

ЭСТРАДИОЛОВАЯ ИНДУКЦИЯ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ НЕКОТОРЫХ ТКАНЕЙ КРОЛИКОВ

Э. С. ГЕВОРКЯН, Э. Г. САРКИСЯН, Г. А. ПАНОСЯН

Изучались активность и изоферментный спектр лактатдегидрогеназы матки, печени и головного мозга кролика при эстрадиоловой индукции. Разный уровень индукции лактатдегидрогеназы в этих тканях обусловлен разным содержанием в них гормончувствительной М-субъединицы. Фермент предложен в качестве маркерного белка в ткани-мишени под действием эстрадиола.

Ключевые слова: лактатдегидрогеназа, изоферменты, эстрадиоловая индукция.

Известно, что эстрогены вызывают значительные морфологические и функциональные изменения у самок, что в большей степени проявляется в узкоспецифической ткани-мишени—матке. Все многообразие протекающих в клетках матки процессов, контролирующихся эстрогенами, в конечном итоге приводит к стимулированию синтетических реакций, в результате которых происходит ускоренный, а в некоторых случаях специфический синтез РНК, белка и фосфолипида [8]. Вместе с тем, эстрогены оказывают влияние на биосинтетические процессы и в других тканях, в так называемых гормончувствительных тканях-мишенях, в частности, в головном мозге и печени животных. В литературе накопилось множество данных, свидетельствующих о повышении в этих тканях активности ряда ферментативных систем под действием эстрадиола и других эстрогенов [5, 9, 14, 16]. Сравнительный анализ эффектов эстрогенов на гормончувствительные (печень, головной мозг и др.) и гормонзависимые (матка и др.) ткани является необходимым для выяснения молекулярных механизмов их действия.

Имеющиеся в литературе данные в основном касаются индукции ряда ферментов под действием эстрадиола в различных тканях крыс [1, 7, 9, 13, 19, 20].

Настоящая работа посвящена выявлению индукции одного из ключевых ферментов гликолиза—лактатдегидрогеназы (1.1.1.27.) в матке, печени и головном мозге у кроликов с целью сравнения индуцибельности фермента в различных тканях, а также проверки возможности применения его в качестве маркерного белка действия эстрадиола в узкоспецифической ткани кроликов—матке.

Материал и методика. В работе использовали эстрадиол-дипропионат (Харьковское производственное объединение «Здоровье»), НАД, НАД-Н, актиномицин-Д (все фирмы «Реанал», ВНР), циклогексимид (фирмы «Сигма», США), комплект реактивов

для диск-электрофореза в полиакриламидном геле фирмы «Реанал» (ВНР).

Исследования проводили на половозрелых кроликах-самках трех пород (новозеландской, калифорнийской, советской шиншиллы). Эстрадиол-дипропионат вводили внутривенно в количестве 170 мкг на 1 кг массы животного. Актиномицин-D (1 мг на 1 кг массы) и циклогексимид (0,7 мг на 1 кг массы) вводили за час до инъекции гормона. Животных декапитировали через 4 ч после введения гормона, изолировали исследуемые ткани (матка, печень, головной мозг), матку очищали от жира и брызжейки, печень перфузировали, ткани промывали холодным физиологическим раствором. Печень и головной мозг гомогенизировали в 0,07 М Na-, К-фосфатном буфере, рН 8,0 (соответственно в 10-ти и 3-кратном объемах) в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. Матку гомогенизировали в 3-кратном объеме того же буфера в стеклянном гомогенизаторе с плотно притертым стеклянным пестиком. Гомогенаты тканей центрифугировали при $20000 \times g$, 30 мин. В надосадочной жидкости определяли активность и изоферментный спектр лактатдегидрогеназы. Активность фермента определяли спектрофотометрически [3], электрофорез проводили по Девису и Орнштейну [10], изоферменты лактатдегидрогеназы выявляли по методу, предложенному в работе Дитца и Лубрано [11]. Белок определяли по методу Лоури и др. [15]. В экспериментах *in vitro* исследуемые ткани инкубировали при 4° с гормоном в концентрации, равной концентрации эстрадиола при введении *in vivo*. Результаты экспериментов обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены результаты экспериментов по изменению активности в тканях кроликов при введении

