

БІОФІЗИКА

УДК 597.551.2-131:577.352.4:546.33'131.1

**МОРФОЛОГІЧНІ Й УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА
ВПРОДОВЖ ЕМБРІОГЕНЕЗУ ТА ЗА ДІЇ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ**

А. Зинь¹, А. Безкоровайний^{1,2}, Н. Гарасим², О. Кулачковський², Д. Санагурський²

*¹Науково-дослідний експертно-криміналістичний центр
при ГУМВС України у Львівській області
вул. Конюшинна, 24, Львів 79040, Україна*

*²Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: avolina@yandex.ru*

У статті наведено дані щодо ультраструктурних і морфологічних змін зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. на ранніх стадіях ембріогенезу та личинок у перші дні розвитку в інкубаційному середовищі, яке містило розчин гіпохлориту натрію (ГХН). Виявили, що ГХН не призводить до 100%-ної загибелі личинок, хоча зумовлює пригнічення життєздатності та зміну морфофункціональних характеристик личинок в'юна. Встановлено, що ГХН призводить до значних ультраструктурних змін ембріональних клітин в'юна. ГХН веде до порушення функціональних властивостей білків і ліпідів, що спричиняє пошкодження цілісності плазматичної мембрани та мембран внутрішньоклітинних органел, яке в подальшому призводить до виражених морфологічних змін личинок в'юна.

Ключові слова: зародки в'юна, ембріогенез, гіпохлорит натрію.

Актуальним завданням сьогодення є дослідження впливу різноманітних хімічних сполук на живі організми, зокрема на розвиток зародків. Оскільки відомо, що ультраструктурні зміни впродовж раннього ембріогенезу та морфофункціональні відхилення у розвитку личинок призводять до порушення функціонування дорослого організму, це дає змогу виявити ступінь шкідливості даної речовини.

У медицині та ветеринарії почали застосовувати розчин ГХН як протимікробний, дезінтоксикаційний, антисептичний і дезінфекційний препарат, отриманий електрохімічним методом електролізу з розчинів хлористого натрію. Розчин ГХН є оптимальним носієм активного кисню, нетоксичний, може проникати крізь клітинні бар'єри. Оскільки ГХН є донором активного кисню, він стимулює в організмі процес окиснення екзо- й ендогенних токсичних речовин, таких як: продукти розпаду тканин, токсини мікроорганізмів, лікарські препарати, продукти пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [22].

Незважаючи на досягнуті успіхи щодо застосування ГХН з метою детоксикації організму, залишається невідомою дія ГХН на здорові, не ушкоджені токсинами тканини та клітини. Актуальності у вивченні даного питання додає той факт, що ГХН почали застосовувати з метою очищення водопровідної води [9, 15, 16]. Отже, дослідження дії NaClO на морфофункціональний стан зародкових клітин в'юна є важливим питанням сьогодення.

Матеріали та методи

Об'єктом наших досліджень були зародки прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. В'юн широко використовується при дослідженні низки проблем сучасної біології

розвитку, в тому числі в ембріологічних, біохімічних, біофізичних, цитологічних та інших дослідженнях [3, 12, 14, 23, 24].

В'юн належить до родини в'юнових *Cobitidae*, ряду коропоподібних *Cyprinoformes*, надряду кісткових риб *Teleostei* [23, 24].

Для експерименту використовували яйцеклітини і зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L., які отримували і запліднювали за методом Нейфаха [17]. У лабораторних умовах риб утримували в холодильнику при +4–5°C. Для отримання ікри самкам внутрішньом'язово вводили хоріогонічний гонадотропін за 24–48 год до проведення експерименту. Залежно від пори року і розмірів самки, доза гормону становила від 250 міжнародних одиниць (лютий–червень) до 500 (з жовтня) [7, 13, 21]. Овуляція наставала через 36–40 год при +19–+20°C. Самця декапітували, сім'яники подрібнювали і заливали відстояною водопровідною водою. Запліднення ікри проводили в чашках Петрі, додаючи суспензію спермій. Для задовільного запліднення ікри контакт зі спермою становив 5–10 хв [4, 20]. Потім запліднену ікру відмивали від спермій та інкубували при 21–22°C у розчині Гольфрета [6]. Стадії розвитку контролювали візуально під біокулярним мікроскопом МБС-9.

Дослідження проводили на зародках в'юна, які відповідали: першому (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів) і десятому дробленню зиготи (1024 бластомери). Через 5–10 хв після запліднення відмиті зиготи інкубували у фізіологічному розчині Гольфрета ($t=20-22^{\circ}\text{C}$), який містив розчин ГХН у концентраціях 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 та 12,5 мг/л. Морфологічні й ультраструктурні дослідження піддослідних і контрольних об'єктів проводили за загальноприйнятими методами [7, 13, 21].

