

ДК 615.28:616.34:615.9:616-092.9

*Н.М. Деркач,**С.Ю. Штриголь,**Ю.Б. Лар'яновська,**О.Ю. Кошова,**Є.О. Ковальова*Національний фармацевтичний  
університет, м. ХарківСПЕЦИФІЧНА ТОКСИЧНІСТЬ  
ПРЕПАРАТУ "ДЕКАСАН"*Ключові слова:* "Декасан", декаметоксин, специфічна токсичність.*Резюме.* Досліджено специфічну токсичність препарату "Декасан" - 0,02% розчину декаметоксину для перорального застосування при кишкових інфекціях. Встановлено, що препарат не чинить мутагенної дії, сенсibilізації, токсичного впливу на гуморальну та клітинну імунну відповідь, місцевоподразнювального ефекту. У десятиразово збільшеній умовнотерапевтичній дозі "Декасан" виявляє гонадотоксичну дію у самок (але не у самців), негативно впливає на перебіг вагітності у ранні терміни, в періоди імплантації та органогенезу, але не порушує репродуктивну функцію самців та самок (не чинить ембріолетальної дії, негативного впливу на розвиток нащадків). Субстанція декаметоксину не виявляє здатності до кумуляції.**Вступ**

Проблема вдосконалення фармакотерапії хвороб кишечника бактеріальної та вірусної етіології далека від вирішення, оскільки їхня поширеність залишається значною, з'являються серовари, що спричиняють тяжкий перебіг захворювання (*Shigella flexneri* 2a, ентерогеморагічна ешерихія O157 та ін.). За наявності імунodefіциту, хронічних захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) або в дитячому віці лікування проблемне. Деякі збудники інфекційної діареї викликають тяжкі ускладнення з тривалим перебігом, як-от: гемолітико-уремічний синдром із нирковою недостатністю (при ентерогеморагічному ешерихіозі), синдром Гіена-Барре при захворюваннях, спричинених *S. jejuni*, та синдром мальабсорбції при інфекції, зумовленій ентероагрегативними штамами *E. coli*, криптоспоридіями та, можливо, іншими мікроорганізмами [11, 15, 18].

Антимікробний препарат при захворюваннях кишечника бактеріальної етіології має ефективно пригнічувати патогенні мікроорганізми без суттєвих зсувів складу нормофлори та чинити локальну дію, не потрапляючи до системного кровообігу. Цим вимогам відповідає декаметоксин - поверхневоактивний катіонний детергент із антибактеріальною та протигрибковою дією, що взаємодіє з фосфатидними групами ліпідів цитоплазматичних мембран мікробних клітин, порушуючи їх проникність [2, 10]. Його додаткові

переваги - здатність до інактивації мікробних токсинів, протизапальні властивості [2, 9, 10]. Декаметоксин практично не проникає крізь слизові оболонки, не чинить системної дії [7]. Він широко застосовується у хірургії, стоматології, гінекології, урології, оториноларингології, пульмонології [2, 9, 10].

Отже, є доцільним створення пероральних лікарських форм декаметоксину. Розроблено лікарську форму декаметоксину - 0,02% ізотонічний розчин "Декасан" ("ЮРІЯ-ФАРМ", Київ), розпочато доклінічні дослідження його ефективності при кишкових інфекціях. Водночас, невід'ємною частиною доклінічних досліджень лікарських препаратів залишається підтвердження їх безпечності.

**Мета дослідження**

Встановити специфічну токсичність препарату "Декасан" - наявність мутагенної, гонадо- та ембріотоксичної, тератогенної дії, репродуктивної токсичності, алергізувальних, імунотоксичних, місцевоподразнювальних властивостей, а також здатності до кумуляції.

**Матеріал і методи**

Експерименти проведено на рандомбредних щурах, мишах, мурчаках та кролях, які знаходилися в стандартних контрольованих умовах віварію ЦНДЛ Національного фармацевтичного

університету, згідно з правилами гуманного поводження з тваринами Директиви Ради ЄС із питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Мутагенну активність "Декасану" досліджували за методом обліку хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку мишей [12]. Використано самців із вихідною масою тіла  $20 \pm 2$  г, рандомізованих на 4 групи ( $n=6$ ): інтактний контроль, негативний контроль (введення розчинника - 0,9% розчину натрію хлориду в аналогічному дослідним групам режимі) та тварини, яким внутрішньошлунково (в/ш) вводили "Декасан" у дозах 1 та 10 мг/кг за декаметоксином (5 та 50 мл/кг) протягом 5 днів. Через 24 год після останнього введення препарату тварин виводили з дослідження (за 2 год до цього доочеревинно (д/о) вводили розчин колхіцину в дозі 2,5 мг/кг), отримували кістковий мозок із обох стегнових кісток вимиванням розчином Хенкса з температурою  $37^\circ\text{C}$ , за стандартними методами здійснювали обробку клітин та їх фіксацію, фарбували азур-еозином. Аналіз проводили під імерсійним об'єктивом мікроскопа за збільшення  $10^2/90$ , аналізували 100 метафаз на кожну тварину за загальноприйнятими критеріями [1, 12, 14].

