

ВПЛИВ 5-ДОБОВОГО ВВЕДЕННЯ ВІТАМІНІВ А ТА Е НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЕРИТРОЦИТА ТА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЩУРІВ, ІНТОКСИКОВАНИХ ХЛОРПІРИФОСОМ

В. П. Росаловський
ros.volodymyr@gmail.com

Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

У статті наведено результати дослідження впливу одноразового перорального введення щурам фосфорорганічного пестицидного препарату — хлорпірифосу (ХПФ) у дозі 90 мг/кг на кількість формених елементів периферичної крові, резистентність еритроцитів до кислотного гемолітика, кисень-транспортну функцію гемоглобіну і показники системи антиоксидантного захисту еритроцитів на тлі 5-добового перорального введення суміші вітамінів А та Е.

Встановлено, що дія ХПФ у дозі 90 мг/кг призводить до зниження кількості еритроцитів, тромбоцитів, вмісту гемоглобіну, зростання кількості лейкоцитів. Водночас фіксували зниження резистентності еритроцитів до кислотного гемолітика та спорідненості гемоглобіну до оксигену. З боку системи антиоксидантного захисту спостерігали зростання активності КАТ та СОД еритроцитів, вмісту ТБК-активних продуктів та гідроперекисів ліпідів. Виявлено, що ХПФ у дозі 90 мг/кг спричиняє зниження активності ГСТ, ГПО і вмісту ВГ.

П'ятидобове пероральне введення щурам суміші вітамінів А та Е у дозах 10000 МО та 0,1 г відповідно разом із препаратом ХПФ спричиняє нормалізацію кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, зростання показників резистентності еритроцитів, активності ГСТ та ГПО, зниження активності КАТ і вмісту ТБК-активних продуктів та нормалізацію вмісту ВГ. На фоні введення вітамінного препарату спостерігали зростання кількості формених елементів крові (еритроцитів і тромбоцитів), збільшення резистентності еритроцитів до кислотного гемолітика, водночас за дії вітамінної суміші нормалізувався прооксидантно-антиоксидантний баланс, що може свідчити про певний протективний ефект вітамінних препаратів.

Ключові слова: ХЛОРПІРИФОС, ВІТАМІН Е, ВІТАМІН А, ЕРИТРОЦИТИ, КРОВ, АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА, ЩУРИ

EFFECT OF 5-DAY EXPOSURE OF VITAMIN A AND E ON STATUS OF RED BLOOD CELL ANTIOXIDANT SYSTEM AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF RATS INTOXICATED BY CHLORPYRIFOS

V. P. Rosalovsky
ros.volodymyr@gmail.com

Institute of Animal Biology NAAS,
38 Stus str., Lviv 79034, Ukraine

The paper is dedicated to the investigation of effects of a single oral administration of chlorpyrifos, a common organophosphate pesticide, at a dose of 90 mg/kg, on the number of blood cells in peripheral blood, red blood cells resistance, oxygen-transport function of hemoglobin, and antioxidant protection indicators of red blood cells in rats in conditions of oral administration of a mixture of vitamin A and E for 5 days.

We observed that exposure to 90 mg/kg CPF led to a decrease in the total count of red blood cells, platelets, with hemoglobin content, and to increased number of leucocytes. Moreover, we observed a decrease in erythrocytes resistance to acid hemolysis and hemoglobin affinity for oxygen. In the antioxidant defense system, we found increased activity of SOD and CAT in erythrocytes, TBARS and LPO content. It was researched that 90 mg/kg CPF caused a decrease in GST and GPO activity and content of GSH.

We found that daily oral administration of vitamins A and E (at doses of 10000 IU and 0.1 g, respectively) for 5 days simultaneously with CPF led to normalization of erythrocyte quantity and hemoglobin content, increased red blood cells resistance, activity of GST and GPO decrease of TBARS, content, CAT activity, increased and normalization of GSH content. Under conditions of vitamin administration, we observed increase in the number of blood cells

(red blood cells, and platelets), and in erythrocytes resistance to acid hemolysis. At the same time, the vitamin mixture caused normalization of prooxidant-antioxidant balance that may indicate a protective effect of used doses of vitamins.

Keywords: CHLORPYRIFOS, VITAMIN E, VITAMIN A, RED BLOOD CELLS, BLOOD, ANTIOXIDANT SYSTEM, RATS

ВЛИЯНИЕ 5-СУТОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ВИТАМИНА А И Е НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТА И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС, ИНТОКСИЦИРОВАННЫХ ХЛОРПИРИФОСОМ

В. П. Росаловский
ros.volodymyr@gmail.com

Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

В статье приведены результаты исследования однократного перорального введения крысам фосфорорганического пестицидного препарата хлорпирифоса в дозе 90 мг/кг на количество форменных элементов периферической крови, резистентность эритроцитов к кислотному гемолизу, кислород-транспортную функцию гемоглобина и показатели системы антиоксидантной защиты эритроцитов на фоне 5-суточного приема внутрь смеси витаминов А и Е.

