

Ніколаєва Я.Ю., Главачек Д.О.

Дослідження кумулятивних властивостей диклофенаку натрію та особливостей біологічної дії у підгострому експерименті

ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва
Національної академії медичних наук України»,
м. Київ, Україна

Nikolaieva Ya. Yu., Hlavachek D. O.

Study of cumulative properties of diclofenac sodium and features of biological action in a sub-acute experiment

State Institution "O.M. Marzeiev Institute
for Public Health of the National Academy
of Medical Science of Ukraine"
Kyiv, Ukraine

nikolaeva170691@gmail.com

Вступ

У світі щодня нестероїдні протизапальні препарати споживають приблизно 30, а щорічно – більше 300 мільйонів чоловік. За даними департаменту фармакологічного нагляду Державного експертного центру МОЗ України, поряд із ефективністю і необхідністю НПВП посідають третє місце за чисельністю побічних реакцій після антибіотиків, а за своїми токсичними властивостями і побічними реакціями деякі з них випереджають навіть каїнові анестетики [3].

Водночас одним із найпоширеніших нестероїдних протизапальних препаратів є диклофенак натрію. Цей лікарський засіб широко застосовується пацієнтами в усьому світі, зокрема в Україні.

Важливим аспектом, який обмежує застосування НПЗП загалом і препаратів диклофенаку зокрема, є ризик розвитку ускладнень верхніх відділів шлунково-кишкового тракту (ШКТ), серед яких найбільш загрозливими є виразкові кровотечі та перфорації, котрі часто призводять до летальності хворих, а також негативні ефекти з боку серцево-судинної системи та алергічні реакції у вигляді висипань на шкірі та свербіж [10; 11].

Згідно з біофармацевтичною системою класифікації активних фармацевтичних інгредієнтів диклофенак натрію відноситься до II класу [14; 15] та має високий ступінь мембранної проникності, що може призвести до всмоктування лікарського засобу вже у верхніх відділах ШКТ, унаслідок чого проявляються негативні ефекти та знижується ефективність.

Виходячи з вищезазначеного, важливим аспектом є дослідження кумулятивних властивостей цієї речовини, встановлення біологічної дії за гематологічними та біохімічними показниками крові та сироватки крові тварин.

Диклофенак активно використовується як у терапевтичній, так і у ветеринарній практиці з глобальним річним споживанням до 1000 тонн. Препарат часто

виявляють в очищених стічних водах, струмках, річках, озерах і навіть у питній воді. У дозі 1 мкг/л диклофенак спричиняє цитологічні зміни у печінці, нирках і зябрах райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*). Кілька інших досліджень виявили токсичний вплив на різні водні види, такі як звичайний короп (*Cyprinus carpio*), струмкова форель (*Salmo trutta fario*) та ціп'як (*Gasterosteus aculeatus*) [13].

Клас небезпеки для води диклофенаку натрію – 3 (постанова Німеччини – German Regulation). Він шкідливо впливає на водні організми з довготривалими наслідками.

За даними Національного центру біотехнологічної інформації США [12], DL_{50} для шурів становить: у разі перорального введення – 53 мг/кг, внутрішнього черевного – 25 мг/кг, підшкірного – 83 мг/кг, внутрішньовенного – 117 мг/кг, ректального – 85400 мкг/кг; DL_{50} для мишей становить: за перорального введення – 95 мг/кг, внутрішнього черевного – 74 мг/кг, підшкірного – 390 мг/кг, внутрішньовенного – 116 мг/кг; DL_{50} для собак: у разі перорального введення – 59 мг/кг, внутрішньовенного – 42 мг/кг. Для кролів цей токсикологічний параметр становить за перорального та внутрішньовенного введення 157 мг/кг та >100 мг/кг відповідно.

За іншими даними [11], DL_{50} у разі перорального введення мишам, шурам та мурчакам становила від 95 до 1300 мг/кг, від 53 до 1500 мг/кг та 1250 мг/кг маси тіла відповідно.

Згідно з Наказом МОЗ України № 1596 [7] ГДК у повітрі робочої зони становить 0,1 мг/м³ і відноситься до II класу небезпеки.

Відомості про ГДК диклофенаку натрію в атмосферному повітрі відсутні. Визначення цього гігієнічного нормативу є необхідним для забезпечення ефективної та науково обгрунтованої охорони навколишнього середовища.

