

ВИВЧЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ НОВИХ ПЕСАРІЇВ «КЛІМЕДЕКС»

©К. О. Степанова

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: у статті подано дані досліджень нових песаріїв, «Клімедекс» для лікування вагінітів. Комплекс проведених токсикологічних досліджень дозволив встановити, що песарії «Клімедекс» за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова належать до IV класу токсичності, не проявляють місцевоподразнювальної дії та токсичного впливу на функціональний стан яєчників.

Ключові слова: токсикологічні дослідження, песарії, гостра токсичність, місцевоподразнювальна дія, естральний цикл.

Вступ. Сьогодні інфекційні захворювання жіночих статевих органів посідають одне з перших місць серед захворювань репродуктивної сфери жінки. Їх значення зумовлене тим, що ці хвороби впливають на органи та тканини репродуктивної системи та на відновлення й продовження роду людей на планеті.

Численні дослідження впродовж останніх років показали, що інфекційно-запальні процеси, зокрема в піхві, беруть участь у розвитку акушерсько-гінекологічної патології, яка визначає не тільки здоров'я матері, а й плода [1]. Сьогодні у клініці захворювань спостерігають дві тенденції: по-перше, невідповідність тяжкості зовнішніх проявів рівню патологічних змін у репродуктивній сфері; по-друге, невисока ефективність проведеного лікування, що призводить до фульмінантного перебігу з летальним результатом або до хронізації процесів [2, 3].

На фармацевтичному ринку України велика кількість лікарських засобів місцевого застосування, які використовують з метою профілактики або лікування у хворих гінекологічного профілю. Проте й досі вагінальне введення препаратів залишається одним з недостатньо вивчених та охарактеризованих, що підтверджує необхідність оцінки їх токсичних властивостей.

Доклінічне вивчення не тільки специфічної фармакологічної активності, а й визначення нешкідливості під час застосування та можливості розвитку віддалених наслідків є невід'ємною частиною процесу створення лікарського засобу та принциповим фактором визначення можливості його передачі до промислового випуску та доцільності медичного застосування.

Мета роботи – вивчення токсичних властивостей нових песаріїв, умовно названих «Клімедекс» (вміст: основа – ПЕО, загальна кількість

діючих речовин 555 мг), що були розроблені на кафедрі технології ліків Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Т. Г. Ярних [4].

Методи дослідження. Вивчення токсичних властивостей нових песаріїв проводили за допомогою оцінки гострої токсичності, місцевоподразнювальної дії та проводили оцінку функціонального стану яєчників, досліджуючи стан естрального циклу щурів. Гостру токсичність нових песаріїв «Клімедекс» вивчали за методом Г. В. Пастушенко [5] на нелінійних статевозрілих щурах-самках вагою 195–205 г при одноразовому вагінальному та ректальному введенні, використовуючи 5 різних доз. Спостереження та реєстрацію показників стану тварин проводили кожен день протягом 14 днів. Індивідуальні особливості маси тіла тварин визначали до першого введення песаріїв, на третю та сьому доби після першого введення та перед забоем тварин. Після виведення тварин з експерименту здійснювали макроскопічне обстеження внутрішніх органів, а також їх відносну масу. Оцінку токсичності проводили за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова [6].

Вивчення можливого місцевоподразнювального впливу песаріїв «Клімедекс» на слизову оболонку піхви проводили відповідно до методичних рекомендацій МОЗ України «Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів» за умов однократного та повторних введень [7].

Гостру подразнювальну дію на піхву при одноразовому введенні вивчали на оварієктомованих щурах-самках вагою 200-205 г. Оварієктомія забезпечувала стабільну товщину та неороговіння епітелію, який більше відповідав на місцеву дію. Тварин поділяли на дві групи по 10 у кожній групі: 1 група – інтактний контроль;

2 група – тварини, яким одноразово вводили песарії «Клімедекс». Спостереження та аналіз стану статевих органів та вагінальних виділень здійснювали протягом 3 діб (через 1, 24, 48 та 72 год після введення). Всі ознаки оцінювали в балах. На третю добу тварин виводили з експерименту та проводили макроскопічне обстеження піхви на наявність таких ушкоджень, як ерозія, місцеві геморагії тощо.

