



С.І. Панчук<sup>1</sup>, О.П. Трохименко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Національний інститут фізіотерії та пульмонології імені Ф.Г. Яновського НАМН України», Київ

<sup>2</sup> Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, Київ

## Характеристики цитотоксичної дії декаметоксину в різних культурах клітин

**Мета роботи** — вивчення параметрів цитотоксичної дії декаметоксину в культурі клітин.

**Матеріали та методи.** Цитотоксичність 0,02 % розчину декаметоксину досліджували за мікротестом у перещеплюваних культурах клітин аденокарциноми гортані людини (HEP-2; штам Cincinnati) та нирки собаки (MDCK).

**Результати та обговорення.** У культурі клітин HEP-2 середня цитотоксична доза декаметоксину  $CD_{50}$  становить 3,213 і перебуває в межах від 2,627 до 3,716 мкг/мл. Відповідно, середнє значення МПК у цій культурі дорівнює 1,563 (від 1,314 до 1,858).

Під час визначення цитотоксичної дії декаметоксину в культурі клітин MDCK встановлено, що його  $CD_{50}$  дорівнює 12,5 мкг/мл і перебуває в межах від 10,51 до 14,87 мкг/мл, МПК — від 5,26 до 7,43 мкг/мл. За цитотоксичним впливом ( $CD_{50}$  і МПК) у культурі клітин MDCK декаметоксин у 4,0 рази менш токсичний, ніж у культурі клітин HEP-2.

**Висновки.** Цитотоксична дія декаметоксину залежить від виду культури, концентрації діючої речовини і тривалості впливу препарату на клітини.

### Ключові слова

Декаметоксин, четвертинні амонієві сполуки, культури клітин, цитотоксична дія, параметри цитотоксичності.

Сьогодні, як і десятиліття тому, віруси посідають одне з провідних місць у патології людини, спричинюючи понад 80 % інфекційних захворювань, які можуть розвиватися як гострі процеси з епідемічним поширенням. Унікальність вірусів зумовлена їхньою убіквітарністю, патогенністю, особливостями структурної організації і тісним зв'язком з метаболізмом інфікованої клітини в процесі репродукції їх. Роль вірусів у патології людини невинно зростає, з'являються нові віруси, етіологічна роль яких ще має бути доведена. Запобігання поширенню інфекційних хвороб узагалі і вірусних, зокрема, відбувається двома шляхами: один передбачає лікувальні заходи, другий — профілактичні. Лікування — це, передусім, застосування противірусних хіміопрепаратів етіотропного і патогенетичного спрямування, профілактика передбачає комплекс протиепідемічних заходів, до яких належать вакцинація, карантинізація та дезінфекція.

Одним із перспективних напрямів у медичній практиці для профілактики поширення збудників інфекційних захворювань є застосування четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) і дезінфекційних засобів на їхній основі [3, 6, 11]. ЧАС належать до групи поверхнево активних речовин, мають детергентні властивості, добре розчиняються у воді й здатні зменшувати поверхневий натяг клітинних мембран, що й зумовлює їхні потенційні бактерицидні й віруліцидні властивості. Типовим представником цієї групи є декаметоксин — біс-четвертинна амонієва сполука (рис. 1).

Декаметоксин — високоактивний напівсинтетичний препарат, який швидко діє й складається із синтетичної декаметилової частини молекули та ментолового ефіру (L-ментолу) олії м'яті перцевої [3, 5]. Однією із лікарських форм декаметоксину є його 0,02 % стерильний водний розчин для місцевого застосування, що має торгову назву «Декасан».

Перспективним є місцеве використання декаметоксину у вигляді інгаляцій для усунення

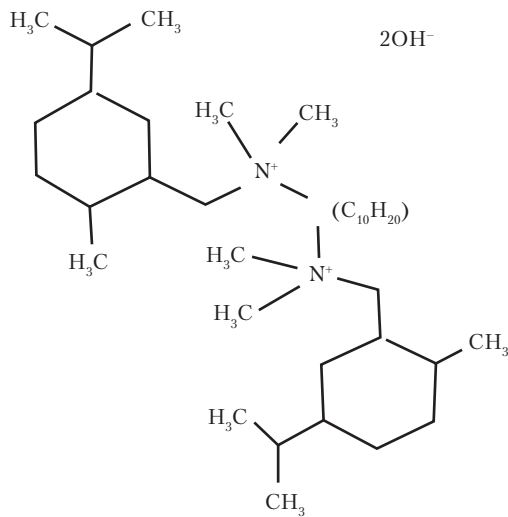


Рис. 1. Структурна формула біс-четвертинної амонієвої сполуки

інфекційних чинників, зокрема респіраторних вірусів, що провокують загострення бронхіальної астми, однак систематизованих досліджень цитотоксичної та віруліцидної дії декаметоксину стосовно вірусів різних родин досі не проводили. Саме тому надзвичайно актуальним є визначення параметрів цитотоксичності декаметоксину в культурах клітин.

