ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТУ ГЕКСІЯ

Ключові слова: бактеріальний вагіноз, хлоргексидин, Гексія, гостра токсичність

Захворювання сечостатевої системи, спричинені патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами, які призводять до дисбіозу сечостатевих органів, залишаються актуальною проблемою дерматовенерології, гінекології та урології. Значною мірою вони пов'язані з певними труднощами діагностики, резистентністю до лікування, надзвичайно високою поширеністю і можливістю розвитку тяжких ускладнень, особливо тих, які впливають на репродуктивну функцію людини. Бактеріальний вагіноз (БВ) є найпоширенішою формою вагінальних порушень у жінок репродуктивного віку. Його патогенез остаточно нез'ясований, методи лікування недосконалі, а захворюваність неухильно зростає. Статистичні дані різних авторів свідчать, що 40–50% всіх випадків появи або зміни вагінальних виділень зумовлені БВ, при цьому від 25 до 50% жінок на сьогодні страждають на це захворювання [1, 2].

Успішне лікування БВ залежить від правильного та своєчасного встановлення діагнозу і проведення патогенетично обґрунтованої терапії. Мета лікування БВ – пригнічення надмірного росту умовно-патогенних мікроорганізмів і відновлення нормальної мікрофлори піхви. Терапія БВ залишається непростим завданням через часті рецидиви захворювання і низьку ефективність низки препаратів. Першим етапом під час лікування БВ є проведення місцевої антибактеріальної терапії для елімінації патогенної мікрофлори, для чого широко використовують хлоргексидин, метронідазол, кліндаміцин тощо. Другий етап – відновлення нормального мікробіоценозу піхви (застосування пробіотиків, імуноткорекція, відновлення рН піхви, усунення тригерних факторів розвитку БВ).

Хлоргексидин використовують у медичній практиці як ефективний антисептичний засіб із широким спектром дії, який впливає на грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* і *Treponema pallidum*, *Chlamydia* spp., *Ureplasma* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides fragilis* [3]. У разі лікування гінекологічних захворювань хлоргексидином функціональна активність нормальної мікрофлори піхви, зокрема лактобацил, не знижується [4]. Окрім того, він зберігає свою ефективність (хоча і дещо знижену) у присутності таких біологічно активних середовищ як кров і гній, а також при зміні рН середовища [5]. Найбільш виражену дію препарати хлоргексидину виявляють при бактеріальних і кандидозних ураженнях, а також інфекціях, спричинених змішаною умовно-патогенною мікрофлорою [6].

У разі інтравагінального застосування хлоргексидин практично не всмоктується і не виявляє системного впливу. Механізм дії цієї речовини пов'язаний із тим, що під час дисоціації солей хлоргексидину звільняються катіони, здатні зв'язуватися з негативно зарядженими оболонками бактерій. Навіть у низьких концентраціях хлор-

гексидин порушує осмотичну рівновагу і призводить до лізису бактеріальних клітин [7]. Під час використання вагінальних супозиторіїв із вмістом хлоргексидину диглюконату 16 мг у піхві створюється 0,5%-ва його концентрація, чого цілком достатньо для бактерицидної дії [8].

На фармацевтичному ринку України хлоргексидин у вигляді песаріїв або вагінальних супозиторіїв представлений декількома препаратами як закордонного, так і українського виробництва, проте їхня вартість достатньо висока. У зв'язку з цим актуальним є розроблення конкурентоспроможних та доступних лікарських засобів, одним з яких є Гексія (песарії, які містять 16 мг хлоргексидину диглюконату). Успішне розроблення та впровадження нових препаратів потребує ретельних доклінічних токсикологічних досліджень. Тому **метою** нашої роботи було з'ясувати безпечність застосування препарату Гексія в експериментах на тваринах.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження токсикологічних характеристик препарату Гексія (ТОВ «Фармацевтичний завод "Біофарма"», Україна, м. Біла Церква, песарії по 16 мг хлоргексидину диглюконату) виконано згідно з Наказом МОЗ України № 944 від 14. 12. 2009 р. «Про погодження матеріалів Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [9].

