

Д.О. Главачек*, 
О.Є. Кондратенко 

ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ «ВАРФАРИН НАТРІЮ» НА ПОКАЗНИКИ ТОКСИЧНОСТІ В УМОВАХ ГОСТРОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ

ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України»

вул. Попудренка, 50, Київ, 02094, Україна

State Institution "O.M. Marzиеv Institute for Public Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

Popudrenka str., 50, Kyiv, 02094, Ukraine

*e-mail: glavachek@gmail.com

Цитування: *Медичні перспективи*. 2023. Т. 28, № 3. С. 12-18

Cited: *Medicni perspektivi*. 2023;28(3):12-18

Ключові слова: варфарин натрію, антикоагулянти, токсикологічні показники, DL_{50} , внутрішньошлункове введення

Key words: warfarin sodium, anticoagulants, toxicological indicator, DL_{50} , intragastric administration

Реферат. Визначення впливу препарату «Варфарин натрію» на показники токсичності в умовах гострого експерименту. Главачек Д.О., Кондратенко О.Є. Препарат "Варфарин натрію" відноситься до антикоагулянтів непрямої дії. У його складі є лише одна речовина – варфарин натрію, токсикологічні показники якого досліджувалися в багатьох країнах, тому діапазон показників DL_{50} для нього дуже великий. Проте варфарин натрію ще не був досліджений в Україні, його гранично допустима концентрація в повітрі робочої зони не встановлена. Значні обсяги виробництва та застосування препарату «Варфарин натрію» на території України зумовлюють необхідність уточнення його основних токсикологічних показників та встановлення гранично допустимої концентрації в повітрі робочої зони, яке включає декілька етапів. Перший з них є метою цієї роботи, а саме: в умовах гострого експерименту встановити DL_{50} при внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію» двом видам тварин. Піддослідні тварини (60 нелінійних білих щурів та 70 нелінійних білих мишей) були розподілені на 9 груп. Шесті групам вводили препарат «Варфарин натрію» в різних дозах: першій групі (щур-самці) – 58 мг/кг на тварину, другій (також щур-самці) – 29 мг/кг, третій (щур-самці) – 323 мг/кг, четвертій (також щур-самці) – 161,5 мг/кг, п'ятій (миші обох статей) – 374 мг/кг, шостій (також миші обох статей) – 187 мг/кг. Три контрольні групи (в одній – 6 щурів-самців, у другій – 6 щурів-самиць, у третій – 14 мишей) отримували дистильовану воду. У результаті були отримані показники летальності піддослідних тварин, на основі яких, з використанням методу пробіт-аналізу, було визначено показник токсичності DL_{50} для щурів-самок (15,85 мг/кг), щурів-самців (398,11 мг/кг) та мишей (645,65 мг/кг). Установлено DL_{50} для щурів-самців при внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію» може свідчити про підвищення їх стійкості до препарату, а це зумовлює доцільність періодичних повторних гострих дослідів з метою перевірки актуальності попередньо встановлених DL_{50} варфарину натрію. За показником DL_{50} при внутрішньошлунковому введенні варфарину натрію щурам-самицям, які є найчутливішим до нього видом тварин, варфарин натрію відноситься до високонебезпечних речовин.

Abstract. Determining the effect of drug "Warfarin sodium" on toxicity indicators in an acute experiment.

Glavachek D.O., Kondratenko O.Ye. The drug "Warfarin sodium" refers to anticoagulants of indirect action. It contains only one substance - warfarin sodium, the toxicological indicator of which have been studied in many countries. Therefore, the range of indicators for DL_{50} of warfarin sodium is very large. However, warfarin sodium has not yet been studied in Ukraine, its maximum permissible concentration in the air of the work area has not been established. Significant volumes of production and use of the drug "Warfarin sodium" on the territory of Ukraine necessitate the clarification of its main toxicological indicators and the establishment of the maximum allowable concentration in the air of the working area, which includes several stages. The first of them is the purpose of this work, namely: to establish DL_{50} upon intragastric administration of the drug "Warfarin sodium" to two species of animals in the conditions of an acute experiment. Experimental animals (60 non-linear white rats and 70 non-linear white mice) were divided into 9 groups. Six groups were injected with the drug "Warfarin sodium" in different doses: the first group (female rats) – 58 mg/kg per animal, the second (also female rats) – 29 mg/kg, the third (male rats) – 323 mg/kg, the fourth (also male rats) – 161.5 mg/kg, the fifth (mice of both sexes) – 374 mg/kg, the sixth (also mice of both sexes) – 187 mg/kg. Three control groups (the first – 6 male rats, the second – 6 female rats, the third – 14 mice) received distilled water. As a result, the mortality rates of experimental animals were obtained, on the basis of which, using the probit analysis method, the toxicity indicator of DL_{50} was determined: for female rats – 15.85 mg/kg, male rats – 398.11 mg/kg and mice –

