

УДК 577.152.31:591.33:591.35:599.322.2

А. М. Андриевский¹, канд. биол. наук, доцент,**Ю. Н. Олейник**², канд. биол. наук, доцент

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,

¹ – кафедра генетики и молекулярной биологии,² – кафедра зоологии;

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,

e-mail: andriev_scar@mail.ru

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ КАРБОКСИЭСТЕРАЗ ОРГАНОВ И
ТКАНЕЙ СУСЛИКА КРАПЧАТОГО *Spermophilus suslicus* (GULD.)
В ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ И РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД
РАЗВИТИЯ**

В ходе проведения исследований получены данные о распределении групп карбоксиэстераз в цельной крови, печени, сердце, желудке, кишечнике, щитовидной железе, головном мозге, семеннике (яичнике), придатке семенника. Установлена локализация, характер проявления и видоспецифичность карбоксиэстераз в отдельных органах эмбрионов и детёнышей крапчатого суслика в эмбриональный и ранний постнатальный период.

Ключевые слова: эстеразы, эмбриональное развитие, раннее постнатальное развитие, *Spermophilus suslicus*.

Крапчатый суслик относится к незрелорождающим млекопитающим, у детёнышей которых формирование многих морфофункциональных характеристик оказывается незавершённым. В результате этого фаза постнатального развития до полового созревания подразделяется ещё на два, а у некоторых видов млекопитающих (малая пищуха) даже на три периода [6, 11, 13]. Согласно классификации И. А. Аршавского [4] эти этапы можно отнести к раннему постнатальному периоду и периоду от начала реализации антигравитационных реакций до наступления половозрелости. Первый период характеризуется переходом от внутриутробного развития к наземно-воздушному существованию. Во втором – осуществляется полная перестройка пищевых связей, изменяются формы поведения, увеличивается двигательная активность, далее происходит расселение молодых особей.

Приспособление организма в постнатальный период к окружающей среде предполагает, в соответствии с принципом системности, способность к динамичному изменению, как отдельных систем органов, так и параметров отдельных органов при изменении среды обитания [8–10, 16]. В этих условиях изменения метаболической активности тканей могут быть особенно заметны. Некоторые ферменты, очевидно, отсутствуют у эмбрионов (их не удастся обнаружить) и появляются в постнатальный период в различных органах в разное время [7]. Значительны и различия между отдельными органами, обусловленные различием их функций, состава

вом и активностью тканеспецифических агентов, обеспечивающих метаболическую активность тканей этих органов [2, 3, 15].

Отсутствие сведений относительно разнообразия тканеспецифических ферментов в эмбриональный и ранний постэмбриональный периоды развития представителей рода *Spermophilus* (*Citellus*) определило цель данной работы – изучить полиморфизм карбоксиэстераз крапчатого суслика *Spermophilus suslicus*.

Материал и методы исследования

Исходным материалом служили ткани и органы 20 эмбрионов и детёнышей суслика крапчатого: цельная кровь, печень, сердце, желудок, кишечник, щитовидная железа, головной мозг, семенник (яичник), придаток семенника.

Для разделения карбоксиэстераз кислой природы в работе использовали метод щелочного электрофореза в полиакриламидном геле с помощью аппарата для электрофореза с вертикально расположенными пластинами [1, 14]. Путём проведения реакции одновременного азосочетания нафтолов с прочным синим идентифицировали молекулярные формы тканевых карбоксиэстераз. Индивидуальный анализ тканей, полученных от разных особей, проводили не объединяя их в одной пробе.

Для получения экстрактов 100 – 200 мг навески ткани или органа гомогенизировали в 600 – 1 200 мкл буфера (соотношение 1 : 6) глицин-*NaOH* 0,1 М (*pH* = 9,0) + 1 % тритона X-100. Гомогенаты центрифугировали в течение 15 мин при 10 000 g. Надосадочную жидкость собирали и хранили в морозильной камере. Полученные экстракты использовали для электрофоретического разделения содержащихся в них карбоксиэстераз.

Разделяющая фаза носителя представляла собой пластинчатый блок (140 × 120 × 1 мм) с концентрацией полиакриламидного геля 10 %. Для приготовления геля использовали реактивы фирмы “Reanal”.

