

ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ ПОДРАЗНЮЮЧИХ ОТРУЙНИХ РЕЧОВИН ТА РЕЦЕПТУР

Українська військово-медична академія, м. Київ

Історія створення, дослідження та застосування отруйних речовин подразнюючої дії сягає початку минулого сторіччя, а саме часів Першої світової війни. До цього часу зберігається значний інтерес науковців, військових фахівців до подразнюючих речовин (ПР) через їхні особливі властивості [1, 2, 3]. За тактичною класифікацією отруйні речовини подразнюючої дії відносяться до таких, що тимчасово позбавляють дієздатності, або, за визначенням Конвенції про заборону створення, виробництва, зберігання та використання хімічної зброї — до виснажуючих агентів. Також ще називають "поліцейськими газами", адже їх застосовують як засоби припинення громадських безладь (riot control agents) [4,5].

Речовини з подразливо-больовими властивостями і тепер можуть використовувати не лише у мирний час, а й при різних ситуаціях, у яких беруть участь збройні сили. Але ні в якому разі як засіб ведення бойових дій, що і передбачено положеннями міжнародних та вітчизняних правових регламентуючих документів [4, 5, 6]. Отже, хімічні сполуки з подразливо-больовими властивостями призначені для індивідуальної самооборони, а саме — пригнічення дієздатності агресивних осіб на короткій відстані або для об'ємного впливу на дальній дистанції, масового ураження та виведення з ладу біоб'єктів.

Існує і розробляється низка технічних засобів — портативних малого об'єму та крупнолітражних для генерації спрямованого струменя рідких аерозолів, а також для створення хмар об'ємного впливу твердих аерозолів, димів (гранати, димові шашки тощо) [7].

Активними діючими агентами в цих виробках є отруйні речовини подразнюючої дії, що відносяться за

своєю структурою до різних класів хімічних сполук.

Вищезазначене, а також постійна поява нових ПР природного і синтетичного походження, обумовлюють актуальність проблеми, що розглядається, всебічного і системного вивчення біологічної активності ПР, пошуку серед них ефективніших представників.

Незважаючи на наявність низки публікацій, присвячених вивченню механізму дії, токсикодинаміки загальновідомих ПР, й до сьогодні існує потреба розробки теоретично обґрунтованого алгоритму з досліджень отруйних речовин подразнюючої дії та їх медико-токсикологічної оцінки на підставі визначених критеріїв щодо цілей і призначення застосування.

Мета роботи — обґрунтування методичних підходів та визначення методики щодо розробки алгоритму з досліджень та медико-токсикологічної оцінки біологічної активності отруйних речовин подразливо-больової дії.

Матеріали та методи дослідження

Об'єкт даного дослідження — методи вивчення біологічної активності сполук хімічної природи. Предмет дослідження — методики визначення і оцінки специфічної активності, токсичності, механізмів дії подразливо-больових отруйних речовин. Використано методи аналітико-бібліографічної, токсикологічної оцінки, історичний, системного підходу. Матеріалами досліджень стали законодавчі та нормативні документи, науково-інформаційні публікації, методичні рекомендації, стандарти.

Результати та обговорення

При дослідженнях з розробки та оцінки нових зразків ПР необхідно враховувати умови їх застосування

та призначення. Головним критерієм для віднесення до групи ПР, якому мають відповідати представники будь-якого ряду хімічних речовин, — це наявність виражених властивостей подразнення.

В основі формування блоку методик на першому етапі скринінгових досліджень — пошук речовини, що є найбільш сильнодіючою за подразливо-больовими властивостями. Так, ступінь специфічної дії є головним критерієм вибору ПР. Не менш пріоритетний критерій — швидкість розвитку симптомів ураження. І нарешті, третя властивість ПР, яка, безперечно, має бути дослідженою — це тривалість специфічної дії, з чим пов'язаний термін виведення уражених з ладу. Але підходи щодо практичного використання останньої властивості мають бути диференційованими.

Саме практична цінність зазначених властивостей є запорукою їхнього застосування за певних умов мирного або воєнного часу.

Так, отруйні речовини подразнюючої дії набувають поширення і в наш час. В умовах мирного часу — як засіб індивідуального хімічного самозахисту від агресії, що спрямована проти цивільної особи. Також використовуються як допоміжний спеціальний засіб наведення правового порядку підрозділами Міністерства внутрішніх справ для впливу на некеровані агресивні натовпи при масових стихійних або організованих небезпечних вуличних заворушеннях, загрозах державним інституціям, громадському ладу, населенню [8]. ПР, що призначені до застосування в цих випадках, повинні мати саме ці властивості — швидкодію та виражений больовий синдром, справляючи залякуючий, стресовий ефект. Разом з тим, важливою властивістю для цих ПР є швидке відновлення орієнтації в навколишньому середовищі та дієздатності уражених.

В інших, більш екстремальних обставинах, зокрема воєнного часу, при збереженні вищезазначених властивостей цим речовинам мають бути притаманні якості значного дистанційного та об'ємного впливу і найдовша тривалість вираженої специфічної подразливо-больової дії. Такими ситуаціями можуть бути: необхідність протидії розвідувальним групам; недопущення диверсійних

акцій, націлених на руйнування комунікацій, ускладнення управління, постачання на цивільних та військових об'єктах; припинення терористичної активності, боротьба з організованими злочинними угрупованнями, проведення рятувальних операцій різного характеру, зокрема — визволення заручників; підтримання військовою поліцією статутного або правового ладу, в тому числі серед військовополонених або ув'язнених в установах військової пенітенціарної системи; припинення зовнішніх агресивних, в тому числі масових протиправних дій при захисті військових блок-постів, підрозділів тощо, в ситуаціях необхідності контролю над некомбатантами при виконанні миротворчих місій.

