

Тарновська А.В.

кандидат біологічних наук, доцент,
Львівський національний університет імені Івана Франка

АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS L.* ЗА ВПЛИВУ БОРОЦИНУ

В сучасній біології залишається актуальним пошук тест-систем, які б дозволяли адекватно оцінити вплив фармакологічних засобів на організм людини і тварин. Застосування зародкових об'єктів є перспективним при дослідженні токсичності низки речовин, зокрема, антибіотиків класу фторхінолонів. Останні мають широкий спектр дії та використовуються для лікування захворювань центральної нервової системи, запальних процесів, захворювань ендокринної системи, а також як протиракові і противірусні препарати. Проте ступінь токсичності та механізм їх впливу на клітину остаточно не з'ясовані.

Як показники, що швидко реагують на зовнішні впливи, можна використати стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Фторхінолони – велика група антимікробних препаратів з класу хінолонів. Це високоефективні синтетичні хіміотерапевтичні засоби широкого спектру дії, з переважаючою антибактеріальною активністю, загальнорезобтивною дією і фармакокінетикою, що забезпечує високу ступінь біодоступності, добре проникнення в органи, тканини, біологічні рідини [3]. Відомо, що фторхінолони утворюють хелатні комплекси з катіонами кальцію та магнію.

Тому, з'ясування впливу антибіотиків фторхінолонового ряду, зокрема, бороцину на активність каталази, як ферменту системи антиоксидантного захисту у зародкових клітин в'юна *Misgurnus fossilis L.* є актуальним.

Об'єктом наших досліджень були зародки прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis L.* В'юн широко використовується у дослідженнях ряду проблем сучасної біології розвитку, в тому числі в ембріологічних, біохімічних, цитологічних та інших дослідженнях [5; 6]. Відносно коротка тривалість періоду ембріогенезу в цього виду, легкість одержання статевих клітин і відсутність особливих труднощів в утриманні цих риб у лабораторії пояснюють його популярність [4; 7].

Для проведення експерименту використовувались яйцеклітини і зародки в'юна *Misgurnus fossilis L.*, які отримували за методикою Нейфаха А. [2].

Активність каталази ми визначали за методикою Корольок М.А. Принцип методу базується на здатності H_2O_2 утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [1]. Статистичне опрацювання результатів виконували загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Для з'ясування впливу досліджуваних фторхінолонів на зміну активностей ферментів антиоксидантної системи, в середовище, в якому культивувались зародкові клітини в'юна, додавали бороцин у 0,005%, 0,001% та 0,0001% концентраціях. Отримані результати представлені у вигляді діаграми (рис. 1).

Загалом, при впливі якоїсь токсичної сполуки відбувається накопичення пероксидів в тканинах, тому можливі два варіанти розвитку подій: або він чи його метаболіти виступають як прооксиданти; або його дія приводить безпосередньо до зниження природних антиоксидантів і тому токсична дія проявляється не відразу [4]. Оскільки, враховуючи результати, максимальний ефект впливу досліджуваних фторхінолонів на активність антиоксидантної системи спостерігається на початкових стадіях розвитку, а на пізніших (через 45 год після запліднення) майже не прослідковується, то, мабуть, вирішальною є їх прооксидантна роль. Виходячи з цієї точки зору, можна пояснити вплив бороцину в різних концентраціях на активність каталази.

Бороцин у концентрації 0,005% істотно не впливає на активність ферменту антиоксидантної системи зародки в'юна у стадії 2-х бластомерів. Проте, вже через 3 години після запліднення (стадія 32 бластомерів) спостерігається різке зростання активності каталази, що триває і на наступному етапі розвитку. Отримані дані підтверджують гіпотезу про активуючу дію високих концентрацій фторхінолонів на антиоксидантну систему.

