

УДК 597.551.2:591.32:577.352.4:546.33'131.1

**ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L. УПРОДОВЖ ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ДІЇ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ**

**А. Зинь, Н. Головчак, Д. Санагурський**

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

У статті наведені дані щодо впливу гіпохлориту натрію (ГХН) на ступінь окисної модифікації білків (ОМБ). Встановлено, що розчин ГХН призводить до зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків упродовж досліджуваних етапів раннього ембріогенезу. Посилення ступеня окиснювальної деструкції білкових молекул у зародках в'юна свідчить про вихід з-під контролю захисно-приспосувальних реакцій ембріональних клітин, порушення механізмів регуляції ферментних систем, які забезпечують клітинний гомеостаз, оскільки відомо, що за умов оксидативного стресу активні форми кисню (АФК) впливають, передусім, на білки плазматичних мембран і зумовлюють сильну гістодеструкцію.

*Ключові слова:* окисна модифікація білків, гіпохлорит натрію, антиоксидантна система захисту, зародки в'юна.

Актуальним завданням сьогодення є дослідження впливу широковживаних хімічних сполук на функціональні параметри живих організмів. На сьогоднішній день у медицині застосовують розчин ГХН як протимікробний, дезінтоксикаційний, антисептичний і дезінфекційний препарат. Його отримують електрохімічним методом із водних розчинів хлористого натрію [3, 13, 34]. ГХН є природною сполукою, яка постійно присутня в організмі, оскільки є продуктом активних фагоцитів. Він нетоксичний, легко віддає активний кисень, виводиться з організму, має невелику молекулярну масу і малі розміри, завдяки чому без перешкод проходить через клітинні мембрани та може окиснювати токсини, які містяться не лише у крові, але і в тканинах, модулюючи роботу цитохрому р-450, який локалізований у мембранах ендоплазматичної сітки печінки, нирок та інших органів [6, 23]. Розчин ГХН усе частіше починають застосовувати для профілактики інтоксикацій організму [1, 2, 12, 15, 16]. ГХН є донором активного кисню і стимулює в організмі процес окиснення екзо- й ендогенних токсичних речовин, таких як: продукти розпаду тканин, токсини мікроорганізмів, лікарські препарати, середні молекули, продукти пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [6, 11, 29].

Відомо, що процеси пероксидного окиснення, які потрібні для нормального функціонування біологічних систем, безперервно тривають у всіх клітинах. За участю вільних радикалів відбувається детоксикація чужорідних сполук, що надходять в організм. У процесі окиснення складні органічні сполуки піддаються деструкції, деполімеризації та деградації. Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення під дією АФК призводить до посилення процесів ПОЛ та ОМБ, деструкції нуклеїнових кислот і вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах [4, 6, 11, 14, 21, 22].

Відомо, що модифікація білкових молекул за дії АФК призводить до утворення додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот [19, 26, 28]. У літературі є

дані про те, що продукти ОМБ стабільніші, порівняно з пероксидами ліпідів, які швидко метаболізують під дією пероксидаз і низькомолекулярних антиоксидантів. Вважають, що відновлення окиснених білків практично не відбувається, а вони стають об'єктом для дії специфічних нейтральних і лужних протеаз [8, 19]. Кисневозалежне окиснення білків є раннім індикатором пошкодження органів і тканин, тому процеси ОМБ у разі всіх патологічних станів мають перебувати під безперервним лабораторним контролем [9].

Є багато досліджень, які стосуються морфофункціональної оцінки органів та систем органів за впливу розчинів ГХН [6, 15, 16], проте недостатньо висвітленими залишаються питання участі процесів пероксидного окиснення білків у регуляції нормального метаболічного стану зародкових клітин за дії ГХН, а також його застосування в терапії з метою профілактики інтоксикації організму, що матиме вагоме значення для медицини і токсикології.

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були зародки прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. В'юн широко використовується під час вивчення низки проблем сучасної біології розвитку, в тому числі в ембріологічних, біохімічних, біофізичних, цитологічних та інших дослідженнях [5, 25, 27]. Відомо, що зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L. в період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різноманітних фармакологічних і хімічних чинників на живі організми. Відносно коротка тривалість періоду ембріогенезу, легкість отримання статевих продуктів і відсутність труднощів в утриманні цих риб у лабораторних умовах пояснюють його популярність [5, 25, 27].

