

СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА ВПЛИВУ ФЛУРЕНІЗИДУ

Н. О. Боднарчук, С. М. Мандзинець, Л. І. Петрух, Д. І. Санагурський
nataljabodnarchyk@ukr.net

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна, biofiz@franko.lviv.ua

Метою роботи було вивчення впливу «Флуренізиду» (препарату протимікробної, протитуберкульозної, антихламідійної, імуномодуючої, антиоксидантної, гепатопротекторної, проти запальної, протівірусної дії) на антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) впродовж раннього ембріогенезу. Досліджено супероксиддисмутазу й каталазу активність за дії «Флуренізиду» в концентраціях 0,01; 0,05; 0,15; 1; 5; 15 мМ у зародків в'юна на етапі розвитку першого (2 бластомери), четвертого (16 бластомерів), шостого (64 бластомери), восьмого (256 бластомерів), десятого (1024 бластомери) дроблення зиготи. Проведено двофакторний дисперсійний аналіз з метою виявлення ступеня впливу дії «Флуренізиду», часу розвитку та неврахованих факторів на активність досліджуваних ензимів.

Встановлено, що «Флуренізид» порушує роботу супероксиддисмутазу на всіх етапах розвитку зародків в'юна. Він зумовлює спадання активності цього ензиму на етапі розвитку 16 бластомерів. Виявлено, що досліджуваний антибіотик у концентраціях 1; 5; 15 мМ, на стадії 10 поділу зародкових клітин, зумовлює спадання активності супероксиддисмутазу, тоді як «Флуренізид» у концентраціях 0,01 мМ і 0,05 мМ веде до зростання активності цього ензиму. Засвідчено, що «Флуренізид» у всіх досліджуваних концентраціях призводить до спадання каталазної активності на етапі розвитку зародків в'юна 64 бластомери. На стадії 10 поділу зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. «Флуренізид» у концентраціях 0,01 мМ та 0,05 мМ зумовлює значне зростання каталазної активності, у вищих концентраціях (1 мМ та 15 мМ) — веде до спадання активності досліджуваного ензиму.

За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що на супероксиддисмутазу та каталазу активність зародків в'юна потужний вплив чинять невраховані фактори. Посередній вплив на роботу цих ензимів здійснює «Флуренізид», що ймовірно свідчить про непряму дію цього чинника на активність СОД та КАТ. Встановлено, що час розвитку більш виражено впливає на каталазу активність.

Ключові слова: ЗАРОДКИ В'ЮНА, ФЛУРЕНІЗИД, ЕМБРІОГЕНЕЗ, СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАЗА, КАТАЛАЗА

STATE OF ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM OF LOACH EMBRYOS AT INFLUENCE OF FLURENIZIDE

N. O. Bodnarchuk, S. M. Mandzynets, L. I. Petrukh, D. I. Sanagurski
nataljabodnarchyk@ukr.net

Ivan Franko National University of Lviv,
4 Hrushevskogo str., Lviv 79005, Ukraine, biofiz@franko.lviv.ua

The aim of this work was to study the influence of Flurenizide (antibiotic of antimicrobial, antituberculous, antichlamydia, immunomodulator, antioxidant, hepatoprotective, antiinflammatory, antiviral action) on the antioxidant homeostasis of loach embryos (*Misgurnus fossilis* L.) during early embryogenesis. The superoxide dismutase and catalase activity under the action of Flurenizide in concentrations 0,01; 0,05; 0,15; 1; 5; 15 mM of loach embryos at the stage of development first (2 blastodmeres), fourth (16 blastodmeres), sixth (64 blastodmeres), eighth (256 blastodmeres), tenth (1024 blastodmeres) crushing zygote was investigated. The twofactor analysis of variance was conducted to expose the level of influence of Flurenizide action, time of development and untaken into account factors on activity of the investigated enzymes.

It is established that Flurenizide violates the work of superoxiddismutase on all stages of loach embryos development. It predetermines the slump of activity of this enzyme on the stage of development 16 blastodmeres. It is revealed that the investigated antibiotic in concentrations 1; 5; 15 mM on the stage of the

10th division of bioblasts predetermines the slump of activity of superoxidismutase, while in the concentrations of 0,01mM and 0,05 mM Flurenizide causes the increase of this enzyme activity.

It is validated that Flurenizide in all investigated concentrations causes the slump of catalase activity on the stage of 64 blastodermes of loach embryos development. On the stage of the 10th loach embryos division Misgurnus fossilis L. Flurenizide in the concentrations of 0,01 mM and 0,05 mM predetermines the considerable increase of catalase activity and in the higher concentrations of 1 mM and 15 mM conduces to the slump of activity of the investigated enzyme.

By means of twofactor analysis of variance it is established that the powerful influence on superoxide dismutase and catalase activity of loach the embryos is rendered by the untaken into account factors. Flurenizide carries out a mediocre influence on work of these enzymes which testifies probably the indirect action of this factor on activity of SOD and CAT. It is established that time of development has more expressed influence on catalase activity.

