

Az öregedés sejttani és genetikai alapjai

László Valéria, Falus András

A soksejtű szervezetek élete a megtermékenyítéstől a halálig tart. Az élet első szakaszában a progresszív, felépítő, míg a másodikban a regresszív, lebontó folyamatok kerülnek túlsúlyba. Ekkor beszélhetünk az öregedésről, amelyet a legáltalánosabban úgy határozhatunk meg, hogy olyan változások sorozata, amelyek csökkenő működési kapacitásokhoz vezetnek. Csökken a szervezet alkalmazkodó- és ellenálló képessége, ezért számos, az időskorra jellemző betegség alakulhat ki. Az élő szervezetekben az öregedés jelei a szerveződés különböző szintjein jelentkeznek: molekuláris, organelum, sejt, szövet, szerv és magának a szervezetnek a szintjén. A tanulmányban elsősorban a sejtszintű öregedés újabb eredményeit foglaljuk össze, és csak kevéssé térünk ki a szervezetszintű öregedésre.

Az öregedés okainak magyarázatára nagyon sok, különböző kísérleti adatokkal alátámasztott elmélet született, amelyek alapvetően két csoportba sorolhatók. Az egyikbe azok, amelyek az öregedést belső tényezőkkel magyarázzák, és azt célszerű eseményekre alapozzák. A másik csoportba viszont azok tartoznak, amelyek külső károsító hatásokkal, véletlenszerű eseményekkel magyarázzák az öregedést.

Az utóbbi évek kísérleti eredményei, megfigyelései azt látszanak bizonyítani, hogy az öregedés okai nem elsősorban a külső tényezők hatásaiban keresendők, hanem egyértelműen genetikailag meghatározottak. A belső genetikai hatásokat a külső tényezők módosíthatják, annál is inkább, mivel ez utóbbiak gyakran éppen a génekre, azok kifejeződésére hatva befolyásolják az öregedést. Az elmúlt évtizedekben számos elmélet született, amelyek közül csak a legjelentősebbeket, illetve azokat említjük, amelyek az utóbbi időben meg erősítést nyertek.

A szabad gyökök és a mutációs elmélet

Ez az elmélet talán az egyik legnépszerűbb öregedési elmélet, és meglehetősen sok kísérleti adat is alátámasztja. Minden aerob szervezet az életműködéseivel

szükséges energiát a táplálékként felvett szerves molekulák oxigén jelenlétében történő lebontásából nyeri, amelynek helye a sejtekben az egyik sejtalkotó, a mitokondrium. A lebontó folyamat során azonban melléktermékek, úgynevezett szabad gyökök, igen reakcióképes, rövid életű, oxigéntartalmú vegyületek keletkeznek, amelyek erősen oxidáló hatásúak. Reagálhatnak bármely makromolekulával, lipidekkel, fehérjékkel, nukleinsavakkal. Természetesen a legsúlyosabb következménye annak lehet, ha a sejtek működése szempontjából fontos fehérjét, vagy még inkább, ha a DNS-t károsítják, tehát mutációt okoznak. Különösen magának a mitokondriumnak a DNS-e veszélyeztetett, egyrészt a közelség miatt, másrészt, mivel ez a DNS nincs fehérjékhez kötve, mint a sejtmagban lévő, harmadrészt, mivel itt nincs olyan hibajavító mechanizmus, mint a sejtmagban, amely a DNS-ben bekövetkező mutációkat korrigálná. A mitokondrium DNS-ében és más molekuláiban bekövetkező hibák következtében funkciójuk is károsodik, még több szabad gyök keletkezik, tehát egy önmagát erősítő folyamat indul el. Ugyanakkor a mitokondrium szerkezetében és működésében jelentkező hibák az egész sejt, illetve szervezet működését befolyásolják, mivel a mitokondriumok állítják elő az életműködésekhez szükséges energiát (1).