Установлено, что действие ХПФ в дозе 90 мг/кг приводит к снижению количества эритроцитов, тромбоцитов, содержанию гемоглобина, увеличению количества лейкоцитов. В то же время, под действием этой дозы ХПФ фиксировали снижение резистентности эритроцитов к кислотному гемолизу и сродства гемоглобина к кислороду. Со стороны системы антиоксидантной защиты наблюдали повышение активности КАТ и СОД эритроцитов, увеличение содержания ТБК-активных продуктов и гидроперекисей липидов. Показано, что ХПФ в дозе 90 мг/кг приводит к снижению активности ГСТ, ГТО и содержания ВГ.

Пятисуточное пероральное введение крысам смеси витаминов А и Е в дозе 10000 МЕ и 0,1 г соответственно вместе с препаратом ХПФ вызывает нормализацию количества эритроцитов и содержания гемоглобина, увеличение показателей резистентности эритроцитов, ГСТ и ГПО, снижение активности КАТ, содержания ТБК-активных продуктов и нормализацию содержания ВГ. На фоне введения витаминного препарата наблюдали повышение количества форменных элементов крови (эритроцитов, и тромбоцитов), увеличение резистентности эритроцитов к кислотному гемолизу, одновременно под влиянием витаминной смеси наблюдается нормализация прооксидантно-антиоксидантного баланса, что может свидетельствовать об определенном протективном эффекте выбранных доз витаминных препаратов.

Ключевые слова: ХЛОРПИРИФОС, ВИТАМИН Е, ВИТАМИН А, ЭРИТРОЦИТЫ, КРОВЬ, АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА, КРЫСЫ

Фосфорорганічні сполуки — численний клас хімічних речовин, що широко застосовуються у різних сферах діяльності людини, зокрема в хімічній промисловості як пластифікатори за виробництва негорючих пластмас, антипіренів, мастил, паливних добавок, у медицині при виробництві лікарських засобів, у військовій сфері, а найбільше — у сільському господарстві як інсектицидні, акариноцидні, фунгіцидні препарати, дефоліанти [15]. Фосфорорганічні сполуки (ФОС) становлять близько 50 % застосовуваних у світі пестицидів [4].

Для отруєнь ФОС гострого та хронічного характеру характерним є інгібування

активності ензиму центральної нервової системи — ацетилхолінестерази (АХЕ). За фізіологічних умов зазначений ензим здійснює гідроліз медіатора синаптичної передачі. Проте за отруєння ФОС [18] відбувається інгібування АХЕ та інших естераз, що спричиняє накопичення в нервових синапсах ацетилхоліну та надмірну стимуляцію постсинаптичних ацетлхолінових рецепторів клітин чи органів і, як наслідок, — порушення нервової передачі. Значне зниження активності АХЕ (більш ніж на 50–60 %) спричиняє вегетативні порушення — посилене слиновиділення, судом, тремор, параліч дихального центру [18]. Проте

описаний механізм дії ФОС не повністю відображає симптоматику, що виникає під час отруєння цими речовинами [13, 14].

Представником ФОС, що володіє типовими для цього класу речовин властивостями, є хлорпірифос (ХПФ). Водночас, за даними різних авторів [1, 2, 3], ХПФ може індукувати виникнення оксидативного стресу. Це явище супроводжується значною кількістю активних форм кисню (АФО), які не можуть бути утилізовані відповідними системами клітини і спричиняють окисні модифікації ліпідів, протеїнів, нуклеїнових кислот. За даними окремих авторів [5], саме явищу оксидативного стресу належить провідна роль в субклітинній токсичності пестицидів.

Для нормалізації прооксидантно-антиоксидантного балансу застосовують речовини різноманітної природи, вітамінні препарати, комплексні сполуки з антиоксидантними властивостями тощо. У літературі [2, 13] описано можливість застосування вітамінних препаратів для нівелювання негативних наслідків оксидативного стресу. У результаті наших попередніх досліджень [16] було виявлено слабкий позитивний вплив одноразового введення вітамінів А та Е на резистентність еритроцитів, показники антиоксидантної системи еритроцитів за умов інтоксикації ХПФ. Проте, у зв'язку з недостатністю даних щодо дії суміші вітамінів А та Е на кількість формених елементів периферичної крові, резистентність еритроцитів, окиснену ємність гемоглобіну та показники антиоксидантного захисту еритроцитів за умов гострого отруєння ХПФ, важливим є проведення досліджень з вказаних питань, що і стало метою цієї роботи.

Матеріали і методи

Дослідження були проведені на статевозрілих самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар, масою тіла 170–230 г. Тварин утримували у стандартних умовах віварію з дотриманням 12-годинного режиму освітлення темрява/світло, з необмеженим доступом до питної води та корму. Тваринам згодовували стандартний гранульований комбікорм для лабораторних щурів, який забезпечував фізіо-

логічні потреби їхнього організму у вітамінах, мінеральних речовинах і енергії. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» від 18.03.1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р., «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики у Києві 2001 р., та «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними».

Для досліджень було сформовано 4 групи щурів: контрольну (К) та три дослідних (Д₁, Д₂, Д₃) по 5 тварин у кожній. Введення усіх досліджуваних речовин проводили за допомогою шлунокового зонду. Тваринам групи Д₁ одноразово вводили олійний розчин ХПФ у дозі 90 мг/кг. Тварини групи Д₂ впродовж 5-ти діб отримували суміш вітамінів А та Е (у вигляді ретинолу пальмітату 100000 МО та α-токоферолу ацетату 0,1 г відповідно). Щурам групи (Д₃) за 5 діб до введення ХПФ вводили аналогічні групі Д₂ дози та форми вітамінних препаратів (ретинолу пальмітат 100000 МО і α-токоферол ацетат 0,1 г відповідно). На 5-ту добу досліду тваринам групи Д₃ за допомогою шлунокового зонду одноразово вводили розчин ХПФ у дозі 90 мг/кг. Тварини контрольної групи (К) отримували чисту соняшникову олію в об'ємі, еквівалентному об'єму розчину ХПФ.

