

Zelle

Die Bandbreite der Reaktionen von Zellen und Organismen auf Veränderungen in ihrer Umgebung ist vielfältig. Eine von vielen Antworten auf Umweltreize ist die Bildung bestimmter Proteine. Dabei ist die Art der Umweltveränderung nicht entscheidend, denn die Zellen besitzen mit diesen Proteinen offenbar leistungsfähige Werkzeuge, mit denen sie unterschiedlichen Umwelteinflüssen wirksam begegnen können. Da sie vor allem in heiklen Situationen ihre Tätigkeit aufnehmen, heißen diese molekularen „Krisenmanager“ „Stressproteine“.

n im Stress

Christoph Bächtle



Unter Stress versteht man in der Verhaltensbiologie die Störung des inneren Gleichgewichts („Homöostase“) eines Organismus, ausgelöst durch endogene oder exogene Faktoren. Chrousos et al. definierten 1988 Stress allgemein als „Bedrohung der Homöostase“. Die stressauslösenden Faktoren werden als „Stressoren“ bezeichnet. Stress ist nicht nur in der modernen Gesellschaft ein Alltagsphänomen, Stress ist in der belebten Natur weit verbreitet und konnte bei verschiedenen Wirbellosen und Wirbeltieren und sogar in Pflanzen nachgewiesen werden.

Das Vorliegen einer Stresssituation lässt sich an mehreren Merkmalen feststellen. Mensch und Tier zeigen unter Stress Verhaltensveränderungen. So sind z.B. Aggressivität, Flucht oder anhaltende Unruhe Verhaltensweisen, die zwar nicht ausschließlich, aber häufig auf Stress zurückgeführt werden können. Stress kann aber auch anhand physiologischer Marker erfasst werden. Bei Wirbeltieren ist eine enge Kopplung der Stressreaktion an Veränderungen im Hormonsystem gegeben. Pflanzen reagieren auf hohe Lichtintensitäten mit der Bildung bestimmter Proteine, den sogenannten ELIPs (early light induced proteins). Für die durch Stressoren ausgelösten physiologischen Änderungen prägte Selye 1973 den Begriff des Allgemeinen-Anpassungs-Syndroms (AAS).

Menschen und Tiere können sich an wiederholt ausgelöste Stresssituationen anpassen. Ratten reagieren auf die Konfrontation mit lauten Geräuschen zunehmend gelassener. Eine Stressreaktion, wie z.B. die Erhöhung des Adrenalinpiegels im Blut, bleibt schließlich aus. Die Tiere

haben sich an den Stressor gewöhnt. Zellkulturen vertragen eine Temperaturerhöhung besser, wenn vorab schon eine geringere Temperaturerhöhung erfolgt ist. Man spricht hier von erworbener Thermotoleranz. Grund für die Thermotoleranz ist die schnelle Bereitstellung bestimmter Proteine in der Zelle.

Schützende Eigenschaften besitzen nicht nur die darauf spezialisierten Proteine. Auch „gewöhnliche“ Proteine können Schutzfunktionen unter Stress ausüben. Ubiquitin und alpha-Crystallin sind zwei Beispiele für Proteine, die unter normalen Umständen bestimmte Aufgaben haben, aber unter Stress weiterführende Funktionen zum Schutz der Zelle übernehmen. Stress ist keinesfalls auf hochentwickelte, vielzellige Organismen beschränkt. Stress kann in Zellen und auch in Bakterien ausgelöst werden. Erstmals wurde eine derartige zelluläre Reaktion 1962 von Ritossa an Speicheldrüsenzellen von *Drosophila* festgestellt. Er konnte in Stresssituationen das Auftreten besonderer Proteine registrieren, die offenbar schützende Funktionen für die Zellen ausübten. Da Ritossa seine Versuchszellen mit erhöhten Umgebungstemperaturen stresste, nannte er die schützenden Proteine „Hitzeschockproteine“ (heat-shock-proteins, HSP). Heute verwendet man für derartige Proteine, die in Stresssituationen vermehrt aktiv sind, zunehmend den Begriff „Stressproteine“. Dieser Begriff trägt dem Umstand Rechnung, dass verschiedene Vorgänge eine ähnliche zelluläre Reaktion hervorrufen, nämlich die Bereitstellung bestimmter Proteine.

Bemerkenswert ist, dass sich die Gruppe der Stressproteine auf einige Proteine be-

schränkt und einige davon unabhängig von der Qualität des Stressors auftreten. Die Liste der Stressoren umfasst aber weit mehr. Kälte, Schwermetalle, UV-Licht, Trockenheit, Salzkonzentrationen, pH-Wert-Veränderungen, freie Radikale („oxidativer Stress“). Aber auch elektromagnetische Felder stehen unter dem Verdacht, in Zellen Stress zu bewirken. Darüber hinaus kann die Synthese von Stressproteinen auch durch intrazelluläre Signalträger, wie z.B. Prostaglandine, induziert werden (Santoro et al.). Die Verbreitung des Notfallprogramms „Stressproteine“ ist nicht auf einzelne Spezies beschränkt. Nach aktuellem Kenntnisstand haben Zellen aller Organismen ein System entwickelt, dass bei erhöhten Temperaturen aktiviert wird (Welch, 1992).

