

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Intézet, Anatómiai és Műtéttani Tanszék (vezető: dr. Maros Tibor egyetemi tanár, docens-doktor, az Orvostudományi Akadémia levelező tagja), Víruskutató Laboratórium: Gyógyszertani Tanszék (vezető: dr. Feszt György egyetemi tanár, az orvostudományok doktora); Marosvásárhelyi Pedagógiai Intézet, Szeretlen Kémiai Tanszék (vezető: Kiss István, lektor)

A HISZTONOK TIOL-DISZULFID CSOPORTJAINAK SZEREPE AZ ENZIMINDUKCIÓBAN

I. Egérmáj hiszton SH/öSH arányának változása etil-fenil-barbiturát adagolás hatására

Blazsek V. A., dr. Feszt Gy., Kiss I.

A kísérleti állatok májsejtjeiben bizonyos gyógyszerek adagolása után a gyógyszerek anyagcseréjében résztvevő mikroszóma enzimek aktivitásának fokozódása (indukálása) figyelhető meg (1, 2). Habár az enzimindukció kutatása évek óta az érdeklődés középpontjában áll, ennek mechanizmusa — különösen az emlősök sejtjeiben — ma is nyitott kérdés. Mai ismereteink alapján az enzimindukció mechanizmusának három típusát tételezhetjük fel (1). Elképzelhető, hogy az induktor molekula a génműködés végtermékével — az enzimmal — lép kölcsönhatásba. Az így kialakuló *induktor-enzim komplex* nem teszi már lehetővé az enzimmolekula lebontását, vagy pedig kivédi az enzimszintézis feed-back gátlását. A második lehetőség szerint az enziminduktor úgy is növelheti az enzim aktivitását, hogy közvetlenül reagál a regulátorgén, esetleg az operátorgén DNS-molekuláival. Az említett gének működésének megzavarása elkerülhetetlenül a represszor hatás megszűnéséhez, vagyis a strukturgén működésének fokozódásához, a fajlagos m-RNS szintézis növeléséhez vezet. Végül, arra is gondolhatunk, hogy az induktor molekula közvetlenül reagál a regulátorgén által termelt represszorról (18), esetleg más, általános represszorról is, mint pl. a hisztonokkal.

Az újabb molekuláris genetikai kutatások eredményei arra utalnak, hogy a génaktivitást szabályozó represszor anyagok szerepét — magassabbrendű szervezeteknél — a hisztonok is betölthetik. Ismeretes, hogy ezekkel a bázikus fehérjékkel az m-RNS bioszintézist gátolni lehet (3). Az is kimutatható, hogy a hisztonok acetilálásának (4), metilezésének (5), foszforilálásának (6), illetve oxidálásának (7, 8) mértéke és a megfelelő sejtekben megfigyelt anyagcsere változások között kapcsolat van. Úgy látszik tehát, hogy a hisztonok génszabályozó szerepe molekulájuk szerkezetének megváltozásával valósulhat meg.

Egyik ilyen szabályozási mód a hisztonok tiol diszulfid csoportjai arányának változása lehetne. A cisztein jelenléte egyik hiszton frakcióban (F3-hiszton), ahogyan ezt már évekkal ezelőtt kimutattuk (9), és az a tény, hogy a tiol csoportoknak különleges biológiai jelentősége van, valóban lehetőséget nyújt egy strukturális (konformációs) változáson alapuló génregulációra. Ezt a feltételezést egész sor megfigyelés támasztja alá, amint ez a következőkből kiderül. A hisztonok ciszteintartalma fajspecifikus

(10). Az inter-, ill. metafázisban lévő sejtek hiszton tiol diszulfid aránya jelentős különbséget mutat (8). Regenerálódó (11) vagy pedig kortizonnal stimulált (12) májsejtekben a hisztonok tioltartalma nő. Az F3-hiszton diszulfid (oxidált) formájának sokkal kifejezettebb a DNS matrica (temp-lát) aktivitását gátló hatása, mint a redukált (tiol) hisztoné (13). A megtermékenyített éti sün (*Echinus esculentus*) csírarsejtek osztódásának első óráiban a sejtmagok savban oldódó fehérjeinek tioltartalma szintén nő (14). Az etionin okozta pankreász degenerációnál viszont a hisztonok összes-tioltartalma csökken (15). A hiszton-tiol mennyiségének fokozódása a fitohemagglutininnal stimulált limfocitákban is észlelhető (16).

