

BIOLOGISKE ALDRINGSMEKANISMER

Jesper Graakjær og Steen Kølvråa



Hvad er den biologiske hemmelighed bag det lange liv? I denne artikel gennemgås to teorier, som hver især fremlægger en hypotese om cellers aldringsforløb. Spørgsmålet er, om celler dør på grund af DNA-skader (»teorien om det totale kaos«) eller fordi deres levetid brænder ud i form af en nedslidning og uddøen af kromosomernes telomere (»selvmordsteorien«)

Jesper Graakjær er cand scient. og Ph.d studerende ved Dansk Center for Molekylær Gerontologi på Institut for Human Genetik, Århus Universitet, og Steen Kølvråa er professor, overlæge og dr. med. samme sted.

Gerontologi og samfund 2004, 20, 4: 79-82

ALDRINGSFÆNOMENET

Det hidtil længstlevende menneske, som vi med sikkerhed kender levetiden på, var madame Calment, der døde i en alder af 122 år. Som de fleste af de længelevende havde hun ikke haft et liv uden sygdomme, men blev – måske i virkeligheden mest på grund af tilfældigheder – ikke ramt af dødelige sygdomme på det tidspunkt, hvor de fleste dør. Et spørgsmål, man ofte stilles som aldringsforsker, er, om madame Calment og andre meget gamle ville have kunnet blive ved med at leve, hvis de ikke var blevet ramt af en sygdomstilstand, der medførte døden. Altså om mennesket har en maksimal levetid eller ej.

Svaret på dette spørgsmål hænger selvsagt sammen med spørgsmålet om, hvorfor vi overhovedet ældes. Det er hævet over enhver tvivl, at alle højerestående dyr ældes. Det ses tydeligt på mennesker eller dyr i forskellige aldre, at der foregår en række ændringer med tiden. Ud over de synlige ændringer sker der også en række ændringer i de enkelte organer, som regel med nedsat funktion til følge.

Jesper Graakjær
Dansk Center for Molekylær Gerontologi
Institut for Human Genetik
Vilhelm Meyers Alle
Århus Universitet
Jesperg @humgen.au.dk

Steen Kølvråa
Dansk Center for Molekylær Gerontologi
Institut for Human Genetik
Vilhelm Meyers Alle
Århus Universitet
Steen @humgen.au.dk

Faktisk kan man finde aldringstræk helt ned i den enkelte celle i organet. Disse celleændringer følger med cellen, selv hvis den tages ud af kroppen og i stedet dyrkes i en dyrkningsflaske, hvor der løbende tilsættes friskt dyrkningsmedie. Sætter man fx bindevævsceller fra unge individer i kultur, vil de i begyndelsen være lange og tenformede og vokse livligt. Efterhånden som kulturen vokser, vil cellerne begynde at vokse langsomt, og samtidig bliver de mere fligede og mindre slanke. Slutpunktet for en sådan dyrkning er store fligede celler, der ikke kan dele sig mere. Vi siger, at cellerne nu »ser gamle ud«. Hvis der tages celler fra et gammelt individ, vil disse gennemløbe samme proces – blot hurtigere¹.

HVOR SIDDER ALDRINGSPROCESSEN?

For år tilbage foretog man undersøgelser, hvor man flyttede unge kerner over i gamle celler og vice versa, simpelthen for at få et indtryk af, om aldringsprocessen sidder i kernen, hvor arveanlæggene befinder sig. Hovedkonklusionen blev dengang, at den cellulære aldringsproces i det væsentlige sidder i kernen og altså formodentlig i arveanlæggene. Senere forskning har ikke ændret væsentligt ved denne opfattelse. Hvad er det da for en »aldringsproces« der sidder i kernen? Lidt simplificeret er der to hypoteser om, hvad aldringsprocessen er. Den første hypotese går ud på, at aldringsprocessen udgøres af en tiltagende beskadigelse af arveanlæggene². Denne beskadigelse fører herefter til celledød, simpelthen fordi arveanlæggene bliver dårligere og dårligere. I den anden hypotese betragtes aldringsprocessen nærmest som et programmeret »selvmord«, hvor et biologisk ur på et vist tidspunkt sender signal fra arveanlæggene og ud i cellen om, at den skal dø³. Populært kalder man disse teorier for henholdsvis »det totale kaos« og »det programmerede selvmord«.

