

1.2 Lebensdauer: Genetische Determinierung und lebensverlängernde Strategien

HANS NIEDERMÜLLER und GERHARD HOFECER

Inhaltsverzeichnis		
1.2.1	Altern als zellulärer und/oder systemtheoretischer Prozess	9
1.2.2	Inter- und intraspezifische Unterschiede der Lebenserwartung: Allgemeine Betrachtungen und genetische Studien an Wirbellosen, Säugern und Mensch	10
1.2.3	Genetische Determination von Altern oder von lebensverlängernden Strategien	12
1.2.3.1	Altersprogramme	13
1.2.3.2	Keimzellgene	13
1.2.3.3	Programm für Langlebigkeit	13
1.2.4	Beteiligung von Genen an altersspezifischen Merkmalen und Besonderheiten . . .	15
1.2.4.1	Vitogene	15
1.2.4.2	Genexpression	16
1.2.5	Langlebigkeit („longevity“) als Merkmal . .	16
1.2.6	Genexpression und ihre Regulation während des Alterns	20
1.2.6.1	Genexpression	20
1.2.6.2	Regulation	20
1.2.7	Von den Genen zu funktionellen Genprodukten während des Alterns	25
1.2.7.1	Transkription	25
1.2.7.2	Translation	26
1.2.7.3	Proteinsynthese	27
1.2.7.4	Postsynthetische Veränderungen	28
1.2.8	Stress und Altern	29
1.2.8.1	Hitzeschockproteine und Chaperone	29
1.2.8.2	Oxidativer Stress und freie Radikale	31
1.2.9	Modellsysteme in der Untersuchung der molekularen Ursachen der Lebenserwartung	31
1.2.9.1	Die Progerie (HGS)	32
1.2.9.2	Das Werner Syndrom (WS)	32
1.2.9.3	Andere Syndrome	33
1.2.9.3.1	Trichothiodystrophie	33
1.2.9.3.2	Bloom-Syndrom	34
1.2.9.3.3	Fazit	34
1.2.10	Genom-Stabilität, Mutationen, DNA-Schäden und DNA-Reparatur	35
1.2.10.1	Instabilitäten und Mutationen	35
1.2.10.2	Telomeren	36
1.2.10.3	Replikative Seneszenz	38
1.2.10.4	Reaktive Sauerstoffspezies	39
1.2.11	Bedeutung von Stammzellen für Alter und Lebenserwartung	41
1.2.12	Kern-Mitochondrien-Interaktionen	43
1.2.13	Wachstumsfaktoren und Signaltransduktion – Signale als molekulare Mechanismen . . .	45
1.2.13.1	Zellteilung und Proliferation	45
1.2.13.2	Signaltransduktion	46
1.2.14	Gene, welche die Proliferation kontrollieren und Alternsprozesse beeinflussen (Zellzyklusgene, an Signaltransduktion und Genregulation beteiligte Gene)	48
1.2.14.1	Saccharomyces cerevisiae	48
1.2.14.2	Drosophila melanogaster	48
1.2.14.3	Mensch	48
1.2.15	Replikative Kapazität und begrenzte Populationsverdopplung . .	49
1.2.15.1	Hayflick-Zahl und Hayflick-Limit	49
1.2.15.2	Genetische Aspekte	50
1.2.16	Molekulare und genetische Ursachen von Apoptose und Nekrose	51
1.2.16.1	Apoptose	51
1.2.16.2	Nekrose	51
1.2.17	Altern und Krebs auf molekularer Ebene	52
1.2.18	Modulation auf molekular-zellulärer Ebene: Molekulare Möglichkeiten der Modulation	54
1.2.18.1	Lyophilisierte Zellen und ihre Wirkungsmechanismen	54
1.2.18.2	Wirkfaktoren auf molekular-zellulärer Ebene	55
1.2.18.3	Andere Einflussnahmen	57
1.2.19	Biogerontologie und der Alterungsprozess .	58
1.2.20	Literatur	59

1.2.1 Altern als zellulärer und/oder systemtheoretischer Prozess

Altern ist ein grundlegender physiologischer Prozess, der ausnahmslos in allen arbeitsteiligen multizellulären Organismen auftritt. In dieser Arbeit werden wir uns beim Begriff „Spezies“ besonders auf Mammalia beziehen – auf Abweichungen wird hingewiesen. Aus medizinisch-biologischer Sicht umfasst der Begriff „Altern“ die regressive Phase des stetigen Wandels von Struktur und Funktion, den Bürger (1947) als Biomorphose bezeichnete (Abb. 1.2.1).

Ganz allgemein können wir das Altern auch als Anhäufung von ungünstigen und nachteiligen Änderungen charakterisieren, welche das Todesrisiko erhöhen. Betrachtet man die altersabhängigen Veränderungen physiologischer Parameter des Menschen, so stellt man fest, dass nach einer Phase raschen Zuwachses an funktioneller Kapazität ein progressiver Abbau funktioneller Fähigkeiten erfolgt. Die Rückbildungsphase der Biomorphose wird allgemein als Altern im engeren Sinne oder Seneszenz bezeichnet.

Wenn wir vom Altern sprechen, interessiert uns in erster Linie das Altern des Gesamtorganismus – aus praktischem Interesse das des Menschen und verschiedener Haustiere, im Rahmen der Grundlagenforschung das von Versuchstieren.

Die Biomorphose physiologischer Funktionen verläuft bei allen Säugetieren in weitgehend analoger Weise, sodass die an Säugetieren gewonnenen tierexperimentellen Befunde auch Schlüsse auf Gesetzmäßigkeiten der Biomorphose anderer Spezies dieser Klasse erlauben.

Wenn auch das Altern ein komplexer biologischer Prozess ist, der auf den physiologischen Ebenen erst Erklärungsmöglichkeiten für die dabei auftretenden Veränderungen des Organismus liefert, dürfen wir nicht außer Acht lassen, dass auf molekularer und zellulärer Ebene Vorgänge ablaufen, die grundlegend auch für das organische Altern sind.

Zwar hat Rosen (1975) überzeugend nachgewiesen, dass Organismen auch dann altern, wenn die Zellen selbst keine Alterung zeigten, also ihre optimale Funktion unabhängig von der Zeit immer erfüllten, doch gelänge es den Zellen trotzdem nur dann, das Altern des Organismus zu verhindern, wenn sie in der Lage wären, immer von neuem die Interaktionen zwischen ihnen so zu justieren, dass die Funktion der übergeordneten Ebene (Organe) auf optimalem Niveau aufrecht erhalten werden kann. Diese Eigenschaften von Zellen konnten bis jetzt nur in eingeschränktem Maße beobachtet werden. Ein beträchtlicher Teil neuerer experimentell-gerontologischer Untersuchungen befasst sich mit altersabhängigen Veränderungen im molekular-zellulären Bereich, wobei Veränderungen der Nukleoproteine und Fehler der Proteinsynthese die wichtigsten Arbeitshypothesen über das Altern darstellen. Stabilität, Verfügbarkeit und fehlerfreier Fluss genetischer Information sind grundlegende Bedingungen für die Erhaltung von Struktur und Funktion. Es liegt nahe, in diesem Bereich fundamentale Alternsprozesse zu vermuten (Abb. 1.2.2).

Es erschöpft sich also, auch in sehr alten Organismen, individuell kein Gewebe, Organ oder System funktionell, es sind also ihre kombinierte Tätigkeit, Wechselwirkung und Interdependenz, die das Überleben als Ganzes bestimmen (Abb. 1.2.3).

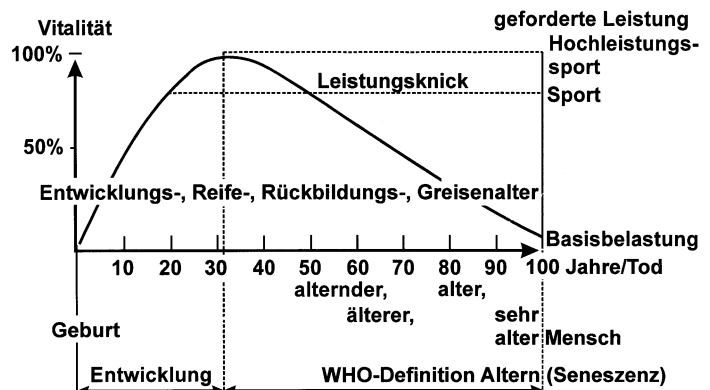


Abb. 1.2.1. Biomorphose und Vitalität. Das biologische Alter und damit die Veränderung von Struktur und Funktion (Biomorphose) spiegelt sich in einem Parameter, den man Vitalität nennt und der die Änderungen der Gesamtkapazität

angibt. Diese steigt während der Entwicklung bis zu einem Maximum, um dann bis zum Tod auf Null abzusinken. Wird die Abszisse normiert, ergeben sich ähnliche Kurven für alle Säugetierspezies und für viele andere Vertebraten

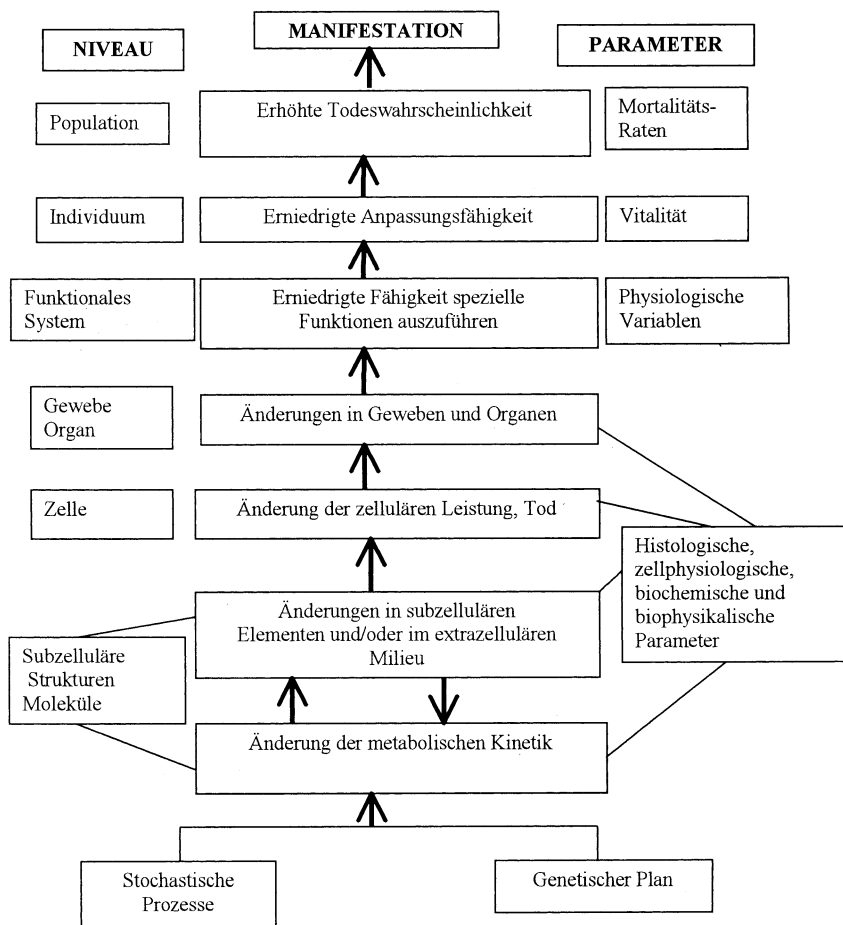


Abb. 1.2.2. Hierarchie der Alternsprozesse. In der linken Spalte ist die organische Ebene dargestellt, auf der Alternsprozesse auftreten, in der mittleren deren Manifestation und in der rechten Spalte die messbaren Kenngrößen. Altern taucht zu-

erst auf der molekularen Ebene auf, ist das Resultat zufälliger Prozesse und auch eines genetischen Plans, setzt sich auf allen Organisationsebenen fort und führt schließlich zum Tod. Gegen den Alternsprozess arbeiten Langlebigsstrategien

Der erwachsene Organismus wird in erster Linie durch mindestens zehn Mechanismen in einem funktionalen Zustand erhalten, welche zusammen einen substanziellen Anteil aller biologischen Prozesse darstellen. Schließlich versagen diese Erhaltungsmechanismen – vielleicht weil der physiologisch-anatomische Entwurf mit einem ewigen Leben unvereinbar ist. Weiter ist einsichtig, dass alle Mechanismen in quantitativ und qualitativ verschiedener Weise zur Erhaltung beitragen, sind doch alle an der Bewahrung der Homöostase beteiligt.

1.2.2 Inter- und intraspezifische Unterschiede der Lebenserwartung: Allgemeine Betrachtungen und genetische Studien an Wirbellosen, Säugern und Mensch

Die maximale Lebenserwartung (MLP oder MLSP, „maximum life span potential“) jeder Spezies hängt von der Wirksamkeit der Erhaltung von Zellen und Geweben ab und es ist einsichtig, dass diese Erhaltung in langlebigen Arten wirksamer ist. Weiter ist offensichtlich, dass eine umgekehrte Beziehung zwischen Reproduktionspotenzial und MLP besteht: die verfügbaren metabolisch-energetischen Mittel müssen zwischen dem Einsatz in Fortpflanzung und in Erhaltung des erwachsenen Somas aufgeteilt werden.

Gerontologen haben in dieser Hinsicht immer auf die vorhandenen Modelle der Genetiker und

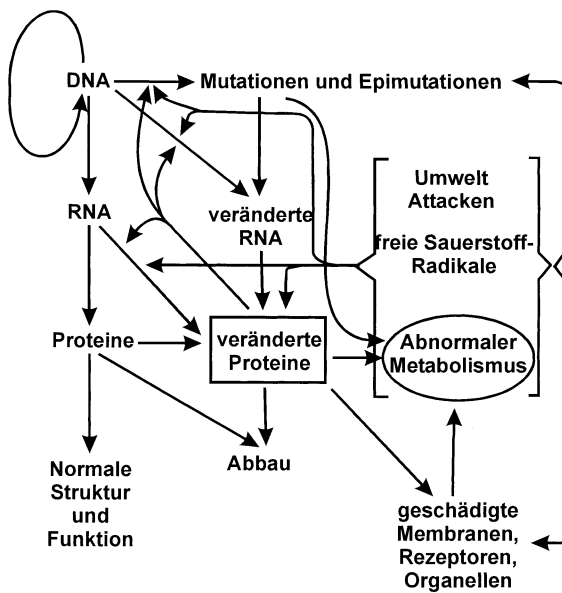


Abb. 1.2.3. Normaler und entarteter Informationsweg. Entartete Wege führen zu verschiedenartigen Schäden. In normalen Zellen werden die selten auftretenden Schäden durch Reparaturmechanismen auf niedrigem Niveau gehalten (dicke Pfeile). Bei deren Zusammenbruch kommt es zu abnormalen Wegen (dünne Pfeile)

Immunologen zurückgegriffen. Diese Arten unterscheiden sich in Bezug auf ihre Lebenserwartung, aber auch in Bezug auf morphologische und funktionale Eigenarten. Dabei sind eine Fülle von Daten für folgende Arten vorhanden: Hefen, andere Pilze (*Podospora*, *Neurospora*), Protozoen (*Amoeba*,

Ciliaten: *Tetrahymena pyriformis*, *Paramecium*), Algen (*Volvox carteri*), Rädertierchen (*Rotifer vulgaris*), *Nemathelminthes* (Fadenwürmer: *Caenorhabditis elegans*), Insekten (Frucht- und andere Fliegen: *Drosophila melanogaster*, *Musca domestica*), die Mäusestämme und Menschen. Die unterschiedliche genetische Ausstattung bedingt eine unterschiedliche MLP und ist auf die spezifische Selektion zurückzuführen (Tabelle 1.2.1, 1.2.2).

Der Umfang und die Vielfalt der Erscheinungen, auf die wir bei der Betrachtung des alternden Phänotyps treffen, zeigen Folgendes: Altern läuft in verschiedenen Arten unterschiedlich ab, ebenso in verschiedenen Individuen innerhalb einer Art und in verschiedenen Organen, Systemen und Geweben innerhalb eines Individuums (Abb. 1.2.4), weiter in verschiedenen Zellen innerhalb eines Organs, in verschiedenen Organellen und auch Makromolekülen innerhalb einer Zelle. Es gibt vier Kennzeichen für die Beschreibung und den Vergleich der Alternsgeschwindigkeit in verschiedenen Arten:

- die MLP,
- die mittlere (durchschnittliche) Lebenserwartung (LE) (50% Überlebende einer Kohorte, d.h. einer innerhalb eines bestimmten Zeitraums geborenen Population),
- die initiale Mortalitätsrate (IMR, bestimmt durch die Hauptursache für den Tod im frühen Leben) und
- die Verdopplungszeit der Mortalitätsrate (MRDT, „mortality rate doubling time“, welche die Beschleunigung der Mortalität ausdrückt).

Tabelle 1.2.1. Maximale Lebenserwartung von Invertebraten

Gattung	Art	MLP	Wo ermittelt?
Schwämme	<i>Suberites carnosus</i>	15 a	G
Nesseltiere	<i>Cereus pedunculatus</i>	85–95 a	G
Plattwürmer	<i>Taniarhynchus saginatus</i>	> 35 a	K
Schlauchwürmer			
Fadenwürmer (Nematoda)	<i>Wuchereria bancrofti</i>	17 a	K
Rädertierchen (Rotifera)	<i>Callidina</i>	15 m	G
Ringelwürmer			
Vielborster	<i>Sabella pavonina</i>	> 10 a	G
Gliederfüßler			
Spinnentiere	<i>Filistata insidiatrix</i>	11 a	G
Krustentiere	<i>Astacus</i>	15–25 a	xxx
Insekten			
Fliegen	<i>Drosophila melanogaster</i>	9 s	G
Termiten	<i>Neotermes castaneus</i>	> 25 a	w
Hautflügler	<i>Lasius niger</i>	> 19 a	G
Stachelhäuter	Seeigel (<i>Echinus esculentus</i>)	> 8 a	w
Weichtiere			
Schnecken (Gastropoda)	<i>Patella vulgata</i>	15 a	W, WT
Muscheln (Bivalvia)	<i>Margaritana margaritifera</i>	70–80 a	W, WT

MLP maximale Lebenserwartung, G Gefangenschaft, K Kohortenstudien, WT Wachstum, W Wildtiere, a Jahre, m Monate, s Wochen.

Tabelle 1.2.2. Maximale Lebenserwartung von Vertebraten

Gattung	Art	MLP	Wo ermittelt?
Primaten	Rhesusaffe	45 a	G
	Gorilla	54 a	G
	Homo sapiens (Mensch)	122 a	G
Raubtiere	Katze	28 a	G
	Hund	34 a	G
	Braunbär	47 a	G
Huftiere	Schaf	20 a	G
	Schwein	27 a	G
	Pferd	46 a	G
	Indischer Elefant	70 a	G
Nager	Hausmaus	3 a	G
	Hausratte	5 a	G
	Eichhörnchen	24 a	G
	Stachelschwein	27 a	G
Fledermäuse	Vampirfledermaus	20 a	G
	Indische Fruchtfledermaus	31 a	W
Vögel	Ringeltaube	35 a	G
	Möwe	44 a	G
	Steinadler	46 a	G
	Eule	68 a	G
Reptilien	Anakonda	29 a	G
	Schnappschildkröte	>58 a	G
	Alligator	52 a	G
	Galapagos-Schildkröte	<100 a	WT
Amphibien	Afrikanische Klauenkröte	15 a	W
	Gemeine Kröte	36 a	W
	Japanischer Molch	25 a	G
	Ochsenfrosch	16 a	W
Fische	Kabeljau	>20 a	W,
	Hecht	>40 a	WTW,
	Heilbutt	>60 a	WTW,
	Guppy	6 a	WTGW,
	Stör	>80 a	WT

MLP maximale Lebenserwartung, G Gefangenschaft, WT Wachstum, W Wildtiere, a Jahre, m Monate, s Wochen.

Die MLP und MRDT sind spezifisch für die Arten, da sie die größten Unterschiede zwischen diesen aufweisen (1:40). Dies zeigt, dass diese Kennzeichen durch eine signifikante genetische Komponente bestimmt werden, wie es Finch (1990) auf mehreren hundert Seiten ausgeführt hat.

1.2.3 Genetische Determination von Altern oder von lebensverlängernden Strategien

Immer noch besteht eine kontroverse Diskussion darüber, ob das Altern in der Evolution selektiert wurde und von einem oder mehreren Genen ein

kontrollierter Alternsprozess determiniert wird oder ob die oben erwähnten lebenserhaltenden Strategien selektiert wurden, d.h. die für diese kodierenden Gene, die dann für die jeweilige MLP relevant wurden. Die meisten Daten stützen jedoch einen stochastischen Alternsprozess, dem von lebensverlängernden Strategien entgegengearbeitet wird. Selektiert wird für reproduktiven Erfolg, was keinen Spielraum für die Selektion von Altern und Tod lässt. Evolutionäre Kräfte arbeiten nur für Lebensprozesse.

Dafür, dass Altern doch einen genetischen Bezug aufweist, sprechen verschiedene Beobachtungen:

- die praktische Grenze der MLP innerhalb einer Art,
- Zwillingsuntersuchungen und Erbkomponenten,

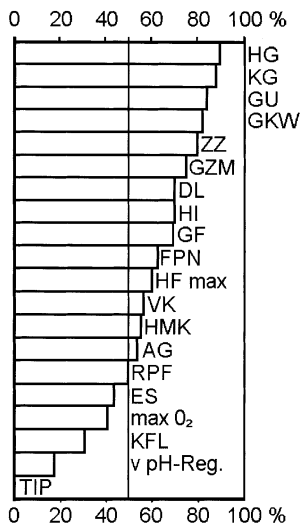


Abb. 1.2.4. Abnahme an Substanz und Funktion. Die Balken geben die Prozent erhaltener Funktion im 80. Lebensjahr in Bezug auf das 30. Lebensjahr (=100%) an. HG Hirngewicht, KG Körpergewicht, GU Grundumsatz, GKW Gesamtkörperwasser, ZZ zerebrale Zirkulation, GZM Gesamtzellmasse, DL Dauerleistung, HI Herzindex, GF glomeruläre Filtrationsrate, FPN Fasern in peripheren Nerven, HFmax maximale Herzfrequenz, VK Vitalkapazität, HMK Handmuskelfkraft, AG Atemgrenzwert, RPF renaler Plasmafluss, ES Expirationsstoß, maxO₂ maximale Sauerstoffaufnahme, KFL Kompressionsfestigkeit Lendenwirbel, vpH-Reg Geschwindigkeit der pH-Regulation, TIP Thymushormone im Plasma

- vorzeitiges Altern von Mutanten und
 - genetische Marker für außerordentliche MLP.
- Wie beide Ansichten zu vereinen sind, soll später weiter ausgeführt werden.

Die genetische Basis der Lebenserwartung versucht Kirkwood (1985, 1991) anhand von drei Theorien zu erklären. Diese hat er nach neuesten Untersuchungen erst kürzlich überarbeitet und zusammengefasst (Kirkwood u. Austad 2000) und ausführlich in einem Gemeinschaftswerk (Finch u. Kirkwood 2000) und in seinen letzten Büchern „Aging Vulnerability: Causes and Interventions“, „Atlas“ und „The End of Age“ (Kirkwood 2001) dargestellt. Im Folgenden werden die betreffenden Bereiche kurz umrissen.

1.2.3.1 Alternsprogramme

Viele Beobachtungen weisen auf eine weite Verbreitung von Alternsprogrammen hin. So korreliert die Länge der Reifungsphase mit der Länge der Phase der Seneszenz, sodass ähnlich programmierte genetische Prozesse beides kontrollieren könnten (Russel

1978); viele Hormone haben einen Einfluss auf beide Phasen (Everitt u. Meites 1989, Regelson 1983, Gresik et al. 1986, Pierpaoli et al. 1991).

Solche Änderungen bei der Aufrechterhaltung der Homöostase im Endokrinium oder Nervensystem können entweder programmiert sein oder aufgrund eines Verlusts der Transkriptionskontrolle auftreten, was zur Programmtheorie des Alterns führte.

Dagegen spricht, dass Wildtiere nicht lang genug leben und daher die natürliche Selektion nur eine sehr begrenzte Gelegenheit hat, einen direkten Einfluss auf den Alternsprozess auszuüben. Jedes hypothetische das Altern beschleunigende Gen wäre unvorteilhaft für das Individuum. Mit steigendem Alter tritt eine progressive Schwächung der Selektionskraft auf. Diese ist zu schwach, um die Anhäufung von Keimzellmutationen mit spät auftretenden schädlichen Effekten zu verhindern. Medawar (1952) spricht vom „Selektionsschatten“. Daher ist es sehr unwahrscheinlich, dass Altern per se selektiert wurde.

1.2.3.2 Keimzellgene

Gene in Keimzellen können Mutationen enthalten, die zwar für die Reproduktion vorteilhaft sind, jedoch später schädliche Wirkungen zeigen; wenn solche in Regionen auftreten, die für Proteine kodieren, bei denen die Selektion nicht so streng ist, führt diese später zu Schäden und Seneszenz (Williams 1957), was zur Theorie der pleiotropen Gene führte.

Eine kleine günstige Wirkung früh im Leben kann eine später schädliche überwiegen. Dies führt zu den nachstehend erläuterten Überlegungen.

1.2.3.3 Programm für Langlebigkeit

Am wahrscheinlichsten ist, dass die Lebenserwartung als Folge eines Tauschhandels („trade-off“) zwischen früher Fruchtbarkeit und spätem Überleben bestimmt wird. Die beste Anlage in die Erhaltung des Somas liegt immer unter der hypothetischen Schwelle, die für Unsterblichkeit notwendig wäre. Aus diesen Überlegungen ist die Theorie des verfügbaren (disponiblen) Somas entstanden (Kirkwood 2000), welche die zentrale Rolle des Energiestoffwechsels und der Funktionen zur Erhaltung des Somas bei der Festlegung der MLP vorhersagt (Abb. 1.2.5).

