

ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СПЕКТР ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
ТКАНЕЙ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ КАРЦИНОСАРКОМЫ УОКЕРА

А. В. НЕРҚАРАРЯՆ, Г. А. ПАНОСЯՆ

Изучался изоферментный спектр лактатдегидрогеназы в сердце, головном мозге и печени крыс при развитии карциносаркомы Уокера. Обнаружены дополнительные фракции в изоферментном спектре лактатдегидрогеназы печени. Общая активность фермента в печени увеличивается незначительно, в мозге наблюдается сначала уменьшение, а затем повышение ее и содержания Н-субъединиц. В сердце при развитии карциносаркомы повышается и общая активность фермента, и содержание Н-субъединиц. Обсуждаются возможные механизмы отмеченных изменений и их значение.

В процессе развития неопластического превращения происходят изменения активности и изоферментного состава ряда ферментов как в тканях, пораженных этим процессом, так и в отдаленных от них тканях.

Исследование изоферментного спектра лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови, опухоли и тканях опухоленосителей показало, что реакция организма на развитие злокачественного перерождения различна. В большинстве работ сообщается об увеличении синтеза М-субъединиц [1, 6, 8—10], наблюдается также повышение активности изофермента ЛДГ-3 [11, 14, 15] и увеличение синтеза Н-субъединиц [7, 13, 17].

Изменения в изоферментном составе и общей активности обнаруживаются не только при развитой злокачественной опухоли, но и в предопухолевой фазе. О существовании биохимических нарушений, опережающих гистологические изменения, сообщали при исследовании изоферментного спектра и общей активности ЛДГ в процессе развития карциномы желудка Оливер и др. и Вулламс и др. [12, 16], индукции канцерогеном опухоли молочной железы Зарецкая и др. и Терещенко и др. [2, 4].

Нами было установлено, что в процессе развития асцитной карциномы Эрлиха в печени подопытных мышей увеличивается относительное содержание Н-субъединиц и общая активность ЛДГ [3].

Данная работа посвящена исследованию изоферментного спектра ЛДГ тканей крыс при введении опухолевых клеток карциносаркомы Уокера.

Материал и методика. Опыты проводили на белых беспородных крысах массой 100—120 г. Штамм карциносаркомы Уокера получен из Института тонкой органической химии АН АрмССР. Опухоль перевивали внутримышечным введением в область задней конечности суспензии опухолевых клеток в физиологическом растворе. Для получения клеточной суспензии периферические участки опухоли, лишенные кровоснабжения и некроза, пропускали через ручной пресс из нержавеющей стали. Полученную массу разводили физиологическим раствором в отношении 1:2. Крысам вводили по 0,3 мл суспензии. Для поддержания опухоли и в опытах использовали 10-12-дневную опухоль.

Получение тканевых экстрактов, обладающих ЛДГ-активностью. электрофоретическое разделение ЛДГ, определение активности ее и процентного содержания изоферментов проводили методами, описанными ранее [3].

Результаты и обсуждение. При исследовании изоферментов спектра и общей активности ЛДГ в сердце, печени и головном мозге крыс при развитии карциносаркомы Уокера, как и при развитии асцитной карциномы Эрлиха, наибольшие изменения выявлены в печени (табл. 1).

Таблица 1
Общая активность ЛДГ и содержание Н-субъединиц в тканях крыс при развитии опухоли, %

Время	Сердце		Мозг		Печень	
	А	Н	А	Н	А	Н
Контроль	100	56,5	100	64,43	100	27,02
12 ч	139,89	54,25	78,35	61,04	108,7	+1,14
18 ч	131,38	65,67	87,34	56,57	109,42	41,39
20 ч	135,69	63,44	58,10	53,09	115,21	
II день	142,02	62,19	83,94	40,41	111,6	
III день	165,48	64,45	77,33	56,78	108	
IV день	166,27	61,32	82,57	62,63	110,87	32,36
V день	167,35	64,33	85,59	63,34	112,02	32,60
VII день	169,50	63,90	102,47	66,39	112,32	23,06
IX день	170,21	64,35	107,16	73,41	122,45	21,01