DET TOTALE KAOS

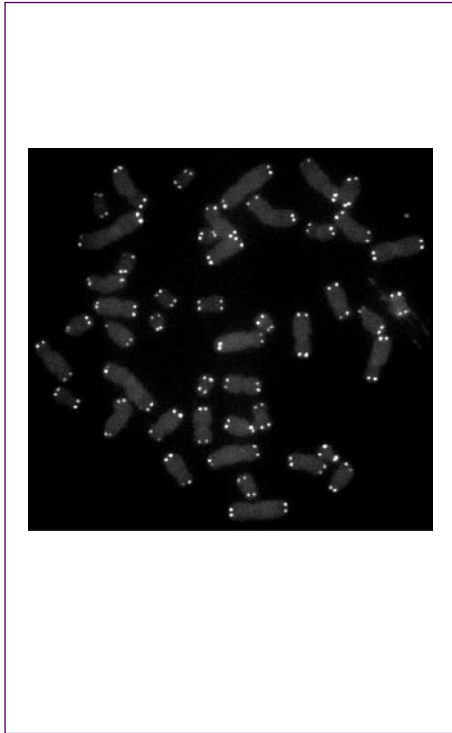
Den grundlæggende mekanisme bag denne aldringsteori er, at der igennem livet kommer flere og flere skader på arveanlæggene. Vi lever livet her på jorden i en »giftig« atmosfære, der påfører os overordentlig mange DNA-skader. Den giftige komponent i luften er ilten, og det er beregnet, at den enkelte celle må reparere adskillige tusinde iltningsbetingede skader i DNA'et dagligt⁴. Heldigvis har vore celler både kraftige reparationsystemer

og kraftige antioxidant-systemer, der forsøger dels at reparere opståede skader, dels at »neutralisere« indtrængende ilt, før denne når frem til arveanlæggene.

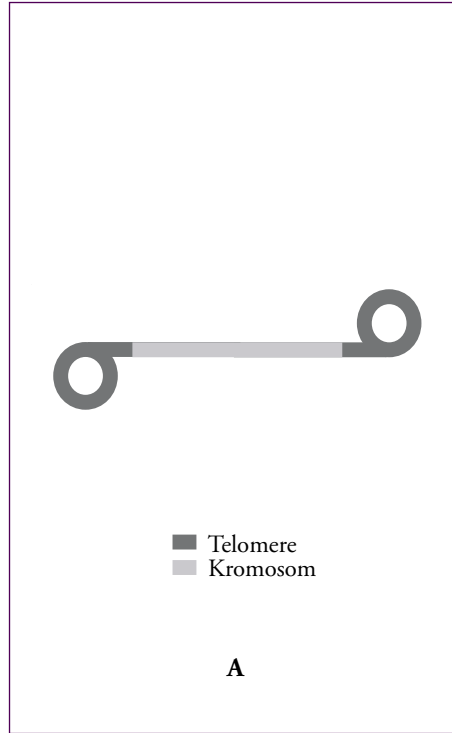
I flere undersøgelser af dyr har man været i stand til at fremavle individer med højere levealder ved at parre længelevende individer med længelevende individer mange gange. Man etablerede derved en gruppe individer, der levede klart længere end gennemsnittet, og på dem kunne man påvise en øgning i antioxidant-systemerne. Dette peger selvsagt på, at det er den øgede evne til at »bekæmpe« ilt, der har givet længere liv. Der er også opnået støtte for denne hypotese ved at sammenligne forskellige dyrearter. Det er en kendt sag, at forskellige dyrearter har forskellige levelængder, men hvorfor har de egentlig det, når vi alle lever i den samme atmosfære? Det viser sig i disse undersøgelser, at levetiden for forskellige dyrearter faktisk stemmer meget godt overens med både hvor meget skadevoldende ilt, der slipper fri i cellen, og hvor god cellen er til at reparere⁵, således at de dyrearter, der er små og som lever kortere, har sværere ved at beskytte sig mod ilt end de store dyr, der lever længe. De små dyrs kortere liv skyldes således formentlig, at de hurtigere kommer i en situation med »totalt kaos«. Der er altså grund til at tro, at i hvert fald små dyr har begrænset levealder på grund af iltningsbetingede DNA-skader, der efterhånden ødelægger cellerne. Hvilken indflydelse har da – ifølge hypotesen om det totale kaos – disse DNA-skader med hensyn til den maksimale levetid for en art?