Для експерименту використовували яйцеклітини і зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L., які отримували і запліднювали за методом Нейфаха [20]. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9.

Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали й інкубували у фізіологічному розчині Гольфрета ( $t=20-22^{\circ}\text{C}$ ), який містив розчин ГХН різних концентрацій, а саме 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 і 12,5 мг/л. Зразки відбирали на етапах розвитку зародка через 60, 150, 210, 270 і 330 хв після запліднення яйцеклітин, які відповідають першому (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів) і десятому (1024 бластомери) дробленню зиготи. Зародки в'юна на різних стадіях розвитку гомогенізували за допомогою гомогенізатора Поттера-Ельвенгейма у розчині Гольфрета. По 1 мл гомогенату кожної проби заморожували у морозильній камері за температури  $-20^{\circ}\text{C}$ , які в подальшому використовували для дослідження [5]. Кількість білка у кожному зразку визначали за методом О. Н. Lowry et al. [30].

Ступінь ОМБ визначали за кількістю утворених додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот, вміст яких визначали в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ) [35]. Використовуючи молярний коефіцієнт екстинкції ( $2,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), знаходили вміст фенілгідразонів [7].

У центрифужні пробірки вносили 0,8 мл 0,85% розчину NaCl, 0,2 мл гомогенату, 1 мл 0,1 М ДНФГ, розчиненого в 2М HCl, і 1 мл 10% ТХО. Контрольна проба містила замість ДНФГ 1 мл 2 М HCl. Проби інкубували 1 год за  $37^{\circ}\text{C}$ , після чого центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Одержаний осад промивали тричі 5% ТХО по 5 мл, кожен раз старанно ресуспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду додавали 5 мл 8М розчину сечовини, інкубували 5 хв у киплячій водянній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували при 370 нм проти контролю.

Вміст карбонільних груп обчислювали за формулою:

$$[\text{КБ}] = \frac{D \cdot V_{np} \cdot P \cdot 1000}{E \cdot n}, \text{ мкмоль/мг білка,}$$

де [КБ] – вміст карбонільних груп;  $D$  – екстинкція проби;  $V_{np}$  – об'єм сечовини;  $E$  – коефіцієнт молярного поглинання динітрофенілгідразонів ( $22\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ );  $n$  – об'єм гомогенату;  $P$  – розведення гомогенату.

Результати досліджень обробляли статистично з обчисленням середніх арифметичних величин ( $M$ ), стандартної похибки ( $m$ ). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обраховували коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважалася різниця при показнику достовірності  $p \geq 0,95$ ,  $p \geq 0,99$ ,  $p \geq 0,999$ . Результати обробки представлені у вигляді рисунків.

Статистичну обробку та дисперсійний аналіз результатів досліджень проводили з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів «*Microsoft Excel -2007*» для Windows.

### Результати і їхнє обговорення

Загальновідомо, що метаболічні процеси, які здійснюються від моменту запліднення яйцеклітин, впливають на розвиток зародків та личинок, і будь-яка зміна цих процесів може призвести до їхньої загибелі. До найважливіших регуляторних систем клітини, які беруть участь у адаптаційних процесах і регуляції метаболічних шляхів, належить прооксидантно-антиоксидантна система, яка підтримує нормальне функціонування клітини [18]. Відомо, що в умовах окисного стресу й неконтрольованої реакції АФК переважають процеси нерегульованої модифікації білків, що, в кінцевому підсумку, призводить до втрати їхньої біологічної активності. У зв'язку із цим становить інтерес вивчення ОМБ у зародків в'юна та впливу на ці показники розчину ГХН.

Під час дослідження інтенсивності процесу ОМБ зародків в'юна у контрольній групі відмічено коливання значень даного показника впродовж ембріогенезу. Так, на стадії розвитку зародків 2 бластомерів вміст карбонільних груп становить  $42,1 \pm 5,9$  мкмоль/мг білка (рис. 1, а). Наступний досліджуваний етап розвитку зародків в'юна – 16 бластомерів – є початком стадії морули [33]. На даному етапі розвитку зареєстровано максимальний вміст карбонільних груп білків, де інтенсивність процесів ОМБ зростає до позначки  $108,9 \pm 4,3$  мкмоль/мг білка (рис. 1, б). Із даних літератури відомо, що саме через 2 години починається інтенсивний поділ бластомерів зародків, тому значне зростання процесів вільнорадикального окиснення може бути пов'язане з ефективним мембраногенезом. Це свідчить про підвищення функціональної активності клітин зародка з кожним наступним етапом розвитку [27, 31, 32].

