

ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ НА ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СПЕКТР
ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ ПРИ
ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИИ

А. В. НЕРКАРАЯН, Г. А. ЦАНОСЯН

Исследовано действие различных доз актиномицина D, пуromицина и циклогексимида на изоферментный спектр лактатдегидрогеназы печени крыс и мышей при развитии карциносаркомы Уокера и асцитной карциномы Эрлиха.

Ингибиторы предотвращают изменения в изоферментном спектре ЛДГ, индуцируемые опухолевыми клетками. Предполагается наличие связи между наблюдаемыми изменениями и нарушением регуляции синтеза фермента de novo.

Ключевые слова: ингибиторы, изоферменты, лактатдегидрогеназа

Вопрос о биохимических нарушениях, возникающих в тканях, отдаленных от органов, пораженных неспластическим процессом, занимает особое место в проблеме ранней диагностики и при изучении механизмов возникновения опухоли. Нами при исследовании изоферментных спектров лактатдегидрогеназы (ЛДГ) различных тканей мышей и крыс в процессе развития опухоли были получены данные, указывающие на нарушение регуляции синтеза фермента в этих тканях [1, 2]. Было показано, что изменения в изоферментном спектре ЛДГ появляются уже в первые часы после введения опухолевых клеток. Подобный эффект вызывают лишь нативные опухолевые клетки или гомогенат печени.

С целью выяснения природы отмеченных выше изменений нами было исследовано действие некоторых ингибиторов на изоферментный спектр ЛДГ печени крыс и мышей после введения им опухолевых клеток.

Материал и методика. Опыты проводились на белых беспородных мышах массой 25—30 г и крысах массой 100—120 г. В работе были использованы препараты актиномицина D фирмы Reanal, пуromицина и циклогексимида фирмы Serva. Ингибиторы вводили дважды, за час до введения опухолевых клеток и за час до декапитации. Мышам вводили внутривенно различные концентрации пуromицина, циклогексимида и актиномицина D, а крысам—только раствор актиномицина D. Мышей забивали через 12 ч после введения опухолевых клеток, а крыс—через 24 часа. Перевивку опухолей, получение ЛДГ-активных тканевых экстрактов, электрофоретическое разделение изоферментов и определение активности ЛДГ проводили методами, описанными ранее [1, 2].

Результаты и обсуждение. Отмеченное ранее уменьшение величины отношения М:Н в печени мышей через 6—12 ч после введения кле-

ток асцитной карциномы Эрлиха с 20:1 в норме до 3:1 и появление дополнительных фракций в изоферментном спектре ЛДГ печени крыс через 20 ч после введения клеток карциносаркомы Уокера, возможно, связаны с изменениями, происходящими на уровне генома, и с последующим синтезом белка de novo. Для проверки справедливости этого предположения нами было исследовано действие на изоферментный спектр ЛДГ печени крыс и мышей таких ингибиторов транскрипции и трансляции, как актиномицин D, пурамицин и циклогексимид.

Введение мышам 70 мг/кг (35×2) пурамицина приводит к уменьшению изменений, вызываемых клетками асцитной карциномы Эрлиха, но не предотвращает их, тогда как доза 200 мг/кг полностью ингибирует действие опухолевых клеток (табл. 1).

Таблица 1

Действие пурамицина на изоферментный спектр ЛДГ печени мышей. М±m

	И ₁	И ₃ М ₁	И ₂ М ₂	И ₁ М ₃	М ₁	И, %
Н	0,93±0,1	1,77±0,3	5,61±0,9	11,12±1,1	80,57±2,2	7,8
О	6,08±0,5	12,35±1,5	17,36±0,7	28,20±1,8	36,01±1,5	31,1
П1	1,07±0,2	2,64±0,8	6,11±0,8	9,87±1,4	80,46±2,8	8,6
П1+О	1,18±0,1	8,79±0,6	17,39±1,1	28,08±0,7	44,56±0,7	23,5
П2	0,51±0,03	1,65±0,1	3,97±0,2	14,04±0,5	79,83±1,6	7,2
П2+О	0,12±0,01	0,80±0,1	5,89±0,4	16,05±1,3	77,14±2,5	7,7

Н—норма, О—введение опухолевых клеток, П—пурамицина, П+О—пурамицина и опухолевых клеток, П1 и П2—70 мг/кг и 200 мг/кг пурамицина соответственно.