**Мета роботи** — визначення параметрів цитотоксичності декаметоксину в культурах клітин.

### Матеріали та методи

Параметри цитотоксичності декаметоксину за дією на моношар клітин та розрахунок  $CD_{50}$  і МПК визначали в перещеплюваних культурах клітин за методичними рекомендаціями [10, 11] із застосуванням мікрометоду.

**Культури клітин.** Перещеплювані субстратозалежні клітинні лінії — аденокарциноми гортани людини (HEP-2; штам Cincinnati) та нирки собаки (MDCK) — брали з банку клітинних культур Інституту експериментальної патології, онкології і радіології (ІЕПОР) імені Р.Є. Кавецького АН України як кріоконсервовані суспензії. Перед початком досліджень їх було адаптовано до умов культивування протягом 4 пасажів.

**Живильні середовища.** Ростове середовище для приготування клітинних моношарів обох клітинних культур готували на основі стандартного середовища RPMI-1640 з додаванням сироватки крові ембріонів корів (СКЕК) виробництва Sigma (США), доводячи до кінцевої концентрації 5% і антибіотиків: пеніциліну 100 0д/мл та стрептоміцину 100 мкг/мл виробництва «Артеріум» (Україна). Підтримувальне середовище (ПС) аналогічного складу без сироватки використовували

для промивання клітинних моношарів та культивування вірусів.

Субстратозалежні культури клітин культивували за стандартним методом, клітини знімали з поверхні росту розчином Версена. Суспензії клітин культур HEP-2 та MDCK у посівних концентраціях  $0,4 \cdot 10^6$  і  $0,6 \cdot 10^6$  кл/мл відповідно у ростовому живильному середовищі вносили в лунки культурального 96-лункового планшета і культивували 48 год за температури  $37^\circ\text{C}$  в атмосфері 5%  $\text{CO}_2$  до утворення суцільного моношару. Його якість контролювали під інвертованим мікроскопом. Ростове середовище із лунок планшета повністю видаляли, а клітинні моношари двічі промивали ПС без сироватки, після чого ПС з усіх лунок видаляли.

Цитотоксичну дію декаметоксину досліджували з використанням його готового 0,02% розчину («Декасан»).

У процесі визначення цитотоксичної дії декаметоксину в культурах клітин HEP-2 і MDCK готували дворазові серійні розведення офіційного розчину декаметоксину від  $2^{-1}$  до  $2^{-10}$  у підтримувальному середовищі, в яких концентрації діючої речовини відповідали передбачуваним: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563; 0,780; 0,390; 0 і 195 мкг/мл. Одержані розчини у кожному розведенні наносили на чотири сформовані клітинні моношари. Оброблені клітини культивували 72 год за температури  $37^\circ\text{C}$  в атмосфері 5%  $\text{CO}_2$ , щоденно контролюючи наявність неспецифічної дегенерації клітинних моношарів під інвертованим мікроскопом. Остаточні визначали результати через 72 год після нанесення зразків. Розведення препарату, що справляло цитотоксичний ефект у половині клітинних моношарів, визначали за методом Кербера, цитотоксичні концентрації — як описано у літературі [10].

### Результати та обговорення

Визначення протівірусної дії препаратів передбачає дослідження їхнього впливу на вірус, що взаємодіє з клітиною, тобто перебуває у певній фазі репродукції (від ранньої до пізньої). При цьому препарат тривало (в середньому від 24 до 72 год) впливає на інфіковану клітину в невисоких концентраціях, обмежених максимально переносною концентрацією (МПК), для різних клітинних культур може бути не однакою. На відміну від протівірусної визначення віруліцидної дії дезінфекційних препаратів передбачає виявлення їхнього впливу на позаклітинний вірус, тобто сформовані вірусні частки, що містяться поза клітиною (на об'єктах доквілля, поверхні шкіри рук, предметах побуту, у біологічних рідинах тощо). При цьому дезінфекцій-

ний засіб застосовують у високій концентрації, але тривалість його впливу на позаклітинний вірус невелика (в середньому від 1 хв до 1 год).

