

ВПЛИВ ХЛОРПІРИФОСНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА БІОХІМІЧНІ ТА ЕРИТРОЦИТАРНІ ПАРАМЕТРИ КРОВІ ЩУРІВ

Ю. Салига, В. Росаловський

*Інститут біології тварин НААН України
вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: yursalyha@yahoo.com*

Хлорпірифос належить до класу фосфорорганічних сполук і є небезпечним токсикантом, механізми дії якого до кінця не з'ясовані. Досліджували вплив інтоксикації лабораторних щурів вищезазначеним ксенобіотиком у дозі 30 мг/кг на деякі біохімічні показники їх крові через 1, 3, 6, 10 діб після одноразового внутрішньочеревинного введення препарату. Виявлені зміни ензиматичних активностей аспаргат- і аланінамінотрансфераз, лужної фосфатази та показників протеїнового обміну на фоні зниження бутирилхолінестеразної активності у крові досліджуваних тварин свідчать про багатовекторність токсичної дії хлорпірифосу, механізми якої не обмежуються загальновідомою антихолінестеразною дією. Також вивчали гематологічні параметри інтоксикованих щурів і виявили зниження концентрації гемоглобіну та зменшення стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу крові дослідних щурів порівняно з інтактними тваринами упродовж експериментального періоду. Виявлені зміни ензиматичних активностей, показників протеїнового обміну у крові й еритроцитарних параметрів досліджуваних тварин за дії хлорпірифосу можуть бути використані як додаткові параметри оцінки токсичного впливу цієї та інших фосфорорганічних сполук на організм ссавців.

Ключові слова: хлорпірифос, токсичність, еритроцити, кров, щурі.

Хлорпірифос (ХПФ) – фосфорорганічна сполука, яка широко відома, перш за все, як діюча речовина багатьох популярних інсектицидних препаратів. Механізми токсичної дії ХПФ не обмежуються лише притаманною всім фосфорорганічним сполукам антихолінестеразною дією, але є також спряжені з іншими фізіолого-біохімічними процесами [2–4, 6, 8, 12, 14]. Окрім холінестеразних ензимів для ХПФ були виявлені інші численні потенційні молекулярні мішені [9, 20]. Зокрема, у дослідженнях *in vitro* було доведено цитотоксичність цієї сполуки, її вплив на синтез макромолекул (ДНК, РНК, протеїнів), можливу взаємодію з рецепторами нейротрансмітерів, вплив на диференціацію нейронів, взаємодію з різними ензимами, інші нейрохімічні ефекти (наприклад, вплив на вивільнення або поглинання нейромедіаторів) [9, 12, 17, 20]. Низкою робіт доведено, що ХПФ може призводити також до виникнення оксидативного стресу, який сам по собі є вагомим фактором токсичності [7, 13, 21]. При цьому в організмі має місце надмірне утворення активних форм Оксигену (АФО), що призводить до розвитку синдрому ліпідної пероксидації, який включає в себе такі патологічні компоненти, як пошкодження мембранних ліпідів, порушення процесів клітинного поділу та фагоцитозу і змін у структурно-функціональній організації мембран [6, 13, 20, 21].

Оскільки кров є ключовою гомеостатичною системою, то за умов інтоксикації вона зазнає певних впливів разом з іншими тканинами, а гематологічні параметри є важливим інтегральним показником фізіологічного і клінічного стану організму [7, 9]. Дослідження системи крові у контексті її участі в забезпеченні компенсаторно-адаптивних реакцій ор-