645.65 mg/kg. The established DL_{50} for male rats after intragastric administration of the drug "Warfarin sodium" may indicate an increase in their resistance to the drug, and this determines the expediency of periodic repeated acute experiments in order to verify the relevance of previously established DL_{50} of sodium warfarin. According to DL_{50} upon intragastric administration to female rats, which are the most sensitive species of animals to it, warfarin sodium belongs to highly hazardous substances.

Препарат «Варфарин натрію» – антикоагулянт непрямої дії для тривалої або довічної терапії серцево-судинних захворювань, який широко застосовується у світовій медицині. Непрямі антикоагулянти діють опосередковано, через вплив на синтез факторів згортання, не порушуючи процес тромбоутворення. За механізмом дії ці препарати є антагоністами вітаміну К і відносяться до групи похідних кумарину. У клінічній практиці «Варфарин натрію» використовується 75 років, він був синтезований та запатентований у 1948 році. Назва препарату походить від аббревіатури WARF (Wisconsin Alumni Research Foundation – Дослідницький фонд випускників штату Вісконсін) та має закінчення -arin, яке вказує на зв'язок з кумарином [1]. Варфарин застосовують не лише як медичний препарат для профілактики тромбозів, а і як дієвий родентицид. Його використання як отрути проти щурів призвело до природного відбору більш стійких до препарату тварин [2].

Установлено, що до варфарину більш чутливими є самиці, що особливо виразно проявляється в щурів. Є дані [3] про гостру пероральну токсичність варфарину для щурів, яка дуже залежить від статі. У тих випадках, коли тестувалися самці та самиці, значення дози, при якій гине 50% піддослідних тварин (DL_{50}), для тварин жіночої статі (діапазон: 5-58 мг/кг маси тіла) були в 5-10 разів нижчими, ніж для самців (діапазон: 1,6-323 мг/кг ваги тіла). Як видно, діапазон даних надто великий, а покоління щурів з роками набувають більшої стійкості до варфарину натрію, тому DL_{50} при внутрішньо-шлунковому введенні (DL_{50} вш) необхідно уточнити шляхом гострих дослідів. Статеві розбіжності зумовлені швидкістю метаболізму речовин в організмі, а також впливом статевих гормонів, тому токсикологічні дослідження доцільно проводити на тваринах обох статей.

Діапазон значень пероральної DL_{50} для інших протестованих видів тварин набагато вище цього рівня і становить: для мишей 374-675 мг/кг, для кролів приблизно 800 мг/кг, для собак 200-300 мг/кг [3].

Мета роботи – в умовах гострого експерименту встановити DL_{50} при внутрішньо-шлунковому введенні препарату «Варфарин натрію» піддослідним тваринам двох видів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи, яка була виконана в рамках договору № 3833 від 11.12.2019 р. «Визначення ГДК варфарину у повітрі робочої зони». Договір було укладено ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України» з ТОВ «Фарма Старт». Досліди проводилися в лабораторії гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України». Матеріали експериментальної роботи, які висвітлені в статті, неодноразово розглядалися на засіданнях Комітету з медичної етики при ДУ «ІГЗ НАМНУ» (протокол № 3 від 30.11.2021 р., протокол № 5 від 30.11.2022 р.). Згідно з наданими на розгляд Комітету матеріалами, стаття виконана з урахуванням чинних біотичних норм та стандартів на проведення наукових досліджень. Матеріали статті не містять відомостей, що становлять державну таємницю. Виходячи з вищезазначеного, комітет з медичної етики зробив висновок про можливість публікації статті «Визначення впливу препарату «Варфарин натрію» на показники токсичності в умовах гострого експерименту» авторів Д.О. Главачек, О.Є. Кондратенко відкритим друком. Протокол № 1 від 23 січня 2023 року.