Полученные экстракты вносили в промытые электродным буфером слоты в объёме 20 мкл с добавкой 5 мкл 60 % раствора сахарозы с 0,01 % бромфеноловым синим, применяемым в качестве лидирующего красителя. Сразу после нанесения проб на стартовую поверхность геля устанавливали электрический ток силой 5 мА (на 10 мин) и 10 мА (на 20 мин), затем 20 мА в расчёте на один гелевый блок. После достижения красителем финишного уровня (через 3–4 часа) электрофорез прекращали, высвобождали гелевые блоки, многократно отмывали их от «внутреннего» буфера (исходное значение *pH* = 8,9) и использовали для гистохимического выявления карбоксильных эстераз. После нейтрализации внутригелевой среды каждый отдельный блок выдерживали в 50 мл нейтрального буфера в течение 10 – 15 мин.

Инкубационную среду для фиксированных в геле ферментов готовили на 0,1 М фосфат-фосфатном буфере (*pH* = 7,4). Каждую гелевую пластину помещали в

пенопластовую кювету и заливали 50 мл буфера, содержащего смеси субстратов в количестве 25 мг соответственно, а также прочный синий *RR* в количестве 50 мг.

Использовали два вида субстрата: α -нафтилацетат и β -нафтилацетат. Различия в окраске продуктов реакции азосочетания нафтолов с диазонием дали возможность идентифицировать изучаемые карбоксиэстеразы по их стереохимической субстратной специфичности.

Все субстраты, а также прочный синий перед введением в буфер растворяли в 100 мкл диметилформамида. Реакции гидролиза субстрата и одновременно азосочетания при +25 °C длились в течение одного часа. После экспозиции реакционные смеси удаляли, а гели многократно промывали дистиллированной водой и, в случае необходимости, очищали от мелкодисперсного осадка азокрасителя с помощью мягкой кисти.

Отмытые гелевые блоки сканировали, а затем денситометрировали и обрабатывали с помощью компьютерной программы – анализатора изображений спектров «АнаИС» [12]. Оптическую плотность (*Od*) ферментных фракций, отражающую количество конечного продукта реакции (азокрасителя) в зоне локализации фермента в гелевом блоке, выражали в относительных единицах. О степени выраженности, или экспрессивности изучаемых эстераз судили по интенсивности окраски наблюдаемых полос на электрофореграмме.

По коэффициенту относительной электрофоретической подвижности (*Rf*) полученные спектры тканевых карбоксиэстераз разделяли на три основные группы. Группу, обладающую наибольшей электрофоретической подвижностью (далее всех располагается от линии «старта»), обозначали под № 1 (её нижняя граница достигает от 0,510 и выше), а фракции эстераз, прошедшие наименьший путь – как № 3 (до 0,250). В рамках этой группы электрофоретические фракции образуют две подгруппы: первая – с нижней границей до 0,130, и вторая – до 0,250. Между первой и третьей *Rf*-группами располагается комплекс фракций карбоксиэстераз № 2 (0,260 – 0,500).

Все операции, связанные с препарированием подопытных животных, проводили соблюдая этические нормы обращения с животными.

Результаты исследования и обсуждение

В натальный период развития на стадии плода нами были взяты пробы только печени и головного мозга. Установлено, что ткань этих органов содержит следовые количества карбоксиэстераз: головной мозг содержал минимальные количества α -фильных карбоксиэстераз, печень – следы ферментов двух типов – α - и β -фильных карбоксиэстераз.

Несмотря на крайне слабую выраженность ферментов в печени плода и у половозрелых особей, здесь обнаружены все три группы фракций, различающиеся по коэффициенту подвижности (*Rf*): группа № 1 – от 0,560 до 0,590; № 2 – от

0,320 до 0,340; № 3 – от 0,038 до 0,140 (рис. 1; табл. 1). В то же время в головном мозге плода обнаружены следы всех трёх *r f*-групп, тогда как у половозрелых особей [3] – всего одна (самая медленно подвижная) группа эстераз (рис. 1; табл. 1, 2).

Наибольшим числом фракций характеризуются группы самых «медленных» эстераз. В них количество фракций варьирует от 2-х (№ 3) до трёх (№ 1). электрофоретический спектр группы № 2 представлен всего одной фракцией карбоксиэстераз. Общее разнообразие спектров карбоксиэстераз в натальный период на стадии плода представлено 5-ю фракциями в печени и 4-мя – в головном мозге.

