

## Zytologie

## Mitochondrien-Dynamik bei Stress und Altern

JÜRGEN BEREITER-HAHN, MARINA JENDRACH  
GOETHE-UNIVERSITÄT, FRANKFURT A. M.

Die Dynamik von Mitochondrien und ihre Elimination durch Mitophagie stellen Qualitätskontrollmechanismen gegen Schädigungen durch Sauerstoffradikale dar. Ihre Störung führt zu vorzeitigem Altern und fördert Krankheiten wie z. B. Morbus Parkinson.

Dynamics of mitochondria and their elimination by mitophagy provide quality control mechanisms against reactive oxygen mediated damage. Disturbances of these processes are related to premature aging as well as to neuronal disorders i. e. Parkinson's disease.

## Motilität von Mitochondrien

Wie beweglich biologische Membranen sind, wird an der hohen Verformbarkeit von Mitochondrien deutlich. In Sekundenschnelle bilden sie neue Verzweigungen, verbiegen sich, teilen sich oder fusionieren miteinander (**Abb. 1**). Dies alles unter Einbeziehung beider Membranen, der glatten äußeren und der intensiv gefalteten inneren Mitochondrienmembran mit den Superkomplexen der Atmungskette. Was aber ist die Funktion die-

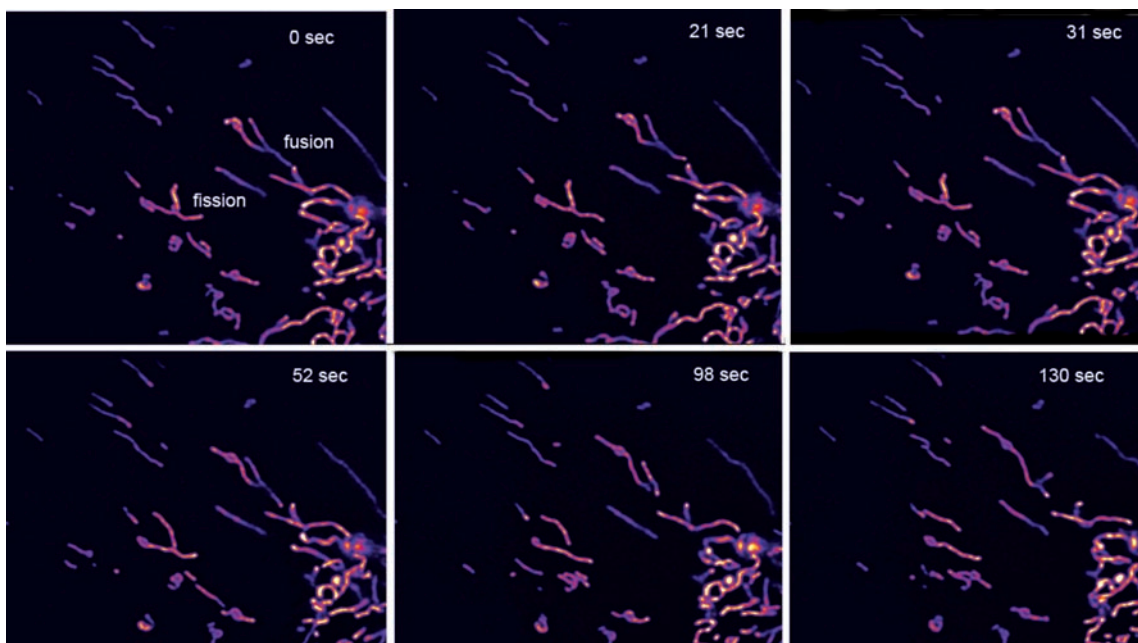
ser ständigen Verlagerungen, der Formveränderungen, Fusionen und Teilungen?

Die Ausgangshypothese für die intrazelluläre Lokomotion war das Vorhandensein eines Stoffwechselgradienten von der Zellmitte zur Peripherie. Diese Hypothese wurde geprüft durch: (1) die Darstellung des mitochondrialen Membranpotenzials, (2) von Mitochondrien-Assoziationen mit besonders ATP-verbrauchenden Strukturen und (3) dem Einfluss der ADP- und ATP-Konzentration auf

