

УДК 577 + 591.3 + 615.2

**ПОРІВНЯЛЬНИЙ ТА ДИСПЕРСІЙНИЙ АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ
ГЛУТАТІОНЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА
MISGURNUS FOSSILIS L. ЗА ВПЛИВУ ФЛУРЕНІЗИДУ**

Н.О. Боднарчук, Н.П. Гарасим, Л.І. Петрух, Д.І. Санагурський

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна

e-mail: nataljabodnarchuk@ukr.net

Надійшла до редакції 1 грудня 2015 року

Прийнята 17 грудня 2015 року

Метою роботи було вивчення впливу флуренізида (препарату протимікробної, протитуберкульозної, антихламідійної, імуномодулюючої, антиоксидантної, гепатопротекторної, протизапальної, протівірусної дії) на антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна (*Misgurnus fossilis L.*) впродовж раннього ембріогенезу. Досліджено глутатіонпероксидазну й глутатіон-S-трансферазну активність (ферментів, робота яких пов'язана з наявністю в клітинах відновленого глутатіону і які зумовлюють знешкодження пероксиду водню, гідропероксидів та ксенобіотиків, в тому числі і лікарських препаратів) за дії флуренізида, 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 бластомери), десятого (1024 бластомерів) поділу зиготи (до стадії десинхронізації). Проведено двофакторний дисперсійний аналіз, з метою виявлення ступеня впливу дії флуренізида, часу розвитку та неврахованих факторів, на активність ферментів глутатіонової системи антиоксидантного захисту клітини. Встановлено, що флуренізид порушує роботу глутатіонпероксидази на всіх етапах розвитку зародків в'юна, зокрема зумовлює зростання її активності на етапі розвитку 2, 16 і 256 бластомерів. Досліджуваний антибіотик порушує роботу глутатіон-S-трансферази у процесі раннього ембріогенезу зародків в'юна *Misgurnus fossilis L.* впродовж досліджу. У максимальній концентрації (15 мМ) він веде до спадання ензиматичної активності, починаючи з початкових етапів розвитку зародків в'юна. За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що на глутатіонпероксидазну та глутатіон-S-трансферазну активність зародків в'юна значний вплив чинять невраховані фактори, до яких можуть належати зовнішні чинники при яких відбувається розвиток зародків. Час розвитку, більшою мірою, впливає на роботу глутатіонпероксидази впродовж раннього ембріогенезу, порівняно з флуренізидом, що свідчить про опосередкований вплив досліджуваного антибіотика на глутатіонпероксидазу. На глутатіон-S-трансферазну активність значний вплив чинить флуренізид, що свідчить, про його пряму дію на структуру ензиму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: зародки в'юна, флуренізид, ембріогенез, глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ И ДИСПЕРСИОННЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ
ГЛУТАТИОНЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЗАРОДЫШАХ ВЬЮНА
MISGURNUS FOSSILIS L. ПРИ ВЛИЯНИИ ФЛУРЕНИЗИДА**

Н.А. Боднарчук, Н.П. Гарасым, Л.И. Петрух, Д.И. Санагурский

Львовский национальный университет имени Ивана Франко, ул. Грушевского, 4, г. Львов., 79005, Украина

Целью работы было изучение влияния флуоренизида (препарата противомикробного, противотуберкулезного, антихламидийного, иммуномодулирующего, антиоксидантного, гепатопротекторного, противовоспалительного, противовирусного действия) на антиоксидантный гомеостаз зародышей вьюна (*Misgurnus fossilis L.*) на протяжении раннего эмбриогенеза. Исследована глутатион-пероксидазная и глутатион-S-трансферазная активность ферментов, работа которых связана с наличием в клетках возобновленного глутатиона, и которые определяют обезвреживание пероксида водорода, гидропероксида и ксенобиотиков, в том числе и лекарственных препаратов под действием флуоренизида в концентрациях 0,01; 0,05; 0,15; 1; 5; 15 мМ у зародышей вьюна на этапе развития первого (2 бластомера), четвертого (16 бластомеров), шестого (64 бластомера), восьмого (256 бластомеров), десятого (1024 бластомеров) деления зиготы (до стадии десинхронизации). Проведен двухфакторный дисперсионный анализ с целью выяснения степени влияния действия флуоренизида, времени развития и неучтенных факторов на активность ферментов глутатионової системи антиоксидантної захисту клітки.