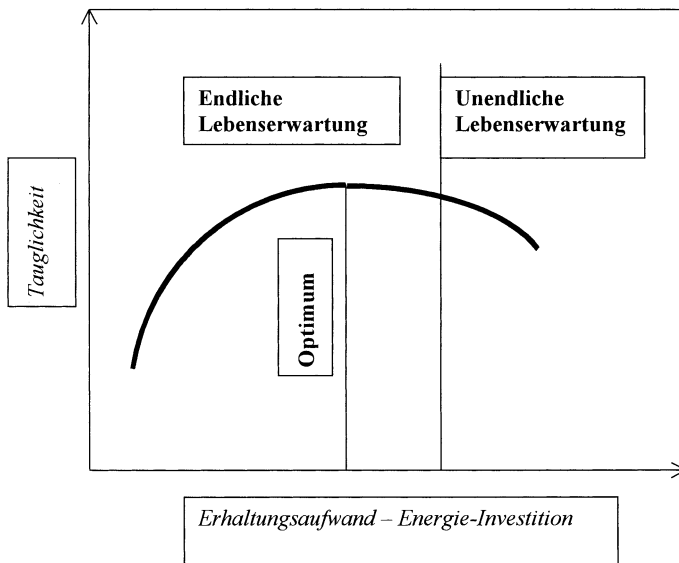


Abb. 1.2.5. Theorie des disponiblen Somas. Die Kurve zeigt das Verhältnis zwischen dem Einsatz metabolischer Ressourcen und Darwin-Tauglichkeit. Die notwendigen Ressourcen für unendliche Lebenserwartung, ohne Altern, würden die Tauglichkeit immer unter den optimalen Wert reduzieren.

Es käme also zu einer optimalen Zuteilung der Stoffwechselressourcen zwischen der Erhaltung des Somas und der Reproduktion. Eine wirksame Erhaltung des Somas ist nur notwendig, um einen fehlerfreien physiologischen Zustand so lange aufrecht zu erhalten, bis eine vernünftige Aussicht für das Überleben in der Wildnis besteht. Da wir wissen, dass nur ein minimaler Bruchteil der Individuen ein höheres Alter erreicht, ist einzusehen, dass ein weiteres Zuteilen der Energieressourcen in somatische Erhaltungsprozesse nichts zur Selektion beiträgt. Dies legt nahe, dass Individuen mehr Energie zur Aufrechterhaltung der Homöostase, Thermogenese (Berry u. Bronson 1992) und Reproduktion einsetzen, obwohl dadurch später Schäden auftreten, die unter anderem zur Seneszenz führen können.

Allgemein gilt, dass die MLP des Wildtyps niedrig ist, wenn das Niveau der exogenen Mortalität hoch ist – mit all den oben erwähnten Folgen, was sich auch auf die MLP derselben Spezies in geschützter Umgebung auswirkt. Daher erklärt sich die unterschiedliche MLP der Mammalia, wobei die in der Wildnis besonders geschützten Arten (gepanzerte, fliegende und große Tiere, aber besonders der Mensch) eine sehr hohe MLP aufweisen. Der Mensch hat ein extrem leistungsfähiges Gehirn, was eine bessere Arterhaltung ermöglicht, besonders in Hinblick auf die Aufzucht der Nachkommen, und zwar auch durch die vorvor-

Um maximale Tauglichkeit zu erreichen, resultiert der optimale Aufwand zur Erhaltung in endlicher Lebenserwartung. Der für unendliche Lebenserwartung benötigte Aufwand, d. h. Unsterblichkeit, würde immer die Tauglichkeit reduzieren (Kirkwood 1985, Kirkwood u. Austad 2000)

hergehende Generation, also die Großeltern (Hawkes et al. 1998). Ein weiterer Selektionsvorteil in Bezug auf die MLP ist das Lernen (Niedermüller u. Hofecker 1994).

Viele weitere Untersuchungen an verschiedenen Arten, auf die hier nur cursorisch eingegangen werden kann, bestätigen die Überlegungen dieser evolutionären Alternstheorie (Klass u. Hirsh 1976, Masoro 1998, Walford u. Spindler 1997, Shanley u. Kirkwood 2000, Partridge et al. 1999, Buck et al. 2000, van Voorheis u. Ward 1999, Walker et al. 2000, Finch 1990).

Der Schluss, den wir aus all diesen Untersuchungen und Befunden ziehen können, ist, dass verschiedenartigste Gene die MLP bestimmen, wobei sie aber nicht den Alternsprozess per se beeinflussen, denn nichts weist auf ihre Selektion hin. Altern ist also nicht programmiert, sondern entsteht weitgehend aus der Anhäufung somatischer Schäden, da begrenzte Energie in die Erhaltung und Reparatur des Somas angelegt wird. Darüber hinaus existieren schädliche und pleiotrope Gene, welche in höherem Alter eine ungünstige Genexpression verursachen. Welche Gene an der Bestimmung der MLP beteiligt sind, soll im Folgenden diskutiert werden.

1.2.4 Beteiligung von Genen an altersspezifischen Merkmalen und Besonderheiten

Die Untersuchung altersspezifischer Merkmale kann Schutz- und Risikofaktoren identifizieren. So ist die Identifikation von Genen, die am erfolgreichen Altern beteiligt sind, ein wichtiger Beitrag zu genetisch-epidemiologischen Studien des Alterns. Untersucht werden folgende Merkmale:

- das Überleben;
- das erweiterte Überleben (es können z.B. Risikofaktoren gegen ein anderes Risiko schützen), wobei MLP, aktive Lebenserwartung und Gesundheitserwartung, das verzögerte oder beschleunigte Risiko für Multimorbidität und unerkannte altersbezogene Pathologien eine Rolle spielen;
- die Geschwindigkeit von Altersveränderungen (diese werden von genetischen Faktoren bestimmt, die eben nicht nur physiologische Funktionen zu einem bestimmten Zeitpunkt bestimmen);
- die genetischen Polymorphismen dieser Merkmale (Gene für die Selektion erhöhter MLP oder in denen die allelische Variation mit der MLP verbunden ist – s. Tabelle 1.2.5, 1.2.6);
- die Gene, die progeroide Syndrome verursachen, und
- die Gene, die quantitative Merkmale beeinflussen, deren Niveau Mortalitätsraten aus vielfältigen Ursachen vorhersagen kann.

1.2.4.1 Vitagene

Durch Selektion wird ein effizientes Vitagennetzwerk aufgebaut, um die Erfüllung des Lebenszwecks zu garantieren: die Fortpflanzung und den Fortbestand der Generationen. Die Suche nach Genen, welche den Alternsprozess programmieren sollten – Gerontogene – ist also obsolet. Auch wenn bei manchen Arten solche Gene zu existieren scheinen (*age1* bei *C. elegans* usw.) kann sich der Begriff Gerontogene nur auf die funktionale Umwandlung des Vitagennetzwerks beziehen, hervorgerufen durch die dauernde Anhäufung von zufälligen Schäden, also einen veränderten Zustand der Vitagene; d.h. Gerontogene existieren nur virtuell.

Auf den verschiedenen Ebenen der multizellulären Organisation finden sich eine Fülle von Genen:

- a) auf molekularer Ebene: Erhaltung und Reparatur des Genoms, Genauigkeit der Informationsübertragung, Umsatz von Makromolekülen,

- Synthese von Stressproteinen, Zerstörung freier Radikale („reactive oxygen species“, ROS);
- b) auf zellulärer Ebene: Aufrechterhaltung des Differenzierungszustands, Regulation der Stoffwechselprozesse und der Zellteilung, Aufrechterhaltung der Homöostase, der Stabilität des zellulären Milieus (pH, Ionen, Moleküle, Viskosität), der Stabilität der Membranen;
- c) auf der Gewebs- und Organebene: Neutralisation und Entfernung toxischer Moleküle, Geweberegeneration und Wundheilung, Zelltod und -ersatz und
- d) auf physiologischer Ebene: neuronale, humorale, Immun- und Stressantwort, Thermoregulation.

Es ist unseres Erachtens jedoch sinnlos, von genau 10 oder 27 oder 131 Genen zu sprechen, wenn man bedenkt, dass ein Gen mehrere Strategien oder mehrere Gene zusammen eine Strategie kodieren können. Darüber hinaus müssen die verschiedenen Leseraster, das „Silencing“ (Verstummen der transkriptionalen Aktivität durch ein bestimmtes Sequenzmotiv), und alle regulatorischen Wechselwirkungen von der Replikation bis über die Translation hinaus, berücksichtigt werden, denn jedes trägt in verschiedenem Ausmaß zur Kodierung lebensverlängernder Strategien bei.

Uns werden nur die Ebenen a) und b) interessieren, die beiden anderen werden nur dann berücksichtigt, wenn molekular-zelluläre Prozesse betroffen sind.

Etwa ein Viertel der Mammaliagene sind konstitutive Gene („housekeeping genes“), die ohne weitere Regulation allein aufgrund der Wechselwirkungen zwischen RNA-Polymerase und Promotor exprimiert werden. Sie kodieren oft für Funktionen, die in allen Zellen gebraucht und deshalb überall exprimiert werden. Alle übrigen sind gewebsspezifisch und induzierbar (Antequera u. Bird 1993). Deutliche Altersveränderungen sind nur in induzierbaren Genen bzw. in deren Genexpression zu finden. Im Gegensatz zur Entwicklung als programmiertem und gut koordiniertem Prozess ist Altern, wie oben ausgeführt, eine stochastische und nichtdeterministische Erscheinung. Die Gene, welche die MLP bestimmen, wurden in Übereinstimmung mit der Lebensgeschichte einer Art selektiert, um die essenzielle Lebenserwartung zu sichern, also die optimale Zeit, die für erfolgreiche Reproduktion notwendig ist. Diese Gene – zuerst von Cutler (1973, 1985) als „longevity determinant genes“ (LDG) oder „anti-aging genes“ bezeichnet – werden Langlebigkeit sichernde Gene („longevity

assurance genes“ (Jazwinski 1996, D'Mello et al. 1994) oder heute einfacher Vitagene genannt (Rattan 1998 a,b, 2001).

Wir können uns die Vitagene in ein Netzwerk organisiert vorstellen, zu dem verschiedene Systeme gehören: die DNA-Reparatur, das Immunsystem, die Signaltransduktionselemente, antioxidative Prozesse, Informationsweitergabe, Stressabwehr, Wundheilung usw. Obwohl es nach den bisherigen Ausführungen nicht sinnvoll erscheint, von „Gerontogenen“ zu sprechen, also von Genen, welche den Alternsprozess per se beeinflussen, ist es vielleicht angebracht, in heuristischem Sinn diesen Terminus zu verwenden, um genabhängige biochemische Prozesse zu beschreiben, die mit dem Altern zu tun haben (Rattan 1995 a). Denn spät wirkende frühe Mutationen und die schon erwähnte antagonistische Pleiotropie von Genen, welche für günstige Wirkungen in der frühen Entwicklung selektiert wurden und später – nach der Reproduktionsphase – schädliche Auswirkungen zeigen, umfassen ein Repertoire von Genen, deren mutierte Allele den Alternsprozess beschleunigen oder verlangsamen können (Miller 1999). Doch auch diese sind im eigentlichen Sinn Vitagene.

1.2.4.2 Genexpression

Besonders interessant ist, dass die Expression der Vitagene in verschiedenen Arten völlig unähnlich ist; aber auch innerhalb einer Art werden verschiedene metabolische Wege kodiert. Besonders eingehende Untersuchungen der Hefealterns-genetik hat Jazwinski (1998, 1999) durchgeführt und einige Gene und ihre Produkte identifiziert, wie die *lag1*- und *lag2*-Gene, welche für eine Transmembrandomäne kodieren, die Signalwege bestimmenden *ras1* und *ras2*, welche den Inositphospholipidumsatz stimulieren und am MAP-Kinase-Weg beteiligt sind (Abb. 1.2.6), und den *sir*-Komplex, der aus vier Loci besteht, die eine transkriptionelle Stilllegung von Telomeren (Abb. 1.2.7) und HM- („haploid mating“-)Loci bewirken (Sinclair et al. 1997). Im *Caenorhabditis* (*C.*) *elegans* sind die bisher identifizierten Gene an der Signaltransduktion beteiligt (Abb. 1.2.8), das *age1* reguliert die Phosphatidylinosit-3-Kinase (PI3K), die Gene *daf2* und *daf16* kodieren für ein insulinrezeptorartiges Protein bzw. eine Familie von Transkriptionsfaktoren und das *trk1* ist am Aufbau des Tyrosinkinase-rezeptors 1 beteiligt (Morris et al. 1996, Kimura et al. 1997, Lin et al. 1997, Murakami u. Johnson 1998). In der *Drosophila* (*D.*) *melanogaster* ist das

Methusalem-Gen *mth* ebenso mit erhöhter MLP und Widerstand gegenüber Stress verknüpft, wobei es eine Homologie gegenüber G-Protein-gekoppelten Rezeptoren aufweist (Lin et al. 1998). Das *klotho*-Gen der Maus, eine membranständige Protein- β -Glukosidase (Kuro-o et al. 1997), und das menschliche Werner-Syndrom-Gen *wrn*, eine DNA-Helikase (Yu et al. 1996), verursachen neben vorzeitigem Altern eine Vielzahl an Krankheiten.

Weiter wurden bei der Maus MHC-Regionen als mögliche Gerontogene identifiziert (Gelman et al. 1988) und beim Menschen bestimmte Allele des HLA-Locus, der Apolipoproteine und des Angiotensinkonvertierungsenzyms (ACE) mit seiner hohen Lebenserwartung in Verbindung gebracht (Schächter et al. 1994, Jian-Gang et al. 1998). Es gibt auch wichtige Hinweise darauf, dass DNA-Reparatur-Gene, wie die *ercc*- („excision repair“-)Gene in Mäusen und Ratten, mit dem Altern verändert werden (van Duin et al. 1988, Louda u. Niedermüller 1994).

Weitere mögliche Vitagene sind die *clk*- („clock“-)Gene, die bisher nur in *C. elegans* identifiziert wurden. Sie werden mit dem Zeitmanagement des Zellzyklus in Verbindung gebracht (Lakowski u. Hekimi 1996), was natürlich auch die meisten anderen an der Regulation des Zyklus beteiligten Gene zu Kandidaten macht, besonders die *p53*- und *rb*-Gene (Pipkin et al. 1997, Chang et al. 1999, Hsieh et al. 2000) und die damit verbundenen cyclinabhängigen Kinaseinhibitorgene, wie *p16* und *p21^{waf1/cip1}* (Stein et al. 1999, Chang et al. 2000, Dulić et al. 2000, Medcalf et al. 1996, Pantoja u. Serrano 1999) in Mammalia. Schließlich ist auch das jüngst in *C. elegans* entdeckte *age2*-Gen von Interesse (Yang u. Wilson 1999).

Abschließend können wir bemerken, dass prinzipiell alle Gene des Genoms als Vitagene in Frage kommen, jedoch nur ein Bruchteil von ihnen und besonders solche, die den induzierbaren angehören, eine wirklich bedeutende Langlebigkeits- und MLP bestimmende Wirkung als Vitagene ausüben.

1.2.5 Langlebigkeit („longevity“) als Merkmal

Die MLP ist leicht zu messen. Die Lebenserwartung ist einfach das Alter zum Todeszeitpunkt oder als anspruchsvolleres Maß das integrierte Mortalitätsrisiko, abgeleitet aus der Summe jährlicher Risiken bis zum Tod. Doch wenn wir die Lebenserwartung als kontinuierliche Variable (Abb. 1.2.9) betrachten, begegnen wir praktischen He-

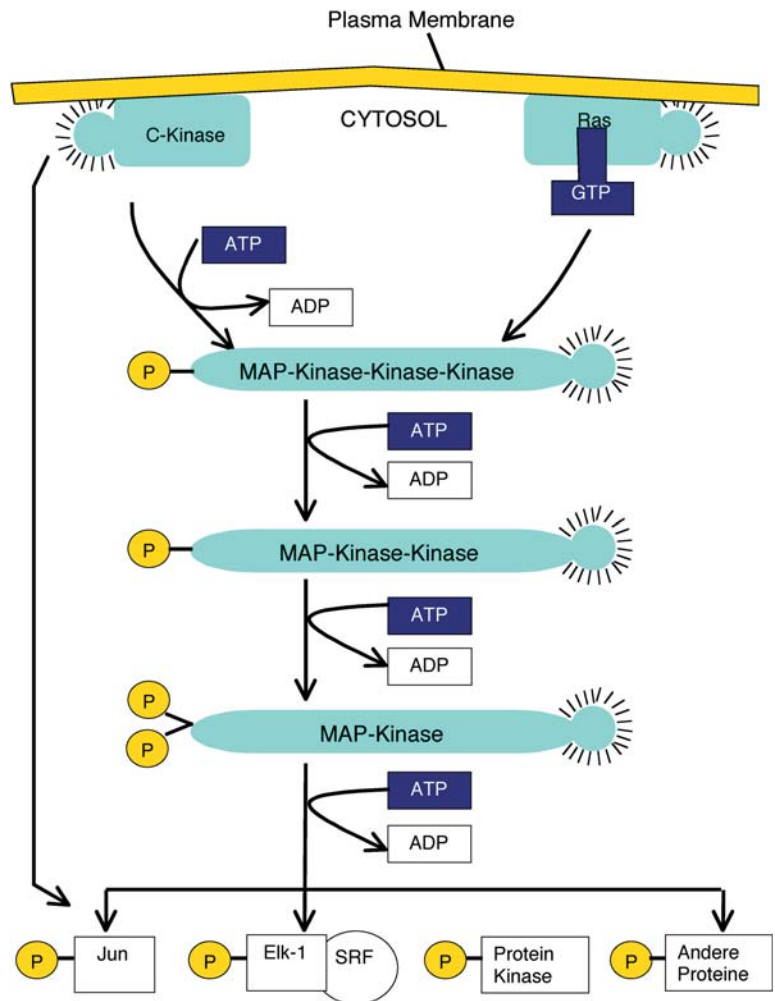


Abb. 1.2.6. Ras-MAP-Signalweg. Dieses vereinfachte Schema zeigt die Phosphorylierungsaktivierung einiger Genprodukte über eine MAP-Kinase-Kaskade ausgehend von Ras (und von der C-Kinase). „Strahlende“ Proteinenden stellen aktivierte

Proteine dar. *Elk* Transkriptionsfaktor, *Jun* Genprodukt des Onkogens *jun*, *MAP* mitogenaktiviertes Protein, *SRF* Serum-Response-Faktor

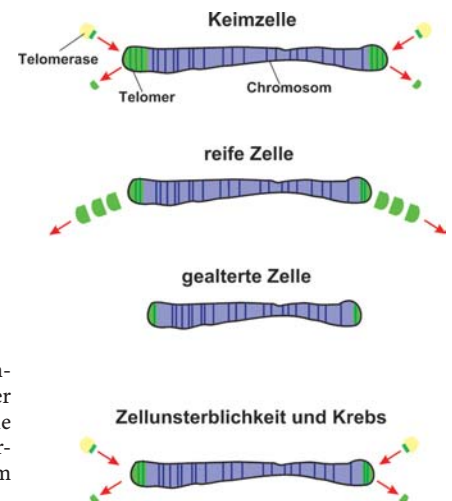


Abb. 1.2.7. Telomeren. Chromosomen enthalten an den Enden Verlängerungen, die aus repetitiven Sequenzen bestehen. Diese Telomeren werden bei jeder Zellteilung in kleinen Portionen verkürzt, bis bei gealterten Zellen fast keine Sequenzen mehr vorhanden sind. Bei Keim- und Krebszellen und bei transformierten Zellen („Unsterblichkeit“) werden sie immer wieder durch das Enzym Telomerase nachsynthetisiert und bleiben daher erhalten

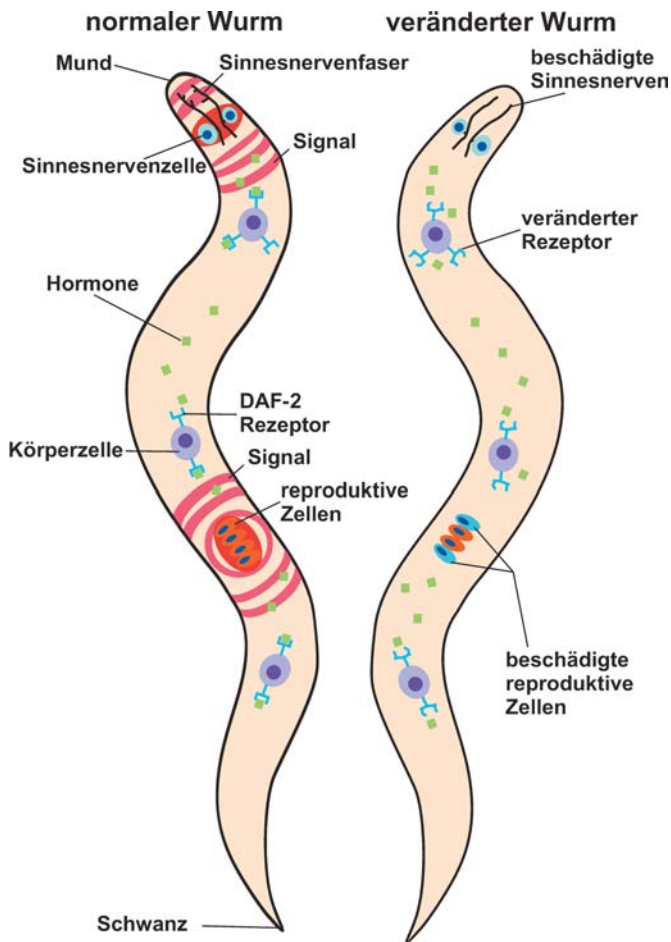


Abb. 1.2.8. *Caenorhabditis elegans* (Rundwurm). Links ist der Wildtyp gezeigt, rechts die Mutante, die eine erhöhte Lebenserwartung aufweist. Links: Das reproduktive und sensorische System des Wurms sendet Signale aus, welche die Aktivität von Faktoren verändern, die wiederum – wenigstens – den DAF2-Rezeptor stimulieren. Solche Faktoren beeinflussen die MLP. Rechts: Mutanten leben länger als der Wildtyp, wenn ihre sensorischen Nerven zerstört werden, der Rezeptor genetisch inaktiviert wird oder einzelne reproduktive Zellen verletzt werden

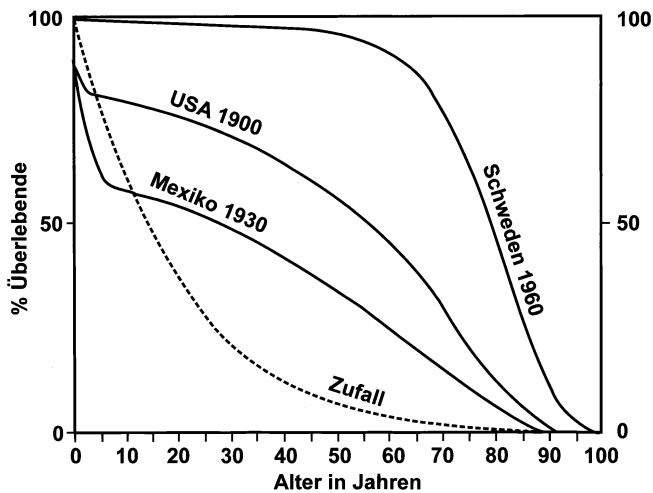


Abb. 1.2.9. Überlebenskurven. Zufall: stochastischer Zerfall von Dingen oder Tod von Organismen, wie z. B. Wildtierpopulationen, Verlauf nach einer (manchmal mehrerer) abfallenden Exponentialen; Mexiko 1930: durch hohe Kindersterblichkeit zuerst exponentialer Abfall, dann leichte Abweichung, jedoch immer hohe Mortalitätsrate; über USA 1900 und Schweden 1960 nähert sich die Kurve dem erwünschten Ziel eines Rechtecks an, also maximale Abweichung von Stochastik dank stark wirksamer, meist molekularer und zellulärer Langlebigsstrategien. Die MLP blieb mit ≥ 100 Jahren immer gleich

rausforderungen bei genetisch-epidemiologischen Studien: So ist es schwierig, DNA von Individuen zu gewinnen, bis man das Merkmal (ihr Alter beim Tod) kennt. Ein Ausweg ist, ihre Genotypisierung aus der Verwandtschaft zu gewinnen. Allgemein wird oft die Lebenserwartung als zweigeteiltes Merkmal definiert und DNA von Personen gewonnen, deren Alter über dem Schnittpunkt liegt.