Досліди на виживання проводили із зародками, які інкубували в розчині Гольфрета та в розчині Гольфрета, який містив ГХН, протягом п'яти діб від дня запліднення до десяти діб після вилуплення. Середовище інкубації змінювали кожних п'ятнадцять хвилин.

Ультраструктурні дослідження проводили на стадіях розвитку зародків 2 бластомерів і 10 поділу за дії ГХН у концентраціях 0,5; 5,0 та 12,5 мг/л. Досліджувані зародки в'юна фіксували 1,5% розчином глутарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (рН 7,2) при $t=4^{\circ}\text{C}$, протягом 1 год. Зразки промивали какодилатним буфером і додатково фіксували 2% розчином чотирьохокису осмію в тому ж буфері протягом 1 год ($t=4^{\circ}\text{C}$). Препарати відмивали від фіксаторів і зневоднювали у зростаючих концентраціях етилового спирту (50%, 70%, 90% і 100%). Додатково зневоднювали у 2-х змінах окису пропілену і поміщали в епоксидну смолу епон-812 [5].

Зрізи отримували за допомогою ультрамікротома УМТП-6, використовуючи алмазний ніж, контрастували 2% розчином ураніацетату протягом 15 хв і додатково цитратом свинцю за Рейнольдсом [8].

Зрізи переглядали і фотографували за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100.

Результати і їхнє обговорення

Нами встановлено, що у зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. контрольної групи поділ відбувався без відхилень від норми. Так, через кілька секунд після запліднення жовткова оболонка відділилася від поверхні ядра, утворюючи перивітеліновий простір. Паралельно сформувався цитоплазматичний горбик. Через годину інкубації у зародків з'явилися два бластомери, борозна першого поділу проходила меридіально, що узгоджується з таблицями нормального розвитку в'юна [2, 13].

Через 1,5 год після запліднення зародки представлені 4 бластомерами; борозна другого поділу проходила теж меридіально, але перпендикулярно до борозни першого

поділу і т. д. Через 5 год після запліднення настала стадія морули, а ще через годину почалося формування бластули зародкових об'єктів. Через 10 год після запліднення відбувся процес гастрюляції. На 22 стадії (через 22 год 42 хв після запліднення) спостерігалась поява третьої пари сомітів тулуба (в цей час мезодермальні валики починають розпадатися на окремі клітини). На 36 стадії розвитку (через 48 год 32 хв) почав формуватися орган приклеювання, у хвостовій мезодермі спостерігали більше 10 сомітів. На цій стадії починалася пігментація очей, але тіло ще не було пігментоване. Зародки енергійно рухалися всередині оболонки [6, 19].

На 39 стадії (3 доба після вилуплення) з'явилися вусики. У тілі починали утворюватися пігментовані клітини, тоді як очі вже були помітно пігментовані. Через 49–51 год після запліднення розпочалася стадія вилуплення, і ще не сформовані личинки прикріплювалися за допомогою органа приклеювання до поверхні чашки. Через добу після вилуплення у в'юнів збільшувалася довжина тіла, встановлювався еритроцитарний кровообіг, починалося закладання зовнішніх зябер. Передличинкова стадія завершувалася через 10 год після вилуплення.

Під час розвитку зародків у розчині Гольфретеера, який містив ГХН у всіх досліджуваних концентраціях, загалом спостерігали пригнічення життєздатності зародків, проте не відбувалося 100%-ної їхньої загибелі. Потрібно зазначити, що при інкубації зародкових об'єктів у розчині ГХН у концентраціях 2,5; 5,0 та 10,0 мг/л відсоток виживання личинок на 7-му добу розвитку перебував у межах норми (табл. 1), хоча візуально спостерігали значне відставання у розвитку, порівняно з контрольними зародками від моменту запліднення. На початкових стадіях розвитку зародків поділи на бластомери відбувалися із запізненням (на 35–45 хв), порівняно з контролем.

Таблиця 1

Вплив розчину гіпохлориту натрію на виживання зародків в'юна

№ досліджу	Кількість особин, що вижили, %							
	Контроль	Концентрації розчину ГХН, мг/л						
		0,5	1,0	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5
1	65	45	40	77	83	5	89	33
2	60	48	31	95	29	80	89	54
3	90	45	17	49	91	50	89	48
Загальний відсоток виживання	72	46	29	74	68	45	89	45

Личинки в'юна, які розвивалися за нормальних умов, були рухливими, з подовгастою формою тіла, розвиненими плавниками та зябрами, вираженою пігментацією.