Цитотоксичну концентрацію ( $CD_{50}$ ) декаметоксину визначали як концентрацію діючої речовини (мкг/мл), що зумовлює цитотоксичний ефект у половини із оброблених клітинних моношарів через 72 год спостереження. МПК декаметоксину визначали як найбільшу концентрацію діючої речовини препарату (мкг/мл), що не спричинювала цитотоксичну дію в жодному з оброблених ними клітинних моношарів протягом 72 год експозиції (за даними прижиттєвого мікроскопічного дослідження).

Розрахунок середніх цитотоксичних доз декаметоксину в культурі клітин НЕР-2 засвідчив, що його  $CD_{50}$  становить 3,213 і перебуває в межах від 2,627 до 3,716 мкг/мл. Відповідно МПК становить 1,563 (в межах від 1,314 до 1,858).

Під час визначення цитотоксичної дії декаметоксину в культурі клітин MDCK встановлено, що його  $CD_{50}$  дорівнює 12,5 мкг/мл і перебуває в межах від 10,51 до 14,87 мкг/мл. МПК декаметоксину у цій культурі клітин відповідно становить 6,25 (від 5,26 до 7,43 мкг/мл).

Таким чином, декаметоксин, з огляду на параметри його цитотоксичної дії, досить токсичний для культур клітин. У аналогічних дослідженнях інших авторів доведено, що МПК декаметоксину в переживаючій культурі клітин хоріоналантоїсної оболонки курячого ембріону (ХАО) в разі його впливу протягом 24 год становить 25 мкг/мл, а для проліферуючої культури клітин НЕР-2 — 4,0 мкг/мл [2, 7, 8]. Порівняно з ним МПК ацикловіру — відомого протигерпетичного препарату за аналогічних умов впливу на клітинний моношар культури НЕР-2 становить в середньому 125 мкг/мл, рибавіріну — 62,5 мкг/мл.

Проте  $CD_{50}$  і МПК декаметоксину в культурі клітин MDCK у 4 рази більші, ніж у культурі клітин НЕР-2, що свідчить про різну чутливість зазначених культур до декаметоксину: культура клітин аденокарциноми гортані людини у 4 рази чутливіша до цього препарату порівняно з культурою клітин нирки собаки (рис. 2).

Отже, в обох клітинних культурах цитотоксична дія декаметоксину повністю реалізувалася через 24 год експозиції і залишалася незмінною протягом 48 і 72 год спостереження. Механізм цитотоксичної дії декаметоксину пов'язаний із поверхнево-активними властивостями його діючої речовини — біс-четвертинної амонієвої сполуки, яка змінює поверхневий натяг на межі розділу фаз клітинна мембрана — культуральна

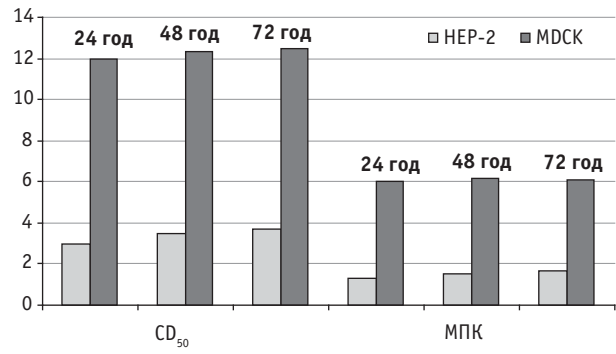


Рис. 2. Цитотоксична дія декаметоксину в культурах клітин НЕР-2 і MDCK залежно від тривалості його впливу на клітинні моношари

рідина і таким чином руйнує ліпідний шар мембран клітин за тривалого впливу сполуки на клітинні моношари.

У разі застосування декаметоксину як дезінфекційного і мийного засобу було засвідчено, що він, як і інші ЧАС, має низку переваг. ЧАС не подразнюють верхні дихальні шляхи, не мають різкого запаху, не пошкоджують конструкційні матеріали та тканини і не знебарвлюють їх, мають дезінфекційні й мийні властивості. Отже, їх можна застосовувати у присутності хворих та медперсоналу, дуже зручні для профілактичної та поточної дезінфекції [3, 6, 11].