Es geht hier darum, geeignete Kriterien für die Bestimmung des Alters zu finden, die molekular-genetische Untersuchungen der Altersmechanismen erlauben. Unsere eigene Arbeitsgruppe hat Parameter als Altersparameter oder Biomarker danach definiert, wie hoch deren Veränderung mit dem chronologischen Alter korreliert und wie stark die Veränderung selbst ist; beides trägt in einem Faktorenmodell zur Gewichtung (Hofecker et al. 1980) (Abb. 1.2.10) bei. Arking (1998) zählt eine Reihe von Kriterien auf, denen ein Biomarker gehorchen muss, darunter folgende:

- Die Änderungsgeschwindigkeit eines Biomarkers sollte die des Alterns reflektieren;
- Der Biomarker sollte einen grundlegenden und wichtigen Prozess darstellen und verfolgen, wie z. B. die Genexpression eines Vitagens;
- Die Tests sollten höchst reproduzierbar sein und das biologische Alter reflektieren;
- Die untersuchte Funktion sollte sich schnell verändern und entscheidend für die wirksame Aufrechterhaltung der Gesundheit sein;
- Der Biomarker sollte in allen Spezies dieselben Eigenschaften, also eine hohe interartliche Korrelation, haben;
- Er sollte als prospektiver Indikator für die Lebenserwartung und als retrospektiver Marker für das Altern eingesetzt werden können;
- Er sollte methodologisch nicht durch vorherige Messungen beeinflusst werden können und widerstandsfähig gegenüber experimentellen Bedingungen sein und
- Er muss das Alter stichhaltig und verlässlich messen. Es geht also darum, wie und wie genau dieses Etwas gemessen wird. Trotzdem werden wir wohl nie erreichen, dass ein Marker das Altern an sich misst, es werden immer nur Teilerscheinungen des Prozesses sein (McClearn

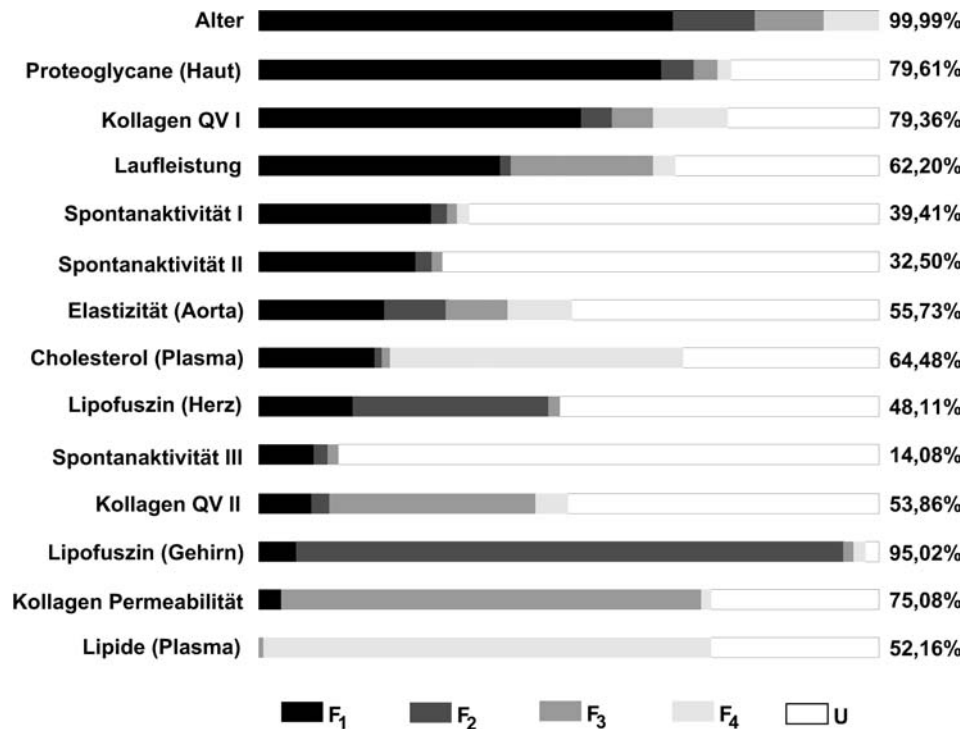


Abb. 1.2.10. Faktorenmodell von Altersparametern. Die Varianzaufspaltung verschiedener Altersparameter mittels Faktorenanalyse zeigt an, welche Anteile der Parametervarianz durch die Faktoren F_1 – F_4 erklärt werden können. Die leeren Abschnitte der Balken geben die parametereigene Varianz,

die nicht auf die in den Faktoren ausgedrückten Alternsprozesse zurückgeführt werden können, an (U : Uniqueness). Die Zahlen neben den Balken (Kommunalitäten) geben jenen Anteil der Varianz an, der durch die extrahierten Faktoren erklärt wird

1996). Doch diese Unsicherheit teilt die Gerontologie mit allen anderen Wissenschaften. Uns geht es hier darum, auch im Bereich der molekularen und genetischen Prozesse des Alterns den höchsten wissenschaftlichen Standard zu halten.

1.2.6 Genexpression und ihre Regulation während des Alterns

1.2.6.1 Genexpression

Änderungen der Genexpression umfassen die Gene für Enzyme und andere Proteine, sowie stressinduzierte Gene, Onkogene und Transgene. Weiter ergeben In-vitro-Arbeiten neue Erkenntnisse. Von Interesse sind auch die Reaktivierung, die erhöhte Aktivierung, Methylierung, die mtDNA und das alternative Spleißen.

Wie schon ausgeführt stellen wir uns die MLP als genetisch determiniert vor, wobei ihre exogene Modulierung die LE ergibt (LE: durchschnittliche oder mittlere Lebenserwartung, auch MLS: „mean life span“). Die MLP jeder Spezies hängt von der Wirksamkeit der Erhaltung von Zellen und Geweben ab und es ist einsehbar, dass diese Erhaltung in langlebigen Arten wirksamer ist.

Der führende Mechanismus, durch den das Genom seine Kontrolle ausübt, ist die Regulation der Genexpression. Die scharfsinnig differenzierten und ausgeklügelte eleganten Veränderungen, welche während des erwachsenen Lebens auftreten, können deshalb im Spiegel der Genexpression betrachtet werden. Heute erlauben neue Techniken eine sehr genaue Erfassung solcher Änderungen und Mechanismen.

1.2.6.2 Regulation

Die neue Fülle der Erkenntnisse über regulatorische DNA-Sequenzen innerhalb und außerhalb kodierender Regionen legt nahe, dass die meisten Gene physiologischen Regulatoren in erwachsenen Zellen unterworfen sind. Die selektive Genexpression verlangt eine ebenso selektive, in verschiedenen Zellarten unterschiedliche Regulation. Auch müssen die gewebespezifischen Muster erklärt werden (Abb. 1.2.11, 1.2.12, 1.2.13, 1.2.14).

Weiter kann ein Verlust der differenziellen Genexpression auftreten, wie z.B. der von Hornsby et al. (1990) beschriebene Verlust des Steroid-

17 α -Hydroxylase-Gens in adrenokortikalen Zellen. Denn die Zellen zeigen ein stochastisches Muster des Umschlagens von einem Zustand, in welchem sie das Gen exprimieren, in einen, in dem das Gen nicht mehr induzierbar ist. Eine wichtige zelluläre Funktion fällt also im Alter aus, wodurch die Synthese von Androgenen, Östrogenen und Kortisol verhindert bzw. eingeschränkt wird.

Drei Arten von Änderungen der Genexpression können beim Altern auftreten: Ein Ansteigen, eine Verminderung und keine Änderung. Weiter können Gene, die bis zum Erwachsenenstadium nicht exprimiert werden, danach aktiviert werden. Uns interessieren besonders die Änderungen, auch wenn Informationen über das molekulare Altern auch von Ereignissen gewonnen werden können, bei denen keine Änderung auftritt.

Wir wollen hier die Expression verschiedener Genarten untersuchen, für Enzyme, andere Proteine, (Proto)Onkogene und nach Stress induzierbare Gene; auf die besonderen Verhältnisse in Zellkulturen werden wir in den Abschnitten 1.2.14, 1.2.15 und 1.2.16 eingehen und Veränderungen in der mitochondrialen DNA (mtDNA) in Abschnitt 1.2.12 untersuchen.

Die mikrosomalen Enzyme, die in den Organen von Mammalia, besonders der Leber, wichtige biochemische Funktionen erfüllen, werden von wenigstens 5 Zytochrom-P450-Genfamilien exprimiert. Untersuchungen der Genexpression (Horbach u. van Bezooijen 1991) in der Rattenleber zeigten keine Altersabhängigkeit, doch ihre exogene Induzierbarkeit sank in alten Tieren auf ein Drittel. Auch eine kalorische Reduktion, welche die Lebenserwartung um 50% erhöhte, regte die Induzierbarkeit an. Für das genauer untersuchte P450(B+E)-Gen der Leber zeigte sich, dass bei weiblichen und männlichen Ratten die Induzierbarkeit sinkt, bei männlichen auch die mRNA-Menge abnimmt. Dabei relaxieren die Nukleosomen in der Promotorregion langsamer, was bedeutet, dass sie kompakter sind. In der Promotorregion gibt es auch weniger DNase-I-hypersensitive (DH-)Stellen, die mit Genexpression in Zusammenhang gebracht werden. Viele weitere Gene und Genprodukte wurden untersucht, darunter solche, die an der oxidativen Abwehr beteiligt sind. So zeigten Tolmasoff et al. (1980) eine positive Korrelation zwischen der spezifischen Aktivität der Superoxiddismutase SOD, dem Grundumsatz und der MLP, eine negative mit dem Altern.

Fibronektine (FNT) sind an Prozessen wie Matrixaufbau, Differenzierung, Signaltransduktion, Zelladhäsion, Metastasenbildung u.s.w. beteiligt

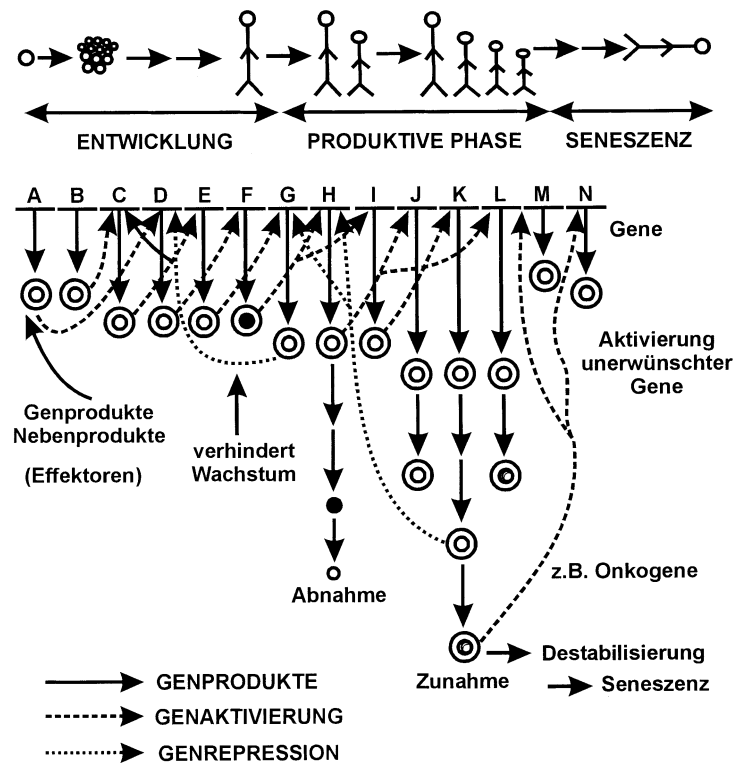


Abb. 1.2.11. Altern und differentielle Genexpression. Über den Genen und genetischen Prozessen ist nochmals die Biomorphose dargestellt. Das stark vereinfachte Schema zeigt, wie die Entwicklungs- und reproduktive Phase von einzelnen, bestimmten Genen (A–F bzw. G–L) abhängt. Sie werden in aufeinander folgender Weise durch das Einschalten eines Gens mittels des Produkts eines früher aktivierten Gens aktiviert. Das Wachstum endet nach einem bestimm-

ten Zeitraum durch Rückkopplungsrepression eines Wachstums fördernden Gens. Fortgesetzte Reproduktion und Stressoren während der Reifephase verursachen den Verlust von für die Erhaltung dieser Phase nötigen Faktoren. Andere Faktoren können sich auch anhäufen. Dadurch kommt es zu einer fortschreitenden Destabilisierung der homöostatischen Funktion von Genen, was in der Zerstörung vieler Funktionen und im Altern endet

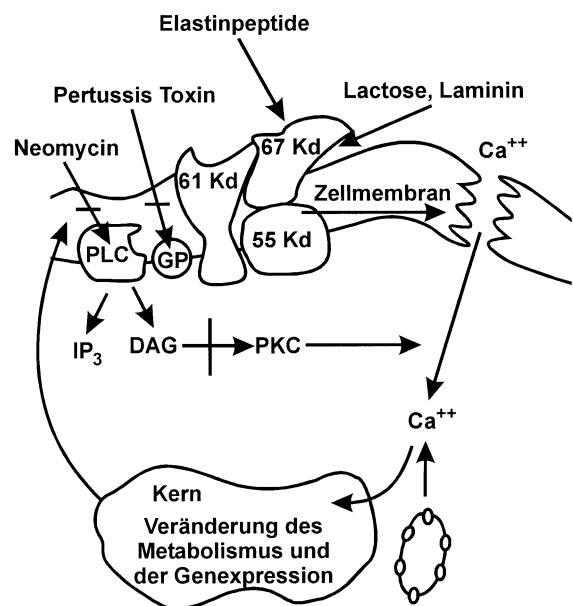


Abb. 1.2.12. Differentielle Genexpression. Rückkopplungsmöglichkeiten der differentiellen Genexpression bei Einwirkung von exogenen Faktoren. Antibiotika, Toxine, Matrixmoleküle, Kleinmoleküle und Ionen können Membranproteine so modifizieren, dass die Signaltransduktion verändert wird

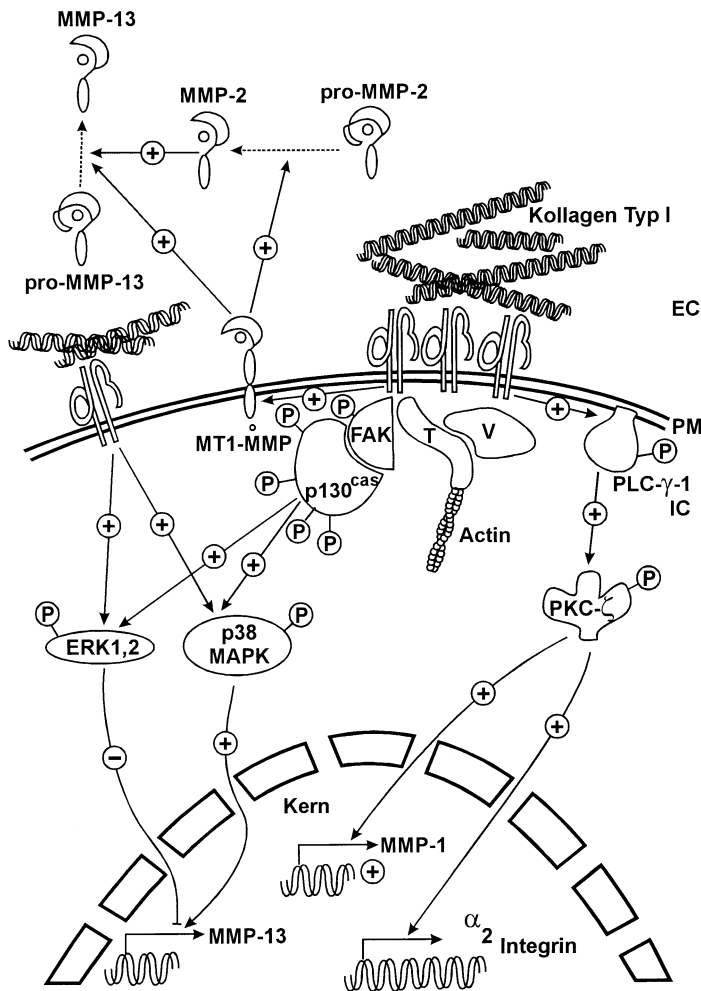


Abb. 1.2.13. Differenzielle Genexpression am Beispiel von Matrix-Zell-Wechselwirkungen. Kontakt mit Kollagen I führt zur Aktivierung von Integrinen, gefolgt von Signal-Kaskaden und -Netzwerken und Genaktivierung, die von allen diesen Ereignissen abhängt und sich mit dem Alter ändert. Es kommt dabei auch zu posttranslationalen Veränderungen

von Matrixproteinen. EC extrazellulär, ERK-1,2 extrazelluläre signalregulierte Kinase, FAK fokale Adhäsionskinase, IC Intrazellulär, MAPK mitogenaktivierte Proteinkinase, MMP Matrixmetalloproteinase, P Phosphat, p130^{cas} p130-Protein-CRK-assoziiertes Substrat; PKC Proteinkinase C, PLC Phospholipase C, PM Plasmamembran, T Talin, V Vinculin

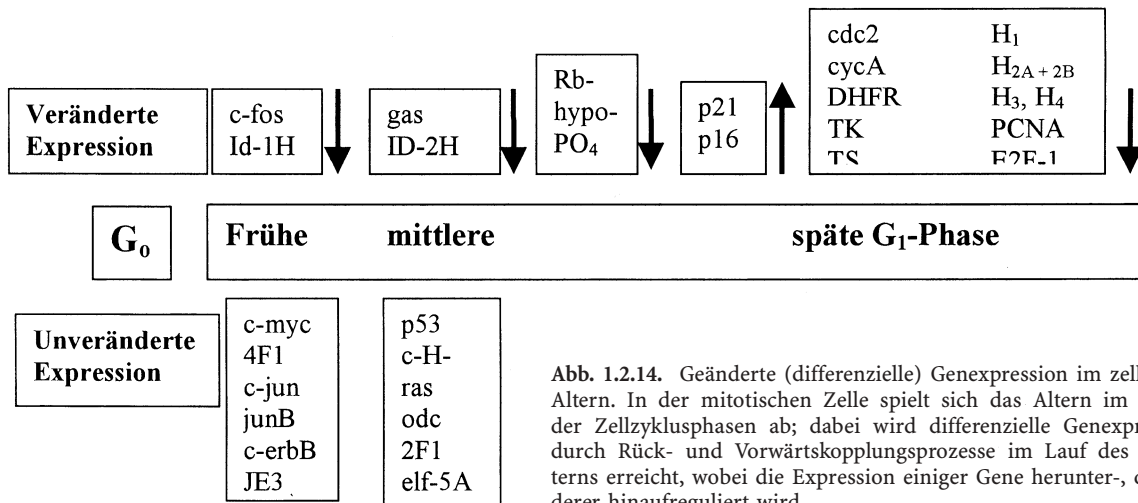


Abb. 1.2.14. Geänderte (differenzielle) Genexpression im zellulären Altern. In der mitotischen Zelle spielt sich das Altern im Ablauf der Zellzyklusphasen ab; dabei wird differenzielle Genexpression durch Rück- und Vorwärtskopplungsprozesse im Lauf des Zellalters erreicht, wobei die Expression einiger Gene herunter-, die anderer hinaufreguliert wird

und werden von einem Gen exprimiert, dessen Promotorregion Antwortelemente für cAMP („cyclic adenosine monophosphate“), Glukokortikoide und Stress enthält, also über die Signaltransduktion reguliert wird. FNT selbst sinkt im Plasma von Ratte und Mensch, wobei eine niedrigere Fließgleichgewichtskonzentration der mRNA festgestellt werden konnte, was einer niedrigeren Transkription entspricht. Auch hier sind die DH-Stellen von Bedeutung (Singh u. Kanungo 1991, 1993). Die niedrigere Expression scheint der Erniedrigung der trans-wirkenden Faktoren, die an cis-wirkende Elemente (CRE, „cAMP-response element“) binden und für die Stimulation der Transkription notwendig sind, zu entsprechen.

Die Expression von *smp1* und *smp2*, welche die Altersmarker SMP-1 und SMP-2 kodieren, wurde von Chatterjee et al. (1987) untersucht. *smp1*, ein androgeninduzierbares Gen, wird in der Ratte vom 40. bis zum 750. Tag, *smp2* bis zum 40. Tag exprimiert und dann reprimiert, nach dem 750. Tag wieder exprimiert, ist also durch Androgene reprimierbar. Beide variieren mit dem Androgenniveau. Beim Calbindin, einem Kalzium bindenden Protein, erfolgt die Expressionsregulation über die Translation, da überraschenderweise die mRNA ansteigt, aber das Calbindin sinkt (Armbrecht et al. 1989). An der Signaltransduktion ist auch der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) bedeutend beteiligt. Er sinkt um 75%, ebenso der Nerven-GF (β -NGF) (Gresik et al. 1986). Es gibt also bei Mammalia dramatische Einflüsse auf wichtige Regulationsmechanismen mit dem Altern.

Interessant sind auch die nach Entzündungen in der Leber gebildeten positiven (ansteigenden) und negativen (sinkenden) Akute-Phase-Reaktanten bzw. -Proteine. Von den positiven ruht die Expression beim T-Kininogen-Gen bei der Ratte bis zu 18 Monaten und steigt dann abrupt an (Sierra et al. 1989). Auch Haptoglobin, ebenfalls positiv, steigt bis auf das Vierfache (Milman et al. 1988). Beides zeigt, dass dieser Stress sich bei alten Ratten viel stärker auswirkt. Andere von den *hsp*-Genen exprimierte Stressreaktionen werden in 1.2.8 behandelt.

Ein ähnliches Expressionsverhalten wie die Akute-Phase-Proteine zeigen Onkogene: Es kommt zu einer Hinaufregulierung und Überexpression von *c-fos*, *c-myc* und *c-H-ras* in Gehirn, Leber und Herz alter Ratten (Fujita u. Maruyama 1991). Entweder wird die Expression durch sich anhäufende Schäden über einen noch unbekannten Mechanismus stimuliert oder die in Zellkulturen bekannten Mechanismen der Zellzyklusregulation werden in vivo wirksam (s. 1.2.14).

Die komplizierten Verhältnisse der Änderung der Regulation der Genexpression bei einem der bestuntersuchten Modellsysteme der Genetiker, *Drosophila (D.) melanogaster* (Fruchtfliege), werden ausführlich bei Helfand u. Rogina (2000) beschrieben. *D. melanogaster* eignet sich ausgezeichnet für solche Untersuchungen, denn fast alle ihre Zellen sind postmitotisch. Die Autoren haben mit der „Enhancer-Trap“- (ET-) und der Reporter-Gen-Technik unter Verwendung des Reporterproteins β -Gal, einem genauen Indikator für Änderungen der Genaktivität, 49 verschiedene ET-markierte Gene untersucht und in 80% davon eine dramatische Änderung der Genexpression mit dem Altern festgestellt. Einige Gene werden dabei durch Mechanismen reguliert, welche mit der MLP gekoppelt sind und als Biomarker des Alterns dienen können. Diese Untersuchungen ergaben auch ein weiteres interessantes Resultat: Nicht alle Mechanismen desintegrieren, wenigstens in *D. melanogaster*, was sich aus der konstant bleibenden Variabilität der untersuchten Parameter ergibt. Die Homöostase wird also nur partikular und nicht global verloren. Die Genexpression ändert sich, doch es kommt zu keinem globalen Verlust der Regulation, die sorgfältig während des ganzen erwachsenen Lebens kontrolliert wird.

Zur Genexpression gehört auch das Spleißen (Abb. 1.2.15). Es gibt ein konstitutives Spleißen, d.h. die ursprüngliche Ordnung der Folge der Exons bleibt aufrecht, und ein alternatives Spleißen, d.h. Prä-mRNAs werden auf mehr als eine Art gespleißt und liefern eine Familie strukturell verwandter mRNAs, die in eine Familie von Proteinisoformen translatiert wird. So können viele Proteine von einem Gen kodiert werden. Es gibt viele Isoformen des FNT, mit dem Altern verändert sich das Muster beträchtlich (Magnuson et al. 1991). Die FNT-Synthese in alten Fibroblasten steigt.

In diesem Zusammenhang ist auch zu überlegen, was diese gewonnenen Erkenntnisse über den Unterschied des Alterns in mitotischen und postmitotischen (hier ist die Expression ganz bestimmter einzelner Gene auf ewig festgelegt) Zellen aussagen. Die Veränderung des Hormonmusters greift auch in die Expression und damit in die Homöostase ein. Schon subtile Änderungen in diesem Netzwerk können über die Lebensdauer hinweg zu ihrer Destabilisierung führen (Abb. 1.2.16).

Mehr über die Genexpression, ihre Regulation und die Änderungen mit dem Altern werden uns künftige Untersuchungen der trans-wirkenden Faktoren, die an cis-Elemente des Promotors bin-

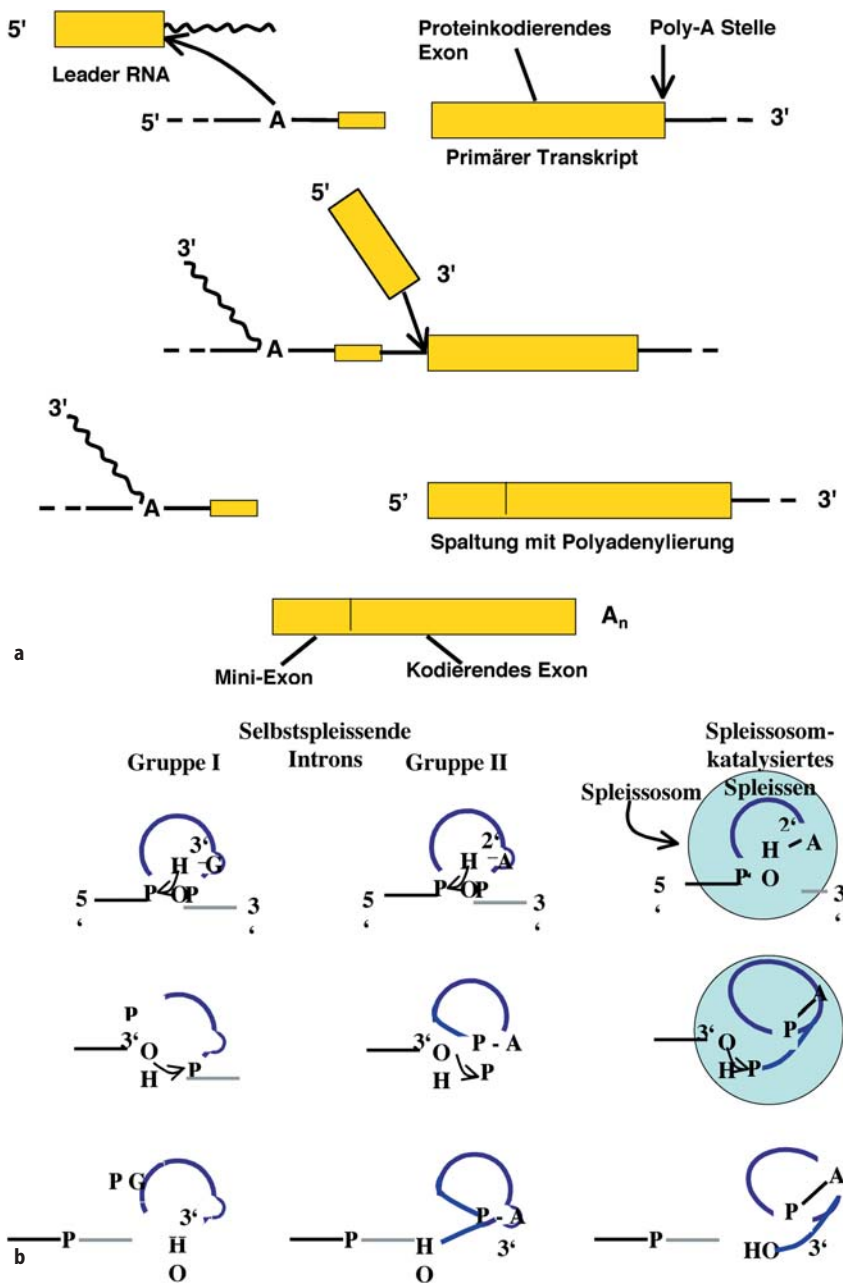


Abb. 1.2.15. Spleißen. **a** Einfaches Schema eines Spleißvorgangs bei Eukaryonten (Trypanosoma). Ein Teil der Leader-RNA (Mini-Exon) wird zuerst an das primäre Transkript (5'-Ende, analog zur Prä-mRNA) gebunden (gespleißt). Dieses primäre Transkript weist keine internen Introns auf und ist Protein kodierend. Dieses Mini-Exon, das in allen mRNAs der Trypanosomen vorkommt, hilft dabei der Initia-

tion der Translation. Dieses Spleißen löst Spaltung und Polyadenylierung am 3'-Ende aus und verändert sich mit dem Altern. **b Links:** Die Prä-mRNA organisiert sich mithilfe von snRNA (kleine Kern-RNA) selbst und bringt so die Enden der Exons zusammen, um dann die Introns zu entfernen. **Rechts:** Derselbe Vorgang wird durch den Enzym-Protein-Komplex Spleißosom katalysiert

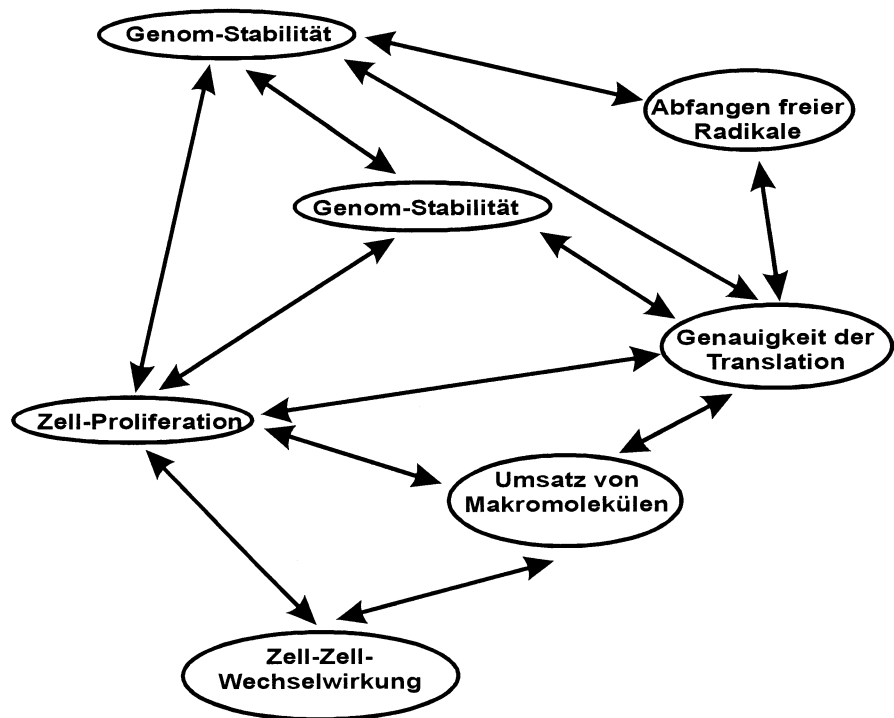


Abb. 1.2.16. Destabilisierung der Genexpression. Diese Destabilisierung wird durch besondere Stressoren hervorgerufen, wobei die Abnahme von Energie den zellulären Widerstand beeinflusst. Energie wird durch die Abwehr- und Reparatursysteme aufgebraucht, auch Änderungen der Energie produzierenden Systeme (s. 1.2.12) sind daran beteiligt. Die

Destabilisierung erfolgt in einem wechselwirkenden Netzwerk. Wenn dazu noch eine Unterversorgung mit Energiesubstraten kommt, führt dies zum stärkeren Auftreten von Schäden, beschleunigten Zellaltern und Zelltod (s. auch Abb. 1.2.37)

den, des Netzwerks sowie der „cross talks“ der Signaltransduktion aussagen.