Личинки, що розвивалися за наявності в інкубаційному середовищі ГХН, мали аномалії розвитку. Починаючи з 3 доби розвитку, дослідні личинки були малорухливими порівняно з контрольними. За розвитку личинок в'юна у розчині ГХН вищих досліджуваних концентрацій (7,5; 10,0 і 12,5 мг/л) спостерігали затримку розвитку на 2–4 доби – переважна більшість зародків були нерухомими, не відбувалося вилуплення, що спостерігали у контрольних зародків на 3 добу розвитку. У більшості дослідних личинок через 1–2 доби після вилуплення спостерігали зміни хвостового відділу, який був коротшим ніж у контрольних, та незначне збільшення розмірів голови. Личинки малорухливі, у яких порушена координація рухів.

Відомо, що ультраструктурні дослідження дають змогу виявляти вплив пошкоджуючих факторів на ті чи інші компоненти клітини. Поряд із вивченням

функціональних процесів, електронна мікроскопія дає можливість встановити причинно-наслідкові зв'язки між різними патологічними станами у клітині.

На етапі раннього розвитку в'юна (2 бластомери) у клітинах добре помітні мітохондрії правильної та неправильної форми. В мітохондріях чітко проглядаються зовнішня та внутрішня мембрана, яка утворює кристи. Матрикс мітохондрії є електронно щільним і містить включення. Морфологія мітохондрій є постійною до 4-клітинної стадії розвитку зародка, а потім різко змінюється. У одноклітинних зигот вони маленькі, електронно-щільні, сферичні і мають незначну кількість крист, що узгоджується з нашими дослідженнями (рис. 1).

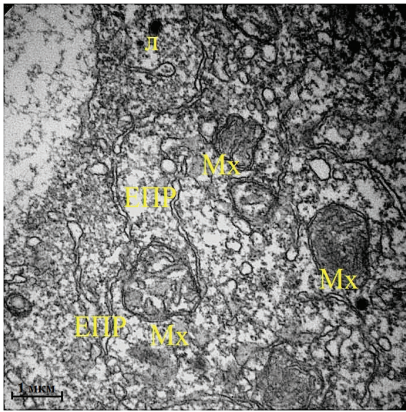


Рис. 1. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 2 бластомерів. Контроль. Збільшення 1: 10 000: Мх – мітохондрія; ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, Л – лізома.

Цистерни шорсткого ендоплазматичного ретикулума (шЕПР), наявні в незначній кількості, проте вони стають вираженими на етапі 10-го поділу. На електронограмі добре помітна велика кількість гладкого ендоплазматичного ретикулума (гЕПР), що свідчить про незначну здатність до біосинтезу білків на цьому етапі розвитку зародків в'юна. Гіалоплазма зародкових клітин також містить вакуолі. Потрібно відмітити, що мембрани всіх клітинних утворів мають чіткі обриси та є структурованими (рис. 1).

Крім мітохондрій, шЕПР, гЕПР у зародкових клітинах трапляються лізоми й автофаголізоми, що свідчать про проходження процесів травлення (рис. 2).

На етапі 2 бластомерів клітини ще використовують як живильний матеріал жовток, який є у яйцеклітині, що підтверджується електронограмою, де добре помітні жовткові гранули (рис. 2).

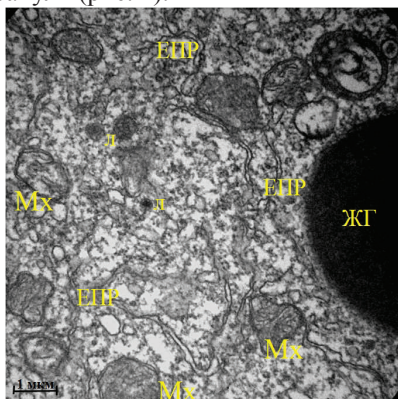


Рис. 2. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 2 бластомерів. Контроль. Збільшення 1 : 10 000: ЖГ – жовткова гранула, Мх – мітохондрія, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, л – лізома.

На етапі 10-го поділу зародків нами зафіксоване збільшення кількості мітохондрій із паралельно розташованими кристами (рис. 3). Матрикс мітохондрій гомогенний і

електронно-щільний. Протягом дроблення мітохондрії подовжуються, у них з'являється велика кількість пластинчастих крист, які можуть бути розтягнутими та вакуолізованими, що збігається з нашими дослідженнями. Мітохондрії є джерелом АТФ, використання якого в період дроблення дуже високе.

У гіалоплазмі зародків в'юна на етапі розвитку 10-го поділу трапляються вакуолі, які, ймовірно, є пероксисомами, що містять фермент каталазу (рис. 3). На рис. 3 добре помітна плазматична мембрана.