A barbitursav származékok — így az 5-fenil-5-etil-barbitursav (PB) is — igen kifejezett enziminduktorok (1. 2). Bár a PB enzimindukáló hatását intenzíven kutatják, ennek pontos mechanizmusa még nem ismertes. Miután a PB adagolásnak kimutatható befolyása van nemcsak a hisztonok anyagcseréjére (17), hanem a DNS és a hisztonok közti molekuláris kapcsolatra is (17), feltételeztük, hogy a PB elsődleges hatása az átírás (transzkripció) szintjén nyilvánul meg, vagyis a PB a génaktivitást közvetlenül befolyásolja. Egyáltalán nem ismeretes a hisztonok redox állapotának szerepe a génregulációban, de amint azt láttuk, több kísérlet eredménye mellett szól, hogy egyrészt a fehérje-bioszintézis fokozódása és a hisztonok redukált állapota (SH $\bar{\text{o}}$ SH nő) összefüggésben van egymással; másrészt ezeknek a fehérjéknek oxidált állapota (SH $\bar{\text{o}}$ SH csökken) és a génműködés gátlása szintén együtt jelentkeznek.

Ennek alapján mi megvizsgáltuk: vajon a PB-adagolás — fehérjék bioszintézisét fokozó anyag — befolyásolja-e a PB-vel kezelt egerek májából kivont hisztonok SH $\bar{\text{o}}$ SH arányát a kezeletlenekéhez viszonyítva? Egy ilyen összefüggés feltárása lényeges hozzájárulást jelenthet az enzimindukció, ill. a PB hatás molekuláris alapjainak tisztázásához.

A kísérleteinkhez him. 24—25 gr-os, normál táplálékon tartott fehérgegeket használtunk. A májak eltávolításához az egereket reggel 8—10 óra között dekapitalással öltük meg, majd a májakat 3 percen belül —60 C°-ra hűtöttük le. A sejtmagokat 0,44 M-os szacharoz (pH 5.0) oldatban izoláltuk (20). Az így nyert sejtmagokból először az össz-hisztonot vontuk ki, majd az F1-hisztont 5%-os triklórecetsav koncentrációnál távolítottuk el (18). Az F2 és F3 hisztonokat tartalmazó kivonatban az SH-, ill. SS-csoportok mennyiségét egy előzőleg már leírt eljárással határoztuk meg (18. 19).

Naponta egyszer adagolt (100 mg kg, i. p.) PB 96 óra múlva 50%-os — statisztikailag szignifikáns — SH-tartalom növekedést idézett elő a hiszton kivonatban. Hasonló körülmények között, fiziológiás oldat hatására az SH tartalomban változást nem észleltünk (1. táblázat). Az SH $\bar{\text{o}}$ SH hányados értékének növekedése arra utal, hogy a hiszton-SS csoportok redukciója az enzim-induktor adagolás negyedik napján válik kifejezetté.

A PB indukáló hatás korán, már 3 óra múlva kimutatható (22), de a máj mikroszoma enzimek aktivitása 72—96 óra múlva lesz maximális (1). A mikroszoma fehérjék össz mennyisége is lassan nő, szintén 96 óra után éri el a csúcsertékét (21). Az általunk észlelt hiszton-tioltartalom növekedési üteme az előbbiekhöz hasonló képet mutat, a kifejezett változás a késői szakaszra esik.