Установлено, що флуренизид порушує роботу глутатионпероксидази на всіх етапах розвитку зародків вьюна, в частині передопределяє рост її активності на етапі розвитку 2, 16 і 256 бластомерів. Исследуемый антибиотик нарушает работу глутатион-S-трансферазы в процессе раннего эмбриогенеза зародков вьюна *Misgurnus fossilis L.* на протяжении опыта. В максимальной концентрации (15 мМ) он ведет к снижению активности энзима, начиная с начальных этапов развития зародков вьюна. С помощью двухфакторного дисперсионного анализа установлено, что на глутатионпероксидазную и глутатион-S-трансферазную активность зародков вьюна значительное влияние оказывают неучтенные факторы, к которым могут принадлежать внешние факторы, при которых происходит развитие зародков. Время развития в большей степени влияет на работу глутатионпероксидазы на протяжении раннего эмбриогенеза, сравнительно с флуренизидом, что свидетельствует об опосредованном влиянии исследуемого антибиотика на глутатионпероксидазу. На глутатион-S-трансферазную активность значительное влияние оказывает флуренизид, что свидетельствует о его прямом действии на структуру энзима.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: зародки вьюна, флуренизид, эмбриогенез, глутатионпероксидаза, глутатион-S- трансфераза.

COMPARATIVE AND VARIANCE ANALYSIS OF ACTIVITY OF GLUTATION DEPENDENT ENZYMES IN LOACH *MISGURNUS FOSSILIS L.* EMBRYOS UNDER THE INFLUENCE OF FLURENIZYD

N.O. Bodnarchuk, N.P. Harasym L.I. Petrukh, D.I. Sanagurski

Ivan Franko National University of L'viv, 4 Hrushevskogo St., Lviv, 79005, Ukraine

The aim of work was to study the influence of flurenizyd (antimicrobial, antituberculosis, antichlamydia, immunomodulatory, antioxidant, hepatoprotective, anti-inflammatory medicine) on the antioxidant homeostasis of loach embryos (*Misgurnus fossilis L.*) during early embryogenesis. Glutathioneperoxidase and glutathione-S-transferase activity was studied under the action of flurenizyd in concentrations 0.01; 0.05; 0.15; 1; 5; 15 mM, at the embryos of loach on the stage of development of the first (2 blastodmeres), fourth (16 blastodmeres), sixth (64 blastodmeres), eighth (256 blastodmeres), tenth (1024 blastodmeres) division of zygote (before the stage of de-synchronization). The two-factor analysis of variance was conducted to figure out the degree of flurenizyd influence, time of development and miscellaneous factors on activity of the enzymes of cell's glutathione antioxidant defence system. It was shown that flurenizyd violates work of glutathioneperoxidase on all stages of development of loach embryos in particular predetermines the increase of their activity on the stage of development of 2, 16 and 256 blastomeres. The investigated antibiotic violates work of glutathione-S-transferase in the process of early embryogenesis of loach embryos *Misgurnus fossilis L.* In a maximal concentration (15 mM) flurenizyd decreases activity of enzyme, starting from the initial stages of development of loach embryos. Two-factor analysis of variance indicated, that on glutathioneperoxidase and glutathione-S-transferase activity of loach embryos considerable influence is made by the miscellaneous factors, like external factors affecting the development of embryos. Time of development, in a greater degree, influences the work of glutathioneperoxidase during early embryogenesis, compared to flurenizyd that indicates indirect influence of the investigated antibiotic on glutathioneperoxidase. Considerable influence of flurenizyd on glutathione-S-transferase activity testifies its direct effect on a structure of the enzyme.

KEY WORDS: Loach embryos, flurenizyd, embryogenesis, glutathioneperoxidase, glutathione-S-transferase.

У формуванні антиоксидантного ефекту важливу ланку займає глутатионова система антиоксидантного захисту організму, до якої належить глутатіон, глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіон-S-трансфераза, глутатіонредуктаза тощо. Глутатіон є основним компонентом цієї системи, який неферментативним шляхом інактивує H_2O_2 та інші активні форми кисню [1]. В організмі він бере участь у метаболізмі ксенобіотиків, регулює проліферацію клітин, впливає на синтез нуклеїнових кислот і білків, а також на активність ферментів. Дефіцит глутатіону в клітинах призводить до активації процесів ліпопероксидації [2, 3]. Глутатіонзалежні ферменти під час своєї роботи перетворюють відновлену форму глутатіону в окиснену. Для того, щоб у клітинах був необхідний рівень відновленого глутатіону, глутатіонредуктаза (локалізується у мітохондріальному матриксі та цитозолі) перетворює окиснену його форму у відновлену [2]. ГПО – селенумісний ензим, який

каталізує руйнування гідропероксидів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою відновленого глутатіону. У більшій мірі цей фермент локалізується у цитозолі (приблизно 70%) і лише 30% – у матриксі мітохондрій. У складі глутатіонової системи антиоксидантного захисту варто виділити підсистему глутатіон-S-трансфераз (GST). Це група ферментів, яка є важливим компонентом системи детоксикації шкідливих метаболітів та ксенобіотиків. Відомо, що стан глутатіонової системи антиоксидантного захисту організму залежить від багатьох факторів, зокрема від амінокислотного забезпечення, а також вмісту в організмі аскорбінової кислоти, токоферолу, ретинолу, селену тощо.