Вивчення місцевоподразнювальної дії песаріїв «Клімедекс» за умови повторних введенень проводили на статевозрілих оварієктомованих щурах-самках вагою 200-205 г. Тварин поділяли на три групи по 10 тварин у кожній: 1 група – інтактний контроль, 2 група – тварини, яким вводили основу нових песаріїв «Клімедекс» – ПЕО-1500 та ПЕО-400 (9:1); 3 група – тварини, яким вводили песарії «Клімедекс».

Геніталії тварин обстежували щоденно, реєструючи наявність вагінальних подразнень. Масу тварин реєстрували у 1-й, 5-й та 10-й день дослідю. На 11-ту добу тварин виводили з експерименту. Піхву видаляли за стандартною технікою розтину, розкриваючи шляхом поздовжнього розрізу, та досліджували на наявність таких порушень слизової оболонки, як ерозії, локальні геморагії тощо. Піхву фіксували у 10 % розчині формаліну в нейтральному буфері. Стандартне фарбування гістологічних парафінових зрізів здійснювали рутинними методами гематоксиліном та еозинном.

Ступінь кожного виду ушкодження піхви визначали окремо та розраховували середній бал.

За середнім показником рейтингу подразнення для кожної тварини визначали можливість застосування препарату (табл. 1).

Таблиця 1. Оцінка допустимості застосування песаріїв

Середній показник	Оцінка
0–8	Допустимо
9–10	Межа допустимості
11 та вище	Не придатний для застосування

Таблиця 2. Дослідження гострої токсичності песаріїв «Клімедекс»

№ з/п	Доза, мг/кг	Кількість тварин	Ефект, який спостерігався:		Доза, мг/кг	Кількість тварин	Ефект, який спостерігався:			
			летальність / кількість тварин				летальність / кількість тварин			
			при вагінальному введенні				при ректальному введенні			
1	350	6	0/6		100	6	0/6			
2	700	6	0/6		250	6	0/6			
3	1400	6	0/6		500	6	0/6			
4	2100	6	0/6		750	6	0/6			
5	2810	6	0/6		1000	6	0/6			

Оцінку впливу на функціональний стан яєчників проводили шляхом вивчення естрального циклу щурів-самок на тлі введення песаріїв «Клімедекс».

Дослідження естрального циклу та окремих його фаз проводили протягом 3-х тижнів перед початком введення – фонові дані, під час введення, а також у відновлювальний період – 3 тижні після введення песаріїв. Вивчення естрального циклу проводили за допомогою вивчення піхвових мазків [4, 8], стадії визначали за співвідношенням клітинних елементів у вагінальних мазках. До експерименту відбирали тварин, естральний цикл яких за результатами фонових досліджень у середньому складав 4,5 доби з послідовним чергуванням фаз (дієструсу, проєструсу, еструсу та метаєструсу) та розподіляли на дві групи по 8 тварин у кожній: перша група – ІК, друга група – тварини, яким вводили досліджувані песарії «Клімедекс» протягом 7 діб.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за методами описової статистики та порівнянням вибірок (з використанням параметричних та непараметричних критеріїв). Статистично значущими вважали дані при $p \leq 0,05$. Обробку даних здійснювали за допомогою програмного пакета StatSoft.

Результати й обговорення. Гостру токсичність песаріїв «Клімедекс» вивчали на нелінійних статевозрілих щурах-самичках масою 195–205 г при одноразовому вагінальному та ректальному введенні в дозах 350, 700, 1400, 2100, 2810 мг/кг та 100, 250, 500, 750, 1000 мг/кг відповідно. Спостереження та реєстрацію показників стану тварин проводили кожен день протягом 14 діб.

Отримані результати свідчать, що введення песаріїв «Клімедекс» тваринам обома шляхами загибелі тварин протягом 14 діб не спричиняли (табл. 2). Зовнішній вигляд, загальний стан та поведінка тварин протягом усього експерименту залишалися без змін та не відрізнялись від фізіологічної норми.

