

«ПАРАДОКСАЛЬНЫЕ» ЭФФЕКТЫ В ТОКСИКОЛОГИИ, МЕХАНИЗМЫ И МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИХ ПРОГНОЗИРОВАНИЮ (по данным литературы и собственных исследований)

О.П. Васецкая, кандидат биол. наук, П.Г. Жминько, доктор биол. наук

ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И.Медведя Министерства Здравоохранения Украины», г. Киев

РЕЗЮМЕ. Цель работы. Обобщение литературных данных и собственных исследований о «парадоксальной» токсичности и механизмах «парадоксальных» эффектов ксенобиотиков, разработка методических подходов к прогнозированию «парадоксальной» токсичности.

Методы. Научный анализ данных литературы о «парадоксальных» эффектах ксенобиотиков. Изучение токсичности пестицидов (тебуконазола, этил-гексилового эфира 2,4-Д кислоты, хлорпирифоса) в дозах, соответствующих 1 ЛД₅₀ на фоне однократного перорального действия ивина в дозе 13 мг/кг (1/100 ЛД₅₀), антихолинэстеразной активности хлорпирифоса при изолированном и последовательном воздействии на организм крыс. Обоснование методических подходов к прогнозированию «парадоксальной» токсичности *in vitro*. Результаты. В работе дан научный анализ литературы и собственных исследований о «парадоксальной» токсичности химических веществ, механизмах «парадоксальных» эффектов. Обоснованы подходы к прогнозированию «парадоксальной» токсичности *in vitro*.

Выводы. «Парадоксальные» эффекты являются сложной биологической реакцией организма на воздействие ксенобиотиков на уровне низких доз и в каждом конкретном случае могут быть обусловлены различными механизмами и особенностями реактивных систем организма. Для РРР — производных N-оксид пиридина важную роль в механизме «парадоксальных» эффектов играет модификация биологических мембран. При выявлении «парадоксальных» эффектов следует устанавливать их значимость для организма, то есть идентифицировать на предмет — являются они повреждающими или представляют собой адаптационную реакцию организма. Прогнозирование «парадоксальной» токсичности *in vitro* целесообразно проводить поэтапно с использованием простых и информативных биологических моделей.

Ключевые слова: «парадоксальные» эффекты, механизмы действия, прогнозирование, производные N-оксид пиридина.

В настоящее время в современной токсикологии все большее внимание уделяется «парадоксальной» токсичности — проблеме, решение которой может иметь важное значение для раскрытия механизмов многих биологических эффектов, в том числе формирования химической патологии при воздействии различных соединений на низких и чрезвычайно низких уровнях доз или адаптации организма к их влиянию.

В данной статье предпринята попытка обобщить некоторые известные данные литературы о «парадоксальной» токсичности химических веществ и результаты собственных исследований регуляторов роста растений (РРР) — производных N-оксид пиридина с целью выяснения некоторых сторон механизма этого явления как общебиологической проблемы.

Ранее нами было показано, что при пероральном субхроническом поступлении в организм теплокровных животных производных N-оксид пиридина (ивина — 2,6-диметилпиридин-1-оксид, тримана — аква-N-оксид-2-метилпиридинмарганец-2-хлорид и тетраана — Ди(N-оксид-2-метилпиридин) цинк (II) хлорид) наблюдаются «парадоксальные» эффекты — отсутствует четкая зависимость «доза-время-эффект» по показателям состояния мембран митохондрий гепатоцитов и перекисного окис-

ления липидов (ПОЛ) в тканях печени и белок-синтетических процессов в организме крыс, усиление эффектов с уменьшением действующей дозы веществ [1-5]. Значимость этих эффектов для организма однозначно оценить трудно. В связи с этим, с целью оценки повреждающего действия, были дополнительно проведены исследования по изучению острой токсичности некоторых пестицидов, обладающих выраженным гепатотоксическим или антихолинэстеразным действием на фоне воздействия РРР ивина, наиболее широко используемого в сельском хозяйстве Украины.

В настоящее время в токсикологии отсутствуют методические подходы к прогнозированию «парадоксальной» токсичности. Учитывая важность данной проблемы, было бы целесообразно разработать подходы к прогнозированию парадоксальных эффектов, прежде всего в условиях эксперимента *in vitro*, поскольку исследования на лабораторных животных это дорогостоящий и трудоемкий процесс.

В связи с этим, целью настоящей работы явилось обобщение литературных данных и собственных исследований о «парадоксальной» токсичности и механизмах «парадоксальных» эффектов ксенобиотиков, разработка методических подходов к прогнозированию «парадоксальной» токсичности.

Материалы и методы исследований.

Проведен научный анализ данных литературы о «парадоксальных» эффектах, особенностях воздействия малых доз химических веществ на организм и биологические тест-системы *in vitro*, возможных механизмах «парадоксальной» токсичности.

Для установления токсикологической значимости «парадоксальных» эффектов, выявленных ранее у животных при воздействии РРР [1-5], проведены дополнительные исследования ответной реакции организма крыс на нагрузку гепатотропными и антихолинэстеразными пестицидами в дозе соответствующей 1 ЛД₅₀ на фоне однократного перорального воздействия ивина в дозе 13 мг/кг (1/100 ЛД₅₀).

Животным сначала вводили перорально ивин в указанной дозе, затем через 24 часа исследуемые пестициды в дозах соответствующих 1 ЛД₅₀ (гепатотропные вещества — тебуконазол в дозе 2375 мг/кг, этил-гексилловый эфир 2,4-Д кислоты — 540 мг/кг, антихолинэстеразное вещество — хлорпирифос — 75 мг/кг). За животными наблюдали в течение 14 суток, учитывали клинические признаки интоксикации, время появления, продолжительности и характер интоксикаций, гибель животных.

Исследования выполнены на 66 половозрелых крысах самцах Wistar Han (масса тела 180-200 г), в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP).

При действии фосфорорганического пестицида хлорпирифоса изучена антихолинэстеразная активность в сыворотке крови, эритроцитах и головном мозге крыс через 4 и 18 часов (в момент наибольшего проявления антихолинэстеразного действия вещества при изолированном поступлении в организм) по методу Hestrin S. [6].

На основании анализа литературы и собственных исследований о «парадоксальных» эффектах, полученных на различных тест-системах, обоснованы подходы к прогнозированию «парадоксальной» токсичности *in vitro*.

Результаты исследований и их обсуждение.
„Парадоксальная” токсичность. История исследуемого вопроса, особенности действия сверхмалых доз (СМД). Впервые «парадоксальные» эффекты химических веществ (снижение токсического действия ксенобиотика при повышении дозы или увеличение эффекта на низких уровнях доз, би- или полимодальная зависимость «доза — эффект») были выявлены еще в начале 20 столетия, но токсикологи считали это как артефакт и не уделяли должного внимания этим исследованиям. По этому поводу А. Albert (1958) отметил (По: С.В.Криштопенко и

др. 2001): «Разве кто-нибудь должен ожидать уменьшения токсического эффекта любой биологически активной субстанции по мере того как концентрация повышается? Тем не менее несколько примеров обнаруживается, где это происходит» [7, 8].

Термин «парадоксальная» токсичность впервые появился в 1964 году в работах А.Schatz. Существенные отклонения от классической зависимости «доза-эффект», «доза-время-эффект», выявленные в экспериментах на животных при исследовании разных ксенобиотиков, были названы А.Schatz и соавторами «парадоксальной» токсичностью [9]. Под термином «парадоксальная» токсичность обычно понимается уменьшение токсического действия исследуемого вещества при последовательном увеличении дозы или повышении токсичности при снижении действующих доз. Такая трактовка «парадоксальной» токсичности является приемлемой, поскольку отражает суть этого явления и согласуется с представлениями о «парадоксальной» токсичности многих ученых (Н.В.Лазарева, Н.С.Правдина, А.А.Голубева, В.А.Филова, Е.И.Люблиной и др.). Более точно это явление может быть определено как «парадоксальная» (нелинейная) зависимость «доза—эффект», «доза- время — эффект» для определенного диапазона доз.

