P _t
Плацебо	15.6±1.3		17.4±1.7	
БД	12.6±1.1	> 0.05	14.2±1.5	> 0.05

Примечание:¹⁾ – гексенал вводили внутривентриально в дозе 70 мг/кг на следующие сутки после окончания курса введения препарата.

Совокупность полученных данных позволяет заключить, что БД не обладает отрицательными гепатотоксическими эффектами при хроническом введении и не влияет на метаболические процессы функции печени, обеспечивающие инактивацию чужеродных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты испытаний острой токсичности, проведенных на мышах, крысах и собаках, позволяют заключить, что БД при введении внутрь нетоксичен для млекопитающих и риск острого отравления с БД в дозах до 3 мл/кг реально не существует.

БД вместе с тем оказывает на животных различных видов заметное тонизирующее влияние, обнаруживаемое по увеличению спонтанной двигательной активности, исследовательской реакции, контактности (собаки) без видимых явлений возбуждения и гиперактивности. Отдаленных побочных и токсических эффектов БД не вызывает.

Изучение субхронической токсичности БД, проведенное на мышах, показало, что БД при 3-недельном ежедневном введении в дозах 3 и 10 мл/кг (превходящих от 6 до 20 раз рекомендуемые для применения у человека) не вызывает отклонений в жизнедеятельности животных, не оказывает отрицательного влияния на систему кроветворения, не обладает паренхиматозной токсичностью, не влияет на функциональное состояние печени и почек.

Судя по результатам биохимических исследований крови, БД не вызывает нарушений основных обменных процессов в организме, не влияет на функции эндокринных органов и электролитный баланс.

Таким образом, экстрактивная растительная основа БД с токсикологических позиций полностью безопасна при длительном употреблении в рекомендуемых дозах.

Введение препарата в испытанных дозах оказало, вместе с тем, положительное заметное влияние на прирост массы тела животных и общий физический статус, оцениваемый по нагрузочно-координационному тесту тредмилл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ingredients composition of bioactive additive “Grail”. Patent 6516. Georgia. Bulletin #14(450). 2016. (in Georgian).
2. Guskova T.A. Drug toxicology and safety of drugs. Journal “Toxicological review”. #2 (125). 2014. (in Russian).
3. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. M.: 2005. (in Russian).
4. Guidance for industry—Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. Centre for drug evaluation and research, food and drug administration, USFDA. 2005. (in English).
5. Mordenti J. Man versus beast: pharmacokinetic scaling in mammals. Journal “Pharmaceutical sciences”. 1986. (in English).

6. Verstakova O.L., Arzamastsev E.V. Good preclinical toxicological study of pharmacological substances and pharmacotoxicological expertise as a basis for safe clinical trials and medical use of New drugs. Pharmacological substances. #1. 2006, 28-33 pp. (in Russian).
7. Guskova T.A. Toxicology drugs. Publishing house "Russian doctor". M.: 2003, 154 p. (in Russian).
8. Clinical pharmacology. National leadership. GEOTAR-Media. M.: 2009, 976 p. (in Russian).
9. Kurlyandsky B.A. General toxicology. Medicine. M.: 2002, 606 pp. (in Russian).
10. Mashkovsky M.D. XX century medicine. M.: 1998, 320 p. (in Russian).
11. Sofronov G.A. Introduction to toxicology. General toxicology. Medicine. M.: 2002, 12-31 pp. (in Russian).
12. Arzamastsev E.V., Guskova T.A., Berezovskaya I.V., and others. Methodical instructions for study of general toxic effect of pharmacological substances: Guide to the experimental (preclinical) studying of new pharmacological substances. M., 2005, 41-54 pp. (in Russian).
13. Berezovskaya I.V. Experimental substantiation of optimization ways of toxicological tests of pharmacological and medicinal agents. 1985, 382 p. (in Russian).
14. Berezovskaja I.V. Classification of chemicals in the parameters of acute toxicity of parenteral routes of administration. Chemical and pharmaceutical magazine. 37 (3). 2003, 32-34 pp. (in Russian).
15. Babayan E.A., Utkin O.B. Original positions of approbation of pharmaceuticals in the USSR and foreign countries. Medicine. M.: 1982, 192 p. (in Russian).
16. Berezovskaya I.V. Possibilities of preclinical toxicological research in forecasting the safety of medicines. Materials of the VI international conference "Clinical research of medicines". M.: 2007, 19 p. (in Russian).