Динаміка маси тіла тварин мала позитивний характер. Макроскопічне обстеження внутрішніх органів також свідчило про відсутність відхилень від норми. Видимі слизові оболонки були блискучі, рожеві, рівні, лімфатичні вузли не збільшені, розташування органів звичайне. Всі органи, які обстежувались макроскопічно (серце, печінка, нирки, надниркові залози, селезінка та яєчники), мали звичайні розміри, колір та щільність тканин. При розрахунку та аналізі масових коефіцієнтів внутрішніх органів вірогідної динаміки до змін не спостерігали. Всі показники були в межах фізіологічної норми.

Результати проведених досліджень вказують на відсутність летальності тварин при введенні песаріїв «Клімедекс» як вагінально, так і ректально, та дозволяють стверджувати, що значення LD_{50} для досліджуваного засобу перевищує максимальні дози, які були використані в експерименті. Значення LD_{50} , що при вагінальному введенні $LD_{50} > 2810$ мг/кг, а при ректальному – $LD_{50} > 1000$ мг/кг, дозволяють віднести песарії «Клімедекс», в умовах обраних шляхів введення, до IV класу токсичності за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова – класу малотоксичних речовин.

Місцева подразнювальна дія препаратів при таманна ділянці тіла, що найпершою вступає в контакт з препаратом внаслідок його введення за умов медичного застосування та є негативним ефектом для всіх лікарських засобів, крім тих випадків, коли він характеризує специфічну фармакодинамічну дію препарату.

Вивчення гострої подразнювальної дії песаріїв проводили на 10 статевозрілих оварієктомованих щурах-самицях вагою 200-205 г при одноразовому введенні.

При спостереженні за тваринами, яке проводили протягом 3-х діб після введення песаріїв, не було зафіксовано жодних клінічних ознак та патологічних вагінальних виділень. Показників подразнення (еритема, набряк, виділення) не реєстрували. Макроскопічне обстеження піхви тварин після закінчення експерименту також не показало наявності ушкоджень слизових оболонок піхв.

Таким чином, отримані результати свідчать про відсутність місцевоподразнювальної дії песаріїв «Клімедекс» при однократному введенні.

Вивчення місцевоподразнювальної дії за умов повторних введень також проводили на статевозрілих оварієктомованих щурах-самицях масою 200-210 г, що попередньо були розподілені на три групи по 10 тварин у кожній: перша група – інтактний контроль, друга група – тварини, яким вводили досліджувані песарії

«Клімедекс», третя група – тварини, яким вводили лише основу песаріїв «Клімедекс» (суміш ПЕО-1500 та ПЕО-400 (9:1)). Досліджувані песарії та плацебо вводили тваринам протягом 10 днів.

Протягом десятиденного введення песаріїв «Клімедекс» та основи песаріїв у тварин при щоденному обстеженні геніталій подразнень не реєстрували. Динаміка маси тіл тварин дослідних груп не відрізнялась за показниками від показників групи інтактного контролю та мала позитивну динаміку.

Дані гістологічних досліджень свідчили, що епітелій піхви оварієктомованих самок інтактної групи у дистальній (хвостовій) частині був багат шаровий, зроговілий та плоский. Епітелій проксимальної частини відповідав фазі дієструсу. Товщина його у тварин не перевищувала 3–5 рядів клітин, місцями у поверхневих рядах були присутні поодинокі нейтрофіли. Базальна мембрана, що відокремлювала епітелій від підлеглої строми – невиразна. Строма слизової мала вигляд доволі щільної сполучної тканини – помірно клітинна. Межа її з епітелієм була достатньо рівною, стан кровоносних судин відповідав нормі (рис. 1).

Дані гістологічних досліджень підтверджували, що введення песаріїв «Клімедекс» не провокували появу змін у стані покривного епітелію. У стромі слизової були відсутні ознаки судинної реакції, не виявлені зміни у судинно-тканинній проникливості та реологічних властивостях крові, не спостерігали еміграцію та трансформацію клітин. Аналогічний стан слизова піхви мала й у тварин групи, яким протягом 10 днів вводили основу песаріїв.