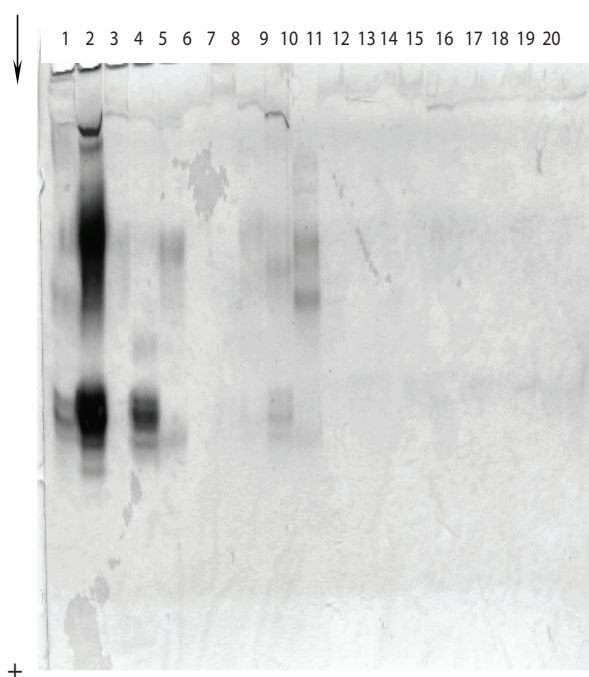


Рис. 1. электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей взрослой самки и эмбрионов суслика крапчатого: Субстраты: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат; 1 – кровь; 2 – печень; 3 – сердце; 4 – желудок; 5 – кишечник; 6 – щитовидная железа; 7 – головной мозг; 8 – яичник; 9 – плацента; 10 – поджелудочная железа; 11 – головной мозг эмбриона № 1; 12 – печень эмбриона № 1; 13 – головной мозг эмбриона № 2; 14 – печень эмбриона № 2; 15 – печень эмбриона № 3; 16 – печень эмбриона № 4; 17 – печень эмбриона № 5; 18 – печень эмбриона № 6; 19 – печень эмбриона № 7; 20 – печень эмбриона № 8.

э кспрессивность изоформ плода по сравнению с взрослой особью выражена слабо. В печени она составляет до 0,331 единицы оптической плотности, что значительно меньше, чем у половозрелых особей [3]. При этом показатели экспрессивности эстераз головного мозга (до 0,271) сопоставимы с соответствующими значениями у половозрелых особей (рис. 1).

Таблица 1

Характеристика изоформ карбоксиэстераз у крапчатого суслика натального и раннего постнатального периодов по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности (R_f)

Ткани, органы	Группы по R_f	Натальный период ($n = 8$) (<i>min - max</i>)	Постнатальный период ($n = 12$)		
			14 сутки (<i>min - max</i>)	21 сутки (<i>min - max</i>)	25 сутки (<i>min - max</i>)
Кровь	1	–	0,580 – 0,670 (1)	0,580 – 0,590 (1)	0,630 – 0,957 (1)
	2		0,280 – 0,460 (3)	0,270 – 0,400 (2)	–
	3		0,072 – 0,210 (2)	0,034 – 0,170 (3)	0,170 – 0,180 (1)
Печень	1	0,560 – 0,590 (1)	0,550 – 0,700 (4)	0,520 – 0,610 (3)	0,540 – 0,630 (5)
	2	0,320 – 0,340 (1)	0,280 – 0,400 (3)	0,320 – 0,370 (2)	–
	3	0,046 – 0,140 (3)	0,190 – 0,210 (2)	0,170 – 0,210 (2)	0,150 (1)
Сердце	1	–	0,610 (1)	0,580 – 0,600 (1)	0,620 – 0,650 (1)
	2		0,280 (1)	0,270 (1)	–
	3		0,190 – 0,200 (1)	0,120 – 0,180 (2)	0,190 (1)
Желудок	1	–	0,590 – 0,600 (1)	0,540 – 0,610 (3)	0,590 – 0,640 (2)
	2		0,280 (1)	0,290 – 0,380 (2)	–
	3		0,190 (1)	0,170 – 0,220 (2)	0,180 (1)
Кишечник	1	–	0,600 – 0,610 (1)	0,600 – 0,650 (2)	0,670 – 0,680 (1)
	2		0,270 – 0,460 (3)	0,290 – 0,460 (3)	–
	3		0,068 – 0,210 (4)	0,170 – 0,220 (3)	0,190 – 0,200 (1)
Головной мозг	1	0,580 – 0,590 (1)	–	–	–
	2	0,340 (1)	0,270 (1)	0,270 – 0,380 (2)	–
	3	0,038 – 0,130 (2)	0,190 (1)	0,062 – 0,190 (3)	0,190 (1)
Половые железы	1	–	–	–	–
	2		0,280 (1)	0,270 – 0,350 (2)	–
	3		0,170 – 0,180 (1)	0,180 – 0,190 (1)	0,190 (1)
Придаток семенника	1	–	–	–	–
	2		0,280 (1)	–	–
	3		0,180 (1)	–	0,190 (1)

Примечание: «–» – данные отсутствуют; в скобках указано число фракций карбоксиэстераз.

