

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСНОВНИХ ПАРАМЕТРІВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ І СЕНСИБІЛІЗУВАЛЬНОЇ ДІЇ ЗАСОБУ “МІКОДАР”, ОДЕРЖАНОГО НА ОСНОВІ ЛІКАРСЬКОГО ГРИБА LENTINUS EDODES

© П.Д. Пашнєв¹, В.Ф. Шиліна², Л.О. Руда², В.П. Попович³, Н.О. Федоритенко³

Національний фармацевтичний університет¹, Харків

Український науковий гігієнічний центр²

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця³

Резюме: проведено токсикологічні дослідження із визначення гострої токсичності та сенсibilізувальної дії засобу “МІКОДАР”, одержаного на основі лікарського гриба *Lentinus edodes*.

Ключові слова: токсикологічні дослідження, гостра токсичність, подразнювальні властивості.

Вступ. Біомаса засобу “МІКОДАР”, одержаного на основі гриба Шіітаке, який вирощено біотехнологічним методом на основі штаму *Lentinus edodes*, пропонується для використання як біологічно активна добавка з імунопротекторними та імуномодулювальними властивостями.

Впровадження у фармацевтичну промисловість і народне господарство нового засобу вимагає всебічного вивчення його властивостей з метою встановлення ступеня ризику для здоров'я людини та навколишнього середовища.

У доступній нам літературі відсутні дані щодо токсичних властивостей лікарського гриба *Lentinus edodes*. Для вирішення питання щодо можливості використання засобу “МІКОДАР”, який розроблено на основі згаданої сировини, виникла потреба в проведенні досліджень із визначення його токсичної дії на організм теплокровних та класу небезпеки: визначення параметрів гострої токсичності при різних шляхах надходження до організму, виявлення наявності резорбтивно-токсичної та місцевопозражнявальної дії, наявності чи відсутності сенсibilізувальної дії.

Тому метою даної роботи було встановлення можливого ризику для здоров'я людини при вживанні засобу “МІКОДАР”.

Токсикологічні дослідження включали:

- визначення параметрів гострої токсичності засобу “МІКОДАР” при надходженні до організму теплокровних через шлунок та шкірні покриви;
- визначення подразнювальних властивостей засобу “МІКОДАР” при контакті зі шкірою та слизовими оболонками очей;
- виявлення можливої сенсibilізувальної дії.

Методи дослідження. Досліджуваний засіб “МІКОДАР” – сипкий порошок коричневого ко-

льору, без запаху, добре розчинний у воді, який отримують шляхом сублимаційного висушування і поміщають по 0,1 г у тверді желатинові капсули з кришечками.

Первинну уяву про характер біологічної дії будь-якої речовини може надати інформація, отримана в гострих дослідів на тваринах. Для факторів малої інтенсивності, яким і є досліджуваною об'єкт, це значно складніше. Визначити особливості біологічної дії у цьому випадку при відсутності параметрів гострої токсичності та епідеміологічних даних неможливо без спеціально запрограмованого значного ступеня агравації умов експерименту.

Для забезпечення більшої надійності при екстраполяції даних на людину досліди необхідно проводити на декількох видах тварин. Тому визначення параметрів гострої токсичності проводили на білих щурах, білих мишах і кролях. А визначення місцевої подразнювальної дії на шкіру проводили на щурах та кролях.

Усі нові засоби, що впроваджуються у виробництво та побут, окрім визначення параметрів гострої токсичності, підлягають оцінюванню з позиції можливої подразнювальної або ушкоджувальної дії на шкіру та розвитку контактного неалергічного дерматиту. Дослідження місцевої подразнювальної дії передусім вивченню їх резорбтивно-токсичної дії та небезпеки розвитку сенсibilізації при надходженні алергену в організм.

Експериментальні дослідження проведені відповідно до вимог “Токсикометрии токсических веществ, загрязняющих окружающую среду” та рекомендацій О.Г. Алексеевої, Л.А. Дуевої “Аллергия к промышленным химическим соединениям”.

Всього у дослідів було використано тварин: щурів – 56, мишей – 20, кролів – 19, морських

свинок – 19. Тварини, які були відібрані для експерименту, пройшли 14-денний карантин в умовах віварію при кімнатній температурі з відповідною вологістю повітря. Піддослідні і контрольні тварини утримувались на стандартному раціоні, що складався із концентрованого гранульованого комбікорму, овочів та трави.