Keywords: LOACH EMBRYOS, FLURENIZIDE, EMBRYOGENY, SUPEROXIDE DISMUTASE, CATALASE

СТАН СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ФЛУРЕНИЗИДА

Н. А. Боднарчук, С. М. Мандзинец, Л. И. Петрух, Д. И. Санагурский
nataljabodnarchyk@ukr.net

Львовский национальный университет имени Ивана Франко,
ул. Грушевского, 4, г. Львов, 79005, Украина, biofiz@franko.lviv.ua

Целью работы было изучение влияния «Флуренизида» (препарата противомикробного, противотуберкулезного, антихламидийного, иммуномодулирующего, антиоксидантного, гепатопротекторного, противовоспалительного, противовирусного действия) на антиоксидантный гомеостаз зародышей вьюна (*Misgurnus fossilis* L.) на протяжении раннего эмбриогенеза. Исследовано супероксиддисмутазную и каталазную активность за действия «Флуренизида» в концентрациях 0,01; 0,05; 0,15; 1; 5; 15 мМ у зародышей вьюна на этапе развития первого (2 бластомеры), четвертого (16 бластомеров), шестого (64 бластомеры), восьмого (256 бластомеров), десятого (1024 бластомеры) дробления зиготы. Проведен двухфакторный дисперсионный анализ с целью выявления степени влияния действия «Флуренизида», времени развития и неучтенных факторов на активность исследуемых энзимов.

Установлено, что «Флуренизид» нарушает работу супероксиддисмутазы на всех этапах развития зародышей вьюна. Он предопределяет спадание активности этого энзима на этапе развития 16 бластомеров. Выявлено, что исследуемый антибиотик в концентрациях 1; 5; 15 мМ на стадии 10 разделения зародышевых клеток предопределяет спадание активности супероксиддисмутазы, тогда как «Флуренизид» в концентрациях 0,01 мМ и 0,05 мМ ведет к росту активности этого энзима. Удостоверено, что «Флуренизид» во всех исследуемых концентрациях приводит к спаданию каталазной активности на этапе развития зародышей вьюна 64 бластомеров. На стадии 10 разделения зародышей вьюна *Misgurnus fossilis* L. «Флуренизид» в концентрациях 0,01 мМ и 0,05 мМ предопределяет значительный рост каталазной активности, в высших концентрациях — 1 мМ и 15 мМ — ведет к спаданию активности исследуемого энзима.

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа установлено, что на супероксиддисмутазную и каталазную активность зародышей вьюна мощное влияние оказывают неучтенные факторы. Посредственное влияние на работу этих энзимов осуществляет «Флуренизид», что вероятно свидетельствует о непрямом действии этого фактора на активность СОД и КАТ. Установлено, что время развития более выражено влияет на каталазную активность.

Ключевые слова: ЗАРОДЫШИ ВЬЮНА, ФЛУРЕНИЗИД, ЕМБРИОГЕНЕЗ, СУПЕРОКСИДИСМУТАЗА, КАТАЛАЗА

Відомо, що в організмі на будь-які впливи екзогенного та ендогенного походження реагує система антиоксидантного захисту [20].

За дії різноманітних чинників в клітинах відбуваються зміни, які супроводжуються активацією або пригніченням активності

ензимів антиоксидантної системи (АОС), що пов'язано зі збільшенням концентрації токсичних метаболітів. Накопичення цих сполук призводить до розвитку оксидативного стресу внаслідок порушення балансу між про та антиоксидантною системами [20]. За інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення ліпідів відбуваються деструктивні зміни клітинних мембран, а саме — значне збільшення їхньої проникності для різного типу молекул та іонів, зростання в'язкості ліпідного бішару і поява на поверхні мембран надлишку негативно заряджених хімічних груп. Вони спричиняють розлади у функціонуванні багатьох мембранних ензимів, роботі потенціалчутливих іонних каналів та зміщенні іонної рівноваги [3, 4, 24]. Важливу роль у захисті організму від ушкоджень внаслідок пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) відіграє спеціалізована АОС, яка захищає клітину від активних кисневих метаболітів та інактивує окремі продукти вільнорадикального окиснення [2, 22, 25, 26]. В організмі функціонування АОС забезпечує стійкість окисного гомеостазу шляхом регулювання швидкості утворення і елімінації радикальних форм кисню, які генеруються мітохондріями, а також цитохромом P-450 [1, 6, 21]. Активність системи антиоксидантного захисту може значно лімітувати адаптаційну здатність організму [5]. Відомо, що АОС умовно поділяється на ферментативну і неферментативну ланки. До першої відносять усі антиоксидантні ензими, серед яких — супероксиддисмутаза (СОД) та каталаза (КАТ) [1, 10, 19, 24].

СОД (супероксид: супероксид-оксидоредуктаза, КФ 1.15.1.1) є ключовим ензимом антирадикального захисту, який забезпечує обривання ланцюгів кисневозалежних вільнорадикальних реакцій шляхом рекомбінації супероксидних аніон-радикалів кисню (O_2^-) [7, 8, 18].

