

CELIČNO STARANJE

CELL AGEING

Raja Gošnak Dahmane, Samo Ribarič

KLJUČNE BESEDE: staranje, homeostaze, oksidativni stres

KEY WORDS: ageing, homeostasis, oxidative stress

Izvleček – Staranje je postopno odpovedovanje homeostaze v odsotnosti bolezni, poškodbe ali njihovih posledic. Starostne spremembe se prikažejo na celotnem organizmu kot zmanjšana sposobnost preživetja pod stresom, na posameznem organu kot zmanjšana delovna rezerva nato pa kot motena oskrba celega organizma ter na stopnji posamezne celice kot spremenjena hitrost presnove beljakovin, lipidov, ogljikovih hidratov, DNA in RNA. Pomembna problema pri raziskovanju staranja sta: (a) ločevanje vzrokov za starostne spremembe od posledic in (b) kako prepoznati tiste starostne spremembe, ki pomembno vplivajo na dolžino življenjske dobe. Starostne spremembe pri človeku upočasnijo zmanjšanje oksidativnega stresa organizma z uživanjem antioksidantov ali z omejevanjem vnosa kalorij (kalorično stradanje).

Abstract – Ageing can be defined as a progressive failure of body homeostasis in the absence of illness, trauma or their consequences. Age-related-changes are a reduced tolerance to stress, a reduced functional reserve of individual organs and an impaired metabolism of proteins, lipids and carbohydrates, DNA and RNA on a cellular level. The two key challenges of studying age-related-changes are the distinction between cause and effect, and the detection of age-related-changes that have an important impact on life expectancy. In human, the aging process can be attenuated by reducing oxidative stress in the body – by the ingestion of antioxidants or caloric restriction.

Uvod

Staranje je postopno odpovedovanje homeostaze v odsotnosti bolezni, poškodbe ali njihovih posledic. Starostne spremembe se prikažejo na celotnem organizmu kot zmanjšana sposobnost preživetja pod stresom, na posameznem organu kot zmanjšana delovna rezerva nato pa kot motena oskrba celega organizma ter na stopnji posamezne celice kot spremenjena hitrost presnove beljakovin, lipidov, ogljikovih hidratov, DNA in RNA. Pomembna problema pri raziskovanju staranja sta: (a) ločevanje vzrokov za starostne spremembe od posledic in (b) prepoznavanje tistih starostnih sprememb, ki pomembno vplivajo na dolžino življenjske dobe.

Starostne spremembe niso enake bolezenskim spremembam, tudi če so podobne in hkratne (1). Zato pri človeku včasih težko ločimo med bolezenskimi in starostnimi spremembami, ker s starostjo narašča tveganje za razvoj določenih bolezni. Na primer: (a) povišan krvni sladkor na tešče je starostna sprememba, sladkorna bolezen tipa II pa bolezenska sprememba in (b) upadanje kognitivnih sposobnosti je pogosta starostna sprememba, demenca pa je pogosta bolezenska sprememba po 65. letu (1). Najboljši vzorec prebivalstva za spremljanje starostnih sprememb so

športniki, kjer tudi lahko izmerimo pomembno upadanje telesnih in duševnih sposobnosti že po 30. letu starosti (2).

Pri človeku ločimo biološko in kronološko starost organizma. Kronološka starost organizma je odvisna samo od števila let življenja, biološka pa tudi od upada duševnih in telesnih sposobnosti pri določenih starosti. Kljub številnim raziskavam znanstvenikom še ni uspelo določiti označevalcev za merjenje biološke starosti posameznika. Med obetavnimi kandidati za biološke označevalce starosti sta obseg glikozilacije kolagena in delež limfocitov-T CD4 (3, 4).

Teorije staranja

Literatura navaja številne razlage za mehanizem staranja, ki jih lahko razdelimo v dve skupini: teorije o neizogibnosti staranja in teorije o razvoju starostnih sprememb (5). V prvo skupino sodijo teorije, ki razlagajo staranje kot neizogiben del življenja; na primer dolžina življenja je (a) obratno sorazmerna z intenzivnostjo presnove v organizmu (6, 7); (b) omejena s številom celičnih delitev (Hayflickov pojav [8]); (c) odvisna od števila mutacij (napak) pri prepisovanju DNA in prevajanju RNA (9, 10) ali (d) določena s

hitrostjo odpovedovanja neuroendokrinega (11) ali imunskega sistema (12). Druga skupina teorij, teorije o razvoju starostnih sprememb, trdijo, da je staranje posledica enega ali majhnega števila mehanizmov. Dokazi za te teorije so (a) omejitve vnosa kalorij upočasnjuje starostne spremembe na sesalcih (13) in (b) mutacije v enem genu podaljšajo življenjsko dobo večceličnih organizmov (14).

