

**OVERLEVEN MET STRESS**  
**-een meer dan fysiologische analyse-**

Rede uitgesproken door

**A.D.F. Addink**

bij het afscheid als hoogleraar Dierfysiologie  
aan de Universiteit Leiden  
op 31 maart 2000



Mijnheer de Rector magnificus, Mijnheer de Decaan,  
Zeer Gewaardeerde Toehoorders,

<< Gaudeamus igitur, scientes vitae dum sumus,  
post iucundam juventutem, senectus satisfaciens evoluit ... >>

(Laten wij ons verheugen, zolang wij biologen zijn,  
na de prettige jeugd, ontrolt zich de voldoening gevende ouderdom ..)

Met deze positieve variant op het "Gaudeamus" stel ik vast, dat het vandaag 31 Maart 2000 is, na ruim 25 jaar Dierfysiologie in Leiden, tja, zo snel gaat dat!  
Als rode draad zal door dit college het ecofysiologisch onderzoek aan gewervelde dieren lopen, dus dieren in relatie tot hun milieu, dat veroorzaakt soms enige stress; enerzijds reductionistisch onderzoek, dat wil zeggen de individuele moleculaire reactie om bijvoorbeeld energie op te wekken, anderzijds holistisch onderzoek door het gehele intacte dier te beschouwen of te analyseren. Eén en ander veroorzaakt door het beschikbaar komen van meer verfijnde meetmethoden. En tijdens dat verhaal zal ik kleine excursies maken naar verwante zaken, letterlijk dan wel overdrachtelijk.

Het leven van de meeste organismen is afhankelijk -direct of indirect- van de zonne-energie; en om een Wagenings collega aan te halen:

"Life is a delay of energy decay", dat klinkt somberder dan het is!

Namelijk energie is onmisbaar voor het verschijnsel leven, maar er treedt ook altijd verlies op, meestal in de vorm van warmte. Energie is de drijvende kracht voor het leven en welzijn! Met genoeg adenosinetriphosfaat, afgekort tot ATP, zijn er vele situaties goed te overleven. Een levend organisme of het nu warmbloedig of koudbloedig is, meercellig of eencellig dier, het staat dus voortdurend warmte af aan zijn omgeving. Uiteindelijk, afgezien van groei, gaat alle energie verloren als warmte en kinetische energie.

Ik zal in dit college enkele aspecten van de fysiologie van vissen en het milieu belichten: als een fysiologisch modelorganisme voor gewervelde dieren. Daarbij zal ik hier en daar een vergelijking met de menselijke fysiologie niet uit de weg gaan; historisch gezien kwam dat voort onder andere uit de jaarlijkse serie colleges en practica, die dr Smit – hier aanwezig - op een voorbeeldige wijze voor de biologische en farmaceutische studenten verzorgde en die ik toen van hem heb overgenomen. Naast de studenten biologie en biofarmaceutische wetenschappen zijn daar de chemische studenten nog aan toegevoegd, omdat die ook steeds meer biologisch georiënteerd worden zijn in de loop van de jaren '80 en '90.

Tijdens de voorbereidingen hiervoor kwam ik steeds meer tot de overtuiging dat de evolutie, de regulatie en de adaptatie van de stofwisseling in gewervelde dieren reagerend op zijn omgeving grote overeenkomsten aan te tonen zijn; ECHTER... de vis

kan zeker niet spreken of schrijven over zijn gewaarwordingen anders dan enige gedragsveranderingen.

Elk levend organisme produceert energie ten behoeve van zijn overleven.

De biochemische processen voor deze ATP-productie in de verschillende weefsels zijn allemaal individueel te analyseren; maar dan? Kan men hiervan zomaar een optelsom maken? Nee, dat lukt niet nauwkeurig genoeg !

Via een precieze meting van de WARMTEPRODUCTIE aan een intact en levend organisme, krijgt men inzicht in de totale stofwisselingsactiviteit, respectievelijk de energieproductie van die dieren of cellen.

Dit is het principe van de calorimetrie, die voor levende warmbloedige organismen reeds 200 jaar bestaat; in 1790 stelde Lavoisier met zijn ijscalorimeter vast dat een cavia warmte produceert en zuurstof verbruikt.