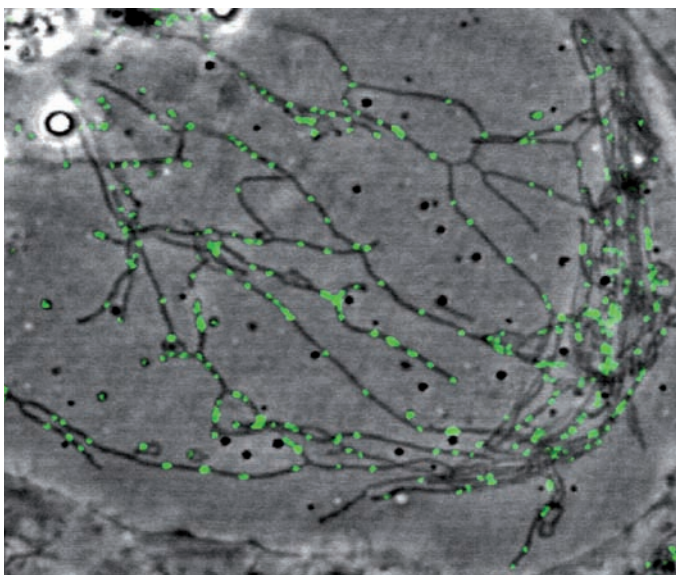
die Mitochondrienbewegung. Mit dem Styrylfarbstoff DASPMI (Dimethylaminostyrylmethiodid) [1], dem ersten beschriebenen Potenzial-sensitiven Fluorochrom, konnten wir zeigen, dass die Mitochondrien im Zentrum einer Zelle häufig ein höheres Membranpotenzial aufweisen als in der Peripherie. In den von uns untersuchten Zellkulturen (Endothelzellen aus *Xenopus laevis*, humane Nabelschnurendothelzellen und verschiedene Zellstämme) sind Mitochondrien stets mit dem rauem endoplasmatischen Retikulum assoziiert. Dies dient nicht nur der Energieversorgung, sondern ist eine strukturelle Voraussetzung für die Regulation zytoplasmatischer  $Ca^{2+}$ -Konzentrationen über ER und Mitochondrien [2]. Erhöhung der zellulären ATP- und ADP-Konzentration durch iontophoretische Injektion in die Zellen stoppt die Lokomotion der Mitochondrien wie auch deren Formveränderungen, Teilung und Fusion.

## Reaktive Sauerstoffspezies in Mitochondrien fördern Alterungsprozesse

Störungen der mitochondrialen Dynamik sind oft Ursachen schwerer Erkrankungen. Seit den bahnbrechenden Arbeiten von Harmann [3] stehen Mitochondrien unter Generalverdacht, Verursacher von Alterungsprozessen zu sein: Stets führt ein Teil (1–5 Prozent) der in der Atmungskette transportierten Elektronen zur Bildung von Sauerstoffradikalen (ROS, *reactive oxygen species*). ROS oxidieren Lipide, Proteine und Nukleobasen. Dadurch werden insbesondere die Mitochondrien selbst geschädigt, die dann ihrerseits mehr



◀ **Abb. 1:** Zeitlicher Verlauf von Formänderungen, Fusion und Teilung von Mitochondrien in einer menschlichen Endothelzelle (HUVEC).



◀ **Abb. 2:** In der Zellkultur gealterte Endothelzelle aus einem Kaulquappenherz (*Xenopus laevis* Daudin). Die Mitochondrien (im Phasenkontrastbild dunkelgraue, längliche Strukturen) fusionierten zu einem weitverzweigten Netzwerk. Die Nukleole (hellgrüne Punkte) wurden mit Picogreen dargestellt.

ROS bilden, so entsteht eine positive Rückkopplung, ein Circulus vitiosus.

Sicherlich ist dies nicht der einzige Mechanismus, der für die Begrenztheit organismischen Lebens verantwortlich ist. Neben genetischer Disposition sind unvollständig oder fehlerhaft reparierte DNA-Schäden, Verkürzungen der Telomere und damit erhöhte Instabilität des Genoms, Proteinoxidation und -Aggregatbildungen Ursachen für einen Verlust der Funktionalität von Organismen mit zunehmendem Alter. Diese Faktoren wirken „kooperativ“.

Ausgehend von einer Schädigung der Mitochondrien durch die von ihnen produzierten ROS könnten Fusion und Teilung von Mitochondrien einer Stabilisierung des Gesamtchondrioms dienen. Zwei Wege zu dieser Stabilisierung sind denkbar, die Elimination geschädigter mitochondrialer Komponenten (Mitophagie, autophagosomale Zerstörung) sowie deren Verteilung und damit „Verdünnung“, sodass die Funktionalität des Gesamtsystems erhalten bleibt („Rescue-Hypothese“). Findet im Rahmen der Fusions- und Teilungsprozesse wirklich eine Durchmischung der Komponenten der einzelnen Mitochondrien statt? Zur Lösung dieser Frage wurde in einer Zellkultur eine Untereinheit des Atmungskomplexes I mit dem grün fluoreszierenden Protein (GFP) und in einer weiteren Kultur derselben Linie mit dem rot fluoreszierenden Protein (RFP) markiert. Damit enthielt die eine Zellkultur grüne und die andere rote Mitochondrien. Nach Fusion dieser beiden Zelltypen fusionieren auch deren Mitochondrien miteinander und innerhalb weniger Stunden (2–5 h) enthalten alle Mitochondrien der Hybridzelle beide Farbstoffe.