SANDSYNLIGHEDSFAKTOREN

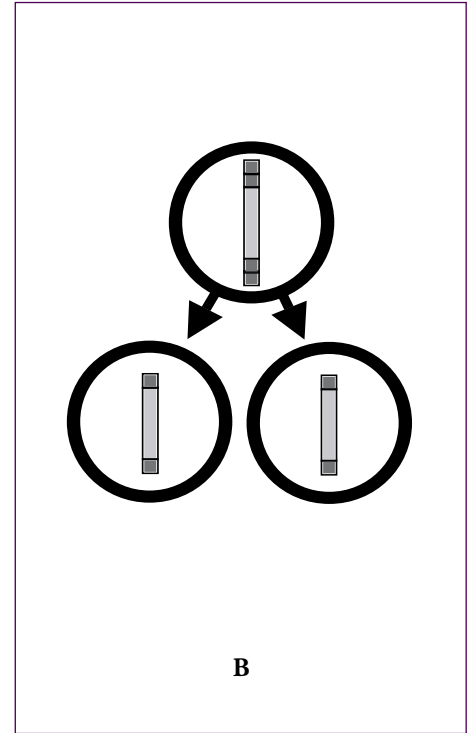
DNA-skaderne er fra et teoretisk synspunkt tilfældige begivenheder, og der er derfor en sandsynlighed af en vis størrelse for, at en skade i den enkelte celle rammer et vigtigt gen. Begivenheder, der kun styres af sådanne sandsynlighedsfaktorer, kalder man »stokastiske begivenheder«. Det faktum, at DNA-skaderne er stokastiske begivenheder, betyder også, at der er en – omend meget lille – sandsynlighed for, at en bestemt celle over et meget langt tidsrum ikke rammes af en kritisk skade, udelukkende fordi den er »heldig«. Dette betyder altså, at hvis DNA-skade hypotesen er den eneste aldringsmekanisme, så vil såvel en celle som et individ i sjældne tilfælde kunne blive ved med at leve, simpelthen fordi der ved rent held ikke indtræder nogen kritisk skade. Sandsynligheden herfor er blot meget lille.



Figur 1. Menneskets 46 kromosomer i gråt. Yderst på enderne af kromosomerne sidder telomere, som her er farvet lyse.



A



B

Figur 2.

A: Skitse af den ringstruktur, der dannes i hver ende af kromosomerne.
B: Hver gang cellen deler sig, bliver telomere (mørkegrå) lidt kortere.

Igennem de seneste år er der blevet gennemført serier, hvor man især på insekter har studeret, hvor længe den længstlevende kan leve⁶. Den overordnede konklusion af disse forsøg har hver gang været, at den maksimale levetid, som blev observeret i gruppen af insekter, afhænger af, hvor mange insekter man starter med. Hvis man starter med 1.2 mio. insekter, finder man således en længere maksimal levetid, end hvis man starter med 50.000. Man mener, at dette skyldes, at sandsynligheden for, at der kan optræde en usandsynlig begivenhed, er større blandt 1.2 mio. insekter end blandt 50.000 insekter. Man tolker disse fund som udtryk for, at maksimal levelængde ved insekter skyldes stokastiske begivenheder, formentlig ilt-skader.

Mange forskellige typer observationer støtter altså hypotesen om, at ophobning af DNA-skader (»teorien om det totale kaos«) er den vigtigste faktor, hvad gælder levetid hos laverestående dyr, forstået som dyr, der ikke har investeret betydelige mængder energi i at beskytte sig mod DNA-skader. Spørgsmålet er imidlertid, om højerestående dyr kan beskytte sig så effektivt mod disse skader, at det programmerede selvmord bliver den vigtigste faktor.

TEORIEN OM DET PROGRAMMEREDE SELVMORD.