КАТ (гідроген-пероксидаза: гідроген-пероксид оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6) виявлений у клітинах практично всіх аеробних організмів. Відповідно до сучасних уявлень, каталаза перешкоджає накопиченню в клітинах пероксиду водню, який проявляє пошкоджуючу дію на клітинні компоненти. Робота

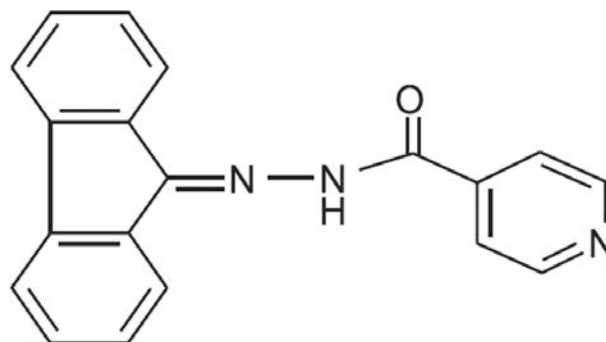


Рис. 1. Структурна формула флуренізиду
Fig. 1. Structural formula of flurenizide

КАТ безпосередньо пов'язана з активністю СОД, оскільки при дії останньої утворюється пероксид водню, який знешкоджується каталазою.

У медичній практиці використовують новий клас ліків — похідні флуорену (трициклического ароматичного ядра). До них належать відомі протівірусні препарати «Флореналь» і «Аміксин» [11, 13–15]. «Флореналь» — бісульфітна сполука 2-флуоренонілгліоксалу, що нейтралізує дію *Herpes simplex*, *Herpes zoster* і застосовується в офтальмології для лікування вірусних захворювань очей. «Аміксин» (синоніми: «Тилорон», 2,7-біс-[2-діетил-аміноетокси]-флуоренону-9 дигідрохлорид) — низькомолекулярний індуктор ендogenous інтерферону. Він є протівірусним засобом та імунomodulatory, ефективним проти всіх збудників гострих респіраторних вірусних інфекцій. Пошук серед флуоренів, високо-ефективних субстанцій широкого спектру дії, привів до створення «Флуренізиду» (N-9-флуореніліден-N'-ізонікотиногідрозиду) (Рис. 1) — препарату протимікробної, протитуберкульозної, антихламідійної, імунomodulatory, антиоксидантної, гепатопротекторної, проти-запальної, протівірусної дії [13, 16]. Протівірусний ефект «Флуренізиду» вивчено *in vitro* та *in ovo* щодо вірусу грипу птиці (ВГП) типу Росток/34 (H7N1) та вірусу хвороби Ньюкасла. Найближчим аналогом «Флуренізиду» за структурою та дією є «Аміксин», котрий відрізняється фармакологічними властивостями. Показники протівірусної дії «Флуренізиду» (відносно вірусу грипу птахів) у системах *in vitro* та *in ovo* перевищують відповідні показники для аміксіну.

«Флуренізид» — український препарат (реєстраційне посвідчення № P.10.00/02305 від 12.10.2000 р.) — випускається у вигляді порошку, таблеток і вагінальних супозиторіїв [13, 17]. Відомо, що цей антибіотик не чинить негативного впливу на рівень еритроцитів, гемоглобіну і тромбоцитів периферичної крові, функцію печінки та нирок. Проте залишається недостатньо вивченою його дія на антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) на ранніх стадіях розвитку.

Метою даного дослідження є вивчити зміну активності СОД та КАТ на різних етапах розвитку зародків в'юна за дії «Флуренізиду» у різних концентраціях. Результати досліджень відображають умовний рівень супероксид-аніон радикалу та пероксиду водню, а також вплив досліджуваної сполуки на активність ензимів АОС.

Матеріали і методи

Досліди проводили на зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. Коротка тривалість періоду ембріогенезу, легкість отримання статевих продуктів і відсутність труднощів в утриманні цих риб у лабораторних умовах пояснюють його популярність. Відносно великі розміри яйцеклітини дозволяють спостерігати за періодами розвитку після запліднення і контролювати кожен з етапів поділу під бінокулярном [12].

Яйцеклітини отримували і запліднювали за методом Нейфаха [12]. Для отримання ікри самкам внутрішньом'язово вводили хоріогонічний гонадотропін за 24–48 годин до проведення експерименту. Доза гормону становила від 250 міжнародних одиниць (лютий–червень) до 500 (з жовтня). Самця декапітували, сім'яники подрібнювали і заливали відстояною водопровідною водою. Усі досліди з в'юнами проводили з дотриманням вимог «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою» (Страсбург, 1986). Запліднення ікри проводили в чашках Петрі, додаючи суспензію спермій.

Для задовільного запліднення ікри контакт зі спермою становив 5–10 хв. Потім запліднену ікру відмивали від спермій та інкубували за температури 21–22 °С у розчині Гольфретера. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9. Дослідження проводили на зародках в'юна, які відповідали першому дробленню зиготи (2 бластомери); четвертому (16 бластомерів); шостому (64 бластомери); восьмому (256 бластомерів); десятому (1024 бластомери). Через 5–10 хв після запліднення відмиті зиготи інкубували у фізіологічному розчині Гольфретера ($t=20-22$ °С), який містив розчин «Флуренізиду» (використовували новосинтезовану професором Петрух Л. І. у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького) субстанцію в концентраціях 0,01; 0,05; 0,15; 1; 5; 15 мМ. Згідно з Державною фармакопеею України, «Флуренізид» першопочатково розчиняли диметилсульфоксидом, оскільки він у цій речовині легко-розчинний, у співвідношенні 1:2, після чого доводили H_2O до відповідних концентрацій [13]. У відібраних зразках визначали активність ензимів антиоксидантного захисту: СОД [20] та КАТ [20]. Концентрацію білка в кожному зразку визначали за методом Лоурі [9].