A szabad gyökök a sejtek magjában lévő DNS-ben is indukálnak mutációkat, amelyeknek egy része kijavítható, de távolról sem mindegyik. Az úgynevezett spontán mutációkkal együtt a szervezet korával számuk egyre nő, a DNS hibái végül olyan mértékben felhalmozódhatnak, hogy zavarják a normális sejtműködést.

A szabad gyökök valószínű szerepét számos észrevétel bizonyítja, például hogy több szabad gyök termelődik az idősebb állatokban, mint a fiatalabbakban; illetve a hosszabb élettartamú állatokban, mint a rövidebb életű fajokban (2). A sejtekben azonban vannak olyan enzimek, a szuperoxid-diszmutáz, a kataláz és a

A DNS hibái végül olyan mértékben felhalmozódhatnak, hogy zavarják a normális sejtműködést.

dr. László Valéria, dr. Falus András: Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet/
Semmelweis University, Department of Genetics, Cell and Immunology
H-1089 Budapest, Nagyvárad tér 4.

A dolgozat elsőként a Magyar Tudomány 2002/4. számában jelent meg.

peroxidáz, amelyek ezeket a szabad gyököket megsemmisítik. Azt is kimutatták, hogy a szuperoxid-diszmutáz szintje magasabb a hosszabb élettartamú állatokban, mint a rövidebb ideig élőkben. A legmagasabb szintet az emberben mérték. Azok az alacsonyabb rendű állatok (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*), amelyek extra mennyiségben tartalmazták bizonyos sejtjeikben a szuperoxid-diszmutázt, 40%-kal tovább éltek a kontrollállatoknál (3). A keletkező szabad gyökök károsító hatása elől a sejtek öngyilkosságba (apoptózis) is menekülhetnek, így megakadályozva, hogy a sérült DNS-ű sejt elszaporodjon. Találtak egy olyan fehérjét, a p66shc-t, amely ezt a folyamatot mediálja, és valószínűleg monitorozza a szabad gyökök mennyiségét. Azoknak az egereknek, amelyekből hiányzik ez a fehérje, 30%-kal nő az élettartamuk, és rezisztensek bizonyos oxidatív hatásokkal szemben (1).

Az antioxidánsok, így az A-, C- és az E-vitamin, valamint a glutation megakadályozzák a szabad gyökök keletkezését, illetve semlegesítik azokat. A legtöbb antioxidáns a színes gyümölcsökben (áfonya, cseresznye, kivi, narancs, szilva, eper) és zöldségekben (brokkoli, padlizsán, spenót, cékla, hagyma) található. Kísérleti adatok azt mutatják, hogy az antioxidánsok fokozzák a szervezet ellenálló képességét, megnövelik az élettartamot, ha nem is az öregedési folyamat lelassításával, de oly módon, hogy sok súlyos kór, a rák, a szív- és érrendszeri, a központi idegrendszeri és az immunrendszeri betegségek megjelenését késleltetik (3).

A mitokondriumokat, a sejteket, végül az egész szervezetet károsító szabad gyökök a tápanyagok lebontása során keletkeznek, tehát ha csökken a táplálék mennyisége, csökken a lebontás, és ha csökken a lebontás, csökken a keletkező

szabad gyökök mennyisége is. És valóban, az állatkísérleti adatok, sőt, bizonyos, embereken végzett megfigyelések is ezt támasztják alá. Születésüktől kezdődő kalóriamegvonás, például egerekben, növelte mind az átlag-, mind pedig a maximális élettartamot, ez utóbbit 39 hónapról 56 hónapra. A diétás étrend sok vitamint és ásványi sót tartalmazott, tehát az állatok ugyan alul-, de nem rosszul tápláltak voltak. A humán populáció jelentős részének napi kalóriaadagja is nagyon kevés, de az ehhez párosuló vitamin és ásványi só hiánya miatt ők nemcsak alul-, hanem rosszul is tápláltak. Az Okinawa szigetén élő japánok kalóriafogyasztása csupán 70%-a a más szigeteken élő japánoknak, és 40-szer nagyobb annak a valószínűsége, hogy megérik a 100 éven felüli életkort. Kevesebben szenvednek tumoros megbetegedésekben és cukorbetegségben. A legtöbb ember azonban nem képes az öregedési folyamatokat lelassító szigorú diétát betartani, ami elsősorban gyümölcsökből és zöldségekből áll, kalóriatartalma nem több mint napi 1500 kalória, amely mellett csökken a testhőmérséklet és állandó az éhségérzet (4).

