

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ДЕКАМЕТОКСИНУ НА ГЕНЕРАТИВНУ ФУНКЦІЮ БІЛИХ ЩУРІВ

Призиглей Г. В., Грушка О. І.

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна*

***Анотація.** Проведеними експериментальними дослідженнями встановлено, що декаметоксин при інгаляційному та пероральному шляхах надходження не виявляє гонадотоксичної та ембріотоксичної дії і не чинить негативного впливу на генеративну функцію щурів.*

***Ключові слова:** декаметоксин, щури, генеративна функція*

Вступ. Декаметоксин – активний фармацевтичний інгредієнт анти-септичних та дезінфікуючих лікарських препаратів. В Україні на основі субстанції декаметоксину зареєстровано лікарські препарати декасан, горостен, аурісан (аурідексан), окодек, антифунгін, генідек, амосепт (паммосепт®), палісепт, септефрил, риносепт [1]. В умовах виробництва декаметоксин поступає в повітря робочої зони і може через інгаляційний, пероральний і перкутанний шляхи надходження негативно впливати на організм працюючих.

Метою роботи стало вивчення стану генеративної функції білих щурів обох статей при пероральному та інгаляційному шляхах надходження декаметоксину до організму для його гігієнічного регламентування у повітрі робочої зони.

Матеріали і методи досліджень. Вплив декаметоксину на репродуктивну функцію досліджували відповідно до методичних рекомендацій [2].

Експерименти виконувались на білих нелінійних щурах віком 3–3,5 місяці і масою тіла 180–230 г, які утримувались в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького згідно з правилами «належної лабораторної практики» (GLP). Під час проведення досліджень на тваринах дотримувались принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» [3] та «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [4]. Експериментальні тварини

отримували стандартний гранульований корм з необмеженим доступом до питної води. Для визначення досліджуваних параметрів брали кількість тварин, яка забезпечувала статистично достовірні результати. Експериментальні групи тварин склалися з 10 особин кожна [5].

Гонадотоксичний ефект декаметоксину досліджували на 30 білих безпородних щурах самцях, які отримували речовину шляхом внутрішньошлункового затрусення в дозах 2,5 мг/кг (1 дослідна група) і 0,5 мг/кг (2 дослідна група), що становило відповідно 1/50 DL_{50} і 1/250 DL_{50} діючої речовини (DL_{50} для білих щурів-самців складає 120 мг/кг). Контрольним тваринам вводили розчинник – фізіологічний розчин.

Для оцінки стану статевих залоз використовували макроскопічні дослідження сім'яників (зовнішній огляд, вага, розміри), функціональні та морфологічні показники. Оцінка функціональних показників передбачала визначення: кількості сперматозоїдів, патологічних форм і мертвих сперматозоїдів, часу рухливості сперматозоїдів, осмотичної та кислотної резистентності.

Експериментальні дослідження ембріотоксичного ефекту проводились на нелінійних самках білих щурів. Попередні обстеження вагінальних мазків дозволили відібрати 20 тварин зі стабільним естральним циклом. Цих самиць у фазі проеструсу та еструсу для спарування підсаджували до самців в вечірній період у співвідношенні 2:1. Першим днем вагітності вважали день появи сперматозоїдів у вагінальному мазку [6 (12)].

Методом «сліпого ранжування» тварини були поділені на три групи по 10 особин в кожній: одна дослідна та контроль. Дослідним тваринам інтраназально вводили в один і той же час доби упродовж 20 днів розчин декаметоксину в дозі, що відповідала концентрації 5,0 мг/м³. Контрольна група інтраназально отримувала стерильний ізотонічний 0,9% розчин NaCl. Тварин евантазували на 20-й день вагітності методом вертебральної дислокації хребців. При розтині проводили оцінку та підрахунок жовтих тіл, живих плодів та плацент. Визначали рівень доімплантаційної (1–13 доба) та постімплантаційної (з 14 по 20 добу) загибелі плодів та наступні показники: кількість жовтих тіл вагітності, кількість живих і мертвих плодів, кількість місць резорбції та імплантації, стан плаценти [7(13)]. Ембріони та плаценти зважували, вимірювали їх краніо-каудальну відстань.

Отримані під час експериментів параметри порівнювали з результатами контрольних груп. Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету програми Microsoft Excel. Перевірку на відповідність гаусівському розподілу проводили за Shapiro-Wilk Test; середні порівнювали в тесті ANOVA з поправкою Тьюки; медіани порівнювали в тесті Крускала-Уоліса з поправкою Бонфероні.

Результати та їх обговорення. При дослідженні гонадотоксичного ефекту декаметоксину абсолютна маса, а також розміри сім'яників щурів усіх дослідних груп не виходили за межі контрольних величин. Однак відносна вага сім'яників в піддослідних групах достовірно збільшилась у середньому на 85 % (табл. 1).