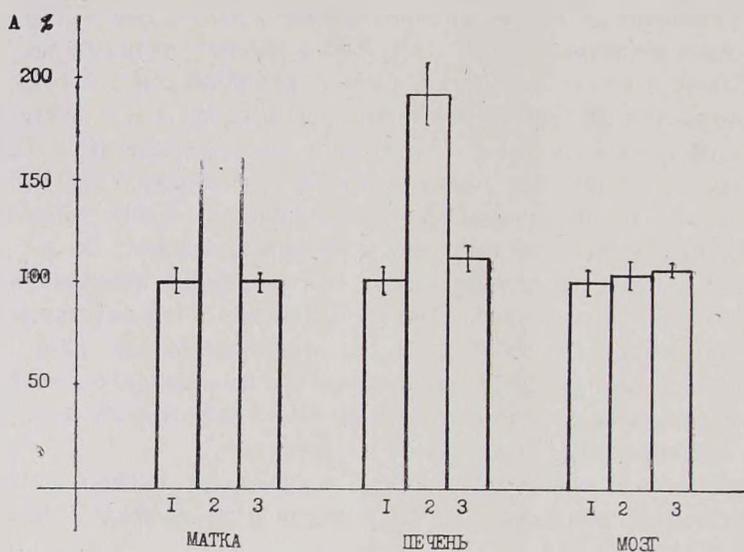


Рис. 1. Активность лактатдегидрогеназы в гомогенатах трех тканей кроликов в контроле—1, при введении в организм животных эстрадиола—2 и при *in vitro* влиянии гормона—3. На оси ординат—активность фермента, выраженная в процентах: за 100% взята активность фермента в контроле.

эстрадиол-дипропионата. Опыты показали, что тотальная активность лактатдегидрогеназы в клетках матки и печени достоверно повышается на 60 и 80% соответственно, в то время как активность фермента в головном мозге не изменяется. Поскольку все три ткани являются мишенями для эстрадиола, отсутствие изменения в активности лактатдегидро-

геназы головного мозга кроликов в ответ на введение гормона. видимо, обусловлено свойствами и составом самого фермента, а точнее, нечувствительностью II-субъединиц фермента к эстрадиолу, о чем свидетельствует и ряд литературных данных. Так, в работах некоторых авторов [5, 6, 12, 18] показано, что как эстрадиол, так и другие стероиды при воздействии *in vivo* вызывают изменение тотальной активности лактатдегидрогеназы, влияя в основном на содержание М-субъединиц фермента. Этим объясняется высокая чувствительность к гормональным воздействиям изоферментов лактатдегидрогеназы, содержащих в большом количестве М-субъединицу (ЛДГ-4, ЛДГ-5). Аналогичные результаты были получены и нами ранее при исследовании влияния гидрокортизона и эстрадиола на активность фермента в сердце и головном мозге у крыс [1, 2]. Было показано, что гидрокортизон и эстрадиол вызывают незначительные изменения активности фермента в этих тканях, так как содержание М-субъединиц в них несравнимо мало. Большая чувствительность М-субъединиц показана также при патологических состояниях, связанных с гипоксией (хроническая гипоксия, острая ишемия конечностей, инфаркт миокарда и др.), когда в основном изменяется активность изоферментов М-типа [4].

На рис. 1 приведены также результаты опытов по *in vitro* влиянию эстрадиола на тотальную активность лактатдегидрогеназы в трех тканях. Показано, что гормон при непосредственном воздействии не приводит к изменению активности лактатдегидрогеназы. Отсутствие активирующего действия его *in vitro* предполагает возможность индуцированного эстрадиолом синтеза фермента в двух тканях у кроликов, тем более что аналогичное явление имеет место в тканях у крыс [17]. Для подтверждения данного предположения были поставлены эксперименты с использованием ингибиторов синтеза белка актиномицина-Д и циклогексимида, результаты которых приведены на рис. 2. Опыты показали, что оба ингибитора синтеза белка полностью снимают активирующее влияние гормона, что свидетельствует об истинной индукции лактатдегидрогеназы эстрадиол-дипропионатом. Индукция фермента в клетках печени и матки кроликов и нечувствительность фермента к эстрадиол-дипропионату в клетках головного мозга свидетельствуют о том, что гормон, по-видимому, приводит к активированию тех участков генома, которые ответственны за синтез М-субъединиц фермента. Об индукции М-субъединиц свидетельствует также изоферментный спектр лактатдегидрогеназы трех тканей при воздействии гормоном (рис. 3). Выявлено, что при воздействии гормона резко повышается интенсивность изоферментов М-типа (ЛДГ-4, ЛДГ-5), активность остальных изоферментов также меняется в зависимости от содержания М-субъединиц в них. Эти данные хорошо согласуются с результатами работ, где четко доказано, что эстрогены индуцируют лактатдегидрогеназу ряда тканей крыс и при этом резко снижают отношение II/M, которое является специфическим параметром ЛДГ для данной ткани и функциональным показателем гормонального воздействия [17].