Гонадотоксичну дію "Декасану" досліджували згідно [4]. Самок щурів із вихідною масою тіла  $200 \pm 20$  г рандомізували на 4 групи ( $n=8$ ): інтактний контроль, негативний контроль (введення розчинника) та тварини, яким в/ш вводили "Декасан" в умовнотерапевтичній дозі 3 мл/кг та десятиразово збільшеній дозі 30 мл/кг протягом 15 днів (3 естральних цикли). Далі визначали тривалість естрального циклу за співвідношенням клітинних елементів вагінального епітелію, на стадії проеструсу або еструсу тварин виводили з дослідження, яєчники досліджували макроскопічно та гістологічно (5 зразків яєчників від різних тварин із кожної групи). На зрізах топографічного типу (фарбування - гематоксилін та еозин) по усій поверхні визначали кількість примордіальних фолікулів та фолікулів з одним, двома та більше шарами гранульозних клітин, зрілих та атретичних фолікулів, жовтих тіл (на серединному зрізі), загальну кількість генеративних форм (реєстрували лише ті фолікули, які вміщували ядро з ядерцем) [4].

Гонадотоксичну дію "Декасану" у самців щурів із вихідною масою тіла  $250 \pm 20$  г досліджували за розподілу тварин по групах, аналогічному такому для самок (у цьому випадку  $n=10$ ). Препарат вводили протягом усього періоду сперматогенезу (60 днів). По завершенні сім'яників досліджено макроскопічно та гістологічно (фар-

бування - гематоксилін та еозин) із кількісною оцінкою структурно-функціональних елементів - розрахунком індексу сперматогенезу (за кількістю шарів сперматогенного епітелію), відносної кількості звивистих каналців із злуценом сім'яродним епітелієм, відносної кількості звивистих каналців із метафазою 2 поділу дозрівання, кількості нормальних сперматогоній у звивистих каналцях. Суспензію вмісту додатка сім'яників у 0,9% розчині натрію хлориду використовували для визначення функціонального стану сперматозоїдів за концентрацією клітин, відносною кількістю нерухомих та патологічних форм, осмотичною та кислотною резистентністю, тривалістю руху [4].

Ембріотоксичну та тератогенну дію "Декасану" вивчали на 120 самках щурів із вихідною масою  $200 \pm 20$  г згідно [4]. Вагітні самки (перший день вагітності верифіковано за наявністю сперматозоїдів у вагінальних мазках) були рандомізовані на 6 груп ( $n=20$ ): інтактний контроль, негативний контроль, тварини, яким вводили "Декасан" у дозі 30 мл/кг із 1 по 6 день вагітності, в дозах 3 та 30 мл/кг із 6 по 16 день вагітності, в дозі 30 мл/кг із 16 по 19 день вагітності. Тварин виводили з дослідження на 20 день вагітності, реєстрували кількість жовтих тіл в яєчниках, локусів імплантації та резорбції в матці, живих та мертвих плодів, досліджували їх макроскопічно, розраховували показники передімплантаційної та постімплантаційної смертності. Половину плодів кожної самки (однакову кількість самців і самок) фіксували в суміші Буена для вивчення внутрішніх органів за методом Вільсона в модифікації А.П. Дибана [4]. Другу половину плодів фіксували в 96% етанолі для дослідження кісткової системи у тотальних препаратах, забарвлених червоним алізарином за методом Доусона-Дибана [4].

Вплив "Декасану" на репродуктивну функцію самців вивчено на 60 самцях та 120 самках щурів із вихідною масою тіла  $220 \pm 20$  г. Самців рандомізували на 4 групи ( $n=15$ ): інтактний контроль, негативний контроль, тварини, яким вводили препарат в/ш у дозах 3 і 30 мл/кг протягом усього періоду сперматогенезу, що відповідає 60 дням. Після цього самців підсаджували до інтактних самок у співвідношенні 2:1 терміном на 2 естральні цикли, перший день вагітності верифікували за наявністю сперматозоїдів у вагінальних мазках. Половину вагітних самок виводили з дослідження на 20 день, реєстрували кількість жовтих тіл в яєчниках, локусів імплантації та резорбції у матці, живих та мертвих плодів, досліджували їх макроскопічно, розраховували показ-

ники передімплантаційної, постімплантаційної, загальної ембріональної смертності. Решту вагітних самок залишали для спостережень за розвитком нащадків до завершення грудного вигодовування. Реєстрували виживаність щурят, динаміку маси тіла, терміни відліпання вушних раковин, появи первинного волосяного покриву, прорізування різців, відкривання очей, опускання сім'яників та відкриття вагіни. Розраховували індекси плодючості та фертильності [4].

Вплив "Декасану" на репродуктивну функцію самок досліджено на 120 самках щурів та 40 самцях із вихідною масою тіла  $220 \pm 20$  г. Самок рандомізували на 4 групи ( $n=30$ ): інтактний контроль, негативний контроль, тварини, яким вводили препарат в/ш у дозах 3 і 30 мл/кг протягом 3 естральних циклів - 15 днів. Після цього їх підсаджували до інтактних самців у співвідношенні 2:1 на 2 естральні цикли, запліднення верифікували за наявністю сперматозоїдів у вагінальних мазках. Надалі самок поділяли на дві групи і проводили вивчення аналогічно до наведеного вище протоколу.