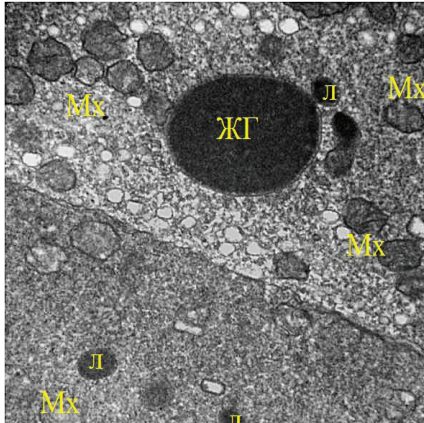


Рис. 3. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу. Контроль. Збільшення 1 : 4 00 : ЖГ – жовткова гранула, Мх – мітохондрія, л – лізосома.

При перебуванні зародків в'юна після запліднення в інкубаційному середовищі з ГХН концентрацією 0,5 мг/л на ранньому етапі розвитку (2 бластомери) нами встановлено порушення ультраструктури клітин. У бластомерах виявлено значну вакуолізацію цитоплазми, що, ймовірно, пов'язано з набряканням мітохондрій, гЕПР, і тому ці структури втрачають свій характерний вигляд (рис. 4, 5). Це підтверджується даними літератури [18], де автор зазначає, що при набряканні мітохондрій осмотичного характеру вода може накопичуватись у внутрішній камері, об'єм якої збільшується, що призводить до «розпрямлення» крист. Матрикс набряклих мітохондрій є світлим, що свідчить про зміну його вмісту. Зміни такого характеру сигналізують про порушення проникності мембран цих органел.

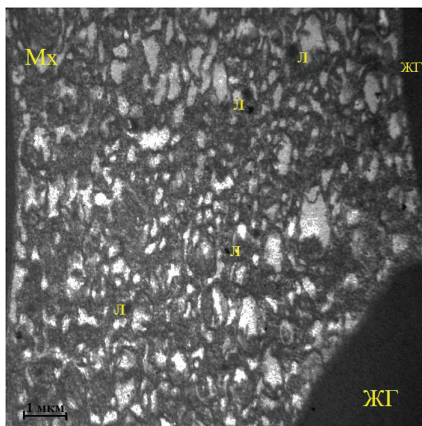


Рис. 4. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 2 бластомерів за дії гіпохлориту натрію концентрацією 0,5 мг/л. Збільшення 1 : 4 000: ЖГ – жовткова гранула, Мх – мітохондрія, л – лізосома.

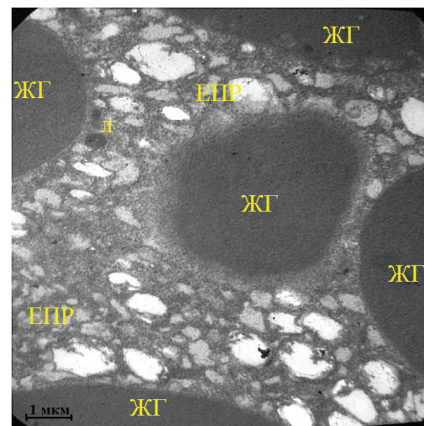


Рис. 5. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 2 бластомерів за дії гіпохлориту натрію у концентрації 0,5 мг/л. Збільшення 1 : 10 000: ЖГ – жовткова гранула, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, л – лізосома.

На рис. 5 зображена електроннограма зародка в'юна, на етапі розвитку 2 бластомерів за дії ГХН, концентрацією 0,5 мг/л, де у цитоплазмі добре помітні жовткові гранули з втратою цілісності мембрани навколо них. Також видно оптично прозорі структури (вакуолі) великого розміру, які, ймовірно, утворилися внаслідок набрякання мішечків ЕПР.

При інкубації зародків в'юна у середовищі з ГХН, у вищих концентраціях (5 і 12,5 мг/л) нами відмічено втрату структурованості мітохондрій, ЕПР та інших органел. Усі органели значно набрякають, їхні мембрани піддаються процесам пероксидного окиснення, про що свідчить їхня «розпушеність». Навколо жовткових гранул мембрани також без чітких обрисів. У зародкових клітинах не виявлено неушкоджених гЕПР і шЕПР, мітохондрій (рис. 6, 7). Трапляються лізосоми часто неправильної форми. За дії даних концентрацій ГХН у цитоплазмі клітин зростає кількість пероксисом – органел, які містять каталазу для знешкодження H_2O_2 . Отже, вищі концентрації ГХН справляють на структуру бластомерів більш пошкоджуючу дію, порівняно з ГХН, концентрацією 0,5 мг/л, де клітинні структури мали чіткіші межі.