1.2.7 Von den Genen zu funktionellen Genprodukten während des Alterns

Nur wenn die genomische Information zur Aufrechterhaltung der Homöostase präzise in Genprodukte übersetzt wird, ist sie funktionell bedeutsam. Hier sollen die Schritte dazu diskutiert und Änderungen der wichtigsten Genprodukte aufgezeigt, aber auch auf posttranslationale Modifikationen eingegangen werden.

Die Schritte, also die metabolischen Wege, die von der DNA-Information zu funktionierenden Proteinen und schließlich zu notwendigen Metaboliten führen, sind alle vom Altern betroffen.

1.2.7.1 Transkription

Zuerst ist die Transkriptionsinitiation vom Altern betroffen, da sie besonders komplex reguliert wird. Aus den Untersuchungen, die besonders Campisi und Mitarbeiter durchgeführt haben (Dimri u. Campisi 1994), in denen eine Fülle von Faktoren gemessen wurden, geht aber kein klares Muster von Änderungen hervor. Allgemein ist das Niveau der Transkription reduziert, doch das RNA-Muster ändert sich nicht. Reduziert sind auch der Nukleotidpool und die Aktivität der an der RNA-Synthese beteiligten Enzyme (Müller et al. 1995). Schröder und Mitarbeiter fanden einen bis zu 60fachen Anstieg der UAG-Suppressor-tRNA, welche das Stoppkodon unterdrückt (Schröder et al. 1992). Mit dem Altern sinken die Gesamtmenge, die Synthesegeschwindigkeit und die Methylierung der tRNA, die Gesamt-Polyadenyl-RNA und ihre Länge sowie die Halbwertszeit der mRNA in einigen Organen. Weiter fand man in verschiedenen Organen eine Reduktion der Aktivität vieler Aminoacyl-tRNA-Synthetasen (aaRS) (Gabijs et al. 1982, Takahashi et al. 1985). Da diese Aktivitäten begrenzend für

die Transkriptionsleistung sind, ist ein Zusammenhang mit dem Altern anzunehmen, obwohl der detaillierte molekulare Mechanismus und seine Bedeutung noch unklar sind.

Wenig ist bisher über die differenzielle Regulation der mRNA-Verfügbarkeit mit dem Altern bekannt, sie wird jedoch durch eine Änderung der Hybridisierung von mRNA an ihre cDNA nahe gelegt.

In verschiedenen Arten, Organen und Zellen wird von einer signifikanten Abnahme der Menge und Syntheserate der rRNA berichtet (Medvedev 1986). Welche Folgen ein solcher differenzieller Verlust verschiedener rRNA-Spezies hat, ist aber noch völlig unbekannt.

1.2.7.2 Translation

Wie bei der Transkription ist der Initiationsschritt auch bei der Translation das Hauptziel für die Regulation der Proteinsynthese. Da Proteine direkt und indirekt an allen metabolischen Prozessen beteiligt sind und auch bei Abwehrreaktionen eine große Rolle spielen, fallen unter diese Regulation der Zellzyklus, das Wachstum und die Entwicklung, die endokrine Regulation und die Signaltransduktion, die Bildung von Chaperonen und Molekülen der Immunabwehr und alle molekularen Reaktionen auf exogene schädigende Einflüsse. Aus eigenen Untersuchungen und aus der Literatur

hat Rattan (1992) eine Übersicht über Alternsveränderungen auf der Translationsebene zusammengestellt (Tabelle 1.2.3, 1.2.4).

So ist bekannt, dass die gesamte translationale Aktivität vermindert ist, was z. T. an einer verminderten rRNA-Synthese und schlechterer Bindung der aatRNA an die Synthetasen und die Ribosomen, aber auch mit einer reduzierten Ribosomenzahl zusammenhängt. Letzteres könnte mit dem Ansteigen des antiribosomalen Assoziationsfaktors (De Rijk et al. 1997, van de Peer et al. 1997) zusammenhängen, ersteres mit einer immer chaotischer und unkoordinierter werdenden differenziellen Transkription der verschiedenen RNAs. Zur näheren Erläuterung dieses komplizierten Systems der Ribosomenassoziation und -bindung hier einige Hinweise: Die Initiation der Proteinsynthese beginnt mit der Bildung eines Präinitiationskomplexes, wobei zwei eukaryontische Faktoren, eIF3 und eIF6, die ribosomalen Untereinheiten nach der Synthese eines Proteins auseinander halten. Um dann einen ternären Präinitiationskomplex zu bilden, muss der Komplex aus eIF2, GTP, Met-tRNA^{Met} mit der kleinen Ribosomenuntereinheit, die mit eIF3 und eIF4 verbunden ist, zusammentreten. Durch Serinphosphorylierung der eIF2B-Untereinheit wird die Proteinsynthese gehemmt, da dann keine Bindung von Met-tRNA^{Met} mehr möglich ist. Zur Erläuterung ist ein einfaches Schema in Abb. 1.2.17 dargestellt. Auch eIF3 reguliert, indem er durch seine Bindung an die kleine eine stabile freie Untereinheit

Tabelle 1.2.3. Änderungen an den Ribosomen während des Alterns

Parameter	Änderung	Organ, System, Organismus
Anzahl	Abnahme	Ratte: Gehirn, Leber; Drosophila; Nematoden
Leistungsfähigkeit	Abnahme	Ratte: Leber; Nematoden
Bindung an aatRNA	Abnahme	Ratte: Leber, Niere; Drosophila; Nematoden
Thermische Stabilität	Abnahme	Drosophila; Nematoden; Maus: Leber
Genauigkeit der Poly-U-Translation	Keine Änderung	
Empfindlichkeit gegenüber Aminoglykosiden	Keine Änderung	Ratte: Leber, Gehirn, Niere; Maus: Leber
rRNA-Synthese	Zunahme	Mensch: Fibroblasten; Ratte: Leber
rRNA-Konzentration	Abnahme	Ratte: Herz; Maus: Leber
Proteinmuster	Zunahme	Mensch: Fibroblasten
	Keine Änderung	Maus: Leber; Drosophila

Tabelle 1.2.4. Änderungen der tRNA während des Alterns

Parameter	Änderung	Organ, System, Organismus
Syntheserate	Abnahme	Maus: Leber, Niere, Herz, Muskel
Gesamtkonzentration	Abnahme	Maus: Leber, Niere, Herz, Muskel
Aminosäurebindung	Variabel	Ratte: Leber
Methylierung	Abnahme	Mensch: Fibroblasten; Ratte: Leber, Niere; Maus: Leber, Niere; Nematoden
Nukleosidmuster	Keine Änderung	Maus: Leber; Moskitos
6-Isopentenyl-Adenosin-Konzentration	Zunahme	Ratte: Leber

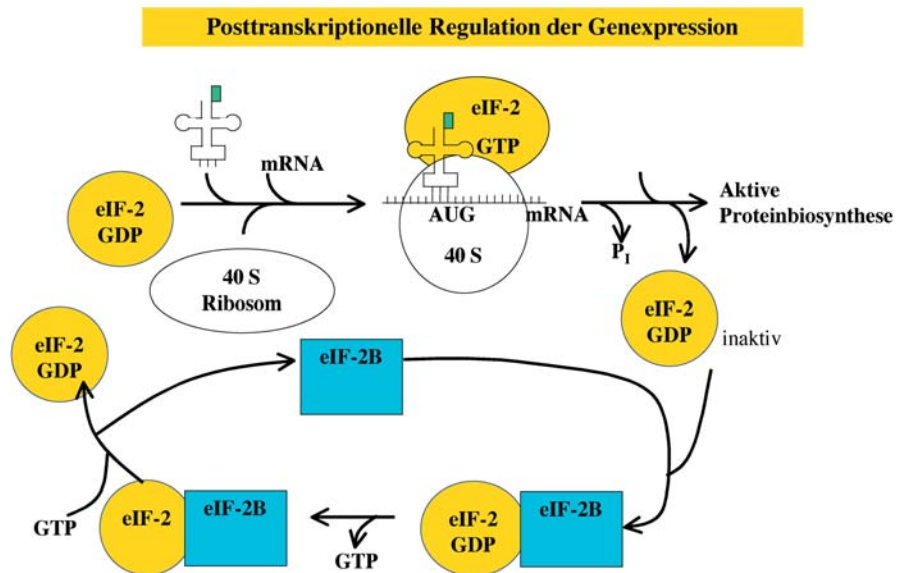


Abb. 1.2.17. Translation und eIF-2. eIF-2 ist eine regulatorische ATPase. Mit den angezeigten Einheiten bildet es einen Komplex, der den Scanningprozess einleitet. Das eIF-2B-Pro-

tein hat die Funktion eines G-Nukleotid-Austauschproteins. eIF Transkriptionsfaktor

bildet und die Verbindung mit der großen verhindern kann. Er wird daher auch Antiassoziationsfaktor genannt. Seine Verfügbarkeit bestimmt also die Zahl stabiler freier Untereinheiten. eIF3 wird nicht nur zur Stabilisierung der freien Untereinheiten gebraucht, er ist auch notwendig, um diese an die mRNA zu heften. Die Wechselwirkung der kleinen Untereinheit mit der methylierten 5'-Cap-Struktur der mRNAs erfordert eine Gruppe von Proteinen, eIF4 genannt, welche die methylierte Cap-Struktur erkennt und durch ihre Helikaseaktivität jede Sekundärstruktur am 5'-Ende entfernt. Dann gleitet der gebundene Präinitiationskomplex an der mRNA entlang und hält beim ersten AUG. Ist alles richtig erkannt, bildet sich schließlich der 40S-Initiationskomplex, und wenn dieser richtig am Startcodon positioniert ist, kommt es zur Vereinigung mit der großen Untereinheit zum 80S-Initiationskomplex und die Proteinsynthese kann ablaufen.

Relevant für das Altern kann also jeder Schritt in diesem Prozess sein, bekannt ist bisher nur die Abschwächung der Proteinsynthese durch den Anstieg der Menge an eIF3 (Rattan 1995 b, 1996) und die Reduktion der Aktivität von eIF2, das zur Bildung des ternären Komplexes gebraucht wird (Calés et al. 1986, Castañeda et al. 1986).

1.2.7.3 Proteinsynthese

Die altersspezifische Abnahme der Proteinsynthese wird aber auch noch durch Änderungen in der Elongationsphase verursacht. Eine Reduktion der Elongation um 30 bis 80% wurde in Drosophila-, Nematoden- und Mammalia-Organen beobachtet (Rattan 1995 a, 1996, Richardson u. Semsei 1987, Khasigov u. Nikolaev 1987, Merry u. Holehan 1991). Da alle diese Ergebnisse sich nur auf die Gesamtproteine beziehen, wäre es wünschenswert, auch einzelne Proteine – die ja oft als Vitagenprodukte differenzierte Aufgaben haben – zu untersuchen.

Warum kommt es zu dieser Erniedrigung? Um diese Frage zu beantworten, bieten sich die Veränderungen der Elongationsfaktoren-(EF-)Aktivität an. Genauer untersucht ist EF1 α in verschiedenen Organen und Spezies, dessen Aktivität in diesen, aber auch in vitro in seneszenten menschlichen Fibroblasten abnimmt (Webster 1985, 1986). Dieser Befund hat dazu geführt, transgene Drosophila mit einem zusätzlichen Gen zu erzeugen, die eine erhöhte Lebenserwartung aufwiesen (Shepherd et al. 1989). Rattan (1995 b, 1996) konnte diese Ergebnisse bestätigen. Andererseits korrelierte eine veränderte Genexpression nicht mit der MLP (Stearns u. Kaiser 1993, Stearns et al. 1993, Dudas u. Arking 1994), was weitere Funktionen des *eef1A*-Gens nahe legt, die noch nicht bekannt sind.

Der Terminationsprozess wird durch einen Freisetzungsfaktor („release factor“, eRF1) bewirkt, wobei keine besondere Regulation und Abhängigkeit vom Alter festgestellt werden konnten (Webster 1985, 1986).

1.2.7.4 Postsynthetische Veränderungen

Da solche Veränderungen, welche erst nach der vervollständigten Genexpression auftreten, nicht direkt zur Molekularbiologie und genetischen Prozessen gehören, soll nur kurz auf sie hingewiesen werden.

Eine der wichtigsten Veränderungen, die auch das Rätsel des Bindegewebsalters z.T. gelöst hat, ist die nichtenzymatische Glykosylierung (s. Abb. 1.2.28), die durch kovalente Bindung von Sacchariden an Proteine und Polynukleotide zu den „advanced glycation end products“ (AGEs) führt. Diese AGEs können dann durch verschiedene chemische Reaktionen zu Quervernetzungen zwischen den Makromolekülen führen und dadurch deren Funktion beeinträchtigen; ein Faktor für dieses Fortschreiten ist die Zeit, also das Altern, ein anderer die Saccharidkonzentration in der Molekulumgebung (z.B. Diabetes), wobei dieses Fortschreiten zum Funktionsverlust dieser Moleküle – besonders langlebig mit geringem Umsatz – führt. Da meist auch Oxidationen an diesen Reaktionen beteiligt sind, werden die AGEs auch als „glycoxidation products“ bezeichnet. Unter der Fülle an Arbeiten seien nur folgende angegeben: Veletzky et al. 1990, Kohn et al. 1984, Lee u. Cerami 1992, Cerami 1985, Cerami et al. 1987.

Bei der Untersuchung von Histonen wurde eine eingeschränkte Methylierung gefunden, welche zur Aktivierung der Funktionen vieler Proteine dient. Dadurch wird die Funktion der Histone mit dem Altern eingeschränkt, was auch eine Veränderung der Konformation und Funktion der DNA nach sich zieht (Rattan et al. 1992, Mays-Hoopers 1985). Die Methylierung gilt wie die Acetylierung, über die uns keine Alternsveränderungen bekannt sind, auch als Schutz gegen Proteolyse. Ein anderer, für das Altern bedeutenderer Ort der Methylierung ist die an Cytosin durch eine Methylase (Holliday 1984, Mays-Hoopers 1989). Die normale Zellentwicklung führt zu differenzierten Zellen mit einem ganz bestimmten konstanten Genproduktmuster; im Alter kommt es jedoch in der einen Zelle zur Synthese eines Moleküls einer anderen Zelle, was Cutler zur Aufstellung seiner Dysdifferenzierungshypothese (Cutler 1982) bewog. Diese könnte

durch die Einschränkung der Methylierungsprozesse (Wilson u. Jones 1983, Wilson et al. 1987) erhöht werden, da das Methylierungsmuster spezifisch und stabil durch die Erhaltungsmethylase vererbt wird, die als das Produkt eines Vitagens (s. 1.2.4) erscheint. Etwas verwirrend im Zusammenhang mit dem Altern ist die Tatsache, dass Methylierungsstellen als „Hotspots“ besonders anfällig für Punktmutationen sind, da die Basen spontan desaminiert werden.

Eine weitere Bedeutung für das Altern kann der ADP-Ribosylierung, der Phosphorylierung und der Oxidation zugesprochen werden (Abb. 1.2.18). Viele Proteine werden durch ADP-Ribosylierung moduliert und sie spielt eine Rolle bei der induzierbaren DNA-Amplifikation, wobei bekannt ist, dass die Aktivität der Poly-ADP-Ribose-Polymerase (PARP) in humanen Fibroblasten sowohl in Abhängigkeit des Spenderalters als auch der Populationsverdopplungen (PD-Zahl) vermindert ist (Dell’Orco u. Anderson 1991). Auch besteht eine Korrelation zwischen PARP-Aktivität und der MLP (Grube u. Bürkle 1992). Die Phosphorylierung ist ein ubiquitärer metabolischer Schritt zur Aktivierung bzw. Deaktivierung von Proteinen und hat große Bedeutung bei der Signaltransduktion, daher wird unter 1.2.13 gesondert auf sie eingegangen. Die Oxidation, besonders von Prolin, Arginin und Lysin, inaktiviert und denaturiert viele Proteine, wobei eine erhöhte Anzahl solcher in humanen Spätpassagenfibroblasten und in Syndromen vor-

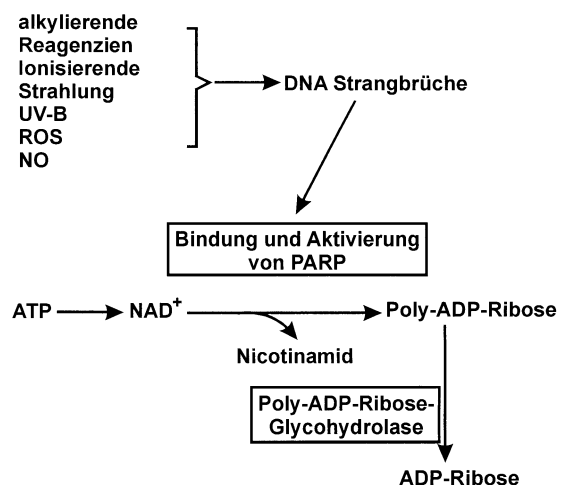


Abb. 1.2.18. Poly-ADP-Ribosylierung (PAR) als Reparatur. PAR beseitigt altersabhängig durch Wechselwirkung mit Proteinen und Modulation der Chromatinstruktur die durch oxidative und alkylierende Agenzien entstandenen Strangbrüche. Die PARP-Aktivität korreliert auch mit der MLP (Grube und Bürkle 1992). NO Stickoxid, PARP Poly-ADP-Ribose-Polymerase, ROS reaktive Sauerstoffmoleküle

zeitigen Alterns festgestellt werden konnte (Stadtman 1992).

1.2.8 Stress und Altern

Die zelluläre Stressantwort wurde zuerst als Hitzeschockantwort bezeichnet. Die erstmalig an *D. melanogaster* entdeckten Änderungen an Chromosomen waren verbunden mit einer erhöhten Expression von sog. Hitzeschockgenen („heat shock genes“). Ausgelöst wird diese Expression durch alle die Homöostase störenden Einflüsse: physikalische und chemische Einflüsse aus der Umwelt, Schäden an Proteinen, Pharmaka und Pathogene, Stoffwechselstörungen besonders im Lipidstoffwechsel und andere. Sie wurde daher später allgemein „zelluläre“ Stressantwort genannt.

1.2.8.1 Hitzeschockproteine und Chaperone

Zur Auslösung aller Reaktionen ist der intrazelluläre Hitzeschockfaktor (HSF) notwendig, der an die DNA bindet, was eine erhöhte Aktivität der spezifischen RNA-Polymerasen zur Folge hat. Der langlebige HSF wird offensichtlich durch posttranslationale Einflüsse moduliert. Die RNAs wer-

den in Stressproteine translatiert, eine heterogene Gruppe, deren bekanntestes das Hitzeschockprotein (HSP) 70 ist (Abb. 1.2.19).

Die HSP haben viele Funktionen, eine der wichtigsten ist der Transfer von Proteinen von einem Kompartiment zum anderen, wobei sie ihre Konformation stabilisieren (Chaperone). Sie markieren geschädigte Proteine für den Abbau und sie helfen, diese in eine funktionale Form neu zu falten, um sie zu schützen. Weiter sind sie Inhibitoren der Genexpression. Wegen der Adaptation des HSF1 gegenüber Stressoren durch Abschwächung der Bindung an DNA und aus anderen Gründen kommt es zur eingeschränkten Leistung des Systems während des Alterns.

Die Transkription eines wichtigen Stressproteins, HSP70, zeigt wegen strukturell veränderter Transkriptionsfaktoren eine Erniedrigung (Fargnoli et al. 1990). Die Untersuchung regulatorischer Systeme, welche soziale und physikalische Wirkungen in biologische Mechanismen integrieren können, ist ein erfolgreicher Weg zu einem erhöhten Verständnis, wie genetische und Umweltfaktoren beim Alternsprozess in Wechselwirkung treten (stressinduzierter Tod der Beutelmaus oder des pazifischen Lachses).

In-vivo- und In-vitro-Alternsveränderungen im System wurden von verschiedenen Gruppen untersucht und bestätigt. So fanden die Arbeitsgruppen von Holbrook (Blake et al. 1990, 1991) in alten

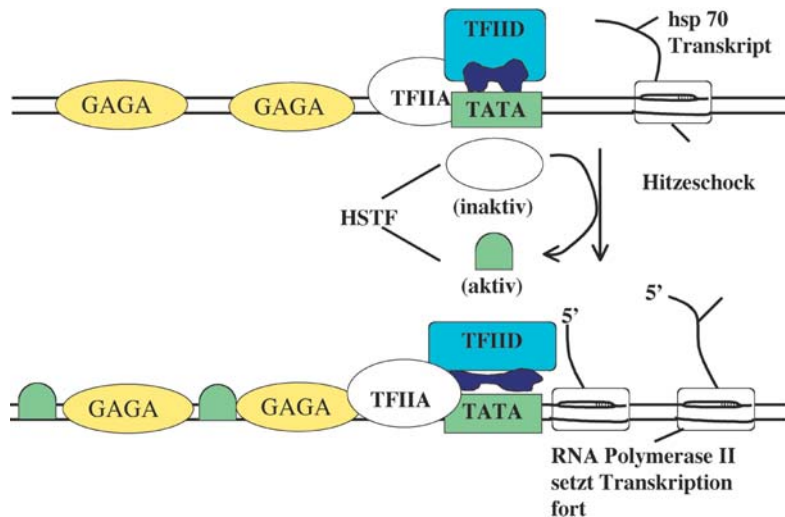


Abb. 1.2.19. *hsp*-Gene. Die Transkription des *hsp70* (aber auch anderer *hsp*-Gene) wird von sehr niedrigem Niveau zu extrem hohen Werten innerhalb von Sekunden nach dem Stressor induziert, da in Abwesenheit des Stressors die RNA-Polymerase II die Transkription bei etwa 25 Nukleotiden einstellt. Nach dem Stressor wird der Hitzeschock-Transkriptionsfaktor (HSTF) schnell aktiviert und bindet an Hit-

zeschock-Antwortelemente stromaufwärts des HSP-Promotors. Dieser entlässt die Polymerase und es kommt zu schnellster Transkription und auch deren häufigen Wiederbeginn durch neue Polymerase. Dieser Mechanismus scheint auch bei anderen Eukaryonten benutzt zu werden. GAG u. TF Transkriptionsfaktoren

Ratten eine bis zu 75%-ige Reduktion der HSP70-mRNA in Gehirn, Lungen und Haut nach Temperaturerhöhung auf über 40°C, die Untersuchungen von Richardsons Gruppe (Heydari et al. 1993) weisen auf eine Reduktion auch in der Leber von alten Nagern hin. In seneszenten menschlichen Fibroblasten konnten Liu et al. (1989) eine 30%-ige Reduktion der mRNA nachweisen. In jüngerer Zeit haben die Arbeiten von Jazwinski über die Stressresistenz der Hefe eine Fülle an neuer Information über die dabei beteiligten Mechanismen und ihre Veränderungen mit dem Altern gebracht. Er zeigte dabei, dass die *ras*-Gene eine wichtige Rolle bei der Koordination und Wechselwirkung von metabolischer Kontrolle und Stressresistenz spielen. *ras* als LDG greifen in die Homöostase ein und regulieren dadurch die metabolische Aktivität, aber auch die Zellteilung, die genetische Stabilität und das transkriptionale „Silencing“. So ist sehr wohl vorstellbar, dass die Erniedrigung der Stressantwort mit dem Altern auf ihre veränderte Regulation zurückzuführen ist. Ein

Vergleich mit höheren Eukaryonten zeigt, dass auch bei anderen Spezies die Stressabwehr nicht nur durch *hsp*-Gene, sondern auch durch eine Reihe von an der Signaltransduktion und Genexpressionsregulation beteiligten Genen (wie schon an anderer Stelle ausgeführt) kontrolliert wird und in vielen Fällen Altersabhängigkeit zeigt (Jazwinski 2000) (Tabelle 1.2.5, 1.2.6).