Starostne spremembe v celici

Oksidativni stres

Med oksidativno presnovo v celici nastanejo prosti radikali, ki lahko z vezavo na celične makromolekule motijo potek biokemičnih reakcij (15). To stori na dva načina: (a) oksidirane makromolekule imajo spremenjene biokemične lastnosti in (b) produkti vezave prostih radikalov na makromolekule so toksični. Škodljivo delovanje prostih radikalov v celici omejuje »lovilci« prostih radikalov, kot na primer vitamin E in C, urat in β karoten, ter specializirani encimski kompleksi (superoksidne dismutaze, glutathion peroksidaze in katalaze). Poleg opisanega preventivnega mehanizma ima celica tudi mehanizme za popraviljanje poškodb na DNA, beljakovinah in celičnih membranah; bodisi z obnovo ali z njihovo odstranitvijo (na primer glavna poškodovanih beljakovin se razgradi na encimskem kompleksu proteasomu).

Sposobnost celice, da omeji in odpravi škodljive posledice prostih radikalov (15, 16), pada s starostjo. To spremembo lahko izmerimo kot nabiranje oksidativno spremenjenih makromolekul (na primer beljakovin, DNA in lipidov) in njihovih razgradnih produktov v celici (17).

Presnova beljakovin

Presnova beljakovin se spreminja s starostjo zaradi kovalentnih (18) in nekovalentnih (19) biokemičnih reakcij. Obe skupini reakcij spreminjata zgradbo, biološko aktivnost in presnovo beljakovin (upočasnjena sta tako sinteza – zaradi napak pri prepisovanju mRNA – kot razgradnja beljakovin v proteasomu). Spremembe v zgradbi beljakovin zaradi nekovalentnih reakcij so reverzibilne, napake se lahko odpravijo med razvijanjem in ponovnim zvižanjem beljakovine. Kovalentne spremembe zgradbe beljakovin pa so ireverzibilne. Kovalentne biokemične reakcije celičnih beljakovin so: (a) oksidacija s prostimi radikali, (b) neencimska glikozilacija z monosaharidi in (c) deaminacija asparaginskih ostankov. Med nekovalentne biokemične reakcije celičnih beljakovin pa uvrščamo: (a) starostne spremembe konformacije beljakovin in agregacija beljakovin in (b) nastanek amiloida.

Presnova jedrne in mitohondrijske DNA

Starostne spremembe presnove jedrne DNA lahko izmerimo kot (a) povečano frekvenco zarodnih in somatskih celic s spremenjenim številom kromosomov ali z nepravilno oblikovanimi kromosomi (20), (b) povečano frekvenco genov s spremenjenim zaporedjem nukleotidov (21); na primer zaradi substitucije, duplikacije ali delecije nukleotidov (22) in povečana frekvenca konformacijskih sprememb DNA; na primer metilacija DNA s prenosom metilne skupine iz S-adenozilmetionina (22). S starostjo celice ne narašča samo frekvenca motenj v zgradbi DNA, ampak naraste tudi neučinkovitost encimov, ki popravljajo napake (23). Starostne spremembe v mitohondrijski DNA so podobne starostnim spremembam v jedrni DNA; na primer povečevanje frekvence genov s spremenjenim zaporedjem nukleotidov in padanje učinkovitosti encimov, ki popravljajo napake v mitohondrijski DNA. V življenjskem obdobju celice je mitohondrijska DNA bolj izpostavljena oksidativnemu stresu kot jedrna DNA, zato ker nastane glavna poškodovanih prav v mitohondriju in ker mitohondrijska DNA ni obdana z beljakovinami – histoni (24, 25).

Izražanje genov

Uravnavanje vseh življenjskih funkcij je odvisno od izražanja genov – prepisa nukleotidnega zaporedja jedrne in mitohondrijske DNA v beljakovino. Izražanje starostnih sprememb lahko izmerimo na treh mestih: (a) pri prepisovanju DNA v mRNA (transkripcija), (b) pri merjenju koncentracije mRNA (odvisne od ravnotežja med hitrostjo nastajanja in razgradnje) ter (c) pri prevajanju mRNA v aminokislinsko zaporedje (translacija) na ribosomih. Pri večini beljakovin pada s starostjo hitrost transkripcije, koncentracija mRNA in hitrost sinteze beljakovine (26, 27).