У подальшому розвитку зародкових об'єктів настає стадія бластули (64 бластомери, де бластомери вже розміщуються у два шари), яка характеризується незначним зниженням показника ОМБ порівняно зі стадією морули (рис. 1, в).

Стадія розвитку зародків 256 бластомерів – це початок стадії гастрული, де бластомери розміщуються більшою кількістю рядів, що є підготовкою до завершального етапу синхронних поділів [27, 31–33]. Ступінь окиснювальної деструкції білків спав до рівня карбонільних груп першої стадії дроблення зиготи і становить  $48,4 \pm 2,9$  мкмоль/мг білка (рис. 1, г). Значне зменшення розміру бластомерів, їх перерозташування, ймовірно, зумовлюють різку зміну білок-ліпідного складу мембран ембріонів, що, у свою чергу, веде до зниження показника ОМБ.

До шести годин розвитку (10-й поділ, 1024 бластомери) повністю формується гастрולה [27, 31–33], і в бластодермі настає юнний гомеостаз, близький до гомеостазу

диференційованих клітин, про що може свідчити про підвищення вмісту карбонільних груп до  $60,4 \pm 3,7$  мкмоль/мг білка порівняно з попереднім етапом розвитку (рис. 1, д).

Під час розвитку зародків у середовищі, де містився ГХН, загалом спостерігали пригнічення їхньої життєдіяльності, проте не відбувалося 100%-ної загибелі. Відмічено значне відставання у розвитку зародків від моменту запліднення, порівняно з контролем. Так, поділ на бластомери відбувався із невеликим запізненням – на 35–45 хв.

За розвитку зародків, де в інкубаційному середовищі містився ГХН (у всіх досліджуваних концентраціях), зареєстровано статистично достовірне зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків упродовж досліджуваних етапів ембріогенезу (рис. 1, а–д).

На стадії розвитку зародків 2 бластомери, при інкубуванні їх у розчині ГХН, відбулося достовірне підвищення досліджуваного показника ОМБ. Максимальне зростання інтенсивності процесу ОМБ відзначено за дії ГХН у найменшій концентрації (на  $251,1 \pm 37,4\%$ ;  $p \geq 0,999$ ) (рис. 1, а).

На стадії розвитку 16 бластомерів ГХН у вказаному діапазоні концентрацій спричиняє зростання інтенсивності процесів ОМБ. Досліджуваний показник ОМБ досяг найвищого рівня за дії ГХН у концентраціях 2,5 та 10,0 мг/л, де вміст карбонільних груп окисно-модифікованих білків зріс на  $149,4 \pm 0,7$  та  $155,7 \pm 2,6\%$  ( $p \geq 0,999$ ) відповідно (рис. 1, б). Цей етап характеризувався ущільненням контакту між бластомерами, а також різким зменшенням їхнього розміру в наступні поділи, що може бути причиною зростання інтенсивності процесу пероксидного окиснення білків за умов дії чинника [27, 31–33].

Аналіз динаміки показників ОМБ на стадії розвитку 64 бластомерів за дії розчину ГХН показав зростання показника даного процесу. Відзначено, що за дії ГХН у концентрації 0,5 мг/л вміст карбонільних груп білків перебуває в межах контролю. При впливі ГХН у концентраціях 10,0 та 12,5 мг/л під час розвитку зародків в'юна зафіксовано максимальне зростання показників ступеня окиснювальної деструкції білків на  $316,5 \pm 15,9$  та  $309,7 \pm 1,6\%$  відповідно (рис. 1, в).

Тенденція до зростання інтенсивності процесів ОМБ за дії ГХН характерна і для зародків на стадії гастрুলи. На цій стадії розвитку зародків найбільше зростання інтенсивності даного процесу відбувається за дії ГХН у концентраціях 1,0 та 5,0 мг/л на  $253,6 \pm 10,9$  та  $287 \pm 2,4\%$ , відповідно ( $p \geq 0,999$ ) (рис. 1, з).

Завершальна стадія синхронного дроблення зиготи характеризується незначною інтенсифікацією процесів пероксидного окиснення білків. Слід відзначити, що за дії ГХН у концентрації 5,0 та 12,5 мг/л показник ОМБ наближається до контрольних значень і становить  $56,6 \pm 2,4$  та  $66,5 \pm 4,4$  мкмоль/мг білка. Максимальне підвищення вмісту карбонільних груп білків на цьому етапі розвитку відбувається за дії ГХН у концентрації 2,5 мг/л (рис. 1, д).