Je älter ein Organismus wird, desto mehr Stress ist er ausgesetzt. Eine suboptimale Antwort alternender Zellen hat mehr geschädigte Proteine zur Folge. So wird das Wachstum eingeschränkt und bei Verlängerung dieses Zustands erholen sich die Zellen nicht mehr. Weiter können die geschädigten Proteine als endogene Toxine wirken (Amyloidakkumulation). Da z.B. langlebige Stämme verschiedener Organismen höhere *hsp*-Expression zeigen, wird auch ein Bezug von Langlebigkeit und Stressproteinen nahegelegt. Daher könnte eine Hinaufregulierung der Antistressgene auch in Mammalia durch verbesserte Zytoprotektion zu einer Revitalisierung führen (s. 1.2.18).

Tabelle 1.2.5. Altersgene, Vitagene, Gerontogene

Organismus (in aufsteigender Komplexität)	Altersgen (Langlebigkeitsgen, lag)	Substanz, Wildtyp-Funktion
Saccharomyces cerevisiae	<i>lag1, lag2</i>	Protein (47 und 78 kD, Transmembrandomäne)
	<i>ras1, ras2</i>	Bestandteil des MAP-Kinase-Wegs, regelt das Signaltransduktionsnetzwerk, stimuliert den Umsatz der Phospholipide
	<i>uth4</i>	Homologes des Pumillio-Proteins der Drosophila
	<i>sir-Komplex</i>	Verantwortlich für die Aktivierungshemmung („silencing“) der Transkription von Telomeren und „Mating-Stellen“ (HM-Loci)
	<i>age1, age2</i>	PI3-Kinase, beteiligt am Schutz vor freien Radikalen, Hitze, UV-Licht
Caenorhabditis elegans	<i>clk1, clk2, clk3</i>	Mitochondrienfunktionen: Ubichinonsynthese, Zellatmung
	<i>daf2</i>	Kodiert insulinartigen Rezeptor
	<i>daf16</i>	Kodiert einen am Insulinsignalweg beteiligten Transkriptionsfaktor
	<i>old1</i>	Wird durch physikalische Stressoren aktiviert
	<i>trk1</i>	Kodiert Tyrosin-Kinase-Rezeptor
Drosophila melanogaster	<i>mth</i>	(„Metuselah“); kodiert G-Protein-gekoppelten Rezeptor
	<i>indy</i>	(„I’m not dead yet“), greift in den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel ein
Maus	<i>klotho</i>	Membran-Protein-Glukosidase
	<i>prop1</i>	Kodiert für die Synthese von Wachstumshormon
	<i>ace</i>	Kodiert für Angiotensin konvertierendes Enzym, Herz-Kreislauf-System
Mensch	<i>apc</i>	Gastrointestinaler Krebs
	<i>apoE2, apoE4</i>	Apolipoprotein E, Herz-Kreislauf-System, SDAT, Krebs
	<i>L-myc-S</i>	Brustkrebs
	<i>wrn</i>	Helikase, DNA-Replikation
	<i>apoC-III</i>	Apolipoprotein C-III, neu
	<i>hla-Komplex</i>	Immunsystem, neu

lag „longevity assurance genes“.

Tabelle 1.2.6. Hauptaufgaben des Vitagen-Netzwerks

Molekulare Ebene
Erhaltung und Reparatur des Genoms
Genauigkeit der genetischen Informationsübertragung
Umsatz von Makromolekülen
Synthese von Hitzeschockproteinen
Vernichtung freier Radikale
Zelluläre Ebene
Aufrechterhaltung der Differenzierung
Regulation der Zellproliferation
Stabilität (Homöostase)
Stabilität der Membranen
Gewebe- und Organebene
Neutralisierung und Entfernen von Toxinen
Gewebeerneuerung und Wundheilung
Zelltod und Zellersatz
Physiologische Ebene
Neuronale Reaktion
Endokrine Reaktion
Immunantwort
Stressantwort
Thermoregulation

1.2.8.2 Oxidativer Stress und freie Radikale

Oxidativer Stress entsteht durch freie Radikale (s. Abb. 1.2.27) (z.T. durch endogene metabolische Prozesse in den Mitochondrien oder durch Enzyme produziert), durch zu geringe Konzentrationen von Antioxidanzien sowie durch abnehmende Kapazität antioxidativer Mechanismen (Munkres u. Furtek 1984). Gene, die für 12 antioxidative Enzyme kodieren, stehen unter der gemeinsamen Kontrolle eines regulatorischen Netzwerks (Oxy-Regulon), das von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden kann (s. Abb. 1.2.43). Wenn dieses nicht richtig arbeitet oder defiziente Mutanten auftreten, wird der Organismus sehr empfindlich gegenüber oxidativem Stress.

Der Grundumsatz („basal metabolic rate“, BMR) nimmt ab, wenn er nicht auf den Verlust der Muskelmasse bezogen wird. Dabei gibt es eine Beziehung zur Fähigkeit, oxidativer Schädigung zu widerstehen (Feuers et al. 1995). Hohe Niveaus antioxidativer Enzymaktivitäten verbrauchen NADPH, so dass selektierte Allele auch die NADPH-Depots auffüllen. Diese Zusammenhänge sind es wert, hier untersucht zu werden. Inwieweit hat die Stressantwort mit der Erhaltung der Zellen zu tun (Kirkwood et al. 1996)?

1.2.9 Modellsysteme in der Untersuchung der molekularen Ursachen der Lebenserwartung

Experimentelle Gerontologie am Menschen zu betreiben ist fast unmöglich. Daher mussten Modellsysteme entwickelt werden: einerseits Organismen, an denen Altersveränderungen und Mechanismen (unter der Voraussetzung, dass sie altern) mit allen wissenschaftlichen Mitteln untersucht werden können, andererseits Organismen mit auftretenden Abweichungen von der Norm (vorzeitiges Altern, genetisch veränderte Organismen usw.).

Als Modellsysteme wurden bisher eine breite Palette von Organismen verwendet, denn alles, was altert, ist auch geeignet, molekulare und genetische Altersveränderungen darzustellen. Von Einzellern, wie der Hefe, beginnend und andere Pilze (z.B. *Podospora*) verwendend, steigen die Modellsysteme gemäß ihrer multizellulären Organisation auf zu niedrigen Tieren, wie Würmern und Insekten, bis zu den höheren Wirbeltieren. Aber auch Zellkulturen jeder Art und vorgeschädigte Zellen oder Organismen wurden verwendet. Wichtig für jeden spezifischen Ansatz sind dabei die Auswahl des Organisationsniveaus, die Wahl des experimentellen Organismus und die Beachtung von spezifischen Problemen der Gerontologie.

Einen informativen Überblick gibt dabei Arking (1998). Eine prägnante Darstellung in enzyklopädischer Form mit besonderer Erwähnung von Modellen für auch molekulare Untersuchungen zeigen Jazwinski (1996) für Invertebraten, Hefe und andere Pilze und Masoro (1996) für Vertebraten.

Um die Mechanismen des normalen Alterns zu verstehen und aufzuklären, könnte es hilfreich sein, erbliche Störungen mit auftretenden altersabhängigen Phänotypen auf allen Ebenen des Organismus zu untersuchen. Bisher sind einige solcher Störungen bekannt, von denen zwei den Veränderungen im normalen Alternsprozess weitgehend ähneln, sechs weitere aber auch einige Parallelen dazu aufweisen; gemeinsam ist allen, dass das Altern frühzeitig auftritt.

Die beiden erstgenannten sind das Hutchinson-Gilford-Syndrom (HGS), die als eigentliche Progerie bezeichnete Krankheit, und das Werner-Syndrom (WS). Die sechs letzteren, die hier nur gestreift werden sollen, sind Scleroderma pigmentosum (XP), das Cockayne-Syndrom (CS), die Trichothiodystrophie (TTD), das Bloom-Syndrom (BS), die X-Chromosom-verknüpfte α -Thalassämie bzw. das mentale Retardierungssyndrom (ATR-X)

und das Juberg-Massidi-Syndrom (JMS). Bei allen konnten Mutationen in bestimmten Genen gefunden werden, wobei bis auf das HGS ein Gen geschädigt ist, das eine Helikase kodiert.

1.2.9.1 Die Progerie (HGS)

Dieses Syndrom ist charakterisiert durch vielfältige phänotypische Veränderungen, welche eindeutig genetische Ursachen haben und oft den Erscheinungen des normalen Alterns gleichen. Seit der Entdeckung 1904 kennen wir etwa 100 Fälle (Dunkelziffer vielleicht 5- oder 10-mal so hoch), d. h. die Inzidenz liegt bei $1:10^8$, bzw. $1:10^7$. Die Krankheit tritt schon in den ersten Lebensjahren auf und führt durch Schäden am Herz-Kreislauf-System meist vor Ende des zweiten Lebensjahrzehnts zum Tod.

Allsopp et al. fanden 1992, dass Progeriehautfibroblasten kurze Telomeren in Übereinstimmung mit ihrem reduzierten Teilungspotenzial aufwiesen, ein Befund, den danach noch viele Arbeitsgruppen bestätigen konnten (z.B. Quellet et al. 2000). So zeigten sie, dass die ektopische Expression von hTERT, welche die katalytische Untereinheit der menschlichen Telomerase kodiert, die Lebenserwartung (MLP) normaler menschlicher Zellen ohne zelluläre Transformation und genomische Instabilität erhöhen kann (Quellet et al. 2000, Shay et al. 1998, Wynn et al. 1998). Eine umfassende und aufschlussreiche, jedoch schon etwas bejahrte und eine rezentere Übersicht gibt Harley (1995, 1997).

Die Telomeren (s. Abb. 1.2.7) haben eine Vielfalt von Funktionen: Sie gestatten den DNA-Polymerasen, das Ende der Chromosomen vollständig zu replizieren, unterstützen aber auch ihre Reparaturfunktion; weiters verhüten sie die Fusion der Chromosomen. Ab dem Unterschreiten einer kritischen Länge fallen alle diese Funktionen aus. Ebenso kommt es zur Aufhebung einer Expressionsinhibition, sodass Gene Proteine exprimieren, welche zur Zerstörung von Zellen führen. Zur Aufrechterhaltung der Telomerlänge dient die Telomerase, daher ist die Annahme möglich, dass das für diese kodierende Gen bei HGS besondere Bedeutung hat. Es ist aber nicht ohne weiteres möglich, in Zellen das Telomerasegen zu inserieren oder Telomerase einzuführen, da dies zu Krebs führen kann.

Interessant war auch ein Vergleich von 384 bekannten Genen zwischen Fibroblasten alter Spender (E), Progeriepatienten (P) und seneszenten

Fibroblasten (Phase IV, S), den 2001 Park et al. durchführten. Alle zeigten seneszente Phänotypen, doch zeigte sich nur eine nähere Verwandtschaft zwischen Progeriefibroblasten und solchen alter Spender, nicht aber solchen der Phase IV mit jenen beiden. Dabei war die Expression der Gene *p53* und *p21* gegenüber jungen Spendern deutlich bei E und P erhöht, aber weniger als bei S, während die der Gene *cdc42* („cell division cycle“) und *camKII δ* („cell adhesion molecule KII δ “) bei E und P deutlich erniedrigt, bei S jedoch sogar etwas erhöht war. Diese Befunde trafen für eine Reihe anderer Gene auch zu, besonders für die an der Signaltransduktion beteiligten. Weiter ist eine invertierte Insertion am langen Arm des Chromosom 1 vorhanden, wobei die Mutation (aufgrund der Erbdynamik autosomal-rezessiv) erst bei den ersten Zellteilungen eingetreten sein dürfte. Doch kann bisher kein einziges Gen (bzw. dessen Schädigung) als eigentliche HGS-Ursache identifiziert werden.

1.2.9.2 Das Werner-Syndrom (WS)

Diese ebenfalls autosomal-rezessiv vererbte Krankheit tritt im dritten Lebensjahrzehnt auf (Progerie der Älteren) und führt spätestens am Ende des fünften zum Tod, wobei neben Herz-Kreislauf-Erkrankungen auch (im Gegensatz zu HGS) Krebs die Ursache ist. Sie ist mit $3:10^6$ viel häufiger als HGS, die Inzidenz ist also 300-mal höher. Bei den Betroffenen finden sich neben den tödlichen Veränderungen auch Diabetes, Katarakte und Osteoporose.

Das bisher für die Krankheit verantwortliche Gen (*wrn*) wurde am Chromosom 8 in der p12-Region kartiert. WS wird verursacht durch Mutation im *wrn*, die ein Peptid aus 1432 Aminosäuren (AS) kodiert, das zu den Mitgliedern der RecQ-Unterklasse der Helikasen homolog ist (Gray et al. 1997). Dieses Peptid wirkt als 3'-5'-DNA-Helikase (Abb. 1.2.20) und bisher wurden 19 Mutationen beim WS gefunden, welche aus Nonsens- und Leserastermutationen bestehen. Darüber hinaus wurde eine umfangreiche Deletion entdeckt. Das dadurch verkürzte Peptid kann nicht mehr in den Kern und verliert seine Funktion (Matsumoto et al. 1997).

Viele Schäden bei der Replikation, Reparatur, Rekombination und Transkription der DNA in Lymphoblasten und Fibroblasten wurden gefunden. Die Reparaturschäden sind nicht einheitlich (Kruk et al. 1995, Webb et al. 1996, Bennett et al.

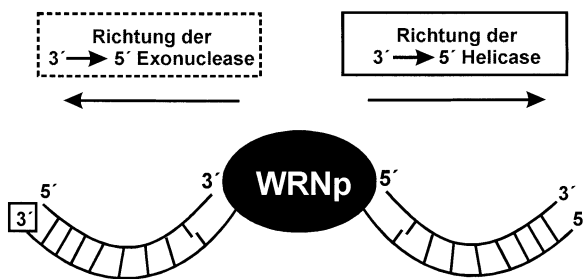


Abb. 1.2.20. Arbeitsrichtung der WRN-Helikase und WRN-Exonuklease. *Helikase*: Fortschreiten auf dem längeren Strang, dessen überstehender Bereich anfangs Helikase bindet. *Exonuklease*: Richtung ihrer Aktivität. Die Arbeitsrichtungen dieses selben Proteins sind per definitionem entgegengesetzt. Die Helikase windet den Strang auf, die Exonuklease schneidet Nukleotide heraus. *WRNp* Werner-Helikase-Protein

1997). Was Rekombinationen betrifft, zeigen Fibroblasten und Lymphozyten Chromosomenmutationen (Rearrangements), die nach Salk (1982) von Deletionen bis zu multiplen Translokationen reichen. Hinsichtlich der Transkription fanden Murano et al. (1991) und Lecka-Czernik et al. (1996), dass multiple Gensequenzen in Fibroblasten überexprimiert werden. Weitere Befunde lieferten Bauer et al. (1986), die zeigten, dass Fibroblasten eine schwächere Antwort auf PDGF (thrombozytenabhängiger Wachstumsfaktor) und FGF (Fibroblastenwachstumsfaktor) aufwiesen. Dies führt zu Fehlern in dem davon abhängigen Signalnetzwerk und kann die Ursache bestimmter phänotypischer Veränderungen sein. Um die Funktionen des *wrn* und des von ihm kodierten Proteins besser verstehen zu können, wurden viele Untersuchungen analoger Gene bei anderen Organismen (von der Hefe bis zur Maus) durchgeführt, auf die hier aber nicht näher eingegangen werden soll. Interessant ist vielleicht noch zu erwähnen, dass embryonale Stammzellen von WS-Patienten hohe Mutationsinzidenz zeigen und empfindlich gegenüber Topoisomeraseinhibitoren sind. Okada et al. (1998) erklären diesen Befund mit einer Wechselwirkung zwischen dem WRN-Protein und der Topoisomerase. Untersuchungen embryonaler Stammzellen der Maus durch Lebel u. Leder (1998) und Yan et al. (1998) zeigten, dass ein bestimmtes Motiv des WRN-Proteins von 121 Aminosäuren mit dem Replikationskomplex reagiert und daher Änderungen des Peptids massiv in die Replikation eingreifen dürften. Diese genetischen Änderungen in Stammzellen würden viele Phänotypen erklären: Kleinwuchs, Diabetes mellitus, Arteriosklerose, die Atrophie der Haut und des Kortex sowie das Fehlen von

Unterhautfett. Diese Erklärung ist aber nicht ausreichend, es müssen auch Veränderungen und Fehler der Transkription angenommen werden, da Über- und Unterexpressionen vieler Gene bekannt sind.

1.2.9.3 Andere Syndrome

Die anderen erwähnten Syndrome, auch autosomal-rezessiv vererbt, werden zwar als progeroide Syndrome angesehen und zeigen einige wenige Züge und Merkmale, die sie mit den beschriebenen Syndromen des vorzeitigen Alterns gemeinsam haben, sind aber nicht direkt alternsanaloge Erscheinungen. So weist die Sklerodermie (XP) eine Reihe von Mutationen in bisher 16 bekannten Genen auf, die zu einer weitgehenden Inhibition verschiedener DNA-Reparatur-Mechanismen führen (Cleaver 1994, Sugawara et al. 1998, Li et al. 1993, Maeda et al. 1995, Andrews et al. 1976). Beim normalen Altern sind jedoch Reparaturdefekte auf andere Faktoren zurückzuführen, daher ist XP kein gutes Modell. Beim Cockayne-Syndrom (CS) wurden bisher zwei Gene gefunden und untersucht, deren Schäden zur Beeinträchtigung hauptsächlich der Transkription, weniger der Reparatur führen (Henning et al. 1995, Troelstra et al. 1992, Bootsma u. Hoeijmakers 1993). Die Genprodukte interagieren mit anderen Proteinen, welche wiederum untereinander Wechselwirkungen zeigen und daher die massiven und vielfältigen phänotypischen Defekte bedingen (Weeda et al. 1997).

1.2.9.3.1 Trichothiodystrophie

Die ganz seltene Trichothiodystrophie (TTD) zeigt ebenfalls Reparaturdefekte, interessanterweise zu unterscheiden von XP-Zellen, wie man aus Komplementationsstudien von Stefanini et al. (1993) und Weeda et al. (1997) weiß. Auch ähneln einige Symptome dem CS, wobei als Ursache Transkriptionsdefekte möglich sind. Es drängt sich die Frage auf, warum bei drei voneinander klinisch eindeutig unterschiedenen Syndromen (TTD, XP und CS) Mutationen in denselben Genen verantwortlich sind. Die wahrscheinlichste Erklärung dafür ist, dass die Wirkungen von den Mutationsorten in diesen Genen abhängen. Es verhindern also störungsspezifische Mutationen krankheitsspezifische Wechselwirkungen primärer Proteine mit anderen Molekülen (z.B. zwischen XP-D- und P44-Protein) und verursachen so die klinischen Phänotypen, indem innerhalb der Wechselwir-

kungssequenzen Änderungen aufgetreten sind oder es zu Konformationsänderungen gekommen ist (de Boer et al. 1998).

1.2.9.3.2 Bloom-Syndrom

Die Zellen des ebenfalls sehr seltenen Bloom-Syndroms (BS) zeigen Defekte der Replikation (Foucault et al. 1997). Weiter sind verschiedene Mutationen und eine hohe Inzidenz multipler Chromosomenaberrationen bekannt. Sirover et al. fanden 1990 einen häufigen Schwesterchromatidaustausch (SCE) (Abb. 1.2.21), der auf eine Störung der Rekombination hinweist. SCEs sind ein Ausdruck der DNA-Reparatur. Sie können durch Mitogene und Toxine ausgelöst werden, ihr Auftreten ist altersabhängig (Abb. 1.2.22).

Das für BS verantwortliche Gen kodiert ein 1417 Aminosäurenpeptid mit Homologie zu den RecQ-Helikasen (Ellis et al. 1995). Dieser Befund von Ellis weist auf eine Ähnlichkeit mit den Ursachen des WS hin. 1997 wurde das Peptid von Karow et al. als 3'-5'-Helikase identifiziert. Die vielen Mutationen führen nach Kaneko et al. (1997) zu einer Verhinderung der Translokation des Peptids in

den Kern, was sich in einem Verlust der Proteinfunktion zeigt.

1.2.9.3.3 Fazit

Was können uns diese heute schon reichlich vorhandenen Erkenntnisse über die genetischen Ursachen von Krankheiten, welche zu vorzeitigem Altern führen, aber auch die Befunde an tierischen Organismen, über das normale Altern sagen? Zuerst einmal sind viele der untersuchten biochemischen und Signalwege einzigartig beim Menschen. Sind die veränderten Aktivitäten der Enzyme, besonders der Helikasen, auch für das normale Altern verantwortlich? Sicherlich haben sie einen Bezug zu den in hohem Alter auftretenden Krankheiten. So führen Schäden in den Reparatur- und Rekombinationssystemen zum Auftreten von Krebs, der bei den Syndromen auftretende apoptotische neuronale Zelltod ist auch bei Krankheiten des hohen Alters zu finden und resultiert ebenso aus Reparaturschäden und Transkriptionsveränderungen, welche zu vielen phänotypischen Veränderungen führen; bei gastrointestinalen Tumoren finden sich Leserastermutationen im *blm*-Gen (Calin et al. 1998). Schließlich haben Homozygote, aber nicht

		Kein SCE	SCE im 1.ZC	SCE im 2.ZC	SCE im 3.ZC
1.Zellcyclus	G ₁				
	S → G ₂				
	M				
2.Zellcyclus	G ₁				
	S → G ₂				
	M				
3.Zellcyclus	G ₁				
	S → G ₂				
	M				

Abb. 1.2.21. Methode zur Messung des Schwesterchromatidaustauschs (SCE). Die Zellen durchlaufen in Anwesenheit von ³H-Thymidin und BrdU drei Zyklen. Vor dem ersten treten keine SCE auf, im ersten kommt es zur Markierung

der Chromosomen mit BrdU, was auf SCE hinweist. Dieser Ablauf verstärkt sich im zweiten und dritten Zyklus. *Ausgezogene Linie* Thymidinstrang, *gestrichelte Linie* BrdU-Strang

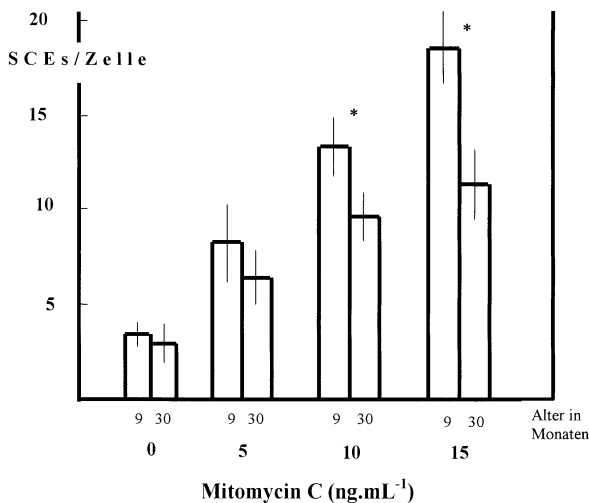


Abb. 1.2.22. DNA-Schäden und Schwesterchromatidaustausch. Das Schema zeigt die Abhängigkeit dieses Reparaturvorgangs in Rattenfibroblasten einerseits von der Mitomycinkonzentration und andererseits vom Alter. Unterschiede zwischen jungen und alten Ratten werden erst bei hoher Mitomycinkonzentration (starker DNA-Schädigung) signifikant (*)

Heterozygote, wie Ye et al. (1997) herausfanden, mit einer Variante bei Aminosäure 1367 im WRN-Protein ein weit höheres Risiko für Herzinfarkt.

WS zeigt von allen Syndromen, besonders was die Helikasenschäden betrifft, die größte Ähnlichkeit mit dem normalen Altern. Auch werden einige Gene, die bei WS überexprimiert sind, beim normalen Altern überexprimiert, was ein Einmünden in einen ähnlichen metabolischen Weg in beiden Arten von Fibroblasten bedeutet (Lecka-Czernik et al. 1996). Wenn also seneszenten Fibroblasten die Funktionen des WRN-Proteins fehlen, könnte dies einige Ausprägungen des normalen Alterns erklären. Damit übereinstimmend fanden Matuoka u. Takenawa (1998), dass die *wrn*-Genexpression herunterreguliert wird. Ähnlichkeiten von Veränderungen in beiden Typen von Fibroblasten treten auch bei der Promotoraktivität sowie bei der Apoptose und Expression (Transkription) in Lymphozyten auf, wobei die stärkere Apoptose nach Aggarwal u. Gupta (1998) bei normalem Altern, aber nicht bei WS, zu einer Immundefizienz führt. Berücksichtigen wir noch einige andere heute bekannten Veränderungen des WRN-Proteins sowie Veränderungen des Telomerstoffwechsels (Bodnar et al. 1998), können wir einen gemeinsamen Endweg postulieren und behaupten, dass die verschiedenen gemeinsamen Züge von WS und normalem Altern kaum unabhängig voneinander auftreten. Mit diesen und weiteren künftigen Erkenntnissen

wären gentechnische Therapien wenigstens von Alterskrankheiten, vielleicht auch eine Modulation des normalen Alterns, möglich.

1.2.10 Genom-Stabilität, Mutationen, DNA-Schäden und DNA-Reparatur

Eines der wichtigsten Prinzipien für erfolgreiches Altern ist die Aufrechterhaltung der Stabilität des Genoms. DNA-Schäden, die meist zu Mutationen führen, wirken dieser Stabilität entgegen, Reparaturmechanismen versuchen sie zu erhalten. Welche Bereiche der DNA geschädigt werden, wie Mutationen und Reparatur gemessen und wie die wirkenden Zusammenhänge analysiert werden, ist Inhalt dieses Abschnittes.