ганізму на дію токсичних чинників є надзвичайно важливим для розуміння механізмів виникнення і розвитку патологічних порушень клітинного і тканинного рівнів. Також відомо, що отруєння організму ХПФ, особливо у гострих формах, може спричиняти, поміж інших ефектів, виникнення гіпоксичних станів [20]. У зв'язку з цим формені елементи крові є особливо цікавим об'єктом для вивчення. Оскільки понад 90% усіх формених елементів крові становлять еритроцити, які значною мірою відображають фізіолого-патологічні процеси і зміни в інтоксикованому організмі через їх поліфункціональність і тісну взаємодію з більшістю тканин і органів, оцінка їх стану, резистентності є дуже важливою. На жаль, не надто численні наявні літературні дані стосовно гематологічних параметрів тварин за дії ХПФ є неоднозначними, а досить часто і суперечливими [8, 22]. Виходячи з вищевказаного, метою роботи було дослідити зміни гематологічних показників і стійкості мембран еритроцитів до кислотного гемолізу, а також окремих біохімічних параметрів крові через 1, 3, 6 і 10 діб після введення щурам зазначеного ксенобіотика.

Матеріали та методи

Дослідження проведені на статеві зрілих самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар масою тіла 180–230 г, яких утримували у стандартних умовах віварію з дотриманням 12-годинного режиму освітлення темнота/світло, необмеженим доступом до питної води та корму. Годівлю тварин здійснювали стандартним збалансованим гранульованим комбікормом для лабораторних щурів, який забезпечував фізіологічні потреби їхнього організму у вітамінах, мікроелементах, мінеральних речовинах та 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. і “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».

Щурам дослідних груп (по 5 тварин у кожній) одноразово внутрішньочеревинно вводили хлорпірифос у дозі 30 мг/кг. Кров для досліджень відбирали через 1, 3, 6, 10 діб після введення препарату. У роботі використовували змішану перефіричну кров, яку отримували після декапітації тварин. Кров відбирали у пробірки з попередньо внесеним антикоагулянтом – 1% розчином гепарину. Плазму відділяли центрифугуванням при 3 000 г впродовж 15 хв, а еритроцити тричі відмивали за допомогою 0,145 М розчину NaCl, кожний раз центрифугуючи суспензію клітин при 3 000 г протягом 5 хв. Для отримання сироватки кров відбирали у скляні пробірки без антикоагулянта, поміщали в термостат (37–38°C) на 10–15 хв. Після цього, притримуючи утворений кров'яний згусток скляною паличкою, сироватку переливали у центрифужну пробірку і центрифугували протягом 15 хв при 3 000 г. Кількість еритроцитів визначали методом підрахунку у камері Горяєва [1], а концентрацію гемоглобіну – гемоглобінціанідним методом [1].

Визначення активності холінестерази (КФ 3.1.1.8) проводили за методом описаним А.І. Карпищенком [4]. Визначення активностей амінотрансфераз – аланінамінотрансферази (К Ф 2.6.1.2) (АлАТ) та аспаратамінотрансферази (К Ф 2.6.1.1) (АсАТ) проводили за допомогою уніфікованого динітрофенілглідрозинового методу Райтмана-Френкеля [1, 16]. Визначення активності лужної фосфатази (КФ. 3.1.3.1) проводили фотометрично, як описано у [15]. Вміст сечовини визначали колориметрично, як описано у [1]. Вміст загального протеїну визначали за методом Лоурі [18]. Визначення вмісту альбуміну проводили за допомогою реакції з бромкрезоловим зеленим [11]. Стійкість еритроцитів до кислотного гемолізу визначали за методом Терскова і Гітельсона [3], який полягає у фотометричному вимірюванні швидкості гемолізу еритроцитів, викликаного дією

кислотного гемолітика (кінцевої концентрації 0,002 н HCl, приготованого на ізотонічному розчині). Вимірювання кількості еритроцитів проводили через кожні 30 с, контролюючи таким чином швидкість гемолізу.

Для перелічених вище досліджень використовували стандартні набори ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна) та 99,9% хлорпірифос (CAS № 2921-88-2) (О,О-діетил-О-3,5,6-трихлор-2-піридилфосфоротіоат (C₉H₁₁Cl₃NO₃PS)) компанії Sigma Chemical (США).