У медичній практиці використовують новий клас ліків – похідні флуорену (трициклічного ароматичного ядра). До них належать відомі противірусні препарати Флореналь і Аміксин [4, 5–7]. Флореналь – бісульфітна сполука 2-флуоренонілглюксалу, що нейтралізує дію *Herpes simplex*, *Herpes zoster* і застосовується в офтальмології для лікування вірусних захворювань очей. Аміксин (синоніми: Тилорон, 2,7-біс-[2-діетиламіноетокси]-флуоренону-9 дигідрохлорид) – низькомолекулярний індуктор ендogenous інтерферону. Він є противірусним засобом та імуномодулятором, ефективним проти всіх збудників гострих респіраторних вірусних інфекцій. Пошук серед флуоренів, високоефективних субстанцій широкого спектра дії, привів до створення флуренізиду (N-9-флуореніліден-N'-ізонікотиногідразиду) (рис. 1) – препарату протимікробної, протитуберкульозної, антихламідійної, імуномодулюючої, антиоксидантної, гепатопротекторної, протизапальної, противірусної дії [7, 8]. Противірусний ефект флуренізиду вивчено *in vitro* та *in ovo* щодо вірусу грипу птаці типу Росток/34 (H7N1) та вірусу хвороби Ньюкасла. Найближчим аналогом флуренізиду за структурою та дією є Аміксин, котрий відрізняється фармакологічними властивостями. Показники противірусної дії флуренізиду (відносно вірусу грипу птахів) у системах *in vitro* та *in ovo* перевищують такі для аміксіну.

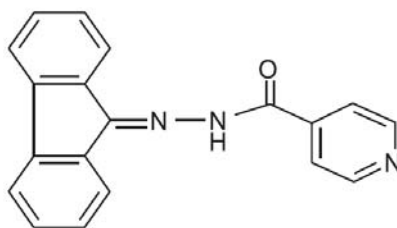


Рис. 1. Структурна формула флуренізиду

Флуренізид є українським препаратом (реєстраційне посвідчення № Р.10.00/02305 від 12.10.2000 р.), який випускається у вигляді порошку, таблеток і супозиторіїв вагінальних [2, 5]. 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 стан клітин на ранніх стадіях розвитку.

Метою даного дослідження є вивчити зміну активності ГПО та GST на різних етапах розвитку зародків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) за дії флуренізиду різних концентрацій.

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 їхню популярність. Відносно великі розміри яйцеклітини дозволяють спостерігати за періодами розвитку після запліднення і контролювати кожен з етапів поділу під бінокелем [9].

Яйцеклітини отримували і запліднювали за методом Нейфаха [9]. Для отримання ікри, самкам внутрішньом'язово вводили хоріонічний 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 із спермою становив 5–10 хв. Потім запліднену ікру відмивали від спермій та інкубували за температури 21–22°C у розчині Гольфрета. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокельним мікроскопом МБС-9. Дослідження проводили на зародках в'юна, які відповідали: першому поділу 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 Гольфрета ($t = 20\text{--}22^\circ\text{C}$), 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 Державної фармакопеї України флуренізид першопочатково розчиняли диметилсульфоксидом, (оскільки він в цій речовині легко розчинний) у співвідношенні 1:2, після чого доводили розчином Гольфрета до відповідних концентрацій [5]. У відібраних зразках визначали активність ензимів антиоксидантного захисту: ГПО [10] та ГТ [11]. Концентрацію білка в кожному зразку визначали за методом Лоурі [12].

Перевірку нормальності вибірки здійснювали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова з використанням пакета аналізу SPSS (Statistics17). Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми „Excel-2007” для Windows.

Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обраховували коефіцієнт Стюдента. Достовірною вважалася різниця при показнику достовірності $p \geq 0,95$ (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 ферментів у зародках в'юна. Результати дослідження представлені у вигляді рисунків.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що флуренізид у низьких концентраціях 0,01 мМ, 0,05 мМ, а також в максимальній досліджуваній концентрації (15 мМ), зумовлює значне зростання ГПО активності (на 435%, 169% та 151% відповідно) на етапі розвитку зародків в'юна 2 бластомерів. На стадії 16 бластомерів відмічено зростання активності цього ензиму за впливу флуренізиду у концентрації 0,15 мМ на 129%. Потрібно зазначити, що за дії флуренізиду у інших досліджуваних концентраціях у зародках в'юна на цій стадії розвитку виявлено тенденцію до зростання ГПО активності, порівняно з контролем (рис. 2). На етапі розвитку 64 бластомерів виявлено переважаюче пониження ГПО активності, проте ці зміни є недостовірними (рис. 3). Значуще зростання ГПО активності на 155% виявлено на стадії 256 бластомерів за дії флуренізиду в концентрації

15 мМ (рис. 3). Зростання ГПО активності пов'язане з реакцією знешкодження пероксиду водню, детоксикацією інших пероксидів, насамперед ліпідних, що входять до складу біомембран [13]. Подальший розвиток зародків у середовищі з флуренізидом зумовлює спадання глутатіонпероксидазної активності, на етапі розвитку 1024 бластомерів, за концентрацій антибіотика 0,15 мМ, 1 мМ, 5 мМ, та 15 мМ порівняно з контролем (рис. 4).

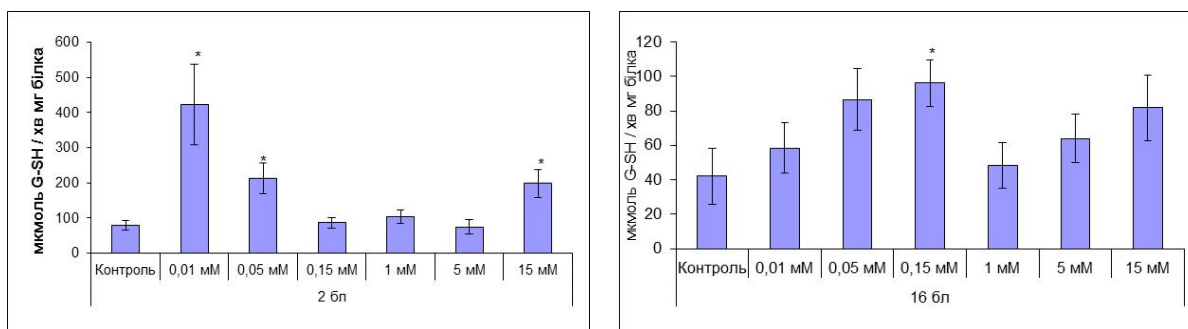


Рис. 2. Глутатіонпероксидазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 2 та 16 бластомерів за дії флуренізиду в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* – $p \geq 0,95$).

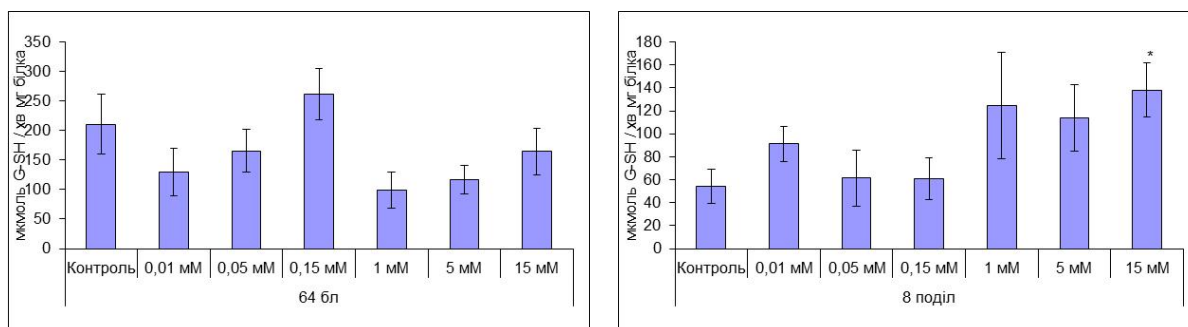


Рис. 3. Глутатіонпероксидазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 64 та 256 (8 поділ) бластомерів за дії флуренізиду в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* – $p \geq 0,95$).

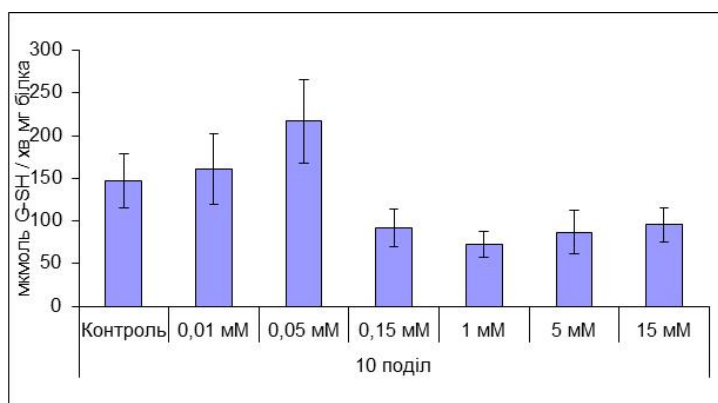


Рис. 4. Глутатіонпероксидазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 1024 бластомерів (10 поділ) за дії флуренізиду в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ.