Перевірку нормальності вибірки здійснювали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова з використанням пакета аналізу SPSS (*Statistics 17*). Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми *Excel 2007* для *Windows*.

Для оцінки вірогідності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обраховували коефіцієнт Стюдента. Вірогідною вважалася різниця при показнику вірогідності $P \geq 0,95$ (або рівні значимості $P < 0,05$), $P \geq 0,99$ (або рівні значимості $P < 0,01$), $P \geq 0,999$ (або рівні значимості $P < 0,001$). За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу розраховували частку впливу «Флуренізиду», часу розвитку та неврахованих чинників на активність досліджуваних ензимів у зародках в'юна. Результати дослідження представлені у вигляді рисунків.

Результати й обговорення

Нами встановлено, що «Флуренізид» у нижчій досліджуваній концентрації (0,01 мМ) зумовлює значне зростання супероксиддисмутази активності (на 94 %) на етапі розвитку зародків в'юна 2 бластомери. На цьому етапі розвитку супероксиддисмутаза активність вірогідно спадає за дії «Флуренізиду» в концентраціях 0,15 мМ та 15 мМ (Рис. 2). На стадії 16 бластомерів активність цього ензиму спадає на 71 % за впливу «Флуренізиду» в концентрації 0,01 мМ, проте вже на 10 поділі зародкових клітин відбувається повторне підвищення активності СОД на 212 % (Рис. 2). Зростання активності СОД свідчить про підвищення вмісту супероксид-аніон радикалу, а також про утворення внаслідок дії

самого ензиму пероксиду водню, який повинен знешкоджуватися каталазою або глутатіонпероксидазою. Відомо, що супероксид-аніон радикал «витікає» як побічний продукт під час роботи мітохондрій та цитохромів ендоплазматичної сітки, функціонування яких вірогідно порушує «Флуренізид».

Відмічено, що «Флуренізид» у всіх досліджуваних концентраціях (0,01÷15 мМ) веде до значного спадання активності СОД на стадії розвитку зародків в'юна 16 бластомерів (Рис. 2). Відомо, що етап розвитку 16 бластомерів є початком стадії морули і, ймовірно, найбільш чутливим етапом розвитку досліджуваного антибіотика [27]. Таке зниження активності СОД пояснюється зменшенням вмісту субстрату (супероксид-аніон радикалу). З даних літератури відомо, що «Флуренізид»

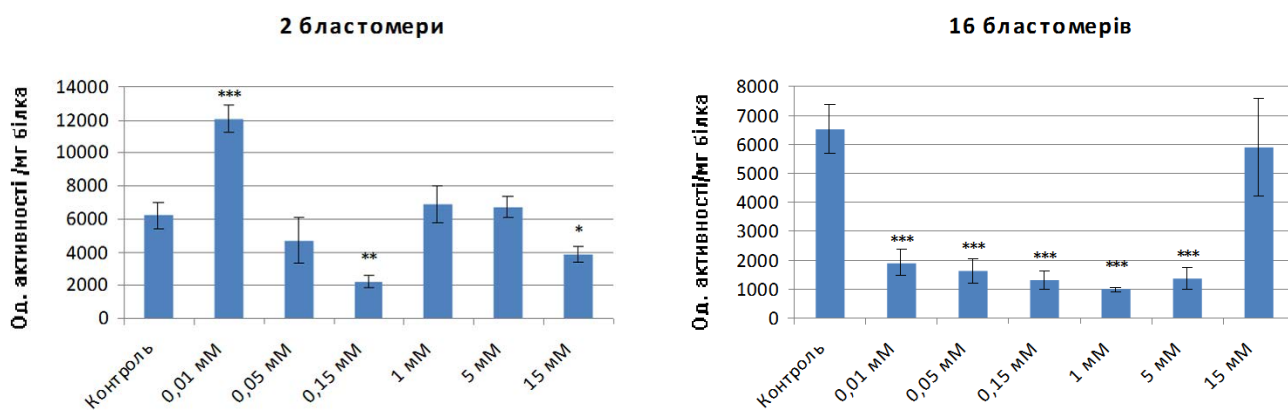


Рис. 2. Супероксиддисмутаза активність зародків в'юна на етапі розвитку 2 та 16 бластомерів за дії «Флуренізиду» в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* — $P \geq 0,95$; ** — $P \geq 0,99$; *** — $P \geq 0,999$)

Fig. 2. Superoxiddismutase activity of loach embryos at the stage of 2 and 16 blastomeres under action of *Flurenizide* 0,01÷15 mM concentration range (* — $P \geq 0,95$; ** — $P \geq 0,99$; *** — $P \geq 0,999$)