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

Результати і їхнє обговорення

Оскільки загальноприйнятим індикаторним показником ступеня інтоксикації ФОС і, зокрема, ХПФ, є ензиматична активність холінестерази, було проведено визначення активності цього ензиму в сироватці крові на кожному з етапів експерименту. Варто зазначити, що у сироватці крові наявна так звана бутирилхолінестераза, або псевдохолінестераза. Ця форма ензиму виробляється гепатоцитами і бере участь у руйнуванні не тільки холіну, але й холіноподібних сполук. Отруєння ФОС призводить до фосфорилування холінестерази, тобто утворюється так звана фосфорилізована холінестераза (холінестераза + залишок ФОС, що містить фосфор у вигляді залишку фосфорної кислоти), яка втрачає здатність гідролізувати ацетилхолін і відновлює свою активність дуже повільно. Як видно з даних табл. 1, статистично вірогідне зниження активності бутирилхолінестерази у сироватці крові тварин дослідної групи порівняно з контрольними групами інтактних тварин було зафіксоване на першу і третю доби дослідження, а саме – на 80,9% (p<0,001) і 42,8% (p<0,05) відповідно. Отже, протягом перших трьох діб після введення тваринам ХПФ мало місце різке зниження бутирилхолінестеразної активності. Проте вже починаючи з 6-ї доби після початку експерименту активність досліджуваного ензиму зростає майже до рівня показників контрольної групи.

Таблиця 1

Бутирилхолінестеразна активність у сироватці крові щурів після введення їм ХПФ у дозі 30 мг/кг, (M±m, n=5)

Група тварин	Період досліджень (дів після введення ХПФ)			
	1	3	6	10
К	38,03±3,17	40,64±3,69	39,25±2,06	35,1±4,05
Д	21,09±2,89***	28,57±3,11*	34,56±4,84	26,40±3,4

Примітка. У цій та наступних таблицях: *, **, *** – вірогідність відмінностей між показниками контрольних і дослідних груп тварин (* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001).

Важливим біохімічним тестом для оцінки метаболічного стану є дослідження активностей амінотрансфераз – ензимів, які каталізують реакції переамінування. АлАт і АсАт є основними ензимами, які беруть участь у протеїновому обміні. Поряд із цим, вони також вважаються важливою ланкою між вуглеводними та протеїновими обмінними процесами. Дані ензими мають вибірково тканинну спеціалізацію, тому аналіз крові на АлАт свідчить про стан печінки, аналіз крові на АсАт – показник стану серцевого м'яза – міокарда. Загибель і руйнування клітин у цих органах супроводжується виходом ензимів у кров. Крім того, оскільки АлАт дислокується переважно у клітинній цитоплазмі, її зміни відображають певною мірою стан плазматичних мембран. АсАт, у свою чергу, розміщена як у цитоплазмі, так і в мітохондріях, отже, цей ензим може характеризувати і стан останніх. Відомо, що вміст АлАт і АсАт у сироватці крові перебуває на відносно низькому рівні, але

при підвищенні проникності мембран або їхньому пошкодженні відбувається збільшення виходу цих ензимів із цитозолу і, таким чином, їхній вміст у сироватці може відображати ступінь пошкоджуючої дії токсичних чинників, зокрема ХПФ.

Результати наших досліджень (табл. 2) вказують на підвищення активностей АлАт і АсАт у плазмі крові тварин дослідних груп практично протягом усього періоду досліджень. При цьому у плазмі крові щурів дослідних груп, яким було введено ХПФ у дозі 30 мг/кг, виявлено вірогідне зростання активності АсАт на 1-шу, 3-тю та 6-ту доби експериментального періоду, порівняно з контрольними зразками, відповідно – на 20% ($P<0,001$), 28,3% ($P<0,01$) і на 19% ($P<0,05$). Що стосується АлАт, то її активність була вірогідно вищою на 1-шу та 6-ту доби після введення вищезгаданого пестициду, відповідно на 17,2% ($P<0,05$) та 23% ($P<0,01$) порівняно з плазмою крові інтактних щурів. На 10-ту добу активність АлАт і АсАт плазми крові дослідних тварин була вже практично на одному рівні з показниками контрольної групи інтактних тварин.