На рис. 1 нами зафіксоване стрибкоподібне підвищення вмісту карбонільних груп у окисно-модифікованих білків залежно від зміни концентрації ГХН. Наприклад, на стадії 2 бластомерів ГХН у концентраціях 0,5; 2,5; 7,5 та 12,5 мг/л призводить до значного підвищення показника ОМБ, тоді як за дії  $\text{NaClO}$  у концентраціях 1,0; 5,0 та 10,0 мг/л спостерігали менш інтенсивне підвищення даного показника. Відомо, що хімічні сполуки, залежно від концентрації, можуть проявляти або терапевтичну, або пошкоджувальну дію. Ймовірно, незначне підвищення концентрації ГХН зумовлює різноступеневе порушення прооксидантно-антиоксидантних процесів у клітині, в результаті чого і відбувається нерівномірне зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків на досліджуваних етапах зародкових клітин.

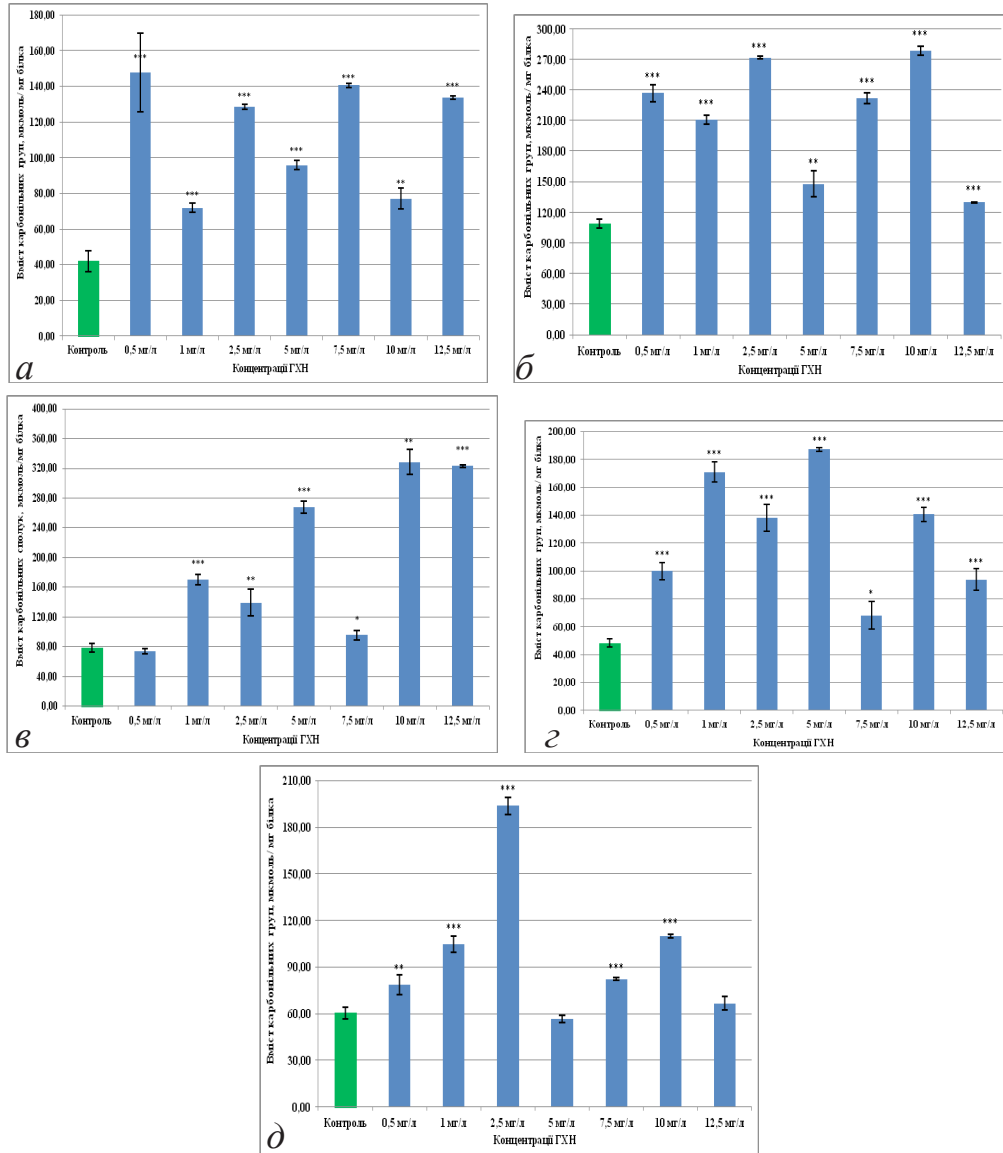


Рис. 1. Вплив гіпохлориту натрію на вміст карбонільних груп зародків в'юна на стадіях 2 (а), 16 (б), 64 (в), 256 (з) і 1024 (д) бластомери (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ ).

Для встановлення механізму дії детоксиканта на вільнорадикальні процеси нами був проведений дисперсійний аналіз впливу факторів часу розвитку та концентрації ГХН на мінливість процесу ОМБ, а саме на зміну вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків. Слід відзначити, що вплив факторів часу та концентрації коливається впродовж раннього ембріогенезу в межах 30,6–54,1% та 27,6–62,1% відповідно.