Численні літературні дані вказують на здатність речовин, що відносяться до подразнюючих, у порівняно малих кількостях викликати нестерпні відчуття печії та болю і виражені вегето-моторні реакції, пов'язані зі збудженням певних рефлексогенних зон за рахунок механізмів хімічної взаємодії молекул іритантів з ноцицепторами [9]. Тому доцільно випробувати гомологи тих класів хімічних речовин, які мають подразнюючі властивості. Серед них вибираються і добре відомі ПР, що раніше вивчалися, а деякі з них і застосовувались.

Ці речовини, по-перше, потребують додаткового експериментального дослідження, аби доповнити наукові дані про окремі характеристики їх специфічних властивостей. По-друге, їх використано у якості певних стандартів порівняння для поглибленого вивчення нових, взагалі недостатньо і невсебічно досліджених зразків.

Встановлення і оцінка параметрів специфічної дії можливі при виборі для експериментальних досліджень живих тест-систем, адекватних зазначеним цілям і достатніх за інформативністю отриманих даних.

При ураженні людини в реалізації хемалгічних ефектів ПР важливу роль відіграють емоційно-психічні реакції. Виявити і описати процеси сприйняття хімічного впливу, виникнення і диференціації болювого відчуття в дослідях на тваринах неможливо. Але тест-системи з їх складною організацією, що оби-

раються для експериментального дослідження властивостей ПР, мають достатню чутливість до дії ПР завдяки наявності у них аналогічних людині концентровано розташованих на покривних тканинах рефлексогенних зон. Хімічний вплив іри-тантів на ці зони справляє схожі з людиною чітко виражені рефлекс-торні реакції [10].

Ці реакції добре реєструються, хоча поріг їх виникнення є звичайно вищим, ніж поріг виникнення болю-вого відчуття. Вони корелюють з властивостями ПР, що вивчаються, а також є такими, що задовольняють вимогам статистичної обробки, дозволяють отримати, порівняти і прогнозувати якісні характеристики і точні кількісні параметри специфічного впливу ПР.

Для визначення наявності й особливостей видової чутливості до ПР, дослідження виконуються на декількох видах тварин [11]. Достатня кількість використаних тварин зменшує вплив на результати наявної в межах одного виду індивідуальної чутливості.

Значна роль належить аналізу, обґрунтуванню і вибору методик, щоб адекватно, об'єктивно і найбільш повно відтворити критеріально обумовлені властивості іритантів.

Визначаючи методи дослідження специфічної ефективності ПР та рецептур, слід враховувати особливості ураження. Дія ПР проявляється у людей суб'єктивним відчуттям печії, різкого болю в органах і тканинах первинного контакту: очах, у верхніх дихальних шляхах, на відкритих ділянках шкіри, що супроводжується слезотечею, виділеннями з носу, вираженим кашлем, стисненням за грудиною, дисрегуляцією дихання, головним болем, значними психо-емоційними розладами, нудотою, іноді — блювоту тощо. Інтенсивність прояву цих ознак подразливо-болювої дії, їх тривалість і термін втрати дієта боекратності визначають тяжкість ураження [8, 12, 13].

Такі наслідки ураження ПР є в основному результатом локального їх впливу на периферійні ноцицепторні сприймаючі структури зазначених слизових оболонок та шкіри з генерацією аферентної імпульсації, з наступним її проведенням по нервових волокнах, модуляцією та

аналізом у ЦНС та формуванням багатofакторної реакції-відповіді. Тому для моделювання дії ПР на тварин вибираються шляхи впливу, які є адекватними до реальних, а саме: на слизові оболонки очей, верхніх дихальних шляхів і на шкірні покриви. Експериментальне вивчення специфічної активності ПР базується на дослідженні захисних реакцій соматичного та вегетативного характеру, які розвиваються внаслідок дії ПР зазначеними шляхами.

Методи, в яких враховано шляхи впливу ПР на біооб'єкти, дозволяють оцінити роль окремих аферентів щодо формування особливостей реактивності у відповідь на ноцицептивне хімічне збудження, а також моделювати умови, які наближені до реального застосування подразнюючих сполук, рецептур.

Для первинної оцінки характеру сенсорного впливу ПР, що вивчаються, на рецепторні структури окремих покривних тканин (слизові оболонки очей, дихальні шляхи, шкіра) використовуються відповідні методи з локальним нанесенням розчинів іри-тантів. Такі апікації, по-перше, дозволяють найбільш точно дозувати ПР, здійснити з максимальною вірогідністю порівняльну оцінку іри-тантивних потенціалів декількох різних ПР і виділити з них найефективніші, а по-друге — передбачають вибірковість впливу на окремі рецепторні ділянки-мішені ізольовано від інших, визначаючи чутливість цих ділянок і частку їх ролі у формуванні вегето-соматичних реакцій відповіді організму на вплив ПР.

Реальне застосування ПР здійснюється у формі аерозолів, що дуже зручно для досягнення поставленої мети, зокрема вивчення і дослідження цих ПР згідно з їх призначенням [14, 15]. Так, дистанційному та об'ємному впливові відповідають ПР, які здатні утворювати дими при пірогенних возгонках та можуть бути застосованими за допомогою куль, гранат, димових шашок тощо.

Використання методик, які моделюють ураження ПР у вигляді аерозолів, є необхідною складовою програм дослідження цих речовин для збагачення інформативності наукових даних, зокрема про подразнююче-болюві властивості іри-тантів. А також з огляду на те, що ак-

тивність тієї ж самої речовини може значно відрізнятися при аплікаційному впливі її розчинів та в аерозольному стані. В останньому випадку, як правило, ПР виявляють свої специфічні властивості більшою мірою і при менших величинах токсикометричних показників подразнюючої активності за рахунок багатобічної дії на всі сенсоцепторні ділянки одночасно. Для моделювання умов, відповідних реальному способу застосування ПР, використовуються спеціально обладнані затравочні камери для генерації рідких або твердих аерозолів [16].