За умов зростання амінотрансферазних активностей рекомендується розраховувати коефіцієнт де Рітіса (De Ritis ratio), тобто відношення абсолютних значень АсАт до АлАт [10]. З даних, які представлені у табл. 2, видно, що зміни коефіцієнта де Рітіса були незначними і не виходили за межі норми, хоча у першій частині експерименту – на 1-шу – 3-тю доби цей показник незначно зростав, а починаючи із 6-ї доби спостерігалася протилежна тенденція, зокрема, на 10-ту добу після інтоксикації ХПФ спостерігали зниження цього коефіцієнта до 1,49 у тварин дослідної групи порівняно з контролем, що було його мінімальним значенням протягом усього дослідного періоду.

Таблиця 2

Амінотрансферазна активність у плазмі крові щурів після введення їм ХПФ у дозі 30 мг/кг, ($M\pm m$, $n=5$)

Період досліджень (дів після введення ХПФ)	Група тварин	Досліджуваний показник		
		АлАт, (мкмоль /год× мл)	АсАт, (мкмоль /год× мл)	Коефіцієнт де Рітіса
1 доба	К	0,64±0,03	1,07±0,03	1,67
	Д	0,75±0,04*	1,28±0,02***	1,71
3 доби	К	0,70±0,10	1,20±0,09	1,71
	Д	0,87±0,06	1,54±0,07**	1,77
6 дів	К	0,74±0,02	1,27±0,03	1,72
	Д	0,91±0,04**	1,51±0,08*	1,66
10 дів	К	0,66±0,07	1,10±0,07	1,67
	Д	0,77±0,03	1,15±0,10	1,49

Лужна фосфатаза (ЛФ) – ензим, який здійснює дефосфорилювання багатьох типів молекул, зокрема, нуклеотидів, протеїнів, алкалоїдів та ін. Цей ензим наявний практично у всіх тканинах організму, а основним місцем його локалізації у клітинах є мембрана. У результаті проведених досліджень було встановлено, що активність лужної фосфатази у плазмі крові (табл. 3) щурів суттєво зростала у тварин дослідної групи на першу добу після введення ХПФ, а саме – на 40,7% ($P<0,05$) порівняно з контролем. На 3-тю добу показник ЛФ у тварин контрольної та дослідної груп був на одному рівні. Картина змінилась у наступні періоди досліджень. Зокрема, на 6-ту і 10-ту доби після інтоксикації ХПФ активність лужної фосфатази знижувалася відповідно на 35,6% ($P<0,001$) та 33,2% ($P<0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи. Це вказує на біохімічні порушення в органах і тканинах щурів дослідної групи.

Проведені дослідження показали, що вміст загального протеїну у плазмі крові тварин експериментальної групи вірогідно знижувався на 3-тю і 6-ту доби після застосування ХПФ,

відповідно на 16,1% ($P<0,05$) та 11,5% ($P<0,01$) (табл. 4). Аналіз даних із вмісту сечовини в сироватці крові експериментальних тварин свідчить, що її рівень у тварин, що одержали хлорпірифос, практично не відрізняється від рівня у інтактних тварин (табл. 4), тобто рівень катаболізму амінокислот у тварин дослідних груп однаковий з таким у інтактних. Вміст альбуміну був вірогідно вищим у тварин дослідної групи на 3-тю добу ($P<0,01$) після введення пестициду ХПФ порівняно з контролем.

Таблиця 3

Активність лужної фосфатази (Од/л) в плазмі крові щурів після введення їм ХПФ у дозі 30 мг/кг, ($M\pm m$, $n=5$).