UDC 615

SCOPUS CODE 3005

ბიოაქტიური დანამატის – „GRAIL“-ის ტოქსიკოლოგია

რ. მეღვაძე კვების ინდუსტრიის დეპარტამენტი, საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი, საქართველო, 0175, თბილისი, მ. კოსტავას 68^ა
E-mail: remeisi@mal.ru

რეცენზენტები:

ლ. გულუა, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი, კახა ბენდუქიძის საუნივერსიტეტო კამპუსის ბიოლოგიურ მეცნიერებათა დოქტორი
E-mail: agruni.edu.ge

თ. მგერელიძე, სტუ-ის სატრანსპორტო და მანქანათმშენებლობის ფაკულტეტის კვების ინდუსტრიის დეპარტამენტის პროფესორი
E-mail: tmegrelidze@yahoo.com

ანოტაცია. შესწავლილია ბიოაქტიური დანამატის – „Grail“-ის მწვავე და ქრონიკული ტოქსიკურობა. დანამატი 25-ზე მეტი სამკურნალო მცენარის, მეფუტკრეობის და ღვინის პროდუქტების მრავალკომპონენტური ნაყენია. საცდელ ცხოველებად გამოყენებული იყო თაგვები, ვირთხები და ძაღლები.

დადგინდა, რომ 3 და 10 მლ/კგ დოზებში ცხოველის მასაზე (რომელიც 6-დან 20-ჯერ აღემატება ადამიანისთვის მისაღებ რეკომენდებულ დოზებს) დანამატი არ იწვევს ცხოველთა ფუნქციონირების ნორმიდან გადახრას, უარყოფით გავლენას არ ახდენს სისხლწარმოქმნის სისტემაზე, არ გააჩნია

პარენტოზული ტოქსიკოლოგია, უარყოფითად არ მოქმედებს ღვიძლისა და თირკმლების ფუნქციურ მდგომარეობაზე.

სისხლის ბიოქიმიური გამოკვლევის შედეგების განსჯით შეიძლება დავასკვნათ, რომ დანამატი არ იწვევს ორგანიზმში ძირითადი ცვლის პროცესების დარღვევას, გავლენას არ ახდენს ენდოკრინული ორგანოების ფუნქციაზე და ელექტროლიტურ ბალანსზე.

ამასთან, პრეპარატის მიღებამ გამოსაცდელ ღოზებში გამოიწვია შესამჩნევი დადებითი გავლენა ცხოველთა სხეულის მასის მატებაზე და საერთო ფიზიკურ სტატუსზე დატვირთვა-კოორდინირების ტრენინგის ტესტის შეფასებით.

საკვანძო სიტყვები: ბიოაქტიური დანამატი; ღოზები; მწვავე ტოქსიკოლოგია; საცდელი ცხოველები; ქრონიკული ტოქსიკოლოგია.

UDC 615

SCOPUS CODE 3005

TOXICOLOGY OF BIOACTIVE ADDITIVE "GRAIL"

R. Melkadze

Department of Food Industry, Georgian Technical University, 68a M. Kostava str, 0175
Tbilisi, Georgia
E-mail: remeisi@mal.ru

Reviewers:

L.Gulua, Doctor of Biological Sciences, Agricultural University of Georgia, Kakha Bendukidze University Campus
E-mail: l.gulua@agruni.edu.ge

T. Megrelidze, Professor, Doctor of Technical Sciences, Department of Food Industry, Faculty of Transportation and Mechanical Engineering, GTU
E-mail: tmegrelidze@yahoo.com

ABSTRACT. The article refers to the study of acute and chronic toxicity of bioactive additive "Grail", which represents a multicomponent tincture of more than 25 medicinal plants, beekeeping products and winemaking. The experimental animals were mice, rats and dogs.

It is established that in doses of 3 and 10 ml / kg to the weight of animals (surpassing from 6 to 20 times recommended for the human use) "Grail" does not cause deviations in vital activities of animals, does not affect hematopoietic system and functional status of liver and kidneys, and also has no parenchymatous toxicity.

Based on the results of biochemical blood tests, "Grail" does not trigger any violations of the basic metabolic processes not affecting the functions of endocrine organs and electrolytic balance negatively.

Administration of the drug in the tested doses revealed positive effect on the gain of animals weight as well as overall physical status assessed by treadmill (load-coordination) testing.

KEY WORDS: Acute toxicity; bioactive additive; chronic toxicity; doses; experimental animals.

Дата рассмотрения 08.02.2018

Дата поступления 14.02.2018

Подписано к печати 05.06.2018