

Stresni proteini

Barišić, Karmela; Kopic, Jasminka

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2002, 58, 455 - 460**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:578828>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Stresni proteini

KARMELA BARIŠIĆ¹ I JASMINKA KOPIĆ²

¹Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb

²Opća bolnica »Dr. Josip Benčević«, Slavonski Brod

UVOD

Slučajno povećanje temperature inkubatora u kojem je rasla *Drosophila melanogaster*, dovelo je do pojave »jastučića« na kromosomima iz žlijezda sli-
novnica, koji su indikatori transkripcijske aktivnosti određenog genskog lo-
kusa. Taj slučajni događaj razotkrio je novu skupinu proteina, proteine to-
plinskog šoka, čija sinteza brzo i snažno počinje pod utjecajem povišene
temperature, a kako je kasnije pokazano, i u drugim stresnim uvjetima, te se
općenito nazivaju stresni proteini.

Stresni proteini sudjeluju ne samo u staničnom odgovoru na stres, nego i
u mnogim drugim biološkim i imunološkim procesima. Ta ih činjenica u novi-
je vrijeme čini potencijalno vrlo atraktivnim za nove terapijske agense. In-
dukcija stresnih proteina novim farmakološkim sredstvima može dovesti do
razvoja organizama otpornih na različite stresne agense, što se može iskori-
stiti za intervencije kod kardiovaskularnih i bubrežnih oštećenja, kao i za za-
štitu organa u transplantacijskoj medicini. Novije spoznaje o vezi sa stre-
snim proteinima i malignim procesima, o njihovoj važnoj ulozi u patogenezi au-
toimunih bolesti te u procesu prezentacije antigena mogu biti temelj za ra-
zvoj novih imunoterapijskih sredstava za liječenje raka i autoimunih bolesti
(1).

STRESNI PROTEINI

Stanice izložene toplinskom stresu ubrzano sintetiziraju zaštitne proteine
koji su nazvani proteinima toplinskog šoka (*heat shock proteins*, hsp). Poja-
čana sinteza proteina toplinskog šoka utvrđena je i nakon izlaganja stanica
djelovanju toksičnih agensa, teških metala, analoga aminokiselina, inhibito-
ra energetskog metabolizma, virusnim i bakterijskim patogenima, oksidativ-
nim oštećenjima, ishemiji i drugim oblicima stresa. Stoga se odgovor na to-
plinski šok smatra univerzalnim staničnim odgovorom na stres, a proteini
toplinskog šoka nazivaju se općenito stresnim proteinima (2). Zajedničko je
obilježje svih stresnih stanja pojavljivanje nenormalno nabranih proteina i
njihove agregacije, a stresni proteini štite stanicu tako da pomažu renatura-
ciju ili degradaciju proteina (2).

Stresni proteini postoje u stanici i u normalnim, fiziološkim uvjetima.
Obavljaju važne funkcije uključujući sudjelovanje u procesima nabiranja i
translokacije novosintetiziranih proteina, razgradnji proteina, aktiviranju

regulacijskih proteina, prijenosu signala unutar stanice, organizaciji staničnog skeleta te prezentaciji antigena.

Stresni proteini se često poistovjećuju s tzv. molekularnim pratiteljima (*molecular chaperons*). Taj pojam označava molekule koje sudjeluju u nabiranjju i sazrijevanju proteina u stanici. Mnogi stresni proteini su molekularni pratitelji, ali ne djeluju svi kao molekularni pratitelji, kao što ni mnogi molekularni pratitelji ne spadaju u stresne proteine (2).

Uobičajena je podjela stresnih proteina prema njihovoj molekularnoj masi. Prema tom kriteriju svrstani su u nekoliko obitelji: obitelj malih stresnih proteina, obitelj stresnih protein 40-60, obitelj stresnih proteina 70, obitelj stresnih proteina 90 te obitelj stresnih proteina 110.

Stresni proteini su identificirani u svim organizmima, od prokariota do eukariota. Postoji visok stupanj homologije između pojedinih stresnih proteina u različitim vrstama, evolucijski vrlo udaljenim, ali nema homologije između stresnih proteina iz različitih obitelji kod iste vrste.