Отже, флуренізид зумовлює, більшою мірою, зростання ГПО активності на етапі розвитку зародків в'юна 2, 16, 256 бластомерів, тоді як на етапі розвитку 64 і 1024

бластомери – спадання активності. Проте пониження роботи ГПО достовірно не підтверджене, що дає змогу твердити, що флуренізид не зумовлює його ушкодження.

Відомо, що ГПО може відновлювати гідропероксиди вільних жирних кислот, гідропероксиди фосфоліпідів, естерифікованих жирних кислот окисненням глутатіону, який відновлюється НАДФН-залежним ферментом глутатіонредуктазою. В усіх клітинах міститься глутатіон, який є найпоширенішою сульфгідрильною сполукою. За допомогою відновленого глутатіону здійснюється детоксикація H_2O_2 і гідропероксидів, які утворюються у ході реакції активних радикалів кисню з ненасиченими жирними кислотами мембран [5]. Незакономірні зміни роботи ГПО за дії флуренізиду різних концентрацій можуть свідчити про недостатній вміст вільного глутатіону в зародкових клітинах на певних етапах розвитку.

Враховуючи те, що GST знешкоджує лікарські речовини, а також входить до глутатіонової системи антиоксидантного захисту (як і ГПО) важливо вивчити її активність у зародках в'юна за дії флуренізиду. Подібно до ГПО, GST активність зростає на 341 % на стадії розвитку зародків в'юна 2-ох бластомерів за низької досліджуваної концентрації флуренізиду (0,01 мМ) (рис. 5). Проте у високій концентрації (15 мМ) цей антибіотик зумовлює пониження роботи цього ензиму (на 30%). На стадії 16 бластомерів нами виявлено достовірне спадання GST активності за впливу флуренізиду у концентраціях 0,15 мМ, 1 мМ, 15 мМ на 41 %, 44%, 35 % відповідно, порівняно з контролем (рис. 5). Треба відмітити, що флуренізид у низьких досліджуваних концентраціях (0,05 мМ), на стадії 64 бластомерів, веде до зростання GST активності (на 60%), тоді як вищі концентрації (1мМ, 15мМ) зумовлюють тенденцію до спадання активності цього ферменту порівняно з контролем (рис. 6). Важливо зазначити, що на стадії 8 поділу зародкових клітин відбувається спадання GST активності, в середньому, на 32%. Значне достовірне зниження активності цього ферменту виявлено також на стадії 10 поділу зародків за дії флуренізиду у концентраціях 1мМ, 5мМ, 15мМ (на 67%, 62% та 56% відповідно) (рис. 7).

Отже, флуренізид порушує роботу GST у процесі раннього ембріогенезу зародків в'юна *Misgurnus fossilis L.* на всіх досліджуваних етапах розвитку. Цей антибіотик у високих концентраціях зумовлює переважаюче спадання GST активності, у більшій мірі, на етапі розвитку зародків 256 та 1024 бластомерів (рис 6, 7). Флуренізид у максимальній концентрації (15 мМ) призводить до спадання ензиматичної активності, починаючи з початкових етапів розвитку зародків в'юна, що свідчить про слабку інактивацію досліджуваного антибіотика цим ферментом. Відомо, що другу фазу знешкодження шкідливих речовин (в тому числі і лікарських) забезпечують реакції кон'югації, в процесі яких відбувається приєднання до функціональних груп, що утворилися на першому етапі (при мікросомальному окисненні), інших молекул чи груп ендogenous походження, які збільшують гідрофільність і зменшують токсичність ксенобіотиків [14]. GST, власне, забезпечує реакції кон'югації, тому спадання її активності розглядається як негативний процес. У науковій літературі є відомості, що GST інгібується продуктами фосфоліпазного гідролізу, зокрема, вільними жирними кислотами, тоді як ГПО, навпаки, є повністю резистентною до їхньої дії [14]. Ймовірно, флуренізид зумовлює утворення вільних жирних кислот, що й спричиняє порушення роботи, більшою мірою, GST.