1.2.10.1 Instabilitäten und Mutationen

Zuerst muss versucht werden, Zusammenhänge zwischen Altern und einer möglichen Instabilität des Genoms zu finden. Zu den Instabilitäten gehören:

1. Punktmutationen (Änderung eines Basenpaares), wobei Missense- (resultiert im Austausch einer Aminosäure – AA – gegen eine andere), Nonsense- (ein Stoppkodon ersetzt ein AA-Kodon, vorzeitiger Translationsabbruch) und Leserastermutationen (führt zur Einführung einer beziehungslosen AA, gefolgt von einem Stoppkodon) unterschieden werden können. Die häufigste ist die Transition, wobei ein Purin bzw. ein Pyrimidin gegen ein anderes ausgetauscht wird: GC γ AT, die seltenere die Transversion, der wechselseitige Austausch eines Pu gegen ein Py: AT γ TA und AT γ CG (Abb. 1.2.23);

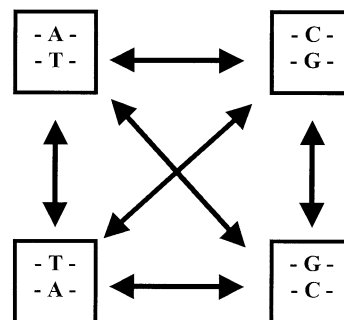


Abb. 1.2.23. Mutationen: Transitionen (Diagonalfleile) und Transversionen (horizontale und vertikale Pfeile)

2. Vermehrung oder Verminderung von Mikrosatelliten;
3. Erweiterung und Deletionen von DNA-Sequenzen;
4. Rearrangements (Umordnungen, wozu Insertionen und Deletionen gehören), die meist lange Abschnitte betreffen, und
5. Strukturelle und numerische Chromosomenaberrationen.

Diese Zusammenhänge wurden von Slagboom u. Vijg (1989) in einer ausführlichen Monographie untersucht, wobei aber schon früh bekannt war, dass Mutationen und Chromosomenaberrationen mit dem Altern in vielen Spezies vermehrt auftreten. Eine Rolle für die Instabilität spielt auch der Verlust von Genen für die Wachstumskontrolle, die das Auftreten von Tumoren unterdrücken (Nigro et al. 1989). Das *p53*-Gen spielt, wie schon unter 1.2.4 ausgeführt, eine zentrale Rolle beim Altern der Zellen. Eine Mutation in diesem Gen bzw. sein Verlust führt zur Immortalisierung, was wiederum eine zwar nicht hinreichende, aber notwendige Voraussetzung für eine Tumorentwicklung ist (Iijima et al. 1966, Pipkin et al. 1997, Hsieh 2000).

1.2.10.2 Telomeren

Ebenfalls zur Stabilität trägt die Aufrechterhaltung der Telomerlänge bei. Da die Funktion von Telomeren nur dann Sinn macht, wenn die Zelle mitotisch ist, stellt sich die Frage, welche Bedeutung Telomeren z.B. bei Insekten haben, die nur postmitotische Zellen besitzen.

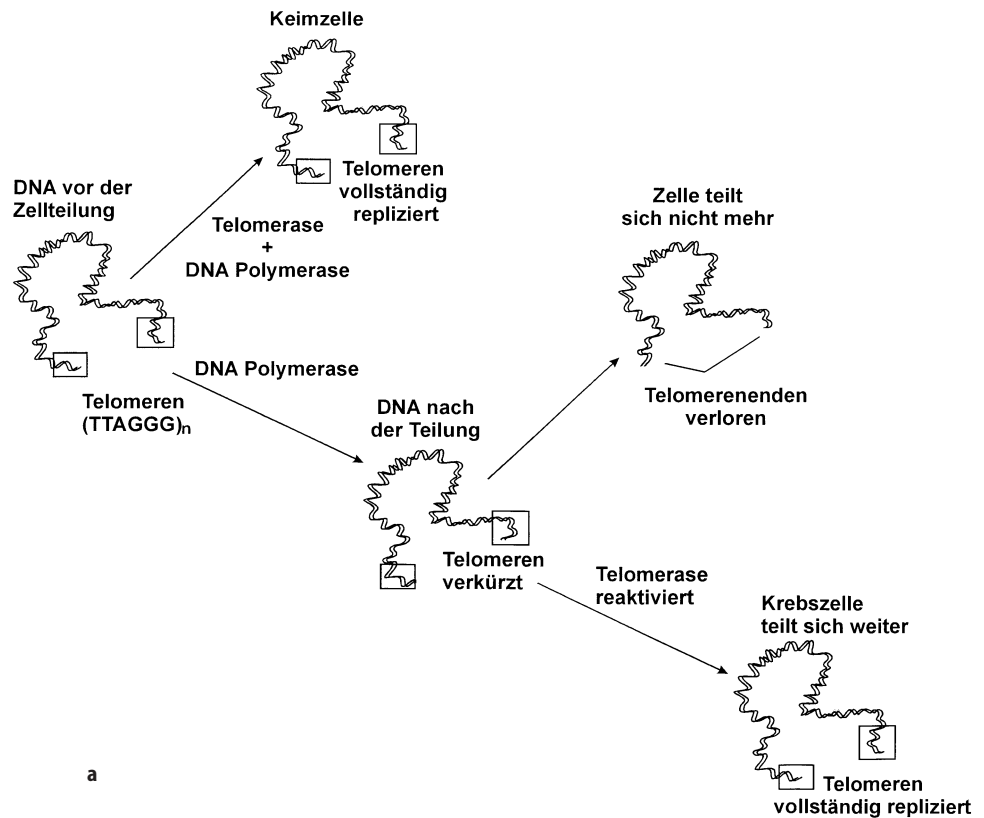
Telomeren sind die Enden von eukaryontischen Chromosomen (s. Abb. 1.2.7). Diese verkürzen sich aus bisher nicht endgültig geklärten Gründen mit jeder Zellteilung. Dafür wurde zunächst das sog. „Endreplikationsproblem“ verantwortlich gemacht (Olovnikov 1971), das die Verkürzung mit dem Ablauf der DNA-Replikation und der räumlichen Ausdehnung der Polymerase in Verbindung brachte. Andere Autoren versuchten, ausgehend von der Existenz von Überhängen am 3'-Ende des DNA-Doppelstranges durch die Postulation von 5'→3'-Exonukleasen eine Erklärung für die kontinuierliche Abnahme der Telomerlänge zu finden (Makarov et al. 1997, McElligott u. Wellinger 1997).

Anfang der neunziger Jahre zeigten einige Forschungsgruppen (Allsopp et al. 1992, Harley et al. 1990, Hastie et al. 1990, Lindsey et al. 1991), dass sich die Telomeren mitotischer Zellen mit jeder

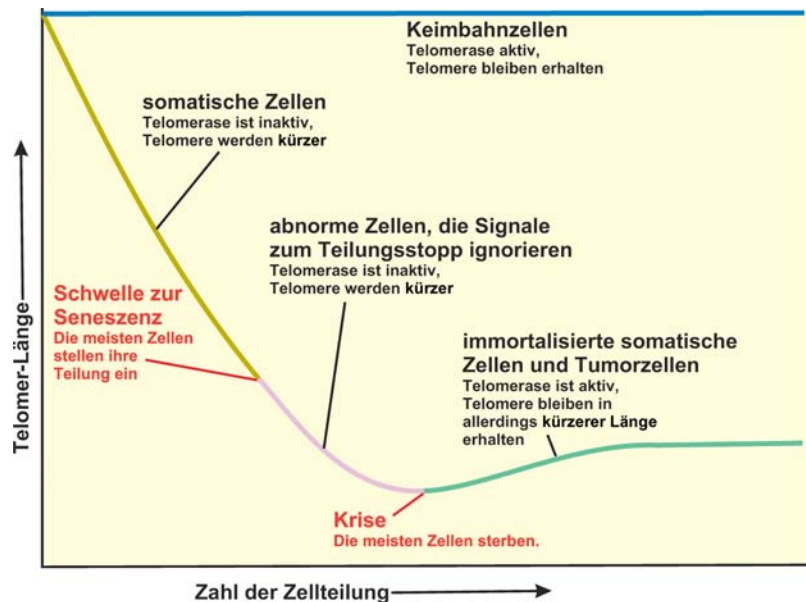
Teilung verkürzen. Darüber hinaus wurde eine Telomerverkürzung während des In-vivo-Alterns in ganz verschiedenen Zelltypen wie Fibroblasten, Leukozyten und Epithelzellen beobachtet (Hastie et al. 1990). Die Telomeren könnten also die biologische Struktur sein, die für das Zählen der Zellteilungen verantwortlich ist (Harley 1991) (Abb. 1.2.24). Die Hypothese war, dass eine replikative Seneszenz eintritt, wenn die Telomeren eine kritische „Minimallänge“ erreicht haben (Allsopp u. Harley 1995).

Wenn man seneszente humane Fibroblasten und Epithelzellen mit dem Gen für die katalytische Untereinheit des Enzyms Telomerase (hTERT) transfiziert (Bodnar et al. 1998), sind diese Zellen zu unbegrenzter Teilung fähig. Diese spezifische reverse Transkriptase ist in der Lage, die Länge der Telomeren konstant zu halten. Doch scheint es Unterschiede zwischen verschiedenen Zellsystemen zu geben. So beschreiben Kiyono et al. (1998), dass für zwei Typen humaner Epithelzellen (Keratinocyten und Mammaepithelzellen) zur Immortalisierung durch hTERT noch zusätzlich entweder das Retinoblastomprotein (RB) oder P16^{INK4} inaktiviert sein müssen.

Zurücksetzen der Telomerenuhren beim Rind: Lanza et al. (2000) berichteten, dass Zellen ihrer geklonten Kälber Telomeren besitzen, die länger als normal sind. Darüber hinaus zeigen die Zellen andere Zeichen der Jugend und können sich in Kulturen viel öfter teilen als normale. Seine Arbeitsgruppe isolierte Fibroblasten aus fetalen Kälbern und ließen sie in vitro bis knapp an das Ende ihrer erwarteten replikativen Lebenserwartung replizieren. Diese Zellen zeigten Anzeichen replikativer Seneszenz und besaßen schon verkürzte Telomeren. Kerne dieser kultivierten Zellen wurden in enukleierte Rindereizellen transferiert und produzierten schließlich sechs Kälber. Im Alter von zehn Monaten waren die Telomeren länger als jene gleich alter normaler Kälber. In einem zweiten Experiment wurden fünf Kalbsfeten, die aus alten Fibroblastenkernen geklont wurden, nach sechs Wochen der Trächtigkeit entfernt und die Fibroblasten kultiviert. Ihre Klone erreichten 93 PDs verglichen mit 61 der Fibroblasten gleich alter normaler Tiere. Offenbar hat die neue Umgebung die alten Nuklei verjüngt. Es ist aber immer noch unklar, ob und in welchem Ausmaß das funktionale Altern und eine gesunde Lebenserwartung verändert werden. Dies wirft die Frage auf: Können wir den Alternsprozess verzögern? (s. 1.2.18).



a



b

Abb. 1.2.24a,b. Telomerkürzung begrenzt die proliferative Lebenserwartung. Telomeren, notwendig für jede Replikation, werden mit jeder Zellteilung verkürzt. Durch Telomerase werden sie in Stamm-, Keim- und Krebszellen wieder syn-

thetisiert. Dabei wird die korrekte Bildung des Gewebes durch den genetischen Plan begrenzt. Die Gegenstrategie besteht in der biologischen Redundanz und durch adulte Stammzellen

1.2.10.3 Replikative Seneszenz

Mehrere Gene spielen für die Manifestation der replikativen Seneszenz eine entscheidende Rolle. Wie schon unter 1.2.4 erwähnt, ist eines davon das Tumorsuppressorgen *p53* (Wynford-Thomas 1996), dessen DNA-Bindungs- und Transaktivierungseigenschaften (Phosphorylierung/Dephosphorylierung) sich ändern, wenn Zellen altern (Atadja et al. 1995, Bond et al. 1996). Das ebenfalls dort beschriebene Protein P21 ist in seneszenten Zellen hochreguliert (Noda et al. 1994, Alcorta et al. 1996). P21 wird durch *p53* induziert und inhi-

biert verschiedene cyclinabhängige Kinasen im Zellzyklus. Dadurch wird unter anderem die Phosphorylierung des Retinoblastomproteins (RB) verhindert, was zu einer Zellzyklusblockade (Abb. 1.2.25) führt (Harper et al. 1993, Dulic et al. 1994). Auch der Zellzyklusinhibitor P16 reguliert die Aktivität von RB und auch er wird in der Seneszenz hochreguliert (Alcorta et al. 1996, Rogan et al. 1995, Noble et al. 1996, Hara et al. 1996). In seneszenten Zellen ist RB unterphosphoryliert und kann damit kein Fortschreiten des Zellzyklus mehr initiieren (Stein et al. 1990, Futreal u. Barrett 1991). Alle diese Gene kooperieren bei der Induktion des

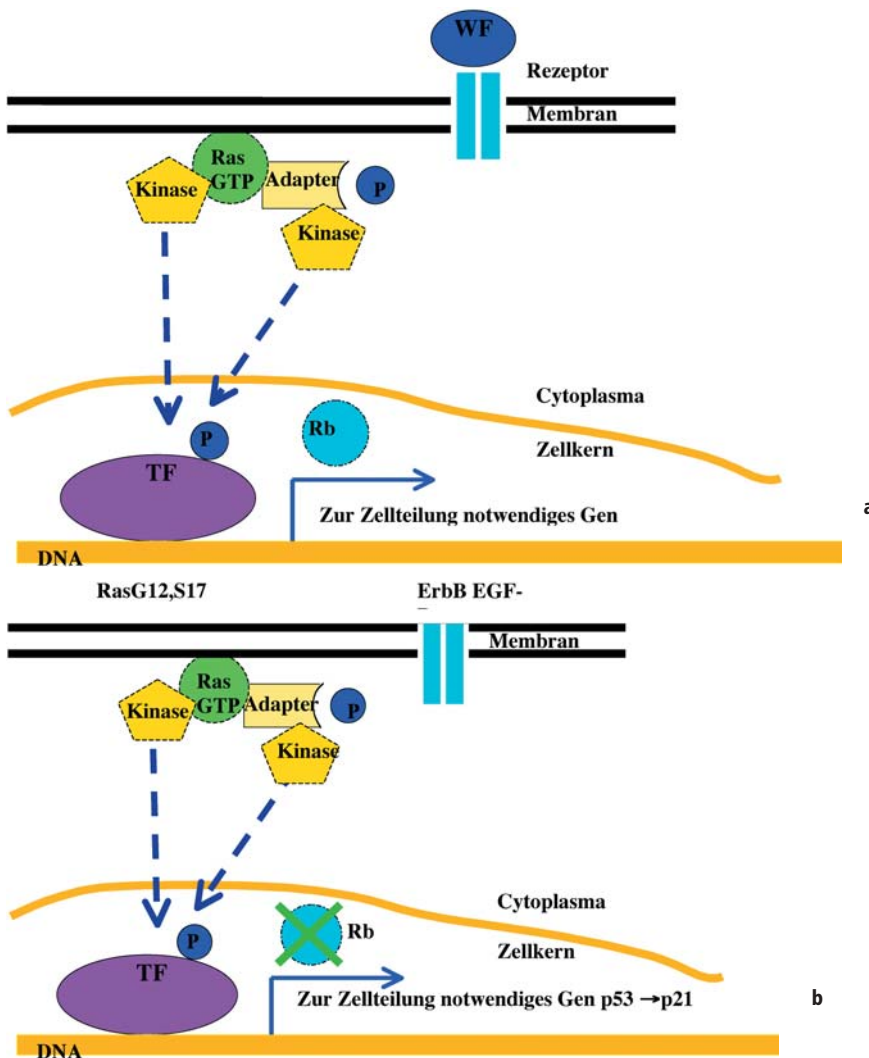


Abb. 1.2.25 a, b. Mitogensignaltransduktion. a Mit Krebsfolge: Wachstumsfaktoren (WF) verursachen über Signaltransduktion die Transkription von zur Zellteilung notwendigen Genen, wenn das Retinoblastom-(Rb-)Protein phosphoryliert wird. Es kann zur Zelltransformation kommen. b Ohne

Krebsfolge: Durch spezifische Signaltransduktion kommt es zur Verhinderung der Phosphorylierung des Retinoblastom-(Rb-)Proteins (Hypophosphorylierung), was zur Aktivierung von *p53* und *p21* und damit zur Zellzyklusblockade führt; Transformation ist unmöglich

seneszenten Phänotyps (Shay et al. 1991, Serrano et al. 1997).

Die Ausschaltung von *p53* und/oder die Inaktivierung von *rb* durch Tumoviren, Mutationen oder Transfektion mit dominant-negativen Genen bewirken, dass die veränderten Zellen sich über die normale Lebensspanne der Kultur hinaus teilen (Wynford-Thomas 1996, Rogan et al. 1995, Bond et al. 1994) (Abb. 1.2.26).

Die Seneszenz auf zellulärer Ebene ist also ein eindeutiger Tumorsuppressormechanismus. Im Experiment von Bodnar et al. (1998) war allein die Aktivierung von Telomerase ausreichend, um die Seneszenz in Fibroblasten zu verhindern. Andere Zellsysteme benötigen evtl. zusätzliche Ereignisse (Kiyono et al. 1998).

Die Telomeraseaktivität wurde auch in einigen normalen, nicht immortalisierten menschlichen Zelltypen entdeckt (Counter et al. 1995, Harle-Bachor u. Boukamp 1996). Diese Ergebnisse komplizieren das Bild, doch ist die Hypothese noch immer nicht widerlegt, dass Telomeren wie ein molekularer Zähler agieren, der die Anzahl der PDs bestimmt, bevor eine Zelle die replikative Krise erreicht (Hayflick-Grenze, s. 1.2.15).

Da bekannt ist, dass genetische Instabilität durch eine Fülle von exogenen Agenzien, besonders durch Karzinogene, verursacht werden und die Reaktion der Zelle darauf als Bewältigung des

unreparierten Schadens bzw. als Adaptation an eine ungünstige Mikroökologie angesehen werden kann, lag es nahe, nach endogenen physiologischen Ereignissen und Ursachen zu suchen. Es konnte bisher auch eine Vielzahl solcher Phänomene, die zum Altern beitragen, gefunden werden.

1.2.10.4 Reaktive Sauerstoffspezies

So können Zwischenprodukte des O_2 -Stoffwechsels (Abb. 1.2.27), bei denen es sich um H_2O_2 -, $OH^\bullet$ - und $O_2^\bullet$ -Radikale handelt, massive oxidative Reaktionen an Makromolekülen bedingen. Diese „reactive oxygen species“ (ROS) werden in Mitochondrien, durch aktivierte Makrophagen, in enzymatisch katalysierten Reaktionen wie durch Cytochrom P450, bei der Autoxidation von Hämoglobin und Lipiden, bei der Wasserradiolyse durch ionisierende Strahlung und durch AGEs (Abb. 1.2.28) gebildet; so ist z.B. das glykosylierte τ -Protein der neurofibrillären Knoten bei der Demenz vom Alzheimer-Typ (SDAT), ein ROS-Produzent (Yan et al. 1994, Hensley et al. 1994).

Vor etwa einem Jahrzehnt wurde ein weiteres freies Radikal, das $NO^\bullet$, entdeckt (Abb. 1.2.29), das bei vielen physiologischen Prozessen, wie z.B. der Relaxation der glatten Muskulatur, eine bedeutende Rolle spielt, jedoch auch zu schädlichen Nitro-

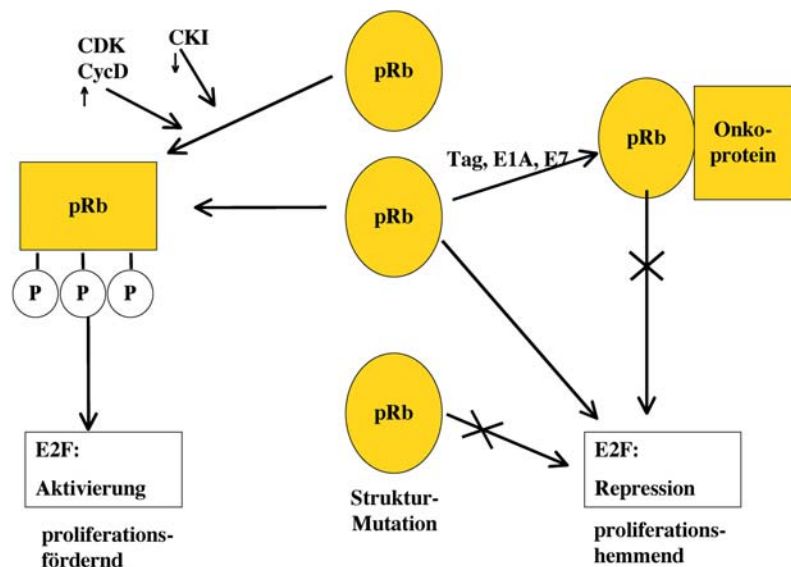


Abb. 1.2.26. Fehlfunktion des Tumorsuppressorproteins pRb. Die Proliferation fördernde Wirkung von pRb verstärkt die hohe Aktivität der CDK4-Cyclin-D1-Komplexe durch Mutationen bzw. Aufhebung der Hemmung durch CKI. Die Proliferation hemmende Wirkung fällt aus: Komplexierung

mit Onkoproteinen oder Mutation. Dann reprimiert E2F die Transkription von Zellzyklusgenen nicht mehr. CKI cyclinabhängiger Kinaseinhibitor, CDK cyclinabhängige Kinase, Rb Retinoblastom

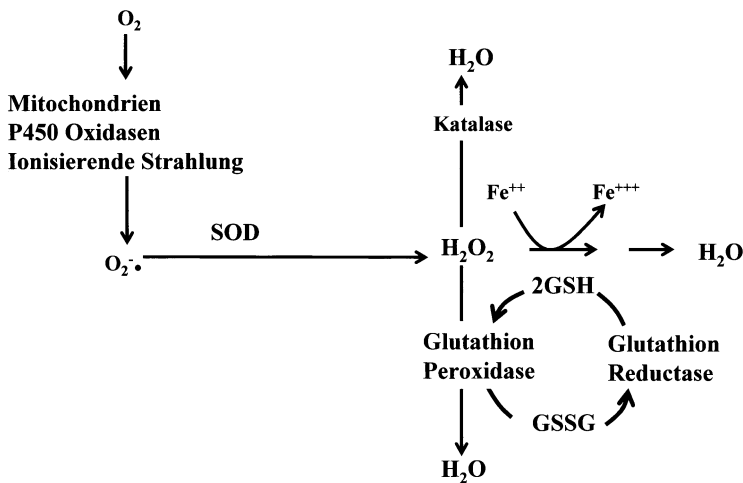


Abb. 1.2.27. Bildung von freien Radikalen. Sauerstoffradikale sind kurzlebige, aggressive Produkte von Sauerstoff. Sie zerstören DNA und andere Zellstrukturen. Andererseits sind sie notwendig für die Phagozytose, Biotransformation (Hormone

u. a.) und die Informationsübertragung. Gegenstrategien: Antioxidanzien, SOD, Katalase und DNA-Reparatur (s. Abb. 1.2.44)

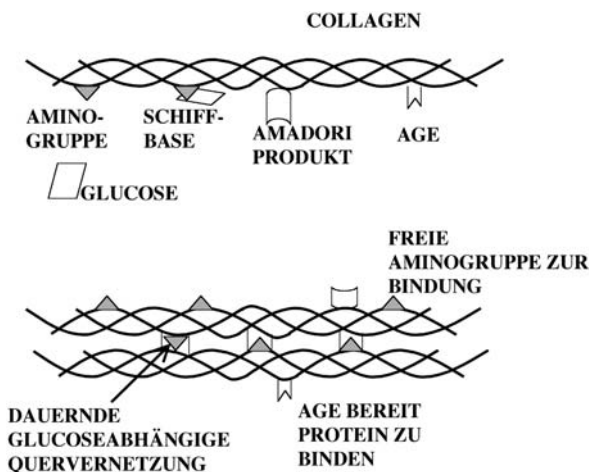


Abb. 1.2.28. Nichtenzymatische Glykosylierung. Das Schema zeigt am Beispiel des Kollagens, wie es zur Bildung von Quervernetzungen kommt. Proteine verlieren ihre Funktionen durch stochastische Änderungen. Gegenstrategie: Erneuerung durch Umsatz, evtl. enzymatische Entfernung der Quervernetzungen. AGE fortgeschrittene Glykosylierungsprodukte

sylierungsreaktionen führen kann, welche mutagene und karzinogene Folgen haben (Bartsch et al. 1990). Die Präzision der DNA-Replikation ist nicht immer aufrecht zu erhalten und führt zu Falschpaarungen in der DNA (Modrich 1995). Endogen können auch hoch mutagene Ethenoderivate (Nair et al. 1995) und viele andere schädliche Metaboliten entstehen. Schließlich führt auch die spontane Desaminierung von 5-Methylcytosin zu Fehlpaarungen (Schmutte et al. 1995).

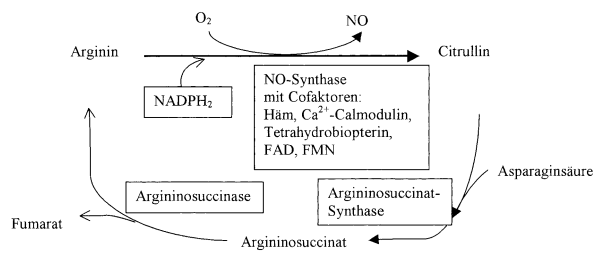


Abb. 1.2.29. Bildung von NO[•]

Alle diese Befunde lassen folgende Schlüsse zu: Eine geringe ROS-Bildung erniedrigt die Geschwindigkeit der Akkumulation von DNA-Schäden. Dabei hilft auch eine wirksame antioxidative Abwehr, die durch bestimmte Enzyme katalysiert werden, aber auch durch Metaboliten und exogen zugeführte Moleküle erfolgen kann. Wenn aber schon Schäden entstanden sind, ist nur eine effektive DNA-Reparatur-Kapazität imstande, die genomische Stabilität aufrechtzuerhalten. Da hier nicht im Einzelnen auf die vielfältigen Reparaturmechanismen eingegangen werden kann, an denen über hundert Enzyme (deren Gene Kandidaten für Vitagene sind) beteiligt sind, sei hier auf die ausführliche Literatur verwiesen (Niedermüller 1985, 1995, Friedberg 1985, Tice u. Setlow 1985, Hanawalt 1987).