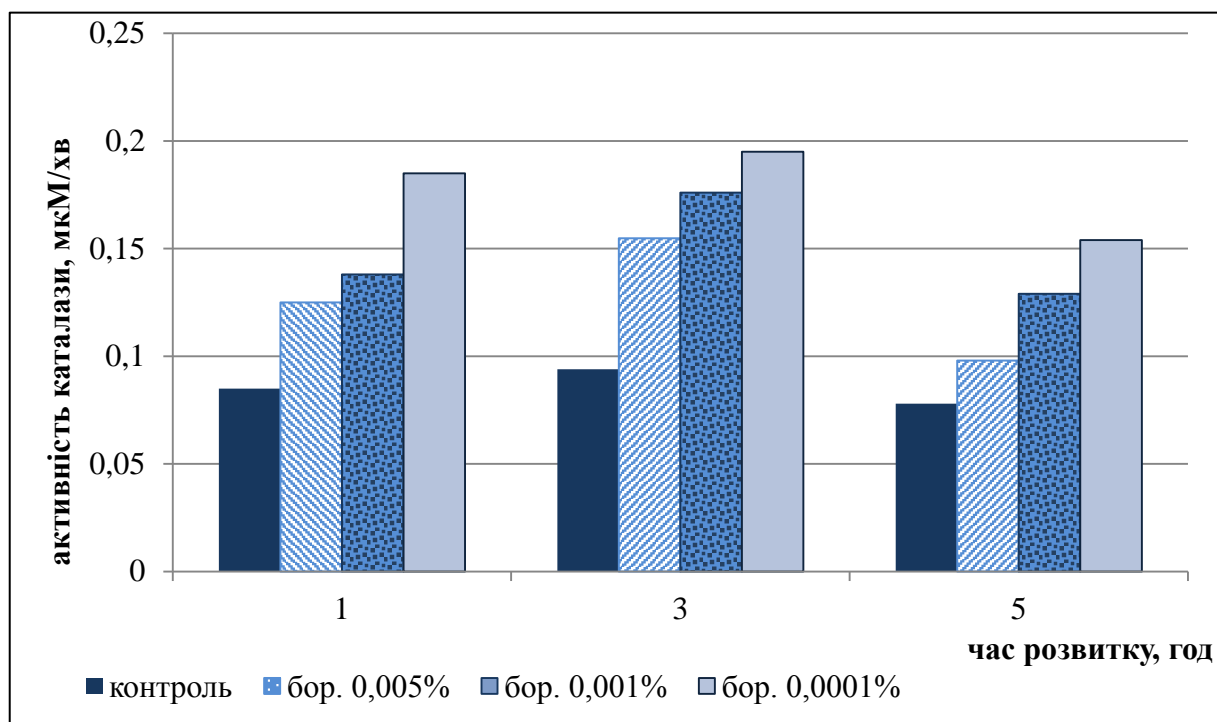


Рис. 1. Зміна активності каталази за умов впливу фторхінолону бороцину у різних концентраціях

При концентрації бороцину 0,0001% спостерігається найбільший вплив на активність каталази (рис. 1). Це свідчить про те, що саме при цій концентрації бороцину (0,0001%) активність каталази є найвищою, що перешкоджає накопиченню H_2O_2 , який здатний руйнувати клітинні компоненти та пошкоджувати цілісність мембрани. Як свідчать літературні дані, інгібування внутрішньоклітинної каталази на 55% викликає смерть клітини. Досліджувані нами концентрації не проявляють інгібуючої дії на активність каталази, а навпаки хоч і незначно, але підвищують рівень її активності.

Важливо відмітити, що бороцин істотно впливає на активність каталази на перших двох етапах розвитку зародків (1-3 години розвитку), а на 5-у годину розвитку спостерігається дещо зниження активності ферменту.

Проте активність каталази як ключового фермента антиоксидантної системи організму, за умов впливу бороцину не сильно змінювалась порівняно із контролем. Це можна пояснити тим, що каталаза відноситься до ферментів, які найтриваліше зберігають високу активність, майже не потребуючи при цьому енергії активації. СОД і каталаза є взаємопов'язаними ферментами антиоксидантного захисту організму, оскільки каталаза розщеплює пероксид водню, який утворюється в результаті реакції дисмутації, що каталізується СОД. Тому, можна припустити, що існує прямий зв'язок між рівнем активності цих ферментів. Підвищення активності каталази у досліджуваних зразках, ймовірно може бути зумовлене зростанням рівня активних кисневих метаболітів, що стимулює синтез ферментів.

Отже, нами встановлено, що активність каталази суттєво підвищується за впливу бороцину у концентрації 0,0001% на 1-у та 3-ю год розвитку. Отримані результати дають підставу вважати, що зародки в'юна *Misgurnus fossilis L.* на стадіях синхронних поділів бластомерів є зручною та адекватною тест-системою для дослідження впливу фармакологічних та хімічних чинників на живі організми.

Список використаних джерел:

1. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, И.Г. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.
2. Нейфах А.А. Молекулярная биология процессов развития. – М.: Наука, 1977. – 311 с.
3. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике. – М.: Лагота, 1998. – 351 с.
4. 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. – 252 с.
5. Тарновська А.В. Дослідження впливу фторхінолону бороцину на розвиток зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу. Біохімічний та цитологічний аспекти / М.В. Целевич, А.В. Тарновська, Г.І. Коцюмбас, Д.І. Санагурський // Біологія тварин. – 2005. – 7, № 1/2. – С. 143–151.
6. Тарновська А.В. Біохімічний та цитологічний аспекти дослідження впливу антибіотику бороцину в ранньому ембріогенезі / Тарновська А.В., Целевич М.В., Мандзинець С.М., Мажак К.Д., Санагурський Д.І. // Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни. Матеріали конференції, Львів, 19-20 травня, 2006. – С. 109-112.
7. Яцків О. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів у зародках в'юна за впливу катіонів кальцію та магнію / Яцків О., Тарновська А. // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2014. – Вип. 68. – С. 101-108.