За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що на ГПО та GST активність зародків в'юна значний вплив чинять невраховані фактори, до яких можуть належати зовнішні чинники при яких відбувається розвиток (лабораторні умови) (рис. 8). Час розвитку, більшою мірою, впливає на роботу ГПО (частка впливу 28%) впродовж раннього ембріогенезу, порівняно з флуренізидом. Це може свідчити,

що досліджуваний антибіотик не справляє прямого впливу на ГПО. На GST активність значний вплив чинить флуренізид (частка впливу 41%), що свідчить, ймовірно, про, його дію на структуру ензиму.

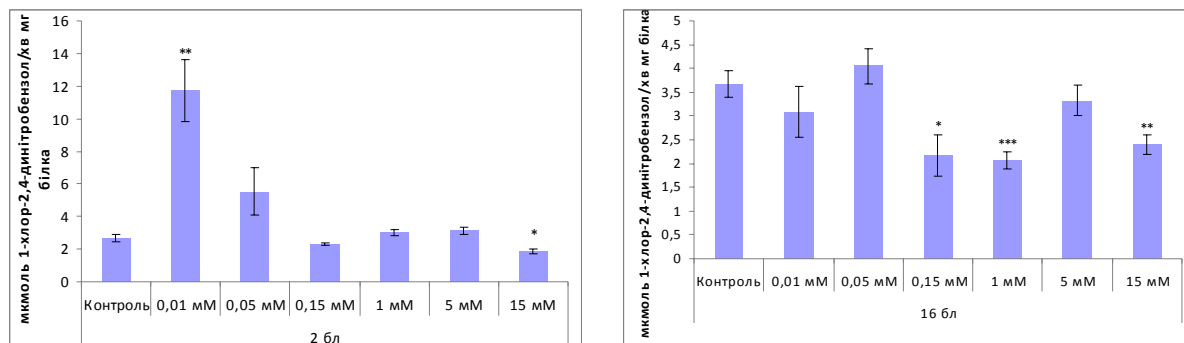


Рис. 5. Глутатіон-S-трансферазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 2 та 16 бластомерів за дії флуренізіду в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$).

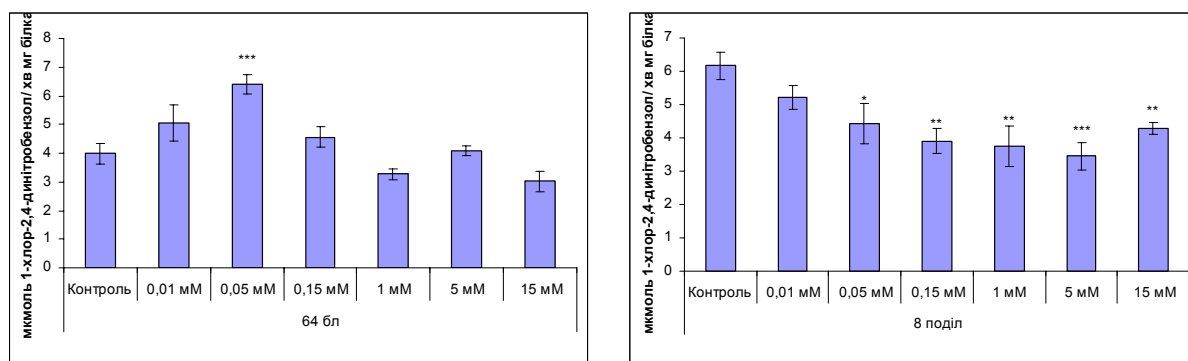


Рис. 6. Глутатіон-S-трансферазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 64 та 256 (8 поділ) бластомерів за дії флуренізіду в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$).

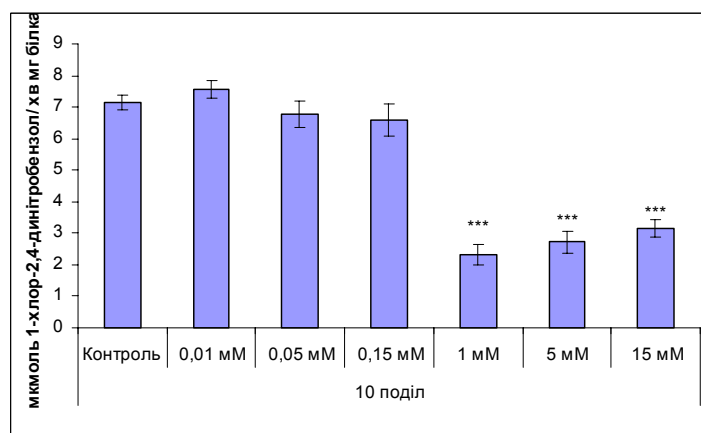


Рис. 7. Глутатіон-S-трансферазна активність зародків в'юна на етапі розвитку 1024 бластомерів (10 поділ) за дії флуренізіду в діапазоні концентрацій 0,01÷15 мМ (*** – $p \geq 0,999$).