В ранний постнатальный период (14-е сутки), в период молочного вскармливания наличие карбоксиэстераз установлено во всех исследованных нами органах и тканях детёнышей (рис. 2).

В крови, печени, сердце, желудке и кишечнике детёнышей на этом этапе постнатального развития обнаружены все три *Rf*-группы эстераз. В головном мозге, семенниках, придатках семенников на электрофореграммах установлено присутствие 2-х более медленных групп карбоксиэстераз: второй и третьей. Более подвижных фракций из группы № 1, отмеченных для позднего натального периода (на стадии плода) в этих органах, обнаружено не было.

Диапазоны коэффициента подвижности (*Rf*) для всех трёх групп у детёнышей в возрасте 14-ти суток (рис. 2) примерно совпадают с таковыми взрослых половозрелых особей.

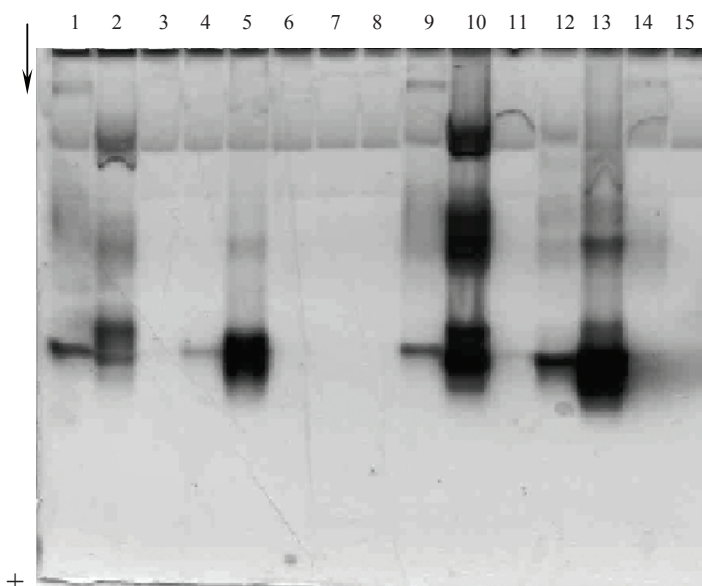


Рис. 2. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей детёнышей суслика крапчатого в возрасте 14-ти (♂ – № 2) и 21-ых суток (♀ – № 4): Субстраты: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат; 1 – кровь, ♂; 2 – печень, ♂; 3 – сердце, ♂; 4 – желудок, ♂; 5 – кишечник, ♂; 6 – головной мозг, ♂; 7 – семенник, ♂; 8 – придаток семенника, ♂; 9 – кровь, ♀; 10 – печень, ♀; 11 – сердце, ♀; 12 – желудок, ♀; 13 – кишечник, ♀; 14 – головной мозг, ♀; 15 – яичник, ♀.

Не отличаются детёныши от взрослых особей и количественным составом отдельных групп фракций карбоксиэстераз. Так, в группах № 2 и 3 количество фракций варьирует соответственно от 1 до 3-х и от 1 до 4-х. И только в группе самых «быстрых» фракций, количество последних скорее ближе к таковому половозрелых самок (1–4), нежели самцов.

Таблиця 2

Характеристика изоформ карбоксиэстераз у крапчатого суслика натального и постнатального периодов по показателям экспрессивности ферментных фракций (*Od*)