Алергізувальні властивості "Декасану" оцінювали за його здатністю спричинити реакції гіперчутливості негайного та сповільненого типу на моделі активної шкірної анафілаксії (АША), у тесті "Кон'юнктивальна проба" (КП) та в реакції гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ) [3, 12], виконаних на 60 самцях мурчаків та 40 самках мишей із вихідною масою тіла відповідно  $300 \pm 30$  г та  $20 \pm 2$  г, рандомізованих на 6 груп мурчаків (по три групи на кожний із тестів: контроль та тварини, яким вводили препарат у двох дозах,  $n=10$ ) та 4 групи мишей (дві контрольні групи та тварини, яким вводили досліджуваний препарат у двох дозах,  $n=10$ ). Сенсibiliзацію мишей у реакції ГСТ проводили парентерально, мурчаків у тестах АША і КП - перорально відповідно до рекомендованої схеми. У тесті ГСТ на мишах використовували субстанцію декаметоксину, оскільки об'єми препарату "Декасан", які відповідають умовнотерапевтичній та десятиразово збільшеній дозам для мишей (6,5 та 65 мл/кг), перевищують допустимий об'єм для здійснення цього тесту. Алергізувальні властивості досліджували в тесті АША - за площею забарвленої плями (мм<sup>2</sup>) на 21 добу від початку сенсibiliзації, у тесті КП - за виразністю офтальморекції (бали) на 10, 20, 30 доби від початку сенсibiliзації, у тесті ГСТ - за індексом реакції на 6 добу від початку сенсibiliзації. У тесті АША "Декасан" вводили в дозах 3 і 30 мл/кг протягом 14 днів, на 21 день наркотизованим тваринам внутрішньошкірно (в/шк) вводили 50 мкл дворазово розведеного роз-

чину препарату, який не чинить подразнювальної дії, на протилежному боці тіла в/шк вводили 0,9% розчин натрію хлориду в аналогічному об'ємі, контрольним тваринам аналогічним способом вводили "Декасан" і розчинник. Потім внутрішньовенно (в/в) вводили 0,5 мл 1% розчину Еванса синього, через 30 хв тварин виводили з досліду, визначали діаметр і площу синьої плями на внутрішній поверхні шкіри в місці введення антигену [3, 12].

У тесті КП мурчаків рандомізували, як у тесті АША, сенсibiliзували введенням "Декасану" в дозах 3 і 30 мл/кг протягом 30 днів, на 10, 20, 30 день під верхню повіку вводили 1 краплю розчину препарату в концентрації, яка не чинила подразнювальної дії в інтактних тварин. Друге око служило контролем. Через 15 хв, 1 год (реакція гіперчутливості негайного типу) та 24 год (гіперчутливість сповільненого типу) оцінювали вираженість офтальморекції за шкалою: 0 - відсутність реакції; 1 - слабка почервоніння слізної протоки; 2 - почервоніння слізної протоки і склери в напрямку до рогівки; 3 - почервоніння усієї кон'юнктиви та склери [3, 12].

У тесті ГСТ мишей (крім групи контролю) сенсibiliзували одноразовим введенням 60 мкл емульсії декаметоксину в повному ад'юванті Фрейнда (ПАФ, співвідношення 1:1, із використанням розчину Хенкса) у дозах 1,3 і 13 мг/кг. Через 5 діб у подушку задньої правої (дослідної) лапи вводили 40 мкл суспензії субстанції декаметоксину в розчині Хенкса, у контрольну ліву лапу аналогічно вводили розчин Хенкса. Через 24 год мишей виводили з досліду та оцінювали місцеву запальну реакцію за різницею маси дослідної та контрольної лап із розрахунком індексу реакції (IP) [3,12].

Вплив "Декасану" на клітинну імунну відповідь вивчали в тесті реакції ГСТ за методом К.Р. Kitamura [6] на мишах масою тіла 20,0-22,0 г, яких рандомізували на 4 групи ( $n=10$ ): інтактний контроль; імунізований контроль; тварини, яким за годину до імунізації та надалі протягом усього її терміну в/ш вводили "Декасан" в умовнотерапевтичній дозі 6,5 мл/кг (1,3 мг/кг за декаметоксином) та десятиразово збільшеній дозі 65 мл/кг. Тварин імунізували одноразовим введенням до міжлопаткової області суспензії свіжовідмитих еритроцитів барана (ЕБ) у дозі  $2 \cdot 10^8$  клітин у 0,5 мл 0,9% розчину натрію хлориду на 20 г маси тіла. На 5 добу під апоневроз однієї із задніх кінцівок вводили завершальну дозу антигену ( $10^8$  ЕБ у 0,02 мл), у контрлатеральну кінцівку - розчин Хенкса в аналогічному об'ємі. Через 24 год тварин виводили з досліду, оцінювали місцеву за-

пальну реакцію за різницею маси дослідної та контрольної лап із розрахунком ІР.

Вплив "Декасану" на гуморальну імунну відповідь визначали за кількістю антитілоутворюючих клітин (АУК) у селезінці, титрів гемаглютининів (ГА) у сироватці крові імунізованих мишей [6] масою тіла 20-25 г, яких розділили на 3 групи (n=10): імунізований контроль; тварини, яким за годину до імунізації та надалі в/ш вводили "Декасан" в аналогічних дозах 6,5 та 65 мл/кг. Мишей імунізували одноразовим д/о уведенням 3% суспензії ЕБ у дозі 0,2 мл/20 г. На 5 добу визначали кількість АУК методом локального гемолізу в гелі [17], титрів ГА методом серійних розведень [4].