Baggrunden for denne aldringsteori er den tanke, at det ikke er ubetinget ønskeligt, at

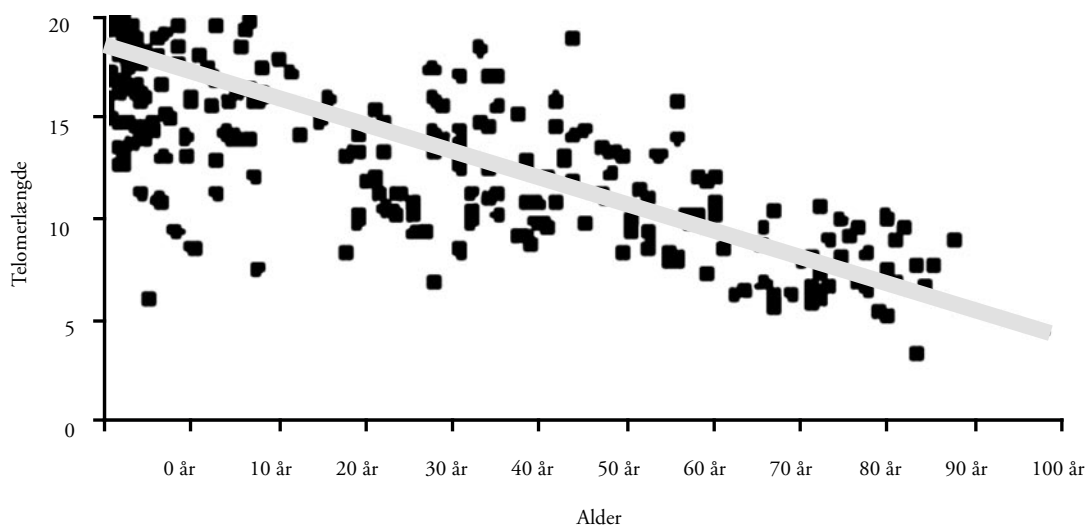
organismer skal »leve evigt«, og at der derfor er indbygget en selvmordsmekanisme i generne. I sin mest primitive form går evolutionsargumentet ud på, at det vil være en fordel for en arts overlevelse og udbredelse, at medlemmer af arten ikke lever, efter individet er kommet ud over den yngledygtige alder og dermed bruger unødigt af artens ressourcer⁷. Det ville altså fremme artens overlevelse, hvis der var et biologisk ur, som udløste individets død senest på det tidspunkt, hvor evnen til at få afkom ophører. En vis støtte for denne teori kan måske hentes i det faktum, at der blandt mange, især lidt laverestående dyrearter, ikke findes nogen »tredje alder«. For hovedparten af dyrearter gælder formentlig, at den gennemsnitlige dødsalder ikke ligger meget senere end det tidspunkt, hvor evnen til at få afkom ophører, hvilket synes at foreslå en form for fælles »timing«.

TELOMERE

Man har i mange systemer, især i cellesystemer, ledt efter mulige biologiske ure, der kunne udløse en selvmordsmekanisme, og man har faktisk fundet en kandidat til dette. Det drejer sig om de såkaldte telomere, der er de yderste ender på vore kromosomer⁸. Vi arver arveanlæg fra begge vore forældre, og de findes i cellen i form af 46 lange DNA-strengene. Disse findes i hver eneste celle, pakket ind med proteiner, og det er disse 46 strukturer, vi kalder kromosomer.

Hvis man fx bestråler celler, kan man få kromosomerne til at brække over. Når disse brud fremkommer, registreres disse i cellen som DNA-skader, og cellen ophører straks med at dele sig og går i stedet i gang med at prøve at reparere. Hvis det ikke inden for en rimelig tid lykkes cellen at få repareret sine skader, går den i apoptose (celleselv-mord). Man kan undre sig over, at der ikke udsendes de samme signaler om DNA-skade fra de 92 naturlige kromosom-ender som befinder sig på de 46 kromosomer, men grunden er, at de naturlige kromosom-ender har en speciel struktur; en form for ring-struktur, der skjuler enden. Ring-strukturen opstår ved, at ca. 10.000 af de yderste byggestene i kromosom-DNA'et har en speciel sekvens, der gør, at denne del af kromosom-DNA'et laver en lille ring og dermed begraver kromosom-enden⁹. Imidlertid er den biokemiske reaktion, der laver to kopier af DNA-strengene i en celle – inden cellen deler sig i to døtre-celler – således indrettet, at der mistes ca. 100 byggestene i de yderste ender i hver ny syntese.