Проблема різниці видової чутливості загально-визнана як одна з найбільш значущих при встановленні смертельних ефектів [10]. Саме тому в досліді використовувалися 2 види тварин. Для визначення гострої токсичності при надходженні в шлунок були задіяні 60 нелінійних білих щурів (з них – 12 контрольних) та 70 нелінійних білих мишей (з них – 14 контрольних), придбані в розпліднику «Біомодельсервіс», м. Київ, які пройшли період адаптації, утримувались в умовах віварію на збалансованому харчовому раціоні та вільному доступі до води. Догляд за тваринами та виведення тварин з дослідів здійснювалися за принципами, викладеними в Законі України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009 р.), з урахуванням правил Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 р., ETS № 123) та відповідно до Закону України «Про затвердження та

порядок проведення дослідів на тваринах» № 249 від 03.01.2012 р. та вимог Директиви 2010/63/ЄС Європейського парламенту та Ради від 22 вересня 2010 р. щодо охорони тварин, які використовуються в наукових цілях.

Об'єктом дослідження є препарат «Варфарин натрію» («Warfarin sodium»). Активна речовина: варфарин натрію, допоміжні речовини відсутні.

Варфарин натрію має вигляд білого кристалічного порошку без запаху. Його хімічна формула – $C_{19}H_{15}NaO_4$, молекулярна маса – 330,31 г/моль, рН – 7,8, температура плавлення – 161°C [4]. Варфарин натрію малолеткий, у повітрі може знаходитися у вигляді аерозолі. Розчиняється в ацетоні та діоксані, майже нерозчинний у 95% етиловому спирті та бензолі, добре розчиняється у воді [5].

Дослідження та визначення токсикологічних показників проводились із застосуванням загальноприйнятих методів визначення показників токсичності та небезпечності речовин відповідно до:

- методичних вказівок «Обґрунтування гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони та атмосферному повітрі населених місць». Наказ МОЗ України від 21.10.2005 р. № 544 [6];

- методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці. Наказ МОЗ України від 03.09.2020 р. № 2024 [7];

- наказу МОЗ України від 14.07.2020 № 1596 «Про затвердження гігієнічних регламентів допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин у повітрі робочої зони» [8];

- методичних рекомендацій для планування та проведення високоякісних досліджень і випробувань на тваринах [9].

Згідно з інформацією фірми «Zydus Cadila», яка виготовляє «Варфарин натрію», DL_{50} вш препарату становить: для мишей (самців та самиць) – 374 мг/кг, для щурів – 323 мг/кг для самців та 58 мг/кг для самиць [5]. Дані фірми «Zydus Cadila» аналогічні наведеним у Директиві [3].

При зважуванні піддослідних тварин установлена середня маса: миші – 37 г, щура-самця – 360 г, щура-самиці – 228 г. Згідно з ними були перераховані вищенаведені DL_{50} вш (на одну тварину):

- для щурів-самиць:
(58 мг x 228 г) / 1000 г = 13,2 мг;

- для щурів-самців:
(323 мг x 360 г) / 1000 г = 116 мг;

- для мишей обох статей:
(374 мг x 37 г) / 1000 г = 14 мг.

Перша піддослідна група – 12 щурів-самиць для дози препарату «Варфарин натрію» 58 мг/кг.

Кожній з них вводили в шлунок по 1 мл розчину № 1 (158,4 мг варфарину натрію розводили у 12 мл дистильованої води).

Друга піддослідна група – 12 щурів-самиць для дози 29 мг/кг. Кожній з них вводили в шлунок по 1 мл розчину № 2 (79,2 мг варфарину натрію розводили у 12 мл дистильованої води).

Третя піддослідна група – 12 щурів-самців для 323 мг/кг. Кожному з них вводили в шлунок по 1 мл розчину № 3 (1392 мг варфарину натрію розводили у 12 мл дистильованої води).

Четверта піддослідна група – 12 щурів-самців для дози 161,5 мг/кг. Кожному з них вводили в шлунок по 1 мл розчину № 4 (696 мг варфарину натрію розводили у 12 мл дистильованої води).

П'ята піддослідна група – 28 мишей для дози 374 мг/кг. Кожній з них вводили в шлунок по 0,5 мл розчину № 5 (392 мг варфарину натрію розводили в 14 мл дистильованої води).