Через 24 год з моменту введення ХПФ проводили декапітацію та відбір крові тварин усіх груп. Відбір крові здійснювали під наркозом. Кров відбирали у пробірки з 1 % розчином гепарину в якості антикоагулянта. Плазму крові відділяли центрифугуванням при 700 g упродовж 15 хв, а еритроцити тричі відмивали за допомогою 0,150 М розчину NaCl, центрифугуючи суспензію клітин при 700 g протягом 5 хв. Дослідження показників антиоксидантної системи проводили в гемолізатах еритроцитів.

Визначення активності холінестерази (ХЕ) (КФ 3.1.1.8) проводили за методом, описаним А. І. Карпищенком [10]. Активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1), каталази (КАТ) (КФ 1.11.1.6), глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ 1.11.1.9) та вміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали за методами, описани-

ми у [21]. Активність глутатіон-S-трансферази (ГСТ) (КФ 2.5.1.18) визначали за методикою, описаною W. H. Nabig [8]. Резистентність еритроцитів до кислотного гемолізу визначали за методом І. А. Терскова, І. І. Гітельзона [6]. Ступінь дисоціації оксигемоглобіну визначали спектрофотометричним методом у модифікації Ю. Г. Іванова [9].

У зразках крові, відібраних у пробірки з антикоагулянтом ЕДТА-К2 з допомогою автоматичного гематологічного аналізатора («Orphee Mythic 18», Швейцарія), проводили дослідження таких показників: загальна кількість еритроцитів, лейкоцитів, лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів, тромбоцитів, концентрація гемоглобіну, гематокриту, тромбокриту, середній тромбоцитарний об'єм, гетерогенність тромбоцитів за об'ємом.

Експериментальні дані обробляли статистично з використанням програми *OriginPro 8*. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми значеннями використовували *t*-критерій Стюдента. У всіх випадках відмінності вважали вірогідними за умови значення ймовірності P менше 5 % ($P < 0,05$).

Результати й обговорення

Важливим діагностичним показником при отруєннях ФОС є зниження активності холінестерази (рис. 1). У результаті досліджень встановлено зниження активності ХЕ на 51,6% ($P < 0,01$) у групі D_1 . За дії суміші вітамінів у групі D_2 відзначали зростання активності цього ензиму на 76,6 % ($P < 0,001$), водночас за дії ХПФ у дозі 90 мг/кг у групі D_3 спостерігали незначний спад активності ХЕ порівняно з показниками контрольної групи.

Оскільки склад і співвідношення формених елементів крові є інтегральним показником загального клінічного стану організму, інформативним є аналіз її параметрів за умов інтоксикації організму різними ксенобіотиками. Показники крові за дії ХПФ, представлені у табл. 1, це підтверджують.

За введення ХПФ у групі D_1 спостерігали зниження кількості еритроцитів на 13,9 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Виявлене зниження кількості еритроцитів може бути зумов-

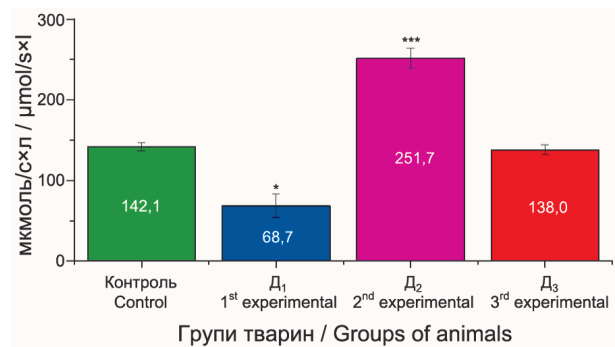


Рис 1. Активність холінестерази у периферичній крові щурів ($M \pm m$; $n=5$)

Fig. 1. Cholinesterase activity in the peripheral blood of rats ($M \pm m$; $n=5$)

лене порушенням гомеостазу еритроцитів внаслідок модифікації продуктами ПОЛ протеїнів та ліпідів клітинних мембран, що призводить до зростання ригідності останньої [4]. Своєю чергою, зростання кількості еритроцитів за умов введення тваринам вітамінної суміші може бути зумовлене фізіологічною функцією здебільшого вітаміну Е, оскільки він задіяний у процесах синтезу гему еритроцитів. Виявлене зниження рівня гемоглобіну може бути пов'язане зі зниженням вмісту еритроцитів, що узгоджується з результатами попередніх досліджень [20].