Таким чином, проведені дослідження вказують на відсутність місцевоподразнювальної дії у песаріїв «Клімедекс» за умови повторних введень, що зумовлює допустимість їх застосування.

З метою оцінки можливого токсичного впливу песаріїв «Клімедекс» на функціональний стан яєчників проводили дослідження естрального циклу.

Отримані дані вказують про те, що при введенні песаріїв «Клімедекс» протягом 7 днів та у відновлювальний період зміни у клітинному складі піхвових мазків не спостерігали (рис. 2).

Тривалість естрального циклу та послідовне чергування фаз статистично не відрізнялись від зафіксованих у групі інтактного контролю показників (табл. 3).

Проведені дослідження підтвердили відсутність токсичного впливу досліджуваних песаріїв «Клімедекс» на функціональний стан яєчників.

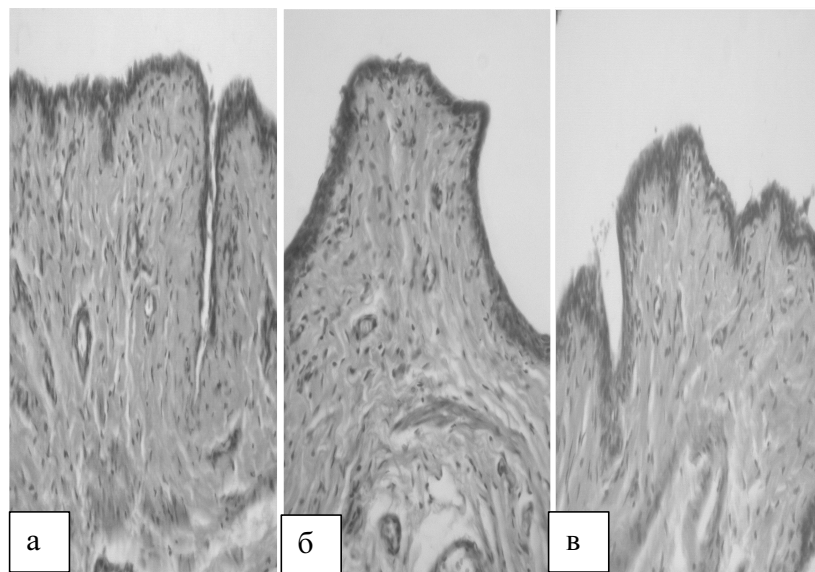


Рис. 1. Слизова піхви щурів груп: а – інтактного контролю; б – тварин, яким вводили песарії «Клімедекс»; в – тварин, яким вводили основу; гематоксилін-еозин, x250.

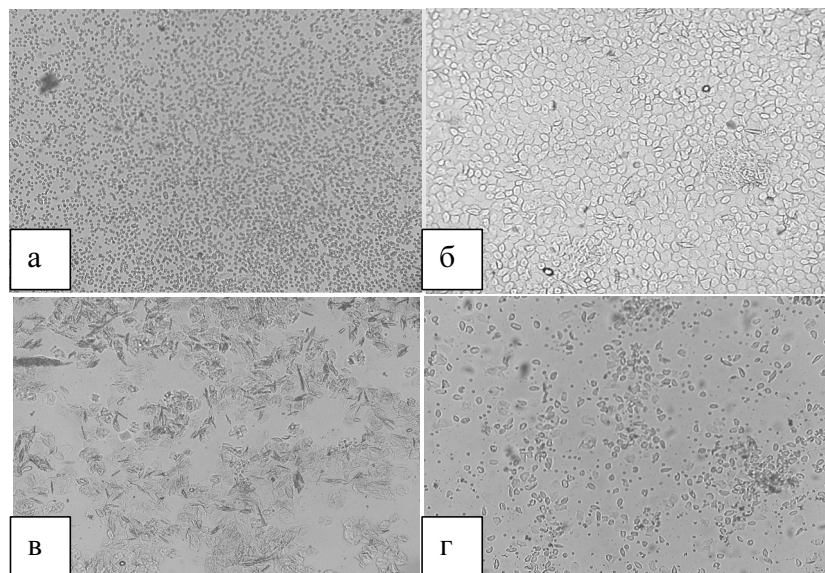


Рис. 2. Клітинний склад епітелію у піхвових мазках: а – дієструс; б – проєструс; в – еструс; г – метеєструс.