Ha csökken a táplálék mennyisége, csökken a keletkező szabad gyökök mennyisége is.

A genetikai óra és a teloméraelmélet

Az öregedés kutatása is egy olyan terület, amelyben a sejttenyésztés módszerével fontos, új eredményekhez jutottak a kutatók, mivel a soksejtű szervezetek legtöbb sejtje a szervezetből kiragadva, mesterséges körülmények között, in vitro is életben tartható, tenyészthető, tanulmányozható. Még manapság is szinte minden, a sejtöregedéssel foglalkozó közlemény hivatkozik egy, az 1960-as években megjelent Hayflick-cikkre, amelynek lényege, hogy sejttenyésztési körülmények között a humán fibroblastok proliferációs képessége alapvetően attól függ, hogy milyen korú egyedből származnak a sejtek. Az embrionális sejtek körülbelül ötvenszer, a felnőtt szervezetből származó sejtek korukkal arányosan kevesebbszer képesek osztódni (2). Adott számú osztódás után a sejtek morfológiája megváltozik, többé nem osztódnak, majd elpusztulnak. Ez azért is okozott meglepetést, mivel addig tumorsejtekkel kísérletezve azt tapasztalták, hogy azok halhatatlanok, vég nélkül képesek osztódni. Már ezek a tények is arra utaltak, hogy az öregedés hátterében genetikai tényezők is állnak, bár a pontos magyarázat ekkor még nem volt ismert.

A legújabb megfigyelések is egy, az osztódásokat számoló rendszer, a genetikai óra meglétét bizonyítják. Ez a genetikai óra pedig nem más, mint a kromoszómák vége, a telomérarégió. Az erre alapuló öregedési elmélet a teloméraelmélet (5).

A sejtek genetikai információjának hordozója a DNS, ez a kettős, csavarodott, helikális makromolekula, amely minden esetben duplikálódik a sejtek osztódását megelőzően. Ez a megkettőződött DNS-állomány osztódáskor először kromoszómákba rendeződik, majd megfelelődik, és így azonos genetikai információ jut a keletkező utódsejtekbe.

A DNS-szintézis specialitásából következően minden egyes duplikációkor a DNS egyik láncá rövidebb lesz. Tehát minél többet osztódik a sejt, annál kisebb és kisebb lesz a telomérarégió. A vizsgálatok szerint azonban ez a rövidülés csak az egyedfejlődés későbbi szakaszában kezdődik el. Az úgynevezett ősvarsejtekben, amelyekből a későbbi ivarsejtek származnak, és az embrionális sejtekben ugyanis van egy enzim, a telomeráz, amely képes a DNS nem rövidülő szálát meghosszabbítani, amelyhez már a megfelelő enzimek hozzászintetizálják az új DNS-szálat, amely így az előző állapothoz képest nem rövidül. Az egyedfejlődés egy bizonyos pontján azonban a telomeráz működése abbamarad, ekkor kezdenek el rövidülni a telomérák. Egy bizonyos hossz elérése után a sejtek morfológiája megváltozik, többé nem osztódnak, bekövetkezik a sejtek öregedése. Kimutatták, hogy a legtöbb tumorsejtben viszont működik a telomeráz, és ez magyarázza a tumorsejtek korlátlan szaporodóképességét (5).

A fentiek alapján érthető, hogy újabban miért van az érdeklődés középpontjában a telomeráz enzim működése. A telomeráz a legtöbb normális, egészséges sejtben nem működik, a tumorsejtek viszont nem nélkülözhetik, így fontos és esetleg specifikus célpontja le-

het a tumorelles szerekek. Ezek a vizsgálatok azonban még kezdeti stádiumban vannak.