А—общая активность ЛДГ, Н—содержание Н-субъединиц

В головном мозге уже через 20 ч. после введения опухолевых клеток процентное содержание Н-субъединиц уменьшалось примерно на 11%, затем постепенно повышалось и на девятый день было на 9% выше нормы. Эти изменения коррелируют с изменением общей активности ЛДГ (табл. 2). В печени через 12 ч после введения клеток карциносаркомы Уокера содержание Н-субъединиц увеличивается примерно на 14%, а через 20 ч на электрофореграммах между ЛДГ-3 и ЛДГ-4 появляется новая полоса, не обнаруженная на электрофореграммах нормальной печени. На второй день две дополнительные фракции появляются между ЛДГ-1 и ЛДГ-2 и еще одна, с большим отрицательным зарядом, по сравнению с ЛДГ-1 (табл. 3, рис.).

Появление четырех дополнительных фракций может быть следствием появления Н-субъединицы нового типа, способной ассоциировать с М-субъединицей. Она может образоваться из нормальной Н-

Изоферментный спектр ЛДГ в головном мозге при развитии карциносаркомы Уокера, $M \pm m$

Время	H_4	H_3M_1	H_2M_2	H_1M_3	M_4
Контроль	30,36±2,6	24,48±1,07	24,64±1,02	13,55±0,98	6,97±0,87
12 ч	19,85±1,5	26,76±1,20	31,08±2,82	22,31±1,15	0
18 ч	27,05±1,1	35,29±1,96	28,58±1,40	7,30±0,57	1,78±0,23
20 ч	17,58±5,0	24,79±2,39	26,61±2,18	15,45±1,12	15,57±0,77
II день	25,66±1,6	24,72±1,02	21,33±2,41	22,18±2,16	6,11±1,03
III день	23,66±0,9	22,79±2,31	23,05±1,01	18,00±1,42	12,50±1,10
IV день	29,50±1,2	25,56±1,45	20,15±3,12	15,55±1,95	9,24±1,33
V день	29,85±1,7	23,48±0,94	22,95±1,45	17,61±2,21	6,11±0,82
VII день	29,21±2,1	26,66±1,19	25,61±1,37	18,52±1,55	0
IX день	39,78±1,8	26,97±1,07	20,36±2,60	12,89±1,13	0

Изоферментный спектр ЛДГ печени

Время	H_4 (I)	H_4	H_4 (II)	H_3M_1 (I)	H_3M_1
Контроль		1,98±0,22			7,6 ±1,03
12 ч		9,45±1,21			19,04±1,56
18 ч		1,87±0,45			22,64±1,18
20 ч		5,10±0,85			11,78±1,26
II день	1,19±0,26	6,89±1,02	3,47±0,6	3,25±0,7	11,78±1,21
III день	1,87±0,15	7,24±1,13	4,41±0,4	5,37±0,6	10,95±0,99
IV день		1,07±0,25			12,66±0,31
V день		2,91±0,33			12,66±1,41
VII день		0			10,00±1,65
IX день		1,44±0,11			5,06±0,47

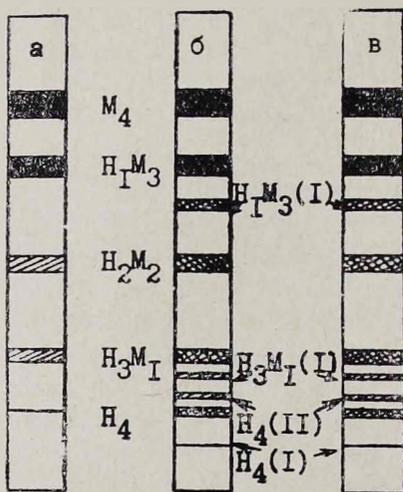


Рис. I

Рис. Изоферменты ЛДГ печени крыс: а—контроль, б, в—второй и третий дни развития опухоли соответственно, H_4 (I), H_4 (II), H_3M_1 (I) и H_1M_3 (I)—дополнительные фракции ЛДГ.