В классической токсикологии принято считать, что эффект увеличивается пропорционально повышению дозы вещества. В этом случае большинство зависимостей «доза-эффект» имеют в арифметической сетке координат S-образный вид, в логарифмической — прямой. В случае «парадоксальных» эффектов кривая имеет бимодальный или полимодальный вид. Между каждым пиком эффекта имеется зона «провала» или «мертвая зона», где какой-либо эффект отсутствует [10, 11].

Обсуждая вопросы „парадоксальной» токсичности, нельзя обойти такое явление как гормезис, где эффекты проявляются на уровне низких доз. Гормезис был известен на столетие раньше, чем «парадоксальная» токсичность. Первые предположения о существовании гормезиса были выдвинуты Hugo Schulz и Rudolf Arndt в 1880 году при исследовании действия токсинов на дрожжи. Термин «гормезис» происходит от греческого слова „*hormēsis*”, что означает «быстрое перемещение». По С. Зонтману и Д.Эрлиху (1943 г) «гормезис — это стимуляция какой-либо системы организма внешними воздействиями, имеющими силу, недостаточную для проявления вредных эффектов». Проявление гормезиса имеет 2-х фазный характер — ингибирование и стимуляцию, на графике имеет U-образный вид. Гормезис проявляется при воздействии малых

доз радиации, некоторых ядов, лекарств и химических веществ [12 — 14]. Явление гормезиса нашло широкое применение в гомеопатии как самостоятельном направлении медицины. Вместе с тем, это направление медицины имеет много как сторонников, так и противников. Главным аргументом критиков гормезиса, как и «парадоксальной» токсичности, является отсутствие достаточной клинически подтвержденной базы данных, механизмов действия и подходов к оценке значимости этих эффектов. Основные аспекты проблемы гормезиса довольно широко освещены во многих публикациях и обобщены в работах [15 — 19] и др. В докладе Центральной токсикологической лаборатории Великобритании (1998 г.) указывается, что гормезис может иметь различные проявления и по характеру зависимости «доза-эффект» сопоставим с кривыми для «парадоксальной» токсичности [20]. В настоящее время гормезис рассматривается как немонотонная (парадоксальная) зависимость «доза-ответ» на различные неблагоприятные воздействия факторов окружающей среды. Поэтому термины «парадоксальная» токсичность и «гормезис» могут рассматриваться как синонимы [20, 21].

Анализ данных литературы показал, что „парадоксальные» эффекты выявлены для факторов как химической, так и физической природы: фармакологических средств — противоопухолевых, антималярийных, нейротропных препаратов, радиопротекторов, нейропептидов, гормонов, адаптогенов, иммуномодуляторов, антиоксидантов, химических веществ различного химического строения и назначения — олефинов, бифенилов, диоксинов, тяжелых металлов (олово, свинец, кадмий, ртуть, цинк), некоторых регуляторов роста растений (производные мочевины, пиридина и аспарагиновой кислоты, стероидные гликозиды и др.) [22 — 28].

В настоящее время накопилось множество фактов о «парадоксальной» токсичности химических веществ. В качестве ярких примеров приведем несколько из них, наиболее цитируемых в отечественной токсикологии.

А.Е.Голубев (1956-1957 гг) при ингаляционном воздействии сложных эфиров винилового спирта установил парадоксальное действие по токсическому отеку легких. В этом исследовании установлена пороговая концентрация указанного вещества на уровне 2 мг/л. В концентрациях 4, 6 и 8 мг/л отмечалось пропорциональное увеличение отека легких. В концентрации 10 мг/л наблюдалось снижение эффекта. С увеличением концентрации до 48 мг/л явления отека легких значительно уменьшались, и это связывают с тем, что вещество, начиная с концентрации 10 мг/л и выше, про-

являло наркотический эффект. Предварительная наркотизация животных амиталом натрия приводила к полной защите от этого поражения [29, 30].

По данным Д.С.Саркисова (1969), при введении мышам 0,2 мл 40 % раствора четыреххлористого углерода через день погибло в 2 раза меньше мышей, чем при введении его в той же дозе 1 раз в 2 недели. При этом в первом случае полученная общая доза четыреххлористого углерода была в 6 раз выше. Авторы считают, что при введении четыреххлористого углерода 1 раз в 2 недели интенсивность репаративного процесса была ниже, чем при введении через день, и не компенсировала повреждающего действия вещества [31].

Впоследствии было показано, что „парадоксальные» эффекты в большинстве случаев выявляются на низких и сверхнизких дозах. Способность ряда химических веществ проявлять биологическую активность в сверхмалых дозах была показана сотрудниками Московской ветеринарной академии им. К.И.Скрябина, а феномен СМД поначалу воспринимался как артефакт и долгое время у токсикологов вызывал недоверие. Однако факты о «парадоксальных» эффектах химических веществ при действии в малых и сверхмалых дозах накапливались и постепенно менялось отношение многих авторитетных ученых к этому явлению [32].

Изучая влияние некоторых антиоксидантов на электрическую активность изолированного нейрона виноградной улитки, было показано, что концентрация антиоксидантов 10^{-3} М была эффективной и в тоже время токсичной. В концентрации меньшей в 10000 раз они оказывали менее выраженное токсическое действие, но проявляли больший специфический эффект. При дальнейшем снижении концентрации антиоксидантов отмечалось повышение эффекта с максимумом в концентрации 10^{-15} М и нивелированием эффекта в концентрации 10^{-17} М [25, 33, 34].

Интересные данные были получены Л.А.Островской и соавторами при исследовании эффективности доксорубина. Показано, что противоопухолевая активность доксорубина зависела от его действующей концентрации. В концентрациях 10^{-5} М и 10^{-20} М отмечалось торможение развития меланомы В16, 10^{-10} М — стимуляция. В концентрации 10^{-20} М — выявлено торможение развития карциномы 755, 10^{-5} и 10^{-15} М — стимуляция [35]. Выявленные «парадоксальные» эффекты у доксорубина свидетельствуют о значимости этого явления, поскольку неправильно подобранная доза лекарственного средства может иметь обратный эффект ожидаемому.

Похожие результаты наблюдали и при действии других ксенобиотиков как в опытах *in vitro*, так и *in vivo* на различных биологических объектах — макромолекулах, клетках, органах, тканях, организмах и даже популяциях. Можно утверждать, что это не особенность какого-либо вещества, а еще недостаточно изученный тип взаимодействия биологических систем с физиологически активными веществами в сверхмалых дозах (СМД).

По мнению Е.Б.Бурлаковой и ряда других исследователей, граница СМД определяется числом молекул биологически активных веществ (БАВ) на клетку. В одном моле вещества находится около $6 \cdot 10^{23}$ молекул, а число клеток в любом многоклеточном организме (например, животного) составляет примерно 10^{10} , так что при введении БАВ в организм в дозах 10^{-12} – 10^{-13} М на одну клетку приходится от 10 до одной молекулы БАВ. Поэтому СМД, отвечают концентрации 10^{-12} М и ниже. В настоящее время Е.Б.Бурлакова и соавторы выделяют общие особенности действия СМД, характерные как для химических, так и физических факторов [33]:

1. Аномальная (немонотонная, нелинейная, полимодальная) зависимость «доза— эффект».

В большинстве случаев, максимальные эффекты наблюдаются в определенных интервалах доз и разделены «мертвой зоной», в которой практически изменений не отмечается.

2. Изменение чувствительности тест-объекта к разнообразным факторам: внутренним и внешним разной природы в зависимости от дозы и концентраций.