STRESNI PROTEINI IZ OBITELJI *hsp70*

Najpoznatiji su proteini toplinskog šoka iz obitelji 70. Tu obitelj čine *hsc73* (*heat shock cognate 73*), konstitutivni oblik, i *hsp72*, inducibilni oblik. Druga dva predstavnika te obitelji inducirani su u stanjima kada nedostaje glukoza; Grp78 ili BiP, lociran u endoplazmatskom retikulumu i Grp75, ili mito-BiP, lociran u mitohondrijama (3). Hsp70 je tipični molekularni pratitelj. U fiziološkim uvjetima hsp70 sudjeluje u pravilnom strukturiranju polipeptida nakon njihove sinteze, njihovom transportu te združivanju podjedinica kod oligomernih proteina. U uvjetima stresa hsp70 prepoznaje denaturirane ili nepravilno strukturirane proteine i pomaže njihovo pravilno strukturiranje (4). U interakciji s nepravilno strukturiranim proteinom pored hsp70 sudjeluju i drugi pomoćni proteini, kao BAG-1, Hip (hsp70 interakcijski protein) i Hop (hsp70/hsp90 organizirajući protein) (5). Vezivanje i otpuštanje ciljnog polipeptida modulirano je interakcijom hsp70 s ATP i ADP.

Aktiviranje sinteze hsp70 ovisi o razini samog *hsc73* te o njegovoj ravnoteži između dva stanja, stanja u kojem je *hsc73* vezan na supstrat i slobodnog *hsc73*. Kada se količina slobodnog *hsc73* snizi ispod kritične razine, dolazi do pojačane sinteze iducibilnog oblika, *hsp72* (6).

Indukcija *hsp72* regulirana je na razini transkripcije *hsp70* gena. *Hsc73* nalazi se u stanici u kompleksu s čimbenikom toplinskog šoka (*heat shock factor*; HSF). HSF je transkripcijski faktor koji regulira transkripciju stresnih gena interakcijom sa specifičnim slijedom nukleotida u promotorskom dijelu stresnih gena koji se naziva *heat shock element* (HSE). Povećanje količine nepravilno nabranih ili denaturiranih proteina oslobađa HSF iz kompleksa s *hsc73*, jer *hsc73* stupa u interakciju s proteinima koji trebaju njegovu pratiteljsku aktivnost. Slobodan HSF prelazi iz citoplazme u jezgru gdje se vezuje na HSE omogućujući transkripciju *hsp72* gena (7).

OSTALI STRESNI PROTEINI: mali, 40–60, 90 i 110

U skupinu malih stresnih proteina spadaju ubikvitin, hsp20, hsp25 te hsp27. Mali hsps imaju različite funkcije u stanici, od nelizosomalne razgradnje proteina do reguliranja aktinskog skeleta i programirane stanične smrti (apoptoze) (8, 9).

U skupini stresnih proteina 40–60 spadaju hsp40, hsp47, hsp56 i hsp60. Oni su smješteni u različitim staničnim odjeljcima: citoplazmi (hsp40, hsp56), endoplazmatskom retikulumu (hsp47) ili mitohondrijama (hsp60). Hsp40 sudjeluje u nastanku kompleksa hsp70/hsp90. Hsp47 je molekularni pratitelj kolagena, a hsp60 (GroEL) je mitohondrijski molekularni pratitelj. Hsp56 veže steroidne hormone i imunosupresor FK506 (10).

Hsp90 je stresni protein čija se ekspresija povećava oko 10 puta nakon izlaganja stanica stresu. Nalazi se u plazmatskoj membrani, citosolu i jezgri. Povezan je s mikrofilamentima (aktin i mikrotubuli) i intermedijarnim filamentima. U nekim organizmima hsp90 je neophodan u fiziološkim uvjetima, a u drugim samo u uvjetima stresa. Hsp90 je važan za funkcioniranje steroidnih receptora, jer ih održava u inaktivnom stanju u odsutnosti liganda (11).

Hsp104, glavni predstavnik obitelji stresnih proteina 110, konstitutivno je prisutan u citoplazmi, jezgri i jezgri i odgovoran za termotoleranciju (12).

