

УДК 612.118.22:615.322(582.824+582.715)

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПИЩЕВОЙ СМЕСИ ИЗ ЗВЕРОБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО И РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ

Е.А.Литовченко

*Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95***РЕЗЮМЕ**

Статья посвящена изучению токсиколого-гигиенических свойств смеси из зверобоя продырявленного (ЗП) и родиолы розовой (РР). Исследования по исключению токсичности смеси из ЗП и РР проведены в соответствии с общепринятыми методическими подходами. Эксперименты выполнены на экспериментальных животных (белых крысах и кроликах) с определением интегральных, физиологических, гематологических и гистологических показателей, рекомендованных для подобных исследований. Животные были разбиты на контрольные группы и на подопытные, по 10 особей в каждой. Все животные были обеспечены двойным контролем благодаря наличию контрольной группы и снятию фоновых данных перед началом эксперимента. Смесь из ЗП и РР вводили перорально, а также внутривентриально каждой группе животных. Были проведены биохимические и морфологические исследования крови подопытных животных на 1-е и 15-е сутки наблюдения. Показатели: эритроциты, лейкоциты, холинэстераза сыворотки крови не имели достоверных отклонений по сравнению с контрольной группой. Органы декапитированных животных не имели патологических изменений. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии в составе порошкообразной пищевой смеси из ЗП и РР токсичных веществ, она является безопасной по критериям эколого-гигиенической концепции питания человека. Комплексные токсиколого-гигиенические исследования по изучению острой, подострой токсичности, кумулятивных свойств, местного раздражающего действия, проведение микробиологического анализа и органолептических исследований свидетельствуют об отсутствии токсических веществ, патогенных микроорганизмов и их токсинов в смеси из ЗП и РР, что подтверждает их безвредность для теплокровного организма.

Ключевые слова: адаптогенные продукты, острая токсичность, подострая токсичность, зверобой продырявленный, родиола розовая.

SUMMARY**TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC
EVALUATION OF FOOD MIXTURE FROM
HYPERICUM PERFORATUM AND
RHODIOLA ROSEA**

Е.А.Litovchenko

*Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The study of toxicological and hygienic properties of the mixture from *Hypericum perforatum* (HP) and *Rhodiola rosea* (RR) for food use in the population was done. Investigations on the exclusion of the toxicity of a mixture of HP and RR have been conducted in accordance with generally accepted methodological approaches. The experiments were performed on experimental animals (white rats and rabbits) with identification of integral, physiological, hematological and histological indices recommended for such investigations. The animals were divided into control and experimental groups of 10 animals each. All animals were provided with a double control due to the presence of the control group and data recording before starting the experiment. A mixture of HP and RR was administered orally and intraperitoneally to each group of animals. Biochemical and morphological investigations of the blood of experimental animals at the 1st and 15th day of the monitoring were conducted. It was revealed that red blood cells, white blood cells, the cholinesterase of blood serum did not have significant deviations compared with the control group. The organs of decapitated animals did not have pathological changes. These results indicate that in the composition of the powdered food mixture of HP and RR there are no toxic substances, it is safe according to the criteria of ecological and hygienic human nutrition concept. The complex of toxicological and hygienic investigations on acute, subacute toxicity, cumulative properties, local irritating action, carrying out microbiological analysis and organoleptic investigations indicates the absence of toxic substances, pathogenic microorganisms and their toxins in a mixture of HP and RR, which proves their harmlessness for warm-blooded organism.

Key words: adaptogenic products, acute toxicity, subacute toxicity, Hypericum perforatum, Rhodiola rosea.

Одним из новых перспективных направлений в регуляции метаболических процессов при воздействии низких или высоких температур является научно обоснованное применение в питании человека различных веществ с использованием продуктов животного и растительного происхождения, которые можно рассматривать как один из важнейших факторов, способствующих повышению неспецифической резистентности организма [2]

В этой связи мы считаем необходимым провести токсиколого-гигиеническую оценку новой пищевой смеси из зверобоя продырявленного (ЗП) и родиолы розовой (РР), которая может быть использована для коррекции патогенного воздействия температурного фактора окружающей среды на организм человека.