Чувствительность тест-объекта к действию разных факторов в токсических, субтоксических дозах и в СМД значительно меняется. Например, установлен синергизм (многократное усиление) действия двух противоопухолевых препаратов, при введении одного из них в СМД. Общая активность гербицидов также повышалась, если хотя бы один из них вводили в СМД. Описан феномен множественной химической чувствительности (Multiple Chemical Sensitivity, MCS) или „болезнь окружающей среды” ((Environmental illness), который является следствием сверхмалых доз химических веществ [36]. Особую роль в формировании MCS отводят пестицидам, промышленным химикатам, боевым отравляющим веществам.

3. «Знак» (направленность) эффекта зависит от тех характеристик, которыми объект обладал до того, как подвергся воздействию.

Примерами зависимости “знака” эффекта от начальных характеристик биологических объектов может служить разнонаправленное действие антиоксидантов на потенциалы изо-

лированных нейронов (высокий — понижает эффект, низкий — повышает эффект).

4. Свойства БАВ с уменьшением концентрации меняются, в частности при сохранении активности лекарственных препаратов исчезают побочные эффекты от их применения.

Например, с уменьшением концентрации широко используемого транквилизатора феназепам, побочные эффекты (сонливость, мышечная слабость, головокружение и тошнота) не наблюдаются, но его эффективность не снижается. В связи с этим в низких дозировках его рекомендуют принимать в дневное время [37].

5. Для физических факторов (например, радиационного облучения) эффект усиливается с понижением интенсивности воздействия в определенных пределах.

Показано, что минимальные значения показателей онкологической заболеваемости и показателей смертности у участников ликвидации последствий Чернобыльской аварии приходятся на дозу около 25 сГр, в то время как максимальные значения — на дозу 10^{-15} сГр [38].

«Парадоксальные» эффекты производных N-оксид пиридина. Нами на протяжении ряда лет изучались токсикологические свойства PPP — производных N-оксид пиридина (ивина, тримана, тетрана и комплексов ивина с органическими кислотами) как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*. Исследования *in vivo* проведены на крысах при пероральном субхроническом воздействии на организм в дозах соответствующих $1/100$, $1/1000$, $1/10000$ и $1/100000$ ЛД₅₀, для ивина это дозы 13,0; 1,3; 0,13 и 0,013 мг/кг соответственно [1-3, 5, 39].

Установлено, что при субхроническом действии ивин в дозах от 13 до 0,013 мг/кг вызывает фазовые изменения ПОЛ (по содержанию МДА) в митохондриях гепатоцитов крыс. Как видно из рис. 1, наиболее выраженные изменения уровня МДА наблюдаются в 2-х наименьших из изученных доз (0,13 мг/кг — 22 % — 55 %; 0,013 мг/кг — 33 % — 45 %) через 1 и 3 месяца исследований. С уменьшением дозы эффект через 1 месяц усиливался на 11 % и снижался на 10 % через 3 месяца.

Зависимость уровня МДА от дозы и времени действия ивина в дозах 13 и 1,3 мг/кг имела мономодальный характер с противоположным знаком. В меньших дозах (0,13 и 0,013 мг/кг) выявлена бимодальная зависимость. На всех уровнях доз прослеживается смена направленности действия.

При воздействии ивина (рис.2) значительных изменений содержания нуклеиновых кислот (НК) и белка в печени крыс в больших дозах не отмечалось, за исключением досто-

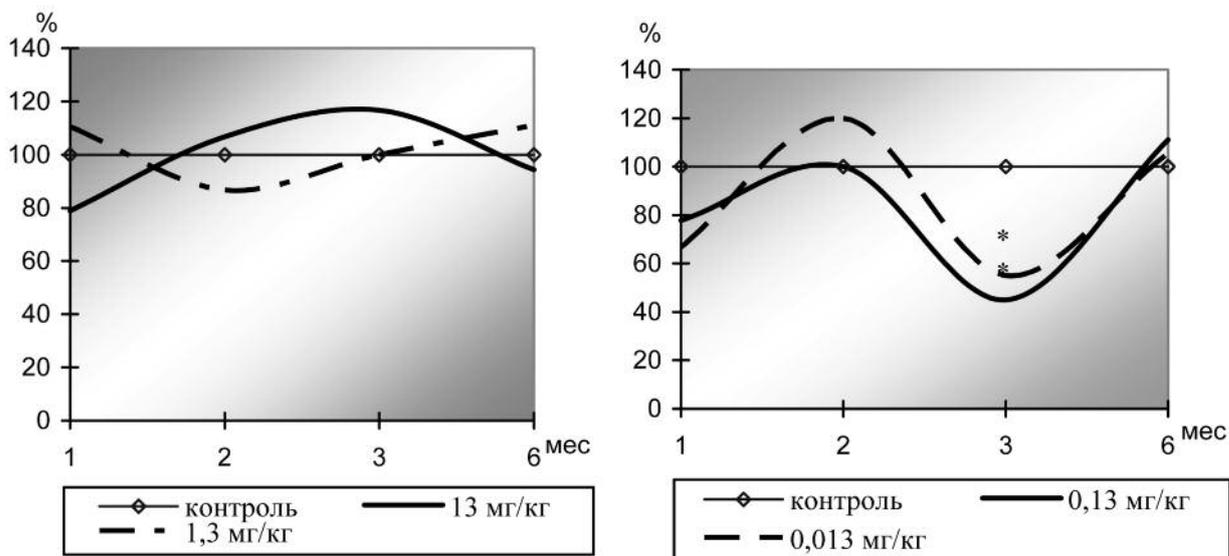


Рис.1. Кривые зависимости интенсивности ПОЛ (по содержанию МДА в печени) от дозы и времени воздействия ивина.
Примечание: * – P < 0,05