Слід зазначити, що нині в Україні зареєстровано 144 торгових найменування лікарських засобів

диклофенаку різної форми випуску (таблетки, капсули, мазі, гелі, спреї, супозиторії, розчини для ін'єкцій), 43 з яких виготовляють 17 фармацевтичних підприємств України [2–4]. Ці заводи розташовані на всій території України, більшість із яких знаходиться у межах населених місць. Зважаючи на великі обсяги виробництва препаратів диклофенаку натрію, котрий унаслідок аварії може потрапити в атмосферне повітря населених місць, та враховуючи великий перелік побічних ефектів, необхідно визначити ГДК цієї субстанції, щоб забезпечити людей, які проживають поблизу заводів, працівники яких виробляють лікарські засоби, що містять диклофенак натрію.

Мета: визначити і дослідити структурно-метаболический та функціональний статуси, кумулятивні властивості диклофенаку натрію у підгострих дослідах на теплокровних тваринах.

Об'єкт та методи дослідження

Для дослідження ми застосували зразки зареєстрованої в Україні субстанції диклофенаку натрію виробництва "Amoli Organics Pvt. Ltd." (Індія).

З метою вивчення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію ми провели експерименти з підгострими внутрішньошлунковими та інтраназальними введеннями диклофенаку натрію щурам-самцям із середньою масою 441 г та мишам обох статей із середньою масою 29 г по 2 дози диклофенаку натрію (1/10, 1/20 від DL_{50} вш та CL_{50}). Усі тварини були розподілені на піддослідні та контрольні групи по 6 особин у кожній.

Тварини отримані з розплідника «Біомодельсервіс» (м. Київ) та пройшли акліматизацію під час утримання у стандартних санітарно-гігієнічних умовах віварію на збалансованому харчовому раціоні та вільному доступі до води за температури $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ із природним світловим режимом «день-ніч». Під час виконання експерименту дотримано норми і принципи, затверджені Гельсінською декларацією щодо гуманного поводження з тваринами (2000 р.) та Директивою Ради Європейського Союзу щодо захисту тварин, які використовуються з науковою метою (2010 р.).

Згідно з методичними рекомендаціями [6] основою для найпоширеніших методів оцінювання кумуляції у токсиколого-гігієнічних дослідженнях є визначення усередненої сумарної кількості речовини (мг/кг), яку ввели тваринам під час підгострого досліду до появи помітного ефекту, і співставлення цієї кількості з одноразовою середньою ефективною дозою DL_{50} . З урахуванням цього ми розраховували коефіцієнт кумуляції K_k за методом, розробленим Ю.С. Каганом і В.В. Станкевичем у 1964 році [9] та загальноприйнятим у вітчизняній токсикології і фармакології. Для кожного виду досліджень використовувалися контрольні групи тварин.

$$K_k = DL_{50}(n) / DL_{50}, \quad (1)$$

де K_k – коефіцієнт кумуляції; $DL_{50}(n)$ і DL_{50} – середні смертельні дози за багаторазового та одноразового введення відповідно.

Для кожного виду досліджень використовувалися контрольні групи тварин.

Щоденні внутрішньошлункові введення розчинів шурам (по 1 мл кожному) та мишам (по 0,5 мл кожній) вводили у стравохід тваринам за допомогою скляного шприца зі спеціальною негострою голкою та напаяною голівкою. Перед набиранням у шприц розчин ретельно збовтували. З метою знерухомлення тварин тримали за складку шиї ззаду неї. Напаяну голівку ми вводили повільно та обережно. Дослідження із визначення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію за внутрішньошлункового способу введення тривали 10 та 20 днів.

Експеримент із підгострими інтраназальними введеннями препарату проводили шурам та мишам по 2 дози диклофенаку натрію (1/10, 1/20 від CL_{50}).

Дванадцять мишей обох статей (50 / 50) було поділено на дві групи по шість особин у кожній. Дослідження з визначення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію за інтраназального способу введення тривали 10 та 20 днів.

Розчини диклофенаку натрію щоденно вводили інтраназально піддослідним тваринам за допомогою дозаторів із піпетками під легким ефірним наркозом. Мишам вводили розчини дозою 30 мкл, шурам – 300 мкл. Визначені для введення об'єми розчинів диклофенаку натрію та ефірний наркоз сприяли вдиханню препарату тваринами та запобігали його потраплянню до ротової порожнини [5]. Перед набиранням у носик дозатора розчини ретельно збовтували. Щурів та мишей тримали вертикально за складку ззаду шиї, щоб носові ходи були направлені вгору.