Шоста піддослідна група – 28 мишей для дози 187 мг/кг. Кожній з них вводили в шлунок по 0,5 мл розчину № 6 (196 мг варфарину натрію розводили в 14 мл дистильованої води).

Тваринам з контрольних груп (в одній – 6 щурів-самців, у другій – 6 щурів-самиць, у третій – 14 мишей) вводили в шлунок дистильовану воду (по 1 мл щуру, по 0,5 мл миші).

Важливою складовою роботи була анестезія тварин відповідно до правил поводження з лабораторними тваринами [8]. Для знеболювання проводили інгаляційний наркоз тварин етиловим ефіром.

Оцінка стану тварин проводилася за інтегральними показниками токсичної дії: випадками загибелі, зовнішнім виглядом, загальним станом, особливостями поведінки, клінічними ознаками інтоксикації, інтенсивністю та характером рухової активності, координацією рухів. Спостереження тривало 14 днів [10].

Критерієм токсичності препарату «Варфарин натрію» була летальність піддослідних тварин, а показники DL_{50} визначені з використанням методу пробіт-аналізу [11]. Для розрахунку CL_{50} були застосовані рівняння, засновані на кореляційних зв'язках між напівлетальними дозами та (або) концентраціями й порогами гострої та хронічної дії [6], [12]. При виконанні роботи не розглядалися будь-які ряди, відповідно до чого матеріали не потребували статистичної обробки, тому статистичні методи аналізу не застосовувалися.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Через добу після отримання препарату в дозі 323 мг/кг загинув щур-самець: його ніс закритавлений, на кінчику хвоста – гематома, також

наявні крововиливи в кігті всіх чотирьох кінцівок. Невпинні кровотечі різного генезу та крововиливи є найчастішими побічними явищами, які виникають внаслідок передозування препаратом «Варфарин натрію» [1]. На третю добу загинула миша-самець, яка отримала дозу 374 мг/кг, помітних змін немає. Проте живі миші, які отримали вищенаведену дозу, мали почервоніння очей та носів. Поведінка мишей не змінилася. Через тиждень після введення препарату «Варфарин натрію» в щурів обох статей, які отримували дози 161,5 мг/кг та 29 мг/кг, спостерігалися кровотечі з носа. У тварин, які отримували вдвічі більші дози препарату «Варфарин натрію», були не лише носові кровотечі, а й чорні плями на шкірі (варфариновий некроз), шкіра навколо плям облісила. Кігті щурів також у крові. У померлих щурів спостерігалися чорні плями на голові, коло вух, на хвостах – гематоми.

В умовах терапії препаратом «Варфарин натрію» при передозуванні в людей також може виникати вафариновий некроз, особливо в жінок, проте він є рідкісним ускладненням [13, 14].

У першій групі живими залишилися 4 щури-самиці з 12 (летальність становила 67%), тоді як у другій, де кількість введеної речовини була вдвічі меншою, – 5 (летальність – 58%). Щури-самці з третьої та четвертої піддослідних груп показали набагато більшу стійкість до дії препарату «Варфарин натрію». Незважаючи на те, що

введені їм дози речовини були в 5,6 раза вищими, ніж щурам – самицям, у третій групі вижило 11 тварин з 12 (летальність – 8%), а в четвертій – усі 12. У п'ятій та шостій групах у день введення препарату «Варфарин натрію» було по 28 мишей. На 2, 7 та 14-й дні гострого досліду з кожної групи відбирали по 4 миші для взяття крові шляхом декапітації. Загалом з п'ятої групи взяли 12 мишей, а з шостої – 14, оскільки у 2 мишей була занадто рідка кров, яка не підходила для аналізу. У подальших розрахунках миші, взяті для аналізів, не враховувалися. Тому в п'ятій групі, де разова доза становила 374 мг/кг, залишилося 16 піддослідних тварин, з яких вижило 12 (летальність – 25%), а в шостій, де разова доза була вдвічі меншою, з 14 мишей загинула лише одна (летальність – 7%).

На основі кривої визначені показники гострої токсичності при одноразовому пероральному затруєнні щурів-самиць (табл. 1, рис. 1), що становлять: $DL_{50} = 15,85$ мг/кг ($\lg 1,2$), DL_{84} (доза, при якій гине 84% піддослідних тварин) = 245,47 мг/кг, DL_{16} (доза, при якій гине 16% піддослідних тварин) = 0,93 мг/кг.