У разі медичного застосування декаметоксин не справляє місцевих побічних ефектів, не подразнює слизові оболонки, не всмоктується з їхньої поверхні, тобто немає ризику системної побічної його дії. Крім бактерицидної активності, у декаметоксину виявлено протизапальну дію за рахунок пригнічення продукції серотоніну та зменшення ексудації [7, 11], десенсибілізуючий та спазмолітичний вплив, а також здатність підвищувати чутливість мікроорганізмів до антибіотиків. Препарат ефективно застосовували в комплексній терапії хворих із інфекційним загостренням хронічного обструктивного процесу в легенях, а також для лікування пневмонії та бронхіальної астми [1, 4, 5, 9]. Розбіжність результатів експериментально визначеної досить високої цитотоксичної дії декаметоксину в культурі клітин і нешкідливості його в разі місцевого клінічного застосування можна пояснити різною чутливістю тканин до препарату та тривалістю його впливу на клітини. Так, у разі промивання порожнин, слизових оболонок, а також інгаляцій дія декаметоксину на клітини тканин короткотривала, тобто значно менша ніж 24 год, чого недостатньо для вияву цитотоксичної дії.

Таким чином, результати експериментальних досліджень параметрів цитотоксичної дії дека-

метоксину узгоджуються з даними літератури і свідчать про те, що він виявляє цитотоксичну дію в культурі клітин, яка залежить від виду культури, концентрації діючої речовини та тривалості його впливу на клітини.

### Висновки

1. У культурі клітин НЕР-2 середня цитотоксична доза декаметоксину  $CD_{50}$  становить 3,213 і перебуває в межах від 2,627 до 3,716 мкг/мл.

Відповідно середнє значення МПК в цій культурі становить 1,563 (від 1,314 до 1,858).

2. У культурі клітин MDCK  $CD_{50}$  декаметоксину становить 12,5 мкг/мл і перебуває в межах від 10,51 до 14,87 мкг/мл, відповідно МПК — 6,25 (від 5,26 до 7,43 мкг/мл).

3. За показниками цитотоксичної дії, в культурі клітин MDCK декаметоксин у 4 рази менш токсичний, ніж у культурі клітин НЕР-2.

### Список літератури

1. Герич П.Р., Островський М.М. Спосіб раціональної медикаментозної терапії інфекційного загострення хронічного обструктивного захворювання легень // Укр. пульмонолог. журн.— 2008.— № 3. Додаток.— С. 102.
2. Грідіна Т.Л. Противірусні властивості офіційних препаратів декаметоксину, етонію та унітіолу по відношенню до вірусів грипу та простого герпесу: Автореф. дис. канд. біол. наук за спеціальністю 03.00.06— Вірусологія (на правих рукопису).— К., 2008.— С. 10—11.
3. Гонтер Кампф. Гигиена рук в здравоохранении.— К.: Здоров'я.— 2005.— 286 с.
4. Игнатъева В.И., Гуменюк Г.Л., Шпак О.И., Венгерова О.А. Эффективность антисептика декасан в комплексном лечении больных с инфекционным обострением хронического обструктивного заболевания легких // Укр. пульмонолог. журн.— 2008.— № 3. Додаток.— С. 125.
5. Коваленко С.В. Досвід застосування небулайзерної терапії декасаном хворих з інфекційним загостренням хронічного обструктивного захворювання легень в умовах пульмонологічного відділення // Укр. хіміотер. журн.— 2010.— № 1—2.— С. 65—66.
6. Ковальчук В.П. та ін. Результати експериментального і клінічного дослідження ефективності антисептичного препарату декасану // Вісн. Вінницького державного мед. університету.— 2002.— № 2.— С. 292—294.
7. Лозицький В.П., Грідіна Т.Л., Григорашева І.М. та ін. Эффективный метод визначення противірусної дії офіційних препаратів у відношенні збудників актуальних захворювань птахів: научное издание; УААН, ІВМ, ДНКІВШМ // Ветеринарна біотехнологія: бюлетень.— К.: Дорадо, 2008.— № 13 (том 1): Матер. міжнар. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми біотехнології, стандартизації та забезпечення контролю якості ветеринарних препаратів, кормів та кормових добавок», присвяч. 10-річчю Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів.— С. 299—307.
8. Нейко Є.М., Герич П.Р., Василів А.М. Досвід застосування комбінованої протизапальної терапії у хворих на інфекційне загострення хронічного обструктивного захворювання легень // Укр. пульмонолог. журн.— 2008.— № 3. Додаток.— С. 167.
9. Трохименко О.П., Антоненко Л.О., Соловійов С.О., Ковалюк О.В. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт для студентів спеціальності 7.05140101— «Промислова біотехнологія» Основи клітинної технології у біології та медицині.— К., 2011.— 48 с.
10. Фещенко Ю.І., Гуменюк М.І. Антисептичний препарат декасан у профілактиці та лікуванні місцевих гнійно-запальних уражень // Укр. хіміотер. журн.— 2010.— № 1 (13)— С. 65.
11. Щербінська А.М., Дяченко Н.С., Рибалко С.Л. та ін. Вивчення антивірусної дії потенційних лікарських засобів.— К., 2000.— 40 с.