Визначення параметрів гострої токсичності при одноразовому введенні засобу в шлунково-кишковий тракт проводили на білих щурах (самці та самиці) лінії Wistar масою 180-200 г та білих мишах масою 20-25 г. Тварин було розділено на групи по 8 щурів/10 мишей. Досліджували речовину у вигляді 10 % водного розчину вводили тваринам у шлунково-кишковий тракт за допомогою металевого зонда з додержанням техніки введення і врахуванням даних про кількість рідини, яку допустимо вводити тваринам залежно від виду та маси тіла. При визначенні гострої токсичності критеріями дії засобу були: розвиток клінічних ознак інтоксикації, летальність тварин. Після введення препарату за станом тварин спостерігали протягом 14 діб: проводили оцінку зовнішнього вигляду, загального стану тварин, поведінки, рухливості, маси тіла, кількості спожитого корму та випитої води.

Визначення шкірно-резорбтивної дії на шкіру проводили на білих щурах-самцях та кролях (самцях та самицях). Препарат у дозах 2500,0 та 4000,0 мг/кг (експозиція 4 год) в нативному вигляді (порошок, ледве зволожений та закріпленний марлевым бандажем) наносили одноразово на вистрижену ділянку шкіри тварин розміром 2 x 2 см (щури масою 200-240 г) та розміром 4 x 6 см (кролі масою 3000-3500 г). Термін спостереження за тваринами – 14 діб. Кількість експериментальних тварин складала: щурів – 8, кролів – 8. Критерієм оцінки ефекту були: час появи та ступінь виразності проявів інтоксикації, наявність/відсутність летальних випадків.

Визначення місцевої подразнювальної дії на шкіру проводили на білих щурах-самицях масою 200-240 г та кролях (самцях та самицях), масою 3000-3500 г). Тваринам на вистрижені від шерсті ділянки шкіри (щурам – розміром 2 x 2 см) та кролям (розміром 4 x 6 см) одноразово наносили нативний препарат у зволоженому вигляді з розрахунку 20 мг/см². Кількість експериментальних тварин складала: щурів – 8, кролів – 8. Термін спостереження за тваринами – 14 діб. Критеріями подразнюючого ефекту слугувала наявність візуальних змін шкіри: поява еритеми, набряку, утворення кірки, тріщин, виразок та інших клінічних ознак пошкодження шкіри.

Визначення подразнювальної дії на слизові оболонки очей проводили на чотирьох кролях масою 3000-3500 г, яким в кон'юнктивальний

мішок лівого ока одноразово вносили 50,0 мг препарату у нативному вигляді. Реакцію слизових оболонок спостерігали через 15 хв, 4 і 24 год та в подальшому щоденно протягом 14 днів. Дію препарату на слизову оболонку визначали за подразненням слизових оболонок, сльозотечі, гіперемії, утворенням виразок та ерозій, наявністю сукровиці/гнійного виділення із ока, звертали увагу на стан повік.

Визначення наявності сенсibiliзуючої дії проводили відповідно до рекомендацій О.Г. Алексеевої, Л.О. Дуєвої "Аллергия к промышленным химическим соединениям". У досліджах було використано 16 морських свинок (8-контрольні тварини, 8-піддослідні) масою 300-350 г, яким внутрішньошкірно в зовнішню поверхню вуха туберкуліновим шприцем одноразово вводили 200,0 мкг препарату (контроль – 200 мкл фізіологічного розчину). Через 10 діб піддослідним тваринам на вистрижені ділянки шкіри розміром 2,5 x 2,5 см наносили препарат у вигляді 10 % водного розчину (контрольним тваринам – фізіологічний розчин) 1 раз на день протягом 7 діб. Тестування проводили нативним препаратом на 10 та 20 добу шляхом втирання на чисті ділянки шкіри піддослідних та контрольних тварин. Спостереження за тваринами проводили на 1-шу, 6-ту та 24-ту години. Реакцію шкіри оцінювали візуально за 5-бальною уніфікованою шкалою. Остаточний висновок робили за результатами специфічних алергодіагностичних методів: реакції специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ) та реакції дегрануляції опасистих клітин за Шварцем (РДТК).