A telomérák és a telomeráz fontosságát *in vivo* adatok is alátámasztják. Előállítottak olyan egereket, amelyekből genetikailag hiányzik a telomeráz, ami az intenzíven osztódó szövetekben számos rendellenességhez és kromoszómainstabilitásokhoz vezetett. A telomeráz enzim génjének keresztezéssel visszajuttatott egyetlen kópiája elegendő volt ahhoz, hogy a telomérák meghosszabbodjanak, és az osztódási hibák megszűnjenek (6). Más kísérleti eredmények azt mutatják, hogy a telomerázhiányos egerek rezisztensek a karcinogenezisre (7), és csökken bizonyos tumorok, például a melanoma növekedése. Ezek az eredmények biztató lehetőséget nyújtanak két olyan ritka örökldő betegség, a Werner-szindróma és a dyskeratosis congenita kezelésére is, ahol a betegségek kapcsolatosak a telomeráz enzim hibáival. A Werner-szindrómára a későbbiekben visszatérünk, a dyskeratosis congenita nehezen regeneráldó bőrrel, fiatal korban jelentkező anaemiával jár, és a betegek többsége fertőzésekben hal meg. Nem pontosan ismert, hogy ezek a tünetek hogyan függnek össze a telomeráz enzim hiányával (8).

Az öregedés és a tumorszuppresszió

A legújabb kutatási eredmények alapján az öregedést olyan biológiai folyamatnak tekintik, amely gátolja a tumorok kialakulását, limitálja a sejtek proliferációs kapacitását. A tumorok kialakulása és az osztódási kapacitás között ugyanis igen szoros az összefüggés. A rosszindulatú tumorok kialakulásához több mutációnak, DNS-hibának kell bekövetkezni. Mindegyik mutációhoz minimum 20-30 osztódás szükséges, illetve még ennél is több, ha bizonyos sejtek időközben eliminálódnak. A számítások szerint, amennyiben az osztódások száma nem haladja meg a százat, jelentősen csökken a tumorok kialakulásának esélye (5).

A fenti elképzelést támasztják alá azok az adatok, amelyek szerint bármi váltsa is ki a sejt öregedését, a telomerarégió rövidülése – amely lényegében a leginkább fiziológiai ok vagy a szabad gyökök okozta mutációk –, a sejtek morfológiai és biokémiai tulajdonságai hasonlóak lesznek, és jelentősen megnő bizonyos gének, a tumorszuppressziós gének kifejeződése, aktivitása a sejtekben. A tumorszuppressziós gének olyan fehérjéket kódolnak, amelyek a sejtek osztódását lassítják, illetve megakadályozzák. Ez a magyarázata tehát annak, hogy az öreg sejtek – amelyekben ezek mennyisége és/vagy aktivitása megnő – nem osztódnak. A tumorszuppressziós gének termékei mintegy gátat szabnak a tumorok kialakulásának (9). A fenti, elsősorban *in vitro* megfigyeléseket néhány *in vivo* adat is alátámasztja. Olyan egerekben, amelyekben az egyik legfontosabb tumorszuppresszor fehérje, a p53 (az 53 a fehérje méretére utal) inaktív, az állatokban már fiatalokorukban olyan tumorok alakulnak ki, amelyek a kontrollokban csak az időskorban jellemzők. Egy másik kutatócsoport egy aktívabban működő p53 protein-

nel rendelkező egértörzset állított elő, amelynek rövidebb volt az élettartama, és az idő előtti öregedés számos jelét mutatta, például osteoporosis, csökkent stressztolerancia, számos szerv atrófiája stb. Ugyanakkor rezisztensebb volt a spontán tumorok kialakulására, mint a normális működésű p53-at tartalmazó kontrollegerek (10). A fenti, részben *in vitro*, részben *in vivo* eredmények valóban azt bizonyítják, hogy azért van szükség az öregedésre, hogy csökkenjen a tumorok kialakulásának valószínűsége.