Гостру токсичність препарату Гексія визначали на 40 білих статевозрілих самцях щурів масою 170–230 г і 20 білих статевозрілих самицях мишей масою 17–23 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Після попереднього 10-денного карантину експериментальних щурів та мишей методом рандомізації розподіляли на такі групи: перша – самиці щурів, яким щогодини упродовж 12 год інтравагінально вводили препарат Гексія у дозі 70 мг/кг ($n = 10$); друга – контроль, самиці щурів, яким за тією самою схемою вводили основу песаріїв щільністю 1,125 г/см³ та загальною кількістю $12 \cdot 0,2 \text{ мл} = 2,4 \text{ мл}$ ($n = 10$); третя – самиці щурів та мишей, яким одноразово внутрішньошлунково вводили досліджуваний препарат у дозі 145 мг/кг ($n = 20$, по 10 тварин кожного виду); четверта – контроль, самиці щурів та мишей, яким одноразово внутрішньошлунково вводили відповідні об'єми основи песаріїв ($n = 20$, по 10 тварин кожного виду).

Оскільки раніше проведені на щурах дослідження гострої токсичності хлоргексидину (в дозах до 1 400 мг/кг) не виявили ознак токсичної дії, а також не призводили до загибелі лабораторних тварин [10], препарат Гексія застосовували в максимальній дозі, доступній для інтравагінального шляху введення – 70 мг/кг. Із цією метою готували маленькі свічки (методом виливання у форми) діаметром 2,5 мм та завдовжки 10 мм (об'ємом 0,2 см³). Враховуючи масу вихідних песаріїв (3,1 г), вміст у них хлоргексидину диглюконату (16 мг) та щільність поліетиленоксидної основи (1,125 г/см³), вміст діючої речовини у маленьких песаріях становив 1,16 мг хлоргексидину. Свічки вводили щогодини впродовж 12 год. Отже, загальна кількість хлоргексидину диглюконату в перерахунку на одну тварину становила $1,16 \text{ мг} \cdot 12 = 14 \text{ мг}$, або 70 мг/кг. Контрольній групі щурів інтравагінально вводили відповідні об'єми основи песаріїв (поліетиленоксид 1500 + поліетиленоксид 400).

Із метою вивчення гострої токсичності лікарських засобів для місцевого застосування за такого шляху введення, який забезпечував би системну дію, препарат Гексія вводили одноразово внутрішньошлунково в дозі 145 мг/кг за допомогою спеціального зонду у максимально допустимих для цього шляху введення об'ємах: мишам – 0,5 мл, щурам – 5 мл [11].

Протягом 14 діб після введення речовин здійснювали щоденні спостереження за тваринами для реєстрації наявності клінічних ознак токсичності та загибелі. Дію досліджуваного препарату оцінювали за такими показниками: а) летальність (терміни загибелі тварин у кожній групі, щодня); б) оцінка виявів токсичності (щодня), включаючи оцінку зовнішнього вигляду області введення (наявність подразнення, гіперемії, набряку); в) динаміка зміни маси тіла (у вихідному стані, на 4, 7 і 14 добу після нанесення); г) макроскопія внутрішніх органів, масові коефіцієнти внутрішніх органів у щурів (14 доба) [11, 12].

Після закінчення дослідження на 14 добу експерименту тварин піддавали евтаназії методом цервікальної дислокації.

Статистичну обробку результатів робили за допомогою пакету прикладних програм STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA), використовуючи t-критерій Стьюдента [13]. Значущими вважали відмінності між контролем і дослідом за $p < 0,05$.

Результати дослідження та обговорення

Результати досліджень свідчать, що як після нашкірного нанесення, так і після внутрішньошлункового введення препарату Гексія ознак інтоксикації у щурів та мишей виявлено не було: тварини були охайними, активними, реагували на світлові та звукові подразники, процеси сечовиділення та дефекації були в нормі, порушень дихання та судом не спостерігали, рефлекторну збудливість було збережено. Споживання води та їжі у дослідних групах не відрізнялось від споживання у контрольних. Загибелі тварин протягом всього періоду спостереження не зареєстровано (табл. 1).

