

Л.И. Колесникова <sup>1</sup>, А.С. Попова <sup>2</sup>, Л.И. Крупицкая <sup>3</sup>, А.И. Синицкий <sup>3</sup>

## АКТИВНОСТЬ АМИНОЛЕВУЛИНАТСИНТАЗЫ (АЛК-СИНТАЗЫ) КОСТНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ЛИНИЙ АВГУСТ И ВИСТАР В ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ ПОСЛЕ ОСТРОЙ ПОСТНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

<sup>1</sup> Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (Иркутск)

<sup>2</sup> Городская клиническая больница № 6 (Челябинск)

<sup>3</sup> Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Новорожденных крысят линий Август и Вистар (по 20 на каждую группу эксперимента) подвергали острой постнатальной гипоксической гипоксии (смесь 95%-го азота и 5%-го кислорода). Определение активности аминолевулинатсинтазы (АЛК-синтазы) костного мозга и печени проводили в контроле, на 1-е и 3-и сутки жизни (в печени – только на 3-и сутки). Крысята разных линий различались по индивидуальной реакции организма на гипоксическое воздействие, что подтверждает ее генетическую преддетерминированность. Активности АЛК-синтазы в костном мозге и печени были реципрокными как в норме, так и после перенесенной гипоксии.

**Ключевые слова:** аминолевулинатсинтаза (АЛК-синтаза), гипоксия, новорожденные, крысы Август и Вистар

## ACTIVITY OF AMINOLEVULINATE SYNTHASE OF BONE MARROW AND LIVER OF NEWBORN AUGUST AND WISTAR RATS AFTER ACUTE POSTNATAL HYPOXIA

L.I. Kolesnikova <sup>1</sup>, A.S. Popova <sup>2</sup>, L.I. Krupitskaya <sup>3</sup>, A.I. Sinitskiy <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk

<sup>2</sup> Municipal Clinical Hospital N 6, Chelyabinsk

<sup>3</sup> South-Ural State Medical University, Chelyabinsk

Newborn Wistar and August rats (20 rats in each experimental group) were exposed to acute postnatal hypoxic hypoxia (by the mixture of 95% nitrogen and 5% oxygen). Determination of activity of aminolevulinate synthase (ALA-synthase) in bone marrow and liver were in control group, and on the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> days of life (in liver – only on the 3<sup>rd</sup> day). Infant rats of various lines differed by the response of an organism to hypoxic exposure that confirms its genetic predetermination. Activities of ALA-synthase in bone marrow and liver were reciprocal both in normal development and after hypoxia.

**Key words:** aminolevulinate synthase (ALA-synthase), hypoxia, newborn, August and Wistar rats

Основным регуляторным ферментом синтеза гема является аминолевулинатсинтаза (АЛК-синтаза). Активность АЛК-синтазы зависит от уровня эритропоэтина, ответственного за пролиферацию, дифференциацию и угнетение апоптоза в чувствительных к нему клетках кроветворной ткани [6]. В печени также основной детерминантой образования гема служит уровень АЛК-синтазы, повышение активности которой вызывают соединения, усиливающие работу митохондриальной системы окисления.

Некоторыми авторами показана разная экспрессия генома у двух разных линий крыс, которые различались по продолжительности жизни и способности генетических систем этих животных к адаптационным перестройкам. Обнаружено, что у непродолжительно живущих крыс линии Август снижение пролиферативной активности клеток, по сравнению с крысами Вистар, наблюдалось раньше. У одномесячных крыс Август скорость синтеза РНК была в 2,2 раза ниже таковой у крыс Вистар, а у трехмесячных – в 8 раз [1, 8].

**Цель исследования:** оценки изменений аминолевулинатсинтазы (АЛК-синтаза) костного мозга и печени в период новорожденности в норме и после перенесенной острой гипоксической гипоксии у различных линий лабораторных крыс – Август и Вистар.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использована модель ранней постнатальной гипоксии на крысятах двух линий Август и Вистар. Животных (по 20 в каждой экспериментальной группе) сразу после рождения помещали в камеру, содержащую 95 % азота и 5 % кислорода. Эта модель наиболее часто применяется в эксперименте [2, 9].