Obwohl die Diskussion über die Ergebnisse all dieser Untersuchungen noch kontrovers geführt wird, scheint doch ziemlich sicher zu sein, dass eine Korrelation zwischen der Reparaturkapazität

und der MLP vieler Arten besteht. Weniger sicher und nicht allzu eindeutig ist die Abnahme der Reparaturkapazität mit dem Altern, obwohl viele Arbeiten eine solche in Individuen und Zellkulturen gefunden haben, wobei viele Abläufe der Exzisionsreparatur darauf hinweisen. Die Kapazität der Strangbruchreparatur bleibt aber bis ins hohe Alter gewahrt. Ein wichtiger neuerer Hinweis auf einen Zusammenhang mit dem Altern ist die Entdeckung, dass das bereits erwähnte *p53*-Gen eine zentrale Stelle als „Wächter des Genoms“ einnimmt, das durch DNA-Schäden aktiviert wird. Dabei kommt es neben den bekannten Effekten der Deregulation des Zellzyklus (Arrest) und der Einleitung der Apoptose auch zur Induktion der DNA-Reparatur (Abb. 1.2.30).

1.2.11 Bedeutung von Stammzellen für Alter und Lebenserwartung

Stammzellen sind lebenserhaltende Spuren der Entwicklung. Sie wurden bisher in einer großen Anzahl von Geweben entdeckt und weisen eine bemerkenswerte Plastizität auf. Daher kann angenommen werden, dass sie eine wichtige Rolle bei der Erhaltung der Gewebefunktionen spielen. Es ist auch bekannt, dass sie kritische Ziele von Schäden während des Alterns sind und selbst altern. Deshalb ist das Verhältnis zwischen Erhaltung und Schäden von großer Bedeutung. Gesichert ist die Wirkung dieser Zellen auf Krankheiten.

Die jüngste Stammzellforschung (Weissman 2000, Anderson et al. 2001, Globerson 1999) gibt eine Antwort auf einige wichtige Fragen der Gerontologie. Voll funktionierende Stammzellen wurden in einer Reihe von Geweben erwachsener Mammalia gefunden, sogar im Muskel und Gehirn (Johansson et al. 1999). Stammzellen erneuern sich, wenn sie entwickelt sind, während des ganzen Lebens immer wieder selbst (Abb. 1.2.31).

Neben den Keimbahnstammzellen („germ line stem cells“, GSC), welche direkt das potenziell unsterbliche Keimplasma bedienen, existiert eine somatische Zelllinie unbegrenzt proliferierender Zellen. Diese können Zellen gemäß ihrer Differenzierung in der Leber, im Pankreas, Knochenmark und Gehirn oder periphere Nerven ersetzen und auffüllen. Erstaunlicherweise zeigen Stammzellen oder ihre Nachkommen eine bemerkenswerte Vielseitigkeit, an verschiedene Mikroumwelten oder Nischen zu adaptieren. Stammzellen scheinen während des Alterns viel stärker am Gewebersatz beteiligt zu werden. In jungen erwachsenen Mäusen treten täglich nur 8% der „Langzeit“-hämatopoetischen Stammzellen (LT-HSC) in den Zellzyklus ein, wohingegen die meisten von ihnen in sehr alten Mäusen replizieren. Neuronale Stammzellen im Gehirn können gezielt zu einzelnen Regionen wandern, z.B. zum Gyrus dentatus, einer besonders verletzlichen Region, zum Vorderhirn oder zur subventrikulären Zone. Dies ist für die Erklärung der Wirkung fetaler Zellen von großer Bedeutung (s. 1.2.18).

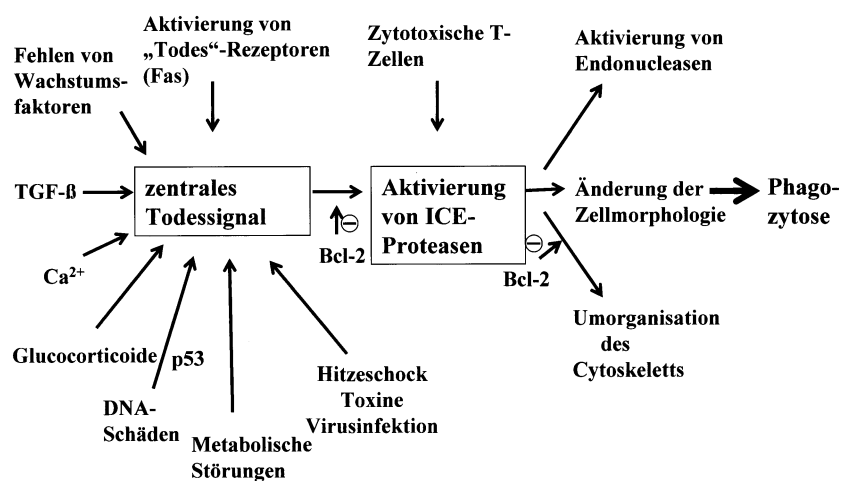


Abb. 1.2.30. Regulation des apoptotischen Prozesses. Verschiedene Faktoren können ein Todessignal auslösen. Das BCL2-Onkoprotein übt dabei einen hemmenden Einfluss aus.

ICE Interleukin konvertierendes Enzym, TGF transformierender Wachstumsfaktor

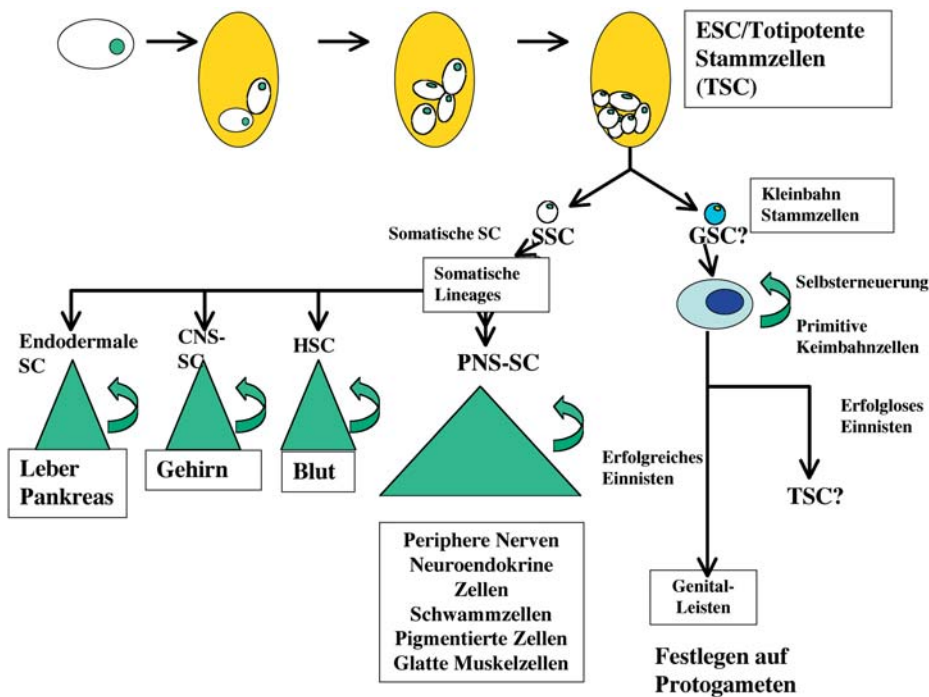


Abb. 1.2.31. Stammzellen-Differenzierung. Wege von Keimzellen über Stammzellen (SC) zu somatischen Zellen. CNS

Zentralnervensystem, PNS peripheres Nervensystem, HSC Herz-SC, ESC embryonische SC

Stammzellen zeigen eine bemerkenswerte Plastizität der Entwicklungsprogramme, die sie ausführen können: So entwickeln sich Zellen aus einem Organ, wenn sie in ein anderes Organ transplantiert worden sind, zu Zellen dieses letzteren. Dabei legt die intrazelluläre Mikroumgebung fest, welche Gene transkribiert werden, wie wir es auch vom Klonen von Tieren kennen (Shiels et al. 1999). Dabei bestimmen Signale von außen die Richtung der Entwicklung zu einer bestimmten differenzierten Zelle.

Stammzellpopulationen sind Ziele für ROS-Schäden, Stress, genetische Schäden und Genominstabilität. Daher altern auch sie, obwohl sie sich, wie Transplantationsexperimente bewiesen haben, erneuern können (Osawa et al. 1996). Die Schäden werden dann klonal weitergegeben, wenn sie zu einem Proliferationsvorteil führen, z.B. eine Mutation im *ras*-, *p53*-, *rb*- oder im Telomerasegen auftritt, was zum Problem bei der Krebstherapie werden kann, da durch eine einzelne geschädigte Stammzelle eine Sekundärerkrankung entstehen kann.

Das Altern von Stammzellen zeigt sich auch bei seriellen Transplantationen, wobei Zellen (Vergleich von altem und jungem Knochenmark) von alten Spendern weniger repetitive Transfers ermög-

lichen (Ogden u. Micklem 1976). Die Anzahl der Stammzellen steigt meist mit dem Alter an (Haan u. Van Zant 1997) und dieser Anstieg ist abhängig von der Lebenserwartung; so kann er sich bei kurzlebigen Mäusestämmen umkehren und die Anzahl der Zellen sinkt (Haan u. Van Zant 1999a). Ebenso wird in allen Stammzellen die Fraktion der S-Phasen-Zellen kleiner. Chen et al. (1999) fanden eine umgekehrte Korrelation zwischen Spenderalter und Repopulationskapazität. Diese betrug bei der alten Maus trotz der fünffachen Anzahl von Zellen nur ein Viertel der jungen. Konstruiert man Chimären aus lang- und kurzlebigen Mäusen und untersucht die Blutbildung während des Alterns, sind die Stammzellen der kurzlebigen nach zwei Jahren verschwunden und die Blutbildung stammt nur noch von den langlebigen (Van Zant et al. 1990). Diese Chimären-Experimente trugen wesentlich zu unserem Verständnis des Stammzellalters bei. Die durchschnittliche Lebenserwartung (LE) korreliert mit der Zellzykluskinetik. Verschiedene experimentelle Ansätze ergaben: je höher die Zyklusgeschwindigkeit, desto niedriger ist die LE. Die dabei wirksamen Genloci kartieren zu denselben genomischen Stellen (Haan u. Van Zant 1999b). Ob noch andere Merkmale von diesen Loci kodiert werden, ist nicht bekannt. Ein Problem

bei diesen Autoren ist die analoge Verwendung der Bezeichnungen „average (mean) life span“ und „life span“: Sie beziehen sich immer nur auf die LE, die sie gemessen haben, doch der genetische Effekt ist sicherlich einer der MLP; denn diese Mäusestämme haben eine fast rektanguläre Überlebenskurve, daher ist LE und MLP hochkorreliert.

Eine Verbindung von replikativer Seneszenz *in vitro* und der Lebenserwartung (MLP) (Campisi 1996) wird durch diese Korrelation nahe gelegt. Ob die Stammzellen dabei die einzige Population sind, ist unbekannt; dann würde das Schicksal dieser Zellen allein die MLP bestimmen. Untersuchungen an Telomerase-Knock-out-Mäusen haben gezeigt, dass das sich erneuernde erwachsene Gewebe am meisten von der Telomerverkürzung betroffen ist. Die oben genannten Genloci könnten auch an der Regulation der Telomerase beteiligt sein.

1.2.12 Kern-Mitochondrien-Interaktionen

Die mitochondriale DNA (mtDNA) unterliegt aus nahe liegenden Gründen starkem oxidativen Stress. Die mtDNA hat eine geringe Redundanz und große Informationsdichte (Abb. 1.2.32), Schäden wirken sich daher weit stärker als in Kern-DNA (nDNA) aus. Diese führen zur Zerstörung von Mitochondrien, zu Krankheiten und haben Einfluss auf den Alternsprozess. Dabei werden Teile der mtDNA auf die nDNA übertragen (Abb. 1.2.33).

Miquel (1995) nimmt an, dass Altern z.T. durch mitochondriale bioenergetische Dysfunktion verursacht wird, was nicht nur eine vernünftige Erklärung vieler altersabhängiger Veränderungen darstellt, sondern auch ermöglicht, einen präventiven und therapeutischen Ansatz gegen viele dege-

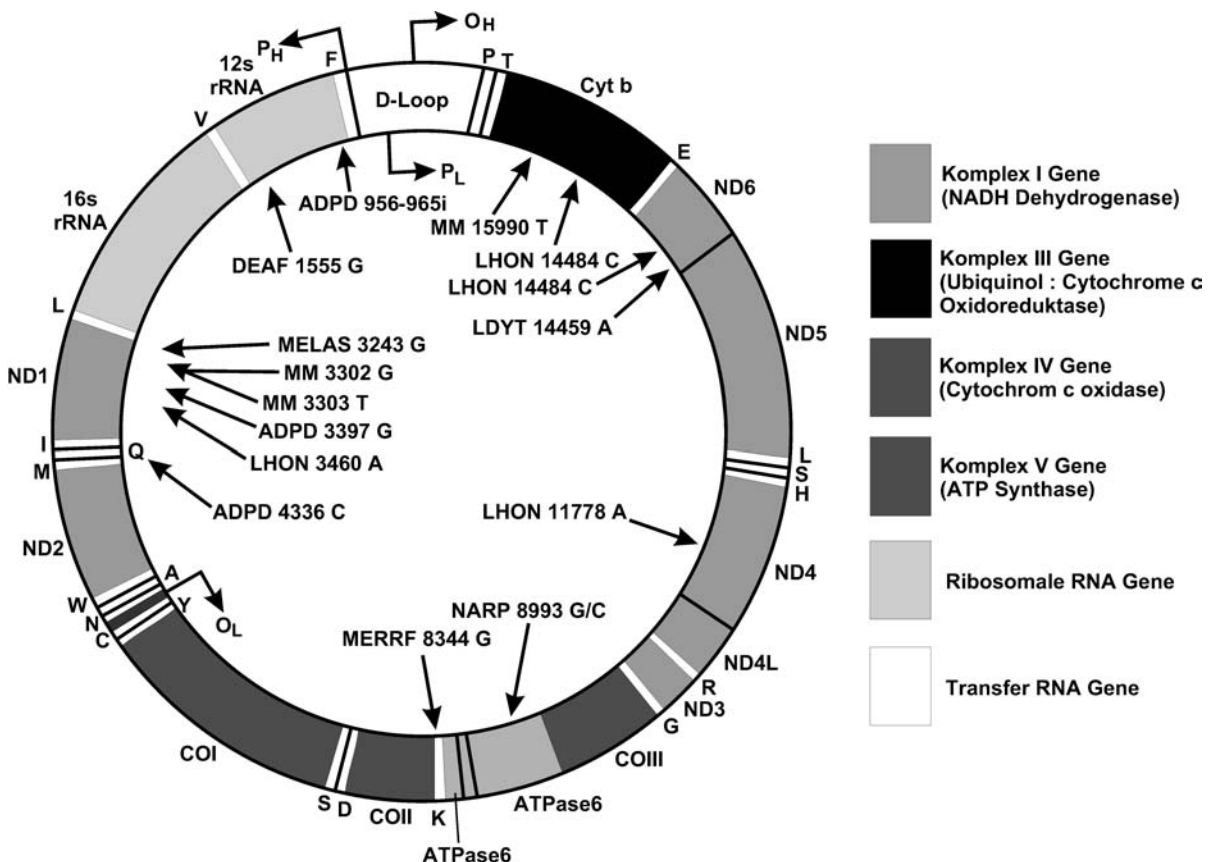


Abb. 1.2.32. Mitochondriale DNA und ihre Gene. Das ringförmige doppelsträngige Molekül kodiert 24 RNA und 13 Polypeptide, welche alle an der Energieproduktion teilnehmen. Aminosäuren werden mit den gebräuchlichen Buchstaben abgekürzt und repräsentieren die tRNA-Allele. Die Pfeile weisen auf mögliche Mutationsstellen hin, wobei

die veränderten Nukleotide durch den Basennamen charakterisiert sind. Beispielhaft seien folgende Mutationen erwähnt: *DEAF* Taubheit (mütterlich vererbt oder aminoglykosidinduziert), *ADPD* Alzheimer und Parkinson (für den Alternprozess interessant), *LHON*, *LDYT* Neuropathie des N. opticus, *MELAS* Schlaganfall u. a.

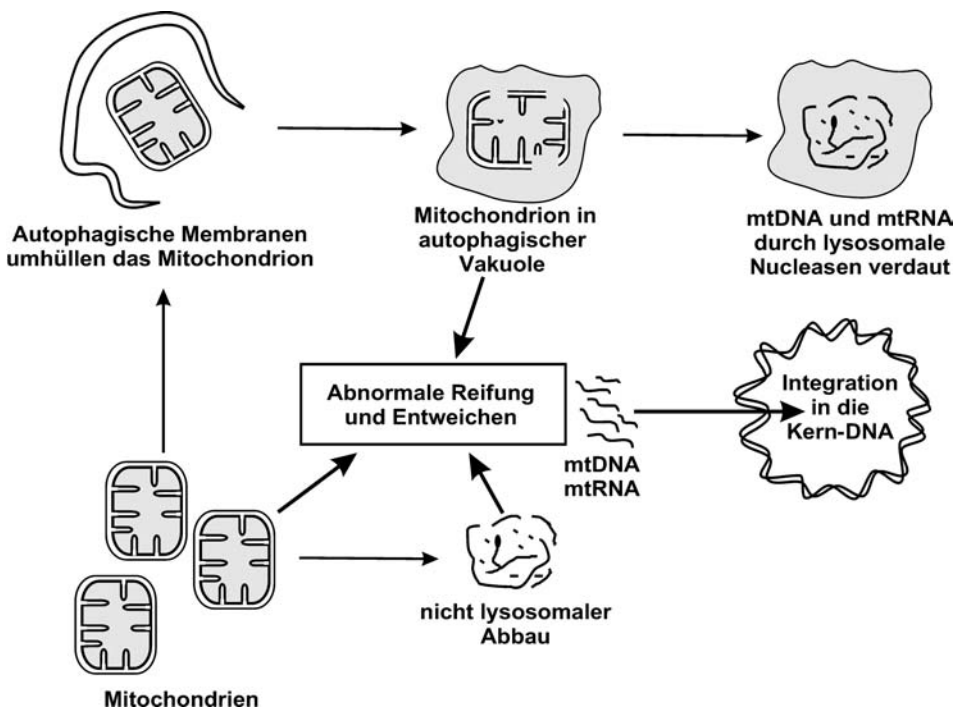


Abb. 1.2.33. Übertragung mitochondrialer Nukleinsäuren in den Kern. *Dünne Pfeile:* normaler Weg des mitochondrialen Abbaus; *dicke Pfeile:* freie Radikale, Toxine, Hunger u.a.

führen zur Freisetzung von Nukleinsäurefragmenten in das Zytosol; diese werden anschließend in das Kerngenom integriert

nerative Krankheiten zu entwickeln. Aufgrund dieser Überlegungen wurde die Hypothese des mitochondrialen Schadenenergieverlusts entwickelt, kurz mitochondriale Altershypothese genannt. Die Schäden entstehen besonders in differenzierten Zellen, da diese ihre Mitochondrien nicht so effektiv regenerieren können. Vor allem kommt oxidative Schädigung in Frage.

Aus dieser Hypothese ergibt sich die Vorhersage, dass Altern von einem progressiven bioenergetischen und funktionalen Verfall der Mitochondrien begleitet ist. Die mtDNA ist sicher ein wahrscheinlicheres Ziel für Mutationen als die nDNA. In jener wurden Deletionen und Mutationen in Strukturgenen festgestellt, die sich mit dem Altern vermehrten. Diese führen zu einer Verschlechterung der mitochondrialen Biogenese, aber auch vieler biochemischer Funktionen. Beobachtet wurden eine Abnahme der mtDNA-Expression begleitet von einer Abnahme der mtRNA und vieler anderer Moleküle. Die Hypothese wird auch durch eine Untersuchung von Bowling et al. (1993) unterstützt. Die Verschlechterung des Elektronentransports in Mitochondrien des Primaten-Neokortex wird durch Schäden im mtGenom, das Teile der Komplexe I und IV kodiert, verursacht. Es

wurden weitere ähnliche Veränderungen an anderen Molekülen gefunden. Auch die Erniedrigung der ATP-Synthese steht im Einklang mit der Hypothese. Sie wird begleitet von einer verminderten Aktivität der ATPase mit gleichzeitiger Dissipation des elektrochemischen Protonengradienten und daher geringerer ATP-Produktion (Abb. 1.2.34).

Die oben erwähnte Insertion von mtDNA in nDNA verläuft kontinuierlich und ist ebenfalls ein Mechanismus der Schadenserzeugung. Die Mechanismen wurden am Fadenpilz *Podospora anserina*, an der Hefe und in menschlichen Zellen untersucht. Da diese Insertionen zufällig verlaufen und der größte Teil des Genoms aus nichtkodierenden Sequenzen besteht, wird also die Zerstörung der Genfunktion durch solche Transpositionen unwahrscheinlich sein. Doch auch eine Translokation in nichtkodierende Sequenzen könnte wichtige genregulatorische Sequenzen zerstören. Bekannt ist die Insertion des *mtco3*-Gens in das Onkogen *c-myc* des Kerns. Als Folge tritt eine Deregulation der Genfunktion auf (Shay u. Werbin 1992). Der Verlust an mtDNA kann sich also einerseits durch Mutationen in einer Mitochondrienschädigung und dadurch einer massiven Beeinflussung auch der höheren Systeme auswirken, andererseits

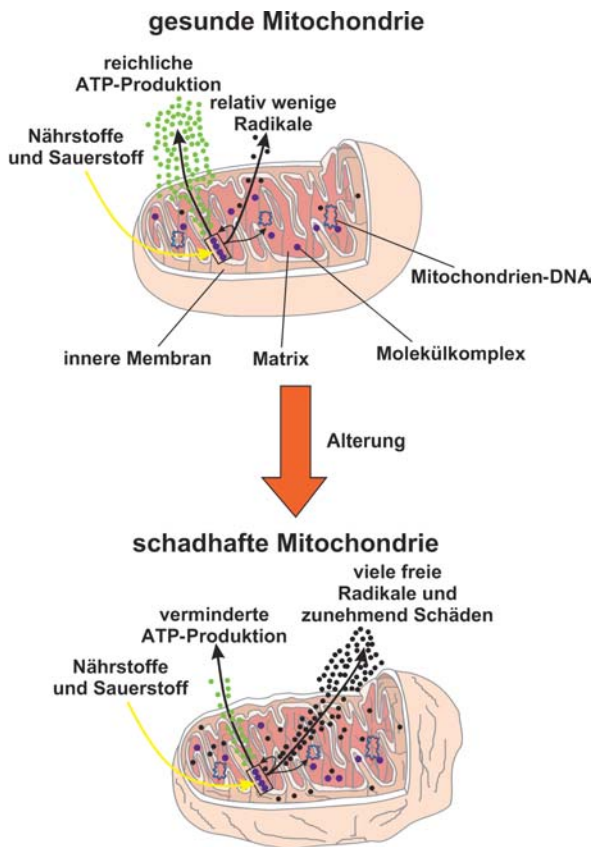


Abb. 1.2.34. Vergleich gesunder und schadhafter bzw. alter Mitochondrien. Oben: junge bzw. intakte Mitochondrien produzieren viel Energie (ATP) und kaum freie Sauerstoffradikale, unten: bei alten bzw. schadhafte Mitochondrien ist es genau umgekehrt

durch die Insertion Schäden in der genomischen DNA mit allen Folgewirkungen auslösen, was den Effekt multipliziert. Dadurch kann der Alternsprozess angetrieben werden.

1.2.13 Wachstumsfaktoren und Signaltransduktion – Signale als molekulare Mechanismen

Das Zellaltern wird in erster Linie durch Replikationen angetrieben. Die Generationszeit wird länger und die Zellen verlieren ihre Reaktionsfähigkeit auf Wachstumsfaktoren. Es soll die Regelung und der Stillstand des Zyklus untersucht und der Frage nachgegangen werden, warum nach Stimulierung durch die GF die Aktivität der Thymidinkinase ansteigt und andere metabolische Änderungen auftreten.

Dies führt zur Untersuchung der Signaltransduktion, welche die GF mit der Genexpression verbindet. Schließlich gibt es schon viele Hinweise darauf, dass sich die Signaltransduktion als molekularer Mechanismus mit dem Alter verändert.

1.2.13.1 Zellteilung und Proliferation

Die zelluläre Proliferation wird durch eine Gruppe von Wachstum regulierenden Molekülen positiv oder negativ geregelt, z. B. GF, Zytokinen und Hormonen. Der Verlust replikativer Kapazität spiegelt eine verminderte Antwort auf diese Moleküle wider (Cristofalo et al. 1989). Es drängt sich die Frage auf, warum solche Moleküle unfähig sind, den seneszenten Zustand zu beseitigen.

An diesen Altersveränderungen können alle Teilsysteme der Signaltransduktion beteiligt sein. Dadurch wird auch die Amplifikation der Signale beeinflusst (Abb. 1.2.35).

Die GF üben ihre Wirkung durch die Bindung an spezifische Rezeptoren mit intrinsischer Kinaseaktivität aus. Die phosphorylierten Rezeptoren binden an spezifische zytoplasmatische Moleküle, welche dann aktiviert werden und eine Kaskade von enzymatischen Reaktionen auslösen. Diese Reaktionen führen das mitogene Signal durch die Zelle in den Kern, wo es an der DNA die Genexpression induziert.

Der erste Schritt, der mittels Bindung des von Thrombozyten ausgeschiedenen GF („platelet-derived GF“, PDGF) untersucht wurde, zeigt, dass in vitro die Bindung mit dem Alter ansteigt. Während die Affinität unverändert bleibt, kommt es zu einem Anstieg der Anzahl der Rezeptoren (Cristofalo et al. 1989, Paulsson et al. 1986, Gerhard et al. 1991). Dies erklärt nicht die reduzierte Proliferation. Doch fanden Reenstra et al. (1993), dass die Anzahl der Epidermis-GF-(EGF-)Rezeptoren und auch ihre Internalisierungsgeschwindigkeit mit dem In-vivo-Altern reduziert wird. Es ist daher anzunehmen, dass ein bedeutender Unterschied zwischen in vitro gealterten embryonalen Zellen und in vivo gealterten erwachsenen Zellen besteht. Auch wurden die Wiederherstellungsraten der PDGF-Bindung nach Ausräumung der PDGF-Rezeptoren durch Überladung mit PDGF (Downregulation) untersucht. Es zeigte sich, dass alte Fibroblasten höhere Wiederherstellungsniveaus als jüngere Fibroblasten erreichen (Psarras et al. 1994). Daher müssen wir weiter stromabwärts die Ursachen für die Änderung der GF-Wirkung suchen.