Op basis van de recente moderne electronica heeft de fabrikant Sétaram uit Frankrijk voor onze onderzoeksgroep met behulp van de speciale financiering van NWO een unieke één liter-microcalorimeter(GF 108)gebouwd om de warmteproductie van koudbloedige cellen, weefsels of intacte dieren vast te leggen. Voor de vissen is er een doorstroomsysteem met warmtewisselaars ingebouwd, zodat het nu een differentiële doorstroom-microcalorimeter is geworden. Het doorstromen dient ook het continu afvoeren van afvalstoffen zoals koolzuur en ammoniak.

Daarnaast kan het zuurstofverbruik gemeten worden van de experimentele vissen oftewel de respirometrie tijdens de calorimetrie. (1).

Het leven kent perioden van rust, activiteit tot maximale activiteit -denk aan sporten daarnaast stress. Stress kruidt het leven ! Stress is als syndroom gedefinieerd door Hans Selye (1907-1982). (6).

Er zijn interacties met het milieu of de omgeving van een dier via ademhaling , voeding, temperatuursverschillen of meer schadelijke zaken, zoals zware metalen of andere vergiften.

De fysiologisch-chemische processen, die ten grondslag liggen aan de energieproductie en het bijgaande warmteverlies zijn deels afhankelijk van zuurstof de zgn oxydatieve reacties en deels onafhankelijk, de anaërobe reacties. Bij de oxydatieve reacties wordt er water gevormd uit de verbrandingsreacties met zuurstof. De meeste gewerkte dieren zijn strikt afhankelijk van zuurstof gas uit de lucht; denk maar aan het functioneren van onze hersenen. Bij lagere vertebraten, zoals enkele anoxie-tolerante vissoorten, bestaan er echter ontsnappingsreacties, zoals die ook voor anaërobe eencelligen bekend zijn namelijk de alcoholproductie in biergist. Bij de verwerking van glucose wordt waterstof gekoppeld aan acetaldehyde en niet aan zuurstofgas, terwijl dit proces, de glycolyse, toch energie in de vorm van ATP oplevert. Dit is het geval bij de gewone goudvis, die dankzij de alcoholproductie bij 20 °C watertemperatuur 16

uur zonder zuurstof kan overleven. Daarom is de goudvis een huisdier, dat redelijk goed ongunstige omstandigheden overleeft. In evolutionair opzicht heeft de goudvis of zijn voorouder de genetische informatie voor het enzym acetaldehyde-reductase in zijn eigen DNA kunnen inbouwen, vanuit een gist ??

In het calorimeterwater is in aanwezigheid van stikstof-doorborreld water de geproduceerde alcohol van de goudvis duidelijk aantoonbaar.

Alcohol is zowel water als vet-oplosbaar, het molecuul draagt geen positieve of negatieve lading, dat heeft zo zijn voor- en nadelen !

Alcohol kent daardoor in het lichaam geen grenzen.

Voor vissen is dat een groot voordeel, namelijk de concentratie alcohol blijft laag in de weefsels van het lichaam. De alcohol verlaat het lichaam en lost meteen op in het omringende water op.

Voor gewervelde dieren op het land met een droge huid is dit mechanisme niet voorhanden: geproduceerde of ingeslikte alcohol is nog steeds water en vetoplosbaar en komt daardoor in alle weefsels.

De droge en slecht doorlaatbare huid is echter een grote barriere en ook de longen hebben ook een beperkte capaciteit. Alcohol is in stofwisselingsopzicht geen goede oplossing voor leven zonder zuurstof. Aldus ondervinden de hersenfuncties van landdieren inclusief de mens bepaalde effecten van alcohol.

In verschillende publicaties van enkele maanden geleden, herfst 1999, is de reële en indrukwekkende dynamiek van hersenweefsels en functies nader aangetoond: activiteit, groei en afsterven van hersencellen komen veel vaker voor dan men 5 – 10 jaar geleden voor mogelijk hield.

De groei van hersencellen is van zowel activiteit als leeftijd afhankelijk. Een potentieel talent kan tijdens de ontwikkeling van de hersenen van kinds af aan tot nog ver in de middelbare school-leeftijd ontwikkeld worden qua hoeveelheid van grijze cellen, respectievelijk zenuwnetwerken. Zo blijkt uit een Engels onderzoek van verleden jaar, dat actieve taxi-chauffeurs van Londen, waarschijnlijk als gevolg van hun kennis van de plattegronden de grootste hersenomvang bezitten.