Цель исследования заключается в изучении токсиколого-гигиенических свойств смеси из ЗП и РР при воздействии на теплокровный организм в условиях эксперимента.

Материалы и методы исследования

Изучение органолептических показателей смеси из ЗП и РР проводили в соответствии с «Медико-биологическими требованиями и санитарными нормами качества продовольственного сырья и пищевых продуктов», утвержденных Минздравом за №5061-89. Количество мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов определяли по ГОСТ №10444.3-85 «Консервы. Метод определения мезофильных аэробных микроорганизмов». Показатель бактерий группы кишечных палочек (БГКП) определяли в соответствии с ГОСТ №50474-93 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества БГКП (колиформных бактерий)», сальмонеллы – по ГОСТ №50480-93 «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*».

Исследования по исключению токсичности смеси из ЗП и РР проведены в соответствии с «Методическими указаниями по применению расчетных и экспресс-экспериментальных методов при гигиеническом нормировании химических соединений в воде водных объектов» (1979) [7].

Местно-раздражающее и кожно-резорбтивное действие изучали согласно «Методическим указаниям к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций, избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны» (1980).

Изучение сенсибилизирующих свойств определяли согласно «Методических указаний по изучению аллергенного действия при обосновании предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде водоемов» (1980) [4].

Всего в эксперименте использовано 65 белых крыс и 3 кролика. Определяли гематологические, интегральные и гистологические показатели, рекомендованные для подобных исследований [5, 6]. Опыты по изучению острой токсичности, кумулятивных свойств, местного раздражающего действия, микробиологического анализа и органолептические исследования смеси из ЗП и РР проводились на экспериментальных животных по 3-15 особей в группе в зависимости от вида опыта. Контрольная группа включала 10 интактных животных.

Для решения поставленных задач был использован комплекс токсикологических, биохимических, морфологических, аллергологических и статистических методов исследования.

Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с ис-

пользованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно приложению №4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных – приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)». Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии.

Статистическую обработку результатов проводили по критерию (t) Стьюдента ($M \pm m$) с использованием программы Statistica 6.0. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В состав смеси входит ЗП и РР (1:1), она содержит продукты растительного происхождения, представляет смесь измельченных листьев, стеблей, цветков, незрелых плодов ЗП, а также корневищ и корней РР до порошкообразной массы и последующей стерилизацией в автоклаве в течение 30 минут.

Из данных литературы известно, что смесь, состоящая из ЗП и РР, содержит адаптогенные вещества растительного происхождения. При этом исследуемое соединение содержит флавоноиды (рутин, кверцетрин, изокверцетрин, гиперозид), органические кислоты (щавелевая, лимонная, яблочная, галловая, янтарная, изовалериановая), дубильные вещества пирогалловой группы (до 20%), гиперин, гиперинин, эфирное масло 0,2-0,3%, 17% смолистых веществ, антоцианы (5-6%), сапонины, кумарины, антибиотик гиперфорин, витамины (аскорбиновая кислота, никотиновая кислота, витамины Р и РР, витамин Е, каротин). Кроме того, данная смесь содержит макро- и микроэлементы: К, Са, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Co, Mo, Cr, Al, Ba, V, Se, Ni, Sr, Cd, I, Pb [1, 3].

Содержание отдельных химических элементов смеси из ЗП и РР представлено в таблице 1.

При анализе данных, приведенных в таблице 1, обращает на себя внимание высокое содержание в смеси из ЗП и РР биологически-активных макро- и микроэлементов, обладающих широким спектром биологического воздействия на организм.

Изучение органолептических свойств смеси из ЗП и РР проводилось добавлением ее в горячую воду (60°C) в количестве 15 г на 100 мл. Исследования проводились дегустационной комиссией в составе 20 человек. Изучаемые образцы были охарактеризованы исследователями положительно. Привкус и запах исследуемых образцов были оценены на 2,0 и 2,2 балла,

соответственно. Результаты исследования приведены в таблице 2.