Структурно-метаболический та функціональний статуси ми визначали за гематологічними та біохімічними показниками крові та її сироватки.

Відбір цільної крові та її сироватки у піддослідних щурів проводили перед початком експерименту, а також на 10 та 20 добу від початку експерименту.

Розрахунок та аналіз отриманих результатів проводилися з використанням загальноприйнятих методів статистичної обробки результатів медико-біологічних досліджень (визначення середньоарифметичних величин досліджуваних показників, стандартної похибки, квадратичного відхилення) з обчисленням t-критерію Ст'юдента [1; 8].

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами попередніх досліджень, показник DL_{50} становив 550 мг/кг для мишей за внутрішньошлункового способу введення. Таким чином, з урахуванням ваги тварин введено такі дози: DL_{50} вш/10 = 1,595 мг, DL_{50} вш/20 = 0,7975 мг.

Аналогічним способом ми розраховували дози диклофенаку натрію для внутрішньошлункового введення шурам: DL_{50} вш = 54,83 мг/кг; DL_{50} вш/10 = 2,418 мг, DL_{50} вш/20 = 1,209 мг. У кожній групі було по 6 тварин. Контрольним групам тварин було введено відповідні дози дистильованої води.

У групі мишей, яким вводили щоденно дозу $DL_{50} / 20$, перша тварина загинула після 15 введень (сумарна доза – 412,5 мг/кг), ще одна – після 17 введень (сумарна доза – 467,5 мг/кг).

Отримані результати дозволили розрахувати потрібні параметри для пробіт-аналізу кривої летальності мишей обох статей за багаторазового внутрішньошлункового введення диклофенаку натрію ($DL_{50} / 20$).

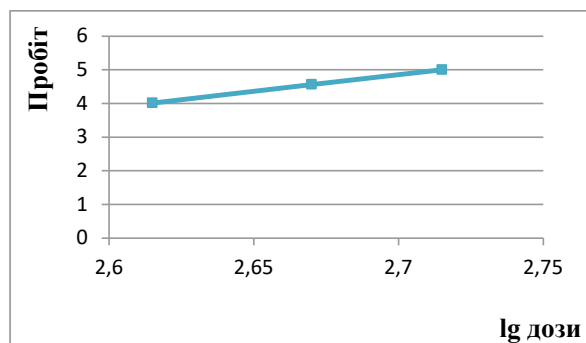


Рис. 1. Графічне зображення летальності мишей за багаторазового внутрішньошлункового введення диклофенаку натрію ($DL_{50} / 20$)

Якщо пряму подовжити (рис. 1), то пробіту 5 (50% смертності) відповідає логарифм 2,715 (доза 518,80 мг/кг).

$$K_k = DL_{50}(n) / DL_{50} = 518,80 / 550 = 0,94$$

У разі щоденного введення однієї двадцятої DL_{50} диклофенак натрію проявляє суперкумулятивні властивості, оскільки $K_k < 1$.

У групі щурів, яким вводили щоденну дозу $DL_{50} / 20$, загинула лише одна тварина після 13 введень (разова доза – 2,7415 мг/кг), сумарна доза – 35,64 мг.

У разі введення щурам та мишам однієї десятої DL_{50} диклофенаку натрію жодна тварина не загинула.

Звертає на себе увагу залежність K_k від щоденної дози введення: чим вона менша, тим більше виражені кумулятивні властивості диклофенаку натрію.

Задля вивчення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію ми провели експеримент із

підгострими інтраназальними введеннями препарату щурам та мишам по 2 дози диклофенаку натрію (1/10, 1/20 від CL_{50}).

На основі отриманих раніше CL_{50} для мишей = 71,61 мг/м³ розраховано дози, введені групам тварин, кожна з яких нараховувала по 6 мишей. Паралельно проведено дослідження з вивчення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію за інтраназального введення щурам-самцям аналогічним способом. CL_{50} для щурів = 243,11 мг/м³.

У групі щурів-самців, яким вводили щоденно дозу DL_{50} інтнз / 10, одна тварина загинула після 5 введень (сумарна доза – 26,735 мг/кг або 121,555 мг/м³), три – після 8 введень (сумарна доза – 42,776 мг/кг або 194,488 мг/м³) (табл. 2).