KLINIČKO ZNAČENJE ODGOVORA NA TOPLINSKI ŠOK

Klinički značajna stanja u kojima dolazi do povećane ekspresije stresnih proteina su: ishemijsko/reperfuzijska ozljeda tkiva, povišena tjelesna temperatura, upala, infekcija, mehaničke ozljede stanica i tkiva, hemoragijski i druge vrste šoka, trovanja alkoholom i teškim metalima. Sve te poremećaje karakterizira promjena u strukturiranosti proteina, a stresni proteini pomažu njezinom obnavljanju (1).

Nakon toplinskog šoka u stanicama dolazi do naglog pada transkripcije većine gena, osim stresnih gena čija se transkripcija intenzivira. S obzirom da je odgovor na toplinski šok, evolucijski gledano, jedan od prvotnih mehanizama obrane, sinteza stresnih proteina ima prednost pred sintezom drugih obrambenih proteina koji su se javili kasnije tijekom evolucije. Tako je za vrijeme stresnog odgovora smanjena sinteza interleukina 1, inducibilnog oblika sintetaze dušičnog oksida (iNOS), b-fibrinogena te ostalih gena akutne faze (13).

Vrlo važne osobine stresnog odgovora su: univerzalnost (javlja se u svim stanicama organizma), prolaznost i unakrsna zaštita (primjerice, hipertermija čini stanicu otpornijom i na druge vrste stresa, na pr. ishemijsko/reperfuzijsku ozljedu) (14). Stresom izazvano stanje otpornosti stanice na istu, ali i druge vrste stresa, započinje vrlo brzo, oko 15 minuta nakon stresnog podražaja, a traje nekoliko sati.

Fenomen unakrsne zaštite, uočen i karakteriziran na životinjskim *in vivo* modelima, čini osnovu mnogim potencijalnim primjenama tog biološkog fenomena u kliničkoj medicini. Pred nama je vrijeme pragmatičnog pristupa vrednovanju stresnog odgovora u pojedinim kliničkim stanjima te mogućim manipulacijama tim odgovorom u terapijske i dijagnostičke svrhe.

ISHEMIJA/REPERFUZIJA – KARDIOVASKULARNE BOLESTI, TRANSPLANTACIJSKA MEDICINA

Potencijalna klinička primjena stresnog odgovora kod kardiovaskularnih bolesti temelji se na eksperimentalno pokazanom zaštitnom učinku stresnih proteina kod ishemijskih/reperfuzijskih oštećenja. Tako je, primjerice pokazano da pre-tretman zečeva subletalnom hipertermijom, čini stanice njihovog srčanog mišića otpornijim na ishemiju (15), a transgeni miševi koji pojačano ekspimiraju hsp otporniji su na ishemiju miokarda (16). Uočeno je također, da pretretman hipertermijom bubrega i stanica gušterače donora poboljšava preživljavanje transplantata (14). Toplinskim šokom izazvana otpornost tkiva i organa na uvjete ishemije/reperfuzije daje opravdanu nadu za njegovu primjenu u transplantacijskoj medicini, i u određenim vrstama kirurških zahvata, kod kojih dolazi do ishemije/reperfuzije (primjerice u kirurgiji srca i velikih krvnih žila).

INFEKCIJSKE BOLESTI, SEPSA, AUTOIMUNE BOLESTI

Stresni proteini djeluju zaštitno kod infekcijskih bolesti i sepse. Utvrđeno je da povećana razina hsp, izazvana hipertermijom, štiti organizam od toksičnosti i letalne endotoksemije izazvane tumorskim nekrotičnim čimbenikom (*tumor necrosis factor*, TNF) ili da izlaganje štakora spojevima arsena dovodi do indukcije hsp72, što čini životinje otpornijim na sepsu (17).

Bakterije i virusi pojačano stvaraju svoje hsp's tijekom infekcije, jer je njihov napad na domaćina za njih stresno stanje. Njihovi hsp's su jaki antigeni za imuni sustav domaćina. S druge strane, i u napadnutim stanicama domaćina dolazi do indukcije njihovih hsp's kao obrambenog mehanizma na stresno stanje, infekciju.