Переважаюча частка впливу фактора часу припадає на розвиток зародка за дії ГХН у концентрації 7,5 мг/л, тоді як за дії ГХН у концентрації 2,5 мг/л домінує частка впливу фактора концентрації ГХН. На невраховані фактори припадає найменша частка впливу при

вивченні мінливості процесу окисної модифікації протягом ембріогенезу зародків в'юна за дії ГХН у всіх досліджуваних концентраціях (рис. 2).

Згідно з двофакторним дисперсійним аналізом, наявність ГХН в інкубаційному середовищі справляє значний вплив на зміну показників ОМБ.

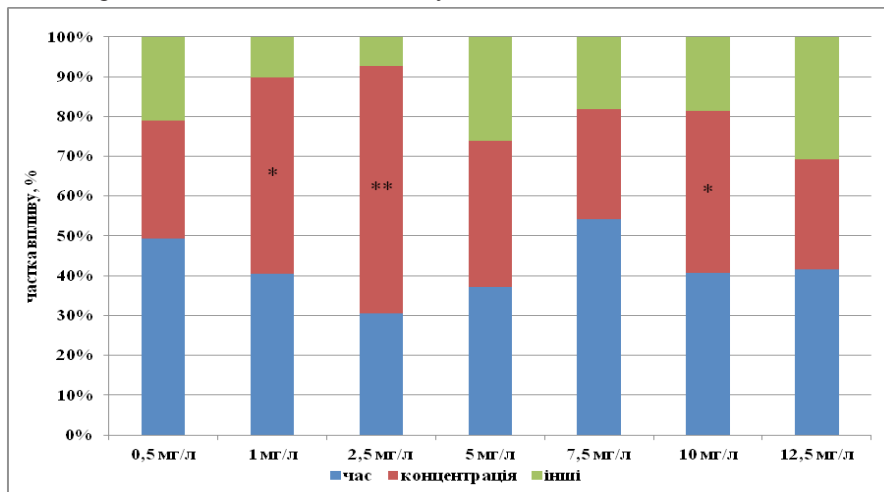


Рис. 2. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу факторів часу та концентрації гіпохлориту натрію на вміст карбонільних груп упродовж ембріогенезу в'юна (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ).

Виявлене посилення ступеня окиснювальної деструкції білкових молекул вказує на вихід з-під контролю захисно-приспосувальних реакцій клітини та свідчить про порушення механізмів регуляції ферментних систем, які забезпечують клітинний гомеостаз, оскільки відомо, що за умов окислятивного стресу АФК впливають передусім на білки плазматичних мембран і призводять до сильної гістодеструкції [24]. Це, у свою чергу, веде до порушення та відставання у розвитку зародків в'юна.