Meddig vagyunk fontosak?

Az öregedés kutatása egyik legismertebb képviselőjének, a már említett Leonard Hayflicknek öregedést magyarázó elmélete nagyon közel áll az előző tumorszuppressziós elmülethez. Az élővilágban, amelynek az ember is része, a fajok túlélése, fennmaradása azon múlik, hogy megfelelő számú egyed éri-e el az ivarérettséget, és kellő számú utóda születik-e. Ez a legkedvezőbbben úgy valósul meg, ha az ivarérettség koráig a létfontosságú szervek a minimálisan szükségesnél valamivel nagyobb teljesítményre képesek, biztonsági tartalékkal vannak ellátva, hibátlan működésük biztosítva van. Így a kitűzött cél nagy valószínűséggel megvalósul, és az egyedek átadják utódaiknak kedvező tulajdonságaikat. A természetes kiválogatódás ebbe az irányba hat. Ezután azonban az egyedek már csak tartalékaikból élnek, amíg futja abból. Az addig szinte kifogástalan rendszer működésébe hibák csúsznak, elkezdődik az öregedés. Az, hogy a cél teljesítése után meddig élnek az egyes egyedek, a faj túlélése szempontjából nem fontos. Az öregedés a civilizáció velejárója, és csak az emberre és a mesterséges környezetben tartott állatokra jellemző. Természetes közegükben élő állatok öregedésük előtt betegségben pusztulnak el, vagy a ragadozók zsákmányává válnak (2).

Szervezetszintű idő előtti öregedés

Van néhány nagyon ritka, örökldő betegség, amelynek vizsgálata valamelyest közelebb vihet minket az öregedési folyamat lényegének megismeréséhez. Az egyik a progéria vagy Hutchinson–Gilford-szindróma. Az ebben a betegségben szenvedők már egész fiatalon – normális körülmények között csak időskorban végbemenő – változások egész sorát mutatják, bár a természetes öregedés nem minden jellegzetessége mutatkozik meg bennük. Egyéves korukig többé-kevésbé normálisan fejlődnek, de később visszamaradnak a növe-

A legújabb megfigyelések egy, az osztódásokat számoló rendszer, a genetikai óra meglétét bizonyítják.

Az öregedés a civilizáció velejárója, és csak az emberre és a mesterséges környezetben tartott állatokra jellemző.

kedésben, hajuk megritkul, majd kihullik. Bőrük vékony és ráncos lesz, egész megjelenésük töpörödött öregemberre hasonlít. Idegrendszeri fejlődésük zavaratlannak látszik. Többnyire szívbetegség és érlemeszedés lép fel náluk, a vérnyomásuk is magas lesz. Rend szerint szívroham vagy agyvérzés haláluk oka. Átlagos élettartamuk 10-12 év. Feltételezik, hogy a progéria dominánsan öröklődő rendellenesség.

Egy igen széles körű funkcionális genomikai vizsgálatban fiatal (7 és 9 éves), középkorú (37 éves), öreg (90, 92 és 96 éves) és progériás (Hutchinson–Gilford-szindrómás, 8 és 9 éves) emberek fibroblastjainak 6000 működő génjét, génexpressziós profilját hasonlították össze. A középkorú embert és a fiatalokat összehasonlítva 61 gén működése változott meg, ezek két csoportba sorolhatók. Csökkent (2,6-12,5×) a sejtosztódást stimulálóké, és nőtt azoké, amelyeknek termékeit a sejtek a környezetükbe juttatják, tehát amelyek a környezettel való kapcsolattartásban fontosak. Ami a sejtek szaporodását stimuláló géneket illeti, a változás még kifejezettebb volt időskorban, nagyobb volt a csökkenés, illetve még több gén működése csökkent. A természetes és az idő előtti öregedést összehasonlítva elsősorban az öregedéssel kapcsolatos betegségek kialakulásában szerepet játszó gének változtak azonos módon (11).