Эффект циклогексимида также зависит от дозы. Малые дозы, 1 мг/кг, вызывают некоторое увеличение содержания И-субъединиц, изменение соотношения содержания М- и И-субъединиц. Увеличение дозы до 4,4 мг/кг приводит к частичному ингибированию действия опухолевых клеток. Обработка дозой 16 мг/кг полностью снимает этот эффект (табл. 2).

Таблица 2

Действие циклогексимида на изоферментный спектр ЛДГ печени мышей, М±m

	И ₁	И ₃ М ₁	И ₂ М ₂	И ₁ М ₃	М ₁	И, %
Ц1	0,20	2,70±0,5	8,60±0,8	30,90±1,0	57,60±1,4	14,3
Ц1+О	0	1,49±0,1	14,72±1,1	35,57±1,8	48,22±3,1	17,4
Ц2	1,09±0,1	3,73±0,4	5,65±0,8	9,82±1,6	79,71±3,3	9,2
Ц2+О	2,65±0,1	7,48±0,7	14,72±0,6	29,58±1,9	45,58±1,2	23,0
Ц3	0,27	0,92±0,1	4,75±0,3	15,02±1,5	79,04±1,7	7,1
Ц3+О	0,40	1,98±0,1	7,74±0,3	17,19±2,1	72,69±2,5	10,1

Ц—введение циклогексимида, Ц+О—циклогексимида и опухолевых клеток, Ц1, Ц2 и Ц3—1, 4,4 и 16 мг/кг циклогексимида соответственно.

Известно, что малые дозы (до 1 мг/кг) циклогексимида вызывают увеличение синтеза всех РНК печени крыс через 30—60 мин после введения [5, 6].

Не исключено, что наблюдаемый нами эффект (Ц1, табл. 2) связан со стимулирующим действием этой дозы.

Для исследования действия актиномицина D на печень мышей были использованы две дозы, 1,5 и 4 мг/кг. Введение в течение 12 ч по 0,3 мг/кг актиномицина D, всего 1,5 мг/кг (дозы, достаточной для подавления синтеза рибосомных РНК [4]), не снимало действия опухолевых клеток на печень мышей. Большая же доза ингибитора (4 мг/кг), полностью блокирующая синтез всех РНК, предотвращала изменения в изоферментном спектре ЛДГ печени, наблюдаемые после введения мышам опухолевых клеток (табл. 3).

Таблица 3

Действие актиномицина D на изоферментный спектр ЛДГ печени мышей, M±m

Изоферменты	AMD 1	AMD 1+O	AMD 2	AMD 2+O
H ₄	1,48±0,1	1,38±0,3	1,56±0,2	1,25±0,1
H ₃ M ₁	2,79±0,2	6,21±0,6	2,08±0,1	3,75±0,5
H ₂ M ₂	5,15±0,1	17,01±1,1	4,43±0,4	5,36±0,7
H ₁ M ₃	9,12±0,8	28,93±1,4	9,17±0,9	7,43±0,5
M ₄	81,46±2,6	46,47±1,2	82,76±1,1	82,21±1,7
H, %	8,4	21,8	7,6	7,9

AMD—введение актиномицина D, AMD+O—актиномицина D и опухолевых клеток, AMD1 и AMD2—1,5 мг/кг и 4 мг/кг актиномицина D соответственно.

