

AZ ÖREGEDÉS SEJTTANI ÉS GENETIKAI ALAPJAI

László Valéria – Falus András

Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet
(Semmelweis Egyetem)

az MTA levelező tagja, igazgató, egyetemi tanár
(Semmelweis Egyetem) faland@dgci.sote.hu

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 ellenállóképessége, 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 eredményei foglalkoznak össze, és csak kevésbé 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, *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 meghatározot-

tak. 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 megerősítést 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 életműködéséhez szükséges energiát a táplálékként felvett szerves molekulák oxigén jelenlétében történő lebontásából nyeri, amelynek a helye a sejtekben az egyik sejtalkotó a mitokondrium. A lebontó folyamat során azonban melléktermékek ún. *szabad gyökök*, igen reakcióképes, rövidéletű 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 fehérjéket 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 fehérjéhez kötve, mint a sejtmagban, harmadrészt mivel itt nincs olyan hibajavító mechanizmus, mint a sejtmagban, ami a DNS-

ben bekövetkező mutációkat korrigálná. A mitokondrium DNS-ében és más molekuláiban bekövetkező hibák következtében a 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 (2).

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

A szabad gyökök valószínű szerepét számos észrevétel bizonyítja, pl., hogy több szabad gyök termelődik az idősebb állatokban, mint a fiatalabbakban illetve a hosszabb élettartamú állatokban, mint a rövidebb életű fajokban (5). A sejtekben azonban vannak olyan enzimek, a *szuperoxid-diszmutáz*, a *kataláz* és a *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 alacsonyabbrendű állatok (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*), amelyek extra mennyiségben tartalmazták bizonyos sejteikben a szuperoxid-diszmutázt 40 %-kal tovább éltek a kontroll állatoknál (1). A keletkező szabadgyökök károsító hatása elől a sejtek öngyilkosságba (apoptózis) is menekülhetnek, így megakadályozva hogy a sérült DNS-ű sejt elszaporodjon. Találtak egy olyan fehérjét, a p66^{shc}-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 (2).

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, kiwi, narancs, szilva, eper) és zöldségekben (brokkoli, padlizsán, spenót, cékla, hagyma) található. Kísérleti adatok azt mutatják, hogy az antioxidánsok fokozzák a szervezet ellenállóképességét, 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 (1).

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 kalória megvonás pl., 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 voltak táplálva. A humán populáció jelentős részének napi kalóriaadagja is nagyon kevés, de az ehhez párosuló vitamin és ásványisó hiány miatt ők nemcsak alul, hanem rosszul is tápláltak. Az Okinawa szigetén élő japánok kalória fogyasztása csupán 70 %-a a más szigeteken élő japánoknak, és 40-szer nagyobb annak a valószínűsége, hogy megéri 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 kal, ami mellett csökken a testhőmérséklet és állandó az éhségérzet (10).

A genetikai óra és a teloméra elmélet

Az öregedés kutatása is egy olyan terület, amelyben a sejtenyésztes módszerével fontos, új eredményekhez jutottak a kutatók, mivel a soksejtű szervezetek legtöbb sejtje a szervezetből kiragadva, mesterséges körülmények között, *in vitro* is életben tartható, tenyésztethető, tanulmányozható. Még manapság is szinte minden a sejttöregedéssel foglalkozó közlemény hivatkozik egy az 1960-as években megjelent Hayflick cikkre, amelynek a lényege, hogy sejtenyészeti körülmények között a humán fibroblasztok (kötőszöveti sejtek) proliferációs képessége alapvetően attól függ, hogy milyen korú egyedből származnak a sejtek. Az embrionális sejtek kb. 50x, a felnőtt szervezetből származó sejtek korukkal arányosan kevesebbszer képesek osztódni (5). 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.

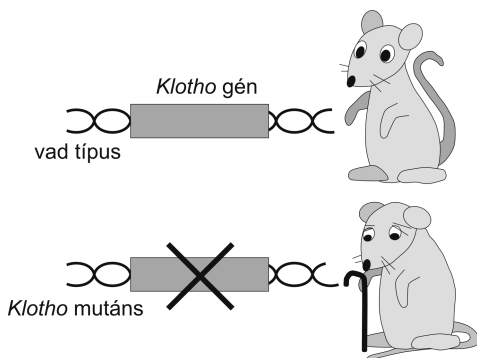
A legújabb megfigyelések is egy az osztódásokat számoló rendszer, a *genetikai óra* meglétét bizonyítják. Ez a genetikai óra pedig nem más, mint a kromoszómák vége, a teloméra régió. Az erre alapuló öregedési elmélet a *teloméra elmélet* (12).