Таблиця 1

Макрометричні показники білих щурів під впливом декаметоксину

Показники	Контроль	Експериментальні групи, дози	
		1/50 DL ₅₀ (2,5 мг/кг)	1/250 DL ₅₀ (0,5 мг/кг)
Маса тварини, г	285 ± 23,8	280 ± 20,6	275 ± 31,0
Абсолютна маса сім'яників, г	5,6 ± 0,24	5,5 ± 0,53	5,5 ± 0,35
Відносна маса сім'яників, %	1,0 ± 0,05	1,97 ± 0,27*	1,9 ± 0,43*
Довжина сім'яників, мм	21,0 ± 1,07	22,0 ± 1,35	21,0 ± 0,83
Ширина сім'яників, мм	13,0 ± 1,23	13,0 ± 1,00	12,0 ± 0,88

* різниця з контролем

Загальний час рухової активності статевих клітин після введення декаметоксину статистично не змінювався у дослідних групах порівняно із контрольною групою. Їхня життєздатність, що визначається за показниками осмотичної та кислотної резистентності, також не зазнала достовірних змін (табл. 2).

Таблиця 2

Функціональні показники сперматогенезу білих щурів під впливом декаметоксину

Показники	Контроль	Експериментальні групи, дози	
		1/50 DL ₅₀ (2,5 мг/кг)	1/250 DL ₅₀ (0,5 мг/кг)
Кислотна резистентність, рН	4,0 ± 0,37	3,75 ± 0,5	4,0 ± 0,67
Осмотична резистентність, % р-нів NaCl	2,8 ± 0,3	2,60 ± 0,3	2,8 ± 0,17
Кількість сперматозоїдів, млн.	56,0 ± 7,4	53,52 ± 3,9	55,60 ± 3,6
Рухливість сперматозоїдів, хв.	83,8 ± 4,2	82,7 ± 2,1	78,6 ± 1,0
Кількість мертвих сперматозоїдів, %	16,5 ± 2,9	15,22 ± 1,6	14,64 ± 2,0
Патологічні форми (на 200 сперматозоїдів)	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,2

Результати дослідження епідидимальної суспензії показали, що декаметоксин не викликає статистично значимих змін у продукції статевих

клітин сім'яниками. Мікроскопічний аналіз морфологічних особливостей сперматозоїдів виявив поряд з нормальними клітинами поодинокі патологічні форми, які з однаковою частотою зустрічались у шурів дослідної та контрольних груп.

При дослідженні ембріотоксичного ефекту декаметоксину встановлено, що щоденний вплив препарату не викликав у тварин клінічної картини отруєння. Стан і поведінка піддослідних тварин не відрізнялися від контрольної групи. Зареєстрований одиничний випадок абортів на 8 день отримання препарату.

Зважування вагітних самиць кожні 10 днів експерименту показало, що декаметоксин не впливає на динаміку маси тіла вагітних самиць. Приріст ваги на 10 добу становив $\Delta m = (8,1 \pm 0,9)$ г та наближався до показника контрольної групи $\Delta m = (10,0 \pm 1,8)$ г. На 20-й день вагітності приріст мас самиць дослідних груп наблизився до показників інтактних шурів: $\Delta m = (14,4 \pm 2,4)$ при впливі декаметоксину в концентрації $5,0 \text{ мг/м}^3$, $\Delta m = (15,8 \pm 3,5)$ г – контроль. Вплив декаметоксину на показники ембріогенезу самок білих шурів за умови інгаляційного впливу наведений в таблиці 3.

Таблиця 3

Вплив декаметоксину при інгаляційному шляху надходження на показники ембріогенезу білих шурів

Показники	Експериментальні групи	
	Контроль	Концентрація $5,0 \text{ мг/м}^3$
Кількість жовтих тіл	13.3 (11.2;15.4)	12.2 (8.9;15.5)
Кількість живих плодів	13 (9.5;13.5)	10 (9;11)
Кількість місць імплантації	13 (9.5;13.5)	10 (9;11)
Кількість мертвих плодів (всього на групу)	0	0
Кількість місць резорбції (всього на групу)	0 (0;0.5)	0 (0;0)
Доімплантаційна смертність, %	13.3 (6.67;24.85)	10 (0;25)
Післяімплантаційна смертність, %	0 (0;7.14)	0 (0;0)
Загальна ембріональна смертність, %	13.3 (6.67;29.39)	10 (0;25)

За даними, що наведено у таблиці 3, в дослідних групах не зафіксовано суттєвих змін індексу загальної ембріональної смертності та показника внутрішньоутробної виживаності в порівнянні з контролем. Ці зміни є статистично недостовірні і мають випадковий характер. В якості незалежної мінливої за одиницю спостереження приймали дані, які були отримані при розтині однієї самки, та середнє значення показника для одного посліду.