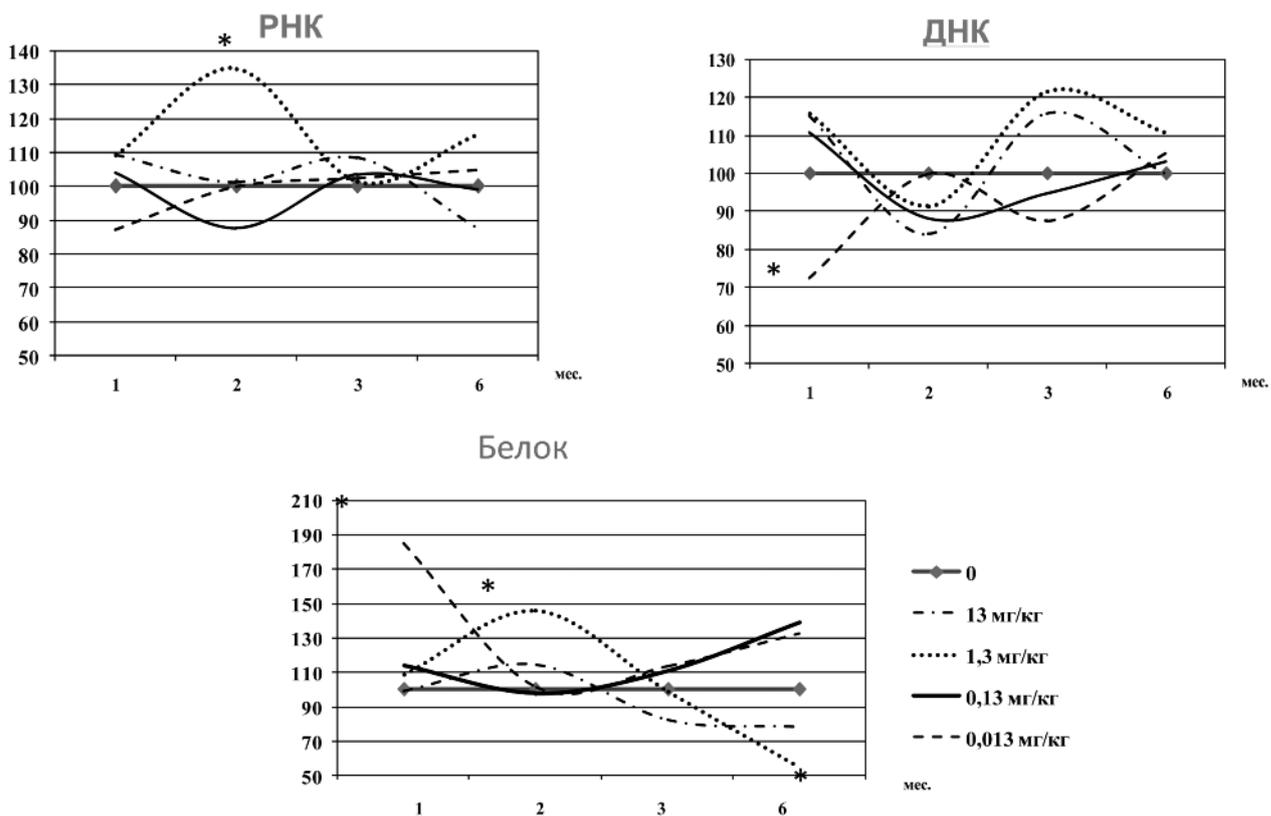


Рис.2. Содержание нуклеиновых кислот и белка (%) в печени крыс при субхроническом воздействии ивина
Примечание: * – P < 0,05

верного повышения содержания РНК (на 35%) и белка в печени (на 46 %) в дозе 1,3 мг/кг через 2 месяца. Через 6 месяцев выявлено достоверное снижение белка в печени (на 45 %). В максимальной дозе (13 мг/кг) отмечалось разнонаправленное содержание ДНК в печени, имею-

щее бимодальный характер, однако изменения ДНК не были достоверными.

При действии ивина в наименьшей дозе 0,013 мг/кг наиболее значимые изменения выявлены только через 1 месяц исследований — повышение уровня белка и снижение содержа-

ния ДНК в печени. Кривые зависимости НК и белка в печени также имели преимущественно моно- и бимодальный характер.

При всех изученных дозах ивина отмечались разнонаправленные изменения содержания мочевины и креатинина как в сыворотке крови, так и в моче. Кривые зависимости «доза-эффект» имели U-образный, моно- и бимодальный характер. По совокупности полученных результатов был сделан вывод, что ивин оказывает влияние на белоксинтетические процессы, при этом интенсификация синтеза белка превалирует над распадом.

Аналогичные данные получены также для тримана и тетрана [1, 4, 39]. Показано, что триман и тетран при субхроническом поступлении в организм крыс в дозах, соответствующих $1/10000$ и $1/100000$ ЛД₅₀, проявляют мембранотропную активность, о чем свидетельствует достоверное снижение содержания МДА, повышение пассивного набухания митохондрий, угнетение или индукция активности мембраносвязанных ферментов — сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы. Наиболее выраженный мембранотропный эффект проявлял триман, чем тетран. Мембранотропная активность тримана и тетрана не зависела от дозы и времени воздействия. Дестабилизация мембран носила транзиторный характер.

При действии тримана, также как и ивина, наблюдалась интенсификация белок-синтетических процессов в организме крыс (в отдельные сроки исследований повышался уровень белка в печени, содержание РНК, соотношение РНК/ДНК, содержание продуктов превращения белка — мочевины и креатинина). Тетран не оказывал влияния на белоксинтетические процессы в организме крыс [4, 39].

Исходя из результатов исследований, можно охарактеризовать некоторые особенности действия РРР (производных N-оксид пиридина) при длительном поступлении в организм:

- 1) Основными эффектами изученных производных N-оксид пиридина при длительном поступлении в организм крыс на низких уровнях доз является влияние их на мембраны и белок-синтетические процессы.
- 2) Отсутствует классическая зависимость «доза-эффект», «доза-время-эффект».
- 3) С уменьшением дозы наблюдается усиление выявленных эффектов.
- 4) Отмечается смена направленности действия.
- 5) Кривые зависимостей токсических эффектов от дозы имеют преимущественно нелинейный — U и бимодальный характер.

В настоящее время трудно однозначно оценить токсикологическую значимость выявленных „парадоксальных” эффектов при действии изученных РРР — производных N-оксид пири-

дина. Учитывая невыраженность и нестабильность выявленных мембранотропных эффектов и изменений белоксинтетических процессов в организме крыс при действии указанных веществ, можно предположить, что обнаруженные изменения направлены прежде всего на адаптацию организма.

Так, снижение интенсивности ПОЛ при действии изученных РРР может быть связано с изменением вязкости мембран в результате модификации их липидной фазы. Это нашло подтверждение в работах А.В.Бычко и В.К.Рыбальченко [40 — 42]. Было показано, что ивин в высоких концентрациях временно дестабилизировал липосомные и бислойные искусственные липидные мембраны. Низкие концентрации (1×10^{-9} — 1×10^{-5} М) ивина вызывали уплотнение молекул липидов мембран и упорядоченности углеводных цепей, что может обуславливать уменьшение их проницаемости и проникновение через мембраны других веществ, что в свою очередь может способствовать снижению токсических эффектов ксенобиотиков.

Чтобы проверить значимость выявленных эффектов ивина, нами проведены дополнительные исследования ответной реакции организма крыс на нагрузку некоторыми пестицидами в дозах, соответствующих 1 ЛД₅₀ на фоне однократного перорального воздействия ивина в дозе 13 мг/кг ($1/100$ ЛД₅₀).

Установлено (табл.1), что ивин снижает токсичность избирательно действующих на печень пестицидов — тебуконазола и этил-гексилового эфира 2,4-Д кислоты. При этом летальных исходов не наблюдалось, клинические проявления интоксикации были не выраженными, нормализация состояния организма происходила значительно быстрее, чем при изолированном введении исследуемых токсиантов. Положительный эффект ивина наблюдался и при воздействии антихолинэстеразного вещества — хлорпирифоса. По сравнению с изолированным действием хлорпирифоса отмечалась гибель только 1 животного из 6, что составляет 16,7 %. При этом холинэргических симптомов интоксикации не наблюдалось, ингибирование активности холинэстеразы в сыворотке крови, эритроцитах и головном мозге было менее выражено, чем при изолированном действии хлорпирифоса. Восстановление активности фермента холинэстеразы через 18 часов после воздействия хлорпирифоса на фоне ивина отмечалось быстрее, чем при его изолированном действии (табл.2).

На основании результатов исследований можно сделать вывод, что ивин способствует снижению токсического действия других ксенобиотиков и это может быть связано со стабилизацией биологических мембран.

Клинические признаки интоксикации и летальность крыс самцов при изолированном и последовательном действии некоторых пестицидов в дозах, соответствующих 1ЛД₅₀ на фоне ивина в дозе 13 мг/кг

Название веществ	Изолированное действие				Последовательное действие (ивин – 13 мг/кг + исследуемый пестицид – 1 ЛД ₅₀)		
	ЛД ₅₀ , мг/кг	Летальность, %	Симптомы интоксикации	Длительность интоксикации (начало – окончание)	Летальность, %	Симптомы интоксикации	Длительность интоксикации (начало – окончание)
Тебуконазол	2375	50	Угнетение, малоподвижность, взъерошенная шерсть, слювация, сгорбленность	4 часа – 8 суток	0	Малоподвижность, шумное дыхание	1 – 4 часа
Этилгексильный эфир 2,4-Д кислоты	540	50	Угнетение, малоподвижность, взъерошенная шерсть, слювация, слювочные выделения из носа, утиная походка, атаксия, ригидность хвоста, парез задних конечностей, энурез	1 час – 9 суток	0	Малоподвижность, взъерошенная шерсть, энурез	1 – 24 часа
Хлорпирифос	75	50	Снижение активности, взъерошенная шерсть, слювация, тремор, затрудненное дыхания, энурез, сгорбленность	1 час – 4 суток	16,7	Малоподвижность, сгорбленность, взъерошенная шерсть, энурез	3 часа – 2 суток

Таким образом, можно заключить, что выявленные «парадоксальные» эффекты при субхроническом действии производных N-оксид пиридина — ивина, тримана и тетраана не носят повреждающего характера, а направлены прежде всего на адаптацию организма к химическому стрессу.