У якості біооб'єктів дослідження вибираються види лабораторних тварин (білі щури, морські свинки, кролики, собаки), у яких чітко проявляються виражені й такі, що підлягають статистичній обробці реакції на подразнення.

Найбільш інформативними, такими, що виникають з високою постійністю при дії ПР на очі та верхні дихальні шляхи та дозволяють проводити достовірний статистичний облік, є відповідно реакція блефароспазму і "оборонна реакція".

Контакт іритантів зі слизовими оболонками очей проявляється нощипцевим подразненням останніх, внаслідок чого розвивається спастичне скорочення та повне змикання повік (блефароспазм). Блефароспазм є захисним рефлексом оберігання ока від різного роду пошкоджень. Він є достатньо постійним і вираженим, тому вважається зручною моделлю для визначення специфічної подразнюючої дії саме на слизову оболонку очей тих сполук, що досліджуються.

Завдяки багатій аферентній іннервації, тригерною у виникненні захисної реакції у відповідь на дію хімічних агентів, є рефлексогенна зона верхніх дихальних шляхів. Досліди з випробування ПР при їх впливі на слизові оболонки верхніх дихальних шляхів лабораторних тварин різних видів проводяться за методикою "оборонна реакція", що є найбільш специфічною та такою, що виникає постійно у відповідь на потрапляння подразнюючого агента в носові ходи і полягає у появі у тварин (білих щурів, морських свинок) оборонного рефлексу, який проявляється інтенсивними рухами чухання ділянки носа (мордочки)

іпсилатеральними передніми кінцівками.

Показовим і зручним об'єктом для вивчення дії отруйних речовин подразнюючої дії є шкіра тварин. Це проявляється розвитком гіперемії, набряком, появою петехій, десквамації, виразок, почухуванням ділянки ураження або її облизуванням, зміною поведінки, рухової активності. Методичним критерієм для оцінки активності іритантів при аплікаційному їх нанесенні на шкіру на ділянки, що заздалегідь депілюються, є тест "первинна еритема шкіри", з реєстрацією наявності зміни забарвлення уражених ділянок шкіри, а саме їх гіперемії і набрякості [17].

У результаті експериментів, як показники ступеня подразнюючої дії всіх випробуваних тест-зразків на очі, верхні дихальні шляхи, шкіру, для кожного з цих шляхів впливу та кожного виду використаних тварин розраховуються середньоефективні концентрації EC_{50} , застосовуючи метод пробіт-аналізу [18].

Крім EC_{50} , які є важливими токсикометричними характеристиками для оцінки та порівняння подразнюючих потенціалів речовин, що досліджуються, звертається увага на швидкість та тривалість прояву симптомів за часом, які корелюють з подразнюючою активністю іритантів і зі значеннями їх діючих концентрацій. Величина латентного періоду, що являє собою час від початку контакту ПР з тканиною до моменту появи реакції-відповіді, має зворотну залежність, а інтенсивність і тривалість симптомів за часом — пряму залежність від зростання величини концентрації ПР, що діє. Показники обробляються згідно зі статистичними методиками, оцінюються і порівнюються.

У подальшому, на другому етапі, досліджується ПР, яка має переваги за вказаними показниками з урахуванням передбаченого призначення.

Обов'язковою і першорядною умовою при розробці рекомендацій щодо будь-якого практичного використання кожного виробу або речовини хімічної природи є вивчення токсичності ксенобіотиків, як найбільш інтеграційного показника їх загальнобіологічної дії.

Поряд з наявністю в іритантів виражених властивостей викликати подразливо-больовий ефект, що має

бути єдиною причиною ураження як речовинами, що призначені для тимчасового виведення з ладу, іншими важливими критеріями вибору ПР для використання, на відміну від отрут смертельнодіючих, є низький ступінь небезпеки розвитку смертельного отруєння, найнижчі показники їх летальної токсичності і найбільша різниця між останніми та токсикометричними характеристиками специфічної подразнюючої дії. Беручи до уваги цю вимогу, вивчення біологічної активності ПР має передбачати визначення їх токсичності.

На скринінговому етапі вивчається гостра токсичність на декількох видах тварин у відповідності із прийнятими методичними підходами [19, 20], зокрема шляхом внутрішньошлункового введення іритантів та обов'язково — при однократному інгаляційному експериментальному ураженні.

У першій серії дослідів розраховуються середньосмертельні дози (LD_{50}), в основному, за методом Літчфілда та Уілкоксона [18]. При використанні більш крупних тварин (морських свинок, кроликів тощо), для визначення LD_{50} використовується і метод В.Б. Прозоровського та співавт. [21], який є достатнім для досягнення мети підтвердження порядку величин LD_{50} , класу токсичності іритантів та потребує для цього мінімальної кількості тварин, що є позитивним з біоетичних міркувань.

Незважаючи на те, що середньосмертельні дози є основними показниками токсичності речовин, їх характеристика небезпечністю отрут не вичерпується. Використовується ряд інших параметрів, обрахування яких дозволяє характеризувати токсичність речовин, що досліджуються, більшою чи меншою мірою розвитку гострого смертельного отруєння.

З цією метою використовуються такі показники: величина абсолютної токсичності — $1/LD_{50}$; варіабельність смертельних концентрацій — LD_{84}/LD_{16} ; функція кута нахилу S прямої доза-ефект; показник небезпеки розвитку смертельного отруєння (сумарний показник токсичності — $1/LD_{50} \cdot S$ [19, 20].