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 állo-

mány 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 többször osztódik a sejt annál kisebb és kisebb lesz a telomér régió. A vizsgálatok szerint azonban ez a rövidülés csak az egyedfejlődés későbbi szakaszában kezdődik el. Az ún. ősvasejtekben, 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 szálát, ami így az előző állapothoz képest nem rövidül. Az egyedfejlődés egy bizonyos pontján azonban a telomeráz működése abamarad, ekkor kezdenek el rövidülni a telomérák. Egy bizonyos hossz elérése után a sejtek morfológiája megváltozik, többé nem osztódnak, bekövetkezik a sejtek öregedése (1. ábra). Kimutatták, hogy a legtöbb tumorsejtben viszont működik a telomeráz, és ez magyarázza a tumorsejtek korlátlan szaporodóképességét (12).

A fentiek alapján érthető, hogy újabban miért van az érdeklődés központjában a telomeráz enzim működése. A telomeráz a



1. ábra • A *klotho* gén kiesése egereknél gyors öregedéshez vezet.

legtöbb normál egészséges sejtben nem működik, ugyanakkor a tumor sejtek viszont nem nélkülözhetik, így fontos és esetleg specifikus célpontja lehet a tumor ellenes szerekeknek. 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 kromoszóma instabilitásokhoz vezetett. A telomeráz enzim génjének keresztezéssel visszajuttatott egyetlen kópiája elegendő volt ahhoz, hogy a telomérák meghosszabbodjanak és az osztódási hibák megszűnjenek (7). Más kísérleti eredmények azt mutatják, hogy a telomeráz hiányos egerek rezisztensek a karcinogenezisre (4) és csökken bizonyos tumorok pl. a melanoma növekedése. Ezek az eredmények biztató lehetőséget nyújtanak két olyan ritka öröklődő betegség, a Werner szindróma és a dyskeratosis congenita kezelésére is, ahol a betegségek kapcsolatosak a telomeráz enzim hiáival. A Werner szindrómára a későbbiekben visszatérünk, a dyskeratosis congenita nehezen regenerálódó bőrrel, fiatal korban jelentkező anémiával 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 tumor szuppresszió

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 min. 20-30 osztódás szükséges, illetve még ennél is több, ha bizonyos sejtek időközben eliminálódnak.

A számítások szerint, ha az osztódások száma nem haladja meg a százat, jelentősen csökken a tumorok kialakulásának esélye (12).

A fenti elképzelést támasztják alá azok az adatok, amelyek szerint bármilyen változás is a sejt öregedését, a teloméra régió rövidülése, amely lényegében a legfiziológiásabb ok, vagy a szabad gyökök okozta mutációk, a sejtek morfológiai és biokémiai tulajdonságai hasonlóak lesznek és jelentősen megnő bizonyos gének, a tumor szuppressziós gének kifejeződése, aktivitása a sejtekben. A tumor szuppressziós 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 tumor szuppressziós gének termékei mintegy gátat szabnak a tumorok kialakulásának (3). 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 fiatalokkor olyan tumorok alakulnak ki, amelyek a kontrollokban csak az időskorúakra jellemző. Egy másik kutatócsoport egy aktívabban működő p53 proteinnel rendelkező egértörzset állított elő, amelynek rövidebb volt az élettartama és az idő előtti öregedés számos jelét, pl. osteoporózis, csökkent stressztolerancia, számos szerv atrofíája stb. mutatta. Ugyanakkor rezisztensebb volt a spontán tumorok kialakulására, mint a normális működésű p53-at tartalmazó kontroll egerek (11). 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 kutatásának egyik legismertebb képviselőjének a már említett Leonard

Hayflicknek az öregedést magyarázó elmélete nagyon közel áll az előző tumor szuppressziós elmélethez. Az élővilágban, amelynek az ember is a része, a fajok túlélése, fennmaradása azon múlik, hogy megfelelő számú egyed éri-e el az ivarérettséget, és kellő számú utóda születik-e. Ez a legkedvezőbben 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, addig amíg futja belőlük. 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 (5).