Група тварин	Період досліджень (дів після введення ХПФ)			
	1	3	6	10
К	424,33±34,48	303,74±19,19	390,11±24,10	554,13±54,18
Д	597,07±52,80*	304,57±17,87	251,26±12,77***	370,40±50,47*

Таблиця 4

Показники протеїнового обміну у плазмі крові щурів після введення їм ХПФ у дозі 30 мг/кг, ($M\pm m$, $n=5$)

Період досліджень (дів після введення ХПФ)	Група тварин	Досліджуваний показник		
		Загальний протеїн, (г/л)	Альбумін, (г/л)	Сечовина, (ммоль/л)
1	К	79,40±3,91	56,70±2,23	4,24±0,77
	Д	77,46±1,82	62,13±2,66	5,76±0,65
3	К	71,47±3,45	44,23±2,01	4,21±0,35
	Д	60,00±3,03*	36,50±0,67**	4,63±0,14
6	К	73,21±2,14	46,39±1,73	6,56±0,67
	Д	64,83±1,88**	46,00±1,59	6,80±0,25
10	К	75,00±1,10	46,70±2,70	4,46±0,97
	Д	72,46±4,20	51,73±1,24	5,80±0,15

Гематологічні показники є важливою інтегральною характеристикою фізіологічного і клінічного стану організму, оскільки, як відомо, кров є ключовою гомеостатичною системою. Вивчення гематологічних показників свідчить (табл. 5), що введення тваринам ХПФ приводить до зниження концентрації гемоглобіну на 1-шу добу на 8% ($p<0,05$) без зміни загальної кількості еритроцитів.

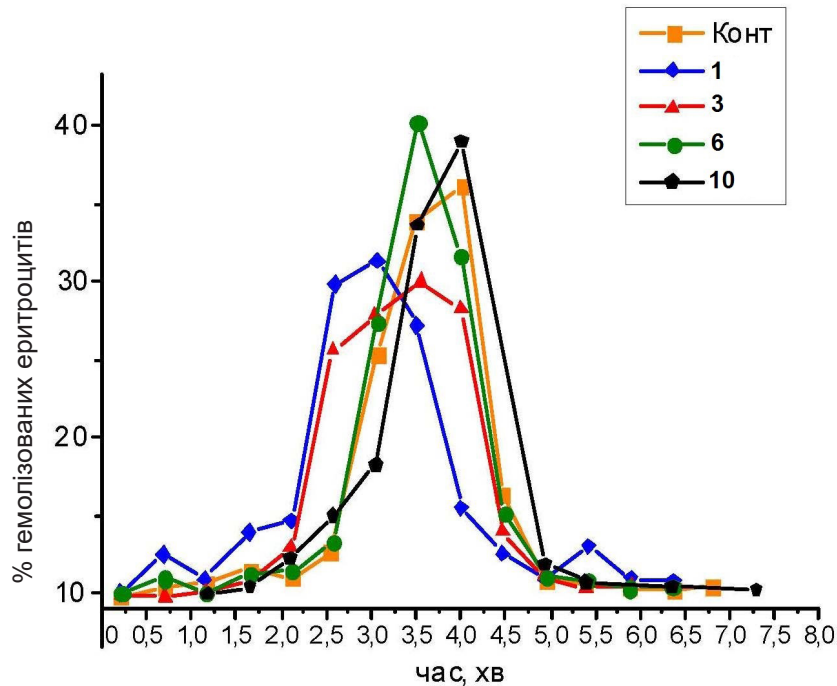
Таблиця 5

Загальна кількість еритроцитів і концентрація гемоглобіну у крові щурів після введення їм ХПФ у дозі 30 мг/кг, ($M\pm m$, $n=5$)

Період досліджень, дів після введення ХПФ	Група тварин	Досліджуваний показник	
		Загальна кількість еритроцитів, Т/л	Концентрація гемоглобіну, г/л
1	К	3,28±0,21	141,00±3,34
	Д	3,71±0,16	129,80±4,00*
3	К	3,52±0,27	146,50±4,12
	Д	3,33±0,13	120,80±6,45**
6	К	3,49±0,19	148,00±5,87
	Д	3,41±0,32	117,05±6,00**
10	К	3,40±0,22	138,19±5,36
	Д	3,35±0,24	113,13±6,34**