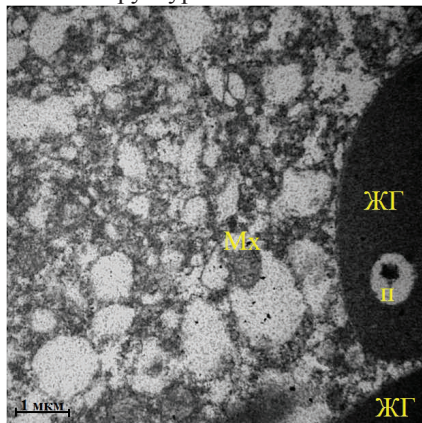


Рис. 6. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 2 бластомерів за дії гіпохлориту натрію у концентрації 5 мг/л. Збільшення 1 : 10 000: ЖГ – жовткова гранула, Мх – мітохондрія, п – пероксисома.

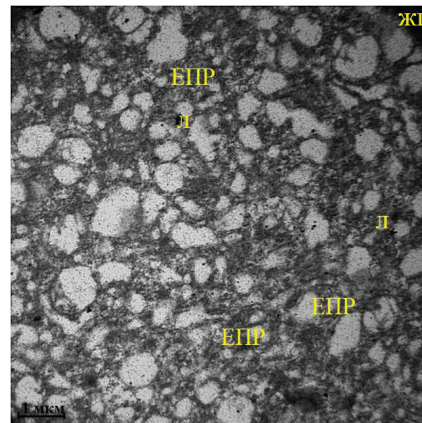


Рис. 7. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 2 бластомерів за дії гіпохлориту натрію у концентрації 12,5 мг/л. Збільшення 1 : 4 000: ЖГ – жовткова гранула, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, л – лізосома.

При інкубації зародків в'юна у середовищі з ГХН концентрацією 0,5 мг/л на етапі розвитку 10 поділу цитоплазма містить мітохондрії з чіткими межами. Кристи цих структур розташовуються паралельно одна до одної, що узгоджується з нормальним процесом розвитку зародкової клітини. Проте в деяких мітохондріях трапляються кристи, які хаотично укладені, або «розпрямлені» кристи, що відображає їхнє набрякання. Слід відмітити, що матрикс мітохондрій є електронно-щільним, гомогенним, що свідчить про нормальне їхнє функціонування (рис. 8–12).

Границі клітин містять чітку плазматичну мембрану (рис. 9, 12), проте зрідка трапляються зони плазматичної мембрани із втраченою структурованістю (рис. 8). У цитоплазмі клітин, крім гЕПР, вже трапляється і шЕПР. Отже, в зародкових клітинах на даному етапі розвитку за впливу ГХН концентрацією 0,5 мг/л починають відбуватися синтетичні процеси (рис. 9, 10).

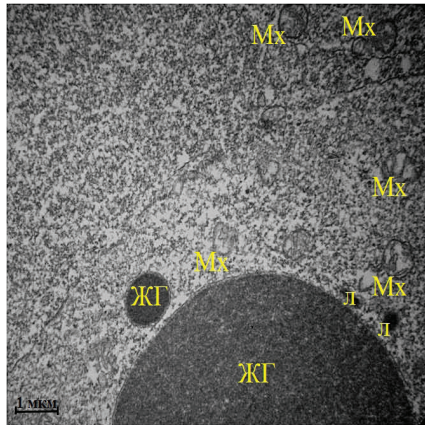


Рис. 8. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу за дії гіпохлориту натрію концентрацією 0,5 мг/л. Збільшення 1 : 4 000: ЖГ – жовткова гранула, Мх – мітохондрія, л – лізосома.

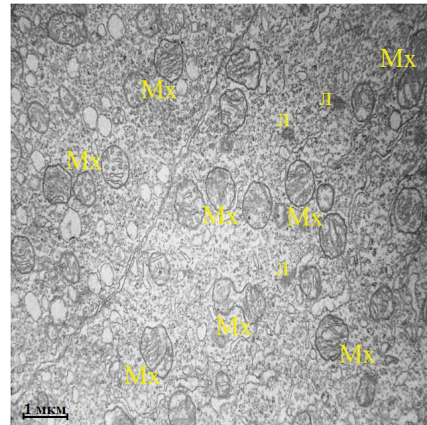


Рис. 9. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу за дії гіпохлориту натрію концентрацією 0,5 мг/л. Збільшення 1 : 4 000: Мх – мітохондрія, л – лізосома.

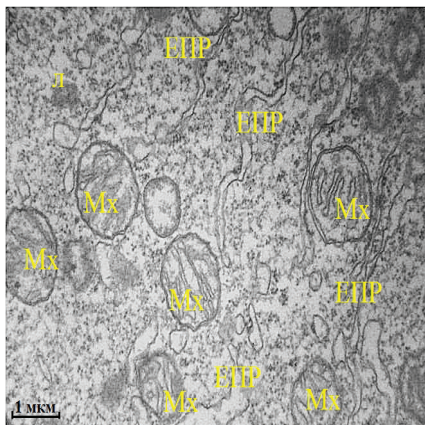


Рис. 10. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу за дії гіпохлориту натрію концентрацією 0,5 мг/л. Збільшення 1 : 10 000: Мх – мітохондрія, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, л – лізосома.