Ткани, органы	Группы по <i>Rf</i>	Натальный период (<i>n</i> = 8) (<i>min</i> – <i>max</i>)	Постнатальный период (<i>n</i> = 12)		
			14 сутки (<i>min</i> – <i>max</i>)	21 сутки (<i>min</i> – <i>max</i>)	25 сутки (<i>min</i> – <i>max</i>)
Кровь	1		0,127 – 1,390 (1)	1,150 – 1,270 (1)	0,957 – 1,140 (1)
	2	–	0,330 – 0,479 (3)	0,205 – 0,425 (2)	–
	3		0,176 – 0,450 (2)	0,285 – 0,523 (3)	0,555 – 0,674 (1)
Печень	1	0,129 – 0,213 (1)	0,588 – 2,110 (4)	1,750 – 3,910 (3)	0,740 – 1,610 (5)
	2	0,222 – 0,304 (1)	0,315 – 0,796 (3)	0,543 – 3,070 (2)	–
	3	0,197 – 0,331 (3)	0,425 – 1,020 (2)	0,660 – 2,420 (2)	0,552 – 1,090 (1)
Сердце	1		0,208 (1)	0,236 – 0,406 (1)	0,369 – 0,533 (1)
	2	–	0,184 (1)	0,233 (1)	–
	3		0,284 – 0,379 (1)	0,272 – 0,504 (2)	0,336 (1)
Желудок	1		0,522 – 0,664 (1)	0,338 – 2,840 (3)	0,474 – 1,430 (2)
	2	–	0,188 (1)	0,223 – 0,460 (2)	–
	3		0,292 – 0,419 (1)	0,232 – 0,480 (2)	0,349 (1)
Кишечник	1		3,280 – 3,870 (1)	2,730 – 3,960 (2)	0,702 – 1,870 (1)
	2	–	0,209 – 0,381 (3)	0,234 – 1,200 (3)	–
	3		0,210 – 0,445 (4)	0,281 – 0,572 (3)	0,350 – 0,421 (1)
Головной мозг	1	0,156 – 0,172 (1)	–	–	–
	2	0,247 – 0,264 (1)	0,230 (1)	0,205 – 0,463 (2)	–
	3	0,238 – 0,271 (2)	0,280 – 0,435 (1)	0,247 – 0,416 (3)	0,292 – 0,378 (1)
Половые железы	1		–	–	–
	2	–	0,212 (1)	0,180 – 0,310 (2)	–
	3		0,277 – 0,398 (1)	0,269 – 0,378 (1)	0,303 – 0,362 (1)
Придаток семенника	1		–	–	–
	2	–	0,231 (1)	–	–
	3		0,274 – 0,415 (1)		0,305 (1)

Примечание: обозначения те же, что и в таблице 1.

Электрофоретический спектр фракций карбоксиэстераз наиболее разнообразен в печени и кишечнике (9 и 8 фракций соответственно). Несколько меньшее их число в крови – всего 6. Наименее разнообразный спектр карбоксиэстераз на этом этапе постнатального развития характерен для головного мозга, семенников и придатков семенников – здесь обнаружено всего лишь по 2 ферментные фракции.

У детёнышей на 14-е сутки развития наибольшие значения оптической плотности получены по фракциям крови (до 1,390), печени (до 2,110), желудка (до 0,664), кишечника (до 3,870) (рис. 2; табл. 2). Также, как и у взрослых особей, значения оптической плотности электрофоретических фракций эстераз головного мозга невелики и не превышают 0,435 единицы. В отличие от половозрелых самцов, у которых наибольшая экспрессивность ферментов наблюдается в тканях семенника и его придатка, в тех же органах детёнышей аналогичные показатели намного меньше и составляют 0,398 и 0,415 единицы, соответственно.

Таким образом, на стадии раннего постэмбрионального развития у суслика наибольшая экспрессия карбоксиэстераз, судя по оптической плотности электрофоретических фракций, установлена в крови, печени, желудке и кишечнике. Это может быть связано со вскармливанием детёнышей молоком, богатым жирами и требующим повышения активности карбоксиэстераз.

У детёнышей в возрасте 21-суток (перед открытием глаз), так же как и на предыдущем этапе (14-е сутки), в крови, печени, сердце, желудке, кишечнике установлено наличие трёх групп эстераз, представленных в соответствии с коэффициентом электрофоретической подвижности: первая группа (№ 1) – с диапазоном от 0,520 до 0,650; группа № 2 – с диапазоном от 0,270 до 0,460 и группа № 3 – с диапазоном от 0,034 до 0,220. Судя по электрофоретической подвижности фракций карбоксиэстераз из проб головного мозга и яичников, в этих органах обнаружены только две группы ферментов – вторая и третья.

В возрасте 21-х суток группу органов, характеризующуюся наибольшим числом фракций карбоксиэстераз (печень, кишечник), дополняет желудок. На этом этапе развития в его тканях насчитывается до 7-ми фракций эстераз. При этом их спектр в крови и сердце не изменяется. Существенно увеличивается (почти в 2,5 раза) число фракций в головном мозге – до 5-ти. Причину этого, видимо, следует искать в ускоренном завершении в этот период формирования органов чувств (прежде всего зрительного анализатора) [11]. Развитие половых органов ещё только начинается, что видимо, находит отражение в малочисленности фракций эстераз (3 формы).

Как и у детёнышей в возрасте 14-ти суток, в этот период развития наиболее высокая экспрессивность изучаемых ферментов в крови (до 1,270), печени (до 3,910), сердце (до 0,504), желудке (до 2,840) и кишечнике (до 3,960). В головном мозге и яичниках, судя по показателям оптической плотности, уро-

вень выраженности ферментов существенно не изменяется (до 0,416 и до 0,378 единицы, соответственно).