С.И. Панчук<sup>1</sup>, Е.П. Трохименко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф.Г. Яновського НАМН Украины», Киев

<sup>2</sup> Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика МЗ Украины, Киев

## Характеристики цитотоксического действия декаметоксина в разных культурах клеток

**Цель работы** — изучение параметров цитотоксического действия декаметоксина в культуре клеток.

**Материалы и методы.** Цитотоксичность 0,02 % раствора декаметоксина исследовали с помощью микрометода в перевиваемых культурах клеток аденокарциномы гортани человека (НЕР-2; штамм *Cincinnati*) и почки собаки (MDCK).

**Результаты и обсуждение.** В культуре клеток НЕР-2 средняя цитотоксическая доза декаметоксина  $CD_{50}$  составляет 3,213 и находится в пределах от 2,627 до 3,716 мкг/мл. Соответственно, среднее значение МПК в этой культуре составляет 1,563 (от 1,314 до 1,858).

При определении цитотоксического действия декаметоксина в культуре клеток MDCK установлено, что его  $CD_{50}$  составляет 12,5 мкг/мл и находится в пределах от 10,51 до 14,87 мкг/мл, МПК — от

5,26 до 7,43 мкг/мл. По цитотоксическому действию ( $CD_{50}$  і МПК) в культурі кліток MDCK декаметоксин в 4,0 рази менше токсичен, ніж в культурі кліток HEP-2.

**Висновки.** Цитотоксическе действие декаметоксина зависит от вида культуры, концентрации действующего вещества и продолжительности влияния препарата на клетки.

**Ключевые слова:** декаметоксин, четвертичные аммониевые соединения, культуры клеток, цитотоксическое действие, параметры цитотоксичности.

S.I. Panchuk<sup>1</sup>, O.P. Trokhimenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SO «National Institute of Phthisiology and Pulmonology named after F.G. Yanovsky of NAMS of Ukraine», Kyiv

<sup>2</sup>P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education Ministry of Health Care of Ukraine, Kyiv

## Characteristics cytotoxic action of decamethoxine in different Cell Culture

**Goal** – to study parameters of cytotoxic action of decamethoxine in cell culture.

**Materials and methods.** Cultivated cells of human adenocarcinoma of the larynx (HEP-2) and dog kidney (MDCK) were exposed with 0.02 % solution decamethoxine to evaluate its cytotoxic effect.

**Results and discussion.** It has been established that mean cytotoxic dose of decamethoxine  $CD_{50}$  in HEP-2 cell culture made up 3.213 and ranged from 2.627 to 3.716 mg/ml. Therefore, mean MIC value in this culture made up 1.563 and ranged from 1.314 to 1.858.

Estimation of cytotoxic action of decamethoxine in MDCK cell culture revealed that  $CD_{50}$  made up 12.5 mg/ml and ranged from 10.51 to 14.87 mg/ml, MIC made up 6.25 and ranged from 5.26 to 7.43 mg/ml. It has been established that in terms of indices of cytotoxic action ( $CD_{50}$  and MIC) decamethoxine was 4.0 times less toxic in MDCK cell culture than in HEP-2 cell culture.

**Conclusions.** Cytotoxic action of decamethoxine depends on type of the culture, concentration of the drug substance and duration of the drug exposure of the cells.

**Key words:** decamethoxine, quaternary ammonium compounds, cell culture, cytotoxic action, parameters of cytotoxicity.

---

### Контактна інформація:

Панчук Світлана Іванівна, аспірант  
03680, м. Київ, вул. М. Амосова, 10. Тел. (044) 275-01-08  
E-mail: ps@uf.ua

Стаття надійшла до редакції 16 травня 2014 р.