Оскільки характер використання ПР обумовлює найбільшу вірогідність та небезпеку ураження, в першу чер-

гу, інгаляційним шляхом, то у зв'язку з цим відомості про інгаляційну токсичність є важливим свідченням саме про небезпеку речовин подразнюючої дії, що вивчаються. При використанні методу однократного інгаляційного впливу основним критерієм нешкідливості аерозолів, що випробуються, є виживаємість піддослідних тварин при таких затравках.

Дослідження показників токсичності аерозолів здійснюється як в статичному, так і в динамічному режимі. Концентрації ПР у повітрі затравочної камери визначаються розрахунковим методом та аналітичним способом, основаним на методах спектрофотометрії [22]. Кінцева мета цих досліджень — розрахувати на підставі отриманих результатів середньолетальні концентрації (LC_{50}) ПР.

Серед досліджених речовин сполуками вибору за наявності у них вираженої специфічної активності мають бути такі іританти, у яких широта діапазону між величинами EC_{50} та LC_{50} є найбільшою. Змінюючи експозиції та кількості ПР, при випробуваннях досягаються такі концентрації ПР, які можуть на 2-4 порядки і більше перевищувати концентрації ефективної специфічної дії.

Створення рецептур ПР, які включають у якості активного подразнюючого агента один або декілька діючих компонентів, містять також й інші складові, що є розчинниками, допоміжними речовинами для утворення аерозолів, має сприяти підвищенню подразнюючої ефективності, зниженню токсичності, стабілізації аерозольної хмари. Враховуючи, що при впливі комбінації хімічних сполук (особливо декількох подразнюючих інгредієнтів) останні можуть володіти здатністю до антагонізму, синергізму, адитивної дії, потенціювання [9], зрозумілою виявляється потреба дослідження як специфічних, так і токсичних властивостей перспективних подразнюючих рецептур в цілому.

З метою оптимізації співвідношення активних інгредієнтів, наприклад, двокомпонентних подразнюючих рецептур, здійснюються дослідження по Леве [23]. В основу вибору доз, якими впливають на тварин, беруться показники EC_{50} для кожного компонента. Розчини,

які наносяться на поверхню очей або в носові ходи, містять комбінації різних відсоткових частин від статистично обрахованих для кожної ПР середньоефективних концентрацій (за тестом "блефароспазм" або "оборонна реакція"). В сумі частини використаних в експерименті доз інгредієнтів становлять 100% теоретичних EC_{50} в кожній з випробуваних комбінацій.

Внутрішньошлунковий метод гострого отруєння використовується для визначення найоптимальнішого за найменшою токсичністю співвідношення ПР у двокомпонентній рецептурі. В якості критерію, що свідчив про характер токсичності поєданого впливу, застосовуються теоретичні LD_{50} та LD_{99} зазначеної комбінації. При цьому в експерименті випробовуються відсоткові частини, починаючи з 10% і до 90% (з інтервалом в 10%) від LD_{50} та LD_{99} кожної із складових, що в їх сумі дорівнювало 100% теоретичних величин вказаних смертельних доз.

Наступний блок методик призначається для всебічної токсикологічної характеристики речовини, рецептури, що пропонується для втілення в практику застосування і які використовуються при створенні паспорта виробу.

У першу чергу властивості такої ПР мають повністю відповідати вимогам міжнародних і вітчизняних правових документів, тобто разом із здатністю діяти на достатньо безпечній відстані для того, хто захищається, концентрації іританту, що виводять з ладу, мають бути в сотні або тисячі разів меншими за токсичні, щоб не нанести людині травму або будь-яку шкоду для здоров'я чи життя [4].

Дані літератури свідчать про можливість розвитку при застосуванні ПР уражень різних за ступенем тяжкості, що залежить від способу їх застосування, діючої концентрації, яка утворюється, умов навколишнього середовища [5, 9]. Причому, якщо при легкому, середньому ступенях тяжкості уражений втрачає боє-працездатність на термін від десятків хвилин до декількох годин, то при тяжкому — втрата дієздатності може тривати протягом декількох діб. ПР, як правило, застосовуються проти осіб, котрі не забезпечені індивідуальними засобами захисту.

Відсутність у таких ситуаціях протигазів є, з одного боку, умовою досягнення цілей, які ставляться при прийнятті рішення про застосування ПР. З іншого боку, це може бути причиною ушкоджень, отруєнь або ускладнень та погіршення стану здоров'я, що становить медичну проблему. Щоб її розв'язати або уникнути подібних реакцій, необхідно провести ретельну і всебічну токсикологічну оцінку ПР для наукової медико-біологічної регламентації їх безпечності для запобігання стійких тривалих ушкоджень та отруєнь при використанні [5].

Також потрібно передбачувати ситуації, в яких збільшуються діючі на людину концентрації ПР та експозиції їх впливу, через що зростає загальнорезорбтивна доза, а також прояви місцевого ушкодження. Як видно з численних публікацій, недостатньо уваги приділено дослідженням саме з питань подразнюючої дії отруйних речовин.

У той же час, зазначена ситуація є реальною при впливові ПР на людей в натовпі. Адже разом з дезорієнтацією і руховим пригніченням, навіть при ураженнях середнього ступеня, обмежується вільне пересування, аби уникнути отруйної хмари. При цьому первинна аерозольна хмара, що утворюється в момент її возгонки за допомогою засобів доставки, здатна зберігатись у повітрі десятки хвилин і розповсюджуватись, швидко заповнюючи об'єм повітря на відстані понад 50 м. Концентрації іритантів у такій хмарі перевищують у десятки разів такі, що виводять з ладу [24]. Крім того, загальнорезорбтивна дія речовин виходить на перший план при аварійних ситуаціях і особливо в закритих приміщеннях: в дослідницьких лабораторіях, сховищах, де зберігаються, на підприємствах, де синтезуються ПР, виробляються, випробовуються рецептури та споряджуються ними засоби застосування, а також там, де отруйні речовини нейтралізуються, знищуються.