I fosterlivet har vi omkring 15.000 byggestene med den specielle telomerasekvens, der danner ringen, men efterhånden som cellerne deler sig mange gange, bliver telomerasekvensen kortere og kortere. Der findes observationer af cellekulturer, som tyder på, at når telomerasekvensen når ned på nogle få tusinde byggestene, kan ringen ikke længere dannes, og cellen registrerer derfor en skade,



Figur 3. Telomerlængden i blodceller falder gradvis med alderen. Hver prik repræsenterer et individ.

som den ikke kan reparere. Vi har altså her et biologisk ur, i den forstand at kroppens celler kun kan dele sig 100-150 gange.

TELOMERASE

Man kan spørge, hvordan vi har kunnet eksistere i så mange årtusinder, når vi altid taber telomere. Forklaringen er, at cellerne har et gen, der koder for et enzym; telomerase, der kan forlænge telomere⁸. Dette enzym er aktivt i vore kønsceller, og derfor starter nyskabte individer altid med de 15.000 byggestenes telomerasekvens, og de har dermed et fuldt »livs-potentiale«. Efter fosterlivet har mennesket som hovedregel ikke telomerase i sine kropsceller, hvorfor telomere gradvis forkortes.

Der er dog ganske små mængder telomerase i nogle af de hvide blodlegemer og i hud- og tarmceller, tre celletyper, der normalt skal dele sig overordentlig meget gennem hele livet. Ud over disse celler ses der i mennesket telomerase i cancerceller, hvilket ikke er uventet, da en cancercelle netop er karakteriseret ved, at den deler sig uhæmmet.

CELLEKULTURSYSTEMER OG LEVENDE MUS

I cellekultursystemer synes telomerlængden at opfylde betingelserne for at være et biologisk aldringsur, og derfor har mange forskere studeret samspillet mellem levetid, telomerlængder og telomerase i forskellige cellekul-

tursystemer. I sådanne forsøg er billedet ret klart. Hvis man dyrker en telomerase-negativ celle i kultur, vil den i begyndelse se »ung« ud og dele sig livligt. Igennem denne vækst-fase vil telomere langsomt blive kortet af, og når de når en kritisk længde på et par tusinde byggestene, vil cellekulturen gå i stå. På dette tidspunkt vil cellerne i kulturen se »gamle« ud.

Ud over i kultursystemer har man også set på telomerlængdens udvikling i blodcellerne i levende mus, når de bliver ældre. Når man foretager sådanne forsøg med mus, har man imidlertid det problem, at musen, ligesom mange andre små dyr, har telomerase i næsten alle væv, og derfor har de meget lange telomere. For at få en mus til at få korte telomere, måtte man slå begge telomerase-gener ud med gensplejsningsteknik, og herefter vente i seks generationer, før de telomerase-negative mus fik korte telomere¹⁰. På dette tidspunkt begyndte imidlertid selv helt unge mus at fremvise tegn på aldring. Så med lidt ekstra manipulation kunne der altså også opnås resultater i levende mus, der demonstrerede det biologiske ur.

MENNESKECELLER

På højerestående dyr og mennesker har undersøgelser af denne art mest drejet sig om at måle telomerlængder på celler, som nødvendigvis må dele sig mange gange igennem livet, fx blodceller. På mennesker er det i

sådanne forsøg vist, at der sker en langsom forkortning af telomere i blodceller, men figur 3. synes at vise, at vi skal blive betydeligt ældre end den nuværende maximale levetid, før vi vil blive truet af faldende delingsevne, i hvert fald i blodceller.

Nøjere studier af forskellige organer fra en række forskellige dyr har på det seneste demonstreret, at dyr længere nede i dyrerækken generelt har telomerase i mange væv i modsætning til højerestående dyr, der har små mængder i enkelte celletyper. Den almindelige holdning er, at inaktivering af telomerase i højerestående dyr er et cancer-værn, hvilket er foreneligt med, at sandsynligheden for at få cancer udtrykt pr. vævsmængde er voldsomt meget højere i mus end i højerestående dyr. Man kan altså sige, at prisen for at leve længe uden at få mange tilfælde af cancer, er, at vi har slukket telomerasen, men resultatet af dette er, at vore celler kun har et begrænset delingspotentiale.