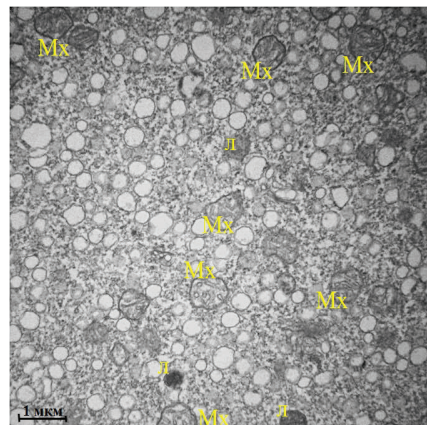


Рис. 11. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу за дії гіпохлориту натрію концентрацією 0,5 мг/л. Збільшення 1 : 4 000: Мх – мітохондрія, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, л – лізосома.

У гіялоплазмі клітин містяться також лізосоми (рис. 10–12), вторинні лізосоми (рис. 11, 12), що свідчать про нормальні функціональні процеси зародкових клітин. На рис. 11, 12 можна помітити велику кількість округлої форми пухирців, які є компонентами гЕПР. На електронограмі (рис. 12) добре помітні пухирці – пероксисоми, що свідчить про утворення великої кількості H_2O_2 за дії ГХН у концентрації 0,5 мг/л на етапі розвитку 10 поділу зародка в'юна.

При інкубації зародків в'юна упродовж 6 год (10 поділ) за наявності ГХН концентрацією 5 мг/л у гіялоплазмі зростає кількість лізосом та пероксисом, а також збільшується кількість шЕПР (рис. 13, 14).

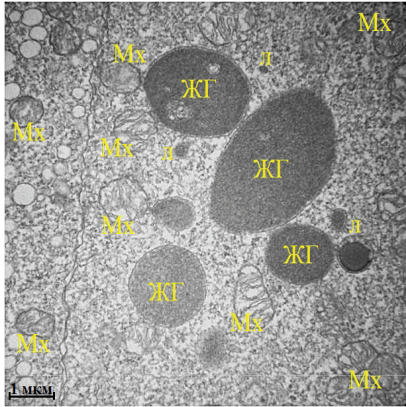


Рис. 12. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу за дії гіпохлориту натрію концентрацією 0,5 мг/л. Збільшення 1 : 4 000: ЖГ – жовткова гранула, Мх – мітохондрія, л – лізоосома.

При впливі на зародки вищої концентрації ГХН (5 мг/л) на етапі розвитку 10 поділу нами встановлено руйнування мембран (втрата їхньої чіткості), втрата округлості мітохондрій і набування ними амебоїдної форми. Кристи мітохондрій без чіткої оконтурованості (рис. 13).

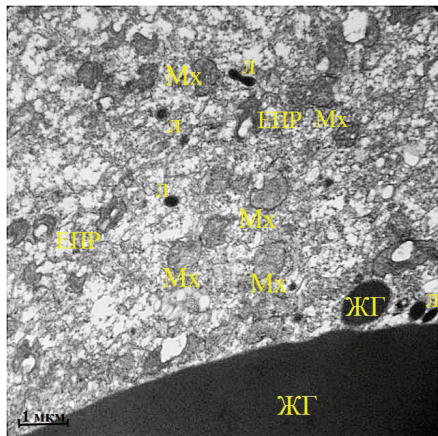


Рис. 13. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу за дії гіпохлориту натрію, концентрацією 5 мг/л. Збільшення 1 : 4 000: ЖГ – жовткова гранула, Мх – мітохондрія, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, л – лізоосома.

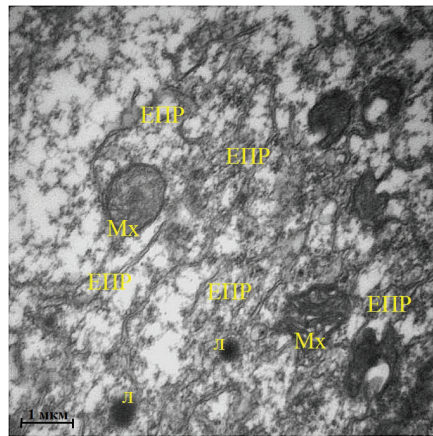


Рис. 14. Ультраструктура зародка в'юна на етапі розвитку 10 поділу за дії гіпохлориту натрію концентрацією 5 мг/л. Збільшення 1 : 10 000: Мх – мітохондрія, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, л – лізоосома.