Згідно з даними Директиви 98/8/ЕС [3], DL_{50} вш для щурів-самиць становить 5-58 мг/кг. Отриманий результат (15,85 мг/кг) ближчий до нижньої межі діапазону наведених даних, що свідчить про високу чутливість щурів-самиць до варфарину натрію.

Таблиця 1

Розрахунок показників для пробіт-аналізу кривої летальності щурів-самиць при гострому внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію»

Доза, мг/кг X	Летальність у відсотках, Y	Логарифми доз, X	Пробіти відсотків летальності, Y
58	67	1,763	5,44
29	58	1,462	5,20

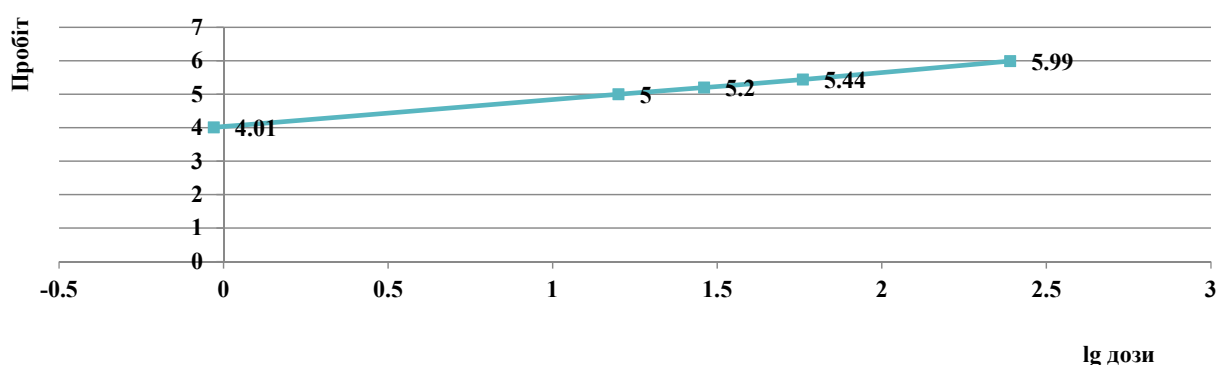


Рис. 1. Графік летальності щурів-самиць при одноразовому внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію»

На основі кривої визначені показники гострої токсичності при одноразовому пероральному затруєнні щурів-самців (табл. 2, рис. 2), що становлять: $DL_{50} = 398,11$ мг/кг ($\lg 2,6$), $DL_{84} = 549,54$ мг/кг, $DL_{16} = 346,74$ мг/кг.

Згідно з даними Директиви 98/8/ЕС [3], DL_{50} вш для щурів-самців становить 1,6-323 мг/кг. Отриманий результат (398,11 мг/кг) перевищив найбільше значення діапазону, що може свідчити про розвиток стійкості до

препарату в щурів-самців. Отже, необхідно періодично повторно встановлювати DL_{50} для щурів обох статей, оскільки цей токсикологічний показник, установлений раніше, через кілька років, необхідних для народження та набуття статевої зрілості кількох поколінь щурів, які стануть стійкішими до варфарину, може втратити актуальність. Також нові токсикологічні показники необхідно враховувати при виготовленні родентицидів.

Таблиця 2

Розрахунок показників для пробіт-аналізу кривої летальності щурів-самців при гострому внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію»

Доза, мг/кг X	Летальність у відсотках, Y	Логарифми доз, X	Пробіти відсотків летальності, Y
323	8	2,509	3,59
161,5	0	2,208	0