Вірогідно знижена концентрація гемоглобіну утримувалась на 3-тю і 6-ту доби після введення ХПФ, відповідно на 17,9 ($P<0,01$) і 21% ($P<0,01$). Концентрація гемоглобіну не наблизилася до контрольних значень навіть на 10-ту добу після застосування вищевказаного пестициду і була вірогідно нижчою порівняно з тваринами контрольної групи на 18,1% ($P<0,01$). Загальна кількість еритроцитів при цьому не змінювалась.

Результати досліджень стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу (рис. 1) показали зниження стійкості еритроцитів крові дослідних тварин порівняно з інтактними. Виявлено зсув часу максимального гемолізу (хв). Найсуттєвіше достовірне зменшення часу максимального гемолізу, а саме – на 25%, спостерігали на першу добу експерименту. У свою чергу, час тотального гемолізу еритроцитів зменшився на 15% через 3 доби та на 6% через 6 діб після введення тваринам ХПФ, порівняно з контрольними показниками.



Групи	Час max гемолізу хв	Час тотального гемолізу хв	max % гемолізу
Конт	4,1±0,31	6,8±0,28	36,7±2,11
1	3,1±0,27*	6,3±0,40	33,8±1,64
3	4,2 ±0,36	5,8±0,22*	29,4±2,93
6	4,2±0,33	6,4±0,28*	40,1±1,52
10	4,2±0,58	7,3±0,56	38,6±0,78

Рис. 1. Еритрограми кислотного гемолізу і їх параметри через 1, 3, 6 і 10 діб після введення щурам ХПФ у дозі 30 мг/кг, ($M \pm m$, $n=5$).

Зміну максимумів гемолізу еритроцитів можна пояснити виходячи із хімічної структури досліджуваного токсиканта. У зв'язку із наявністю двох метильних екзогенних груп ХПФ може легко проходити крізь клітинну мембрану і легко проникати у внутрішнє середовище клітини. У сполуці є наявні три екзогенні атоми Хлору і одного Сульфуру. Оскільки атоми Хлору і Сульфуру є високореактивними, то вони можуть взаємодіяти із R-групами інтегральних протеїнів клітинної мембрани, призводячи до зміни конфорації останніх. Наслідком взаємодії може бути порушення стабільної структури мембрани. Крім того, не виключено, що ХПФ може реагувати із поверхневими компонентами мембрани клітини – сіаловими кислотами. Фізико-хімічні властивості мембран еритроцитів забезпечують їх стійкість до дії несприятливих факторів, зокрема токсичних чинників. Тому

показники стійкості еритроцитів часто використовують у експериментальній медицині як спосіб аналізу їх функціонального стану і можуть, зокрема, бути використані при оцінці токсичного впливу на організм ХПФ.

Отже, одержані результати вказують на те, що одноразова інтоксикація щурів ХПФ у дозі 30 мг/кг упродовж наступних 10 діб після введення токсину в організм спричиняє, крім зниження у їх крові активності бутирилхолінестерази, що є індикатором при отруєннях фосфорорганічними сполуками, також вірогідні зміни амінотрансферазних активностей, показників протеїнового обміну та деяких гематологічних параметрів. Зокрема, на 1-шу, 3-тю і 6-ту доби експериментального періоду у крові інтоксикованих щурів мало місце вірогідне зростання активності АсАт порівняно з контролем. Встановлено вірогідне зростання активності лужної фосфатази у плазмі крові щурів дослідної групи на 1-шу добу після введення ХПФ порівняно з контролем та зниження цього показника на 6-ту і 10-ту доби. Виявлено зниження вмісту загального протеїну у плазмі крові тварин експериментальної групи на 3-тю і 6-ту доби після застосування ХПФ і зростання вмісту альбуміну у тварин дослідної групи на 3-тю добу порівняно з контролем. Встановлені зміни гематологічних параметрів, які полягають у зниженні концентрацій гемоглобіну починаючи з 3-ї доби експерименту й у зниженні стійкості еритроцитів крові дослідних тварин порівняно з інтактними до кислотного гемолізу.