Budući da su stresni proteini izrazito konzervirani tijekom evolucije, moguće su križne imune reakcije koje mogu rezultirati u stvaranju antitijela naspram vlastitih hsp's, što je podloga za razvoj autoimunih bolesti. Brojne su indicije da autoantitijela na hsp's, nastala križnom reakcijom na hsp's mikrobijalnog podrijetla, mogu uzrokovati nastanak i razvoj dijabetesa i artritisa (18, 19, 20).

MEHANIČKE OZLJEDE TKIVA – TRAUMATSKA OZLJEDA MOZGA

Glasnička RNA (mRNA) za hsp's, kao i sami hsp's nalaze se u stanicama zdravoga mozga u vrlo malim količinama. Nakon različitih neurotoksičnih stimulansa i traumatske ozljede, ovisno o vrsti i intenzitetu štetnog utjecaja, odnosno oštećenja, dolazi do brzog porasta hsp's u stanicama mozga. 4–6 sati nakon oštećenja povišena je razina mRNA za hsp's, a 12–20 sati nakon oštećenja zabilježen je porast hsp's na proteinskoj razini (21). Te se činjenice mogu upotrijebiti u ranoj dijagnostici moždanih oštećenja, bilo traumatske ili neurotoksične naravi.

Hsp I IMUNOLOŠKI SUSTAV, PROTUTUMORSKE VAKCINE

U posljednje vrijeme intenzivno se ispituje uloga stresnih proteina u imunom odgovoru, posebice u procesiranju i prezentaciji antigena. Ulogu hsp u imunološkom odgovoru rasvijetlila su brojna istraživanja tumorske biologije. Jedan je od bitnih čimbenika u nastanku i razvoju tumora izostanak adekvatnog imunog odgovora na tumorske stanice u organizmu u kome se razvija tumor. Brojni su istraživački naponi usmjereni prema iznalaženju načina stimulacije imunog odgovora naspram tumora. U tom smislu stresni proteini otvaraju nove mogućnosti imune terapije tumora (22). Ustanovljeno je da je hsp izoliran iz tumora snažan induktor imunog odgovora na taj isti tumor. Hsp izoliran iz zdravog tkiva ne potiče imuni odgovor na tumorske stanice. Čini se da sam hsp izoliran iz tumora nije imunogen, nego tumorski peptid koji se nalazi u kompleksu s hsp, tj. peptid čiji je hsp molekularni pratitelj. Na životinjskim *in vivo* modelima pokazano je da se kompleks hsp-tumorski peptid, izoliran iz malignih tumora, može primijeniti kao snažan induktor imunološkog odgovora na tumor (19, 20). Zahvaljujući tome, vjerojatno ćemo uskoro biti svjedoci upotrebe kompleksa hsp-tumorski peptid kao individualne protutumorske vakcine za stjecanje i/ili poticanje imuniteta naspram tumora.

Stress proteins

by K. Barišić and J. Kopic

Summary

Stress proteins (also known as heat shock proteins) regulate fundamental cellular processes, such as protein folding, sorting, degradation, translocation and assembly, playing an important role in cell signaling, cytoskeletal organisation, apoptosis, antigen presentation, cell migration, proliferation and adhesion. Heat shock proteins are divided into families based on molecular mass: small, hsp40-60, hsp70, hsp90, hsp110. The best characterized family is hsp70 family. Hsp70 is induced by a number of stress stimuli, and its expression is regulated at transcriptional level by heat shock factor. There are many potential medical application of stress response, from cardiovascular diseases and graft preservation to immunotherapy of cancer.

Literatura - References

1. A.M. Slavotinek, L.G. Biesscker, Unfolding the role of chaperones and chaperonins in human disease, *Trends Genet.* **17** (2001) 528-535.
2. W.J. Welch, Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease, *Physiol. Rev.* **72** (1992) 1063-1081.
3. W.J. Welch, J.R. Feramisco, Nuclear and nucleolar localization of the 72,000-dalton heat shock protein in heat-shocked mammalian cells, *J. Biol. Chem.* **259** (1984) 4501-4513.
4. C. Georgopoulos, W.J. Welch, Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones, *Annu. Rev. Cell Biol.* **9** (1993) 601-634.
5. J. Hohfeld, Regulation of the heat shock conjugate Hsc70 in the mammalian cell: the characterization of the anti-apoptotic protein BAG-1 provides novel insights, *Biol. Chem.* **379** (1998) 269-274.