Т а б л и ц я 1

Показники летальності тварин (на 14 добу) після інтравагінального (і/в) або внутрішньошлункового (в/ш) застосування препарату Гексія

Препарат, шлях введення	Доза речовини, мг/кг	Кількість загинув тварин/загальна кількість тварин у групі	
		щур	миша
Гексія, і/в	70	0/10	—
Основа, і/в	—	0/10	—
Гексія, в/ш	145	0/10	0/10
Основа, в/ш	—	0/10	0/10

З метою оцінки токсичної дії препарату Гексія на організм дослідних тварин досліджували зміни маси тіла. Встановлено, що динаміка маси тіла щурів та мишей, які отримували досліджуваний препарат, перебувала в межах фізіологічної норми і не відрізнялася за показниками від контрольних груп експериментальних тварин (табл. 2).

Т а б л и ц я 2

Динаміка маси тіла тварин (г) після інтравагінального (і/в) або внутрішньошлункового (в/ш) застосування препарату Гексія ($M \pm m$)

Умови дослід	Термін спостереження			
	1 доба	4 доба	7 доба	14 доба
Щури				
Гексія, і/в	184,6 ± 1,73	188,1 ± 1,85	192,0 ± 1,69	197,7 ± 1,81
Основа, і/в	187,2 ± 1,74	190,5 ± 1,71	193,5 ± 1,81	199,2 ± 1,75
Гексія, в/ш	183,6 ± 2,19	186,7 ± 1,98	190,8 ± 2,06	196,6 ± 1,90
Основа, в/ш	183,0 ± 2,18	186,0 ± 2,28	189,6 ± 2,53	195,3 ± 2,26
Миші				
Гексія, в/ш	18,5 ± 0,31	18,9 ± 0,23	19,4 ± 0,27	20,1 ± 0,28
Основа, в/ш	18,8 ± 0,29	19,2 ± 0,20	19,8 ± 0,20	20,5 ± 0,17

Під час патоморфологічних досліджень встановлено, що щури дослідних та контрольних груп були нормальної вгодованості, шерсть охайна, блискуча, щільно прилягає до тіла, без виразок, ділянок облісіння. Регіонарні лімфатичні вузли на дотик не збільшені. З очей, носа та інших природних отворів виділень не виявлено, шерсть і шкіра в ділянці ануса і піхви чиста, без ознак подразнення. Слизова ротової порожнини блискуча, чиста, без виразок і нальоту, язик не обкладений. Під час розтину не виявлено патологічних змін внутрішніх органів грудної та черевної порожнини, а також головного мозку і його оболонок. Усі органи мають правильне анатомічне розташування, звичайний колір і консистенцію. У паренхіматозних органах не виявлено ознак запалення, порушень кровообігу і трофіки. Слизова оболонка шлунка, а також кишечника на момент огляду була звичайного кольору з властивою рельєфністю без ознак набряків, ерозій і запалення.

Відносна маса внутрішніх органів самиць щурів, яким вводили досліджуваний препарат і основу песаріїв, статистично не відрізнялася за показниками між групами (табл. 3).

Т а б л и ц я 3

Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів після інтравагінального або внутрішньошлункового застосування препарату Гексія ($M \pm m$)

Орган		Умови досліджу			
		інтравагінальне введення		внутрішньошлункове введення	
		Гексія	основа	Гексія	основа
Головний мозок		0,600 ± 0,016	0,589 ± 0,015	0,588 ± 0,024	0,603 ± 0,016
Серце		0,366 ± 0,004	0,384 ± 0,012	0,361 ± 0,011	0,372 ± 0,010
Легені		0,708 ± 0,022	0,696 ± 0,018	0,692 ± 0,043	0,713 ± 0,029
Печінка		3,44 ± 0,082	3,20 ± 0,129	3,09 ± 0,107	3,14 ± 0,144
Селезінка		0,471 ± 0,024	0,449 ± 0,027	0,444 ± 0,030	0,461 ± 0,033
Нирки	права	0,380 ± 0,009	0,388 ± 0,010	0,387 ± 0,010	0,385 ± 0,012
	ліва	0,378 ± 0,009	0,386 ± 0,008	0,386 ± 0,010	0,382 ± 0,012