З літератури відомо, що атака білків АФК призводить до утворення первинних амінокислотних радикалів, які вступають у вторинні взаємодії зі сусідніми амінокислотними залишками, що в цілому створює досить складну картину ушкоджувальної дії АФК на білкові макромолекули [19]. Модифікація амінокислотних залишків у білках (тобто модифікація на рівні первинної структури) призводить до таких глибоких змін білкової структури: а) агрегації і фрагментації білків, підданих дії АФК; б) різкого підвищення чутливості білків до протеолітичної деградації; в) ушкодження ліпідного матриксу біомембран за рахунок утворення пероксидних молекулярних продуктів поліненасичених ацилів; г) порушення біофізичних властивостей мембранних білків, що призводить до глибоких змін ферментативних та іон-транспортних властивостей мембран; д) утворення пероксид-ліпід-модифікованих білків як наслідок прямої взаємодії залишків лізину з продуктами ПОЛ [10, 17]. Таким чином, різні спирти, альдегіди, гідрокарбони, будучи продуктами ПОЛ, можуть викликати порушення синтезу білків, зміни мембранної проникності. Як вище згадувалось, у стані окисного стресу за рахунок АФК атаці піддаються в першу чергу не ліпіди, а білки плазматичних мембран, що призводить до їхньої деполімеризації та лізису клітин [10, 17].

Отже, інкубування зародків в'юна у середовищі, що містить розчин ГХН, суттєво пригнічує їхню життєздатність. **Розчин ГХН призводить до інтенсифікації вільнорадикальних реакцій**, про що свідчить зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих



білків упродовж ембріогенезу. Це може зумовити порушення структури та функціонування ферментних систем, що забезпечують клітинний гомеостаз.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бояринов Г. А., Векслер Н. Ю. Свойства и сферы применения натрия гипохлорита // Эфферентная терапия. 1997. Т. 3. № 2. С. 5–14.
2. Величенко А. Б., Лукьяненко Т. В., Плаксиенко И. Л. и др. Химический состав и стабильность растворов гипохлорита натрия медицинского назначения // Вопросы химии и хим. технологии. 2006. № 6. С. 156–160.
3. Величенко О. Б., Гиренко Д. В., Лукьяненко Т. В. и др. Растворы гипохлорита натрия для медицины и ветеринарии // Вопросы химии и хим. технологии. 2006. № 6. С. 160–164.
4. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах // Сорос. обр. журн. 2000. № 12. С. 13–19.
5. Гойда Е. А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. К.: Наук. думка, 1993. 224 с.
6. Головчак Н. П., Коцюмбас Г. І., Бішко О. І., Санагурський Д. І. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз печінки птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій // Фізика живого. 2011. Т. 18. № 2. С. 146–152.
7. Дубинина Е. Е., Морозова М. Г., Леонова Н. В. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) // Вопросы медицинской химии. 2000. Т. 46. № 4. С. 398–409.
8. Дубинина О. Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків // Мед. хімія. 2001. Т. 3. № 2. С. 5–12.
9. Дубинина Е. Е., Пустыгина А. В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях // Укр. біохім. журн. 2008. Т. 80. № 6. С. 5–18.
10. Дубинина Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Мед. пресса, 2006. 400 с.
11. Зинь А. Р., Головчак Н. П., Тарновська А. В. та ін. Вплив гіпохлориту натрію на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу // Біологічні студії. 2012. Т. 6. № 1. С. 67–76.
12. Кабан А. П., Ганюшкина И. Г. Перспективы применения натрия гипохлорита для профилактики и лечения токсикоза, гнойно-воспалительных осложнений и заболеваний // Клинич. хирургия. 1997. № 5–6. С. 76–79.
13. Кирюткин Г. В., Горлов И. Ф. Гипохлориты: Дезинфицирующие свойства, механизм действия, контроль качества, способы получения // Труды ВНИИ контроля, стандартизации и сертификации. Волгоград, 2002. 484 с.
14. Кличханов Н. К., Исмаилова Ж. Г., Эмирбеков Э. З. Интенсивность окислительной модификации белков плазмы крови при гипотермии и на фоне введения даларгина // Бюлл. экспер. биологии и медицины. 2001. № 31 (3). С. 281–283.
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. Луццак В. И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма // Биохимия. 2007. Т. 72. № 8. С. 995–1017.
18. Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма «Слово», 2006. 556 с.