Відомо, що у відкритому ланцюзі молекули флуренізиду міститься гідразидне угруповання з двома структурно різними атомами азоту. Один з них з'єднаний подвійним зв'язком ($=C=N-$) з флуореновим ядром, а другий ($-NH-$)-із залишком ізонікотинової кислоти, що здатні взаємодіяти з різними біоструктурами та змінювати їх специфічну дію. Флуренізид здатний проникати, крізь цитоплазматичну мембрану клітини, в цитоплазму і зв'язуватися зі специфічним рецептором. Утворений активований комплекс флуренізид-рецептор проникає у ядро клітини, сполучається з ДНК і стимулює утворення інформаційної РНК. У результаті трансляції РНК на рибосомах синтезуються різні регуляторні білки. Проте у зародкових клітинах до десятого поділу не відбувається синтезу іРНК, а використовується іРНК, закладена ще материнським організмом. Тому під час розвитку зародків використовуються тільки наявні ферменти ГПО і GST.

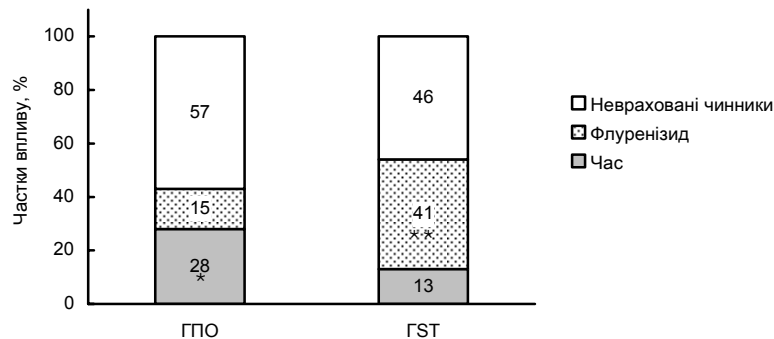


Рис. 8. Частки впливу флуренізиду, часу розвитку та неврахованих чинників на глутатіонпероксидазну та глутатіон-S-трансферазну активність зародків в'юна (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$)

Отже, провівши порівняльний та дисперсійний аналіз встановлено, що за дії флуренізиду відбувається порушення роботи як ГПО, так і GST. ГПО менш виражено ушкоджується, тоді як ензим GST виявився, більшою мірою, чутливим до цього антибіотика. Відомо, що узгоджена робота GST та ГПО попереджає прогресування пероксидації та накопичення вторинних метаболітів у клітинах [15], тому зміни функціонування цих ферментів за дії флуренізиду може призвести до інтенсифікації вільнорадикальних процесів.