Upočasnjena transkripcija je posledica sprememb v zgradbi kromatina – na primer zmanjšana frekvenca acetilacije histonskih beljakovin (28) ter spremenjene zgradbe ali zmanjšane aktivacije transkripcijskih faktorjev (29, 30). Posledica obeh vrst sprememb je upočasnjena transkripcija zaradi zmanjšane hitrosti vezave transkripcijskih faktorjev na kromatin. Možni razlagi za zmanjšano sintezo beljakovin v starosti sta upočasnjena transkripcija in upočasnjeno podaljševanje aminokislinske verige (31).

S stresom aktivirane znotrajcelične biokemične poti

Pri preprostih živalih (na primer glistih) je dolgoživost povezana s prirojeno visoko toleranco za stres (32). Poskusi na nekaterih sesalcih tudi kažejo na takšno povezavo; na primer miši s kromosomi brez telomeraz imajo skrajšano življenjsko dobo in zmanjša-

no toleranco na stres (33). Pomembne molekule, ki posredujejo celični odgovor na stres so: (a) kinaze aktivirane z mitogeni, (b) fosfoinozid 3-kinaze, (c) Jak (Janus kinaza) in STAT (prenašalci signalov in aktivatorji transkripcije), (d) beljakovina p53, (e) beljakovine odgovora na toplotni stres (angl. *heat-shock protein*) in (f) jedrni faktor- κ B. Starostne spremembe v odzivu na stres so izmerili pri kinazah aktiviranih z mitogeni (34). Zmanjšana aktivacija kinaz aktiviranih z mitogeni (po stresu ali vezavi rastnega faktorja na receptor tirozinska kinaza) je posledica motnje v sklopitvi kompleksa receptor-agonist s kaskadno potjo kinaz aktiviranih z mitogeni (na primer zaradi spremembe v Shc adaptorski beljakovini).

Proliferacija in apoptoza

Število delitev humanih somatskih in zarodnih celic je omejeno z dolžino telomer na kromosomih. Po vsaki delitvi se telomere skrajšajo zaradi nezadostne aktivnosti telomeraze, encima ki vzdržuje dolžino telomer (35). Zmanjšana aktivnost telomeraze je posledica zmanjšane aktivnosti reverzne transkriptaze (TERT), podenote telomeraznega ribonukleinskega kompleksa (36). Ko se skrajšajo telomere pod določeno dolžino se proži »program«, ki najprej ustavi celično delitev (37) z nadaljnjim skrajševanjem telomer pa sproži še apoptozo (38). Hitrost krajšanje telomer zaradi celične delitve in število celičnih delitev sta odvisni od vrste celic (39). Pri celicah jeter, trebušne slinavke in rdečega kostnega mozga se telomere krajšajo počasneje kot pri celicah srca in ožilje, ledvic, pljuč, imunskega sistema (limfociti), živčevja, mišičja in skeleta. Zato se nekatera tkiva »starajo« hitreje kot druga, ker je proliferacija eden izmed mehanizmov za obnovo tkiva.

Apoptoza (ali programirana celična smrt) je celični mehanizem, ki omogoča odstranjevanje poškodovanih ali odvečnih celic brez škodljivih posledic za okolne, zdrave celice. Za razliko od celične nekroze je apoptoza proces, ki ga praviloma sproži fiziološki dražljaj, potrebuje ATP in poteka brez znakov vnetja (40). S starostjo pada občutljivost humanih celic za apoptotske dražljaje oziroma narašča število celic, ki se prenehajo odzivati na apoptotske dražljaje (41). Naraščanje deleža poškodovanih in na apoptozo odpornih celic vodi do motenega delovanja celega organa, kar se najprej pokaže kot zmanjšana funkcionalna rezerva, oziroma zmanjša toleranca za obremenitve.

Sklep

Upočasnitev starostnih sprememb

Glavni vir prostih radikalov v celici so biokemični procesi oksidativne presnove beljakovin, maščob in ogljikovih hidratov. Škodljive učinke prostih radika-

lov lahko omejimo na dva načina: (a) z uživanjem antioksidantov in (b) z omejevanjem vnosa kalorij (kalorično stradanje). Med najbolj raziskanimi antioksidanti sta vitamina E (42, 43) in C (44, 45) Dnevni vnos vitamina E, 200–400 IU, zmanjša tveganje za kardiovaskularne bolezni, katarakto in infekcije (poveča učinkovitost imunskega sistema). Vitamin C (dnevni vnos 100 mg/dan) naj bi preprečeval nastanek nekaterih očesnih bolezni (na primer katarakte in degeneracije makule) in sodeluje pri reaktivaciji vitamina E. Vloga vitamina C pri izboljšanju delovanja imunskega sistema še ni razjasnjena, morda je pomembna tudi vloga vitamina C pri sintezi glukokortikoidov v skorji nadledvične žleze.