De gevoeligheid van hersenfuncties wordt beïnvloed door alcohol, dat was al zeer lang bekend. Echter het is recent gebleken dat tijdens de groei van de hersenen in het ongeboren kind in de laatste maanden van de zwangerschap alcohol een nadelige interactie aangaat met de receptoren van de zich ontwikkelende zenuwcellen. Een feit dat in biologisch-toxicologisch opzicht geen verbazing oproept. (3) Vissen met eieren zullen hier geen last van hebben, uitgezonderd misschien levendbarende haaien. Teruggaand naar de goudvis in stikstof-doorborreld water in de calorimeter bleek dat deze soort zijn energieproductie drastisch had weten in te perken, slechts 1/5 van

normaal, dat wil zeggen in afwezigheid van luchtzuurstof. Dat duidt op een hormonale regulatie, maar hierover later.

De ECHTE DYNAMIEK van de vorming en verbruik van ATP is met behulp van de microcalorimetrie moeilijker te meten, gegeven de traagheid van het systeem en het feit dat de warmteproductie over het gehele dier en alle chemische processen daarin wordt verzameld.

Tegenwoordig kan men de hoeveelheid ATP niet-invasief bepalen, dat wil zeggen de weefsels van een proefdier hoeven niet meer geïsoleerd te worden voor een chemische bepaling in vitro.

In intacte dieren blijkt de ATP uitstekend te bepalen, namelijk met behulp van de kernspinresonantiemeting van de fosfaatmoleculen die in het ATP in de weefsels voorkomen.(2)

Met behulp van radiogolven reageert een fosfaatmolecuul in de weefsels van een intact dier, dat zich in de magneet opstelling bevindt. De 3 fosfaatmoleculen in een ATP-molecuul reageren ook nog verschillend op de ingestraalde radiogolf-energie, zodat een spectrum tot stand komt waaruit kwantitatief af te leiden is hoe hoog de concentratie van dit energierijke molecuul is.

De opstelling is vergelijkbaar met de magnetische resonantie of MRI -apparatuur in een ziekenhuis voor de niet-invasieve beeldvorming van weefsels in het menselijk lichaam, daarbij speelt de waterstof- in plaats van fosfor-resonantie de hoofdrol.

De vissen worden in een doorstroomcel onder zuurstofrijke of zuurstofarme condities in de magneet van de Bruker-apparatuur (400 MSL)gehouden, terwijl met een radiogolf zender/ontvanger systeem het ATP-gehalte in de spier van deze levende vis worden bepaald. Zo lang er maar zuurstofrijk water doorstroomt, houdt de vis dit gemakkelijk 4 tot 5 dagen vol, en daarna zwemt hij weer in het aquarium.

Een woord van dank is hier op zijn plaats aan collega Lugtenburg als hoofd van de NMR-afdeling, alsmede Cees Erkelens en zijn medewerkers, die allen met groot enthousiasme de biologische vraagstelling van onze medewerkers en promovendi tot een uitstekend resultaat hebben weten te begeleiden. (2)

Voor de feitelijke constructie van de doorstroomcellen van zowel de NMR-opstelling als ook de calorimeteropstelling wil ik hier graag de fijnmechanische werkplaats van de biologie, onder de bezielende leiding van Frans Körner, bedanken. (1)

In feite hebben deze beide methodieken geleid tot een efficiënter en diervriendelijker fysiologisch experimenteren: namelijk de controle gegevens kunnen zowel tevoren als na afloop van het experiment aan hetzelfde intacte dier worden ontfoetseld.

Als resultaten van deze metingen kan gesteld worden dat goudvissen zuurstofloze perioden overleven, omdat zij hun ATP-gehalte op peil kunnen houden dankzij het alcohol-productie systeem. Gelijktijdig wordt de stofwisseling 3 tot 4maal onder-

drukt. Daarmee wordt een verzuring door melkzuur voorkomen. Een kalm gedrag is voor het overleven van groot belang is.

Zo zijn wij dan aanvankelijk met behulp van de biochemische via fysische en fysisch-chemische technieken achter de dynamiek van de energievoorziening van intacte vissen gekomen tijdens verlaagd of een afwezig zuurstof-gehalte in het water. Dit geheel wordt in de vis hormonaal gestuurd, hetgeen op een lichte stress-situatie duidt.