Місцевоподразнювальну дію "Декасану" досліджували на кролях масою 3±0,5 кг. 0,01 мл препарату вводили до кон'юнктивального мішка правого ока кроля, у ліве (контрольне) око вводили розчинник - воду дистильовану. Оцінювали стан ока, повік, бульбарної кон'юнктиви, очної перетинки, рогівки та райдужки через 15 хв, 1, 24, 48 і 72 год за бальною шкалою [4]. Крім того, при попередньому дослідженні хронічної токсичності "Декасану" оцінювали його подразнювальну дію на ШКТ. Макро- та мікроскопічно досліджено стравохід, шлунок, тонку, товсту та пряму кишку щурів, яким вводили "Декасан" у дозах 3 та 30 мл/кг протягом 28 днів.

Дослідження кумулятивних властивостей "Декасану" здійснено згідно [4] за методом Lim et al. Використано 12 щурів обох статей із вихідною масою тіла 170-220 г. Діючу речовину - субстанцію декаметоксину - вводили в/ш протягом 28 днів у дозах, які дорівнювали 0,1; 0,15; 0,22; 0,34; 0,5; 0,75; 1,12 ЛД<sub>50</sub> (600 мг/кг для щурів) із збільшенням дози кожні 4 дні. Реєстрували летальність та сумарні дози, що отримали щури.

Для статистичної обробки даних використано стандартний пакет програм "Statistica 6.0", застосовано дисперсійний аналіз і критерій Н'юмена-Кейлса, метод Краскела-Уолліса, критерій Манна-Уїтні з поправкою Бонфероні, критерій  $\chi^2$  (при порівнянні відносної кількості клітин із абераціями хромосом).

### Обговорення результатів дослідження

#### 1. Результати вивчення мутагенного потенціалу препарату "Декасан"

За використання методу обліку хромосомних аберацій шляхом реєстрації видимих структурних порушень хромосом у клітинах кісткового мозку мишей на стадії метафази не встановлено вірогідних відмінностей між групами тварин, що одержували "Декасан", та групами інтактного й

негативного контролю. Нормальні метафазні пластинки характеризувалися диплоїдним набором хромосом, кількість яких становила 40±1, вони мали достатнє розходження та рівномірне забарвлення. Загальна кількість метафаз із абераціями не мала розбіжностей в усіх групах мишей, структурно метафазні пластинки відповідали описаним у літературі [8]. Хромосомні обміни були представлені злиттям двох хромосом з утворенням дицентричних хромосом, а також злиттям двох хроматид з утворенням аберації "end to end" [16]. Хроматидні обміни були представлені кільцями, утвореними ділянкою хроматиди. Загалом частота аберацій у вигляді обмінів була низькою. Ахроматичні пропуски (гепи), що траплялися однаково часто в усіх групах (від 1,5(1;2) до 2(1;2)), згідно із рекомендаціями як аберації не реєстрували. Явища поліплоїдії мали місце в поодиноких випадках і не були асоційовані зі введенням досліджуваного препарату, множинних аберацій не спостерігали. Отже, "Декасан" не спричиняє мутагенної дії.

#### 2. Результати дослідження гонадотоксичної дії препарату "Декасан"

"Декасан" у дозах 3 та 30 мл/кг за в/ш введення статевозрілим фертильним самкам щурів протягом 3 естральних циклів не впливав на тривалість естрального циклу та якісний склад вагінального епітелію. В усіх групах тварин відповідно до фізіологічної норми спостерігали послідовну зміну чотирьох фаз циклу, тривалість якого складала 4-5 днів. Після виведення тварин із досліду на стадії еструсу макроскопічних змін органів малого тазу не відмічено, гістоструктура яєчників також залишалася в межах норми. У щурів, які одержували "Декасан", була наявною тенденція до зменшення коефіцієнта маси яєчників (p=0,081, критерій Н'юмена-Кейлса). Кількісний аналіз структурно-функціональних елементів яєчників підтвердив відсутність якісних структурних змін органа та стабільність резерву фолікулогенезу (кількість примордіальних фолікулів), відсутність ознак пригнічення дозрівання ооцитів (за наявністю жовтих тіл, фолікулів різного ступеня зрілості) та інтенсифікації процесу атрезії фолікулів на тлі досліджуваного препарату в дозі 3 мл/кг, співвідношення елементів фолікулярної системи в цих тварин практично не змінювалось порівняно з контролем. На тлі "Декасану" в дозі 30 мл/кг достовірно зменшувалася кількість примордіальних фолікулів та пул фолікулів, що ростуть.

Препарат "Декасан" у дозах 3 та 30 мл/кг за в/ш введення самцям щурів протягом усього періоду сперматогенезу не впливав на коефіцієнти

маси та довжину сім'яників та їх придатків, а також на показники функціонального стану сперматозоїдів. Гістоструктура сім'яників у тварин усіх груп відповідала нормі. Спостерігали 3-4 генерації сперматогенних клітин на різних стадіях розвитку у сім'яних каналцях, нормальну структуру, кількість та розташування клітин Сертолі та Лейдига. Число нормальних сперматогоній, індекс сперматогенезу, кількість каналців із злущеним епітелієм також не змінювалися на тлі "Декасану" в обох дозах.