Таблица 1
Содержание минеральных элементов в смеси из ЗП и РР

Элемент	Зверобой продырявленный	Родиола розовая
Дубильные вещества, %	10-12	20
Зола, %	4,21	11,42
K, мг/г	16,8	5,7
Ca, мг/г	7,3	10,8
Mn, мг/г	2,2	1,7
Fe, мг/г	0,11	0,8
Mg, КБН	0,25	0,13
Cu, КБН	0,34	0,08
Zn, КБН	0,71	0,16
Co, КБН	0,21	-
Mo, КБН	5,6	2,0
Cr, КБН	0,01	0,11
Al, КБН	0,02	0,54
Se, КБН	5,0	26,0
Ni, КБН	0,18	0,28
Sr, КБН	0,18	0,38
Cd, КБН	7,2	-
Pb, КБН	0,08	0,04
I, КБН	-	0,15
Ba, КБН	-	0,15
V, КБН	-	0,49
B, мкг/г	40,40	33,6
Кобальт	Не обнаружен	Не обнаружен
Ртуть	Не обнаружен	Не обнаружен

Примечание: КБН – коэффициент биологического накопления.

В результате изучения санитарно-показательных микроорганизмов установлено, что количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов не выходит за пределы нормы, БГКП, сальмонелл в изучаемых образцах не обнаружено.

Токсиколого-гигиенические исследования показали, что введение смеси из ЗП и РР в желудок белым крысам-самцам не оказывало неблагоприятного действия (животные не погибли, поведенческие реакции остались прежними, не обнаружены изменения на тканевом и клеточном уровнях по сравнению с интактными животными).

Животные были разбиты на контрольную и подопытную группы по 10 особей в каждой. Эксперимент был обеспечен двойным контролем благодаря наличию

контрольной группы и снятию фоновых данных перед началом эксперимента. Смесь из ЗП и РР вводили перорально.

Однократно, натошак вводили изучаемое вещество в дозе 3000 мг/кг (60000 мг/дм³). В течение 15 суток за животными наблюдали. За это время ни одна крыса не погибла. Далее был проведен эксперимент с дробным введением изучаемого вещества. Для этого через каждые 4 часа животным вводили суспензию на 1% растворе крахмала, которую готовили из порошка смеси, содержащей ЗП и РР 1:1 в дозе 3000 мг/кг. Суммарное количество каждого вещества на одно животное составило 12000 мг/кг. Наблюдение за состоянием крыс также проводили в течение 15 суток. При воздействии смеси из ЗП и РР видимых отклонений физиологических функций и поведенческих реакций у белых крыс не было ни в одной из опытных групп.

При завершении эксперимента были проведены биохимические и морфологические исследования крови подопытных животных на 1-е и 15-е сутки наблюдения. Эритроциты, лейкоциты, холинэстераза сыворотки крови и др. показатели не имели достоверных отклонений по сравнению с контрольной группой (табл. 3, 4). Органы декапитированных животных не имели патологических изменений.

Таблица 2
Результаты исследования органолептических свойств смеси из ЗП и РР

Показатели		Характеристика смеси
Внешний вид		Порошок
Цвет		Зеленовато-бурый
Запах		Слабый, характерный
Вкус		Горьковато-вяжущий
Растворимость	Вода	Умеренно растворим
	Масла	Умеренно растворим
	Спирт	Растворим
	Кислоты и щелочи	Хорошо растворим

Таблица 3
Активность холинэстеразы (АрН) сыворотки крови белых крыс при внутрижелудочном поступлении смеси из ЗП и РР (по 5 животных в каждой группе на каждом этапе исследования)

Периоды исследования	Группы животных	
	Контрольная	Опытная
Фон	0,54±0,02	0,52±0,03
1-е сутки	0,55±0,02	0,52±0,01
15-е сутки	0,56±0,01	0,53±0,02

Примечание: здесь и в следующей таблице статистически значимых различий между показателями контрольной и опытной групп, а так же между показателями в группах на различных этапах исследования не установлено (p>0,05).

