

Л.И. Колесникова ¹, А.С. Попова ², Л.И. Крупицкая ³, А.И. Синицкий ³**АКТИВНОСТЬ АМИНОЛЕВУЛИНАТСИНТАЗЫ (АЛК-СИНТАЗЫ) КОСТНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ЛИНИЙ АВГУСТ И ВИСТАР В ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ ПОСЛЕ ОСТРОЙ ПОСТНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ**¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (Иркутск)² Городская клиническая больница № 6 (Челябинск)³ 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 аминотерминальной синтазы (АЛК-синтазы) костного мозга и печени проводили в контроле, на 1-е и 3-и сутки жизни (в печени – только на 3-и сутки). Крыс разных линий различали по индивидуальной реакции организма на гипоксическое воздействие, что подтверждает ее генетическую предопределенность. Активности АЛК-синтазы в костном мозге и печени были реципрокными как в норме, так и после перенесенной гипоксии.

Ключевые слова: аминотерминальная синтаза (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 HYPOXIAL.I. Kolesnikova ¹, A.S. Popova ², L.I. Krupitskaya ³, A.I. Sinitskiy ³¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk² Municipal Clinical Hospital N 6, Chelyabinsk³ 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 1st and 3rd days of life (in liver – only on the 3rd 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 аминотерминальная синтаза (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 аминотерминальной синтазы (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 крысах 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 (М) 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	$3,86 \pm 0,105$
	Вистар ($n = 20$)		$3,78 \pm 0,093$
	Август ($n = 20$)	1	$3,51 \pm 0,112$
	Вистар ($n = 20$)		$3,49 \pm 0,089$
	Август ($n = 16$)	3	$2,99 \pm 0,109$
	Вистар ($n = 16$)		$3,27 \pm 0,084$
Гипоксия	Август ($n = 16$)	1	$1,80 \pm 0,052^*$
	Вистар ($n = 16$)		$1,81 \pm 0,045^*$
	Август ($n = 16$)	3	$0,96 \pm 0,086^*$
	Вистар ($n = 16$)		$0,91 \pm 0,073^*$

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. Патофизиологические 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	$0,15 \pm 0,007$	$0,09 \pm 0,002^*$	$0,24 \pm 0,004$	$0,19 \pm 0,009^*$

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