### 3. Результати дослідження ембріотоксичної та тератогенної дії препарату "Декасан"

У самок усіх дослідних груп реєстрували нормальну кількість жовтих тіл у яєчниках відповідно до фізіологічної норми. Практично в усіх групах у половини самок були відсутні ембріони, які зазнали резорбції, що вказує на невисоку постімплантаційну загинель. На тлі "Декасану" в дозі 30 мл/кг (1-6 день) виявлено один мертворожденний плід, який віднесено до спонтанних аномалій розвитку, в інших групах таких явищ не було. За усіма показниками ембріотоксичної дії мала місце лише одна розбіжність: збільшення передімплантаційної смертності на тлі препарату в дозі 30 мл/кг (1-6 день), що є проявом його негативної дії у першому триместрі вагітності. Незначні підшкірні гематоми у плодів зустрічались у поодиноких випадках. За кількістю живих плодів не було міжгрупових відмінностей, цей показник відповідав фізіологічній нормі. На тлі препарату в максимальній дозі (6-16 день) зареєстровано достовірне зменшення краніокаудального розміру плодів та їх маси. Отже, "Декасан" у дозі 30 мл/кг чинить негативну дію як у ранні терміни вагітності, у періоді імплантації, так і в періоді органогенезу, що обґрунтовує протипоказання до його застосування у вагітних.

При дослідженні тератогенної дії загалом вивчено 941 плід (449 при вивченні внутрішніх органів та 492 - кісткової системи). При зовнішньому огляді усіх живих плодів 20 дня гестації не виявлено вад розвитку, лише в одній самки, яка одержувала "Декасан" у дозі 30 мл/кг (1-6 день), виявлено один завмерлий плід розміром до 1 см із аномаліями черепа та черевної стінки. Препарат вводили в доімплантаційному періоді (1-6 день), тому не є можливим асоціювати його із виникненням цих аномалій, адже в щурів закладення й розвиток внутрішніх органів відбувається в процесі імплантації (до 7-9 дня вагітності) та в подальшому періоді органогенезу до 16 дня, а центри окостеніння з'являються з 15,5 дня [13].

Не зареєстровано аномалій розвитку плодів усіх груп при дослідженні внутрішніх органів та

голови за серіями зрізів. Лише в деяких плодів самки, що одержувала "Декасан" у дозі 30 мл/кг із 6 по 16 день вагітності, виявлено невеликий набряк підшкірної клітковини на розрізі тулуба на рівні за передніми кінцівками. Окостеніння у плодів усіх груп простежувалося у всіх кістках черепа й тулуба, у більшості плодів цей процес був синхронним і симетричним у лівій та правій половині тіла. При дослідженні ступеня розвитку й характеру забарвлення кісток у деяких плодів, у т.ч. контрольних груп, відзначено відсутність центрів окостеніння або його затримку в деяких кістках черепа та, як наслідок, збільшення розмірів тим'яного родничка. Достовірні відмінності з контрольними групами за останнім показником встановлені у плодів самок, яким вводили "Декасан" у дозі 30 мл/кг (6-16 день). У плодів самок, які одержували препарат у цей же термін в обох дозах, спостерігали достовірну затримку окостеніння дуг і тіл хребців крижового відділу, зменшення кількості центрів окостеніння у грудному та крижовому відділах хребта. У плодів самок, яким вводили "Декасан" у дозі 30 мл/кг (6-16 день), виявлено відсутність окостеніння в сідничній кістці. У плодів самок, які одержували препарат у цей же термін в обох дозах, також достовірно знижувалося число ядер окостеніння у п'ясті. У деяких плодів усіх груп спостерігали зниження ядер окостеніння у сегментах груднини, наявність додаткової 14 пари ребер або її закладку, у окремих плодів - викривлення та "перерви" в реберних стрічках, вкорочення 13 пари ребер.

### 4. Результати дослідження впливу препарату "Декасан" на репродуктивну функцію

Відсутність змін індексів плодючості та фертильності на тлі препарату "Декасан" у дозах 3 та 30 мл/кг (протягом 60 днів) свідчить про його нейтральність щодо репродуктивної функції самців щурів за інтегральним показником здатності до запліднення. У самок, яких спарювали з самцями усіх груп, реєстрували нормальну кількість жовтих тіл у яєчниках відповідно до фізіологічного рівня. Не було міжгрупових відмінностей за показниками передімплантаційної, постімплантаційної, загальної ембріональної смертності, а також кількості плодів на одну самку, їх краніокаудальними розмірами та масою тіла. У самок, за якими спостерігали до та після пологів, в усіх групах не виявлено поведінкових порушень, змін перебігу пологів чи летальності в цей період, тривалість вагітності була в межах фізіологічної норми (22-24 дні). Кількість народжених щурят та їх розподіл за статтю не відрізнялись між групами та відповідали нормальним значенням. Дві самки, яких спарювали з самцями, що одержували

"Декасан" у дозі 3 мл/кг, народили мертвих щурят. Зниження кількості щурят відмічено лише в групі негативного контролю внаслідок загибелі всього приплоду однієї самки на 5-6 день. Відмічено стабільну динаміку збільшення маси тіла та своєчасний фізіологічний розвиток щурят усіх груп, що підтверджує відсутність негативного впливу "Декасану" на репродуктивну функцію щурів самців.