Damit ist gezeigt, dass in der Tat die Proteine der Innenmembran durch Fusion zwischen den Fusionsprodukten ausgetauscht werden [4].

Dieser effiziente Austausch mitochondrialer Proteine durch Fusion und Teilung stützt die Hypothese der mitochondrialen Dynamik als zellulärem Qualitätskontrollmechanismus [5]. Somit können Fusion und Teilung für den Alterungsprozess relevant sein, wie in einer mathematischen Modulierung für den Austausch der mtDNA postuliert wurde [6].

Um den Zusammenhang zwischen Alterung, ROS, mitochondrialer Dynamik und Schädigung aufzuzeigen, wurden junge Zellen für einen kurzen Zeitraum mit Hydrogenperoxid behandelt. Dieser transiente ROS-Anstieg spiegelt die Situation einer Reperfusion nach Ischämie oder während starker körperlicher Belastung wider. Die Folge ist eine starke Fragmentierung der Mitochondrien, also ein Zerfall von langen, tubulären Mitochondrien in kurze, runde. Weiterhin werden Fusion- und Teilungsaktivität transient reduziert [7]. Die fragmentierten Mitochondrien waren nach oxidativem Stress vermehrt mit Markerproteinen der Mitophagie ko-lokalisiert, was darauf hinweist, dass die Fragmentierung von Mitochondrien eine Voraussetzung für die Einleitung der Mitophagie ist. Nach oxidativem Stress fragmentieren also die Mitochondrien, die stark geschädigten werden durch Mitophagie abgebaut und die ungeschädigten bzw. wenig geschädigten können sich durch Fusion und Teilung sowie Neusynthese mitochondrialer Bestandteile wieder erholen. Fusion und Teilung wie auch Mitophagie wären danach Qualitätskontrollmechanismen.

Wenn ganz unterschiedliche Zelltypen (menschliche Endothelzellen, Fibroblasten von Vögeln) in Kultur gealtert wurden, wird eine signifikante Abnahme der mitochondrialen Fusion und Teilung im Vergleich zu jungen Zellen beobachtet [8]. Mitochondrien von alten Zellen weisen neben der signifikant verminderten mitochondrialen Dynamik auch eine deutliche Verlängerung und Vernetzung untereinander auf, welche sich in manchen Zellen und bei einigen Zelltypen über die gesamte Zelle erstrecken können (**Abb. 2**). Obwohl alte menschliche Endothelzellen mehr ROS als junge Endothelzellen produzieren sowie vermehrte oxidative Schäden an der mtDNA und Proteinen aufweisen [8], sind diese verlängerten Mitochondrien durch eine erhöhte Resistenz gegen ROS charakterisiert. Dies beruht auf ihrem hohen Vernetzungsgrad: Photoaktivierbares GFP (mt-PaGFP) in Mitochondrien ist bereits 30 Sekunden nach der Aktivierung eines kleinen Bereichs eines Mitochondriums in der halben Zelle verteilt. So können auch ROS-geschädigte Moleküle schnell auf ein großes Organellvolumen verteilt werden und sich mit ungeschädigten Molekülen vermischen. Vermehrte Expression mitochondrialer vor ROS-Wirkung schützender Chaperone trägt ebenfalls zur erhöhten ROS-Resistenz im Alter bei. Mitochondrien in alten Zellen können also ihre verminderte Dynamik kompensieren. Allerdings können lange, verzweigte Mitochondrien im Vergleich zu kurzen, fragmentierten deutlich schlechter abgebaut werden [9], was zur Akkumulation geschädigter Moleküle in alten Zellen beiträgt.

Die Ergebnisse zeigen also eine enge Beziehung zwischen oxidativem Stress, Alterung, mitochondrialer Dynamik, Morphologie und Fitness und werden durch vermehrte Dysfunktion von Mitochondrien bei progressiven Alterskrankheiten wie Morbus Alzheimer (MA) und Morbus Parkinson (MP) bestätigt [10, 11]. Unsere neuesten Erkenntnisse demonstrieren Änderungen der mitochondrialen Dynamik in verschiedenen MA- und MP-Modellen, mit verminderter ROS-Resistenz und vermehrter mitochondrialer Dysfunktion, und zeigen so eindrücklich die Relevanz der mitochondrialen Dynamik für den Alterungsprozess des Menschen.