Механизмы «парадоксальных» эффектов. В настоящее время нет общих механизмов, объясняющих возникновение «парадоксальных» эффектов. Существует несколько наиболее цитируемых в научной литературе гипотез механизмов «парадоксальных» нелинейных эффектов, возникающих на уровне низких и очень низких концентраций (доз).

1. Гипотеза каскадного действия вещества на биохимические реакции в клетке.

Для инициации каскада биохимических превращений достаточно небольшого числа молекул, способных специфически связываться с определенным сайтом на мембране клетки, например, рецептором. Наличие даже одной «сигнальной» молекулы приводит к появлению множества молекул–продуктов первой ферментативной реакции, которые активируют следующие этапы каскада. Таким образом, происходит «усиление» входного сигнала и значимый биологический эффект может быть обеспечен первоначально небольшим количеством сигнальных молекул [43].

Активность холинэстеразы (мМ/ч.л.) в биосубстратах крыс самцов при пероральном изолированном и последовательном действии хлорпирифоса в дозе 75 мг/кг после 24 часового воздействия ивина в дозе 13 мг/кг ($M \pm m$)

Группа животных (n=6)	Доза, мг/кг	Через 4 часа					
		Сыворотка крови	Степень ингибирования, %	Эритроциты	Степень ингибирования, %	Головной мозг	Степень ингибирования, %
Контроль	0	46,57±1,93	—	53,83±2,02	—	334.70±9.66	—
Хлорпирифос	75	24,93±2,34*	46,48	18,77±2,37*	65,13	289.07±21.75*	13,64
Ивин+ Хлорпирифос	13+75	25,80±2,63*	44,60	21,75±2,37*	59,59	313.05±28.27*	6,48
Через 18 часов							
Контроль	0	41,63±2,82	—	44,66±2,05	—	335.39±16,15	—
Хлорпирифос	75	23,87±2,49*	42,66	24,29±2,49*	45,61	275,64±20,58	17,81
Ивин+ Хлорпирифос	13+75	33,36±3,24	19,87	30,25±3,28*	32,27	300,30±17,05	10,46

2. Гипотеза лиганд-рецепторного взаимодействия.

Фермент или рецептор может содержать несколько разных по активности центров. В низких концентрациях лиганд (молекула вещества) связывается с наиболее активным центром рецептора. При увеличении концентрации лиганд связывается с другими менее активными центрами, а с первым центром аллостерически, при этом снижая его сродство к субстрату и тогда лиганд, который был связан с первым центром, освобождает его и взаимодействие с ним может произойти только тогда, когда концентрация вещества приблизится к значению константы диссоциации комплекса лиганда с этим центром рецептора [34].

3. Гипотеза, связанная с особенностями кинетики и накоплением вещества.

Примером может быть фумар (производное фумаровой кислоты), для которого установлена выраженная материальная кумуляция в тканях крыс.

При остром пероральном действии накопление его во внутренних органах имеет двугорбый характер. В условиях субхронического действия наблюдался лишь один максимум, но значительно выше, чем при однократном. Несмотря на выраженную материальную кумуляцию его в тканях, гибели животных не наблюдалось.

Двугорбый характер токсикокинетической кривой в остром эксперименте обусловлен тем, что первый максимум связан с накоплением фумара, а второй — накоплением его метаболитов. Максимум накопления вещества при субхроническом действии был обусловлен повышенным содержанием малотоксичных продуктов его метаболизма [28].

4. Гипотеза о «структурной памяти» воды.

Согласно гипотезы «структурной памяти» воды, растворенное в воде вещество образует «фантом» структуры этого вещества, а при дальнейшем разведении возникает процесс копирования этих структурных «фантомов» [11]. К данной гипотезе многие ученые относятся скептически, однако, на наш взгляд, не следует ее пренебрегать, поскольку эффекты, установленные на уровнях концентраций 1×10^{-40} М и ниже, когда в растворе не может быть присутствия исследуемого вещества, объяснить иначе не представляется возможным.

Не исключено, что возникновение «парадоксальных» эффектов может быть обусловлено индивидуальными и генетическими особенностями организма, а также другими еще неизвестными механизмами.

Исходя из собственных исследований, механизмы выявленных «парадоксальных» эффектов производных N-оксид пиридина (на примере ивина) можно представить следующим образом (рис.3).

По данным С.П.Пономаренко и А.В.Бычко [40, 41, 44 — 47], ивин может находиться в гидратированном и дегидратированном состояниях. При высоких концентрациях с мембраной взаимодействуют гидратированные молекулы. В результате модификации мембран наблюдается их дестабилизация (нарушение структурной целостности липидного слоя), что ведет к изменению клеточной сигнальной трансдукции, снижению белоксинтетических процессов и функции репаративных систем, усилению токсического эффекта.

При низких концентрациях с мембранами взаимодействует дегидратированный ивин. В результате модификации происходит стабили-



Рис.3. Возможный механизм нелинейных эффектов регуляторов роста растений – производных N-оксид пиридина

зация мембран (уплотнение липидов), при этом также наблюдается изменение клеточной сигнальной трансдукции, повышение белоксинтетических процессов и функции репаративных систем, что ведет к адаптации.

При равновесном содержании гидратированных и дегидратированных молекул ивина на мембранах модификация их не происходит (нивелируется их действие) и эффекта не наблюдается.

Таким образом, состояние биологических мембран и их роль в формировании «парадоксальных эффектов» может иметь важное значение.

Прогнозирование «парадоксальных» эффектов. Поскольку установление зависимости «доза-время-эффект», характера изменений и возможных механизмов нелинейных эффектов требует сложных и длительных исследований на лабораторных животных, оправданным является прогнозирование «парадоксальных» нелинейных эффектов на тест-системах в условиях *in vitro*.

В настоящее время не существует общих методических подходов как к изучению «парадоксальной» токсичности, так и к ее прогнозированию. На основании собственных исследований и данных литературы, мы попытаемся обосновать некоторые методические подходы к

прогнозированию «парадоксальных» эффектов.

Нами проанализированы некоторые тест-системы на которых были получены парадоксальные эффекты при воздействии РРР [39, 45, 48]: семена пшеницы, водоросли *Сценедесмус*, дафнии, инфузории, фибробласты человека, эпителий тонкого кишечника крыс, митохондрии гепатоцитов и другие.

Для ивина и агростимулина выявлена бимодальная кривая зависимости роста проростков пшеницы, водоросли и численности дафний. Кривые пролиферативной активности фибробластов эмбриона человека, митотической активности клеток тонкого кишечника крыс при действии Экостима и интенсивности ПОЛ (по содержанию МДА) в митохондриях гепатоцитов крыс при действии ивина и тримана имели моно- и бимодальный характер.

Наличие «парадоксальных» эффектов при действии РРР на различных биологических тест-системах как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, свидетельствует, во-первых, что это не артефакт, а эффект вызванный воздействием ксенобиотиков, во-вторых, этот эффект можно воспроизвести экспериментально, а следовательно и спрогнозировать.

Тест-системы – семена и водоросли более оправдано использовать для исследований

эффективности РРР и выявления «парадоксальных» эффектов, вызванных химическими веществами в растительных экосистемах.

Дафнии можно было бы использовать, однако при их использовании могут быть определенные трудности в диагностировании токсических эффектов, а учет эффекта только по их численности уступает другим биообъектам, в частности инфузориям.

Культуры клеток и животные являются наиболее идеальными для таких исследований, поскольку легче можно экстраполировать полученные данные на человека. Однако такой скрининг веществ на возможность «парадоксальной» токсичности будет более трудоемким, длительным и дорогостоящим.