Az indukált enzim-bioszintézis 72—96 órás növekedési maximumával szemben az RNS-bioszintézise 24 óra alatt eléri legnagyobb értékét (22). A hiszton-tioltartalom fokozódása, a hisztonok redox állapotának

1. táblázat

Kísérlet	n	Kezelés időtartama óra	PB adag mg/25 g egér	SH, öSH*
1.	18	96	fiziol. oldat	0,25±0,09
2.	16	30 (perc)	1×2,5	0,27±0,1
3.	15	24	2×2,5	0,31±0,1
4.	16	96	5×2,5	0,53±0,09**

* összes-SH = SH + redukált SS

n = állatok száma

** p (4—3) < 0,01

megváltozása, tehát nem az m-RNS-bioszintézisének szakaszával, a gén-aktiválási szakasszal, hanem a hiszton-bioszintézissel (17), ill. az ezzel párhuzamosan végbemenő DNS-bioszintézissel (23) esik egybe. Fitohe-magglutininnel stimulált limfocitákban is teljesen azonos lefutású a hiszton-tioltartalom változása (16).

Észlelésünk jelentősége még nem világos, de annyit megállapíthatunk, hogy a PB hatásának kezdeti szakasza és a hisztonok redukciós (aktiválási?) szakasza nem esik egybe. További kísérletek szükségesek a megfigyelt változások részletesebb tanulmányozásához és az enzimindukcióval való kapcsolatuk feltárásához.*

A szerkesztőségbe érkezett: 1975. július 21-én.

Irodalom

1. Conney A. H.: Pharm. Rev. (1967), 19, 317; 2. Remmer H.: Europ. J. Clin. Pharmacol. (1972), 5, 116; 3. Huang R. C., Bonner J.: Proc. Nat. Acad. Sci. (1962), 48, 1216; 4. Pogo B.G.T., Pogo A. O., Allfrey V. G., Mirsky A. E.: Proc. Nat. Acad. Sci. (1968), 59, 1337; 5. Tidwel T., Allfrey V. G., Mirsky A. E.: J. Biol. Chem. (1968), 243, 707; 6. Ord M. G., Stoc-ken L. A.: Biochem. J. (1968), 107, 403; 7. Blazsek V. A., Bukaresti L.: Rev. Med. (1970), 16, 183; 8. Sadgopal A., Bonner J.: Biochem. Biophys. Acta (1970), 207, 227; 9. Blazsek V. A., Bukaresti L.: Experientia (1964), 20, 369; 10. Panym S., Sommer K. L., Chalkley R.: Biochemistry (1971), 10, 21; 11. Sekeris C. E., Beato M., Homoki J., Congote L. F.: Hoppe-Seyler's

* Ezúton mondunk köszönetet Publik A. Arankának a technikai segítségért.

Z. Physiol. Chem. (1968), 349, 857; 12. Ord M. G., Stocken L. A.: Biochem. J. (1968), 107, 403; 13. Hilton J., Stocken L. A.: Biochem. J. (1966), 100, 210; 14. Ord M. G., Stocken L. A.: Biochem. J. (1970), 116, 415; 15. Fitzgerald P. J., Marsh W. H., Ord M. G., Stocken L. A.: Biochem. J. (1970), 118, 191; 16. Cross M. E., Ord M. G.: Biochem. J. (1970), 118, 191; 17. Ruddon R. W., Rainey C. H.: Biochem. Biophys. Res. Comm. (1970), 40, 152; 18. Blazsek V. A.: Rev. roum. Biochim. (1972), 9, 95; 19. Blazsek V. A.: előkészületben, 20. Mackay M., Bilgartner C. A., Dounce A. L.: Exp. Cell. Res. (1968), 49, 533; 21. Shuster L., Hershel J.: J. Biol. Chem. (1966), 241, 5361; 22. Gielen J. E., Nebert D. W.: J. Biol. Chem. (1971), 246, 5189; 23. Conney A. H., Gilman A. G.: J. Biol. Chem. (1963), 238, 3682.