### Danksagung

Die Arbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, das integrierte Forschungsprogramm MIMAGE (CT 2004-512020) der EU, sowie durch den Exzellenzcluster

„Macromolecular Complexes“ und das Center for Membrane Proteomics der Goethe-Universität Frankfurt a. M. gefördert.

## Literatur

- [1] **Ramadass R, Bereiter-Hahn J** (2008) How DASPMI reveals mitochondrial membrane potential: Fluorescence decay kinetics and steady-state anisotropy in living cells. *Biophys J* 95:4068–4076.
- [2] **Pizzo P, Pozzan T** (2007) Mitochondria-endoplasmic reticulum choreography: structure and signaling dynamics. *Trends Cell Biol* 17:511–517.
- [3] **Harmann D** (1972) The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatric Soc* 20:145–147.
- [4] **Busch K, Bereiter-Hahn J, Wittig I, Schägger H, Jendrach M** (2006) Mitochondrial dynamics generate equal distribution but patchwork localisation of respiratory complex I. *Mol Membr Biol* 23:509–520.
- [5] **Tatsuta T, Langer T** (2008) Quality control of mitochondria: protection against neurodegeneration and ageing. *EMBO J* 27:306–314.
- [6] **Kowald A, Jendrach M, Pohl S, Bereiter-Hahn J, Hammerstein P** (2005) On the relevance of mitochondrial fusions for the accumulation of mitochondrial deletion mutants: A modelling study. *Ageing Cell* 4:273–283.
- [7] **Jendrach M, Mai S, Pohl S, Vöth M, Bereiter-Hahn J** (2008) Short- and long-term alterations of mitochondrial morphology, dynamics and mtDNA after transient oxidative stress. *Mitochondrion* 8:293–304.
- [8] **Unterluggauer H, Hütter E, Voglauer R, Grillari J, Vöth M, Bereiter-Hahn J, Jansen-Dürr J, Jendrach M** (2007) Identification of cultivation-independent markers of human endothelial cell senescence in vitro. *Biogerontology* 8:383–397.
- [9] **Terman A, Gustafsson B, Brunk UT** (2006) Mitochondrial damage and intralysosomal degradation in cellular aging. *Mol Aspects Med* 27:471–82.
- [10] **Hauptmann S, Scherping I, Dröse S, Brandt U, Schulz KL, Jendrach M, Leuner K, Eckert A, Müller WE** (2008) Mitochondrial dysfunction: An early event in Alzheimer pathology accumulates with age in AD transgenic mice. *Neurobiol Aging*, DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.12.005.
- [11] **Gispert S, Ricciardi F, Kurz A, Azizov M, Hoepken HH, Becker D, Voos W, Leuner K, Müller WE, Kudin AP, Kunz W, Zimmermann A, Roeper J, Wenzel D, Jendrach M, Arencibia MG, Ruiz JF, Stanke M, Rohrer H, Barrera M, Reichert A, Rüb U, Chen A, Nussbaum RL, Auburger G** (2009) PINK1-deficient mice show reduced movement activity and striatal dopamine, as well as progressive mitochondrial dysfunction. *PLoS ONE*, im Druck.

## Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Jürgen Bereiter-Hahn  
 Institut für Zellbiologie und Neurowissenschaft  
 Goethe-Universität Frankfurt  
 Max-von-Laue-Straße 9  
 D-60438 Frankfurt a. M.  
 Tel.: 069-798-29608  
 Fax: 069-798-29607  
 bereiter-hahn@bio.uni-frankfurt.de

## AUTOREN



### Jürgen Bereiter-Hahn

Jahrgang 1941. 1960–1966 Studium der Biologie, Biochemie und Philosophie an der Universität Frankfurt a. M. 1972 Habilitation. 1973 Forschungsaufenthalt bei Prof. Chance in Philadelphia. Seit 1972 Professur für Zellbiologie an der Universität Frankfurt.



### Marina Jendrach

Jahrgang 1968. 1986–1993 Studium der Biologie an der Universität Kiel. 1998 Promotion am Institut für Virologie und Immunbiologie an der Universität Würzburg. 1998–2002 Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Abteilung Naturheilkunde und Klinische Pharmakologie, Universität Ulm. Seit 2002 Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Arbeitsgruppe Kinematische Zellforschung; seit 2008 zusätzlich in der Arbeitsgruppe Experimentelle Neurologie, Universität Frankfurt a. M.