В связи с этим в качестве биологической модели для прогнозирования «парадоксальных» эффектов нами использованы инфузории *Tetrahymena pyriformis* W. Этот объект удобен тем, что инфузории легко культивируются, удобны в обращении, для их содержания не требуется больших материальных затрат, быстро размножаются, что позволяет в короткое время получить результат. С биологических позиций также имеется ряд преимуществ использования этого биообъекта:

- это одноклеточный организм и представляется возможным легко сосчитать ответную реакцию на воздействие внешнего фактора;
- клетка инфузории в основном устроена так же, как и любые эукариотические клетки;
- состав и форма клеточных органелл у инфузорий близок к таким у клеток многоклеточных организмов;
- клетка инфузории окружена клеточной мембраной, имеющей типичное трехслойное строение;
- у инфузорий имеются мембранные (эндоплазматическая сеть, комплекс Гольджи, митохондрии) и ферментные системы, в частности цикл Кребса.

Все это дает возможность предположить сходные эффекты с другими тест-системами и использовать их для прогнозирования токсичности химических веществ.

Нами изучена хроническая токсичность 6 производных N-оксид пиридина в концентрации от 1×10^{-2} М до 1×10^{-28} М в разных фазах развития популяции инфузорий *Tetrahymena pyriformis* W. — лаг-фаза или в фазе замедления роста (24 часа), логарифмической фазе (48 часов), стационарной фазе роста (72 — 96 часов) [39, 49–51].

На примере ивина (рис. 3) показано, что при хроническом воздействии на организм инфузорий, он оказывал наиболее выраженный ингибирующий эффект в фазе стационарного роста, преимущественно во всех исследо-

ванных концентрациях. Значительный индуцирующий эффект выявлен в концентрации 1×10^{-10} М в лаг фазе и в чрезвычайно низкой концентрации 1×10^{-28} М в логарифмической и стационарной фазах роста.

Аналогичные зависимости «концентрация-эффект» были выявлены и для других изученных РРР (тримана, тетрана, Ди(N-оксид-2-метилпиридин)цинк(II)йодида, Ди(N-оксид-2-метилпиридин) янтарной кислоты и основного их метаболита N-оксид метилпиридина).

На основании результатов исследований установлено, что прирост численности инфузорий не зависит от действующей концентрации, не имеет линейной зависимости, отмечается смена направленности эффекта, кривые зависимости роста инфузорий от концентрации и времени действия имеют моно- и бимодальный вид. Характер кривых сопоставим с данными, полученными в эксперименте на животных. Это свидетельствует о том, что инфузории *Tetrahymena pyriformis* W. могут быть использованы для прогнозирования «парадоксальных» эффектов у животных.

При прогнозировании «парадоксальной» токсичности может быть рекомендован поэтапный подход.

1 этап. Исследования *in vitro* на инфузориях *Tetrahymena pyriformis* W., как наиболее простой и информативной биологической модели.

2 этап. Исследования *in vitro* на клеточном уровне (это могут быть фибробласты эмбрионов животных или человека, другие клеточные культуры), а также на субклеточном уровне (например, на митохондриях).

При условии выявления «парадоксальной» токсичности могут быть рекомендованы более углубленные исследования на животных.

3 этап. Исследования *in vivo* на лабораторных животных.

В исследованиях на животных следует изучать широкий диапазон доз, отражающий токсическое, субтоксическое действие вещества и уровни доз, которые являются недействующими и реально могут находиться в объектах окружающей среды и поступать в организм человека с продуктами питания, водой и атмосферным воздухом. Для исследований, наряду с лимитирующими показателями, целесообразно также включать те, которые могут отражать предполагаемые биохимические и физиологические механизмы действия вещества.

Несомненно, что данный подход к выявлению «парадоксальных» эффектов не может быть универсальным, в каждом конкретном случае, исходя из структуры вещества, его физико-химических свойств, предполагаемых механизмов биологического действия для

исследований могут быть обоснованы другие тест-системы *in vitro*, главное, чтобы избранный биологический объект максимально соответствовал поставленным задачам.

Выводы.

1. «Парадоксальные» эффекты не являются артефактом, а есть закономерной сложной биологической реакцией организма на воздействие внешних факторов на уровне низких доз (концентраций).
2. «Парадоксальные» эффекты в каждом конкретном случае могут быть обусловлены различными механизмами и особенностями реактивных систем организма. Для РРР-производных N-оксид пиридина основным является модификация биологических мембран.
3. При выявлении «парадоксальных» эффектов следует устанавливать их значимость для организма, то есть идентифицировать

на предмет – являются они повреждающими или представляют собой адаптационную реакцию организма.

4. Прогнозирование «парадоксальной» токсичности *in vitro* целесообразно проводить поэтапно с использованием простых и информативных биологических моделей (одноклеточных организмов, клеточных и субклеточных культур животных и человека). При выявлении «парадоксальных» эффектов *in vitro* могут быть рекомендованы исследования на животных.
5. Необходима дальнейшая систематизация и совершенствование методических подходов к изучению «парадоксальной» токсичности и прогнозированию «парадоксальных» эффектов.
6. Исследование «парадоксальной» токсичности ксенобиотиков, механизмов «парадоксальных» эффектов, а также установление их токсикологической значимости является актуальной задачей современной токсикологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жмінко О.П. Влияние некоторых производных N-оксид пиридина на мембраны митохондрий печени крыс при субхроническом пероральном воздействии / О.П. Жмінко // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – №1. – С. 50–54.
2. Жмінко О.П. Біологічна активність регуляторів росту рослин на рівні низьких і наднизьких доз в умовах *in vitro* та *in vivo* / О.П. Жмінко // 2 з'їзд Токсикологів України, 12–14 жовт. 2004 р.: тези доп. – Київ. – Х., 2004. – С.65.
3. Жмінко О.П. Вплив івіну на білковий обмін шурів при субхронічному надходженні до організму / О.П.Жмінко, О.П.Надточій, М.Г.Проданчук // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – №2. – С. 85–90.
4. Жмінко О.П. Вплив триману на білковий обмін шурів при субхронічному надходженні до організму / О.П.Жмінко, О.П.Надточій, М.Г.Проданчук // Антропогенно-змінене середовище України: ризики для здоров'я населення та екологічних систем: матеріали міжн. конф. – Екологічний вісник, спец. випуск. – 2003. – С. 550–558.
5. Жмінко О.П. Вплив регулятору росту росли івіну на мембрани митохондрий печінки шурів / О.П.Жмінко, М.В.Янкевич // 6-й Міжнародний конгрес студентів і молодих учених, 21–23 трав. 2002 р.: тези доп. – Тернопіль. – V., 2002. – С.229.
6. Hestrin S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxyamine and its analytical application / S. Hestrin // J.Biol. Chem. – 1949. – 180. – P.249–262.
7. Иваненко Н.В. Экологическая токсикология: Учебное пособие / Н.В. Иваненко. – Владивосток: Изд-во ВГУЭС, 2006. – 108 с.
8. Криштопенко С.В. Парадоксальная токсичность / С.В.Криштопенко, М.С. Тихов, Е.Б. Попова. – Н.Новгород: [б.и.], 2001. – 163 с.
9. Schatz A. The occurrence and importance of paradoxical effects in biological systems / A. Schatz, E. Schalscha, V. Schatz // Comp. Sci. – 1964. – V.5, №1. – P. 26 – 31.
10. Количественная токсикология / Голубев А.А., Люблина Е.И., Толоконцев Н.А., Филлов В.А. – М.: Медицина, 1973. – С.23–52.
11. Проблема малых и сверхмалых доз в токсикологии. Фундаментальные и прикладные аспекты / В.В.Булатов, Т.Х. Хохоев, В.В. Дикий [и др.] // Рос.хим.ж. (Ж.Рос.хим.об-ва им.Д.И.Менделеева). – 2002. – Т.XLVI. – №6. – С.58–62.
12. Southam C.M. Effects of extracts of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. / C.M. Southam and J. Ehrlich // Phytopathology. – 1943. – V.33. – P. 517–524.
13. Schumacher B. Transcription-blocking DNA damage in aging: a mechanism for hormesis / B.Schumacher // J. Bioessays. – 2009, Dec. – Volume 31. – Issue 12. – P.1347–1356.
14. Богданов И.М. Проблема оценки эффектов воздействия «малых» доз ионизирующего излучения / И.М.Богданов, М.А.Сорокина, А.И.Маслюк // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – С.145–151.
15. Calabrese E.J. The frequency of U-shaped dose responses in the toxicological literature / E. J. Calabrese, L.A. Baldwin // Toxicol Sci. – 2001. – V.62, № 2. – P. 330 – 338.
16. Calabrese E.J. Hormesis: a conversation with a critic. / E.J. Calabrese // Environ Health Perspect. – 2009. – V.117. – P.1339–1343.
17. Calabrese E.J. Hormesis as a biological hypothesis / E. J. Calabrese, L.A. Baldwin // Environ Health Perspect. – 1998. – V.106, Suppl 1. – P. 357–362.
18. Calabrese E.J. Hormesis: a highly generalizable and reproducible phenomenon with important implications for risk assessment / E. J. Calabrese, L.A. Baldwin, C. D. Holland // Risk Anal. – 1999. – V.19, № 2. – P. 261 –281.
19. К обоснованию гормезиса как фундаментальной биомедицинской парадигмы (обзор литературы и результатов собственных исследований) / Л.М. Шафран, А.В. Мокиенко, Н.Ф. Петренко [та інш.] // Современные проблемы токсикологии. – 2010. – №2–3. – С.13–23.
20. Roberts R.A. Report on Zeneca Central Toxicology Laboratory (CTL) seminar entitled 'The scientific and practical basis for thresholds in biology' held at CTL, Alderley Park, Cheshire, UK, 26 – 27th January 1998 / R.A. Roberts // Hum Exp Toxicol, May 1998. – Vol. 17. – №. 5. – P. 278–282.
21. Zoladz P.R. Linear and non-linear dose-response functions reveal a hormetic relationship between stress and learning. / P. R. Zoladz, D.M. Diamond // Dose Response. – 2009. – №7. – P.132–148.
22. Структурные изменения в мембранах эндоплазматического ретикулума при действии сверхмалых доз тиролиберина *in vitro* / В.Е. Жерновков, Н.Г. Богданова, Т.В. Лелекова, Н.П. Пальмина // Биологические мембраны. – 2005. – Т.22, №5. – С. 388–395.