У самок щурів також не встановлено негативної дії препарату "Декасан" за інтегральним показником здатності до запліднення, оскільки не було змін індексів плодючості та фертильності. В яєчниках самок усіх груп кількість жовтих тіл відповідала фізіологічній нормі. Відсутні міжгрупові розбіжності за показниками перед- та постімплантаційної, загальної ембріональної смертності, а також кількості плодів на одну самку, їх краніокаудальних розмірів та маси тіла. У самок, за якими спостерігали до та після пологів, в усіх групах не виявлено поведінкових порушень, змін перебігу пологів чи летальності в цей період, тривалість вагітності була в межах фізіологічної норми. Кількість народжених щурят та їх розподіл за статтю не відрізнялись між групами та знаходились у межах фізіологічної норми. Кількість щурят за весь період спостережень зменшилась у групі інтактного контролю на 5%, негативного контролю - на 17%, у самок, які одержували "Декасан" у дозі 3 мл/кг - на 7%, у самок, які одержували "Декасан" у дозі 30 мл/кг - на 15%. В останній групі це зменшення пов'язано із загибеллю всього приплоду однієї самки на 8-9 день на тлі виснаження нащадків, що свідчить про недостатню лактацію та загибелі приплоду іншої самки на перший день. В усіх інших групах зниження числа щурят зумовлено загибеллю слабких особин по 1-2 у декількох приплодах. Зареєстровано стабільну динаміку збільшення маси тіла та своєчасний фізіологічний розвиток щурят в усіх групах, що підтверджує відсутність негативного впливу досліджуваного препарату на репродуктивну функцію самок щурів.

##### *5. Результати дослідження алергізувальних властивостей "Декасану"*

Модель АША собою реакцію капілярів на місці в/шк введення антигену (досліджуваного препарату) активно сенсibilізованим мурчакам [3, 12]. Барвник після в/в введення залишає кровообіг в осередку запалення і утворює забарвлену пляму, діаметр якої є показником місцевої анафілактичної реакції. Встановлено, що в групах мурчаків, активно сенсibilізованих препаратом "Декасан" в обох дозах, не відбувалося збільшення розмірів забарвленої плями порівняно з конт-

рольними тваринами. Отже, у дозах 3 і 30 мл/кг в/ш "Декасан" не спричиняє сенсibilізації та розвитку анафілактичної реакції.

Одним із найчутливіших тестів для визначення алергізувальних властивостей потенційних препаратів є КП. Цей тест дозволяє оцінити ступінь сенсibilізації за виразністю офтальморекції, збільшення капілярної проникності та наступного набряку тканин у відповідь на введення завершальної дози досліджуваного алергену. У мурчаків усіх груп не спостерігали ознак алергічної запальної реакції слизової оболонки ока (0 балів), що підтверджує відсутність сенсibilізації та розвитку алергічних реакцій негайного та сповільненого типу на тлі "Декасану" в тесті КП.

Реакція ГСТ у мишей дозволяє виявити здатність досліджуваного препарату сенсibilізувати лімфоцити-ефектори, що призводить до вивільнення із них медіаторів, які опосередковують інфільтрацію тканин клітинними елементами та локальний набряк. Інтенсивність та тривалість реакції залежать від термінів формування та спільного впливу різних субпопуляцій Т-супресорів, які пригнічують ГСТ. Тому при індукції ГСТ за введення мишам алергенів у ПАФ, коли не відбувається формування Т-супресорів, можливе посилення алергічних реакцій навіть у випадку слабких алергенів [3, 12]. При відтворенні реакції ГСТ на тлі декаметоксину в обох дозах не зареєстровано вірогідних відмінностей ІР щодо відповідного показника несенсibilізованих контрольних тварин. Отже, декаметоксин як діюча речовина "Декасану" не сенсibilізує організм та не призводить до розвитку алергічного запалення із перебігом за сповільненим типом гіперчутливості. Результати дослідження можна екстраполювати на препарат "Декасан", оскільки він містить лише одну діючу речовину.

##### *6. Результати дослідження імунотоксичної дії препарату "Декасан"*

Реакція ГСТ висвітлює здатність досліджуваного препарату впливати на продукцію сенсibilізованими Т-лімфоцитами-ефекторами медіаторів, які спричиняють інфільтрацію тканин клітинними елементами. За цих умов субплантарне введення антигену призводить до локального набряку [6]. Як у контрольних імунізованих мишей, так і у тварин, які отримували "Декасан" в обох дозах, ІР був у 3-4 рази вищий за показник інтактного контролю, достовірних відмінностей між показниками імунізованих тварин не було. Отже, досліджуваний препарат не впливав на перебіг реакції ГСТ.

"Декасан" не впливав на гуморальну імунну відповідь за показниками кількості АУК (лім-

фоїдних клітин, що в імунізованих чужорідними еритроцитами тварин секретують антиеритроцитарні антитіла, які спричиняють лізис еритроцитів у присутності комплементу [17]) у селезінці та титрів ГА (показник кількості антитіл у крові імунізованих тварин [4]).