Однако следует отметить, что на 21-сутки в целом наблюдается увеличение экспрессии ферментов. В наибольшей степени это выражено в печени и кишечнике. Заметно увеличивается экспрессия карбоксиэстераз и в желудке. При этом показатели относительной электрофоретической подвижности (R_f) обнаруживаемых фракций ферментов остаются практически неизменными. На этом этапе постнатального развития экспрессия исследуемых ферментов, также как на 14-е сутки, остаётся более высокой, чем у большинства взрослых половозрелых особей.

У детёнышей на 25-е сутки развития (после открытия глаз) первую группу R_f составляют фракции карбоксиэстераз, выявляемые в диапазоне от 0,540 до 0,957 (рис. 2; табл. 1). В данной группе энзимный спектр представлен либо одной, либо пятью фракциями. Вторая R_f -группа у исследованных особей не обнаружена. Третью R_f -группу составляют ферменты, входящие в диапазон от 0,150 до 0,200. Спектр карбоксиэстераз в данной группе представлен во всех пробах только одной фракцией.

В отличие от половозрелых особей и детёнышей в возрасте 14-ти и 21-х суток в крови, печени, сердце, желудке и кишечнике у 25-суточных сусликов обнаружены только две R_f -группы: первая и третья. В половых железах и придатках семенников выявлена только третья R_f -группа. В головном мозге детёнышей в возрасте 25-ти суток также выявлена только третья R_f -группа, как и у половозрелых особей. На более ранних этапах развития (14-е и 21-е сутки) выявлены две R_f -группы (вторая и третья), а в головном мозге плода – следовые количества всех трёх групп.

Спектр карбоксиэстераз детёнышей в возрасте 25-ти суток наиболее разнообразен по количеству фракций в печени (6) и в желудке (3). По две фракции карбоксиэстераз были выявлены в крови, сердце и кишечнике. Одиночными фракциями карбоксиэстеразы представлены в головном мозге, половых железах и придатках семенников. В целом, следует отметить существенное сокращение числа фракций во всех исследуемых органах и тканях по сравнению с предыдущими периодами. Происходит это, прежде всего, за счёт отсутствия «среднеподвижных» фракций (R_f -группа № 2).

Как и в предшествующие периоды развития, у детёнышей в возрасте 25-ти суток экспрессивность фракций эстераз наибольших значений достигает в крови (до 1,140 единицы относительной оптической плотности), печени (до 1,610), сердце (до 0,533), желудке (до 1,430) и кишечнике (до 1,870). Однако максимальные значения выраженности ферментных фракций печени, желудка и кишечника в этот период сравнимы с показателями у суслиат 2-недельного возраста, но заметно меньше, чем у детёнышей на 21-е сутки постнатального развития. В головном мозге, половых железах и придатках семенников показатели оптической плотности, как

и у детёнышей других возрастных категорий, остаются невысокими: до 0,378, до 0,362 и 0,305 единицы, соответственно.

Следует отметить, что наиболее характерные изменения в экспрессии ферментов в ходе онтогенеза наблюдаются в пищеварительной и половой системах.

В пищеварительной системе активность карбоксиэстераз впервые отмечается в печени в плодном периоде. Это может быть обусловлено необходимостью расщепления липидных компонентов, поступающих с кровью самки в организм плода. После рождения, в ранний постнатальный период (на 14-е сутки), в печени выявлено повышение экспрессии карбоксиэстераз. Также высока экспрессия в крови и желудочно-кишечном тракте. По прошествии трёх недель (21-е сутки) происходит увеличение экспрессии исследуемых ферментов в печени и желудочно-кишечном тракте, которая оказывается значительно выше, чем у детёнышей 14-ти суток и половозрелых особей. Это связано с подготовкой организма к новому этапу индивидуального развития – открытию глаз и переходу от норного образа жизни к выходу на поверхность, что сопровождается активизацией обменных процессов. Причиной повышения экспрессии эстераз может быть и смена типа питания: «молочного» – в гнездовой период – на питание преимущественно растительной пищей. С момента открытия глаз (22 – 25 сутки постнатального развития) и до начала расселения сусликов у последних наблюдается увеличение подвижности, прорезываются нижние резцы и начинается постепенный переход к питанию пищей взрослых особей [5]. В этот период развития происходит замедление скорости увеличения как массы, так и длины тела [11], уменьшается число корреляционных связей между морфометрическими параметрами щитовидной железы суслика [8 – 10]. Такие процессы (раскоррелированность параметров, снижение скорости роста), как считает В. А. Межжерин с соавторами [17], предшествует физиологической перестройке (дифференцировке), которая при этом может быть осуществлена в кратчайшее время и требует от животного минимальных энергозатрат. Все это характеризует данный период в жизни сусликов как переходный. Именно в этот период (на 25 сутки) происходит и уменьшение экспрессии карбоксиэстераз на разных участках пищеварительной системы (печень, желудок, кишечник). Понижение роли эстераз в этот период проявляется и в уменьшении числа групп карбоксиэстераз в органах и тканях. Так, в отличие от половозрелых особей и детёнышей крапчатого суслика (возраст 14-е, 21-е сутки) в крови, печени, сердце, желудке и кишечнике сусликов в возрасте 25-ти суток обнаружены только две группы *Rf*: первая и третья, хотя, в следовых количествах присутствие трёх электрофоретических групп отмечалось даже в плодный (натальный) период развития.