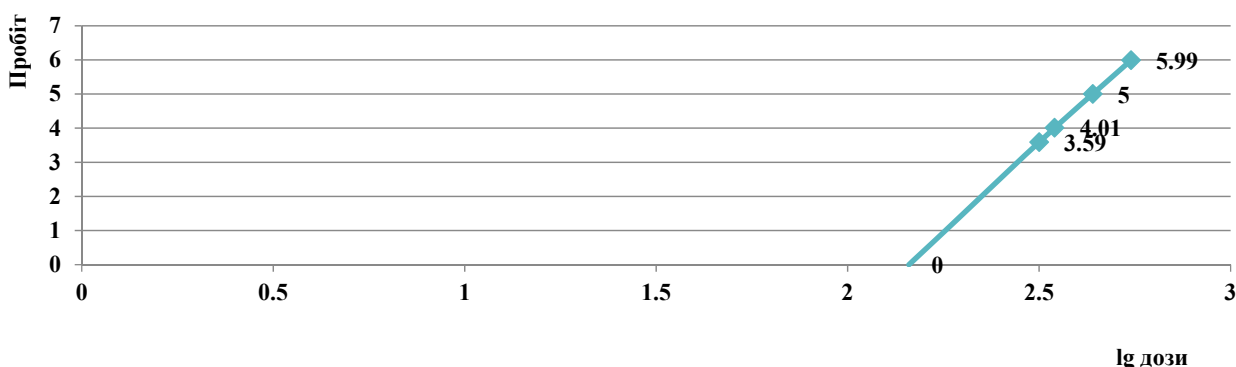


Рис. 2. Графік летальності щурів-самців при одноразовому внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію»

На основі кривої визначені показники гострої токсичності при одноразовому пероральному затруєнні мишей (табл. 3, рис. 3), що становлять: $DL_{50} = 645,65$ мг/кг ($\lg 2,81$), $DL_{84} = 1479,11$ мг/кг, $DL_{16} = 281,84$ мг/кг.

DL_{50} для мишей (645,65 мг/кг), отриманий у результаті дослідів, не виходить за межі даних, наведених у Директиві 98/8/ЕС (374 – 675 мг/кг), проте дуже близький до найбільшого значення діапазону, що свідчить про значну стійкість мишей до варфарину натрію.

За допомогою графіків залежності «доза-ефект» (смертність у % – вісь ординат Y, доза препарату – вісь абсцис X) були встановлені більш точні DL_{50} вш для щурів та мишей.

Отримані результати можна порівняти з медіанними значеннями DL_{50} при внутрішньо-

шлунковому введенні варфарину, наведеними в статті (Dearden, 2021), які становлять 220,6 мг/кг для мишей (у 3 рази менше за показник 645,65 мг/кг) та 48,2 мг/кг для щурів, стать яких не зазначена авторами. З огляду на цю обставину, показник для щурів, наведений у статті [15], втричі більший за встановлений у цій роботі для щурів-самиць (15,85 мг/кг), проте у 8 разів менший за DL_{50} вш для щурів-самців (645,65 мг/кг).

Значна різниця між показниками токсичності може бути зумовлена впливом багатьох факторів, таких як вік, стать, вага, здоров'я, генетична мінливість, дієта, час оцінки після введення речовини, температура навколишнього середовища, умови утримання (наприклад, тварини були ізольовані від інших або утримувалися групами), час дня/ночі та пора року [15].

Таблиця 3

Розрахунок показників для пробіт-аналізу кривої летальності мишей обох статей при гострому внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію»

Доза, мг/кг X	Летальність у відсотках, Y	Логарифми доз, X	Пробіти відсотків летальності, Y
374	25	2,573	4,33
187	7	2,272	3,52

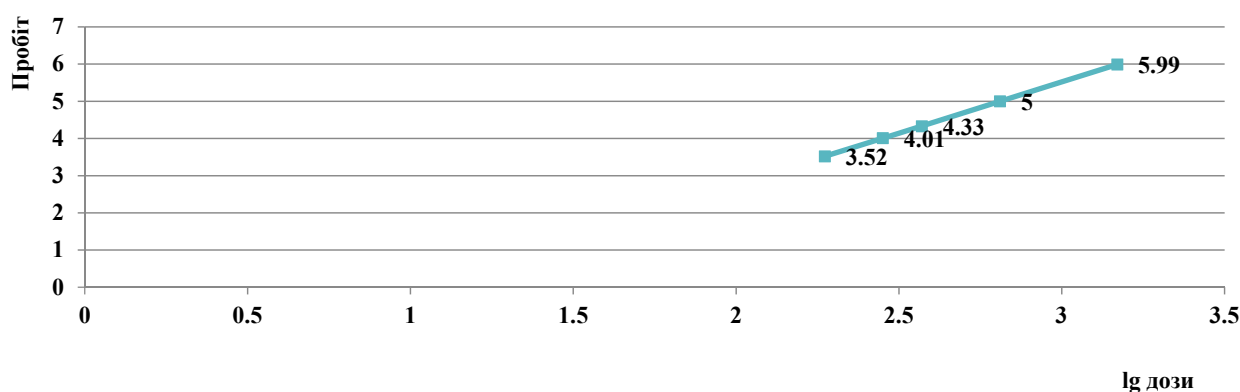


Рис. 3. Графік летальності мишей при одноразовому внутрішньошлунковому введенні препарату «Варфарин натрію»