Животных выводили из эксперимента в соответствии с Хельсинкской декларацией. Активность АЛК-синтазы определяли по методу G. Kikuchi в модификации Y.C. Aoki et al. [8]. Активность данных ферментов определяли в костном мозге через 15–30 минут после рождения, на 1-е и 3-и сутки жизни; в печени – только на 3-и сутки после рождения, т. к. эритропоэтическая функция печени в норме выключается значительно раньше [4]. Параллельно определяли суточную продукцию эритроцитов [3].

Для анализа результатов использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0 (Statsoft Inc., США). Данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики и выражали в виде среднеарифметической (M) и ее стандартной ошибки (m). Оценку значимости различий осуществляли с помощью непараметрических критериев. Для определения различий в средних тенденциях использовали

U-критерий Манна – Уитни, рассчитанный для независимых выборок, когда число наблюдений невелико ( $n \leq 20$ ). Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Состояние эритропоэза в КМ представлено в таблице 1.

**Таблица 1**  
**Активность АЛК-синтазы костного мозга у крыс линий Август и Вистар в норме и после острой гипоксической гипоксии ( $M \pm m$ )**

Группа		Показатели	
		Возраст, сут.	АЛК-синтаза, мкмоль/л/с
Контроль	Август ( $n = 20$ )	0	3,86 ± 0,105
	Вистар ( $n = 20$ )		3,78 ± 0,093
	Август ( $n = 20$ )	1	3,51 ± 0,112
	Вистар ( $n = 20$ )		3,49 ± 0,089
	Август ( $n = 16$ )	3	2,99 ± 0,109
	Вистар ( $n = 16$ )		3,27 ± 0,084
Гипоксия	Август ( $n = 16$ )	1	1,80 ± 0,052*
	Вистар ( $n = 16$ )		1,81 ± 0,045*
	Август ( $n = 16$ )	3	0,96 ± 0,086*
	Вистар ( $n = 16$ )		0,91 ± 0,073*

Примечание. \* – статистически значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы при  $p < 0,05$ .

Перестройка эритропоэза у крысят связана с заменой циркулирующих эритроцитов. У животных линии Август суточная продукция статистически значимо постепенно нарастает. У животных линии Вистар этого не наблюдается. Параллельно постепенно снижается активность АЛК-синтазы КМ у обеих линий, что согласуется с данными С.Б. Назарова [6] об уменьшении интенсивности эритропоэза сразу после рождения и с литературными данными о снижении уровня эритропоэтина в первые трое суток практически в 5 раз [7]. У крысят линии Вистар падение активности фермента более выражено.

После перенесенной гипоксии суточная продукция эритроцитов у крыс обеих линий снижается в течение всего периода новорожденности, но в разной степени. У крыс линии Август она снижается в 1,3 раза, а у крыс линии Вистар – почти в 2 раза.

Острая гипоксия в этот период ассоциируется с резким снижением активности АЛК-синтазы. Актив-

ность АЛК-синтазы после перенесенной гипоксии у крыс обеих линий снижается в 4 раза.

Активность АЛК-синтазы печени представлена в таблице 2.

Активность АЛК-синтазы печени крыс линий Август и Вистар после перенесенной гипоксии снижается, однако не в одинаковой степени: у крыс Август активность всех ферментов снижается от 1,6 раза, а у крыс Вистар – всего в 1,2 раза.

Проведенные нами эксперименты подтверждают наличие генетической преддетерминированности к гипоксическому воздействию, а также реципрокные взаимоотношения по уровню активности АЛК-синтазы в КМ и печени как в норме, так и после перенесенной гипоксии.

**ЛИТЕРАТУРА  
REFERENCES**

1. Божков А.И., Климова Е.М. Эпигенетические механизмы формирования возраст-зависимых адаптационных проявлений // Генетика продолжительности жизни и старение: тез. докл. междунар. конф. – 2010. – С. 5–6.