Таким чином, інтравагінальне застосування (у дозі 70 мг/кг) і одноразове внутрішньошлункове введення (у дозі 145 мг/кг) досліджуваного препарату Гексія у вигляді песаріїв, що містять в своєму складі хлоргексидину диглюконат, не призводять до загибелі щурів і мишей, не впливає на приріст маси тіла, інтегративні показники функціонального стану лабораторних тварин, а також відносну масу внутрішніх органів, що свідчить про відсутність значимої токсичної дії цього лікарського засобу.

В и с н о в о к

Результати досліджень вказують на те, що LD_{50} для препарату Гексія за інтравагінального застосування щурам та внутрішньошлункового введення щурам і мишам знаходиться за межами 500 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин препарат Гексія належить до IV класу токсичності – малотоксичні речовини.

Список використаної літератури

1. *Leppäluoto P. A.* Bacterial vaginosis: what is physiological in vaginal bacteriology? An update and opinion // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2011. – V. 90, N 12. – P. 1302–1306.
2. *Ефимов Б. А., Тютюнник В. Л.* Бактериальный вагиноз: современный взгляд на проблему // *РМЖ.* – 2008. – Т. 16, № 1. – С. 18.
3. *Тетелютина Ф. К., Василькова Е. В., Шиляева Е. Г., Сушенцова Т. В.* Предгравидарная подготовка при неспецифических воспалительных процессах наружных гениталий // *Акушерство и гинекология.* – 2011. – № 6. – С. 103–107.
4. *Додова Е. Г., Аполихина И. А., Горбунова Е. А., Бородина Е. А.* Комплексное лечение воспалительных заболеваний нижних отделов генитального тракта у женщин // Там же. – 2015. – № 6. – С. 129–135.
5. *Коваленко І. М.* Дослідження антисептичних властивостей супозиторіїв десептол, гексикон // *Biomedical and biosocial anthropology.* – 2014. – N 22. – P. 113–117.
6. *Karpicki T. M., Szkaradkiewicz A. K.* Chlorhexidine – pharmaco-biological activity and application // *Europ. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* - 2015. - N 19. – P. 1321–1326.
7. *Дружинина О. С., Скоринкин А. И.* Исследование механизмов действия хлоргексидина и димефосфона на водный транспорт в эритроцитах // *Структура и динамика молекулярных систем (электронный журн.).* – 2009. - № 7, А. – С. 53–64.
8. *Касихина Е. И.* Хлоргексидин: обзор лечебных возможностей и потенциальных клинических показаний в практике акушера-гинеколога и венеролога // *Акушерство и гинекология.* – 2013. – № 4. – С. 4–9.
9. Наказ МОЗ України № 944 від 14. 12. 2009 р. «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів».
10. Product Monograph Pr Peridex® Oral Rinse (Chlorhexidine Gluconate 0.12% Antigingivitis Oral Rinse). – 3M ESPE, 2008. – 1 p.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. *О. В. Стефанова.* – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
13. *Реброва О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.

Надійшла до редакції 8 грудня 2016 року.

В. Л. Карбовский¹, И. А. Шевчук¹, О. В. Куркина¹, Т. Е. Маковская²

¹ ООО «Фармацевтический завод “Биофарма”», г. Белая Церковь

² Главный военный медицинский госпиталь, г. Киев

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ГЕКСИЯ

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, хлоргексидин, Гексия, острая токсичность

А Н Н О Т А Ц И Я

Заболевания мочеполовой системы, вызванные патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, которые приводят к дисбиозу мочеполовых органов, остаются актуальной проблемой дерматовенерологии, гинекологии и урологии, несмотря на значительное количество доступных и появление новых средств лечения.