Водночас у групі D_1 було виявлено зниження вмісту гемоглобіну на 6,3 % ($P < 0,05$) та зниження загальної кількості лейкоцитів на 17,2 % ($P < 0,05$). Варто зауважити, що у групі D_1 спостерігали перерозподіл субпопуляції лейкоцитів, а саме зростання вмісту гранулоцитів на 63,7 % ($P < 0,05$). Ймовірно, збільшення вмісту АФО спричиняє пошкодження біологічних мембран, що призводить до збільшення кількості гранулоцитів, які можуть транспортуватися безпосередньо до органів детоксикації продуктів метаболізму ХПФ [17]. Кількість тромбоцитів у групі D_1 знижувалась на 34 %, а в D_3 зростала на 58,3 % ($P < 0,001$) порівняно з контрольними значеннями. Ці дані узгоджуються з власними результатами, отриманими у попередніх дослідженнях [16].

При отруєнні тварин ХПФ у групі D_1 спостерігали зміщення кривих оксигенації гемоглобіну вправо (рис. 2). Зафіксоване зміщення супроводжувалось зростанням показника насиченості гемоглобіну киснем P_{75} у гру-

Таблиця 1

Показники периферичної крові щурів
Peripheral blood parameters

Показники / Parameters	К Control	Д ₁ 1 st experimental	Д ₂ 2 nd experimental	Д ₃ 3 rd experimental
Еритроцити, 10 ¹² /л Red blood cells, 10 ¹² /l	7,2±0,310	6,2±0,250*	8,14±0,381	7,0±1,101
Загальний гемоглобін, г/л Total hemoglobin, g/l	158,3±3,051	144,33±4,201*	157,33±2,479	146,6±3,722
Гематокрит, (НСТ) л/л Haematocrit (HCT), l/l	0,30±0,012	0,35±0,045	0,33±0,035	0,39±0,021
Середній об'єм еритроцита, фл Mean cell volume (MCV), fl	46,8±1,659	48,67±1,717	46,7±1,461	47,60±1,680
Лейкоцити, 10 ⁹ /л Leukocytes, 10 ⁹ /l	13,3±0,614	15,6±0,756*	12,47±0,931	13,03±1,474
Лімфоцити, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /l	9,4±1,047	6,13±0,899	6,85±2,887	8,23±0,733
Гранулоцити, 10 ⁹ /л Granulocytes, 10 ⁹ /l	2,41±0,302	3,93±0,153*	1,67±0,760	2,27±0,248
Моноцити, 10 ⁹ /л Monocytes, 10 ⁹ /l	2,43±0,340	2,23±0,150	1,33±0,560	2,47±0,215
Тромбоцити, 10 ⁹ /л Platelets, 10 ⁹ /l	241,70±16,401	159,33±1,570*	382,67±16,201***	339,10±24,619
Середній об'єм тромбоцита (MPV), фл Mean platelet volume (MPV), fl	6,8±0,908	6,70±0,307	7,10±0,369	6,57±0,373
Розподіл тромбоцитів за об'ємом (PDW), % Platelet distribution width (PDW), %	26,1±3,927	16,63±4,163	28,63±3,511	22,90±8,996

пах Д₁ та Д₃ до 4,37 кПа (P<0,05) та 4,2 кПа (P<0,05) відповідно (табл. 2).

За значень P₉₀ відзначали аналогічний характер змін, проте зростання становило 6,68 кПа (P<0,05) та 6,75 кПа (P<0,05), відповідно, в групах Д₁ та Д₃ порівняно з показниками контрольних тварин. Ймовірно, в осно-

ві змін показника P₇₅ та P₉₀ є зростання вмісту СО₂ — один із загальновідомих фізіологічних факторів зниження спорідненості гемоглобіну до кисню. З іншого боку, є імовірність, що внаслідок дії ХПФ відбувається перерозподіл лігандних форм гемоглобіну та утворення відповідних аддуктів за дії ендогенних метаболі-