Результати й обговорення. *Визначення основних параметрів гострої токсичності при одноразовому пероральному введенні засобу Мікодар.* Враховуючи склад та призначення препарату, дослідним тваринам – щурам (самці та самиці) та мишам вводили 10 % водний розчин засобу в кількостях, що відповідали дозам 1000,0 та 5000,0 мг/кг.

Вже на першу добу у тварин при введенні препарату в дозі 5000,0 мг/кг спостерігали клінічні прояви інтоксикації, що характеризувалися гіподинамією та неактивним споживанням їжі та води. В подальшому стан тварин покращився і вже через 4 доби повністю нормалізувався. Приріст маси тіла тварин на 14-ту добу спостереження складав 10-15 %, що відповідає показникам контрольної групи. Загибель тварин не відмічена. Отримані нами дані щодо виживання тварин наведені в таблиці 1.

За результатами аналізу даних, які наведені в таблиці 1, встановлено, що засіб "МІКОДАР" не викликав загибелі тварин у дозі 1000,0 мг/кг і навіть при значно вищій дозі – 5000,0 мг/кг.

Таблиця 1. Показники токсичності дії засобу "МІКОДАР" при одноразовому надходженні в організм піддослідних тварин через шлунково-кишковий тракт

Вид тварин	Маса, мг/г	Кількість тварин в групі		Летальність, %
		До введення препарату	Після введення препарату	
Піддослідні тварини				
Білі шури-самці	1000	8	8	0
	5000	8	8	0
Білі шури-самиці	1000	8	8	0
	5000	8	8	0
Білі миші	1000	10	10	0
	5000	10	10	0

ЛД₅₀ засобу становила > 5000,0 мг/кг, згідно з ГОСТ 12.1.007-76, засіб належить до 4 класу небезпеки. Таким чином, засіб "МІКОДАР" при одноразовому введенні в шлунково-кишковий тракт є малонебезпечною речовиною.

Дослідження шкірно-резорбтивної дії засобу Мікодар. Аплікація на шкіру білих (самців) та кролів (самці та самиці) засобу "МІКОДАР" у дозах 2500,0 мг/кг та 4000,0 мг/кг у нативному вигляді не призводила до змін у поведінці тварин, споживанні ними їжі та води, тобто не вивлено проявів шкірно-резорбтивної дії. Загибелі тварин не зареєстровано. ЛД₅₀ засобу встановлено на рівні > 4000,0 мг/кг. Загибелі тварин не зареєстровано. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що при епікутанному нанесенні засіб "МІКОДАР" проявляє резорбтивно-токсичну дію і належить до малонебезпечних речовин – 4 клас небезпеки згідно з ГОСТ 12.1.007-76.

Дослідження місцевої подразнювальної дії засобу "МІКОДАР" на шкірні покриви. Одноразове нанесення на шкіру білих щурів та кролів нативного засобу у зволоженому вигляді з розрахунку 20 мг/см² не викликало симптомів подразнення: не зафіксовано проявів еритеми, набряку, утворення кірки, тріщин, виразок та інших клінічних ознак ушкодження шкіри. Дані досліджень дозволяють зробити висновок, що засіб

"МІКОДАР" не викликає місцевого подразнення шкіри.

Визначення подразнювальної дії засобу "МІКОДАР" на слизові оболонки очей. Внесення 50 мг нативного засобу в кон'юнктивальний мішок лівого ока кролів (праве око слугувало контролем) призвело до подразнення слизової оболонки ока. Було відмічено сльозотечу, гіперемію слизової оболонки, набряк повіки, але з часом симптоми подразнення нівелювались і на 4-ту добу після нанесення препарату стан ока нормалізувався. Нанесення 10 % розчину засобу в кон'юнктивальний мішок не викликало подразнювальної дії. Таким чином, можна зробити висновок, що подразнення слизової оболонки ока нативним засобом було викликано механічним ушкодженням частинками порошку.

Дослідження наявності/відсутності сенсibilізувальної дії засобу "МІКОДАР". Проведені класичним методом дослідження з виявлення сенсibilізувальної дії засобу "МІКОДАР" з тестуванням на 10 та 20-ту доби показали, що у всіх тварин реакція шкіри була негативною. Щоб підтвердити отримані результати необхідно було провести додаткові алергодіагностичні дослідження: реакцію специфічного лізису лейкоцитів – РСЛЛ, реакцію дегрануляції опасистих клітин за Шварцем – РДТК.