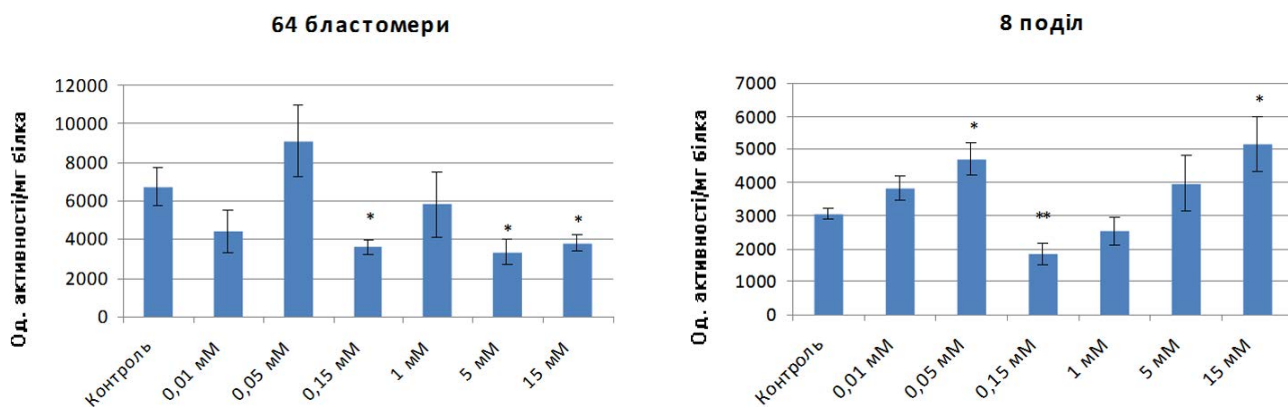


Рис. 3. Супероксиддисмутаза активність зародків в'юна на етапі розвитку 64 та 256 (8 поділ) бластомерів за дії «Флуренізиду» в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* — $P \geq 0,95$; ** — $P \geq 0,99$)

Fig. 3. Superoxiddismutase activity of loach embryos at the stage of 64 and 256 (8th division) blastomeres under action of *Flurenizide* 0,01÷15 mM concentration range (* — $P \geq 0,95$; ** — $P \geq 0,99$)

не зв'язує іони металів змінної валентності, проте здатний гасити такі радикали, як OH^- , HO_2^- тощо і незначною мірою — O_2^- , чим і можна пояснити спадання СОД активності за впливу Флуренізиду [13].

Подальший розвиток зародків у середовищі з «Флуренізидом» зумовлює вірогідне спадання супероксиддисмутази активності на етапі 64 бластомерів за концентрацій антибіотика 0,15 мМ, 5 мМ та 15 мМ (Рис. 3). Потрібно зазначити, що цей антибіотик у високих досліджуваних концентраціях (1÷15 мМ) на стадії 10 поділу зародкових клітин зумовлює спадання активності СОД в середньому на 60 % порівняно з контролем, тоді як низькі концентрації (0,01 мМ і 0,05 мМ) ведуть до зростання активності ензиму. Відомо, що на етапі 10 поділу зародок починає асинхронно ділитися, чим пояснюються значні зміни активності СОД (Рис. 4) [23, 28].

Подібно до СОД, активність КАТ зростає на 77 % на стадії розвитку зародків в'юна 2-ох бластомерів при нижчій досліджуваній концентрації «Флуренізиду» (0,01 мМ) (Рис. 5). У вищих концентраціях (0,15 мМ, 1 мМ, 5 мМ, 15 мМ) цей антибіотик зумовлює вірогідне спадання каталазної активності (на 31 %, 90 %, 81 % та 56 % відповідно). На стадії 16 бластомерів нами виявлено спадання активності цього ензиму на 45 % за впливу «Флуренізиду» в концентрації 1 мМ, та незначне зростання

(на 25 %) — за концентрації 15 мМ (Рис. 5). Подальший розвиток зародків у середовищі з «Флуренізидом» зумовлює вірогідне спадання каталазної активності на етапі розвитку 64 бластомери за всіх досліджуваних концентрацій антибіотика (0,01 мМ÷15 мМ) (Рис. 6). Спадання активності КАТ свідчить про ймовірне зниження вмісту в клітинах пероксиду водню, який є субстратом для цього ензиму, оскільки активність СОД на цих етапах розвитку зародків в'юна є пониженою. Треба зазначити, що «Флуренізид» у низьких досліджуваних концентраціях (0,01 мМ, 0,05 мМ) на стадії 8 поділу зародкових клітин веде до значного спадання активності каталази (88 % та 70 % відповідно) (Рис. 6). Незначне спадання ферментативної активності (на 28 %) нами зафіксовано за інкубації зародків у середовищі з «Флуренізидом» за концентрації 0,15 мМ. Спадання активності КАТ на фоні зростання СОД може свідчити про вступання в роботу глутатіонпероксидази для інактивації H_2O_2 , або про зниження синтезу КАТ. Необхідно зазначити, що антибіотик у концентрації 15 мМ зумовлює вірогідне зростання активності КАТ на 67 %.

«Флуренізид» у низьких концентраціях (0,01 мМ та 0,05 мМ) на стадії 10 поділу зародків зумовлює значне вірогідне зростання каталазної активності (на 128 % та 232 % відповідно), на відміну від 8 поділу, що свідчить про значне утворення пероксиду водню, який знешкоджується цим ензимом (Рис. 6, 7). Досліджуваний антибіотик у вищих концентраціях (1 мМ та 15 мМ) веде до спадання активності ензиму на 35 % та 51 % відповідно (Рис. 7).

Отже, «Флуренізид» порушує роботу КАТ у процесі раннього ембріогенезу зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. на всіх досліджуваних етапах розвитку та спричиняє спадання її активності на етапі 64 бластомерів.