Таблица 4

Содержание лейкоцитов и эритроцитов в крови белых крыс при внутрижелудочном поступлении смеси из ЗП и РР (по 5 животных в каждой группе на каждом этапе исследования)

Периоды исследования	Группы животных			
	Контрольная		Опытная	
	Эритроциты 10 ¹² /дм ³	Лейкоциты 10 ⁹ /дм ³	Эритроциты 10 ¹² /дм ³	Лейкоциты 10 ⁹ /дм ³
Фон	6,86±0,48	7,29±0,49	6,82±0,32	7,58±0,53
1-е сутки	6,71±0,49	7,68±0,38	6,74±0,54	7,52±0,38
15-е сутки	6,83±0,51	7,70±0,34	6,69±0,29	7,44±0,56

При внутрибрюшинном введении смеси из ЗП и РР белым крысам (по 10 в каждой группе) максимально возможных доз, гибели животных не наблюдалось в течение всего периода наблюдений (15 дней). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии в составе данной смеси токсичных веществ.

Оценку кумулятивных свойств смеси из ЗП и РР проводили на 10 белых крысах-самцах [8]. Пероральная затравка (20 дней) проводилась дозой 60 мг/кг, что составило 1/5 от возможно вводимой дозы. Каждое животное за период опыта получило смесь из ЗП и РР в количестве 4200 мг/кг массы тела. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии негативного влияния смеси из ЗП и РР на организм экспериментальных животных.

Для исключения местного действия смеси из ЗП и РР проводили эксперименты методом однократных эпикутаных аппликаций на выбритые участки кожи спины кроликов (3 особи) и белых крыс (15 особей). Вещества наносили в виде каши вводимых введений 1:10, 1:50, 1:100. Каких-либо проявлений местного действия – раздражения и воспалительных реакций со стороны кожи в течение 14-дневного срока наблюдения не отмечалось.

При нанесении порошка изучаемых веществ кроликам в конъюнктивальный мешок, отмечали незначительное слезотечение и гиперемию конъюнктивы. Через 2-3 часа эти явления исчезли. Указанные изменения расценивали как механическое раздражение индифферентными веществами.

Таблица 5

Оценка сенсибилизирующих свойств [4] смеси из ЗП и РР на 14-е сутки (по 5 животных в каждой группе)

Группы лабораторных животных	Кожные пробы	Реакция аутобляшкообразования (число конгломератов в поле зрения)	Абсолютное количество эозинофилов (в поле зрения)
Контрольная	Отрицательная реакция	5,0±0,2	46,2±2,4
Опытная	Отрицательная реакция	6,0±0,5	42,0±3,2

Примечание: статистически значимых различий между показателями контрольной и опытной групп не установлено ($p > 0,05$).

Исследование сенсибилизирующих свойств смеси ЗП и РР (табл. 5) не выявило у экспериментальных животных достоверных различий по реакции кожных проб, аутобляшкообразованию и по количеству эозинофилов в периферической крови, что свидетельствует об отсутствии аллергической активности [4].

Согласно данным литературы, ЗП и РР не обладают и отдаленными (эмбриотоксическим, мутагенным) эффектами действия [9, 10].

Таким образом, смесь из ЗП и РР отвечает требованиям безопасности, в том числе по критериям экологической концепции питания человека.

Выводы

1. Изучение органолептических и микробиологических свойств смеси из ЗП и РР свидетельствует об отсутствии в ней токсических веществ, патогенных микроорганизмов и их токсинов, что подтверждает безвредность смеси для теплокровного организма.

2. В острых опытах смесь веществ из ЗП и РР гибели животных не вызывала. Согласно классификации опасности веществ по степени воздействия на организм (ГОСТ 12.1.007-76) изучаемую смесь следует отнести к 4 классу малоопасных веществ.