Overigens deze milieusituatie en vervolgens de "hormonale sturing" binnen het organisme leidt op dit punt van het ENERGIE en STRESS-verhaal naar een vergelijking ,wanneer men binnen de universitaire organisatie werkt. Hierbij worden dan de financiën aequivalent gesteld aan de energie, waarmee men overleeft.

Het gaat over de "MEEVALLER" van de Staatsfinanciën en De VERENIGING VAN SAMENWERKENDE NEDERLANDSE UNIVERSITEITEN, de VSNU. Diens voorzitter bleek ook nog in Februari 2000 te bescheiden te zijn in financieel opzicht: 400 miljoen extra was zijn verzoek namens alle universteiten -Was dat zuurstofgebrek?;- de meevaller voor de schatkist is vele miljarden groter. Dus vraag danook 2 miljard voor de VSNU!! (5)

Maar nu in Leiden ..... , zoals dat heet "LEIDEN IS IN LAST", want de gehele Leidse universiteit moest volgens eigen inzicht juist in het jaar 2000 15 % bezuinigen zoals 3 of 4 jaar geleden was vastgesteld DOOR WIE ...? ..... Deze genoemde voorzitter heeft aangekondigd dat hij in de zomer opstapt om elders een Ziekenhuis te gaan runnen, zonder dat hij er nog 2 miljard per jaar van heeft kunnen maken.

Terzijde ....deze tekst heb ik 4-5 weken geleden geschreven, maar sinds gisteren de berichten van de REKENKAMER binnen zijn gekomen over "riskant beleggen" doe ik er hier -nog somberder -het zwijgen toe, dit soort onderzoek laten wij aan de Raad van Toezicht over, TRANSPARANT is dit alles NIET !!

In de afgelopen 25 jaar zijn er iets te veel rapporten geschreven, die door universitaire WETENSCHAPPERS gelezen moesten worden. Zij hadden zich in plaats van daarvan beter met het onderwijs of het onderzoek bezig te kunnen zijn. De taak Beheer en Bestuur is daarom in dat opzicht te groot qua tijdsbeslag voor de wetenschappers, zeker gezien het resultaat. Ik ben even somber over het aantal rapporten dat landelijk ook het licht ziet.

Achterom kijkend is dat jammer !

Laten wij zeker voor experimentele vakken een gezonde en reële begroting kunnen maken aan de basis, waarin ook afschrijving of prijsverhoging op een industriële wijze worden meegenomen. Universitair Onderwijs en daarmee samenhangend Onderzoek is een CULTUURGOED, dat is echt ONMISBAAR voor de SAMENLEVING.

Voor de toekomst hoop ik, dat de diverse besturen van de universiteiten COLLECTIEF hun financiële zaak meer en beter in DEN HAAG verdedigen en weten te realiseren in dit nieuwe millenium! Wij blijven OPTIMIST !

Terug naar onze eigen rode draad: de effectieve hormonale regulatie van de energiestofwisseling die in deze karperachtige vissen tijdens zuurstofgebrek voorhanden blijkt te zijn.

Karpers zijn hypoxie-tolerant dat wil zeggen dat zij altijd enige zuurstof tot hun beschikking moeten hebben om te overleven. De goudvis is anoxie-tolerant, leeft dus tijdelijk zonder zuurstof.

Hierbij komt het stress-verschijnsel bij deze lagere gewervelde dieren om de hoek kijken, met een vergelijkbare set van hormonen die daarbij een rol spelen zoals ook voor de mens gelden.

Voor alle gewervelde dieren blijkt dat in de hersenen de hypothalamus de hypofyse aanstuurt als gevolg van signalen die door de vis of mens van buiten of via eigen circadiane systemen tot stand worden gebracht. Vanuit de hypofyse wordt tijdens stress de bijnier geactiveerd tot productie van het bijnierschorshormoon, het cortisol, dat naast de energiestofwisseling tal van hersenfuncties beïnvloed, waaronder het immuunsysteem. (4)

Ook het bijniermerg met de dopamine-hormoonfamilie, zoals adrenaline en noradrenaline wordt tijdens stress geactiveerd.

Tijdens zuurstofgebrek in vissen is dit gehele systeem geactiveerd, zoals op ons laboratorium is aangetoond.