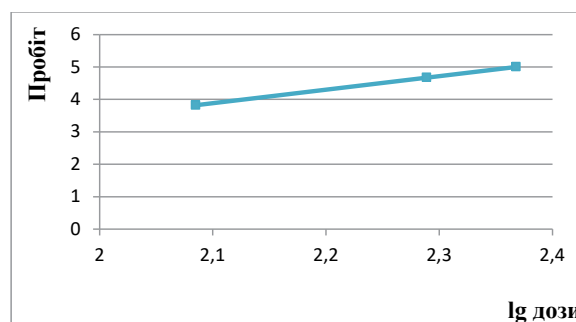


Рис. 2. Графічне зображення летальності щурів-самців у разі десятиразового інтраназального введення диклофенаку натрію

Якщо пряму подовжити (рис. 2), то пробіту 5 (50% смертності) відповідає логарифм 2,368 (доза 233,35 мг/м³).

$$K_k = CL_{50}(n) / CL_{50} = 233,35 / 243,11 = 0,96$$

За щоденного введення однієї двадцятої DL_{50} інтнз диклофенак натрію проявляє суперкумулятивні властивості, оскільки $K_k < 1$.

У групах щурів та мишей, яким вводили щоденно DL_{50} інтнз / 20, загинуло лише по одній тварині після 17 введень.

За введення щурам та мишам однієї десятої DL_{50} інтнз диклофенаку натрію жодна тварина не загинула.

Таблиця 1

Розрахунок параметрів для пробіт-аналізу кривої летальності мишей обох статей у разі багаторазового внутрішньошлункового введення диклофенаку натрію ($DL_{50} / 20$)

Доза, мг/кг, X	Летальність у відсотках, Y	Логарифми доз, X	Пробіти відсотків летальності, Y
412,5	16,7	2,615	4,01
467,5	33,3	2,670	4,56

Таблиця 2

Розрахунок параметрів для пробіт-аналізу кривої летальності щурів-самців за десятиразового інтраназального введення диклофенаку натрію

Доза, мг/м ³ X	Летальність у відсотках, Y	Логарифми доз, X	Пробіти відсотків летальності, Y
121,555	12,5	2,085	3,82
194,488	37,5	2,289	4,67

Таблиця 3

Вміст білка у сироватці крові щурів (мМоль/л)

Групи	Період дії фактора		
	Фон	10 діб	20 діб
Контроль	5,65 ± 0,19	6,44 ± 0,20	6,37 ± 0,12
DL ₅₀ /10	5,40 ± 0,16	5,40 ± 0,24*	6,12 ± 0,26
DL ₅₀ /20	5,63 ± 0,08	6,71 ± 0,13	6,17 ± 0,15

Примітка: * $p < 0,05$.