Klassifizierung von Stressproteinen

Zu den Stressproteinen gehören in erster Linie die Hitzeschockproteine (HSP) sowie eine Gruppe verwandter Proteine, die große Homologien in Aminosäuresequenz und Funktionalität aufweisen. Sie werden daher als heat-shock-cognate-proteins (hsc-proteins) bezeichnet und erfüllen ebenfalls Funktionen im Rahmen der Stressantwort. Die Hitzeschockproteine werden üblicherweise nach ihrem Molekulargewicht(*) benannt und klassifiziert. Welch unterscheidet fünf Familien von Hitzeschockproteinen, andere Autoren treffen eine Einteilung in drei (Victor, 1995) oder vier (Merck, 1993) Familien. Die unterschiedlichen Eingruppierungen haben jedoch die Familien der sogenannten „kleinen HSPs“, die HSP-70-

* Die Zahl gibt die jeweilige durchschnittliche Molekülmasse der Proteinfamilie in Kilodalton an.

Familie und die HSP-90-Familie gemeinsam. Die jeweiligen Proteine der einzelnen Familien können sich von Spezies zu Spezies unterscheiden. Welch unterscheidet folgende Familien:

- HSP-28-Familie (small hsps)
- HSP-60-Familie
- HSP-70-Familie
- HSP-90-Familie
- HSP-110-Familie

Neben diesen „klassischen“ Stressproteinen gibt es, wie schon angeführt, weitere Proteine mit Schutzfunktionen unter Stressbedingungen. Zwei dieser Proteine, das Ubiquitin und das alpha-Crystallin werden nachfolgend kurz vorgestellt.

Ubiquitin

Ubiquitin ist ein kleines Protein, das in allen eukaryotischen Zellen vorkommt. Es spielt eine wesentliche Rolle beim Abbau nicht mehr benötigter Proteine. Ubiquitin fungiert als eine Art Stempel für Eiweissmüll. Es markiert durch Bindung defekte, beschädigte, denaturierte oder nicht mehr benötigte Proteine, die der Entsorgung zugeführt werden sollen. Darüber hinaus interagiert Ubiquitin mit Histonen des Chromatins sowie mit RNA-Molekülen (Schlesinger).

Alpha-Crystallin

Alpha-Crystallin ist eines der häufigsten Proteine in der Augenlinse von Wirbeltieren. Es besteht aus zwei Untereinheiten, dem alphaA- und dem alphaB-Crystallin. Lan-

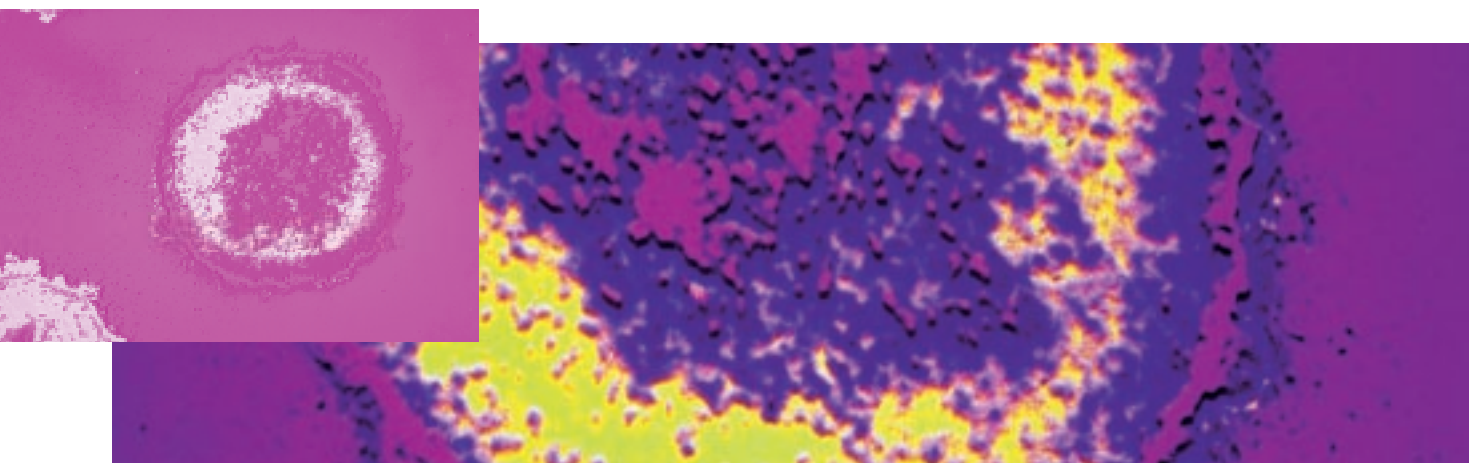
ge Zeit wurde angenommen, das Vorkommen von alpha-Crystallin sei auf die Augenlinse beschränkt. Erst zu Beginn der Neunziger Jahre wurden geringe Mengen vom alpha-Crystallin außerhalb der Augenlinse isoliert. Überraschend war die Entdeckung von Klemenz et al., dass sich alpha-Crystallin in NIH 3T3-Zellen in gewisser Weise wie die kleinen Hitzeschockproteine verhält (zitiert in Merck, 1993). Weitere Untersuchungen zeigten, dass zwischen alpha-Crystallin und kleinen HSPs strukturelle und funktionelle Gemeinsamkeiten bestehen. Besonders die Induzierbarkeit und die Funktion als sogenanntes Hilfsprotein (Chaperon) machen deutlich, dass alpha-Crystallin außerhalb der Augenlinse stressmindernde Aufgaben ausübt.