У статті (Dearden, 2021) автори аналізують дослідження кореляції між летальними дозами (та/або концентраціями) для людей та великою кількістю середніх значень DL_{50} для щурів і мишей, отриманих при різних шляхах введення 36 хімічних речовин, серед яких є й варфарин [15].

Визначення гострої токсичності для гризунів є стандартною вимогою щодо оцінки потенційної гострої токсичності хімічних речовин для людини.

Автори статті [15] дійшли висновку, що медіанні значення DL_{50} для гризунів можна було б ефективно використовувати для отримання прогнозів токсичності для людини і таким чином компенсувати мільйони життів гризунів, які гинуть при тестуванні DL_{50} .

Установлені DL_{50} вш для двох видів піддослідних тварин роблять можливими розрахунки CL_{50} , оскільки ці токсикологічні показники мають між собою кореляційні зв'язки [6], [12].

CL_{50} для піддослідних тварин розраховували за рівнянням:

$$\lg CL_{50} = 1,041 \times \lg DL_{50} \text{ вш} + 0,29.$$

Як видно з графіка (рис. 1), DL_{50} вш для щурів-самиць становить 15,85 мг/кг ($\lg 1,2$). Отже, $\lg CL_{50} = 1,041 \times 1,2 + 0,29 = 1,5392$. CL_{50} для щурів-самиць становить 34,61 мг/м³.

Згідно з графіком (рис. 2), DL_{50} вш для щурів-самців становить 398,11 мг/кг ($\lg 2,6$). Отже, $\lg CL_{50} = 1,041 \times 2,6 + 0,29 = 2,9966$. CL_{50} для щурів-самців = 992,20 мг/м³.

DL_{50} вш для мишей, визначена за графіком (рис. 3), становить 645,65 мг/кг ($\lg 2,81$). Отже, $\lg CL_{50} = 1,041 \times 2,81 + 0,29 = 3,21521$. CL_{50} для мишей = 1641,31 мг/м³.

З метою уточнення на практиці достовірності розрахованих CL_{50} , які в перспективі можуть стати основою для розрахунку ГДК п.р.з. варфарину натрію, обов'язково потрібно провести випробування інтраназальним шляхом надходження препарату в організм піддослідних тварин (нелінійних статевозрілих щурів та мишей).

ВИСНОВКИ

1. У результаті гострих дослідів препарату «Варфарин натрію» були отримані показники токсичності DL_{50} вш для щурів-самиць (15,85 мг/кг), щурів-самців (398,11 мг/кг) та мишей (645,65 мг/кг), вони уможливають встановлення CL_{50} , яка в подальшому може стати основою для розрахунку гранично допустимої концентрації препарату в повітрі робочої зони.

2. Для визначення класу небезпеки був використаний DL_{50} вш найчутливішого виду тварин –

щурів-самиць. За цією величиною препарат «Варфарин натрію» відноситься до II класу небезпеки (високонебезпечні речовини), згідно з класифікацією Наказу МОЗ України № 1596 від 14.07.2020 «Про затвердження гігієнічних регламентів допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин у повітрі робочої зони».

3. Відомо, що стійкість щурів до препарату «Варфарин натрію» з часом збільшується, тож необхідно періодично проводити дослідження на цих тваринах обох статей для встановлення DL_{50} , оскільки цей показник, установлений на кілька

років раніше, з великою вірогідністю може втратити свою актуальність.

Внески авторів:

Главачек Д.О. – адміністрування проєкту, дослідження, концептуалізація, написання – рецензування та редагування;

Кондратенко О.Є. – формальний аналіз, ресурси, перевірка.

Фінансування. Дослідження профінансовано за рахунок ТОВ «Фарма Старт».