Таблиця 4

Лейкоцитарна формула підослідних щурів

Групи	Період дії фактора		
	Фон	10 діб	20 діб
Кількість еритроцитів периферичної крові щурів у динаміці експерименту, $\times 10^{12}/л$, (M \pm m)			
Контроль	7,94 \pm 0,1	8,49 \pm 0,15	8,26 \pm 0,14
DL ₅₀ /10	8,02 \pm 0,14	7,32 \pm 0,41*	7,95 \pm 0,17
DL ₅₀ /20	7,85 \pm 0,20	8,37 \pm 0,14	8,29 \pm 0,12
Вміст гемоглобіну в еритроцитах периферичної крові щурів у динаміці експерименту, г/л, (M \pm m)			
Контроль	147,00 \pm 2,65	156,57 \pm 1,96	150,14 \pm 2,42
DL ₅₀ /10	147,50 \pm 2,12	131,60 \pm 7,72*	134,80 \pm 5,15*
DL ₅₀ /20	145,13 \pm 2,79	148,75 \pm 3,31	144,71 \pm 3,02
Абсолютна кількість лейкоцитів периферичної крові щурів у динаміці експерименту, $\times 10^9/л$ (M \pm m)			
Контроль	11,26 \pm 0,77	10,73 \pm 0,71	9,84 \pm 1,18
DL ₅₀ /10	10,58 \pm 0,79	15,50 \pm 1,05*	11,64 \pm 1,43
DL ₅₀ /20	10,66 \pm 0,89	13,03 \pm 1,13	10,04 \pm 0,91
Абсолютна та відносна кількість гранулоцитів периферичної крові щурів у динаміці експерименту, (M \pm m)			
Абсолютна кількість гранулоцитів, $n \cdot 10^9/л$			
Контроль	8,20 \pm 0,53	8,31 \pm 0,71	7,97 \pm 0,64
DL ₅₀ /10	8,16 \pm 0,67	8,92 \pm 0,45	7,68 \pm 0,79
DL ₅₀ /20	8,49 \pm 0,51	8,69 \pm 0,31	7,87 \pm 0,91
Відносна кількість гранулоцитів, %			
Контроль	35,96 \pm 0,89	39,96 \pm 2,12	37,10 \pm 1,32
DL ₅₀ /10	36,60 \pm 0,31	35,86 \pm 0,84	38,00 \pm 2,47
DL ₅₀ /20	36,53 \pm 1,02	38,13 \pm 1,45	39,07 \pm 1,80
Абсолютна та відносна кількість лімфоцитів периферичної крові щурів у динаміці експерименту, (M \pm m)			
Абсолютна кількість лімфоцитів, $n \cdot 10^9/л$			
Контроль	10,85 \pm 0,64	11,16 \pm 0,33	11,03 \pm 0,57
DL ₅₀ /10	10,94 \pm 0,53	14,20 \pm 0,66*	10,70 \pm 0,88
DL ₅₀ /20	10,61 \pm 0,76	12,78 \pm 0,53*	10,00 \pm 0,68
Відносна кількість лімфоцитів, %			
Контроль	57,26 \pm 0,87	54,04 \pm 2,24	57,11 \pm 1,71
DL ₅₀ /10	55,96 \pm 1,37	56,96 \pm 1,31	55,40 \pm 2,90
DL ₅₀ /20	56,10 \pm 1,10	55,01 \pm 1,59	54,74 \pm 1,66
Абсолютна та відносна кількість моноцитів периферичної крові щурів у динаміці експерименту, (M \pm m)			
Абсолютна кількість моноцитів, $n \cdot 10^9/л$			
Контроль	1,20 \pm 0,05	1,26 \pm 0,05	1,09 \pm 0,09
DL ₅₀ /10	1,29 \pm 0,07	1,74 \pm 0,11*	1,20 \pm 0,17
DL ₅₀ /20	1,23 \pm 0,08	1,50 \pm 0,07*	1,20 \pm 0,08
Відносна кількість моноцитів, %			
Контроль	6,78 \pm 0,32	6,00 \pm 0,29	5,79 \pm 0,42
DL ₅₀ /10	7,40 \pm 0,28	7,18 \pm 0,47	6,60 \pm 0,67
DL ₅₀ /20	7,38 \pm 0,40	6,86 \pm 0,26	6,19 \pm 0,48
Абсолютна кількість тромбоцитів периферичної крові щурів у динаміці експерименту, $n \cdot 10^9/л$, (M \pm m)			
Контроль	674,63 \pm 25,99	687,14 \pm 50,65	650,57 \pm 30,85
LD ₅₀ /10	635,00 \pm 46,94	882,20 \pm 53,00*	668,40 \pm 46,35
LD ₅₀ /20	640,25 \pm 19,23	644,00 \pm 32,23	625,71 \pm 25,70
Рівень гематокриту периферичної крові щурів у динаміці експерименту, %, (M \pm m)			
Контроль	49,86 \pm 0,57	50,77 \pm 0,76	50,00 \pm 0,82
DL ₅₀ /10	50,71 \pm 0,66	45,30 \pm 2,73	46,56 \pm 1,69
DL ₅₀ /20	49,08 \pm 0,65	51,24 \pm 1,01	50,30 \pm 0,94

Примітка: * $p < 0,05$.

Звертає на себе увагу те, що в разі одноразового інтраназального введення диклофенаку натрію більш чутливими до нього є миші, CL_{50} для яких є майже втричі меншою, ніж для щурів. За десятиразових введень троє щурів загинуло, а всі миші вижили.

Структурно-метаболический та функціональний статус ми визначали за гематологічними та біохімічними показниками крові та її сироватки.

Показники вмісту загального білка у сироватці крові представлені у табл. 3.

Отримані результати показали, що досліджувана речовина (диклофенак натрію) може спричинити порушення показників метаболічних процесів в органах і тканинах. Така тенденція до зниження білка на 10 день може бути своєрідним індикатором етапу динамічних адаптаційних перебудов обміну речовин із подальшим розвитком метаболічних компенсаторних та регенеративних процесів в організмі під впливом диклофенаку натрію залежно від дози і терміну дії.

Загальний аналіз крові та підрахунок лейкоцитарної формули у щурів контрольної групи та щурів піддослідних груп проведений на всіх етапах експерименту. Отримані результати представлені у табл. 4.