Wie arbeiten Stressproteine?

Stressproteine, insbesondere die Proteine der HSP-Familien, erfüllen verschiedene Funktionen in einer Zelle. Einige der HSP-Proteine sind auch aktiv, wenn die Zelle keiner Stresssituation ausgesetzt ist. In diesem Fall unterstützen sie die Proteinsynthese, den Proteintransport und bestimmte Phasen des Zellzyklus. Berücksichtigt man die Tatsache, dass zu einem Zeitpunkt im Zytoplasma einer Zelle unzählige Proteinketten produziert werden, erkennt man sogleich ein Problem dieser zeitgleichen Proteinsynthesen. Während der Synthese darf es zwischen den einzelnen wachsenden Eiweißketten nicht zu einer Interaktion kommen. Sonst würden sich unfunktionelle und somit unbrauchbare

Proteinknäuel bilden. Hitzeschockproteine unterbinden diese intermolekularen Wechselwirkungen, indem sie sich an wachsende Proteinketten binden. Ferner vermeiden sie intramolekulare Interaktionen, die zu einer falschen Tertiärstruktur, also ungünstiger räumlicher Ausdehnung des Proteinmoleküls, führen können. Man bezeichnet Proteine, die solche unterstützenden Funktionen ausführen, als Hilfsproteine oder Chaperone. Auch beim Transport von Proteinen in Zellkompartimente, wie z.B. Mitochondrien oder den Golgi-Komplex, greifen Chaperone helfend ein. Stressproteine mit ausgeprägten Chaperon-Eigenschaften sind die Vertreter der kleinen Hitzeschockproteine, der HSP-70- und HSP-60-Familie sowie das alpha-Crystallin. Stressproteine mit Chaperon-Funktion werden in der Regel ständig in geringen Konzentrationen bereitgestellt und im Bedarfsfall verstärkt exprimiert.

Eine besondere Aufgabe der Hitzeschockproteine betrifft die Reaktivierung von denaturierten Proteinen. In Stresssituationen kommt es zur erhöhten Denaturierung von Proteinen. Denaturierte Proteine sind ein Signal für die vermehrte Bildung von Stressproteinen. Unter ATP (Adenosintriphosphat)-Verbrauch entfalten und entwirren diese molekularen Werkzeuge denaturierte Eiweissketten und schützen vor erneuter Denaturierung. Diese Funktion wird insbesondere von bestimmten Hitzeschockproteinen übernommen, die sich dadurch von den übrigen Stressproteinen abheben und nur im Bedarfsfall induziert werden.



Stressproteine und magnetische Felder

Magnetische Felder sind mögliche Stressoren. Das Bakterium *E. coli* reagiert auf Befeldung mit einem 60Hz-Magnetfeld von 1,1 μT Stärke ähnlich wie auf andere Umweltstressoren. Es kommt zur verstärkten Bildung von Sigma-32-RNA, die für ein bestimmtes Stressprotein codiert (Cairo, Greenbaum, Goodman). Goodman et al. beschreiben die erhöhte Transkription des HSP-70-Gens unter Einfluss von extrem niederfrequenten magnetischen Feldern. 60Hz-Magnetfelder fördern in humanen HL-60 Zellen die Transkription des Transkriptionsfaktors c-myc, dieser wiederum unterstützt die Expression des HSP-70-Gens. In befeldeten Zellen liegt eine erhöhte Konzentration von HSP-70 mRNA vor. Somit kann ein Zusammenhang zwischen Befeldung und der Bildung von HSP-70 mRNA hergestellt werden. Vergleichbare Reaktionen treten in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* auf.