Bozhkov A.I., Klimova E.M. Epigenetic mechanisms of formation of age-dependent adaptational manifestations // Genetika prodolzhitel'nosti zhizni i starenie. – 2010. – P. 5–6. (in Russian)

2. Гармашева Н.Л., Константинова Н.Н. Патфизиологические основы охраны внутриутробного развития человека. – М.: Медицина, 1985. – 159 с.

Garmysheva N.L., Konstantinova N.N. Pathophysiological basics of human prenatal development defense. – Moscow: Medicina, 1985. – 159 p.

3. Мосягина И. Эритроцитарное равновесие в норме и патологии. – М.: Медгиз, 1962. – 272 с.

Mosyagina I. Erythrocyte balance in normal and pathological conditions. – Moscow, 1962. – 272 p.

4. Назаров С.Б. Закономерности развития эритрона белых крыс в пренатальном и раннем постнатальном онтогенезе: автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 1995. – 35 с.

Nazarov S.B. Peculiarities of development of white rats' erythron in prenatal and early postnatal ontogenesis: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Moscow, 1995. – 35 p.

5. Aoki Y., Urata G., Wada O. et al. Measurement of delta-aminolevulinic acid synthetase activity in human erythroblasts // J. Clin. Invest. – 1974. – Vol. 53 (5). – P. 1326–1334.

6. Claustres M., Sultan C. Stimulatory effects of androgens on normal children's bone marrow in cul-

**Таблица 2**  
**Активность гемсинтезирующих ферментов печени у крыс линий Август и Вистар в норме и после острой гипоксической гипоксии ( $M \pm m$ )**

Показатели	Группа			
	Август		Вистар	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
АЛК-синтаза, нмоль/мг белка/мин	0,15 ± 0,007	0,09 ± 0,002*	0,24 ± 0,004	0,19 ± 0,009*

Примечание. \* – статистически значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы при  $p < 0,05$ .

ture: Effects on BFU-E, CFU-E, and uroporphyrinogen I synthase activity // *Hormone Res.* – 1964. – Vol. 23. – P. 91–98.

7. Kling P.J., Schmidt R.L., Roberts R.A., Widness J.A. Serum erythropoietin levels during infancy: associations with erythropoiesis // *J. Pediatr.* – 1996. – Vol. 128. – P. 791–796.

8. Serman A., Vlahović M., Serman L. et al. DNA methylation as a regulatory mechanism for gene expression in mammals // *Coll. Antropol.* – 2006. – Vol. 30 (3). – P. 665–671.

9. Speiser Z., Korczyn A.D., Teplitzky-Gitter S. Hyperactivity in rats following postnatal anoxia // *Behav. Brain Res.* – 1983. – Vol. 7 (3). – P. 379–382.

#### Сведения об авторах

**Колесникова Любовь Ильинична** – член-корреспондент РАН, директор Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

**Попова Алла Симоновна** – кандидат медицинских наук, заведующая отделением гинекологии № 2 Городской клинической больницы № 6 (454047, г. Челябинск, ул. Румянцева, 28; тел.: 8 (3517) 21-25-65; e-mail: biochem2009@yandex.ru)

**Крупницкая Людмила Ионовна** – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры биохимии Южно-Уральского государственного медицинского университета

**Синицкий Антон Иванович** – доктор медицинских наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета Южно-Уральского государственного медицинского университета

#### Information about the authors

**Kolesnikova Lyubov Iljinichna** – Corresponding Member of RAS, director of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel.: +7 (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

**Popova Alla Simonovna** – Candidate of Medical Sciences, Head of Gynecology Unit N 2 of Municipal Clinical Hospital N 6 (454047, Chelyabinsk, ul. Rumyansteva, 28; tel.: +7 (3517) 21-25-65; e-mail: biochem2009@yandex.ru)

**Krupitskaya Lyudmila Ionovna** – Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer of the Department of Biochemistry of South-Ural State Medical University

**Sinitskiy Anton Ivanovich** – Doctor of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Chemistry of Pharmaceutical Faculty of South-Ural State Medical University