Двофакторний дисперсійний аналіз виявив, що на супероксиддисмутази та каталазну активність зародків в'юна потужний вплив чинять невраховані фактори, до яких можуть належати температура та інші зовнішні чинники, при яких відбувається розвиток. Посередній вплив на роботу цих ен-

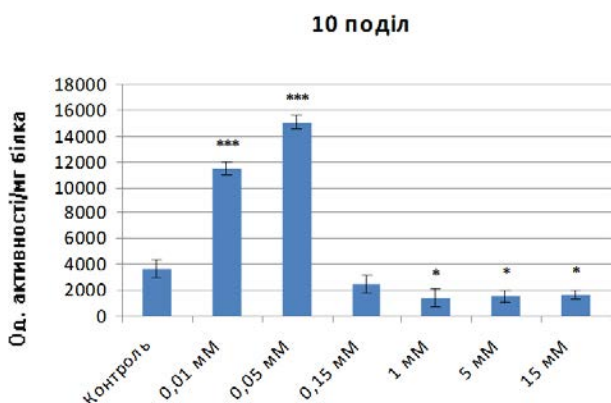


Рис. 4. Супероксиддисмутазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери (10 поділ) за дії «Флуренізиду» в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* — $P \geq 0,95$; *** — $P \geq 0,999$)

Fig. 4. Superoxiddismutase activity of loach embryos at the stage of 1024 (10 division) blastomeres under action of Flurenizide 0,01÷15 mM concentration range (* — $P \geq 0,95$; *** — $P \geq 0,999$)

зимів здійснює «Флуренізид», що ймовірно свідчить про непряму дію цього чинника на активність СОД та КАТ (Рис. 8). Нами вста-

новлено, що час розвитку більш виражено впливає на каталазну активність (частка впливу складає 35 %).

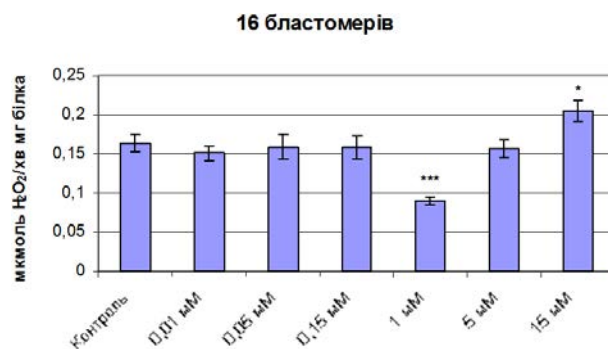
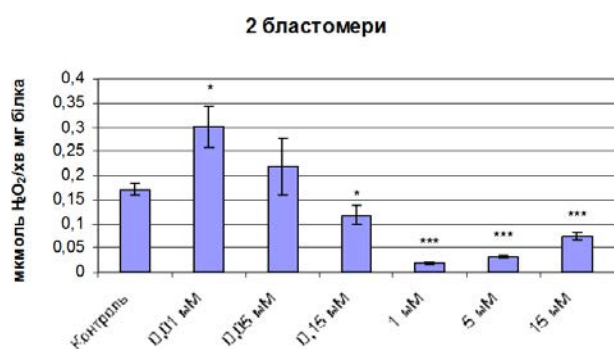


Рис. 5. Каталазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 2 та 16 бластомерів за дії «Флуренізиду» в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* — $P \geq 0,95$; *** — $P \geq 0,999$)

Fig. 5. Catalase activity of loach embryos at the stage of 2 and 16 blastomeres under action of *Flurenizide* 0,01÷15 mM concentration range (* — $P \geq 0,95$; *** — $P \geq 0,999$)

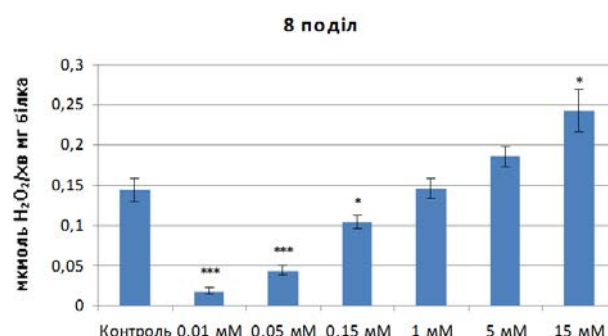
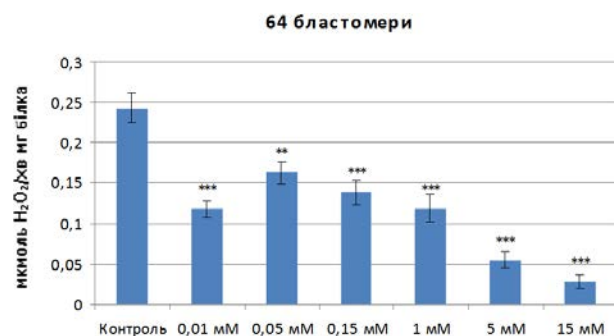


Рис. 6. Каталазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 64 та 256 бластомерів (8 поділ) за дії «Флуренізиду» в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* — $P \geq 0,95$; ** — $P \geq 0,99$; *** — $P \geq 0,999$)