В половой системе наблюдается обратная картина: уровень экспрессии ферментов, низкий на ранних этапах развития (поздний натальный и ранний постнатальный периоды), по достижению сусликами половозрелости существенно увеличивается

[3]. Поступательность в развитии роли эстераз в организме, если судить по числу групп электрофоретических фракций в половых органах, прерывается в возрасте 25-ти суток. На этом этапе в половых железах, придатках семенников обнаруживается только одна (третья) группа эстераз. В то же время, как на более ранних, так и на более поздних этапах развития сусликов их число несколько больше (2 и 3 соответственно).

Карбоксиэстеразы головного мозга, начиная с плодного периода и до достижения сусликами половозрелости, отличаются слабой экспрессивностью. Однако при этом, наиболее разнообразным электрофоретический спектр эстераз оказывается в натальный период. В дальнейшем он уменьшается по числу фракций, достигая минимума к 25 суткам. В головном мозге 25-суточных сусликов установлено присутствие только одной (третьей) группы изучаемых ферментов. Также одна группа отмечена на электрофореграммах проб головного мозга и у половозрелых особей.

Таким образом, на отдельных стадиях индивидуального развития у суслика крапчатого наблюдаются существенные изменения в системе карбоксиэстераз, отражающие специфику биохимических процессов, происходящих в различных органах и тканях. Это в свою очередь может быть связано с изменением уровня экспрессии соответствующих генов карбоксиэстераз в ходе онтогенеза изучаемого организма.

Выводы

1. Карбоксиэстеразы у крапчатого суслика представлены двумя группами ферментов: α -фильными и β -фильными, которые проявляются уже на поздних стадиях натального периода.
2. По коэффициенту относительной электрофоретической подвижности выявлено 3 группы карбоксиэстераз. Наиболее широко спектр карбоксиэстераз представлен в электрофоретически «быстрых» и «медленных» группах этих ферментов.
3. Число фракций эстераз изменяется в ходе натального и постнатального развития при переходе от одних условий существования организма к совершенно иным (внутриутробное развитие – развитие в гнезде – самостоятельное существование).

Список использованной литературы

1. Андрієвський О. М. Фізико-хімічні методи дослідження білків / О. М. Андрієвський. – Одеса: Вознесенська друкарня, 2003. – 39 с.
2. Андриевский А. М. Спектр тканевых карбоксиэстераз в онтогенезе суслика крапчатого (*Spermophilus suslicus* Guld.) / А. М. Андриевский, Ю. Н. Олейник, В. А. Кучеров, А. С. Асманская // Генетика в современном обществе. Конф., посвящ. 70-летию каф. генетики и цитологии Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина. г. Харьков, 14 – 15 октября 2004 г. – Харьков, 2004. – С. 12.

