

THE EFFECT OF THE ANTIFERTILITY AGENT, GOSSYPOL,  
ON LACTATE DEHYDROGENASE ISOZYMES IN MALE RAT

BY

CHANASORN MANAVANICH (B.Sc. in CHEMISTRY)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE

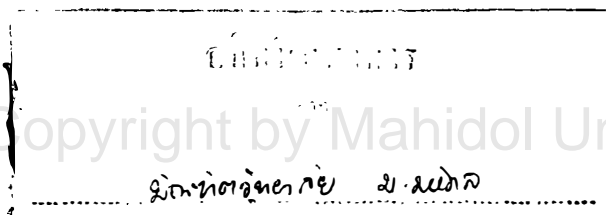
IN

BIOCHEMISTRY

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1985



### Abstract

The effect of the polyphenolic male antifertility agent, gossypol, has been studied on rat lactate dehydrogenase (LDH) isozymes in vitro and in vivo. Since the degree of inhibition in vitro depended on the time of exposure of purified isozymes to gossypol, experiments were carried out with and without preincubation. Kinetic studies carried out without preincubation showed that using pyruvate as substrate, gossypol inhibition was of the mixed-type with all isozymes, LDH-A<sub>4</sub>, LDH-B<sub>4</sub> and LDH-C<sub>4</sub>. With lactate as substrate, the inhibition was of non-competitive for LDH-C<sub>4</sub> and mixed-type for the other two isozymes. When isozymes and gossypol were incubated for 30 min before assay, much lower concentration of gossypol was required for inhibition. For  $\alpha$ -keto acid substrates, with pyruvate as substrate LDH-A<sub>4</sub> was more sensitive to gossypol than the other two isozymes, but with  $\alpha$ -ketobutyrate LDH-B<sub>4</sub> and LDH-C<sub>4</sub> were slightly more inhibited than LDH-A<sub>4</sub>. For  $\alpha$ -hydroxy acid reactions, LDH-C<sub>4</sub> was the most sensitive to gossypol with lactate as substrate compared to the other two isozymes and compared to the other two  $\alpha$ -hydroxy acids. With 7 different substrates, LDH-C<sub>4</sub> with lactate reaction was the most sensitive to gossypol.

In vivo studies were carried out involving treatment of male rats with 25 mg gossypol/kg/day for 75 days or 20 mg gossypol/kg/day for 100 days. In general, the LDH activity was decreased in heart tissues, but unchanged in testis and liver. But in some cases, changes in relative distribution of isozymes in heart and testis tissues could be detected by gel electrophoresis.

## บทคัดย่อ

ผลของสารต้านปฏิสนธิชาย, ก๊อชชีพอล, ต่อ LDH ในหนู ได้มีการศึกษาใน *in vitro* และ *in vivo* *In vitro*, degree ของการยับยั้งขึ้นกับเวลาในการอยู่ร่วมกันของ isozymes กับก๊อชชีพอล จึงมีการทดลองโดยมีและไม่มี preincubation การศึกษาทาง kinetic โดยไม่มี preincubation มี pyruvate เป็น substrate พบว่าการยับยั้ง isozymes ทุกตัว (LDH-A<sub>4</sub>, -B<sub>4</sub> และ -C<sub>4</sub>) เป็นแบบ mixed-type สำหรับปฏิกิริยาที่มี lactate เป็น substrate การยับยั้ง LDH-C<sub>4</sub> เป็นแบบ competitive และเป็นแบบ mixed-type สำหรับ LDH-A<sub>4</sub> และ LDH-B<sub>4</sub> เมื่อ preincubate isozyme กับก๊อชชีพอล 30 นาที ก่อน assay พบว่าใช้ปริมาณก๊อชชีพอลน้อยมากในการยับยั้ง สำหรับ  $\alpha$ -keto acid substrate, เมื่อใช้ pyruvate เป็น substrate LDH-A<sub>4</sub> ไวต่อก๊อชชีพอลมากกว่า LDH-C<sub>4</sub> และ LDH-B<sub>4</sub> สำหรับ  $\alpha$ -ketobutyrate LDH-B<sub>4</sub> และ LDH-C<sub>4</sub> ถูกยับยั้งมากกว่า LDH-A<sub>4</sub> เมื่อ lactate เป็น substrate, LDH-C<sub>4</sub> ถูกยับยั้งมากที่สุด สำหรับปฏิกิริยากับ substrate ทั้ง 7 ชนิด, ปฏิกิริยากับ lactate ไวต่อก๊อชชีพอลมากที่สุด

การศึกษาทาง *in vivo* โดยการเลี้ยงหนูด้วยก๊อชชีพอล โดยทั่วไปพบว่า LDH activity ลดลงใน heart tissue แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใน testis และ liver แต่ในบางกรณีพบการเปลี่ยนแปลงในสัดส่วนของ isozymes ใน heart และ testis tissue จากการทำ gel electrophoresis.