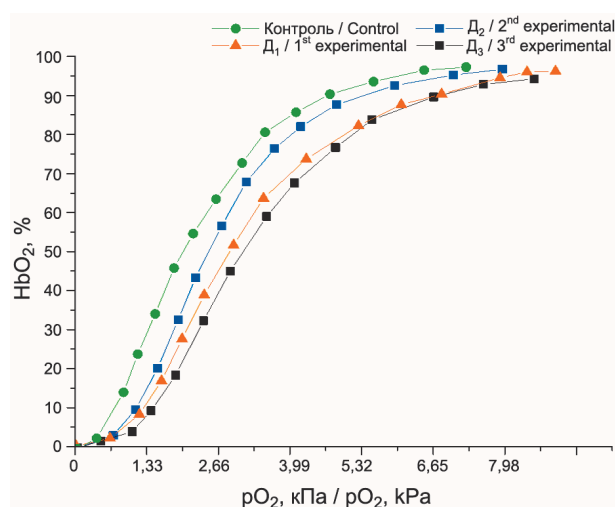


Рис. 2. Усереднені криві насичення гемоглобіну киснем

Fig. 2. Averaged curves of hemoglobin saturation with Oxygen

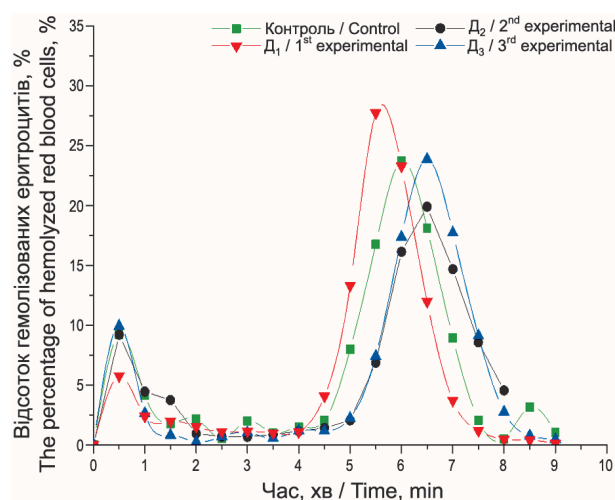


Рис. 3. Усереднені еритрограми кислотного гемолізу еритроцитів

Fig. 3. Averaged erythrograms of acid haemolysis of rat's red blood cells

Таблиця 2

**Показники значень парціального тиску кисню (pO₂, кПа)
за різного ступеня насичення гемоглобіну киснем ([HbO₂], %)
The parameters of oxygen partial pressure (pO₂, kPa)
for different levels of saturation of hemoglobin with oxygen ([HbO₂], %)**

Група тварин Group of animals	Показник насиченості гемоглобіну киснем, % Parameters of oxygen saturation of hemoglobin, %		
	pO ₂ , кПа		
	50	75	90
К / Control	1,99±0,26	2,27±0,67	4,68±0,43
Д ₁ / 1 st experimental	2,73±0,35	4,37±0,23*	6,68±0,35*
Д ₂ / 2 nd experimental	2,50±0,57	2,74±0,31	5,32±0,31
Д ₃ / 3 rd experimental	2,86±0,71	4,2±0,48*	6,75±0,24*

Таблиця 3

**Параметри еритрограм інтактних тварин (К), за дії хлорпірифосу у дозі 90 мг/кг (Д₁),
суміші вітамінів (Д₂) та вітамінів з ХПФ (Д₃) (M±m, n=5)
Parameters of erythrograms of intact animals (C), and of rats exposed to CPF (1st experimental),
vitamin mixtures (2nd experimental), and vitamins with CPF (3rd experimental)**

Групи	Час максимального гемолізу, хв. Time of maximum haemolysis, min	Час тотального гемолізу, хв. Time of total haemolysis, min	Відсоток максимального гемолізу, % Percentage of maximum haemolysis, %
К / Control	6,2±0,12	9,12±0,133	23,73±1,13
Д ₁ / 1 st experimental	5,7±0,14*	8,14±0,106	27,91±1,31*
Д ₂ / 2 nd experimental	6,8±0,31	9,25±0,80	19,89±1,10*
Д ₃ / 3 rd experimental	6,8±0,25	9,27±0,124	23,87±1,43

тів, які роблять свій внесок у його спорідненість до оксисену [16].

Виявлено зміни резистентності еритроцитів до кислотного гемолітика (рис. 3). Так, у тварин групи Д₁, які отримували ХПФ у дозі 90 мг/кг, спостерігали зміщення піку еритрограм вліво стосовно контролю (табл. 3).

У групі Д₁ спостерігали зниження часу максимального гемолізу до 5,7 хв, тоді як у контролі він становив 6,2 хв. У шурів цієї групи відзначено зростання відсотка гемолізованих еритроцитів до 27,9 % (P<0,05) та зниження цього показника до 19,8 % (P<0,05) у групі Д₂. Можна припустити, що внаслідок дії ХПФ відбувається інтенсифікація процесів генерації АФО, які модифікують ліпіди та протеїнів клітинних мембран, спричиняючи зниження осмотичної стійкості еритроцитів до кислотного гемолітика та скорочення тривалості їх функціонування [5].

Дія вітаміну Е здебільшого проявляється на мітохондріальному рівні, оскільки в мітохондріях інтенсивно функціонує електрон-

транспортний ланцюг та відбуваються процеси клітинного дихання, які супроводжуються окисненням вуглеводів, протеїнів, амінокислот. Внаслідок надходження ендогенних або новосинтезованих АФО можуть виникати порушення у функціонуванні цих органел. Вітамін Е виконує роль «молекулярної пастки» для вільних радикалів. Він задіяний у захисті жирнокислотних залишків мембранних фосfolіпідів від перекисного окислення, що призводить до руйнування клітин. Водночас токоферол захищає від передчасного окиснення вітамін А та підсилює його антиоксидантні властивості [11]. Відома роль вітаміну Е у підтримці тонуусу і проникності судин, стимуляції утворення нових капілярів, протеїнів, участь у проліферації клітин. Вітамін А у своїй хімічній структурі має наявні 2 подвійні зв'язки, що потенційно дозволяє йому взаємодіяти з АФО [20].