Оцінюючи результати експериментального дослідження впливу диклофенаку натрію на гематологічні показники піддослідних тварин, можна констатувати кількісні зміни клітинних популяцій, що вказують на їх адаптаційний характер та формування захисно-адаптаційних процесів у крові. Зниження рівня гемоглобіну та абсолютної кількості еритроцитів може свідчити про перебудову в еритроцитарній системі крові. Крім того, зниження рівня гемоглобіну та абсолютної кількості еритроцитів може вказувати на різну швидкість синтезу і накопичення гемоглобіну в еритроцитарних клітинах кісткового мозку, на функціональну недостатність зрілих форм еритроцитів. Функціональна недостатність киснево-транспортної функції еритроцитів може спричинювати в організмі кисневу недостатність із подальшим розвитком порушень функціонування всіх органів та систем організму.

Підвищення абсолютної кількості моноцитів може свідчити про активацію імунних процесів, реактивних та агресивних властивостей організму, його компенсаторних механізмів. Оскільки наявність макрофагів є результатом дозрівання моноцитів, то опосередковано можна стверджувати і про активацію фагоцитарної функції організму дослідних тварин.

Ураховуючи підвищення абсолютної кількості лімфоцитів, можна припустити, що відбуваються посилення регенеративних процесів у популяції лімфоцитів та активація імунної системи на дію пошкоджуючого фактора.

Вищезазначені кількісні та якісні зміни гематологічних показників можуть указувати на недостатність киснево-транспортної функції еритроцитів, гіпоксичні

прояви в організмі, уповільнення окисно-відновлювальних реакцій, посилення імунної відповіді та реактивності. Подовження тривалості експерименту дозволить відокремити адаптаційні зміни гематологічних показників від патологічних станів.

Таким чином, характер змін біохімічних та гематологічних показників протягом експерименту може бути проявом мобілізації функціональних систем та формування адаптаційно-приспосувальних реакцій, спрямованих на підтримку сталості гомеостазу організму в умовах дії досліджуваного фактору з можливим подальшим їх зривом (за умови подовження часу дії досліджуваної речовини), а також із розвитком різних репараційних реакцій захисно-відновлювальних функціональних систем задля збереження динамічної рівноваги організму з навколишнім середовищем.

Перспективи подальших досліджень: отримані результати дослідження свідчать про доцільність і перспективність проведення подальшого встановлення та обґрунтування гранично допустимої концентрації диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць задля забезпечення ефективної та науково обґрунтованої охорони навколишнього середовища.

Висновки

1. Встановлено, що в разі щоденного внутрішньошлункового введення мишам та інтраназального введення щурам-самцям однієї двадцятої DL_{50} диклофенак натрію проявляє суперкумулятивні властивості, оскільки $K_k < 1$.

2. Показано, що за одноразового інтраназального введення диклофенаку натрію до нього більш чутливими є миші, CL_{50} для яких майже втричі є меншою, ніж для щурів. У разі десятиразового введення троє загинуло, а всі миші вижили.

3. Характер зміни біохімічних і гематологічних показників протягом експерименту є проявом мобілізації функціональних систем та формування адаптаційно-приспосувальних реакцій, спрямованих на підтримку сталості гомеостазу організму в умовах дії досліджуваного фактору, з можливим подальшим їх зривом (за умови подовження часу дії досліджуваної речовини), а також із розвитком різних репараційних реакцій, які забезпечують захисно-відновлювальні функціональні системи для збереження динамічної рівноваги організму з навколишнім середовищем.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати дослідження свідчать про доцільність і перспективність проведення подальшого встановлення та обґрунтування гранично допустимої концентрації диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць із метою забезпечення ефективної та науково обґрунтованої охорони навколишнього середовища.