Целью работы было выяснить безопасность применения препарата Гексия в экспериментах на животных.

Острую токсичность препарата Гексия определяли на 20 половозрелых самках лабораторных крыс в условиях ежечасного в течение 12 часов интравагинального введения в дозе 70 мг/кг, а также на 20 самках лабораторных крыс и 20 самках лабораторных мышей при однократном внутрижелудочном введении в дозе 145 мг/кг. Оценку воздействия исследуемого препарата проводили по следующим показателям: а) летальность (сроки гибели животных в каждой группе, ежедневно); б) оценка проявлений токсичности (ежедневно), включая оценку внешнего вида области введения (наличие раздражения, гиперемии, отека); в) динамика изменения массы тела (в исходном состоянии, на 4, 7 и 14 сутки после нанесения); г) макроскопия внутренних органов, массовые коэффициенты внутренних органов у крыс (14 сутки).

Установлено, что интравагинальное применение и однократное внутрижелудочное введение препарата Гексия в виде пессариев, которые содержат в своем составе хлоргексидин биглюконат, не приводят к гибели крыс и мышей, не влияют на прирост массы тела, интегративные показатели функционального состояния лабораторных животных, а также относительную массу внутренних органов, что свидетельствует об отсутствии значимого токсического действия этого лекарственного средства. Таким образом, результаты проведенных исследований указывают на то, что ЛД₅₀ для препарата Гексия при интравагинальном применении крысам и внутрижелудочном введении крысам и мышам находится за пределами 500 мг/кг. Согласно токсикологической классификации веществ препарат Гексия относится к IV классу токсичности – малотоксичные вещества.

V. L. Karbovskyy¹, I. A. Shevchuk¹, O. V. Kurkina¹, T. Ye. Makovska²

¹ LLC «Pharmaceutical plant “Biofarma”», Bila Tserkva

² Main Military Medical Hospital, Kyiv

RESEARCH OF ACUTE TOXICITY OF THE DRUG HEXIA

Key words: bacterial vaginosis, chlorhexidine, Hexia, acute toxicity

ABSTRACT

Diseases of the genitourinary system caused by pathogenic and potentially pathogenic microorganisms, which result into disbiosis of urinary organs, remain an urgent problem of dermatovenereology, gynecology and urology, despite the fact that there is a significant number of available and new medicines to treat them.

The aim of the work was to determine the safety of the preparation Hexia within experiments on animals.

The acute toxicity of Hexia has been determined on 20 adult female laboratory rats under the conditions of hourly intravaginal administration of the preparation with a dose of 70 mg/kg during 12 hours, as well as on 20 female laboratory rats and 20 female laboratory mice with a single intragastric administration in a dose of 145 mg/kg. The assessment of the impact of the preparation studied was performed on the basis of the following parameters: a) mortality (terms of death of animals in each group, on a daily basis); b) assessment of toxicity development (on a daily basis), including an assessment of the visual environment of the area of injection (the presence of irritation, redness, edema); c) dynamics of body weight changes (in the initial state, on the 4th, 7th

and 14th day after application); d) macroscopy of internal organs, mass coefficients of internal organs within rats (on the 14th day).

It has been found that intravaginal application and a single intragastric administration of the preparation Hexia in the form of pessaries, which contain chlorhexidine digluconate, does not result into death of rats and mice, brings no effect on body weight gain, integrative parameters of the functional state of laboratory animals as well as on the relative mass of internal organs, which implies the absence of significant toxic effect of the preparation. Thus, the results of the studies conducted indicate that the median lethal dose for Hexia in case of intravaginal application to rats or intragastric administration to rats and mice is beyond the rate of 500 mg/kg. According to the toxicological classification of substances Hexia belongs to the IV class of toxicity – low toxic substances.

Електронна адреса для листування з авторами: publication@biofarma.ua