Саме тому розширюється обсяг досліджень для одержання наукових даних щодо більш об'єктивного і всебічного уявлення про токсичність ПР, а також про наявність і ступінь прояву у них властивостей загальнорезорбтивної дії.

Внутрішньоочеревинний та внутрішньовенний шляхи введення

найточніше моделюють загальнорезорбтивну токсичність, оскільки ксенобіотики при цьому оминають захисні (від зовнішнього середовища) бар'єри організму. Розрахунок LD₅₀ застосовується як основний критерій міри резорбтивної токсичності іритантів. З іншого боку, порівняння цих токсичних доз з іншими, наприклад, при внутрішньо-шлунковому введенні доводить достатність захисних властивостей таких бар'єрів.

Інгаляційна токсичність ПР визначається за методиками багатократних підгострих і хронічних затравок, що дає можливість встановити вірогідність небезпеки розвитку смертельного отруєння навіть при тривалій експозиції.

Оцінка ПР за ступенем токсичності та класами небезпечності при всіх шляхах надходження отруту здійснюється у відповідності до існуючих класифікацій (по ГОСТ12.1.007-76; К. К. Сидорову; С. Д. Заугольнікову тощо) [25, 26, 27]. Перевагу в подальших дослідженнях мають ПР, що за різних шляхів надходження, відносяться до IV-V класу небезпечності. Неможна використовувати ПР з критеріями токсичності та небезпечності, нижче III класу.

Беручи до уваги те, що при проявах специфічної дії для ПР характерними є відмінності видової чутливості, слід розраховувати її коефіцієнт при резорбтивній дії ПР. Цей коефіцієнт розраховується відношенням середньосмертельної дози для найменш чутливого виду тварин до середньосмертельної дози для найбільш чутливого виду тварин при однакових шляхах введення речовини [28].

Ключовим показником безпеки ксенобіотиків є відсутність у них здатності до кумуляції. Кумулятивні властивості ПР визначаються за коефіцієнтом кумуляції, що розраховується за допомогою метода Ліма [19].

Незаслужено і необґрунтовано практично не приділяється увага вивченню структурної організації тканин і органів внаслідок ураження ПР [29]. Морфологічні дослідження допомагають більш глибоко з'ясувати характер ушкоджуючої дії та резорбтивної токсичності ПР, наочно і точно розмежувати функціональність, зворотність порушень або наявність органічних змін,

підтвердити та проілюструвати отримані відомості про токсикодинамічні особливості ураження, більш повноцінно оцінити його наслідки. При будь-яких режимах затравки тварин гістологічними методами в динаміці потрібно вивчати, в першу чергу, структурну організацію рогівки і слизової кон'юнктиви, дихальні шляхи і легені, шкіру, а також і внутрішні органи, патоморфологічні прояви в яких (як, фізіологічні, так і функціональні), можуть бути наслідком загальнорезорбтивного впливу ПР.

Важливими інтегральними показниками оцінки змін в умовах впливу ПР є динаміка приросту маси тіла тварин та стан їх фізичної витривалості, які досліджуються в динаміці. Опосередковано характер змін цих показників може свідчити про стан метаболічних процесів в організмі, а також про достатність адаптивно-компенсаторних можливостей і резервів організму в умовах отруєння іритантами. З огляду на наявність статевих відмінностей приросту маси тіла, в експериментах з її визначення при ураженні ПР використовується по 2 групи тварин, а саме: самок та самців.

Для дослідження з визначення характеру впливу подразнюючих сполук на працездатність експериментальних тварин, тобто на здатність адаптуватись до фізичного навантаження, може використовуватись, наприклад, метод "проби з плаванням".

Як показники специфічної токсичної дії іритантів, доцільно вивчити закономірності змін чутливих до токсичного впливу ксенобіотиків параметри морфологічного складу периферичної крові. Проявами токсичного впливу можуть бути зміни кількісних показників гемоглобіну, кількості та якісних змін еритроцитів, лейкоцитів, визначення яких здійснюється за відомими методами, або з використанням автоматичних лічильників. Доцільно проводити аналіз лейкограми: вмісту нейтрофілоцитів, еозинофілів, лімфоцитів, моноцитів.

Оцінка специфічної дії ПР (на підставі спостереження і аналізу реакцій біооб'єктів на подразнення) та летальної їх токсичності є важливими елементами програми дослідження на організменному рівні. В той же час, ці дані не дають повного ваго-

мого за інформаційним наповненням уявлення про механізми дії, особливості впливу ПР на функції організму, специфічні або неспецифічні показники токсичності та небезпеки на органному, тканинному, клітинному рівнях. Тому всебічне вивчення токсикодинаміки ПР, зокрема кожного нового недостатньо дослідженого іританту та рецептури, які дозволяються регламентуючими та правовими документами для практичного втілення, потрібно вважати обов'язковим.

Відомо, що деякі ПР здатні викликати набрякові зміни при дії на шкіру, повіки, що вказує на можливе підвищення судинної проникності. В літературі також описано випадки набряку легень у людей внаслідок ураження окремими ПР у малому закритому просторі [30]. Тому важливо проведення дослідження для визначення ступеня впливу ПР на стан проникності судин, як патогенетичного механізму розвитку проявів подразнюючої й токсичної (в тому числі і загальнорезорбтивної) дії іритантів.

Інтегральним показником, який опосередковано демонструє функціональне напруження органів і свідчить про стан їх кровонаповнення та судинної проникності в умовах токсичної дії ксенобіотиків, є вагові коефіцієнти [11], що розраховуються на підставі вимірювання маси внутрішніх органів після впливу ПР.

Спочатку визначається зміна ваги легень, що першими підпадають під вплив аерозолів ПР. Досить постійною величиною для тварин одного виду є легенево-ваговий коефіцієнт, зміни котрого опосередковано свідчать про стан проникності аеро-гематичного бар'єру.