Дія ГХН концентрацією 12,5 мг/л на розвиток зародків в'юна (етап 10 поділу) справляє значний негативний вплив, що виявляється у руйнуванні мембран, значному зменшенні кількості мітохондрій, збільшенні кількості пероксисом, втраті шЕПР (рис. 14). Ймовірно, такі зміни характеризуються незворотною.

Відомо, що окиснення мембран клітин може супроводжуватися утворенням поперечних зшивок «ліпід-білок», і це спричинює порушення ультраструктури плазматичної мембрани. Зниження бар'єрних властивостей плазматичної мембрани спричинює порушення внутрішньоклітинного гомеостазу і, в результаті, може призвести до руйнування внутрішньоклітинних органел [16]. У нашому випадку окисником виступає ГХН, який у дуже низькій концентрації веде до порушення водно-сольового обміну зародка, а вже у

високих концентраціях призводить до виражених патологічних змін. У клітині ГХН імітує функцію цитохрому р-450, який переводить гідрофобні токсичні сполуки в гідрофільні. Проте за відсутності токсинів ГХН окиснює структурно-функціональні ліпіди та білки, що спричинює пригнічення розвитку і життєздатності зародків [10]. Вражаючи мітохондрії, ГХН, очевидно, призводить до зниження генерації АТФ.

Нами встановлено, що на початкових етапах розвитку відбувається ушкодження структури клітин. Відомо, що після запліднення відбувається структурна перебудова мембран яйцеклітин, а це супроводжується збільшенням текучості ліпідної фази. Діючи в цей час на зародки, розчин ГХН призводить до зміни структурно-функціональних характеристик об'єкта [11].

На стадії синхронних поділів (10 поділ бластомерів) падає мітотичний індекс і зростає морфогенетична активність ядер. Відбувається десинхронізація поділу зародкових клітин. Клітини на цій стадії стають менш чутливими до дії різних чинників, що узгоджується з нашими дослідженнями стосовно дії ГХН [24].

Отже, в результаті наших досліджень встановлено, що вплив ГХН у досліджуваних концентраціях пригнічує життєздатність зародків, але не спричиняє їхньої загибелі. ГХН негативно діє на структуру мембран зародкових клітин, внаслідок чого відбувається порушення їхньої проникності, набрякання мітохондрій, фрагментація апарату Гольджі, який на жодній електронограмі не мав правильної будови. До дії ГХН значно чутливішими є перші етапи розвитку (1 поділ) зародка в'юна *Misgurnus fossilis* L., порівняно з пізніми етапами раннього ембріогенезу (10 поділ). Етап 10 поділу розвитку зародка є чутливим до впливу ГХН високих концентрацій (12,5 мг/л), тоді як ГХН концентрацією 0,5 мг/л не справляє руйнівного впливу, який би був зафіксований на рівні ультраструктури зародкових клітин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Астауров Б. А. Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. 579 с.
2. Белоусов Л. В. Цитомеханический контроль морфогенеза // Цитология. 2000. Т. 42 (1). С. 84–91.
3. Белоусов Л. В., Дабяган Н. В., Чунаева М. З. Пособие к большому практикуму по эмбриологии. М.: Изд-во МГУ, 1990. Т. 1. С. 104.
4. Божкова В. П., Чайлахян Л. М. Специфическая роль ионов в предзародышевом развитии // Внешняя среда и развивающийся организм. М.: Наука, 1977. С. 210–256.
5. Гинзбург А. С. Оплодотворение у рыб и проблема полиспермии. М.: Наука, 1968. 368 с.
6. Гойда Е. А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. К.: Наук. думка, 1993. 224 с.
7. Гойда Е. А., Ощиповский В. В., Санагурский Д. И. Новый подход к оценке взаимосвязи различных параметров, влияющих на динамику трансмембранного потенциала у развивающихся зародышей вьюна // Биофизика. 1996. Т. 41 (2). С. 393–399.
8. Голиченков В. А. Методы эмбриологических исследований: учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 1996. 177 с.
9. Головчак Н. П., Коцюмбас Г. І., Бішко О. І., Санагурський Д. І. Проксидантно-антиоксидантний гомеостаз печінки птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій // Фізика живого. 2011. Т. 18 (2). С. 146–152.
10. Головчак Н. П., Тарновська А. В., Коцюмбас Г. І., Санагурський Д. І. Процеси перекисного окиснення ліпідів у живих організмах: монографія. Львів: Вид. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2012. 250 с.