Література

1. Антомонов МЮ. Математична обробка та аналіз медико-біологічних даних. 2-е видання. Київ : МІЦ «Медінформ», 2018. 579 с.
2. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua> (дата звернення: 09.05.2023).
3. Державний формуляр лікарських засобів.. URL: <https://www.dec.gov.ua/materials/chinnij-vipusk-derzhavnogo-formulyara-likarskih-zasobiv> (дата звернення: 09.05.2023).
4. Комpendіум – довідник лікарських препаратів.. URL: <https://compendium.com.ua> (дата звернення: 09.05.2023).
5. Стефанова ОВ. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). Київ: Авісена, 2002. 527 с.
6. Методичні вказівки «Обґрунтування гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і в атмосферному повітрі населених місць» : Наказ МОЗ України від 21.10.2005 № 544.
7. Про затвердження гігієнічних регламентів допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин у повітрі робочої зони : Наказ МОЗ України № 1596 від 14.07.2020 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0030282-00#Text>.
8. Фетісов ВС. Паке́т статистичного аналізу даних STATISTICA : навч. посіб. Ніжин : НДУ ім. М. Гоголя, 2018. 114 с.
9. Клімкіна ІІ, Грунтова ВЮ. Основи екологічної токсикології. Методичні рекомендації до виконання практичних робіт. Д. : НГУ, 2015. 44 с.
10. de Paiva Carvalho R.L., Leonardo P. S. L. M., Mendes G. D. et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamics of Sodium Diclofenac (Topical and IM) Associated with Laser Photobiomodulation on Skeletal Muscle Strain in Rats. *International Journal of Photoenergy*. 2019. Article ID 2782709. DOI: 10.1155/2019/2782709.
11. Diclofenac summary report. Committee for veterinary medicinal products. 2003. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. *Veterinary Medicines and Inspections*. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/diclofenac-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf.
12. Diclofenac sodium. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. 2022. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-sodium>.
13. Fu Q, Fedrizzi D, Kosfeld V et al. Biotransformation Changes Bioaccumulation and Toxicity of Diclofenac in Aquatic Organisms. *Environ. Sci. Technol.* 2020; 54 (7): 4400–4408. DOI:10.1021/acs.est.9b07127.
14. ICH harmonised guideline biopharmaceutics classification system – based biowaivers M9. Final version Adopted on 20 November 2019. URL: https://database.ich.org/sites/default/files/M9_Guideline_Step4_2019_1116.pdf (дата звернення: 06.05.2023).
15. Leslie Z. Benet et al BDDCS Applied to Over 900 Drugs *The AAPS Journal*. 2011; 13 (4). DOI: 10.1208/s12248-011-9290-9.

References

1. Antomonov MYu. Matematychna obrobka ta analiz medyko-biologichnykh danykh. [Mathematical processing and analysis of medical and biological data]. *Medinform*, 2018; 2: 579 (in Ukrainian).
2. Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy [Elektronnyi resurs]. URL: <http://www.drlz.com.ua> (data zvernennia: 09.05.2023).
3. Derzhavnyi formuliar likarskykh zasobiv. [Elektronnyi resurs]. URL: <https://www.dec.gov.ua/materials/chinnij-vipusk-derzhavnogo-formulyara-likarskih-zasobiv> (data zvernennia: 09.05.2023).
4. Kompendium – dovidnyk likarskykh preparativ. [Elektronnyi resurs]. URL: <https://compendium.com.ua> (data zvernennia: 09.05.2023).
5. Stefanova OV. Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv (metodychni rekomendatsii). *Avitsenna*, 2002; 527 (in Ukrainian).
6. Metodychni vkazivky «Obgruntuvannia hranychno dopustymykh konsentratsii likarskykh zasobiv u povitri robochoi zony i v atmosfernomu povitri naselenykh mist». *Nakaz MOZ Ukrainy* vid 21.10.2005 № 544.
7. Pro zatverdzhennia hihienichnykh rehlamentiv dopustymoho vmistu khimichnykh i biologichnykh rehovyn u povitri robochoi zony: *Nakaz MOZ Ukrainy* № 1596 vid 14.07.2020. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0030282-00#Text>.
8. Fetisov VS. Paket statystychnoho analizu danykh STATISTICA [Package of statistical data analysis STATISTICA]. *Navch. posib. Nizhyn: NDU im. M. Hoholia*. 2018;114 (in Ukrainian).
9. Klimkina II, Gruntova VYu. *Osnovy ekolohichnoi toksykolohii. Metodychni rekomendatsii do vykonannia praktychnykh robit* [Basics of environmental toxicology. Methodical recommendations for practical work]. 2015; 44 (in Ukrainian).
10. de Paiva Carvalho R.L., Leonardo P. S. L. M., Mendes G. D. Pharmacokinetic and Pharmacodynamics of Sodium Diclofenac (Topical and IM) Associated with Laser Photobiomodulation on Skeletal Muscle Strain in Rats. *International Journal of Photoenergy*. 2019. Article ID 2782709. DOI:10.1155/2019/2782709.
11. Diclofenac summary report. Committee for veterinary medicinal products. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. *Veterinary Medicines and Inspections*. 2003. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/diclofenac-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf.
12. Diclofenac sodium. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. 2022. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-sodium>.
13. Fu Q, Fedrizzi D, Kosfeld V. Biotransformation Changes Bioaccumulation and Toxicity of Diclofenac in Aquatic Organisms. *Environ. Sci. Technol.* 2020; 54 (7): 4400–4408. DOI:10.1021/acs.est.9b07127.
14. ICH harmonised guideline biopharmaceutics classification system – based biowaivers M9. Final version Adopted on 20 November 2019. URL: https://database.ich.org/sites/default/files/M9_Guideline_Step4_2019_1116.pdf (data zvernennia: 06.05.2023).
15. Leslie Z. Benet. BDDCS Applied to Over 900 Drugs *The AAPS Journal*. 2011; 13 (4). DOI: 10.1208/s12248-011-9290-9.