Виявлені зміни досліджуваних ензиматичних активностей, показників протеїнового обміну у крові й еритроцитарних показників свідчать про багатовекторність токсичної дії ХПФ і можуть бути використані як додаткові маркери оцінки токсичного впливу цієї та інших фосфорорганічних сполук на організм ссавців.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Влізло В. В., Федорук Р. С., Ратич І. Б.* та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: СПОЛОМ, 2012. 764 с.
2. *Влізло В. В., Салига Ю. Т.* Проблеми біологічної безпеки застосування пестицидів в Україні // Вісн. аграрної науки. 2011. № 1. С. 24–27.
3. *Гительзон И. И., Терсков И. А.* Эритрограммы как метод клинического исследования крови. Красноярск: Изд-во СО АН СССР, 1959. 247 с.
4. *Грабовська С. В., Салига Ю. Т.* Вплив хронічної інтоксикації низькими дозами хлорпірифосу на поведінку самиць щурів // Фізіол. журнал. 2015. Т. 61. № 2. С. 94–101.
5. *Карпищенко А. И.* Медицинские лабораторные технологии: справочник. СПб.: Интермедика, 2002. Т 1. 408 с.
6. *Салига Ю. Т.* Показники антиоксидантної системи у головному мозку щурів, інтоксикованих хлорпірифосом // Біологічні студії. 2013. Т. 7. № 3. С. 85–96.
7. *Салига Ю. Т., Росаловський В. П.* До вивчення деяких параметрів системи антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів у крові щурів за токсичної дії хлорпірифосу // Укр. морфол. альманах. 2012. Т. 10. № 3. С. 94–95.
8. *Ambali S. F., Ayo J. O., Esievo K. A.* Hemotoxicity induced by chronic chlorpyrifos exposure in wistar rats: mitigating effect of vitamin C // Vet. Med. Int. Vol. 2011. N 2011. P. 1–7.
9. *Costa L. G.* Current issues in organophosphate toxicology // Clin. Chim. Acta. 2006. Vol. 366. N 1. P. 1–13.
10. *De Ritis F., Coltorti M., Giusti G.* An enzymic test for the diagnosis of viral hepatitis: the transaminase serum activities // Clin. Chim. Acta. 2006. Vol. 369. N 2. P. 148–152.
11. *Drupt F.* Colorimetric method for determination of albumin // Pharm. Biol. J. 1974. Vol. 9. P. 777–779.

12. Eaton D. L., Daroff R. B., Atrup H. et al. Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment // *Crit. Rev. Toxicol.* 2008. Vol. 38. N 2. P. 1–125.
13. Elsharkawy E. E., Yahiaa D., El-Nisrb N. A. Sub-chronic exposure to chlorpyrifos induces hematological, metabolic disorders and oxidative stress in rat: Attenuation by glutathione // *Env. Toxic. Pharm.* 2013. N 35. P. 218–227.
14. Glynn P. A. Mechanism for organophosphate-induced delayed neuropathy // *Toxicol. Lett.* 2006. N 1. P. 94–98.
15. Kind P. R. N., King E. J. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with fmino-antipyrine // *J. Clin. Pathol.* 1954. Vol. 7. P. 322–326.
16. Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases // *Am. J. Clin. Pathol.* 1957. Vol. 28. N 1. P. 56.
17. Kwong T. C. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology // *Ther. Drug Monit.* 2002. Vol. 24. P. 144–149.
18. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1952. Vol. 193. P. 265–275.
19. Ray D. E., Richards P. G. The potential for toxic effect of chronic, low-doses exposure to organophosphates // *Toxicol. Lett.* 2001. Vol. 120. N 1–3. P. 343.
20. Salyha Y. Biological effects assessment of chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity // *Visn. Lviv Univ. Biol. Ser.* 2010. Is. 54. P. 3–14.
21. Salyha Y. Chlorpyrifos leads to oxidative stress-induced death of hippocampal cells *in vitro* // *Neurophysiol.* 2013. Vol. 45. N 3. P. 193–199.
22. Savithri Y., Sekhar P. R., Doss J. P. Changes in hematological profiles of albino rats under chlorpyrifos toxicity // *Inter. J. Pharma Bio. Sci.* 2010. Vol. 1. N 3. P. 1–7.