3. Изучение сенсибилизирующих свойств смеси из ЗП и РР свидетельствует об отсутствии аллергенной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А. Родиола розовая (*Rhodiola Rosea* L.): традиционные и биотехнологические аспекты получения лекарственных средств (обзор) // Хим.-фармац. журн. 1999. Т.33, №1. С.28–39.
 2. Токсиколого-гигиеническая оценка биологической активности адаптогенных продуктов животного и растительного происхождения при холодном и тепловом воздействии на организм / Е.Е.Невмывако, В.А.До-

ровских, Н.В. Коршунова, Н.С. Шаповаленко // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2011. Вып. 41. С.31–34.

3. Куркин В.А., Правдивцева О.Е. Вопросы рационального использования зверобоя травы // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. 2012. №9. С.39–40.

4. Методические указания по изучению аллергенного действия при обосновании предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде водоемов. М.: МЗ СССР, 1980. 17 с.

5. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А.Оникиенко. М.: Медицина, 1991. 208 с.

6. Пушкина Н.Н. Биохимические методы исследования: руководство для врачей гигиенистов и профпатологов. М.: Медицина, 1963. 393 с.

7. Санотский И.В., Уланова И.П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке химических соединений. М.: Медицина, 1975. 327 с.

8. Черкинский Н.С. Научные основы современных методов гигиенического нормирования вредных химических веществ в водной среде // Водные ресурсы. 1973. №4. С.128–133.

9. Hyperforin production in *Hypericum perforatum* root cultures / M.Gaid [et al.] // J. Biotechnol. 2016. №222. P.47–55.

10. Hung S.K., Perry R., Ernst E. The effectiveness and efficacy of *Rhodiola rosea* L.: a systematic review of randomized clinical trials // *Phytomedicine*. 2011. Vol.18, №4. P.235–244.

REFERENCES

1. Bykov V.A., Zapesochnaya G.G., Kurkin V.A. *Rhodiola rosea* (*Rhodiola Rosea* L.): traditional and biotechnological aspects of the production of medicaments (review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal* 1999;

33(1):28–37 (in russian).

2. Nevmyvako E.E., Dorovskikh V.A., Korshunova N.V., Shapovalenko N.S. Toxicological and hygienic assessment of biological activity of adaptogenic products of zoologic and vegetative origin under conditions of heat and cold influence on organism. *Bulleten' fiziologii i patologiydyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2011; (41):31–34 (in russian).

3. Kurkin V.A., Pravdivtseva O.E. The Questions of the Rational using of *Hypericum Herb*. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry* 2012; (9):39–40 (in russian).

4. Methodical instructions for the study of the allergic action of the justification of maximum allowable concentrations of hazardous substances in water reservoirs. Moscow; 1980 (in russian).

5. Trakhtenberg I. M. (editor), Sova R.E., Sheftel' V.O., Onikienko F.A. The problem of norm in toxicology (contemporary concepts and methodological approaches, the main parameters and constants). Moscow: Meditsina; 1991 (in russian).

6. Pushkina N.N. Biochemical research methods: a guide for hygienists and pathologists. Moscow: Meditsina; 1963 (in russian).

7. Sanotskiy I.V., Ulanova I.P. Criteria for hazard to health and toxicology in the assessment of chemicals. Moscow: Meditsina; 1975 (in russian).

8. Cherkinskiy N.S. Scientific bases of modern methods of hygienic normalization of hazardous chemicals in the aquatic environment. *Vodnye resursy* 1973; (4):128–133 (in russian).

9. Gaid M., Haas P., Beuerle T., Scholl S., Beerhues L. Hyperforin production in *Hypericum perforatum* root cultures. *J. Biotechnol.* 2016; 222:47–55.

10. Hung S.K., Perry R., Ernst E. The effectiveness and efficacy of *Rhodiola rosea* L.: a systematic review of randomized clinical trials. *Phytomedicine* 2011; 18(4):235–244.

Поступила 05.02.2016

Контактная информация

Екатерина Андреевна Литовченко,
аспирант кафедры общей гигиены,

Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

E-mail: ekaterinalitovchenko-89@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Ekaterina A. Litovchenko,

MD, Postgraduate student of Department of General Hygiene,
Amur State Medical Academy,

95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: ekaterinalitovchenko-89@mail.ru