Таким образом, лактатдегидрогеназа печени и матки кроликов индуцируется эстрадиол-дипропионатом, причем индуцируется М-субъединица фермента. Несколько больший уровень индукции фермента в

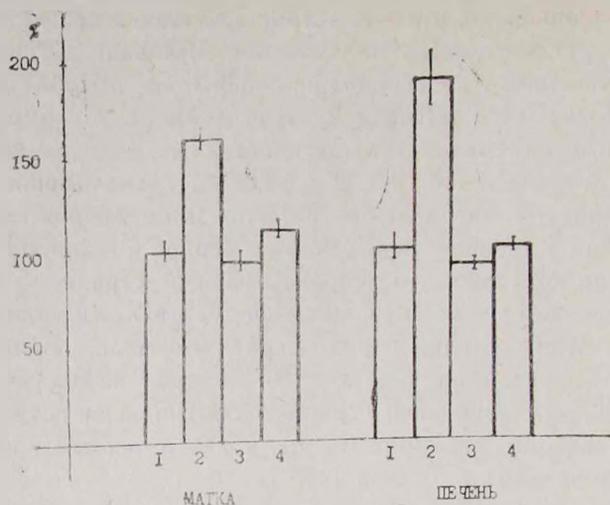


Рис. 2. Действие ингибиторов синтеза белка на повышение лактатдегидрогеназной активности в матке и печени кроликов, вызванное введенным в организм животных эстрадиолом. 1—контроль, 2—введение эстрадиола, 3—эстрадиол+актиномицин-Д, 4—эстрадиол+циклогексимид.

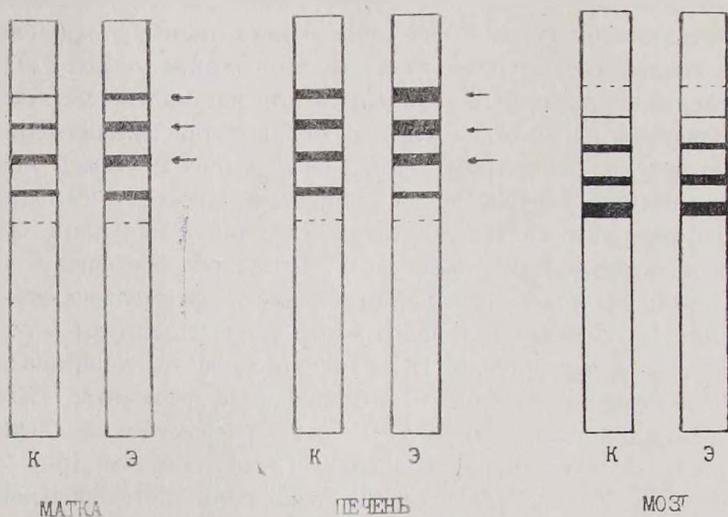


Рис. 3. Электрофореграммы изоферментов лактатдегидрогеназы в трех тканях кроликов в контроле (К) и при введении эстрадиола (Э). Стрелками показаны изоферменты, чувствительные к эстрадиолу.

печени по сравнению с индукцией в клетках матки объясняется большим содержанием М-субъединиц в клетках печени. Нечувствительность фермента головного мозга к эстрадиолу свидетельствует о нечувствительности Н-субъединиц фермента, имеющихся в большом количестве

в клетках мозга. Лактатдегидрогеназа может служить удобным маркерным белком, определяющим действие эстрадиола в узкоспецифической ткани-мишени - матке кролика.

Ереванский государственный университет,
кафедра Биохимии

Поступило 14.IV 1981 г.