Окрім зміни гематологічних показників периферичної крові, спостерігали відмінності в окремих параметрах системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Оскільки першою

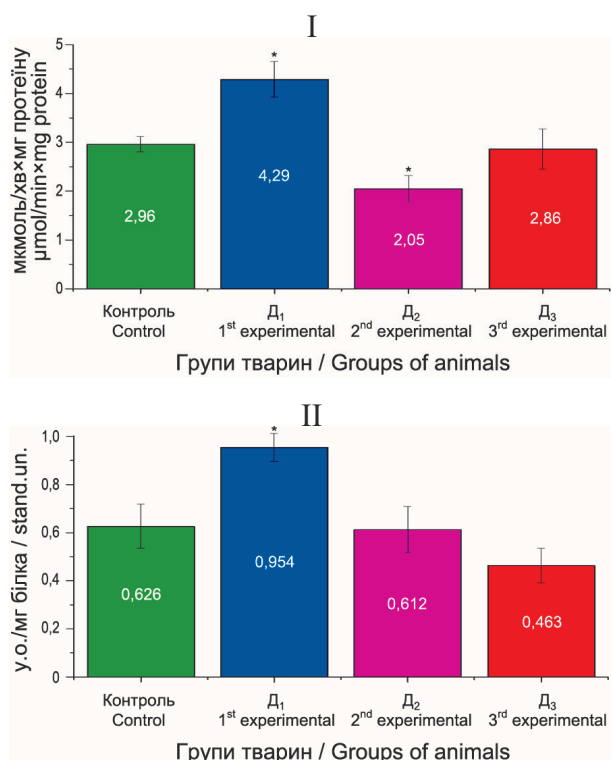


Рис. 4. Активність КАТ (I) і СОД (II) в еритроцитах щурів груп К, D₁, D₂, D₃

Fig. 4. CAT (I) and SOD (II) activity in the red blood cells of rats in control, 1st, 2nd and 3rd experimental groups

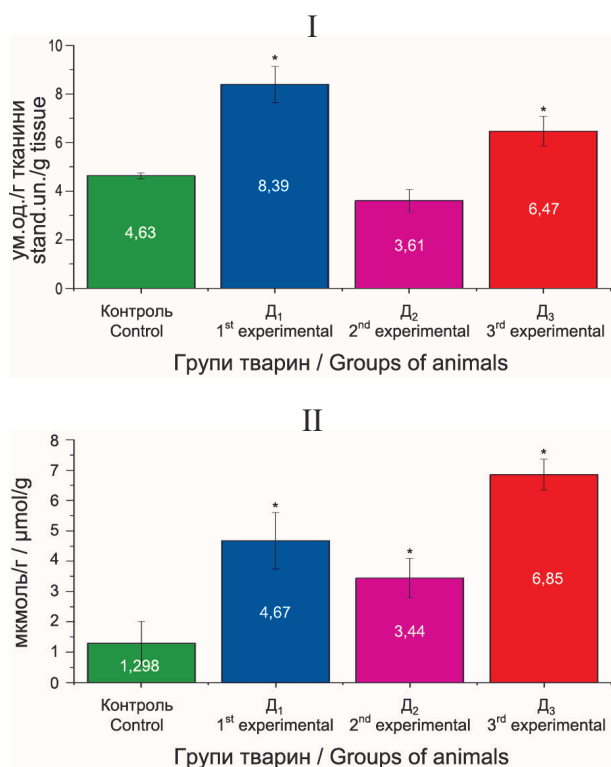


Рис. 5. Гідроперекиси ліпідів (I) і ТБК-активні продукти (II) в еритроцитах щурів груп К, D₁, D₂, D₃

Fig. 5. LP (I) and TBARS (II) content in the red blood cells of rats in control, 1st, 2nd and 3rd experimental groups

ензиматичною ланкою утилізації АФО виступає КАТ та СОД, було проведено визначення активності цих ензимів в гемолізатах еритроцитів крові щурів (рис. 4). Встановлено, що активність КАТ у групі D₂ знижувалась на 47,2 % (P<0,05), а в групі D₁ зростала на 44,9 % (P<0,05) порівняно з показниками інтактних тварин. Схожі зміни спостерігали в активності СОД, проте статистично значущими вони були лише у групі D₁, у тварин якої спостерігалось зниження на 43,6 % (P<0,05). Виявлене внаслідок інтоксикації ХПФ зростання активності КАТ, ймовірно, є елементом компенсаторної реакції на зростання вмісту АФО. Виявлене зростання активності КАТ на фоні зниження резистентності мембран еритроцитів до кислотного гемолітика, можливо, пов'язане з виходом цього ензиму в плазму крові. Своєю чергою, зростання активності СОД також може бути компенсаторною реакцією на зростання кількості продуктів дисмутації.

За дії ХПФ відзначали зростання вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації (рис. 5). У групах D₁ і D₃ встановлено зростання вмісту гідроперекисів ліпідів, відповідно, на 81,3 % та 39,7 % (P<0,05) порівняно з контрольними значеннями. Вміст ТБК-активних продуктів зростав у крові щурів всіх дослідних груп. В групі D₁ їхній вміст зростав у 2,6 разу, у D₂ — в 1,6 разу, D₃ — у 4,3 разу порівняно з контрольними значеннями. Виявлене зростання вмісту первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів може бути зумовлене інтенсифікацією процесів ПОЛ у мембранах еритроцитів внаслідок дії ХПФ. Ці результати узгоджуються з даними літератури [5]. За даними Ambali et al. [1], за оксидативного стресу має місце зростання вмісту ТБК-активних продуктів, що призводить до порушень антиоксидантного статусу та змін активності клітинних ензимів.

Загальновідомо [7], що в утилізації низького вмісту АФО задіяна глутатіонова ланка антиоксидантної системи. Аналіз вмісту ВГ в гемолізатах еритроцитів щурів показав зниження вмісту цього трипептиду у крові груп D₁ і D₃ — на 27,2 % (P<0,05) та 31,8 % (P<0,05) відповідно порівняно з показниками інтактних тварин (рис. 6).