6. R.I. *Morimoto*, Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes, *Science* **259** (1993) 1409-1410.
7. R. *Baler*, G. *Dahl*, R. *Voellmy*, Activation of human heat shock genes is accompanied by oligomerization, modification, and rapid translocation of heat shock transcription factor HSF1, *Mol. Cell. Biol.* **13** (1993) 2486-2496.
8. U. *Jakob*, M. *Gaestel*, K. *Enigkel*, J. *Buchner*, Small heat shock proteins are molecular chaperones, *J. Biol. Chem.* **268** (1993) 1517-1520.
9. P. *Mehlen*, K. *Schulze-Osthoff*, A.P. *Arrigo*, Small stress proteins as novel regulators of apoptosis. Heat shock protein 27 blocks Fas/APO-1- and staurosporine-induced cell death, *J. Biol. Chem.* **271** (1996) 16510-16514.
10. R.J. *Ellis*, S.M. *van der Vies*, Molecular chaperones, *Annu. Rev. Biochem.* **60** (1991) 321-347.
11. P. *Csermely*, T. *Schnaider*, C. *Soti*, Z. *Prohaszka*, G. *Nardai*, The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function, and clinical applications. A comprehensive review, *Pharmacol. Ther.* **79** (1998) 129-168.
12. Y. *Sanchez*, S. L. *Lindquist* SL, HSP104 required for induced thermotolerance, *Science* **248** (1990) 1112-1115.
13. K. *Wang*, C. S. *Deutschman*, M. G. *Clemens*, A. *DeMaio*, Reciprocal expression of acute phase genes and phosphoenolpyruvate carboxynase (PEPCK) during acute inflammation, *Shock* **3** (1995) 204-209.
14. G.A. *Perdrizet*, Heat shock and tissue protection, *New Horiz.* **3** (1995) 312-320.
15. W. *Currie*, R.M. *Tanguay* and J. *Kingma*, Heat-shock response and limitation of tissue necrosis during occlusion/reperfusion in rabbit hearts, *Circulation* **87** (1993) 963-971.
16. J.C. *Plumier*, B.M. *Ross*, R.W. *Currie*, C.E. *Angelidis*, H. *Kazlaris*, G. *Kollias*, G.N. *Pagoulatos*, Transgenic mice expressing the human heat shock protein 70 have improved post-ischemic myocardial recovery, *J. Clin. Invest.* **95** (1995) 1854-1860.
17. S.P. *Ribeiro*, J. *Villar*, G.P. *Downey*, J.D. *Edelson*, A.C. *Slutsky*, Sodium arsenite induces heat shock protein-72 kilodalton expression in the lungs and protects rats against sepsis, *Crit. Care Med.* **22** (1994) 922-929.
18. W. *Van Eden*, R. *Van Der Zee*, A.G. *Paul*, B.J. *Prakken*, U. *Wendling*, S.M. *Anderton*, M.H. *Wauben*, Do heat shock proteins control the balance of T-cell regulation in inflammatory diseases? *Immunol. Today.* **19** (1998) 303-311.
19. N.E. *Blachere*, Z. *Li*, R.Y. *Chandawarker*, R. *Suto*, N.S. *Jaikaria*, S. *Basu*, H. *Udono*, P.K. *Srivastava*, Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity, *J. Exp. Med.* **186** (1997) 1315-1322.
20. Y. *Tamura*, P. *Peng*, L. *Kang*, M. *Daou*, P.K. *Srivastava*, Immunotherapy of tumors with autologous tumor-derived heat shock protein preparations, *Science* **278** (1997) 117-120.
21. S. *Rajdev*, F.R. *Sharp*, Stress proteins as molecular markers of neurotoxicity, *Toxicol. Pathol.* **1** (2000) 105-112.
22. M.H. *Manjili*, X.Y. *Wang*, J. *Park*, J.G. *Facciponte*, E.A. *Repasky*, J.R. *Subjeck*, Immunotherapy of cancer using heat shock proteins, *Front. Biosci.* **7** (2002) D43-D52.

Primljeno 24. V. 2002.