Мета: визначити і дослідити структурно-метаболический та функціональний статуси, кумулятивні властивості диклофенаку натрію у підгострих дослідах на теплокровних тваринах.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження кумулятивних властивостей, гематологічних та біохімічних показників крові нелінійних шурів та білих мишей проведено загальноприйнятими методами. Розрахунок та аналіз отриманих даних здійснено з використанням загальноприйнятих методів статистичної обробки результатів медико-біологічних досліджень (визначення середньоарифметичних величин досліджуваних показників, стандартної похибки, квадратичного відхилення) з обчисленням t-критерію Ст'юдента.

Результати. За результатами дослідження щоденного внутрішньошлункового та інтраназального введення однієї двадцятої DL_{50} диклофенаку натрію встановлено коефіцієнти кумуляції (0,94 для білих мишей та 0,96 для білих шурів-самців). Кількісні та якісні зміни гематологічних показників можуть вказувати на недостатність киснево-транспортної функції еритроцитів, гіпоксичні прояви в організмі, уповільнення окисно-відновлювальних реакцій, посилення імунної відповіді та реактивності. Спостерігається тенденція до зниження вмісту білка на 10 день. Отримані результати показали, що досліджувана речовина (диклофенак натрію) може спричинити порушення показників метаболических процесів в органах і тканинах.

Висновки. Встановлені показники підгострого досліду та визначення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію свідчать про суперкумулятивні властивості досліджуваної речовини, оскільки $K_k < 1$. Установлено, що диклофенак натрію належать до сильнотоксичних речовин (2 клас токсичності).

Ключові слова: диклофенак натрію, нестероїдні протизапальні лікарські засоби, токсикологічні дослідження, кумулятивні властивості, гематологічні показники, біохімічні показники крові.

Purpose. To determine and investigate the structural-metabolic and functional status, cumulative properties of diclofenac sodium in subacute experiments on warm-blooded animals.

Materials and methods. The study of the cumulative properties, hematological and biochemical parameters of the blood of non-linear rats and white mice was carried out by generally accepted methods. The calculation and analysis of the obtained data was carried out using generally accepted methods of statistical processing of the results of medical and biological research (determination of arithmetic mean values of the studied indicators, standard error, square deviation) with the calculation of the Student's t-criterion.

The results. Based on the results of daily intragastric and intranasal administration of one-twentieth the DL_{50} of diclofenac sodium, accumulation coefficients were determined (0.94 for white mice and 0.96 for white male rats, respectively). Quantitative and qualitative changes in hematological indicators may indicate insufficient oxygen transport function of erythrocytes, hypoxic manifestations in the body, slowing down of redox reactions, strengthening of immune response and reactivity. There is a tendency to decrease protein on day 10. The obtained results showed that the studied substance (diclofenac sodium) can cause a violation of indicators of metabolic processes in organs and tissues.

Conclusions. The established parameters of the subacute experiment and the determination of the cumulative properties of diclofenac sodium testify to the supercumulative properties of the substance under study, since $K_k < 1$. It was established that diclofenac sodium belongs to highly toxic substances (toxicity class 2).

Key words: diclofenac sodium, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, toxicological studies, cumulative properties, hematological, biochemical indicators in the blood.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflict of interest: absent.

Відомості про авторів

Ніколаєва Яна Юрївна – аспірантка, науковий співробітник лабораторії з контролю якості та безпеки продукції ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва Національної академії медичних наук України»; вул. Гетьмана П. Полуботка, 50, м. Київ, Україна, 02094.

nikolaeva170691@gmail.com, ORCID ID 0000-0003-4031-9967

Главачек Діана Олександрівна – науковий співробітник лабораторії гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва Національної академії медичних наук України»; вул. Гетьмана П. Полуботка, 50, м. Київ, Україна, 02094.

glavachek@gmail.com, ORCID ID 0000-0002-0512-6927