Дані саме про стан проникності судин в умовах інгаляційного впливу ПР можливо отримати з використанням радіоізотопного методу.

Нервова система, як видно з огляду літератури, в першу чергу залучається на всіх рівнях у процеси сприйняття, проведення, модуляції, аналізу, генералізації нервової імпульсації та виникнення специфічних реакцій ефекторних органів і систем при ураженні ПР рефлексорними отрутами [9]. З огляду на те, що значна роль у цих процесах належить центральній нервовій системі, а також враховуючи високу її чутливість до впливу хімічних чин-

ників, вивчається стан ЦНС при випробуваннях ПР.

При з'ясуванні наявності та характеру нейротропної дії ПР для вивчення ноцицептивних реакцій тварин при дії іритантів за показниками біоелектричної активності головного мозку, використовується метод електроенцефалографії [11].

Для попередньої оцінки впливу ПР на стан центральної нервової системи інформативним є метод Ірвіна. Також для вивчення поведінкових реакцій тварин при зазначених умовах отруєння ПР використовується метод відкритої площадки, який дає можливість оцінити орієнтувальну-дослідницьку реакцію, її загальну рухову компоненту та емоційну реактивність тварин [31]. За тваринами спостерігають в найближчі періоди після отруєння.

Вивчення однієї з головних токсикодинамічних характеристик, а саме: здатності ПР втручатись у життєво важливі процеси вуглеводного та особливо енергетичного обміну здійснюється із застосуванням біохімічних та гістоензиматичних методів. Гістохімічними методами дослідження надається особлива увага, оскільки вони є ланцюгом, що пов'язує дані щодо морфології та біохімії клітин, тканин, органів.

Так, визначаючи динаміку зміни рівню цукру в крові при ураженні ПР, оцінюється здатність тканин в цих умовах утилізувати глюкозу. Для отримання відомостей про можливість втручання ПР у внутрішньоклітинний метаболізм, визначається ферментативна активність каталази — складової антиоксидантної системи, що опосередковано свідчить і про стан окислювально-відновлювальних енергоутворюючих процесів, зокрема аеробного гліколізу. Використовується біохімічний метод визначення активності каталази (каталазного числа та показника каталази) крові по Баху і Зубковій [32].

Вирішуючи завдання з визначення характеру впливу ПР на внутрішньоклітинний метаболізм в умовах експериментального інгаляційного ураження іритантами, плануються дослідження активності ключових внутрішньоклітинних ферментів: цитохромоксидази (ЦХО), лактатдегідрогенази (ЛДГ), сукцинатдегідрогенази (СДГ), аденозинтрифосфатази (АТФ-ази), яким нале-

жить провідна роль в процесах аеробного гліколізу та забезпечення біоенергетики клітин. Динаміка змін, що визначається, дає можливість оцінити адаптивні здатності в умовах отруєння ПР. Для проведення прямого гістоензиматичного дослідження застосовуються методи визначення в кріостатних зрізах з нативної тканини органів активності ЦХО — по Зелігману; СДГ — по Нахласу; ЛДГ — по Гесс, Скарпеллі, Пирсу; АТФ-ази — по Вахштейну та Мейзелю [33].

Визначаючи ступінь небезпеки ПР, з'ясовується характер їх впливу на життєво важливі функції, котрі спрямовані на збереження гомеостазу. Зокрема досліджується функціональний стан печінки — органу, що є основним щодо знешкодження ксенобіотиків.

У першу чергу доцільно досліджувати активність маркерних ферментів пошкодження паренхіми печінки — аланінамінотрансферази (АлТ) та аспартатамінотрансферази (АсТ) сироватки крові, які є дуже чутливими показниками, що дозволяють в ранні терміни виявляти прояви гепатоцитолізу. Застосовується мікрометод визначення активності АлТ і АсТ в сироватці крові, розроблений А. А. Покровським і А. А. Щербаковою, а також об'єднується співвідношення активності трансаміназ АлТ:АсТ (коєфіцієнт де Рітіса) [32].

Для виявлення впливу ПР на антиоксидантний потенціал та енергетичні резерви печінки в тканині органу досліджується вміст глікогену, який виявляється реакцією Шифф-іодна кислота [33]. Також в умовах ураження ПР показовим є стан сечовиноутворюючої функції печінки, оскільки цикл уреогенезу, кінцевим продуктом якого є утворення сечовини, є важливішим аміакнейтралізуючим процесом. З цією метою в динаміці в периферичній крові проводиться визначення вмісту сечовини, азоту сечовини та залишкового азоту.

Активність монооксигеназної системи печінки в умовах ураження ПР оцінюється за тривалістю наркотичного сну. Для цього використовується гексеналова проба [11].

Отримання результатів досліджень описаних параметрів (активності зазначених трансаміназ, вмісту глікогену, сечовиноутворю-

ючої функції, активність монооксигеназної системи) значно розширює уявлення про характер впливу ПР на печінку і токсичні властивості конкретного іританту, що вивчається.

Нирки є життєво важливим органом з підтримки гомеостазу. З метою оцінки стану екскреторної функції нирок в умовах отруєнь тварин ПР, проводяться дослідження аналізу сечі, визначаючи в ній білок [32], сечовину, рН, що є чутливими показниками, які можуть вказувати на розвиток патологічних явищ у нирках. Після ураження ПР вимірюється також добовий діурез, зміна якого є одним з основних показників порушень системи виділення. Параметром стану ниркової функції, що може свідчити про зсуви гомеостазу, який також вираховується, оцінюється, за змінами якого спостерігають, є коєфіцієнт Urea ratio.