19. Мецишен І. Ф., Польовий В. П. Механізм окиснювальної модифікації білків // Бук. мед. вісн. 1999. Т. 3. № 1. С. 196–205.
20. Нейфах А. А. Молекулярная биология процессов развития. М.: Наука, 1977. 311 с.
21. Рябов Г. Я., Азизов Ю. М., Дорохов С. И. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях // Анестезиология и реаниматология. 2000. № 2. С. 72–75.
22. Тарновська А., Смалюх Г., Санагурський Д. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) під впливом катіонів кальцію, магнію та антибіотиків класу фторхінолонів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 19–25.
23. Aubut V. Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite // OOOOE. 2010. 109 (2). P. 120–125.
24. Bhattacharyya J., Chowdhury T. D., Datta A. G. Effect of endotoxin on protein degradation and lipid peroxidation of erythrocytes // J. Physiol. Pharmacol. 1999. Vol. 50. P. 321–326.
25. 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.
26. Davies K. J. A., Delsignore M. E., Lin S. W. Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. Modification of amino acids // J. Biol. Chem. 1987. Vol. 262. N 20. P. 9902–9907.
27. Fujimoto T., Kataoka T., Sakao S. et al. Developmental stages and germ cell lineage of the Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) // Zoological Sci. 2006. Vol. 23. P. 977–989.
28. Halliwell B., Packer Eds. L., Philipko L. et al. Free Radical in the brain. Aging, neurological and mental disorders // Springer-Verlag, Berlin, N.Y., London. 1992. P. 21–40.
29. Hidalgo E., Bartolome R., Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness // Chemico-Biological Interactions. 2002. Vol. 139. P. 265–282.
30. Lowry O. H., Rosenbrough N. G., Farr A. L., Randall R. C. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. P. 265–275.
31. Mollah M. F. A., Taslima K., Rashid H. et al. Embryonic and larval development of critically endangered riverine catfish *Rita rita* // EurAsian. J. Biosci. 2011. Vol. 5. P. 110–118.
32. Puvanewari S., Marimuthu K., Karuppasamy R., Haniffa M. A. Early embryonic and larval development of Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* // EurAsian J. Biosci. 2009. Vol. 3. P. 84–96.
33. Shirazi A., Borjian S., Nasari H. et al. Effects of timing on cell biopsy from pre-compacted morula staged bovine embryos on subsequent embryonic development // J. Reprod. Infertil. 2010. Vol. 11. N 1. P. 25–32.
34. Watters J. K., Downing M., Case P. et al. AIDS prevention for intravenous drug users in the community: street-based education and risk behavior // Am. J. Community Psychol. 1990. Vol. 18. N 4. P. 587–596.
35. Winterbourn C. C., Buss I. H., Chan T. P. et al. Protein carbonyl measurements show evidence of early oxidative stress in critically ill patients // Crit. Care. Med. 2000. Vol. 28. N 1. P. 275–279.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 11.01.13

прийнята до друку 29.01.13



**PROTEINS OXIDATIVE MODIFICATION IN LOACH EMBRYOS *MISGURNUS FOSSILIS* L. DURING EMBRYOGENESIS FOR ACTION SODIUM HYPOCHLORITE**

**A. Zyn, N. Holovchak, D. Sanagursky**

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

The article contains data about the sodium hypochlorite influence on the degree of proteins oxidative modification. It was showed that sodium hypochlorite solution leads to increasing content of carbonyl groups of redox-modified proteins during early stages of embryogenesis. High degree of protein molecules oxidative degradation in loach embryos shows out of control protective and adaptive reactions embryonic cells, violation of regulatory mechanisms of enzyme systems that provide cellular homeostasis since it is known that under conditions of oxidative stress reactive oxygen species impact primarily on plasma membrane proteins and cause severe tissue distruction.

*Keywords:* proteins oxidative modification, sodium hypochlorite, antioxidant defense system, loach embryos.

**ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ В ЗАРОДЫШАХ ВЬЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L. НА ПРОТЯЖЕНИИ ЭМБРИОГЕНЕЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ**

**А. Зынь, Н. Головчак, Д. Санагурский**

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

В статье приведены данные о влиянии гипохлорита натрия (ГХН) на степень окислительной модификации белков (ОМБ). Установлено, что раствор ГХН приводит к росту содержания карбонильных групп окислительно-модифицированных белков на протяжении исследуемых этапов раннего эмбриогенеза. Усиление степени окислительной деструкции белковых молекул в зародышах вьюна свидетельствует о выходе из-под контроля защитно-приспособительных реакций клеток, нарушение механизмов регуляции ферментных систем, обеспечивающих клеточный гомеостаз, поскольку известно, что в условиях оксидативного стресса активные формы кислорода (АФК) влияют прежде всего на белки плазматических мембран и вызывают сильную гистодеструкцию.

*Ключевые слова:* окислительная модификация белков, гипохлорит натрия, антиоксидантная система, зародыши вьюна.