#### 7. Результати дослідження місцевоподразнювальної дії "Декасану"

Одразу після нанесення препарату на кон'юнктиву ока в усіх кролів спостерігали тимчасове занепокоєння, рухи головою, що тривало 10-15 хв. Через 15 хв у однієї тварини з трьох виявлена слабка реакція - незначне почервоніння в ділянці слъозної протоки. Через 1 год ознак будь-якої негативної реакції не спостерігали в усіх тварин, стан дослідних та контрольних очей не мав змін (не відмічено помутніння рогівки, ушкоджень рогової та райдужної оболонок, почервоніння, хемозу, виділень), що підтверджує відсутність місцевоподразнювальної дії "Декасану". Подразнювальний вплив на ШКТ у досліджуваного препарату також відсутній, що верифіковано при вивченні гістоструктури стравоходу, шлунка, тонкої, товстої, прямої кишок щурів після 28-денного курсу в/ш введення препарату в дозах 3 та 30 мл/кг.

#### 8. Результати визначення кумулятивних властивостей субстанції декаметоксину

При дослідженні кумулятивної дії субстанції декаметоксину загибелі щурів не було на тлі усіх доз, що вказує не лише на відсутність кумуляції, але й на наявність адаптивних процесів, які забезпечують виживання тварин при введенні доз, які перевищують LD50. Щури були охайними, спокійними, споживали корм. Інколи виявлялася діарея. Маса тварин збільшувалася повільно, особливо у самок. Одразу після введення високих доз декаметоксину в щурів спостерігали ознаки неспокою. Дані макроскопічного огляду шлунка при розтині підтверджують ці спостереження, оскільки були наявними набухання слизової оболонки шлунка, помірна повнокровність верхівок валиків. Слизова оболонка стравохідної частини вкрита дуже щільно прилеглим нальотом, схожим на фібрин, який важко відділявся від поверхні, після чого виявлялися різні за розміром множинні кратероподібні утворення. Ці зміни можна розглядати як адаптивні й такі, що сприяли виживанню тварин. Надалі було встановлено, що через тиждень після скасування декаметоксину слизова оболонка шлунка відновлювалася повною мірою. Отже, кумулятивні властивості у препарату "Декасан" відсутні.

### Висновки

1. Встановлено відсутність мутагенних властивостей препарату "Декасан" у дозах 5 і 50 мл/кг за показниками хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку мишей.

2. Показано, що у самок щурів препарат "Декасан" в дозах 3 і 30 мл/кг не впливає на естральний цикл, у дозі 3 мл/кг не змінює структуру яєчників, проте в дозі 30 мл/кг чинить гонадотоксичну дію за критеріями коефіцієнта маси яєчників, кількості примордіальних фолікулів та фолікулів, що ростуть. У самців щурів препарат "Декасан" у дозах 3 і 30 мл/кг не чинить гонадотоксичної дії, не змінює функціональний стан сперматозоїдів.

3. При дослідженні тератогенної та ембріотоксичної дії у щурів препарат "Декасан" у дозах 3 та 30 мл/кг із 6 по 16 день вагітності, в дозі 30 мл/кг із 16 по 19 день вагітності не викликав вад розвитку нащадків на 20 день вагітності (неспецифічні випадки порушень були поодинокими, не мали дозозалежного характеру). Однак при введенні препарату в дозі 30 мл/кг із 1 по 6 день зростала передімплантаційна смертність, а в обох дозах із 6 по 16 день - сповільнювався процес окостеніння. Негативна дія препарату в дозі 30 мл/кг як у ранні терміни вагітності, так і в періоді імплантації та органогенезу, обґрунтовує протипоказання до його застосування у вагітних.

4. Препарат "Декасан" у дозах 3 та 30 мл/кг не спричиняє порушень репродуктивної функції самців та самок щурів, не викликає ембріолетальної дії, не чинить негативного впливу на розвиток нащадків.

5. Препарат "Декасан" не є потенційним алергеном, оскільки за перорального введення не спричиняє сенсibiliзації організму й не викликає анафілактичної реакції в мурчаків. Препарат та його діюча речовина - субстанція декаметоксину - не сенсibiliзують організм і не індукують алергічні реакції із перебігом за сповільненим типом у мишей і мурчаків.

6. Препарат "Декасан" не чинить токсичної дії на гуморальну та клітинну імунну відповідь у мишей за результатами тестів реакції гіперчутливості сповільненого типу та за кількістю антитілоутворюючих клітин у селезінці, титрів гемалютинінів в сироватці крові.

7. Підтверджено відсутність місцевоподразнювальної дії препарату "Декасан" при введенні до кон'юнктивального мішка ока кролів, а також відсутність подразнення органів ШКТ після 28-денного курсу внутрішньошлункового введення препарату щурам у дозах 3 та 30 мл/кг.

8. Субстанція декаметоксину не виявляє здатності до кумуляції в дослідах на щурах. Її вве-

дення в дозах, що зростають, спричиняє адаптивні реакції із розвитком толерантності тварин до доз, що перевищують LD50.

### Перспективи подальших досліджень

Виходячи з результатів доклінічних досліджень специфічної токсичності, які підтвердили досить високий рівень безпечності препарату "Декасан" - 0,02% ізотонованого розчину декаметоксину, є доцільним подальше дослідження цієї лікарської форми та її впровадження до застосування при кишкових інфекціях.