Важливим критерієм для оцінки безпеки ксенобіотиків є характеристика їх впливу на життєво важливу і одну з найчутливіших до будь-яких фізико-хімічних факторів фізіологічних процесів та функцій — репродуктивну. Результати досліджень репродуктивної функції в умовах багатократного отруєння може свідчити про токсичну дію ПР на розвиток плодів, а з іншого боку — на наявність чи відсутність у іритантів здатності проникати через плацентарний бар'єр, що вказує на можливість небезпечних, з огляду на ці характеристики, популяційних наслідків. Ембріотоксичність, складовими якої є ембріолетальна активність та тератогенна дія ПР, вивчаються за загальноприйнятими методиками [34].

Отримані дані щодо особливостей токсикодинаміки також лягають в основу розробки засобів фармакологічної корекції патологічних відхилень показників гомеостазу і життєдіяльності від меж норми, а також для дослідження лікувальної ефективності медичних засобів захисту.

Велике практичне значення мають методи дослідження окремих особливостей прямих та опосередкованих механізмів дії ПР [35], що є підґрунтям розробки специфічних медичних засобів захисту від ураження ПР, в тому числі й для використання в обсязі першої медичної допомоги.

Отриманий при проведенні будь-яких досліджень фактичний цифровий матеріал піддається обробці методом варіаційної статистики з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента [19], з оцінкою вірогідності отриманих результатів на рівні значущості не менше 95 % ($p < 0,05$).

Утримання тварин під час експериментів має відповідати принципам біоетики, міжнародним вимогам і правилам гуманного ставлення до лабораторних тварин [11, 36].

Висновки

1. Запропонований алгоритм та перелік методів експериментальних досліджень отруйних речовин та рецептур подразнюючої дії дозволяють зменшити витрати часу та зекономити фінансові ресурси для досягнення мети, проведення скринінгових досліджень, визначити найефективніші за специфічними властивостями, найбільш безпечні та найменш токсичні зразки.
2. Важливими критеріями ПР, які лягають в основу порівняльної

характеристики подразнюючих властивостей при здійсненні скринінгових досліджень, виходячи із визначених цілей (швидке виведення з ладу та зворотність симптомів ураження), призначень (для цивільних осіб, для правоохоронних чи для військових підрозділів) та умов (мала відстань та індивідуальний вплив або дальня відстань та масовий вплив, інгаляційний шлях дії), є: рівень іритативного потенціалу, швидкодія та тривалість проявів специфічної подразливо-больової активності. Широта інтервалу небезпечності ефективних доз і значення, на порядки, їх перебільшення (доз летальних) є ключовим скринінговим критерієм.

3. Подразливо-больові сполуки, які призначені для оснащення і застосування підрозділами збройних сил, повинні мати здатність найтривалішого за часом виведення з ладу уражених, втрати ними діє- та безздатності. А от тривалість проявів подразнення не є вирішальною властивістю

іритантів, призначених для впливу на незахищених індивідуальними засобами цивільних осіб (під час наведення громадського ладу підрозділами Міністерства внутрішніх справ).

4. У процесі оцінки ПР, що пропонуються до практичного використання, ретельнішу увагу слід приділяти методикам оцінки наявності загальнорезорбтивних властивостей, які можуть (в умовах впливу високих доз, концентрацій та експозицій) виявлятися на клітинно-тканинному та органному рівнях. Це також може свідчити про глибину ознак уражувачої дії та ступінь їх генералізації, направленість і ступінь зсувів гомеостазу, достатність адаптивних резервів його підтримання, про межі компенсаторних і дезадаптивних реакцій, зворотність і динаміку функціональних та метаболічних зрушень, що можна розглядати (на додаток до величин летальної токсичності) як показники небезпеки критеріїв вибору ПР у відповідності до призначення.

ЛИТЕРАТУРА

1. Advances in biological and chemical terrorism countermeasures / [R.J. Kendall, S.M. Presley, G.P. Austin, P.N. Smith]. — NW : CRC Press, 2008. — 304 p.
2. Romano J. A. Chemical warfare agents: chemistry, pharmacology, toxicology, and therapeutics / J.A. Romano, B.J. Lukey, H. Salem — 2 edition. — NW : CRC Press, 2007. — 723 p.
3. Ellison D. H. Handbook of chemical and biological warfare agents / D.H. Ellison — 2 edition. — NW : CRC Press, 2007. — 762 p.
4. Convention on the prohibition of the development, production, stockpiling, and use of chemical weapons and on their destruction. — The Hague : Technical secretariat of the organisation for the prohibition of chemical weapons, 2005. — 165, [10] p.
5. Olajos E. J. Riot control agents: issues in toxicology, safety, and health / E.J. Olajos, W. Stopford — NW : CRC Press, 2004. — 368 p.
6. Про міліцію : Закон України від 20.12.1990 №565-XII // Відомості Верховної Ради УРСР. — К. : Видання Верховної Ради УРСР. — 1991. — № 4. — Ст. 20. — С. 95 — 110.
7. Поражающие факторы газового оружия / А. П. Загрядская, С. И. Лебедев, А. Л. Федоровцев [и др.] // Нижегородский медицинский жур-
- нал. — 2000. — № 2. — С. 103-106.
8. Ballantyne B. Medical management of the traumatic consequences of civil unrest incidents: causation, clinical approaches, needs and advanced planning criteria / B. Ballantyne // Toxicol. Rev. — 2006. — V. 25, № 3. — P. 155-197.
9. Куценко С. А. Основы токсикологии / С.А. Куценко — Санкт-Петербург: Фолиант, 2004. — 720 с.
10. Effect of oleoresin capsicum (OC) and ortho-chlorobenzylidene malononitrile (CS) on ciliary beat frequency / S. Delamanche, P. Desforjes, S. Morio [et al.] // Toxicology. — 2001. — V. 165, № 2. — P. 79-85.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К. : Авіцена, 2001. — 528 с.
12. Watson K. Unintended cutaneous reactions to CS spray / K. Watson, R. Rycroft // Contact Dermatitis. — 2005. — V. 53, № 1. — P. 9-13.
13. Miller J. J. Inhalation injury after capsaicin exposure / J. J. Miller, J. Skolnick // J. ky. med. assoc. — 2006. — V. 104, № 3. — P. 103-105.
14. Recer G. M. An evaluation of the relative potential public health concern for the self-defense spray active ingredients oleoresin capsicum, o-chlorobenzylidene malononitrile, and 2-chloroacetophenone / G. M. Recer, T.B. Johnson, A.K. Gleason // Regul. Toxicol. Pharmacol. — 2002. — V. 36, № 1. — P. 1-11.
15. Sutherland R. G. Chemical and biochemical non-lethal weapons. Political and technical aspects / R.G. Sutherland — Stockholm : Elanders, 2008. — 41 p. — (SIPRI Policy Paper; № 23).
16. Обоснование предельно допустимых концентраций (ПДК) аэрозолей в воздухе рабочей зоны : метод. рекомендации. — М. : Министерство здравоохранения СССР, 1983. — 84 с.
17. Медико-биологические и химико-аналитические испытания безопасности и эффективности газового оружия самообороны: метод. указания. — М. : Министерство здравоохранения России, 1998. — 71 с.
18. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Бельский — Рига : Изд. АН Латв. ССР, 1959. — 113 с.
19. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия) / под ред. проф. И. В. Санюк. — М. : Медицина, 1970. — 343 с.
20. Санюк И. В. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических сое-