11. Зинь А. Р., Головачук Н. П., Тарновська А. В. та ін. Вплив гіпохлориту натрію на про-оксидантно-антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2012. Т. 6 (1). С. 67–76.
12. Кафиани К. А., Маленкова А. Г. Роль ионного гомеостаза клетки в явлениях роста и развития // Усп. совр. биологии. 1976. Т. 81. С. 445–463.
13. Костомарова А. А. Вьюн *Misgurnus fossilis*. В кн.: Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 308–323.
14. Костюк П. Г. Исследование физических и химических основ биологических процессов. К.: Наук. думка, 1978. С. 20–26.
15. Коцюмбас І. Я. Т-2 токсикоз птиці: метод. рекомендації. К.: Тріада плюс, 2004. 13 с.
16. Коцюмбас І. Я., Величенко О. Б., Коцюмбас Г. І. та ін. Перспективи застосування гіпохлоритів у ветеринарній медицині. Львів: Афіша, 2009. 312 с.
17. Нейфах А. А. Молекулярная биология процессов развития. М.: Наука, 1977. 311 с.
18. Поликар А., Бесси М. Элементы патологии клетки. М.: Мир, 1970. 348 с.
19. Ротт Н. Н. Клеточные циклы в раннем эмбриональном развитии. М.: Наука, 1987. 207 с.
20. Санагурський Д. І. Об'єкти біофізики: монографія. Львів: Вид. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2008. 522 с.
21. Яремкевич О., Бура М., Мандзинець С. та ін. Зміни динаміки мембранного потенціалу зародків в'юна під впливом тіосульфатів // Вісн. нац. ун-ту «Львівська політехніка»: Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2009. Т. 644. С. 78–85.
22. Aubut V., Pommel L., Verhille B. et al. Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite // OOOOE. 2010. Vol. 109 (2). P. 120–125.
23. De Laat S. W., Buwalda R. J., Habets A. M. Intracellular ionic distribution, cell membrane permeability and membrane potential of the *Xenopus* egg during first cleavage // *Exp. Cell Res.* 1974. Vol. 89. P. 1–14.
24. Tupper J., Saunders J., Elwards Ch. The onset of electrical communication between cells in the developing starfish embryo // *J. Cell Biol.* 1970. Vol. 46 (1). P. 187–191.

Стаття: надійшла до редакції 07.03.14

доопрацьована 25.06.14

прийнята до друку 02.09.14

MORPHOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF LOACH EMBRYOS DURING EMBRYOGENESIS UNDER THE INFLUENCE OF SODIUM HYPOCHLORITE

A. Zyn¹, A. Bezkorovayny^{1,2}, N. Harasym², O. Kulachkovsky², D. Sanagursky²

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: avolina@yandex.ru*

The article contains data on ultrastructural and morphological changes of loach *Misgurnus fossilis* L. embryos in early stages of development and larval development on the first days of incubation environment, which contain sodium hypochlorite solution. It was established, that sodium hypochlorite is not toxic, because it does not lead to 100% of the

larvae death, but lead to inhibition viability and changes of loach larvae morpho-functional characteristics. Determined that sodium hypochlorite lead to considerable ultrastructural changes of loach embrional cells. Sodium hypochlorite cause damage of plasma membrane integrity and intracellular organelles membrane, cause violation of proteins functional properties and lipids, which further lead to pronounced morphological changes in loach larvae.

Keywords: loach embryos, embryogenesis, sodium hypochlorite.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЗАРОДЫШАХ ВЬЮНА НА ПРОТЯЖЕНИИ ЭМБРИОГЕНЕЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ

А. Зынь¹, А. Безкоровайний^{1,2}, Н. Гарасим², А. Кулачковский², Д. Санагурский²

¹Научно-исследовательский экспертно-криминалистический центр
при ГУМВД Украины во Львовской области
ул. Конюшинная, 24, Львов 79040, Украина

²Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов, 79005, Украина
e-mail: avolina@yandex.ru

В статье приведены данные об ультраструктурных и морфологических изменениях зародышей вьюна *Misgurnus fossilis* L. на ранних стадиях эмбриогенеза и личинок в первые дни развития в инкубационной среде, содержащей раствор гипохлорита натрия (ГХН). Обнаружили, что ГХН не проявляет токсического воздействия, поскольку не обеспечивает 100%-ной гибели личинок, хотя приводит к подавлению жизнеспособности и изменению морфофункциональных характеристик личинок вьюна. Установлено, что ГХН обуславливает значительные ультраструктурные изменения эмбриональных клеток вьюна. ГХН приводит к повреждению целостности плазматической мембраны и мембран внутриклеточных органелл, а это влечет за собой нарушение функциональных свойств белков и липидов, которое в дальнейшем приводит к выраженным морфологическим изменениям у личинок вьюна.

Ключевые слова: зародыши вьюна, эмбриогенез, гипохлорит натрия.