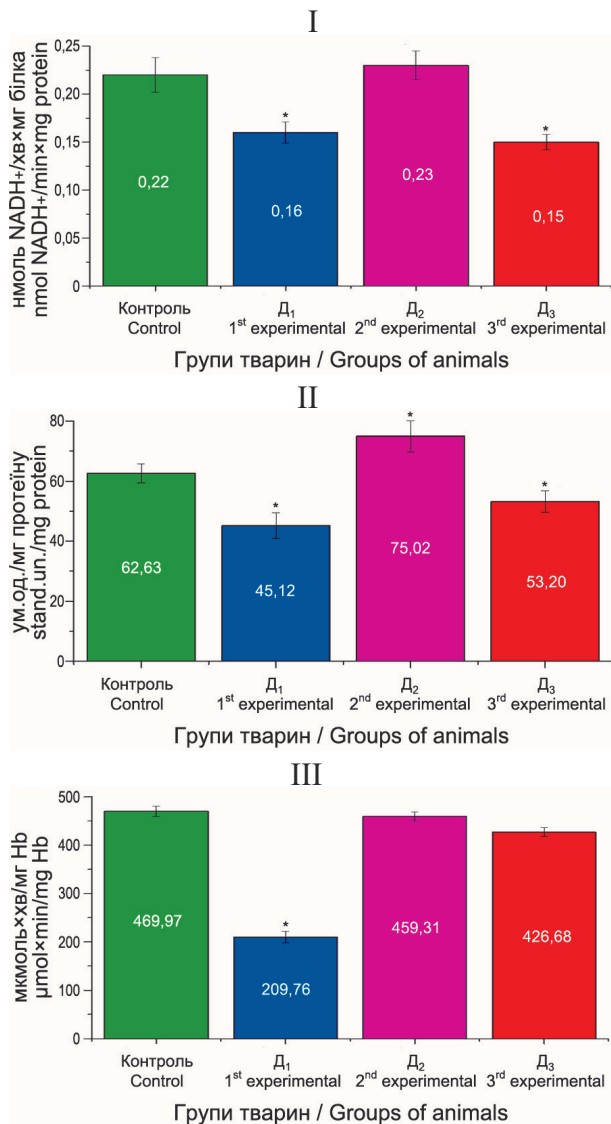


Рис. 6. Вміст ВГ (I) й активність ГСТ (II) та ГПО (III) в еритроцитах щурів груп К, D₁, D₂, D₃
 Fig. 6. GSH content (I), GST (II) and GPO (III) activities in the red blood cells of rats in control, 1st, 2nd and 3rd experimental groups

Глутатіон виконує функцію одного з основних ендogenous антиоксидантів, здатних синтезуватись клітинами. Він безпосередньо задіяний у нейтралізації АФО і запобігає окисненню екзогенних антиоксидантів, зокрема вітамінів Е та А. Ймовірно, зниження вмісту глутатіону зумовлене утворенням кон'югатів із токсичними сполуками та виведенням їх з організму [16].

У групі D₁ встановлено зниження активності ГПО на 55,3 % (P<0,05) порівняно з показниками інтактних тварин.

За даними [19], зниження активності

ГПО може спричиняти виснаження пулу ВГ, на вміст якого впливає зростання кількості гідроген пероксиду. З іншого боку, за даними Mehta et al. [12], посилення процесів ПОЛ спричиняють інактивацію цього антиоксидантного ензиму. Відзначене зниження узгоджується з результатами, отриманими раніше [20].

Спостерігали зниження рівня ГСТ в групах D₁ та D₃, відповідно, на 23 % і 23,1 % та зростання на 27,9 % у D₂ (P<0,05) порівняно з показниками інтактних тварин. ГСТ задіяна в кон'югації GSH з продуктами ПОЛ і сприяє виведенню їх з організму. Ця властивість ензиму має важливе значення при детоксикації ендogenous метаболітів, утворених внаслідок окисдаційних пошкоджень. Зменшення активності цього ензиму, ймовірно, зумовлене зниженням рівня доступного глутатіону внаслідок його участі у знешкодженні утворених продуктів ліпопероксидації клітинних мембран.

Висновки

За дії ХПФ у дозі 90 мг/кг через 24 год після введення препарату виявлено зниження вмісту загальної кількості еритроцитів, гемоглобіну, зростання кількості лейкоцитів, зниження кількості тромбоцитів. Водночас за дії цієї дози ХПФ фіксували зниження резистентності еритроцитів до кислотного гемолізу і зниження спорідненості гемоглобіну до кисню. З боку системи антиоксидантного захисту спостерігали зростання активності КАТ та СОД еритроцитів, вмісту ТБК-активних продуктів і гідроперексидів ліпідів. Відзначено, що ХПФ у дозі 90 мг/кг спричиняє зменшення активності ГСТ, ГПО та вмісту GSH. Встановлено, що 5-добове введення вітаміну А у дозі 100000 МО та вітаміну Е у дозі 0,1 г здійснює протективний вплив на нормалізацію кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, зростання показників резистентності еритроцитів, зниження активності КАТ, інгібування збільшення вмісту ТБК-активних продуктів, активності ГСТ, ГПО та вмісту GSH.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані дані можуть бути основою для поглиблених досліджень впливу поєднання вітамінів А та Е на оксидативний стрес з ме-

тою мінімізації його негативних наслідків на структурні компоненти еритроцитів та ензимну і неензимну ланки антиоксидантної системи захисту цього класу клітин.