- динений / И. В. Саноцкий, И. П. Уланова. — М. : Медицина, 1975. — 328 с.
21. Прозоровский В. Б. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки / В. Б. Прозоровский, М. П. Прозоровская, В. М. Демченко // Фармакология и токсикология. — 1978. — № 4. — С. 497-502.
 22. Salem H. Inhalation Toxicology / H. Salem, S.A. Katz — 2 edition. — NW : CRC Press, 2006. — 1034 p.
 23. Кудрин А. Н. Применение математики в экспериментальной и клинической медицине / А. Н. Кудрин, Г. Т. Пономарева. — М. : Медицина. — 1967. — 356 с.
 24. Указания по военной токсикологии / под ред. И. М. Чиж. — М. : Министерство обороны РФ, Главное военно-медицинское управление, 2000. — 300 с.
 25. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : ГОСТ 12.1.007.-76. — [Дата введения 1977-01-01]. — М. : Госстандарт СССР, 1976. — 6 с. — (Межгосударственный стандарт).
 26. Заугольников С. Д. Экспрессные методы определения токсичности и опасности химических веществ / С.Д. Заугольников, М.М. Коченов, А.О. Лойт — Л. : Медицина, 1978. — 184 с.
 27. Измеров Н. Ф. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии : справочник / Н.Ф. Измеров, И.В. Саноцкий, К. К. Сидоров — М. : Медицина, 1977. — 240 с.
 28. Саноцкий И. В. Расчет коэффициента запаса при экспериментальном определении предельно-допустимых концентраций промышленных ядов / Промышленная токсикология и клиника профессиональных заболеваний химической этиологии. — М. : Медицина, 1962. — С. 35-37.
 29. Морфологічні зміни зовнішньої очної залози шурів при впливі лакриматора хлорацетофенону / Л. А. Гречаний, І. В. Мислюк, В. Г. Колачинський [та ін.] // Військова медицина України. — 2004. — Т. 4, № 3. — С. 70-73.
 30. Дресслер Г. К вопросу военно-медицинской оценки группы боевых отравляющих веществ раздражающего действия / Г. Дресслер // Z. Militarmed. — 1980. — Bd. 21, № 6. — St. 272-276.
 31. Балынина Е. С. К вопросу применения показателей поведенческих реакций в токсикологических исследованиях / Е. С. Балынина, Л. А. Тимофеевская // Гигиена и санитария. — 1978. — № 2. — с. 54-58.
 32. Клінічна біохімія : навчальний посібник / за ред. проф. О. П. Тимошенко. — 2-ге видання. — К. : Професіонал, 2005. — 292 с.
 33. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. — М. : Медицина, 1982. — 304 с.
 34. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию. — М. : Министерство здравоохранения СССР, 1985 — 31 с.
 35. Методологія проведення експериментальних досліджень з медикотоксикологічної оцінки отруйних речовин подразнюючої дії : методичні рекомендації / [О.Є. Левченко, М.А. Мохорт, Н.М. Серединська, та ін.] — К. : УВМА, 2009. — 79 с.
 36. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Strasbourg : Council of Europe, 1986. — 53 p.

О.Е. Левченко

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ РАЗДРАЖАЮЩИХ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ И РЕЦЕПТУР

В статье изложены методические подходы к изучению биологической активности отравляющих веществ раздражающего действия на основе анализа их свойств, с учетом предназначения и условий применения. Выбор методов исследований подчинен критериям, которым должны отвечать образцы раздражающих веществ: выраженная специфическая активность, наименьшая токсичность, отсутствие опасных функциональных и метаболических показателей общерезорбтивного действия, которые выходят за пределы адаптивно-компенсаторных резервов организма.

Ключевые слова: отравляющие вещества раздражающего действия, методы исследований.

O.E. Levchenko

BASIC METHODS OF RESEARCHES OF IRRITATING AGENTS AND COMPOUNDS

In the article the methodical approaches to the study of biological activity of irritating agents are expounded on the basis of their properties analysis, taking into account the intention and conditions of their application. The choice of the researches methods depend on the criteria which the samples of the irritating agents must be corresponded to: the expressed specific activity, the least toxicity and absence of such dangerous functional and metabolic indexes of resorptive actions which go out outside the adaptive and compensative reserves of the organism.

Keywords: irritating agents, research methods.