KAOS ELLER SELVMORD?

Hvis man skal svare på, hvilken af de to aldringsteorier, der har størst betydning for mennesket, må det anføres, at i teorien kan såvel DNA-skader som telomer-nedslidning tænkes at spille en rolle for udviklingen af visse af de sygdomme, som danskere normalt dør af. Der er næppe tvivl om, at menneskets DNA beskadiges af ilt. Spørgsmålet er måske mere, i hvilken udstrækning vore ret



effektive reparations- og antioxidationssystemer kan holde trit med skaderne og dermed få os til at leve så længe, at vi løber ind i »telomer-problemer«.

Det er notorisk vanskeligt at bedømme hyppigheden af DNA-skader i kroppens celler, da cellerne »begår selvmord«, når de rammes af mange skader og dermed forsvinder. I modsætning til dette er telomer-længder lette at måle. Der er derfor udført flere studier af menneskelige celler for at undersøge, om der er en sammenhæng mellem telomerlængden og levetid. Især et enkelt studie vakte opmærksomhed og diskussion. En amerikansk forskergruppe indsamlede blodprøver fra en stor gruppe mennesker i 1960'erne. Blandt de indsamlede prøver var over 150 prøver fra individer, der på det tidspunkt var over 60 år. Næsten alle disse individer er nu døde, og man kender såvel levetid efter blodprøvetagningen som dødsårsagen. På disse blodprøver har man for nylig målt telomer-længder og sammenholdt disse med overlevelsesalder og dødsårsag. Forskergruppen kom i disse udregninger frem til, at personer, der i 1960'erne havde længere telomere, levede længere, og at den overdødelighed, der sås hos indi-

vider med korte telomere, var forårsaget af bestemte dødsårsager, som fx infektioner. Dette studie er senere blevet diskuteret, fordi efterfølgende forskere, bl.a. forskere fra Dansk Center for Molekylær Biologi, har haft svært ved at reproducere fundene. Med tanke på at telomer-nedslidningen synes at blive kritisk meget sent i livet, har vi i stedet udført lignende undersøgelser på en mindre gruppe 101-årige, men har heller ikke her kunnet finde sammenhæng mellem telomerlængde og levetid.

Det må således konkluderes, at der ikke på nuværende tidspunkt eksisterer tilstrækkelig menneskelige data til at kunne vægte DNA-skade hypotesen og telomer-hypotesen mod hinanden. ■

REFERENCER

- 1 Hayflick, L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research* 1965, 37: 614-636.
- 2 Hasty, P, Campisi, J, Hoeijmakers, J, van Steeg, H, Vijg, J. Aging and genome maintenance: lessons from the mouse? *Science*. 2003, 299(5611):1355-9.
- 3 Ishikawa, F. Aging clock: the watchmaker's

masterpiece. *Cellular and Molecular Life Science*, 2000, 57(5): 698-704.

- 4 Busuttill, RA, Dolle, M, Campisi, J, Vijga, J. Genomic instability, aging, and cellular senescence. *Annals of the New York Academy of Science*. 2004, 1019: 245-55.
- 5 Floyd R.A, West M, Hensley K. Oxidative biochemical markers; clues to understanding aging in long-lived species. *Experimental Gerontology*, 2001, 36(4-6): 619-40.
- 6 Carey J. Longevity. The biology and demography of life span. Princeton University Press 2003.
- 7 Kirkwood T.B. The nature and causes of ageing. *Ciba Found Symposium* 1988, 134: 193-207.
- 8 Greider, C.W. Telomeres and senescence: the history, the experiment, the future. *Current Biology*, 1998, 8: R178-181.
- 9 Griffith, J.D, Comeau, L, Rosenfield, S, Stansel, R.M, Bianchi, A, Moss, H, and de Lange, T. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*, 1999, 97: 503-514.
- 10 Blasco, M. A. Mouse models to study the role of telomeres in cancer, aging and DNA repair. *European Journal of Cancer*. 2002, 38(17): 2222-8.