In anderen Studien konnten Goodman und Mitarbeiter die erhöhte Expression von HSP-70 in Speicheldrüsenzellen von *Drosophila* sowie eine erhöhte Konzentration des Stressproteins HSP-70 in befeldeten Speicheldrüsenzellen der Trauermücke *Sciara* feststellen. Blank et al. fanden in den gleichen Zellen Gemeinsamkeiten zwischen der Reaktion der Zellen auf Hitzeschock und der Reaktion auf Exposition im magnetischen Feld. Der Hitzeschock bestand in einer Temperaturerhöhung von 20°C auf 37°C. Die Exposition erfolgte durch ein sinusförmiges 60Hz-Magnetfeld von 0,8 bis 800 μT . Die Autoren betonen den unterschiedlichen Charakter der gewählten Stressoren, verweisen aber auf die Gemeinsamkeiten im Reaktionsmuster der Zellen. Die Speicheldrüsenzellen bilden in Reaktion auf die Stressoren ähnliche Proteine. Die Autoren gehen dennoch von unterschiedlichen Primärreaktionen der Zellen auf die beiden Stimuli aus, sind aber der Überzeugung, dass diese letztendlich auf einen gemeinsamen Reaktionsweg führen. Weiterhin postulieren Blank und Mitar-

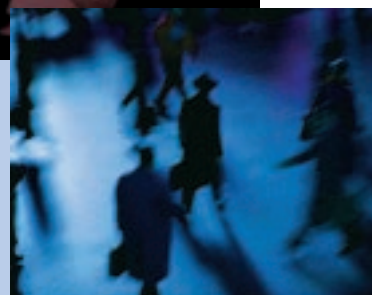
beiter ein „alles-oder-nichts-Prinzip“ bei der Antwort auf magnetische Felder, da die unterschiedlichen Feldintensitäten zur gleichen Reaktion führen, sobald sie einen Schwellenwert überschreiten.

Mit den Stressproteinen hat die Natur leistungsfähige Instrumente mit breitem Wirkungsspektrum geschaffen. Ihre Induzierbarkeit durch magnetische Felder ist ein weiteres Beispiel für biologische Wirkungen magnetischer Felder. Über das Auftreten von Stressproteinen auf schädigende Eigenschaften dieses „Umweltreizes“ zu schließen, wäre jedoch voreilig und wissenschaftlich nicht korrekt. Ob Stressproteine als Marker für Qualität und Stärke eines Reizes Verwendung finden können, erscheint hingegen möglich und sollte diskutiert werden.

Dipl. Biol. Christoph Bächtle,
Universität Stuttgart

Literatur

- Blank, Khorkova, Goodman, „Similarities in the proteins synthesized by *Sciara* salivary gland cells in response to electromagnetic fields and to heat shock“, *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 31, 27-38 (1993)
- Cairo, Greenbaum, Goodman, *Journal of Cell Biology*, 68 (1), 1-7 (1998)
- Chrousos, Loriaux, Gold, „The concepts of stress and its historical development“ in: *Mechanisms of physical and emotional stress* (Eds: Chrousos, Loriaux, Gold), Plenum Press, New York (1988)
- Goodman, Blank, Lin, „Increased levels of hsp70 transcripts induced when cells are exposed to low frequency electromagnetic fields“, *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 33, 115-120 (1994)
- Lin, Han, Blank, *Journal of Cellular Biochemistry*, 70 (3), 297-303 (1998)
- Lin, Opler, Head, „Electromagnetic field exposure induces rapid, transitory heat shock factor activation in human cells“, *Journal of Cellular Biochemistry*, 66, 482-488 (1997)
- Mc Farland, David, *Biologie des Verhaltens, Spektrum-Verlag*, 2. Auflage, 1999
- Merck, K. B., „Structural and functional aspects of alpha-crystallin and its relation to the small heat shock proteins“, Diss. 1993, Univ. Nijmegen
- Ritossa, F.M., „A new puffing pattern induced by heat-shock and DNP in *Drosophila*“, *Experientia* 18, 571-573 (1962)
- Santoro, Garaci, Amici, „Induction of HSP70 by prostaglandins“, in: *Stress Proteins* (Eds.: Schlesinger, Santoro, Garaci), Springer (1990), S. 27 ff.
- Schlesinger, M. J., „Induction of HSP70 by prostaglandins“, in: *Stress Proteins* (Eds.: Schlesinger, Santoro, Garaci), Springer (1990), S. 82
- Victor, M., „Die Regulation humaner Hitzeschock-Transkriptionsfaktoren und ihre Beteiligung an der Expression von Hitzeschockproteinen“, Diss. 1995, Univ. Bochum
- Welch, W. J., „Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease“, *Physiol. Rev.*, 72 (4), 1063-1081 (1992)



S
T
R
E
S
S