Таблиця 3. Вплив песаріїв «Клімедекс» на тривалість естрального циклу, n=8

Експериментальні групи	Тривалість естрального циклу, дні	
	фонові дослідження	відновлювальний період
Інтактний контроль	4,85±0,44	4,63±0,62
Песарії «Клімедекс»	4,83±0,46	4,81±0,67

Примітка. n – кількість тварин в групі.

Висновки. Встановлено, що за класифікацією К. К. Сидорова, песарії «Клімедекс» належать до IV класу – класу малотоксичних речовин (ЛД₅₀ при вагінальному введенні перевищує 2810 мг/кг, а при ректальному – 1000 мг/кг).

Доведена відсутність місцевоподразнювальної дії за умови однократного та повторних введень, а також гонадотоксичного впливу песаріїв «Клімедекс». Отримані результати свідчать про доцільність подальшого поглибленого вивчен-

ня песаріїв «Клімедекс» як перспективного комбінованого лікарського засобу для лікування

запальних захворювань жіночих статевих органів.

Література

1. Олина А. А. Эпидемиологические и микробиологические аспекты неспецифических инфекционных заболеваний влагалища / А. А. Олина // Уральский мед. журн. – 2008. – № 8. – С. 160–163.
2. Ширева Ю. В. Неспецифический аэробный вагинит – «новое» или «старое» заболевание? (обзор) / Ю. В. Ширева, Е. А. Сандакова, Т. И. Карпунина // Мед. альм. – 2010. – № 4. – С. 164–168.
3. Олина А. А. Инфекционно-воспалительные заболевания влагалища бактериально-грибковой этиологии в эксперименте / А. А. Олина, Н. П. Логинова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2007. – № 1 (17), ч. 1. – С. 487–488.
4. Патент 61038 України на корисну модель, МПК А 61 К 9/02, А 61 К 31/00, А 61 К 36/72, А 61 Р 15/02. Засіб у формі песаріїв для лікування інфекційно-запальних гінекологічних захворювань / Степанова К. О., Должи-

кова О. В., Малоштан Л. М., Левачкова Ю. В., Чушенко В. М., Ярних Т. Г.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № u 2010 13780; заявл. 19.11.2010; опубл. 11.07.2011, Бюл. № 13.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / под. ред. О. В. Стефанов. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
6. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К. К. Сидоров // Токсикология новых промышленных химических веществ. – 1973. – № 13. – С. 47–57.
7. Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів : метод. рек. – К., 2007. – 54 с.
8. Кабак Я. М. Практикум по эндокринологии. Основные методы экспериментально-эндокринологических исследований / Я. М. Кабак. – М. : Изд-во МГУ, 1968. – 276 с.

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ НОВЫХ ПЕССАРИЕВ «КЛИМЕДЕКС»

Е. А. Степанова

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: в статье изучено новые пессарии «Климедекс» для лечения вагинитов. Комплекс проведенных токсикологических исследований позволил установить, что пессарии «Климедекс» по общепринятой классификации К. К. Сидорова относятся к IV классу токсичности, не проявляют местнораздражающего действия и токсического влияния на функциональное состояние яичников.

Ключевые слова: токсикологические исследования, пессарии, острая токсичность, местнораздражающее действие, эстральный цикл.

STUDY OF THE SAFETY OF NEW PESSARIES «KLIMEDEKS»

К. О. Stepanova

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: the pharmacological properties of new pessaries for treating vaginitis tentatively called «Klimedeks» have been studied in the article. The complex of toxicological studies has revealed that according to generally accepted K. K. Sidorov's classification pessaries «Klimedeks» belong to class IV toxicity, do not show irritation action and toxic effects on the functional state of the ovaries.

Key words: toxicological studies, pessaries, acute toxicity, irritation action, estrous cycle.

Отримано 14.05.2014