субъединицы под воздействием каких-то регулирующих факторов, либо синтезироваться de novo в присутствии тех же факторов. Подобные регулирующие факторы, способные нарушить работу генетического аппарата клетки, обнаружены в опухолевых клетках [5]. По-видимому,

такие факторы попадают в организм с опухолевыми клетками и вызывают изменения в предопухолевой фазе.

Исследование изоферментного спектра ЛДГ в сердце в процессе развития опухоли значительных изменений не выявило (табл. 4). Наблюдается некоторое увеличение содержания Н-субъединиц, повышение активности изоферментов ЛДГ-2 и ЛДГ-3. На девятый день исчезает ЛДГ-5. Повышается общая активность ЛДГ, причем прямо пропорционально времени развития опухоли (табл. 1).

Таким образом, эксперименты показали, что развитие карциносаркомы Уокера вызывает изменения в изоферментном спектре и общей активности ЛДГ в головном мозге, сердце и печени крыс опухоленосителей.

Показано, что наибольшие изменения происходят в изоферментном

Таблица 3

при развитии опухоли, $M \pm m$

H_2M_2	$H_1M_3(I)$	H_1M_3	M_4
20,55±1,19		36,27±1,89	33,60±2,16
18,29±1,22		33,07±1,73	20,15±1,34
27,13±2,31		36,60±2,12	11,76±0,97
21,87±1,26	21,75±1,17	15,68±1,14	23,82±1,25
16,72±1,26	18,49±1,25	17,75±2,57	20,36±1,97
18,23±1,15	12,07±1,11	16,99±1,45	22,87±1,63
12,74±2,04	13,97±1,39	33,32±3,26	36,14±4,15
22,77±2,25		35,22±3,51	26,44±2,26
12,34±2,49		37,54±2,98	40,12±4,33
14,97±1,43		33,15±2,17	45,38±4,28

Таблица 4

Изоферментный спектр ЛДГ в сердце при развитии опухоли, $M \pm m$

Время	H_4	H_3M_1	H_2M_2	H_1M_3	M_4
Контроль	23,8 ±1,25	26,00±1,43	23,40±1,12	17,90±1,63	8,9 ±0,78
12 ч	17,11±1,16	22,34±2,01	29,61±2,16	22,32±1,24	8,62±0,9
18 ч	26,18±1,45	32,32±3,37	22,72±1,98	15,56±1,09	3,22±0,2
20 ч	23,77±1,77	30,35±2,59	25,91±1,72	15,82±1,15	4,15±0,2
II день	22,64±1,53	28,46±2,38	28,26±1,75	16,30±1,02	4,34±0,5
III день	25,00±2,13	31,43±2,56	25,09±2,11	13,35±1,00	5,13±0,6
IV день	23,47±1,74	27,82±2,27	26,35±1,98	16,05±1,12	6,31±0,8
V день	24,89±1,65	30,72±2,49	25,49±1,32	16,63±1,51	2,27±0,3
VII день	21,32±2,01	31,91±3,35	29,47±2,16	16,05±2,28	1,25±0,1
IX день	23,20±1,69	29,80±2,76	28,0±1,89	18,80±2,17	0

спектре печени, где с первых дней развития опухоли увеличивается синтез Н-субъединиц и появляются дополнительные фракции.

На девятый день развития опухоли изоферментный спектр ЛДГ возвращается к нормальному, а общая активность ЛДГ в печени опухоленосителей выше, чем у здоровых крыс. Исследуя изоферментные спектры ЛДГ тканей животных, мы обнаружили, что наиболее резкие отклонения от нормы происходят в первые часы и дни после введения опухолевых клеток.

Аналогичные изменения были обнаружены нами в экспериментах с асцитной карциномой Эрлиха [3]. Подобная реакция печени в первые часы и дни после введения или начала развития опухоли может оказаться чрезвычайно важным диагностическим тестом для обнаружения начальных этапов развития опухолевого процесса.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 5.X 1979 г.