**Література.** 1. Бочков Н.П. Классификация и методы учета хромосомных aberrаций в соматических клетках / Н.П. Бочков, Ю.С. Демин, Н.В. Лучник // Генетика. - 1972. - Т. 8, № 5. - С. 133-141. 2. Декасан: инструкция по применению [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://tabletki.ua/Декасан> 3. Доклінічне вивчення сенсibiliзуючої дії лікарських засобів. Методичні рекомендації. - К., 2002. - С. 5-27. 4. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: "Авіцена", 2001. - 528 с. 5. Дыбан А.П. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ / А.П. Дыбан, В.С. Баранов, И.М. Акимов // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1970. - Т.59, №10. - С. 89-100. 6. Иммунологические методы / Под ред. Х. Фримеля. - М.: Медицина, 1987. - 472 с. 7. Исследование всасывания декаметоксина в кишечнике у крыс и его влияние на активность холинэстеразы в крови кроликов / Н.Н. Деркач, С.Ю. Штрыголь, О.О. Койро, Н.Е. Блажеский // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2015. - Т. 15, № 1. - С. 45-51. 8. Колбай И.С. Оценка мутагенных свойств препарата метилиодида диметиламиногроссгемина / И.С. Колбай, А.Д. Бегимбетов, Г.Т. Джакимбаева [Электронный ресурс]. - Режим доступа: [http://www.rusnauka.com/7\\_NITSB\\_2012/Biologia/8\\_102660.doc.htm](http://www.rusnauka.com/7_NITSB_2012/Biologia/8_102660.doc.htm) 9. Обґрунтування ефективності антисептичного препарату Декасан в лікуванні хворих на гнійно-септичні захворювання / Г.К. Палій, В.П. Ковальчук, Н.М. Деркач та ін. // Укр. хіміотер. журн. - 2010. - №1-2. - С. 78-82. 10. Палій В.Г. Антисептична активність, властивості та застосування нових антимікробних препаратів // Автореф. дис. канд. мед. наук / В.Г. Палій. - Х., 1999. - 23 с. 11. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. - М.: Боргес, 2002. - 381 с. 12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. - М.: ОАО "Изд-во "Медицина", 2005. - 832 с. 13. Токин Б.П. Общая эмбриология / Б.П. Токин. - М.: Высш. школа, 1977. - 423 с. 14. Хромосомы человека. Атлас / А.Ф. Захаров, В.А. Бенюш, Н.П. Кулешов, Л.И. Барановская. - М.: Медицина, 1982. - 263 с. 15. Barr W. Acute diarrhea / W. Barr, A. Smith // Am. Fam. Physician. - 2014. - Vol. 89, №3. - P.180-189. 16. Biswas S.J. Effect of a homeopathic drug, Chelidonium, in amelioration of p-DAB induced hepatocarcinogenesis in mice / S.J. Biswas, A.R. Khuda-Bukhsh // BMC Complement Altern Med. -2002. - Vol. 2, №4. - P. 1-16. 17. Ierne K.N. Plaque formation by single antibody -

producing cells / K.N. Ierne, A.A. Nordin // Science. - 1963. - Vol. 140. - P. 405-406. 18. Kosek M. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2002 / M. Kosek, C. Bern, R.L. Guerrapiant // Bull. World Health Organ. - 2003. - Vol. 81, №3. - P. 197-204.

### СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТА "ДЕКАСАН"

*Н.Н. Деркач, С.Ю. Штрыголь, Ю.Б. Ларьяновская, Е.Ю. Кошова, Е.А. Ковалева*

**Резюме.** Исследована специфическая токсичность препарата "Декасан" - 0,02% раствора декаметоксина для перорального применения при кишечных инфекциях. Установлено, что препарат не оказывает мутагенного действия, сенсibiliзации, токсического влияния на гуморальный и клеточный иммунный ответ, местнораздражающего действия. В 10-кратно увеличенной условно-терапевтической дозе "Декасан" оказывает гонадотоксическое действие у самок (но не у самцов), негативно влияет на течение беременности на ранних сроках и в период имплантации и органогенеза, но не нарушает репродуктивную функцию самцов и самок (не вызывает эмбрио-летального действия и негативного влияния на развитие потомства). Субстанция декаметоксина не проявляет способности кумулировать.

**Ключевые слова:** "Декасан", декаметоксин, специфическая токсичность

### SPECIFIC TOXICITY OF THE DRUG "DECASAN"

*N.M. Derkach, S.Yu. Shtrygol', Yu.B. Laryanovska, E.Y. Koshevaya, I.O. Kovalova*

**Abstract.** This study aimed to investigate specific toxicity of the drug "Decasan" that is 0.02% decamethoxinum solution for peroral use in intestinal infections. It has been shown that the drug does not exert mutagenic action, as well as sensibilization and toxic influence on the cell-mediated and humoral immunity and local irritation. At a conventional increased tenfold therapeutic dose "Decasan" demonstrates gonadotoxicity in females (but not in males), exerts a negative influence on the course of pregnancy at early stages as well as during the period of implantation and organogenesis, but does not lead to the disorders of reproduction in males and females (does not cause embryoletality and negative influence on the development of the next generation). Decamethoxinum substance does not show an ability to cumulate.

**Key words:** "Decasan," decamethoxinum, rats, specific toxicity

**HSEE of Ukraine "National University of Pharmacy",  
Kharkiv**

*Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №2 (56).p.1.-P.59-66.*

*Надійшла до редакції 17.05.2016*

*Рецензент – проф. І.І. Заморський*

*© Н.М. Деркач, С.Ю. Штрыголь, Ю.Б. Ларьяновська,  
О.Ю. Кошова, Е.О. Ковалева, 2016*