1. Aly N., El-Gendy K., Mahmoud F. Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2010, vol. 97, pp. 7–12.

2. Ambali S. F., Ayo J. O., Ojo S. A., Esievo K. A. Vitamin E protects *Wistar* rats from chlorpyrifos-induced increase in erythrocyte osmotic fragility. *Food Chem. Toxicol.*, 2010, vol. 48, no. 12, pp. 3477–3480.

3. Ambali S., Akanbi D., Igbokwe N., Shittu M., Mohammed K., Ayo J. Evaluation of subchronic chlorpyrifos poisoning on hematological and serum biochemical changes in mice and protective effect of vitamin C. *Journal of toxicol sciences*, 2007, vol. 32, pp. 111–120.

4. Deeba F., Raza I., Muhammad N., Rahman H., Rehman Z., Azizullah A., Khattak B., Ullah F., Daud M. Chlorpyrifos and lambda cyhalothrin-induced oxidative stress in human erythrocytes: *in vitro* studies. *Toxicology and Industrial Health*, 2016, vol. 33, no. 4, pp. 297–307.

5. Fakhri-Bafghi M., Ghasemi-Niri S., Mostafalou S., Navaei-Nigjeh M., Baeeri M., Mohammadi-rad A., Abdollahi M. Protective effect of selenium-based medicines on toxicity of three common organophosphorus compounds in human erythrocytes *in vitro*. *Cell J.*, 2016, vol. 17, no. 4, pp. 740–747.

6. Gitelzon I. I., Terskov I. A. *The erythrogram as a method of clinical investigation of the blood*. Krasnoyarsk, Scientific academy of USSR, Siberia department, 1959, 246 p. (in Russian)

7. Gubskyy Y. I., Byelenichev I. F. The main pathways of formation of reactive oxygen species at normal and ischemic pathologies. *Modern Problems of Toxicology*, 2004, no. 2, pp. 32–40. (in Ukrainian)

8. Habig W. H., Pabst M. J., Jacoby W. B. Glutathion-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 1974, vol. 249, no. 22, pp. 7130–7139.

9. Ivanov G. Modification of spectrophotometric method for determining the oxygen hemoglobin dissociation curves. *Bul. Exp. Biol. and Medicine*, 1975, vol. 11, pp. 122–125. (in Russian)

10. Karpyshtshenko A. *Medical laboratory technologies and diagnostics*. A handbook. St. Petersburg, Intermedica, 1999, 656 p. (in Russian)

11. Krasnokutskiy S. V., Shaporenko S. V. Vitamin E in the prevention and treatment of conditions associated with the reactivation of lipid peroxidation. *Blood circulation and hemostasis*, 2010, no. 1–2, pp. 110–114. (in Russian)

12. Mehta A., Verma R., Srivastava N. Chlorpyrifos induced alterations in the levels of hydrogen peroxide nitrate and nitrite in rat brain and liver. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2009, vol. 94, pp. 55–59.

13. Ojha A., Srivastava N. Redox imbalance in rat tissues exposed with organophosphate pesticides and therapeutic potential of antioxidant vitamins. *Ecotoxicology and Environ. Safety*, 2012, vol. 75, pp. 230–241.

14. Oruc E. Oxidative stress responses and recovery patterns in the liver of *Oreochromis niloticus* exposed to chlorpyrifos-ethyl. *Bull. Env. Contam. Toxicol.*, 2012, vol. 88, pp. 678–684.

15. Pope C. N. Organophosphorus pesticides: do they all have the same mechanism of toxicity? *J. of Toxic. and Environ. Health*, 1999, vol. 2, no. 2, pp. 161–180.

16. Rosalovsky V. P., Grabovska S. V., Salyha Yu. T. Biochemical and haematological changes in peripheral blood of rats exposed to chlorpyrifos: protective effect of vitamins A and E combination. *Studia Biologica*, 2015, vol. 9, no. 3–4, pp. 57–68.

17. Rosalovsky V. P., Fedyakov R. O., Salyha Y. T. Hematological profile of rats, chronically intoxicated by chlorpyrifos. *Clin. and Exp. Phys. and Biochemistry*, 2014, no. 1, pp. 49–52. (in Ukrainian)

18. Salyha Y. Antioxidant system indices in brain of rats intoxicated by chlorpyrifos. *Studia Biologica*, 2013, vol. 7, no. 3, pp. 85–96.

19. Uchendu C., Ambali S., Ayo J., Esievo K. The protective role of alpha-lipoic acid on long-term exposure of rats to the combination of chlorpyrifos and deltamethrin pesticides. *Toxicology and Industrial Health*, 2017, vol. 33, no. 2, pp. 159–170.

20. Velacquez-Melendez G., Roncada M. J., Toporovski J., Okani E. T., Wilson D. Relationship between acute diarrhoea and low plasma levels of vitamin A and retinol binding protein. *Rev. Inst. med. trop. Sao Paulo*, 1996, no. 5, pp. 365–369.

21. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B. *Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary*. A reference book. Ed. by V. V. Vlizlo. Lviv, Spolom, 2012, 764 p. (in Ukrainian)