**ԱՌՆՏՆՆԵՐԻ ՀՅՈՒՄՎԱԾՔՆԵՐԻ ԼԱԿՏԱՏԻԵԶԻԴՐՈԳԵՆԱԶԻ
ԻԶՈՅԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԿԱԶՄԸ ՈՒՈԿԵՐԻ ԿԱՐՑԻՆՈՍԱՐԿՈՄԱՅԻ
ԶԱՐԴԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ**

Ա. Վ. ՆԵՐԿԱՐԱՐՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է լակտատդեհիդրոգենազի իզոֆերմենտային կազմը սրտում, գլխուղեղում և լյարդում Ուոլկերի կարցինոսարկոմայի զարգացման ընթացքում: Հայտնաբերվել են լրացուցիչ ֆրակցիաներ լյարդի լակտատդեհիդրոգենազի իզոֆերմենտային կազմում, որոնք երևան են դալիս ուռուցքային բջիջների ներարկումից 20 ժամ հետո և անհետանում են 4 օր հետո: Ֆերմենտի ընդհանուր ակտիվության փոփոխությունը լյարդում աննշան է: Ուղեղում դիտվել է սկզբում ընդհանուր ակտիվության և H- ենթամիավորի պարունակության նվազում, իսկ հետո՝ ավելացում: Սրտում, կարցինոսարկոմայի զարգացման ընթացքում, ֆերմենտի ընդհանուր ակտիվությունը և H- ենթամիավորի պարունակությունը ավելանում է: Քննվում են նշված փոփոխությունների առաջացման հնարավոր մեխանիզմները և նրանց նշանակությունը:

**LACTATE DEHYDROGENASE ISOENZYMES SPECTRUM OF RAT
TISSUES UNDER THE DEVELOPMENT OF WALKER
CARCINOSARCOMA**

A. V. NERKARARIAN, G. A. PANOSYAN

The isoenzyme spectrum of lactate dehydrogenase of heart, brain and liver under the development of Walker carcinosarcoma have been studied. The additional fractions in the isoenzyme spectrum of liver have been discovered. The total enzyme activity in liver increases insignificantly, in brain at first its decrease with following increase is observed, in heart it increases. Possible mechanisms of mentioned alterations and their significance are discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Голубев А. М., Чернухин А. А. *Вопр. онкол.*, 17, 18, 30, 1971.
2. Зарецкая И. С., Бойкова В. И., Терещенко И. П., Кизленко О. И. *Бюлл. экспер. биол. мед.*, 77, 12, 59, 1974.
3. Неркарарян А. В., Паносян Г. А. *Биолог. ж. Армения*, 32, 4, 337, 1979.

4. Терещенко И. П., Зарецкая Н. С., Шубина А. В., Бойкова В. Н. Вестн. Акад. мед. наук СССР, 3, 23, 1977.
5. Шапог В. С. Биохимические аспекты опухолевого роста. М., 1975.
6. Fottrell P. F., Spemman C. N., O'Dwyer E. M. Cancer Res. 34, 5, 979, 1974.
7. Henderson A. R., Dildar A., McKenzie D. Clin. Chem. 29, 11, 1466, 1974.
8. Hilf R., Rector W. D., Orlando R. A. Cancer (Phila), 37, 4, 1825, 1976.
9. Kaito I., Sato S., Ishii T. Leber Magen Darm. 6, 6, 335, 1976.
10. Massey W. H., Dannis D. L., Fletcher W. S. Amer. J. Surg. 122, 2, 209, 1971.
11. Nakamura T., Utsunomiya J., Hamaguchi E., Sakagishi Y. J. Jap. Soc. Cancer Ther. Engl. Abstr. 1, 1972, из РЖ Биологическая химия, 11, 11Ф1624, 1973.
12. Ollver J., Abdalla A. M. Brit. J. Urol. 43, 3, 321, 1971.
13. Rosada A., Morris H. P., Weinhouse S. Cancer Res. 29, 9, 1673, 1969.
14. Starkweather W. H., Schoch H. K. Biochim. Biophys. Acta 62, 440, 1962.
15. Van Gennip A. H., Tabak-Van Gorcum J. A., Tamnjan J. A. Clin. Chim. Acta 58, 1, 85, 1975.
16. Woollams R., Barratt P. J., Orwell R. L., Piper D. W. Digestion, 14, 1, 20, 1976
17. Yamaguchi I. Sapporo Med. J., 47, 4, 321, 1978.