Zmanjšanje oksidativnega stresa

Povezava med podaljševanjem življenjske dobe z omejevanjem vnosa kalorij (zmanjšanje vnosa kalorij za 10–30 % pod priporočeno dnevno količino) je znana že skoraj 70 let. Pojav so opisali pri različnih vrstah vretenčarjev od rib do sesalcev. Zanimiv je podatek, da so ugodne učinke kaloričnega stradanja (upočasnjene starostne spremembe) izmerili prav na vseh opazovanih organskih sistemih sesalcev.

Literatura

1. Basics of Geriatric Care – Biology of Aging. In: Beers MH and Berkow R eds. The Merck Manual of Geriatrics, 3rd edition. Merck Research Laboratories, 2000: 4.
2. Austad SN. Concepts and Theories of Aging. In: Masoro EJ and Austad SN eds. Handbook of the Biology of Aging, 5th edition. Academic Press, 2001: 3–22.
3. Sell DR, Kleinman NR, Monier VM. Longitudinal determination of skin collagen glycation and glycooxidation rates predicts early death in C57BL/6NNIA mice. FASEB Journal 2000; 14: 145–56.
4. Miller RA. When will the biology of aging become useful? Future landmarks in biomedical gerontology. Journal of the American Geriatrics Society 1997; 45: 1258–67.
5. Mayr E. Cause and effect in biology. Science 1961; 134: 1501–6.
6. Sacher GA. Relation of lifespan to brain weight and body weight in mammals. CIBA Foundation Colloquium on Aging 1959; 5: 115–33.
7. Sohal RS and Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science 1996; 273: 59–63.
8. Hayflick L. The longevity of cultured human cells. Journal of the American Geriatrics Society 1974; 22: 1–12.
9. Vijg J and Dollé MET. Instability of the Nuclear Genome and the Role of DNA Repair. In: Masoro EJ and Austad SN eds. Handbook of the Biology of Aging, 5th edition. Academic Press, 2001: 84–113.
10. Han ES, Van Remmen H, Steinhilber M, Pahlavani MA, Strong JR and Richardson A. Effect of Age on Gene Expression. In: Masoro EJ and Austad SN eds. Handbook of the Biology of Aging, 5th edition. Academic Press, 2001: 140–78.
11. Meites J. Neuroendocrinology of Aging. 1983. New York: Plenum Press.
12. Effros RB. Immune System Activity. In: Masoro EJ and Austad SN eds. Handbook of the Biology of Aging, 5th edition. Academic Press, 2001: 324–50.
13. Masoro EJ. Dietary Restriction: An Experimental Approach to the Study of the Biology of Aging. In: Masoro EJ and Austad SN eds. Handbook of the Biology of Aging, 5th edition. Academic Press, 2001: 396–420.

14. Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ and Bartke A.. Dwarf mice and the aging process. *Nature* 1996; 384: 33.
15. Sastre J, Rodriguez JV, Pallardo FV, Gasco E, Asensi M, Ferrer JV, Miquel J and Vina J. Effect of aging on metabolic zonation in rat liver: acinar distribution of GSH metabolism. *Mechanisms of Ageing and Development* 1992; 62: 181–90.
16. Tian L, Cain Q and Wei H. Alterations of antioxidant anzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radical Biology and Medicine* 1998; 24: 1477–84.
17. Grune T and Davies KJA. Oxidative Processes in Aging. In: Masoro EJ and Austad SN eds. *Handbook of the Biology of Aging*, 5th edition. Academic Press, 2001: 25–58.
18. Stadtman ER and Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Metabolism Reviews* 1998; 30: 225–43.
19. Rothstein M. Age-related changes in enzyme levels and enzyme properties. *Reviews of Biological Research on Aging* 1985; 2: 421–33.
20. Ramsey MJ, Moore DH II, Briner JF, Lee DA, Olsen LA, Senft JR and Tucker JD. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting. *Mutation Research* 1995; 338: 95–106.
21. Dollé MET, Snyder WK, Gossen JA, Lohman PHM and Vijg J. Distinct spectra of somatic mutations accumulated with age in mouse heart and small intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2000.
22. Holliday R. Mutations and epimutations in mammalian cells. *Mutation Research* 1991; 250: 351–63.
23. Rudolph KL, Chang S, Lee HW, Blasco M, Gottlieb GJ, Greider C and DePinho RA. Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell* 1999; 96: 701–12.
24. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999; 283: 1482–8.
25. Lee CM, Weindruch R and Aiken JM. Age-associated alterations of the mitochondrial genome. *Free Radical Biology and Medicine* 1997; 22: 1259–69.
26. Richardson A and Holbrook NJ. Aging and the cellular response to stress: reduction in the heat shock response. In: Holbrook NJ, Martin GR and Lockshin RA eds. *Cellular Aging and Cell Death*. New York: Wiley-Liss, Inc. 1996: 67–80.
27. Van Remmen H, Ward W, Sabia RV and Richardson A. Effect of age on gene expression and protein degradation. In: Masoro EJ ed. *Handbook of Physiology, Volume on Aging*. New York: Oxford University Press 1995: 171–234.
28. Lee DY, Hayes JJ, Pruss D and Wolffe A. A positive role for histone acetylation in transcription factor access to nucleosomal DNA. *Cell* 1993; 72: 73–84.
29. Pahlavani MA and Harris MD. Effect of *in vitro* generation of oxygen free radicals on T cell function in young and old rats. *Free Radical Biology and Medicine* 1998; 25: 903–13.
30. Heydani AR, You S, Takahashi R, Gutschmann-Conrad A, Sarge KD and Richardson A. Age-Related Alterations in the Activation of Heat Shock Transcription Factor 1 in Rat Hepatocytes. *Experimental Cell Research* 2000; 256: 83–93.
31. Welle S, Thornton C, Bhatt K and Krym M. Expression of elongation factor-1 alpha and S1 in young and old human skeletal muscle. *Journals of Gerontology* 1997; 52: B235–B239.
32. Hekimi S, Lakowski B, Barnes TM and Ewbank JJ. Molecular genetics of life span in *C. elegans*: how much does it teach us? *Trends in Genetics* 1998; 14: 14–20.
33. Rudolph KL, Chang S, Lee HW, Blasco M, Gottlieb GJ, Greider C and DePinho RA. Longevity, stress response. Cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell* 1999; 96: 701–12.
34. Hutter D, Yo Y, Chen W, Liu P, Holbrook NJ, Rozh GS and Liu Y. Age-related decline in Ras/ERK mitogen-activated protein kinase cascade is linked to a reduced association between Shc and EGF receptor. *Journal of Gerontology: A Biological Sciences Medical Sciences* 2000; 55: B125–B134.
35. Harley CB, Futcher AB and Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345: 458–60.
36. Meyerson M, Counter CM, Eaton EN, Ellisen LW, Steiner P, Caddle SD, Ziaugra L, Beijersbergen RL, Davidoff MJ, Liu Q, Baccchetti S, Haber DA and Weinberg Ra. hEST2, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is up-regulated in tumor cells and during immortalization. *Cell* 1997; 90: 785–95.
37. Smith JR and Pereira-Smith OM. Replicative senescence: Implications for *in vivo* aging and tumor suppression *Science* 1996; 273: 63–7.
38. Holt SE, Shay JW and Wright WE. Refining the telomere-telomerase hypothesis of aging and cancer. *Nature Biotechnology* 1996; 14: 836–9.
39. Hornsby PJ. Cell Proliferation in Mammalian Aging. In: Masoro EJ and Austad SN eds. *Handbook of the Biology of Aging*, 5th edition. Academic Press, 2001: 207–45.
40. Majno G and Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: an overview of cell death. *American Journal of Pathology* 1995; 164: 3–15.
41. Wang E. Senescent Human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bc12 is involved. *Cancer Research* 1995; 55: 2284–92.
42. Masoro EJ. Dietary Restriction: An Experimental Approach to the Study of the Biology of Aging. In: Masoro EJ and Austad SN eds. *Handbook of the Biology of Aging*, 5th edition. Academic Press, 2001: 396–420.
43. Holt PR, Moss SF, Heydari AR and Richardson A. Diet restriction increases apoptosis in the gut of aging rats. *Journal of Gerontology: Biological Sciences* 1998; 53A: B168–B172.
44. Lee CK, Klopp RG, Weindruch R and Prolla TA. Gene Expression Profile of Aging and Its Retardation by Caloric Restriction. *Science* 1999; 285: 1390–3.
45. Imai Armstrong CM, Kaerberlein M and Guarente L. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* 2000; 403: 795.