Onder gunstige voedingsomstandigheden en overige milieucondities zijn de hersenen ook betrokken bij de voortplanting: Ook daar speelt het hypothalamus-hypofyse systeem en de reproductieweefsels steeds een belangrijke rol; In een wat extreme vorm kan ik het volgende voorbeeld geven van een mariene goudkleurige vis van circa 12 cm. Het speelt zich af in de Golf van Aquaba, bij de Rode Zee, waar ik de visjes zelf heb zien zwemmen in schooljes van 20 tot 40 stuks. Op één na zijn dit allemaal oranje wijfjes, de harem van één rood gekleurd mannetje, dat op kop zwemt. Echter wordt dit mannetje door een roofvis opgegeten, dan neemt het eerste in rangorde oranje wijfje zijn plaats in; het overleven van de soort wordt gered met behulp van een transsexuele hormonale actie, Dit gebeurt kennelijk op basis van waarneming via de ogen en/of de geur van de vis, die dit verwerkt in de hersenen – hypothalamus en hypofyse. Of dit ook tot stressverschijnselen leidt, is onbekend, maar het nieuwe mannetje heeft er wel een rode kleur mee opgelopen.

Tot slot wil ik nog iets melden over de stressbestrijding op moleculair niveau en de beschadiging van eiwitmoleculen als gevolg van stress, hetzij zuurstofgebrek, temperatuurschok of zware metalenschade.

Eiwitmoleculen bestaan uit lange ketens aminozuren, die in compacte geordende vorm zijn opgerold; alleen zo zijn de meeste enzymen actief om het daartoe even te beperken. Tijdens temperatuurstijging of energiegebrek kan de vorm van deze eiwitten verstoord worden. Dat betekent dat een aantal functies verloren gaan, en dat is niet ten voordele van het overleven van stress.

In 1962 zijn er als gevolg van stress in de vorm van een plotselinge temperatuurstij-

ging van 15 tot 20 oC in de kern van cellen van bananenvliegjeslarven specifieke activiteitsreacties waargenomen, die leiden tot de aanmaak van speciale heatshock eiwitten. Tegenwoordig blijkt dat deze eiwitten, synoniem met chaperone-eiwitten, ook in alle dieren inclusief de mens voorkomen. (6)

De heatshock eiwitten zorgen ervoor als een soort-eerste-hulp-bij-ongelukken-moleculen (EHBO-eiwitten) voor dat de vorm respectievelijk het transport van andere eiwitten of enzymen intact blijft. Zij begeleiden - weliswaar ATP-afhankelijk- de licht beschadigde of geplaagde eiwitten zodanig dat de schade zoveel mogelijk beperkt blijft.

En ook bij de karpers hebben wij kunnen vaststellen zowel na zuurstofgebrek alsook na grote temperatuurstijging dat de in ieder geval één familie heatshock-eiwitten, de zgn hsp 70 zijn beschermende functie tegen stress uitvoeren. Overigens is het energieverbruik voor deze syntheses heel gering, zoals wij uit de calorimeter experimenten weten.

Het effect van het hormoon CORTISOL wordt in iedere cel in de kern verwerkt; daarbij zijn zelfs 2 heat shock eiwitten betrokken namelijk hsp 90 en hsp 70. Het resultaat van de interactie van cortisol met de hormoonreceptor op het DNA is uiteindelijk de productie van een nieuwe hoeveelheid eiwit of enzyme, dat onder andere ook in de energiestofwisseling kan participeren.

De methodiek om deze heat shock eiwitten te analyseren is een immuno-chemische, dat wil zeggen met behulp van door afweer verkregen antistoffen, wordt het oppervlak van het heat shock eiwitmolecuul karakteristiek herkend. Uit ons onderzoek blijken in de verschillende hersendelen van karpers deze hsp-eiwitten hun functies effectief uit te voeren.

Met behulp van meer vissoortspecifieke immunochemische detectie-eiwitten zullen ook andere families heatshockeiwitten onderzocht kunnen worden.

In het begin van het onderzoek naar het genoom en het daaropvolgend DNA-onderzoek werd er in biologisch oppervlakkige toon gesproken over sense- en nonsense-DNA; dat is tegenwoordig volledig achterhaald, want de ingenieuze natuur heeft nog veel meer genuanceerde regelsystemen -- veelal met behulp van regeleiwitten -- dan wij nu al kennen, daarnaast nog de feitelijke genactiviteit en de histonen.