23. Противоопухолевая эффективность совместного воздействия низкоинтенсивного электромагнитного поля и сверхмалых доз доксорубина / Л.А. Островская, М.И. Будник, Д.Б. Корман [и др.] // Механизм действия сверхмалых доз: III междунар. симпозиум, 3–6 дек. 2002 г.: тезисы докл. – Москва. – Изд. Рос. универ. дружбы народов. – 2002. – С. 25.
24. Бурлакова Е.Б. Эффект сверхмалых доз / Е.Б. Бурлакова // Вестник Российской Академии Наук. – 1994. – том 64. – №5. – С. 425–431.
25. Влияние ингибиторов радикальных реакций окисления липидов на электрическую активность изолированного нейрона виноградной улитки / Е.Б. Бурлакова, Т.Н. Греченко, Е.Н. Соколов [и др.] // Биофизика. – 1986. – Т.31, №5. – С.921–923.
26. Особенности биологического действия малых доз облучения / Е.Б. Бурлакова, А.Н. Голощапов, Н.В. Горбунова [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1996. – Т.36, вып.4. – С.610–631.
27. Шафран Л.М. Парадоксальная токсичность – интенсивно развивающееся направление современной токсикологии / Л.М. Шафран, Д.В. Большой // Тезисы доп. II з'їзду токсикологів України, 12–14 жовтня, 2004. – С. 17–18.
28. Богорад В.С. Прогноз токсичности нового регулятора роста растений фумара по результатам изучения его токсикокинетики / В.С. Богорад, Ю.В. Бардик // Гигиена и санитария. – 1992. – №3. – С.58–61.
29. Голубев А.А. Своеобразный случай зависимости между концентрацией и действием парообразного вещества / А.А. Голубев // Материалы конференции молодых научных работников. – М., 1956. – С. 27.
30. Голубев А.А. К токсикологии некоторых сложных эфиров винилового спирта, применяемых в производстве пластмасс / А.А. Голубев // Материалы по токсикологии веществ, применяемых в производстве пластмасс и синтетических каучуков. – JL, 1957. – С. 66–75.
31. Радиоавтографическое исследование взаимоотношений между частотой действия раздражителя и темпом репаративной регенерации печени / Д.С. Саркисов, Л.Д. Крымский, К.В. Боцманов [и др.] // Арх. Патол. – 1969. – №31(3). – С.22–31.
32. Точилкина Л.П. Феномен сверхмалых доз, гомеопатия и ФОВ. / Л.П. Точилкина // Ж. Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – №1, (31). – С.4–14.
33. Бурлакова Е.Б. Сверхмалые дозы – большая загадка природы / Е.Б. Бурлакова // Ж. Экология и жизнь. – 2000. – №2(14). – С.38–42.
34. Бурлакова Е. Б. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов / Е. Б. Бурлакова, А. А. Конрадов, Е. Л. Мальцева // Проблемы регуляции в биологических системах / Под общей ред. А. Б. Рубина. – М. – Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2006. – 480 с.
35. Чувствительность экспериментальных опухолевых моделей к сверхмалым дозам доксорубина / Л.А. Островская, Н.В. Блюхтерова, М.М. Фомина [и др.] // Механизм действия сверхмалых доз: III междунар. симпозиум, 3–6 дек. 2002 г.: тезисы докл. – Москва. – Изд. Рос. универ. дружбы народов. – 2002. – С.26.
36. Голденков В.А. Феномен множественной химической чувствительности как следствие воздействия сверхмалых доз веществ / В.А. Голденков, В.В. Дикий, Г.В. Лизунова // Российский Химический Журнал. – Том XLVI. – 2002. – № 6. – С.39–45.
37. Патент 2102986 Российская Федерация, А61К31/55. Способ лечения неврозоподобных и пограничных расстройств / Бурлакова Е.Б., Воронина Т.А., Чернявская Л.И. и др.; заявители и патентообладатели. – №93055801/14; заявл. 17.12.93; опубл.27.01.98.
38. Онкологическая заболеваемость и смертность среди участников ликвидации последствий Чернобыльской катастрофы: оценка радиационных рисков / В.К. Иванов, Е.М.Растопчин, С.Ю.Чекин, В.Б.Рывкин // Радиация и риск. – 1995. – вып.6. – С.123–155.
39. Жмiнько О.П. Токсикологічна характеристика регуляторів росту рослин – похідних N–оксид піридину (експериментальні дослідження): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд.біол.наук: спец. 14.03.06 «Токсикологія» / О.П.Жмiнько. – Київ, 2007. – 24 с.
40. Бичко А.В. Модифікація рідинно–кристалічної структури біомолекулярних мембран N–оксид–2,6–лугидином (івіном) / А.В. Бичко, В.К. Рибальченко // Фізика живого. – 2002. – Т.10, №1. – С.31–40.
41. Бичко А.В. Модифікація структури фосфатидилхолінових БЛМ івіном / А.В. Бичко // Акт. пробл. гастроентерології: Всеукр. наук. конф.: тези доп. – Київ. – 2001. – С.5.
42. Бичко А.В. Структурні перетворення ліпідного матриксу при дії 2,4–Д та івіну / А.В. Бичко // Тези доп. III з'їзду УБФТ, Львів. – 2002. – С.77.
43. Славецкая М.Б. Сверхмалые дозы биологически активных веществ как основа лекарственных препаратов / М.Б. Славецкая, Н.А. Капай. / Ред. Квасова Е.А. Науч.рец. акад.РАСХН Панин А.Н., проф.. Булаев В.М. – Москва, 2011, С.168.
44. Пономаренко С.П. Регуляторы роста растений на основе N–оксидов производных пиридина (физико–химические свойства и биологическая активность). / С.П. Пономаренко – К.: Техника, 1999. – 272 с.
45. Пономаренко С.П. Регуляторы роста растений. / С.П.Пономаренко. – К.: Институт биоорганической химии, 2003. – 319 с.
46. Бычко А.В. Преобразование гидратных структур ивина при взаимодействии с поверхностью липидной мембраны / А.В. Бычко, Ю.В.Семенов, В.К. Рыбальченко // Доп. ДАН України. – 2005. – №3. – С. 164–167.
47. Mechanism of nonlinear effects of plant growth regulators – N–oxide derivates / Vasetska O.P., Fedchenko O.V., Zhminko P.G., Prodanchuk M.G // Toxicology letters: Abstracts of the 47th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX), 28–31 August 2011. – Paris, France, 2011. – Vol.205S. – P. S235.
48. Стратулат Т.Г. Токсикологічна характеристика нових стимуляторів росту рослин Павстима і Екостима: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук.: спец. 14.03.11 «Токсикологія» / Т.Г.Стратулат. – Київ, 1996. – 22 с.
49. Жмiнько О.П. Токсичність 2,6–диметил–N–оксид піридина і вплив його на ріст і розвиток інфузорій Tetrahymena pyriformis W. / О.П. Жмiнько // «Актуальні проблеми профілактичної медицини: Всеукраїнська наук.–практ. конф. молодих вчених, 16–17 жовт. 2000 р.: тези доп.– Х., 2000. – С.11.
50. Жмiнько О.П. Токсичність тримана для інфузорій Tetrahymena pyriformis W. / О.П.Жмiнько // I з'їзд Токсикологів України, 11–13 жовт. 2001 р.: тези доп.– Київ. – Х., 2001. – С.19.
51. Жмiнько О.П. Вплив деяких похідних N–оксид піридину на ріст популяції інфузорій Tetrahymena pyriformis W. / О.П.Жмiнько, М.Г.Проданчук. // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – №2. – С.33–37.