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Elango K, Javaid A, Khetarpal BK, et al. The Effects of Warfarin and Direct Oral Anticoagulants on Systemic Vascular Calcification: A Review. *Cells*. 2021;10(4):773. doi: <https://doi.org/10.3390/cells10040773>
2. Gulati S, Gulati A. Anticoagulant rodenticide poisoning. *Indian J Med Spec*. 2018;9(3):150-3. doi: <https://doi.org/10.1016/j.injms.2018.04.010>
3. Assessment report Warfarin product type 14 (rodenticides). Directive 98/8/EC concerning the placing biocidal product on the market. Inclusion of active substances in annex I or IA to Directive 98/8/EC. European Chemicals Agency, Ireland; 2009. 61 p. Available from: <https://circabc.europa.eu/sd/a/5bcfe8f9-228c-4bff-a347-556018a9af30/2009-09-16%20BPD%20Warfarin%20AR.pdf>
4. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004. PubChem Compound Summary for CID 16204922, Warfarin Sodium; [cited 2023 Apr 01]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Warfarin-Sodium>
5. Warfarin sodium. Certificate of quality control department. Cadila Healthcare Limited [Internet]. 2018 [cited 2023 Jun 21]. Available from: <https://www.zyduscadila.com/>
6. [On approval of guidelines "Justification of the maximum permissible concentrations of drugs in the air of the working area and the atmospheric air of populated areas". Order of the MH of Ukraine dated 2005 Oct 21 No. 544] [Internet]. 2005 [cited 2023 Jun 21]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0544282-05#Text>
7. [On the approval of methods for conducting research on the specific activity, safety, quality (efficacy) of disinfectants and their testing in practice. Order of the MH of Ukraine dated 2020 Sept 03 No. 2024] [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 21]. Ukrainian. Available from: <https://moz.gov.ua/article/ministry-mandates/nakaz-moz-ukraini-vid-03092020--2024-pro-zatverdzhennja-metodiv-provedennja-doslidzen-specifichnoi-aktivnosti-bezpechnosti-jakosti-efektivnosti-dezinfekcijnih-zasobiv-ta-ih-viprobuвання-na-praktici>
8. [On approval of hygienic regulations for the permissible content of chemical and biological substances in the air of the working area. Order of the MH of Ukraine dated 2020 Jul 14 No. 1596] [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 21]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0741-20#Text>
9. Smith AJ. Guidelines for planning and conducting high-quality research and testing on animals. *Lab Anim Res*. 2020;21. doi: <https://doi.org/10.1186/s42826-020-00054-0>
10. Erhirhie EO, Ihekwereme CP, Ilodigwe EE. Advances in acute toxicity testing: strengths, weaknesses and regulatory acceptance. *Interdiscip Toxicol*. 2018;11(1):5-12. doi: <https://doi.org/10.2478/intox-2018-0001>
11. Halmi MI, Rahim MB, Othman AR. Estimation of LC50 and its Confidence Interval for the Effect of Ferrous Sulphate on *Catla catla*. *JEMAT*. 2018;6(1):21-3. doi: <https://doi.org/10.54987/jemat.v6i1.402>
12. [On the approval of the Methodological Guidelines "Justification of the permissible exposure limits (PELs) of chemical substances in the atmospheric air of populated areas". Order of the MH of Ukraine dated 2004 Oct 07 No. 485]. [Internet]. 2004 [cited 2023 Jun 21]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0485282-04#Text>
13. Dutta S, Sharma PK, Misra AK, et al. A Case Report on Warfarin Induced Skin Necrosis: Drug-drug Interaction or Inappropriate Therapy. *J Pharm Sci Therap*. 2018;4(1):230-3. doi: <https://doi.org/10.18314/jpt.v4i1.1445>
14. Nsaful J, Adjei YO, Dedey F, et al. Warfarin-induced skin necrosis: a rare condition. *Ghana Med J*. 2020;54(4):269-73. doi: <https://doi.org/10.4314/gmj.v54i4.10>
15. Dearden JC, Hewitt M. Prediction of Human Lethal Doses and Concentrations of MEIC Chemicals from Rodent LD50 Values: An Attempt to Make Some Reparation. *Altern Lab Anim*. 2021;49(1-2):10-21. doi: <https://doi.org/10.1177/0261192921994754>

Стаття надійшла до редакції
26.04.2023