In analytisch technisch opzicht zal er in de nabije toekomst nog veel kunnen veranderen in de fysiologisch toe te passen technieken, zoals de nanotechnologie voor moleculaire detectie, waarmee in intacte dieren de regelsystemen het transport en de stofwisseling nog precieser omschreven kunnen worden; dit soort technieken zal dan natuurlijk ook voor ziekte-bestrijding respectievelijk -detectie kunnen worden ingezet. (7)

Daarom blijft het Fysiologisch onderzoek aan dieren uitermate spannend. En ook

ONMISBAAR, zeker gezien de genoomdefinitie van het DNA, respectievelijk de genetische manipulatie ook ten behoeve van de gezondheidszorg.

Het is verheugend dat er hard gewerkt wordt aan een opvolger in de deze discipline, - onder welke naam dan ook -, immers een opleiding Biologie bestaat niet zonder DIERFYSIOLOGIE.

In 1977 kwam een tweede-Kamer-commissie in Leiden op bezoek samen met College van Bestuur van de Universiteit Leiden de behuizing van Laboratoria te onderzoeken, waaronder de Dierfysiologie aan de Kaiserstraat. Dit leidde tot de verhuizing naar het Gorlaeus laboratorium met een nieuw aquarium.

Graag wil ik mijn dank uitspreken voor voorkómmende samenwerking gedurende ons verblijf van meer dan 20 jaar in het Gorlaeus Laboratorium aan de Einsteinweg te midden van chemici en farmaceuten, van BIOSPEC tot BIOMAC. De directie en ook alle dienstverlenende afdelingen van het Gorlaeus Laboratorium hebben zich steeds constructief, vriendelijk en behulpzaam opgesteld. Dat is heel erg veel waard voor het dagelijks welzijn van iedereen.

Een woord van dank richt ik graag aan alle recente en vroegere medewerkers, promovendi alsook gemotiveerde studenten van de afdeling Dierfysiologie, die allen hun onmisbare bijdrage aan de verschillende aspecten van het zoeven gememoreerd onderzoek hebben bijgedragen.

Mijn vrouw, lieve Marian, jou dank ik voor alle moed, beleid en trouw, alsmede het inhoudelijk overleg vanuit je functie als archeoloog en museumdirecteur.

Kortom GAUDEAMUS, VIVAT ACADEMIA ! Deze zomer vieren wij het Lustrum ! Ik heb gezegd.

Literatuur :

- 1) Addink A.D.F., Van Waversveld J., Van den Thillart G., Van der Boon J., Lugtenburg J. and Van Waarde A.: Direct and indirect calorimetry and magnetic resonance spectroscopy on intact fish, during normoxia and anoxia, Proc. 6th ISMAB Conference, Innsbruck-Schröken 1988 : 140-141 , Thieme Verlag Stuttgart

Addink A.D.F. , van den Thillart G., Smit H. and van Waversveld J. : A novel 1 liter flow-through calorimeter for heat production measurements on aquatic animals without stress , *Thermochim.Acta* 1991, 193: 41-48

- 2) Van Waarde A., Van den Thillart G., Erkelens C., Addink A.D.F and Lugtenburg J.: Functional coupling of glycolysis and phosphocreatine utilization in anoxic fish muscle , *J.Biol.Chem.*1990, 256 : 914-923

- 3) Ikonomidou Chr. et al. : Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome , *Science* 2000, 287 : 1056-1060

- 4) Pratt W.B. and Toft D.O. : Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones , *Endocrin.Rev.* 1997,18: 306-360

McBurnett K. et al : Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior , *Arch. Gen. Psychiatry* 2000, 57: 38-43

- 5) Meevallers en Zelfstandige Bestuursorganen , NRC 30 Maart 2000  
"Rijk heeft geen overzicht meer " en "Iedereen stort zich op meevallers"

- 6) Fink A.L. and Goto Y.ed.: Molecular chaperones in the life cycle of proteins, New York : Dekker 1998

Fink A.L. :Chaperone-mediated protein folding, *Physiol.Rev.* 1999 , 79: 425-449

Csernely P: Stress of life : from molecules to man ,*Annals of N.Y. Acad. of Sci.*1998, 851:1-547

- 7) Nanotechnologie :  
Bionieuws 2000 10 : 4  
Internet : [www.foresight.org](http://www.foresight.org) ,nanotechnology