ՀԱՂԱՐԻ ՈՐՈՇ ՀԵՏԵՐՈՂՈՒԹՅՈՒՆԻ ԼԱԿՏԱԴԵԿԵՆՏԻԴՐՈԳԵՆԱԶԻ
ԷՍՏՐԱԴԻՈՂԱՅԻՆ ԻՆԴՈՒՅԻՆՆ

Է. Ս. ԳՅՈՐԳՅԱՆ, Բ. Պ. ԲԱՐՅԱՆ, Գ. Ն. ԲԱՆՈՍՅԱՆ

Ձագարի արգանդում, լյարդում և դիտուղեղում հետա-որոշվել են լակտատ-դեհիդրոգենազի ակտիվությունը և իզոֆերմենտները կա մշ էստրադիոլի սպեցիֆիկ ազդեցության գնահատման նպատակով: Երգանդի և լյարդի բջիղներում հայտնաբերվել է ֆերմենտի հորմոնալ ինդուկցիա, որը մեծությամբ պայմանավորված է այդ հյուսվածքներում ֆերմենտի էստրոգենի նկատմամբ դրայուն M-սուբյւնիտի բանաչափ կախյալ իզոֆերմենտաչափ առաջարկված է որպես թյուրա-հյուսվածքում հորմոնի սպեցիֆիկ ինդուկցիայի պայմանավորող մարկերային սել-տակոց:

ESTRADIOL INDUCTION OF LACTATE DEHYDROGENASE
IN VARIOUS TISSUES OF RABBIT

E. S. GYORGYAN, B. Q. BARYAN, G. N. PANOSYAN

The activity of lactate dehydrogenase and its isozymes were studied in rabbit uterus, liver and brain under estrogen action. The observed different level of lactate dehydrogenase induction considered to be due to various quantities of hormone-sensitive M-subunit. Lactate dehydrogenase is suggested to be a marker enzyme in target-tissue during estrogen action.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Գյօրգյան Ե. Ս., Բարյան Բ. Պ., Բանոսյան Գ. Ն. Журн. exper. и клин. мед., 27, 3, 27, 1977.
2. Գյօրգյան Ե. Ս., Կարոյան Զ. Վ., Բանոսյան Գ. Ն. Биолог. ж. Армении, 30, 5, 23, 1977.
3. Կուշերա Գ. Ա. Практическое руководство по энзимологии, М., 1971.
4. Маркелов И. М. II Всесоюз. биохим. съезд., тез. секц. сообщ., 9-ая секция, 27, Ташкент, 1969.
5. Цако Л. Н., Усатенко М. С. Биохимия, 38, 1, 156, 1973.
6. Anta E., Nagy J., Baranyai P., Kerec A. Endokrin. 67, 3, 267, 1976.
7. Baquer N. Z., McLean P. Blood Bioph. Res. Comm., 48, 4, 729, 1972.
8. Biology of the Uterus, Edited by Wynn R. M., Plenum Press, New-York—London 1977.
9. Dahn C. H. Jr., Jellines S., Winesawa J., Rao P. S. Biol. Reprod., 17, 734, 1978
10. Davis B. J., Annals N. Y. Acad. Sci., 121, 404, 1964.
11. Dielz A. A., Lubrano T. Anal. Biochem., 20, 246, 1967.
12. Corshbein L. L., Rutkoff K. G. Enzyme, 23, (4), 1978.

13. *Giri K. V., Singh S. N.* *Experientia*, 34, 10, 1270 1978.
14. *Lax E. R., Kreuzfelder E., Ghraf R., Schriefers H.* *Acta Endocrin.*, 87, 41, 1978.
15. *Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J.* *Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
16. *Moudgil V. K., Kanungo M. S.* *Bioch. Bioph. Res. Comm.*, 52, 23, 725, 1973.
17. *Nagy J., Hirka G., Kurez M., Anda E., Baranyal P.* *Endokrin.*, 71, 1, 1, 1978.
18. *Oaknin S., Alonso R., Prieto L., Mas M.* *Neuroendocrin.*, 28, 196, 1979.
19. *Scott D. B. M., Lisi A. G.* *Biochem. J.*, 77, 1, 52, 1960.
20. *Singhal L. R., Valadares J. R. E., Ling G. M. J.* *Biol. Chem.*, 242, 11, 2593, 1967