Отримані дані наведено в таблиці 2.

Таблиця 2. Результати алергодіагностики морських свинок після дії засобу "МІКОДАР"

Реакція шкіри, бали		РСЛЛ, %		РДТК, %	
контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
0	0	4,05	4,26	4	4
0	0	1,56	0	4	0
0	0	0	2,94	0	4
0	0	0	4,76	0	4
0	0	2,33	1,68	8	4
0	0	2,48	1,82	8	4
0	0	3,41	0	4	0
0	0	2,94	0	0	0
Mc±m		2,1±0,32	1,92±0,40	3,5±0,53	2,5±0,53

Результати експерименту свідчать, що засіб "МІКОДАР" у дослідях на морських свинках не

проявляє сенсibilізувальних властивостей. Отже, ступінь ризику викликати алергічні реакції

при надходженні засобу в організм людини можна оцінити як мінімальний.

Висновки. Таким чином, узагальнюючи результати з визначення токсикологічних властивостей та наявності чи відсутності сенсibiliзуючої дії засобу "МІКОДАР", можна зробити такі висновки.

1. Засіб "МІКОДАР", згідно з ГОСТ 12.1.007.-76, належить до малонебезпечних речовин, 4 клас небезпеки: LD_{50} при одноразовому пероральному введенні становить $> 5000,0$ мг/кг, LD_{50} при нанесенні на шкіру становить $> 4000,0$ мг/кг.

2. Не проявляє резорбтивно-токсичної дії: при одноразовому його нанесенні на шкіру в дозах 2500,0 та 4000,0 мг/кг не виявлено симптомів інтоксикації, загибелі тварин.

3. Засіб "МІКОДАР" не викликає місцевого подразнення при одноразовому нанесенні на шкіру.

4. Подразнення слизових оболонок очей можливе лише у випадку попадання порошоканих часточок засобу безпосередньо на слизову оболонку ока, що мало ймовірно.

5. "МІКОДАР" у дослідіах на морських свинках не проявляє сенсibiliзуючих властивостей.

Література

1. Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду / Под ред. А.А. Каспарова и И.В. Саноцкого. – М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1986. – 426 с.

2. Алексеева О.Г., Диева Л.А. Аллергия к промышленным химическим соединениям. – М.: Медицина, 1978. – 272 с.

3. Определение безопасности и эффективности био-

логически активных добавок к пище / МУК 2.3.2.721-98. – М., 1998. – 87 с.

4. Nakamura T., Kobayashi A. Toxicodermnia caused by the edible mushroom Shiitake (Lentinus edodes) // Hautarzt. - 1985. - Vol. 36. - P. 591-593.

5. Принципы и методы оценки токсичности химических веществ. – Женева: ВОЗ, 1981. – 312 с. / Серия гигиенические критерии состояния.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСНОВНЫХ ПАРАМЕТРОВ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И СЕНСИБИЛИЗИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ СРЕДСТВА "МИКОДАР", ПОЛУЧЕННОГО НА ОСНОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА LENTINUS EDODES

П.Д. Пашнев¹, В.Ф. Шилина², Л.О. Руда², В.П. Попович³, Н.А. Федоритенко³

Национальный фармацевтический университет¹, Харьков

Украинский научный гигиенический центр²

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца³

Резюме: проведены токсикологические исследования определения острой токсичности и сенсibiliзующего действия средства под условным названием "МІКОДАР", полученного на основе лекарственного гриба *Lentinus edodes*.

Ключевые слова: токсикологические исследования, острая токсичность, раздражающие свойства.

RESEARCH OF MAIN PARAMETERS OF ACUTE TOXICITY AND SENSIBILIZING ACTION OF MEDICATION "MIKODAR" OBTAINED ON THE BASIS OF MEDICAL MUSHROOM LENTINUS EDODES

P.D. Pashnyev¹, V.F. Shylina², L.O. Ruda², V.P. Popovich³, N.O. Fedorytenko³

National Pharmaceutical University¹, Kharkiv

Ukrainian Hygienic Centre²

National Medical University by O.O. Bohomolets³

Summary: toxicological studies of determination of acute toxicity and sensibilizing action medication of under conditional name "MIKODAR" obtained on the basis of medical mushroom *Lentinus edodes* were carried on.

Key words: toxicological studies, acute toxicity, irritating properties.