**«ПАРАДОКСАЛЬНІ» ЕФЕКТИ В ТОКСИКОЛОГІЇ, МЕХАНІЗМИ І МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ЩОДО ЇХ ПРОГНОЗУВАННЯ
(ЗА ДАНИМИ ЛІТЕРАТУРИ ТА ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ)**

О.П. Васецька, П.Г. Жмійко

РЕЗЮМЕ. Мета роботи. Узагальнення літературних даних і власних досліджень щодо «парадоксальної» токсичності та механізмів «парадоксальної» ефектів ксенобіотиків, розробка методичних підходів до прогнозування «парадоксальної» токсичності.

Методи. Науковий аналіз даних літератури щодо «парадоксальних» ефектів ксенобіотиків. Вивчення токсичності пестицидів (тебуконазолу, етил-гексилевого ефіру 2,4-Д кислоти, хлорпірифосу) в дозах, відповідних 1 ЛД₅₀ на фоні одноразового перорального впливу івіна в дозі 13 мг/кг (1/100 ЛД₅₀), антихолінестеразної активності хлорпірифосу при ізольованій і послідовній дії на організм щурів. Обґрунтування методичних підходів щодо прогнозування «парадоксальної» токсичності *in vitro*.

Результати. У роботі надано науковий аналіз літератури та власних досліджень щодо «парадоксальних» ефектів хімічних речовин, механізмів «парадоксальної» токсичності. Обґрунтовано підходи до прогнозування «парадоксальної» токсичності *in vitro*.

Висновки. «Парадоксальні» ефекти є складною біологічною реакцією організму на вплив ксенобіотиків на рівні низьких доз і в кожному конкретному випадку можуть бути обумовлені різними механізмами та особливостями реактивних систем організму. Для PPP-похідних N-оксид піридину важливу роль в механізмі «парадоксальних» ефектів відіграє модифікація біологічних мембран. При виявленні «парадоксальних» ефектів слід установлювати їх значущість для організму, тобто ідентифікувати на предмет – є вони ушкоджувальними або являють собою адаптаційну реакцію організму. Прогнозування «парадоксальної» токсичності *in vitro* доцільно проводити поетапно з використанням простих та інформативних біологічних моделей.

Ключові слова: «парадоксальні» ефекти, механізми дії, прогнозування, похідні N-оксид піридину.

**"PARADOXICAL" EFFECTS IN TOXICOLOGY, MECHANISMS AND METHODOLOGICAL APPROACHES TO PREDICTION
(ACCORDING TO THE LITERATURE AND OUR OWN RESEARCH)**

O.P. Vasetsky, P.G. Zhminko

SUMMARY. The purpose of the work: Generalization of literary data and own research about the "paradoxical" toxicity and mechanisms "paradoxical effects of xenobiotics, development of methodological approaches to prediction "paradoxical" toxicity.

Methods. Scientific analysis of the literature about the "paradoxical" the effects of xenobiotics. The study of the toxicity of pesticides (tebuconazole, ethyl-hexyl ester 2,4-D acid, chlorpyrifos) in doses appropriate 1 DL₅₀ on the background of a single oral action Ivin at a dose of 13 mg/kg (1/100 DL₅₀), anticholinesterase activity of chlorpyrifos at isolated and consistent effect on the organism of rats. Substantiation of methodical approaches to prediction "paradoxical" toxicity *in vitro*.

Results. The paper presents the scientific analysis of literature and own research about the "paradoxical" toxicity of chemicals, mechanisms of the "paradoxical" effects. The approaches to prediction "paradoxical" toxicity *in vitro*.

For the studied plant growth regulators – derived oxide-N-pyridine, it's established the main features of their influence at sub-chronic intake of rats of low doses: the impact on membranes and protein-synthetic processes; lack classical dependence of "dose-effect", the "dose-time-effect"; with dose reduction is observed strengthening of the identified effects or change orientation; dependence effects of the dose is mostly nonlinear – U and bimodal type.

For example Ivin, it's shown that changes in the status of the membranes of mitochondria hepatocytes and protein-synthetic processes in the rats organism focused primarily on adaptation to chemical stress. The evidence is that the preliminarily single oral exposure Ivin at a dose of 13 mg/kg (1/100 DL₅₀) significantly reduce toxicity of hepatotropic pesticides – tebuconazole, ethyl-hexyl ether 2,4-D acid and anticholinesterase agents – chlorpyrifos. In consecutive oral introduction chlorpyrifos 24 hours after the action Ivin was down anticholinesterase activity, cholinergic symptoms of intoxication were observed, compared with isolated action chlorpyrifos. On the background of Ivin activity of the enzyme cholinesterase 18 hours after exposure to chlorpyrifos was recovering faster than its stand-alone action. On the basis of literature data and own research approaches to prediction the "paradoxical" toxicity of chemicals *in vitro* is justified.

The conclusions. "Paradoxical" effects are complex biological reaction to the effects of xenobiotics on the level of low doses and, in each case, may be due to different mechanisms and peculiarities of reactive systems of the body. For PGR – derived oxide-N-pyridine is the main modification of biological membranes. When identifying a "paradoxical" effects, should establish their significance for the body, that is, identify they are harmful or this are adaptive reaction of an organism.

Prediction of "paradoxical" toxicity *in vitro* should be carried out in stages using a simple and informative biological models (unicellular organisms, cellular and sub-cellular cultures of animals and humans). The animal studies may be recommended, when *in vitro* "paradoxical" effects were identified.

Key words: "paradoxical" effects, mechanisms of action, prediction, derivatives oxide-N-pyridine