При исследовании изоферментного спектра ЛДГ печени крыс в процессе развития карциносаркомы Уокера нами были обнаружены дополнительные фракции [2], появление которых через 20 ч после введения опухолевых клеток и в первые дни может быть связано либо с син-

Таблица 4

Действие актиномицина D на изоферментный спектр ЛДГ печени крыс, M±m

Изоферменты	H	O	AMD	AMD+O
H ₄ (I)		1,19±0,2		
H ₄ (II)	1,98±0,2	6,89±1,0	1,51±0,2	2,08±0,1
H ₃ M ₁ (I)		3,47±0,6		
H ₃ M ₁	7,60±1,0	3,25±0,7	8,31±0,9	7,64±1,3
H ₂ M ₂	20,55±1,2	11,78±1,2	17,12±1,3	17,37±1,5
H ₁ M ₃ (I)		16,72±1,2		
H ₁ M ₃	36,27±1,9	16,60±1,2	38,05±1,5	37,84±1,0
M ₄	33,60±2,2	19,60±2,6	35,01±1,8	35,07±1,2
H, %	27,0	20,36±1,9	25,6	26,0
		40,2		

H—норма, O—второй день после введения опухолевых клеток, AMD—30 мг/кг актиномицина D, AMD+O—актиномицину и опухолевые клетки.

тезом нового типа Н-субъединиц, индуцированного какими-то факторами, обнаруженными в опухолях [3], либо с конформационными изменениями нормальной Н-субъединицы, приводящими к изменению заряда молекулы, под действием тех же факторов. Все дополнительные фракции обнаруживаются на второй день. Исчезновение их после введения актиномицина D (табл. 4) указывает на индукцию опухолевыми клетками изменений на уровне генома.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что введение клеток асцитной карциномы Эрлиха и карциносаркомы Уокера вызывает нарушение генетической регуляции синтеза ЛДГ.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 22.VII 1980 г.

**ԻՆՀԻԲԻՏՈՐՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼՅԱՐԴԻ ԼԱԿՏԱՏԵԶԻԴՐՈԳԵՆԱԶԻ
ԻԶՈՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԿԱԶՄԻ ՎՐԱ՝ ՈՒՌՈՒՅՔԱԳՈՅԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՅՔՈՒՄ**

Ա. Վ. ՆԵՐԿԱՐԱՐՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են ակտինոմիցին D-ի, պուրոմիցինի և ցիկլոհեքսիմիդի տարբեր դոզաների ազդեցությունը առնետների և մկների լյարդի լակտատդեհիդրոգենազի (ԼԴՀ) իզոֆերմենտային կազմի վրա՝ Ուոկերի կարցինոսարկոմայի և էրլիխի աօցիտային կարցինոմայի դարգացման ընթացքում:

Ինհիբիտորները կանխում են ԼԴՀ-ի իզոֆերմենտային կազմի փոփոխությունները (H-ենթամիավորի քանակի ավելացում, լրացուցիչ ֆրակցիաների երևան գալը), որոնք ինդուկցում են ուռուցքային բջիջները:

Ուսումնասիրությունների արդյունքները հնարավորություն են տալիս ենթադրել դիտվող փոփոխությունների և ֆերմենտի de novo սինթեզի կարգավորման խախտման միջև կապի առկայություն:

THE EFFECT OF INHIBITORS ON LIVER LACTATEDEHYDROGENASE ISOENZYME PATTERN UNDER CARCINOGENESIS

A. V. NERKARARIAN, G. H. PANOSYAN

The effect of different doses of actinomycin D, puromycin and cycloheximide on isoenzyme pattern of lactatedehydrogenase (LDH) in mice and rats liver under development of Walker carcinosarcoma and Ehrlich ascites carcinoma has been investigated. The inhibitors prevent changes of LDH isoenzymes pattern (the increase of quantity of H-subunits, appearance of additional fractions) induced by tumor cells. The presence of connection between the observed changes and the breach of regulation of de novo enzyme synthesis has been assumed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Неркарян А. В., Паносян Г. А. Биолог. ж. Армении, 32, 4, 337, 1979.
2. Неркарян А. В., Паносян Г. А. Биолог. ж. Армении, 32, 11, 1098, 1979.
3. Шапог В. С. Биохимические аспекты опухолевого роста, М., 1975.
4. Шапог В. С., Алехина Р. П., Забойкин М. М., Лихтенштейн А. В. Вестн. АМН СССР, 3, 64, 1977.
5. Goldblatt P. J., Archer J., Eastwood C. Lab. Invest., 33, 2, 117, 1975.
6. Rizzo A. J., Webb T. S. Biochim. Biophys. Acta, 195, 106, 1969.