Макроскопічний огляд плодів та плацент тварин піддослідних та контрольної груп не виявив жодних вад та відхилень від фізіологічної норми. Всі частини тіла плодів були добре розвинені, шкірні покриви не мали пігментації та зайвих включень. Вплив декаметоксину в концентрації 5,0 мг/м³ викликав незначне, статистично недостовірне, зменшення середніх краніо-каудальних розмірів плодів в порівнянні із контрольною групою. Ймовірно цей факт можна розглядати лише як індивідуальну особливість у даної групи самиць, оскільки решта з вивчених показників не мали достовірних відмінностей від таких у інтактних тварин. Також відмічено достовірне зниження маси плаценти відносно контролю, в той час маси плодів істотно не зменшувались, однак це позначилося на зниженні плодово-плацентарного індексу (табл. 4).

Таблиця 4

Результати морфометричного дослідження плодів після введення декаметоксину

Показники	Експериментальні групи	
	Контрольна	Концентрація 5,0 мг/м ³
Кількість плодів на одну самку	13 (9.5;13.5)	10 (9;11)
Маса плоду, г	3.10 (2.97;3.34)	3.04 (2.88; 3.16)
Розмір плоду, мм	34 (32; 35)	33 (32; 35)
Маса плаценти, г	0.46 (0.42; 0.49)	0.39 (0.35; 0.46)*
Розмір плаценти мм	14 (13;15)	13 (12;14)
Плодово-плацентарний індекс	0.14 (0.12;0.16)	0.13 (0.11;0.14)*

Примітка. * – різниця достовірна відносно групи контролю ($p < 0,05$)

Отримані результати дозволяють стверджувати, що вплив декаметоксину в концентрації 5,0 мг/м³ на вагітних самиць не викликав ембріотоксичного ефекту.

Висновок. Проведеними дослідженнями встановлено, що декаметоксин при інгаляційному та пероральному шляхах надходження не чинить негативного впливу на репродуктивну функцію щурів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Палій В. Г., Назарчук О. А., Палій Д. В., Яковець К. І. Обґрунтування медичного застосування антимікробних засобів, що містять декаметоксин. *Буковинський медичний вісник*. 2017. 21 (1/81). С. 100–105. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2017_21_1_23.

2. Методи експериментального дослідження щодо встановлення порогів дії промислових отрут на генеративну функцію з метою гігієнічного нормування: МУ № 1741-77 [Затв. МОЗ СРСР 10.07.77]. М., – 1977. – 20 с.

3. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) – Strasbourg, 18.III.1986. *European Treaty Series № 123*. URL: <http://www.conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm> (accessed on 11 April 2005).

4. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах: Наказ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 № 249. *Офіційний вісник України*. 2012 р. № 24. с. 82.

5. Западнюк М. П. Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторні тварини: розведення, утримання, використання в експерименті. Київ: Вища школа, 1983. 383 с.

6. Вивчення ембріотоксичної дії фармакологічних речовин та вплив їх на репродуктивну функцію: метод. вказ. / за ред. А. П. Дибан. М.: 1986. 24 с.

7. Експериментальне вивчення ембріотоксичної дії лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ, 2000. 40 с.

REFERENCES

1. Paliy V. G., Nazarchuk O. A., Paliy D. V., Yakovets' K. I. Justification of the expediency of medical use of antimicrobial drugs containing decamethoxine. *Bukovyns'kyu medychnyy visnyk*. 2017;21 (1/81):100–105. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2017_21_1_23.

2. Metody eksperymentalnoho doslidzhennia shchodo vstanovlennia porohiv dii promyslovykh otrut na heneratyvnu funktsiiu z metoiu hihiiienichnoho normuvannia: MU № 1741-77 [Zatv. MOZ SRSR 10.07.77]. М., – 1977. – 20 s. [in Ukrainian].

3. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC). Strasbourg, 18.03.1986. *European Treaty Series № 123*. URL: <http://www.conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>

4. Poriadok provedennia naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh: Nakaz Ministerstva osvity, nauky, molodi ta sportu Ukrainy vid 01.03.2012 № 249. *Ofitsiynyi visnyk Ukrainy*. 2012 r. № 24. s. 82. [in Ukrainian].

5. Zapadnyuk M. P. Zapadnyuk V. Y., Zakharyya E. A. Laboratory animals: breeding, maintenance, use in experiments. Kyiv: Higher School, 1983. 383 p. [in Ukrainian].

6. Study of the embryotoxic effect of pharmacological substances and their influence on reproductive function: method. order / edited by A. P. Dyban M., 1986. 24 p. [in Ukrainian].

7. Experimental study of the embryotoxic effect of drugs: methodical recommendations. Kyiv, 2000. 40 p. [in Ukrainian].

EXPERIMENTAL STUDY OF THE INFLUENCE OF DECAMETOXIN ON THE GENERATIVE FUNCTION OF WHITE RATS

Pryzhlei H. V., Hrushka O. I.

***Abstract.** The conducted experimental studies established that decamethoxine does not exhibit gonadotoxic and embryotoxic effects and does not have a negative effect on the generative function of rats when administered by inhalation and oral routes.*

***Key words:** decamethoxine, rats, generative function*

Призиглей Ганна. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2939-4595>,

+ 38 067 853 31 98, expertiza39@gmail.com.

Грушка Оксана. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1874-5281>