Fig. 6. Catalase activity of loach embryos at the stage of 64 and 256 blastomeres (the 8th division) under action of *Flurenizide* 0,01÷15 mM concentration range (* — $P \geq 0,95$; ** — $P \geq 0,99$; *** — $P \geq 0,999$)

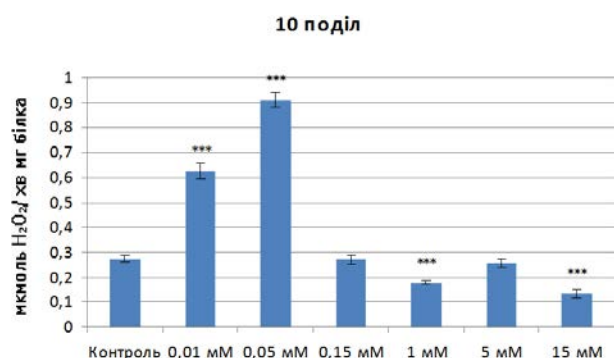


Рис. 7. Каталазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 1024 бластомерів (10 поділ) за дії «Флуренізиду» в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (*** — $P \geq 0,999$)

Fig. 7. Catalase activity of loach embryos at the stage of 1024 blastomeres (10th division) under action of *Flurenizide* 0,01÷15 mM concentration range (*** — $P \geq 0,999$)

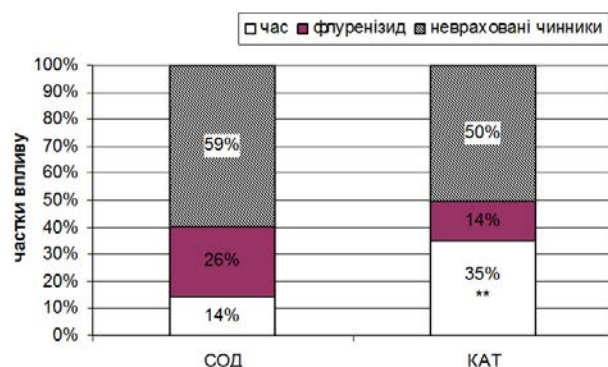


Рис. 8. Частки впливу «Флуренізиду», часу розвитку клітин та неврахованих чинників на супероксиддисмутазну та каталазну активність зародків в'юна (** — $P \geq 0,99$)

Fig. 8. Parts of influence of *Flurenizide*, time of development of cages and untaken into account factors on superoxiddismutase and catalase activity of loach embryos (** — $P \geq 0,99$)

Висновки

1. «Флуренізид» порушує роботу СОД на всіх етапах розвитку зародків в'юна, зокрема зумовлює спадання активності цього ензиму на етапі розвитку 16 бластомерів.

2. Антибіотик у концентраціях 1–15 мМ на стадії 10 поділу зародкових клітин зумовлює спадання активності СОД, тоді як «Флуренізид» у концентраціях 0,01 мМ і 0,05 мМ веде до зростання активності цього ензиму.

3. «Флуренізид» у всіх досліджуваних концентраціях (0,01; 0,05; 0,15; 1; 5; 15 мМ) призводить до спадання каталазної активності на етапі розвитку зародків в'юна 64 бластомери.

4. На стадії 10 поділу зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. «Флуренізид» у концентраціях 0,01 мМ та 0,05 мМ зумовлює значне зростання каталазної активності, у вищих концентраціях (1 мМ та 15 мМ) — веде до спадання активності досліджуваного ензиму.

5. Значний вплив на активність СОД та КАТ у зародках в'юна чинять невраховані чинники, тоді як на фактор часу і «Флуренізида» припадає посередній вплив.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати досліджень з вивчення дії «Флуренізида» на активність ензимів антиоксидантної системи впродовж раннього ембріогенезу вимагають провести серію експериментів щодо дослідження активності глутатіонпероксидази як ензиму, що знешкоджує пероксид водню (субстрату, за який конкурує також і каталаза).

1. Belenichev I. F., Levytski E. L., Gubski J. I. Antioxidant system of defence of organism. *Modern problems of toxicology*, 2002, № 3, pp. 24–36. (in Ukrainian)

2. Pshechenko N. V., Bondarenko V. A., Mareshina T. A. Correction of the antioxidation system preparation of liposome as method of treatment of infectious diseases. *Biolog. Announcer*, 2001, vol. 5, № 1–2, pp. 64–67. (in Ukrainian)

3. Gryshchenko V. A. Intensity of lipoperoxidase and state of the antioxidant system of defence for calves, to have had on dyspepsia. *The Ukr. Biochem. J.*, 2004, vol. 76, № 5, pp. 102–106. (in Ukrainian)

4. Heletiy E. M. Influence of preparation of dystonol on the state of the fermentative system

of antioxidant defence of organism of pheasants. *Sciences. announcer Lvi. national academy veterinary medicine the named after S. Z. Gzhysky*, 2006, vol. 8, № 2 (29), P. 2, pp. 27–31. (in Ukrainian)

5. Hlogyk I., Snitynski V., Iskra R. Activity of the antioxidant system for ruminant animals depending on the physiology state. *Announcer of the Lviv university*, Biological Series, 2002, Is. 31, pp. 256–260. (in Ukrainian)

6. Burlaca A. P., Sydoryk E. P., Drugyna N. A. Kinetic conformities to law of activity of the fermentative antioxidative systems in organs at chemical kancerogenesis of mammary glands and liver. *Dop. NAN of Ukraine*, 1998, № 11, pp. 177–181. (in Ukrainian)

7. Lai C. C., Huand W., Askari A. Differential regulation of superoxide dismutase in copper deficient rat organs. *Free Radic. Biol. and Med*, 1994, vol. 16, pp. 613–620.