ВИСНОВКИ

1. Флуренізид зумовлює зростання ГПО активності на етапі розвитку зародків в'юна 2, 16, 256 бластомерів, тоді як на етапі розвитку 64 і 1024 бластомери веде до переважаючого пониження її роботи.
2. Досліджуваний антибіотик порушує роботу GST у процесі раннього ембріогенезу зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. У високих концентраціях він зумовлює переважаюче спадання GST активності на етапі розвитку 256 та 1024 бластомерів.
3. Флуренізид у концентрації 15 мМ веде до спадання GST активності упродовж досліджу.
4. Двофакторний дисперсійний аналіз дозволив встановити, що на GST активність значний вплив чинить флуренізид, тоді як на ГПО активність більший вплив має час розвитку зародків в'юна.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Процеси перекисного окиснення ліпідів у живих організмах : монографія / Н. П. Головчак, А. В. Тарновська, Г. І. Коцюмбас, Д. І. Санагурський. – Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2012. – 250 с. / *Procesi perekisnogo okisnennja lipidiv u zhivih organizmah : monografija / N. P. Golovchak, A. V. Tarnovska, G. I. Kocjumbas, D. I. Sanagurs'kij. – L'viv : LNU imeni Ivana Franka, 2012. – 250 s.*
2. Данчук В.В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / В.В. Данчук. – Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. – 192 с. / *Danchuk V.V. Peroksidne okisnennja u sil'skogospodars'kih tvarin i ptici. / V.V. Danchuk. – Kam'janec'-Podil'skij: Abetka, 2006. – 192 s.*
3. Activities of Superoxide Dismutase and Catalase in Erythrocytes and Plasma Transaminases of Goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) Exposed to Cadmium / R.V. Zicic, A.S. Stajn, S.Z. Pavlovic, et al. // *Physiol. Res.* – 2001. – V. 50. – P. 105–111.
4. Михалик О. Сучасні лікарські засоби для хеміотерапії вірусних інфекцій. / О. Михалик – Львів, 2013. 180 с. / *Mihalik O. Suchasni likars'ki zasobi dlja hemioterapii virusnih infekcij. / O. Mihalik. – L'viv, 2013. 180 s.*
5. Петрух Л.І. Фруорени як туберкулостатики. Флуренізид: мікробіологічні, фармакологічні і клінічні аспекти / Л.І. Петрух ; Нац. ун-т «Львів. політехніка». – Львів : Вид-во Нац. ун-ту «Львів. політехніка», 2008. – 463 с. / *Petruh L.I. Fruoreni yak tuberkulostatiki. Flurenizid: mikrobiologichni, farmakologichni i klinichni aspekti / L.I. Petruh ; Nats. un-t «L'viv. politehnika». – L'viv : Vid-vo Nats. un-tu «L'viv. politehnika», 2008. – 463 s.*
6. Петрух Л.І. Флуренізид для ветеринарної практики / Л.І. Петрух // Сучасні проблеми ветеринарної медицини, продукції зооінженеринг тварини і технологій : зб. матеріалів міжнародної науково-практичної конференції, 1997. – С. 216–217. / *Petruh L.I. Flurenizid dlya veterinarnoї praktiki / L.I. Petruh // Suchasni problemi veterinarnoї medicini, produkції zoоengineering tvarini i tehnologiy : zb. materialiv mizhnarodnoї naukovopraktichnoї konferentsii, 1997. – P. 216–217.*
7. Petruh L.I. Pharmaceutical education and language / L.I. Petruh // *The achievements of pharmaceutical research.* – 2011. – № 1. – P. 152.
8. Petruh L.I. The urgency of the creation and implementation of industrial production of new medicines / L.I. Petruh // *Collection descriptions of inventions.* – 2003. – № 2. – P. 198.
9. Нейфак А. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития / Нейфак А., Тимофеева М. - М.: Наука. - 1978. - 336 с. / *Nejfah A. Problemy reguljacji v molekularnoj biologii razvitija / Nejfah A., Timofeeva M. - M.: Nauka. - 1978. - 336 s.*
10. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // *Лабораторное дело.* – 1986. – № 2. – С. 724–727. / *Moin V.M. Prostoј i specificheskij metod opredelenija aktivnosti glutathionperoksidazy v jeroitocitah / V.M. Moin // Laboratornoe delo. – 1986. – № 2. – S. 724–727.*
11. Habig W.H. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W.H. Habig, M.J. Parst, W.B. Jakovb // *Journal of Biological Chemistry.* – 1974. – V. 249 (22). – P. 7130–7139.
12. Lowry O. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. Lowry // *Journal of Biological Chemistry.* – 1951. – V. 193 (1). – P. 404–415.
13. Зинь А.Р. Вплив гіпохлориту натрію на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу / А.Р. Зинь, Н.П. Головчак, А.В. Тарновська, М.Б. Галан, Д.І. Санагурський // *Біологічні студії / Studia Biologica.* – 2012. – Т.6, №1. – С. 67–76. / *Zin' A.R. Vpliv gipohloritu natriyu na prooksidantno-antioksidantniy gomeostaz zarodkiv v'yuна protyagom ranniogo embriogenezu / A.R. Zin', N.P. Golovchak, A.V. Tarnovska, M.B. Galan, D.I. Sanagurs'kij // Biologichni studii/Studia Biologica. – 2012. – T.6, №1. – S. 67–76.*
14. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. ; – М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с. / *Men'schikova E.B. Okislitel'niy stress. Prooksidanty i antioksidanty / Men'schikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. ; – M.: Firma «Slovo», 2006. – 556 s.*
15. Філінська О.М. Стан антиоксидантної системи печінки та вміст матриксної металопротеїнази-2 товстого кишечника у разі дії похідного малеїміду за експериментального колоректального канцерогенезу щурів / О.М. Філінська, С.В. Яблонська, С.Я. Мандрик, І.В. Харчук, Г.В. Островська, В.К. Рибальченко // *Укр. біохім. журн.* – 2010. – Т. 82, № 4. – С. 69–77. / *Filins'ka O.M. Stan antioksidantnoї sistemi pechinki ta vmist matriksnoї metaloproteїnazi-2 товstogo kishechnika u razi дії pohidnogo maleimidu za eksperimental'nogo kolorektal'nogo kancerogenezu schuriv / O.M. Filins'ka, S.V. Yablons'ka, S.Ya. Mandrik, I.V. Harchuk, G.V. Ostrovs'ka, V.K. Ribal'chenko // Ukr. biohim. zhurn. – 2010. – T. 82, № 4. – S. 69–77.*