3. Андрієвський А. М. Молекулярные формы карбоксиэстераз органов и тканей суслика крапчатого *Spermophilus suslicus* (Guld.) в позднем постнатальном периоде онтогенеза / А. М. Андрієвський, Ю. Н. Олейник, А. С. Асманская // Вісник ОНУ. – 2012. – Т. 17. – Вип. 3 (28). – Сер. Біологія. – С. 7–18.
4. Аршавский И. А. Физиологические механизмы внутривидовой изменчивости онтогенетических процессов у млекопитающих / И. А. Аршавский // Внутривидовая изменчивость в онтогенезе животных. – М.: Наука, 1980. – С. 19–44.
5. Бажанов В. С. Вопросы эмбриогенеза и возрастная изменчивость большого суслика / В. С. Бажанов // Зоол. журн. – 1948. – Т. 27. – Вып. 6. – С. 547–554.
6. Варшавский С. Н. Экологические особенности популяции малого суслика (*Citellus pygmaeus*) в разные периоды жизни / С. Н. Варшавский, К. Т. Крылова // Зоол. журн. – 1939. – Т. 18. – Вып. 6. – С. 1026–1046.
7. Диксон М. Ферменты / М. Диксон, Э. Уэбб. – М: Мир, 1982. – Т. 3. – 1120 с.
8. Олійник Ю. М. Щитовидна залоза крапчатого ховраха (*Citellus suslicus* G.) в постнатальний період в різних умовах його існування / Ю. М. Олійник // Автореф. дис. канд. біол. наук. – Київ, 1995. – 21 с.
9. Олейник Ю. Н. Динамика корреляционных связей в щитовидной железе крапчатого суслика в постнатальный период / Ю. Н. Олейник // Териофауна России и сопредельных территорий (VII съезд Териол. об-ва). Матер. Междунар. совещ. 6–7 февраля 2003 г. – Москва, 2003. – С. 242.
10. Олейник Ю. Н. Структурная организация и развитие щитовидной железы крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Guld.) в раннем постнатальном периоде / Ю. Н. Олейник // Вісник ОНУ. – 2003. – Т. 8. – Вип. 1. – Сер. Біологія. – С. 139–144.
11. Олейник Ю. Н. Постнатальное развитие крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Guld.) / Ю. Н. Олейник, В. А. Лобков // Вісник ОНУ. – 2003. – Т. 8. – Вип. 6. – Сер. Біологія. – С. 131–137.
12. Поджарский М. А., Рыбалка Д. Г. АнаИС – Анализатор изображений спектров [Электронный ресурс] / Поджарский М. А., Рыбалка Д. Г. – 2004. Режим доступа до сайта: <http://anaispro.narod.ru/Index.htm>
13. Смирнов П. К. Постэмбриональный рост и развитие малой пищухи (*Ochotona pusilla* Pall.) / П. К. Смирнов // Вест. Ленингр. ун-та. – 1981. – № 9. – Вып. 2. – С. 17–22.
14. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). – М.: Наука, 1981. – 288 с.
15. Соколовская Л. Г. Семейство биосенсорных анализаторов для оценки «эстеразного статуса» организма / Л. Г. Соколовская, Л. В. Сиголаева, А. В. Ерёмченко, И. Н. Курочкин, Г. Ф. Махаева, В. В. Малыгин, И. Е. Зыкова, В. И. Холстов, Н. В. Завьялова, С. Д. Варфоломеев // Химич. и биологич. безопасность. – 2004. – № 1–2 (13–14). – С. 21–31.
16. Шмальгаузен И. И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. Избранные труды / И. И. Шмальгаузен. – М.: Наука, 1982. – С. 12–228.
17. Межжерин В. А. Комплексные подходы в изучении популяций мелких млекопитающих / В. А. Межжерин, И. Г. Емельянов, О. А. Михалевич. – Киев: Наукова думка, 1991. – 204 с.

Статья поступила в редакцию 25.05.13

О. М. Андрієвський¹, Ю. М. Олійник²

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,

¹ – кафедра генетики і молекулярної біології,

² – кафедра зоології;

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,

e-mail: andriev_scar@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНІ ФОРМИ КАРБОКСИЕСТЕРАЗ ОРГАНІВ І ТКАНИН ХОВРАХА КРАПЧАСТОГО *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) У ЕМБРІОНАЛЬНИЙ ТА РАННІЙ ПОСТНАТАЛЬНИЙ ПЕРІОД

Резюме

В ході проведення досліджень були отримані дані про розподіл груп карбоксиестераз в крові, печінці, серці, шлунку, кишечнику, щитовидній залозі, головному мозку, сім'янику (яєчнику), придатку сім'яника. Встановлена локалізація, характер прояву і видоспецифічність карбоксиестераз в окремих органах крапчастого ховраха в ембріональний та ранній постнатальний періоди розвитку.

Ключові слова: естерази, ембріональний розвиток, ранній постнатальний розвиток, *Spermophilus suslicus*.

A. M. Andrievskii¹, Yu. N. Oleinik²

Odesa National Mechnykov University,

¹ – Department of Genetics and Molecular Biology,

² – Department of Zoology;

2, Dvoryanskaya str., Odessa, 65082, Ukraine,

e-mail: andriev_scar@mail.ru

MOLECULAR FORMS OF CARBOXYLESTERASES OF THE ORGANS AND TISSUE OF GROUND SQUIRREL *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) IN THE EMBRYONIC AND A EARLY POSTNATAL PERIOD

Summary

There were obtained the information concerning distributing of carboxylesterases groups in blood, liver, heart, stomach, intestine, thyroid, cerebrum, testicle (ovary), appendage of testicle during the test researches conducting. Localization, the character of the display and species-specificity of carboxylesterases, was determined in the separate organs of pubertal individuals of the ground squirrel in embryonic and early postnatal development.

Key words: esterases, embryonic development, early postnatal development, *Spermophilus suslicus*.