Szervezetszintű idő előtti öregedés

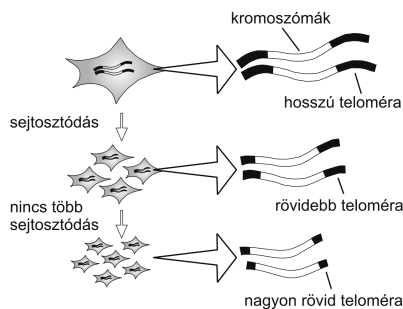
Van néhány nagyon ritka, örökölhető betegség, amelynek a vizsgálata valamelyest közelebb vihet minket az öregedési folyamat lényegének a megismeréséhez. Az egyik a *progéria* vagy *Hutchinson-Gilford szindróma*. Az ebben a betegségben szenvedők már egész fiatalon, normális körülmények között csak időskorban 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 növekedésben, hajuk meg ritkul, majd kihullik. Bőrük vékony és ráncos lesz, egész megjelenésük töpörödött öreg-

emberre hasonlít. Idegrendszeri fejlődésük zavartalannak látszik. Többnyire szívbetegség és érlemeszesedés lép fel náluk, vérnyomásuk is magas lesz. Rendszerint szívroham vagy agyvérzés a haláluk oka. Átlagos élettartamuk 10-12 év. Feltételezik, hogy a progéria dominánsan örökölhető rendellenesség.

Egy igen széleskörű funkcionális genomikai vizsgálatban fiatal (7 és 9 év), középkorú (37 év), öreg (90, 92 és 96 év) és progériás (Hutchinson-Gilford – 8 és 9 év) emberek fibroblasztjainak 6000 működő génjét, génexpressziós profilját hasonlították össze. A középkorú embert és a fiatalokat összehasonlítva 61 gén működése változott meg, amelyek két csoportba sorolhatók. Csökkent (2,6-12,5x) a sejtosztódást stimuláló és nőttek azok, amelyeknek a 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 idős korban, nagyobb volt a csökkenés ill. még több gén működése csökkent. A természetes és az idő előtti öregedést összehasonlítva, elsősorban a öregedéssel kapcsolatos betegségek kialakulásában szerepet játszó gének változtak azonos módon (6).

A másik örökölhető 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 visszamaradott, érlemeszesedésben 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 ún. *klotho* (Klotho



2. ábra • A telomérek megrövidülése a sejtosztódás csökkenéséhez vezet

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 aktivitásuk, terméketlenek, osteoporózisuk és atherosclerosisuk van (2. ábra). A *klotho* gént 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 meglepeté-

sére a *klotho* gén olyan valószínűleg membránfehérjét kódol, amelynek bizonyos részei nagyfokú hasonlóságot mutatnak a glükózidáz enzimcsaláddal, amelynek 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 (9).

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

(Az ábrák a 9. cikk – Takahashi és mtsai –ábrái alapján készültek)

Kulcsszavak: öregedés, gén, szabad gyökök, mutáció, teloméra, tumor szuppresszió, progéria

IRODALOM

1. Brown, K. (2000): *A radical proposal*. Scientific American Presents **11**. (2) 39-43.
2. Camougrand, N. and M. Rigoulet (2001): *Aging and oxidative stress: studies of some genes involved both in ageing and in response to oxidative stress*. Resp. Physiol. **128**. 393-401.
3. Campisi, J. (2001): *Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism*. Trends Cell Biol. **11**. (11) S27-S31.
4. González-Suarez, E., E. Samper, J. M. Flores and M. A. Blasco (2002): *Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis*. Nature Genetics **26**. (1) 114-117.
5. Hayflick, L. (1995): Az öregedés. Magyar Könyvklub
6. Ly, D. H., D. J. Lockhart, R. A. Lerner, P. G. Schultz (2000): *Mitotic misregulation and human aging*. Science **287**. 2486-2492.
7. Samper, E., J. M. Flores and M. A. Blasco (2001): *Restoration of telomerase activity rescues chromosomal instability and premature aging in Terc^{-/-} mice short telomeres*. EMBO Reports **21**. (9). 800-807.
8. Strauss, E. (2000): *Counting the lives of a cell*. Scientific American Presents **11**. (2) 51-55.
9. Takahashi, Y., M. Kuro-o and F. Ishikawa (2000): *Aging mechanisms*. PNAS **97**.(23) 12407-12408.
10. Taubes, G.(2000): *The famine of youth*. Scientific American Presents **11**. (2) 45-49.
11. Tyner, S. D. , S. Venkatachalam et al.(2002): *p53 Mutant mice that display early ageing-associated phenotypes*. Nature **415**. 45-53.
12. Wright, W. E. and J. W. Shay (2001): *Cellular senescence as a tumor-protection mechanism:the essential role of counting*. Curr. Opin. Gen. Dev. **11**. 98-103.