8. Lane D. P. Guardian of the genom. *Nature*, 1992, vol. 358, № 141, pp. 15–16.

9. Lowry O. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, N 1, pp. 404–415.

10. Matsopa I. V., Grygoryeva N. P., Meshchysyn I. F. Adaptation of the antioxidant system of kidneys of rats to the different light modes for intoxications by a tetrachloromethane and actions of melatonin. *The Ukr. Biochem. J.*, 2010, vol. 82, № 2, pp. 75–84. (in Ukrainian)

11. Mihalik O. Modern drugs for chemotherapy of viral infections: a guide. Lviv, 2013, 180 p. (in Ukrainian)

12. Neyfah A., Timofeeva M. Problems in molecular biology regulation development. Moscow, Nauka, 1978, 336 p. (in Russian)

13. Petrukh L. Fluorene as tuberculostatic. In: *Flurenizide: microbiological, farmacological and clinical aspects*, 2008, pp. 464–469. (in Ukrainian)

14. Petrukh L. Flurenizide in veterinary practice. *Coll. materials of international scientific-practical conference “Modern problems of veterinary medicine, zooengineering animal products and technologies”*, 1997, pp. 216–217. (in Ukrainian)

15. Petrukh L. Pharmaceutical education and language. The achievements of pharmaceutical research, 2011, 152 p. (in Ukrainian)

16. Petrukh L. The urgency of the creation and implementation of industrial production of new medicines. *Collection of descriptions of inventions*, 2003, 198 p. (in Ukrainian)

17. Petrukh L. Urgency creation and implementation in the industrial production of new drugs. *Collection of descriptions of inventions*, Lviv, 2003, 196 p. (in Ukrainian)

18. Poberezkina N. B., Losynska N. F. Biological role of superoxiddesmutase. *The Ukr. Biochem. J.*, 1989, vol. 61, № 2, pp. 14–21. (in Ukrainian)

19. Abrahamovych O. O., Hrabovska O. I., Terletska O. I. Processes of lipid peroxidation at the chronic defeats of liver. *Medical chemistry*, 2000, vol. 2, № 1, pp. 5–8. (in Ukrainian)

20. Golovchak N. P., Tarnovska A. V., Kotsumbas H. I., Sanagurski D. I. Processes of peroxide of lipids in living organisms: monography. Lviv, LNU named after Ivan Franko, 2012.

21. Ratych I. B., Martynuk U. A. To the kind and organ-tissue features of antioxidant status for the birds. *Sciences. announcer Lviv. national academy veterinary medicine named after S. Z. Gzhytsky*, 2006, vol. 8, № 2 (29), pp. 2, pp. 125–130. (in Ukrainian)

22. Kleveta H., Chaika Y., Starykovych L., Vyhovska T. Research of separate enzymes of the antioxidant system of enterocytes of thin bowels of rats at the terms of lowintensive of the X-rayed irradiation. *Announcer of the Lviv university*, Biological Series, 2002, is. 29, pp. 39–45. (in Ukrainian)

23. Sanagurskiy D. I. Biophysics objects. Lviv, Publishing House of Ivan Franko LNU, 2008, 522 p. (in Ukrainian)

24. Tarnovska A. V., Otchych V. P., Sanagurski D. I. Superoxiddysmutase and katalase activity in the embryos loach at influence of flumikvil. *Experimental*

and clinical physiology and biochemistry, 2006, № 4 (36), pp. 7–10. (in Ukrainian)

25. Yablonska S., Filinska O., Lynchak O., Ostrovska G. Liver's damage and glutathione antioxidant system after treatment with the colon carcinogen 1,2-dimethylhydrazine and novel cytostatic maleimide derivative. *The Ukr. Biochem. J.*, VII Parnas Conference, 2009, vol. 81, № 4, pp. 275. (in Ukrainian)

26. Yablonska S. V., Filinska O. M., Ostrovska H. V. An estimation of hepatotoxicity of new derivative maleimide with cytostatic activity and its influence on peroxide oxidization and antioxidant system of liver. *The Ukr. Biochem. J.*, 2009, vol. 81, № 5, pp. 83–92. (in Ukrainian)

27. Zyn A., Golovchak N., Sanagurski D. Oxidizing modification of proteins loach embryos *Misgurnus fossilis* L. during embryogenesis for the actions of hypochlorite of natrium. *Announcer of the Lviv university*, Biological Series, 2013, is. 61, pp. 11–19. (in Ukrainian)

28. Zyn A. R., Mandzynets S. M., Golovchak N. P., Bura M. V., Sanagurski D. I. Activity of Na⁺, K⁺-ATP-aze membranes of embryos loach during early embryogenesis for the actions of hypochlorite of natrium. *Biological studies*, 2011, vol. 5 (3), pp. 59–66. (in Ukrainian)