Стаття: надійшла до редакції 28.09.15

доопрацьована 29.01.16

прийнята до друку 01.02.16

EFFECTS OF CHLORPYRIFOS INTOXICATION ON BIOCHEMICAL AND ERYTHROCYTIC PARAMETERS OF RATS BLOOD

Y. Salyha, V. Rosalovsky

*Institute of Animal Biology, NAAS of Ukraine
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine
e-mail: yursalyha@yahoo.com*

Chlorpyrifos is an organophosphate compound. It is dangerously toxic, but the underlying mechanisms of its toxicity are not fully understood yet. We studied the effects of 30 mg/kg chlorpyrifos exposure to rats on certain biochemical parameters of their blood, measured at 1, 3, 6, and 10 days after the exposure. Changes in aspartate and alanine aminotransferases, alkaline phosphatase and protein metabolism indices, along with a decrease in butyrylcholinesterase activity in the blood serum were found, showing how multidirectional are the toxic effects of chlorpyrifos, which mechanisms are not limited to the well-known anticholinergic action. Studying hematological parameters of intoxicated rats, we found a decrease in hemoglobin concentration and acid hemolysis resistance of red blood cells in the blood of intoxicated rats, compared with intact animals, during the experimental period.

Identified changes of enzymatic activities, indicators of protein metabolism in blood and red blood cell parameters of studied animals under the chlorpyrifos action can be used as additional indicators in evaluation of toxic effects of this and other organophosphorus compounds in mammals.

Keywords: chlorpyrifos, toxicity, red blood cells, blood, rats.

ВЛИЯНИЕ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРПИРИФОСОМ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ И ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ КРЫС

Ю.Салыга, В. Росаловский

*Институт биологии животных НААН Украины
ул. В. Стуса, 38, Львов 79034, Украина
e-mail: yursalyha@yahoo.com*

Хлорпирифос принадлежит к классу фосфорорганических соединений и является опасным токсикантом, механизмы действия которого до конца не выяснены. Исследовали влияние интоксикации лабораторных крыс данным ксенобиотиком в дозе 30 мг/кг на некоторые биохимические показатели их крови через 1, 3, 6, 10 суток после однократного внутрибрюшинного введения препарата. Обнаруженные изменения ферментативных активностей аспартат- и аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и показателей протеинового обмена на фоне снижения бутирилхолинэстеразной активности в крови исследуемых животных свидетельствуют о многовекторности токсического действия хлорпирифоса, механизмы которого не ограничиваются общеизвестным антихолинэстеразным действием. Также изучали гематологические параметры интоксикованных крыс и обнаружили снижение концентрации гемоглобина и уменьшение устойчивости эритроцитов к кислотному гемолизу крови подопытных крыс по сравнению с интактными животными в течение экспериментального периода. Выявленные изменения ферментативных активностей, показателей протеинового обмена в крови и эритроцитарных параметров исследуемых животных при действии хлорпирифоса могут быть использованы как дополнительные индикаторы оценки токсического воздействия этого и других фосфорорганических соединений на организм млекопитающих.

Ключевые слова: хлорпирифос, токсичность, эритроциты, кровь, крысы.