A másik öröklődő betegség a Werner-szindróma, amely kamaszkorban lép fel, és kétszer gyakoribb rendellenesség, mint a progéria. A betegeknek szürkehályogjuk lesz, megöszülnek, erősen hullik a hajuk, és a bőrük nagyon ráncossá válik. Növekedésük visszamaradt, érlemeszedésben és cukorbetegségben szenvednek. A betegséget recesszív öröklődésűnek tartják, és a betegséget kiváltó gén helyét is ismerik már

a nyolcas kromoszómán (8p12-p11.2), de még nem ismerik pontosan a kódolt fehérje funkcióját. Mindenesetre ez a protein nagy hasonlóságot mutat egy, a DNS szintézisében szerepet játszó, már ismert fehérjével.

Néhány évvel ezelőtt egyetlen gén elrontásával egy új mutáns, úgynevezett klotho (Klotho a görög mitológiában egyike volt az Éjszaka lányainak, akik a sors fonalát fonják) egeret állítottak elő, amely számos jelét mutatja az idő előtti öregedésnek. Amellett hogy rövidebb az élettartamuk, csökkent aktivitásúak, terméketlenek, osteoporosisuk és atherosclerosisuk van. A klothogént emberben is megtalálták, sőt, az is ismert, hogy melyik kromoszómán helyezkedik el. Ami viszont érdekes: nincs egyetlen olyan progériás betegség sem, amelynek az oka ennek a génterületnek a megváltozására, mutációjára vezethető vissza. A kutatók meglepetésére a klothogén valószínűleg olyan membránfehérjét kódol, amelynek bizonyos részei nagyfokú hasonlóságot mutatnak a glükozidáz enzimcsaláddal, ennek bizonyos tagjai az állatokon kívül baktériumokban és növényekben is megtalálhatók. Ez a fehérje részben beépülhet a sejtek külső membránjába, részben azonban a szintetizáló sejtekből kikerül a keringésbe, majd a szervezet szinte minden pontjára eljutva kifejti hatását a megfelelő célsejtekre. A soksejtű szervezetek működését összehangoló hormonokkal való hasonlóságai miatt öregedés elleni hormonnak is nevezik, bár pontos hatásai még nem ismertek (12).

Bár az elmúlt évtizedekben számos új ismeretet szereztünk az öregedésre vonatkozóan, mégis, ezeknek az esetleges gyakorlati alkalmazásától még igen távol vagyunk.

IRODALOM

1. Camougrand N, Rigoulet M. Aging and oxidative stress: studies of some genes involved both in ageing and in response to oxidative stress. *Resp Physiol* 2001;128:393-401.
2. Hayflick L. Az öregedés. Budapest: Magyar Könyvklub; 1995.
3. Brown K. A radical proposal. *Scientific American Presents* 2000;11(2):39-43.
4. Taubes G. The famine of youth. *Scientific American Presents* 2000;11(2):45-9.
5. Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Gen Dev* 2001;11:98-103.
6. Samper E, Flores JM, Blasco MA. Restoration of telomerase activity rescues chromosomal instability and premature aging in Terc^{-/-} mice short telomeres. *EMBO Reports* 2001;21(9):800-7.
7. González-Suarez E, Samper E, Flores JM, Blasco MA. Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis. *Nature Genetics* 2002;26(1):114-7.
8. Strauss E. Counting the lives of a cell. *Scientific American Presents* 2000;11(2):51-5.
9. Campisi J. Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. *Trends Cell Biol* 2001;11(11):S27-S31.
10. Tyner SD, Venkatachalam S, et al. p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 2002;415:45-53.
11. Ly DH, Lockhart DJ, Lerner RA, Schultz PG. Mitotic misregulation and human aging. *Science* 2000;287:2486-92.
12. Takahashi Y, Kuro-o M, Ishikawa F. Aging mechanisms. *PNAS* 2000;97(23):12407-8.