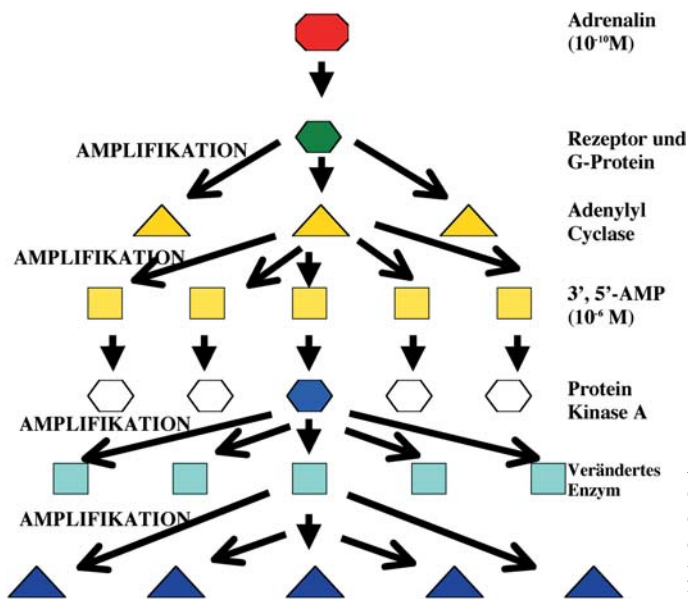


Abb. 1.2.35. Vervielfältigung und Verstärkung eines extrazellulären Signals. Über eine Kaskade aufeinander folgender biochemischer Reaktionen wird in jedem Schritt eine Erhöhung der Zahl von Reaktionsprodukten erreicht. Dies kann bis zum Vieltausendfachen gehen

1.2.13.2 Signaltransduktion

Auf dem Weg von der Zelloberfläche zum Kern wird die Phospholipase D (PLD), welche aus Membranphospholipiden Diacylglycerol (DAG) erzeugt, in seneszenten Zellen nicht aktiviert (Venable et al. 1994). Dies resultiert dann in einer mangelhaften Bildung von Phosphatidsäure, welche ein starkes Mitogen für Fibroblasten ist (Exton 1994), sowie DAG. Die DAG-Bildung ist ein Zwischenschritt in der Aktivierung von Phosphokinase C (PKC), wobei ein wichtiger Schritt die Translokation zur Plasmamembran ist. Die Translokation ist in alten Zellen nach Stimulierung durch Serum signifikant reduziert, nicht aber nach Stimulierung durch Phorbol ester (Phorbol-12-Myristat-13-Acetat, PMA). PMA, ein Tumorpromotor, aktiviert PKC direkt durch Bindung; alte Zellen erreichen in vitro ihre initiale Bindungskapazität viel schneller als junge. Daher ist die Erniedrigung der proliferativen Antwort durch einen Defekt der PLD-Aktivierung verursacht. Da die PLD jedoch nur für einen Teil der Signaltransduktion verantwortlich ist, müssen wir uns auf die Zielelemente der Signaltransduktion konzentrieren, die nach GF-Stimulierung exprimierten Gene (Abb. 1.2.36). Es gibt darüber hinaus Hinweise darauf, dass auch andere Signalwege mit dem Altern eingeschränkt sind (Roth 1997).

Alte Zellen können nicht mehr in die S-Phase, die DNA-Synthese, eintreten, auch nicht nach Behandlung mit Mitogenen. Es konnte festgestellt werden, dass ein großer Anteil der zellzyklusregulierten Gene auch in seneszenten Fibroblasten ex-

primiert werden, wie die frühen Gene (*c-myc*, *c-jun*, *junB*, *c-erb* usw.), die immer ein Protein kodieren, das für die Transkription der nächsten Genklasse benötigt wird, und die mittleren Gene (*c-H-ras*, *p53*, *odc*, usw.), die ihre Expression beginnen, sobald das Regulatorprotein verfügbar ist (Stein u. Dulic 1995).

Andererseits konnten wichtige Expressionsdefekte in anderen Genen beobachtet werden. Das frühe Gen *c-fos* kann nicht exprimiert werden (Seshadri u. Campisi 1990). Sein Produkt ist der AP1-Transkriptionsfaktor, der für die Proliferation nach Stimulierung notwendig ist. Zusätzlich wird seine Bindungsaktivität an die DNA mit dem Altern geringer und der Serum-Response-Faktor (SRF), der normalerweise an das Serum-Response-Element (SRE) des *c-fos*-Promotors gebunden ist und als Transkriptionsaktivator für dieses Gen wirkt, in alten Zellen hyperphosphoryliert. Solche SRF können nicht an SRE binden und dies führt zu verminderter *c-fos*-Expression (Atadja et al. 1994).

In vitro exprimieren seneszente Fibroblasten unglaublich reduzierte Mengen von GAS-Proteinen, welche von den wachstumsstillstandspezifischen Genen („growth arrest genes“) kodiert werden (Cowled et al. 1994). Am G1/S-Übergang kommt es ebenfalls zur eingeschränkten Produktion von mRNA für viele dazu notwendige Proteine.

Doch sind einige weitere Regulationschritte besonders wichtig. Alte Fibroblasten können das Retinoblastomprotein (RB) nicht mehr phosphorylieren und dieses inhibiert den G1/S-Übergang, in-

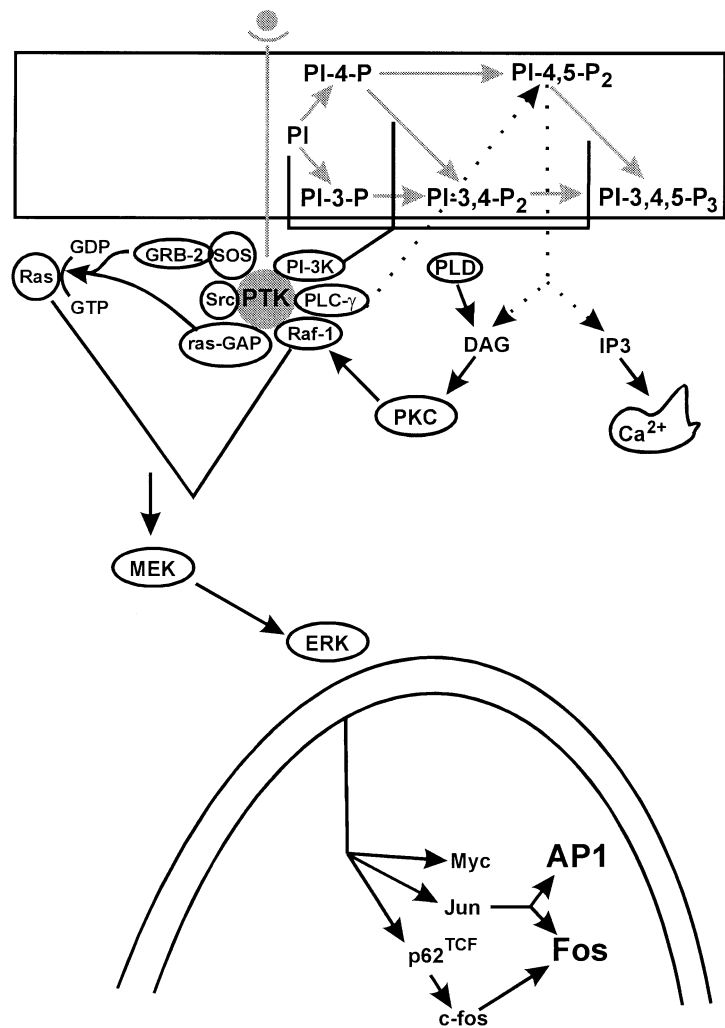


Abb. 1.2.36. Beispiel für Signaltransduktion, an der PLD beteiligt ist. Nach Ligandenbindung an einen TRK-Rezeptor wird dieser aktiviert. Dadurch werden verschiedene zyttoplasmatische Proteine aktiviert. Durch die Aktivierung von Ras und Raf wird eine Phosphorylierungskaskade in Gang gesetzt, die schon erwähnt wurde (Abb. 1.2.6). Diese bringt das mitogene Signal in den Kern. Zusätzlich verursacht die aktivierte PLC γ die Hydrolyse von PI-4,5-P $_2$ der Membran zu IP $_3$ und DAG. IP $_3$ wiederum setzt Ca $^{2+}$ aus Speichern frei. DAG aktiviert PKC, wobei DAG noch von der PLD aktiviert

wird und PKC verstärkt die schon vorhandene Phosphorylierungskaskade. PTK Proteintyrosinkinase; Ras, Src, Myc, Jun, Fos Onkogenprodukte von ras, src, myc, jun, fos; PI Phosphoinositol PI-3-K Phosphoinositolkinase; PLC Phospholipase C; PLD Phospholipase D, DAG Diacylglycerol; IP $_3$ Inositoltriphosphat; MEK MAP-ERK-Kinase; MAP mitogen-aktiviertes Protein; ERK extrazellulär regulierte Kinase; p62^{TCF} ternärer Komplexfaktor; AP1 Transkriptionsfaktor (Aktivatorproteinkomplex)

dem es an Transkriptionsfaktoren wie EF2 bindet, das für die Expression der späten G1-Gene notwendig ist (Stein et al. 1990). Andere Gene, wie *cdc2*, *cycA* und *cycB*, die an der RB-Phosphorylierungsregulation beteiligt sind, werden ebenfalls nicht mehr exprimiert. Senescente Zellen haben eine niedrige Cyclin-E/CDK2-Aktivität, die ebenso zur RB-Phosphorylierung dient, wahrscheinlich ausgelöst durch große Mengen eines Inhibitors der cyclinabhängigen Kinasen (CDK), der als p21^{SDI1, Cip1, Waf1} bekannt ist und an Cyclin-E-CDK2-

Komplexe bindet und sie daher inaktiviert (Stein u. Dulic 1995). Ähnlich liegt die Änderung beim Gen *p16^{ink4}*, sodass diese zwei Cyclin-CDK-Inhibitoren hauptsächlich für die Verhinderung des Eintritts in die S-Phase verantwortlich sein dürften (Serrano et al. 1993).

Da in der Regulation der Signaltransduktion einer der wichtigsten autoreferenziellen Mechanismen und Prozesse zu sehen ist, muss in der zukünftigen Forschung besonderes Gewicht auf Untersuchungen der gesamten Kaskade gelegt wer-

den – und das besonders in Hinblick auf die Möglichkeit, durch exogene Einflüsse die Signalkaskade so zu verändern, dass Subsysteme revitalisiert werden (s. 1.2.18). Im Detail sollten sich Studien über Altersveränderungen auf der Ebene der Rezeptoren mit Endozytose, Abbau, Wiedergewinnung und Synthese befassen und es müssen die Synthese und Regulation der GF in ihren Ursprungszellen untersucht werden. Die Wechselwirkung zwischen extrazellulärer Matrix und Zellen stellt ein weiteres Problem dar und schließlich sind viele weitere Untersuchungen der Genexpression notwendig (s. 1.2.6).

1.2.14 Gene, welche die Proliferation kontrollieren und Alternsprozesse beeinflussen (Zellzyklusgene, an Signaltransduktion und Genregulation beteiligte Gene)

Es sind eine Fülle von Genen z. T. schon sehr gut charakterisiert, welche das Muster des wechselwirkenden Systems Zellzyklus–Signalübermittlung–Genregulation bestimmen. Dazu gehören Gene, welche die Integrität von Signalwegen aufrecht erhalten, die Onkogene, Gene, die für GF und solche, die für die an der Genexpression beteiligten Regulatorproteine der verschiedenen Komplexe kodieren (s. Abb. 1.2.11).

Viele Gene sind an der Bestimmung der Lebenserwartung beteiligt, doch ist in den meisten Fällen ihre biochemische Funktion unbekannt (s. 1.2.4 und Tabelle 1.2.5, 1.2.6). Da eine solche Untersuchung an Mammalia besonders schwierig ist, wurden eher primitive Eukaryonten herangezogen, um diese Mechanismen aufzuklären und daraus auch Schlüsse auf das Altern höherer Mammalia ziehen zu können. Aus der Analyse von rekombinanten Inzuchtlinien der Nematode *C. elegans* wurde die Anzahl der Vitagene (LDG) auf maximal sechs bestimmt (Brooks u. Johnson 1991). Ebert et al. (1993) identifizierten fünf Genomregionen. Das *age1* auf Chromosom II ist ein typisches Beispiel für ein Gerontogen, dessen Wildtyp die MLP verkürzt. Die *age1*-Mutation führt zu einer größeren Aktivität der SOD (Larsen 1993) und von anderen Enzymen, die in die oxidative Abwehr eingebunden sind. Eine Mutation im Spermatogenese-Gen *spe26* führt zu einer 65%-ig höheren MLP und eine Mutation im *daf2* zu einer Verdopplung der MLP (Van Voorhies 1992, Kenyon et al. 1993). Das weist wieder auf den ubiquitären Charakter

der in Abschnitt 1.2.2 referierten Ergebnisse und Überlegungen zur Theorie des Wegwerf-Somas hin.

1.2.14.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Bei Hefe (*S. cerevisiae*) ist eine solche Bestimmung praktisch unmöglich, da diese Gene nicht essenziell für die vegetative Vermehrung und Zellteilung zu sein scheinen. In dieser Gruppe gibt es aber genügend Kandidaten. Die einzelne Hefezelle ist sterblich, doch die Population ist unsterblich, was aber kein Beispiel für klonale Seneszenz ist. Da die Sprossung („budding“) asymmetrisch ist, erweist sich Hefe als Modell für das Altern von Stammzellen (s. 1.2.11). Wenn man berücksichtigt, dass das Maß für die Hefe-MLP nicht das chronologische Altern, sondern die Anzahl der Zellteilungen ist, was zur Konstanz der MLP innerhalb derselben Art führt (Muller et al. 1980), kann eine Ähnlichkeit mit dem Altern höherer Eukaryonten festgestellt werden. Für den Anstieg der Generationszeit (zwischen zwei Sprossungen) mit dem Altern können wir mehrere Gene verantwortlich machen, die *lag*-Gene, die für Membranproteine kodieren, die *ras*-Gene, welche an der Signaltransduktion beteiligt sind und das Prohibitin-Gen *phb*, das die Zellteilung reguliert (Jazwinski 1993).

1.2.14.2 *Drosophila melanogaster*

In *D. melanogaster* fanden Buck et al. (1993) einen hauptregulatorischen Locus für Langlebigkeit auf Chromosom III. Dabei scheinen aber auch andere Loci auf diesem Chromosom bestimmend zu sein und Gene auf den Chromosomen I und II den Locus auf III zu beeinflussen. Zusätzlich zum Gen modulieren Umweltfaktoren vermutlich den länger lebenden Phänotyp (Buck et al. 1993). Oft nehmen Gene an Prozessen teil, die gegensätzliche Wirkungen auf die MLP haben. Das ist an diesen niedrigeren Organismen genauer untersucht, dürfte jedoch auch bis zu höheren Mammalia gelten.

1.2.14.3 Mensch

Beim Menschen schätzt Martin (1990) die Zahl der Vitagenloci auf 7000. Hier interessieren nur die Zellzyklusgene sowie die an Signaltransduktion und Genregulation beteiligten Gene. Dies soll im folgenden Abschnitt genauer ausgeführt werden.

1.2.15 Replikative Kapazität und begrenzte Populationsverdopplung

Seit den 60er-Jahren des vorigen Jahrhunderts ist bekannt, dass sich eukaryontische Zellen (mit wenigen Ausnahmen) nicht unbegrenzt teilen können. Diese Verminderung der replikativen Kapazität wird auf zelluläres Altern zurückgeführt. Es existieren aber auch Einwände gegen diese Ansicht und die Verminderung wird auf ultimative Differenzierung zurückgeführt. Dabei werden die Beziehungen zwischen zellulärer Seneszenz und Altern in vivo interessant.

Das Alter einer individuellen Zelle hängt vom Zeitpunkt ihrer Geburt aus einer Stammzelle ab. Die meisten Zellen haben eine kurze Lebenserwartung, daher können die sich in ihr angehäuften Schäden nicht besonders wichtig sein. Eventuelle Schäden werden nicht an ihre Tochterzellen weitergegeben. Von Bedeutung sind also nicht die Schäden, sondern die Fähigkeit eines Gewebes, neue gesunde Zellen zu bilden. Daher ist Zellproliferation notwendig, um funktionell effiziente Zellpopulationen zu erhalten.

Diese Fähigkeit von Stammzellen in einem Gewebe ist also nötig, um Zellen so weit widerstandsfähig gegenüber Stresseinflüssen zu machen, dass das Gesamtgewebe gesund bleibt. Als Modell für solche Untersuchungen hat sich schon früh die Zellkultur angeboten. Dieses Modell verwendet Epithel- und Endothelzellen, aber besonders häufig mesodermale Zellen.

In solchen Kulturen wächst gewöhnlich ein sehr kleiner Bruchteil der Zellen erfolgreich, was eine sehr strenge Selektion für erfolgreiche Zellen bedeutet. Man nimmt an, dass die Stammzelle eine spezifische Umgebung braucht, wie z.B. andere

Zellen, Membranbindung oder Zytokine, um ihren Charakter zu bewahren. Werden sie auf Glas verpflanzt, verlieren sie die Stammzeleigenschaften und aus ihnen wächst die In-vitro-Kultur. Anfangs ist die Kultur wegen der verschiedenen Zelltypen heterogen. Diese lassen sich aber differenzieren und typenspezifisch weiterzüchten.

1.2.15.1 Hayflick-Zahl und Hayflick-Limit

Das Wachstum dieser Kulturen, also die Anzahl der Generationen (der Zellteilungen), wird als Anzahl der Populationsverdopplungen (PD) definiert. Da es eine abnehmende Wachstumsfraktion in diesen Kulturen gibt, ist die Anzahl der PD viel kleiner als die der Zellgenerationen (1:3). Die Zellen treten mit der Zeit irreversibel aus dem Zyklus aus und gelangen in eine postmitotische Phase. Diese bestimmte Grenze wurde zum ersten Mal von Swim u. Parker (1957) sowie von Hayflick u. Moorehead (1961) beobachtet und wird als „Hayflick-Limit“ bezeichnet. Sie ist altersabhängig, korreliert aber auch mit der MLP (Tabelle 1.2.7). Die Kulturen sind reproduktiv heterogen, einige Zellen haben ein sehr begrenztes Reproduktionspotenzial, andere wieder nützen die volle Reproduktionskapazität aus (Smith u. Whitney 1980).

Neben diesen Zellen gibt es immortalisierte Zellen, bei denen wir zwei Gruppen unterscheiden können: nichttransformierte und transformierte Zellen. Erstere sind normale Zellen, die weiter mitotisch bleiben. Transformierte Zellen – vor allem von Nagern, da sie kaum von Menschen und höheren Mammalia zu gewinnen sind – zeigen gravierende Unterschiede zu den nichttransformierten und sind Ausgangspunkte für Krebszellen.

Tabelle 1.2.7. Populationsverdopplungszahl (Hayflick-Limit) und maximale Lebenserwartung

Art	Populationsverdopplungen	MLP (Jahre)
Maus	14–28*	3,5
Ratte	15–20*	3,5
Ratten-Känguruh	11–15*	3,5
Nerz	30–34*	10
Kaninchen	21–23*	14
Fledermaus	18–22*	15
Huhn	15–35*	30
Rind	40*	30
Pferd	22–38*	45
Mensch	50–60*	122
Galapagos-Schildkröte:		≥100
Junger Spender	112–130*	
Alter Spender	90–102*	

*embryonale Fibroblasten, *Fibroblasten, MLP maximale Lebenserwartung.

In Kulturen zeigen die Zellen eine breite Verteilung replikativer Fähigkeit. Während des Alterns bewegt sich diese Verteilung zu immer kleineren Klongrößen. Daher besitzen junge Kulturen eine große Fraktion von Zellen mit sehr großer replikativer Leistung, mittlere Kulturen besitzen aber weniger Zellen, die sehr große Kolonien bilden können, und in alten Kulturen ist die Streuung weitgehend zu kleinen Kulturen hin verschoben. Smith u. Whitney (1980) schlossen daraus, dass die Reproduktionsfähigkeit neugeborener Zellen stochastisch determiniert ist und dass die Streuung dieser Fähigkeit sich weg von größeren zu immer kleineren Kolonien bewegt. Des Weiteren wurde gefunden, dass intermitotische Perioden in alten Kulturen nicht lang genug sind, um das langsamere Wachstum zu erklären (Macieira-Coelho et al. 1966), sodass die Wachstumsfraktion kleiner ist. In jungen Kulturen ist diese sehr groß und wird mit jeder folgenden Passage kleiner, während die postmitotische Fraktion langsam ansteigt (Pontén et al. 1983) und schließlich mehr als die Hälfte der Zellen beträgt. Dadurch muss schließlich die Kultur absterben, denn bei jeder Teilung wird nun die Anzahl der mitotischen Zellen zu klein, um eine Konfluenz zu erreichen.

Es trifft also nicht zu, dass alle Zellen dieselbe Alternsrate aufweisen, ja es können sogar sehr junge Zellen in alten Kulturen auftreten, was zur Kritik am Hayflick-Phänomen führte, dieses als Alternsprozess zu interpretieren (Bayreuther et al. 1988) – eine bis heute sehr kontroverse Diskussion, welche bisher die Verleihung des Nobelpreises an Hayflick verhinderte. Hinsichtlich der Regulation haben Kitano und Imai ein subtiles und anspruchsvolles kinetisches Modell entwickelt (Kitano u. Imai 1998, Imai u. Kitano 1998) mit dem Vorschlag, zwei parallele, unabhängige, aber zeitabhängige Prozesse anzunehmen, welche die Mortalisierung regulieren. Der eine sei eine stochastische Wachstumshemmung, der andere eine verhängnisvolle oder katastrophale Seneszenz, beide als an die DNA-Replikation gekoppelte Transkriptionsmechanismen. Der erste wird durch Wachstum hemmende Zell-Zell-Wechselwirkungen hervorgerufen, der zweite durch die hochgeordnete Chromatinstruktur kontrolliert (Macieira-Coelho 1995a,b). Aus dieser Hypothese, die durch Computersimulationen gut gestützt wird, könnten sich viele Experimente zur Abklärung der kontroversen Diskussion über die zelluläre replikative Seneszenz entwickeln.

1.2.15.2 Genetische Aspekte

Die molekulargenetischen Ursachen der replikativen Seneszenz wurden unter 1.2.14 genauer ausgeführt, daher werden hier nur einige kurze Hinweise gegeben. Frühe Experimente dazu wurden von Bunn, Tarrant, Muggleton-Harris und Pereira-Smith durchgeführt (Bunn u. Tarrant 1980, Muggleton-Harris u. Hayflick 1976, Muggleton-Harris u. DeSimone 1980, Pereira-Smith u. Smith 1981). Dabei wurden immortalisierte Zellarten mit mortalen fusioniert, die entstandenen Hybridzellen waren postmitotisch und hatten ein begrenztes Proliferationspotenzial. Spontanmutationen können jedoch zu einer langsamen Reimmortalisierung führen, was bedeutet, dass die Mortalisierung dominant ist und Immortalisierung durch Inaktivierung von Genfunktionen erreicht wird. Diese Arbeitsgruppen identifizierten eine Anzahl von Komplementationsgruppen, welche eine zelluläre Mortalisierung bewirken. Sie fanden, dass alle Zellen in wenigstens vier Komplementationsgruppen eingeteilt werden konnten, d.h. dass mindestens vier verschiedene Gene notwendig sind, um eine Mortalisierung zu erreichen. Jede Zellart wird nur einer Komplementationsgruppe zugeschrieben, und die Komplementationsgruppen entsprechen weder der Zellart, der Tumorart noch der embryonalen Ursprungsschicht. Dies deutet darauf hin, dass eine sehr begrenzte Anzahl von Genen bei der Immortalisierung geändert werden und in die Kontrolle der Mortalisierung verwickelt sind. Der Verlust des Reproduktionspotenzials könnte also entweder auf unreparierte Schäden oder auf ein genetisches Programm zurückzuführen sein, das Zellen zur Differenzierung in postmitotische, aber metabolisch aktive bringt.

Vor etwa 40 Jahren widerlegten also Hayflick u. Moorhead Carrels Dogma, dass sich teilende somatische Zellen, wenn sie aus der alternden Umgebung des Organismus entfernt sind, unendlich proliferieren können. Zu jener Zeit am Wistar-Institut in Philadelphia entdeckten sie die begrenzte proliferative Kapazität menschlicher fetaler Fibroblasten in vitro und schufen ein noch immer weit verbreitetes Modell des zellulären Alterns. Es ist heute allgemein akzeptiert, dass im multizellulären Organismus die mitotische Aktivität proliferierender somatischer Zellen limitiert ist (s. auch Abb. 1.2.42). Nahe dem Ende der proliferativen Kapazität degenerieren die Zellen (klonale Seneszenz) und sterben schließlich. Nur maligne Transformation kann diese Zellen immortalisieren. Die proliferative Seneszenz stellt ein ausgezeichnetes In-

vitro-Modell für die Einflüsse auf die Replikation mitotisch aktiver Zellen dar. Das PD-Potenzial korreliert mit der MLP und mit dem Spenderalter (s. Tabelle 1.2.7), wobei es bis heute nicht ganz klar ist, ob Phase 3 (heute 4) jemals unter In-vivo-Bedingungen erreicht wird. Weiter ist der Stillstand des Zellzyklus in der G1-Phase nicht notwendigerweise ein Grund für die Zellzerstörung oder Apoptose. Nervenzellen können beim Menschen über 100 Jahre in diesem Zustand überleben.

1.2.16 Molekulare und genetische Ursachen von Apoptose und Nekrose

Die zwei bekannten Arten des Zelltods haben verschiedene Ursachen, treten zu verschiedenen Zeiten auf und dienen verschiedenen Zwecken. Die Apoptose ist ein programmierter Zelltod und ein wesentlicher Bestandteil von Entwicklung und Homöostase (s. Abb. 1.2.30). Sie ist eng verbunden mit der Regulation der Zellproliferation, was der einzige Hinweis ihrer Rolle beim Altern in vitro ist. Ihr bekannter Zweck ist, ohne Entzündung für neue gesunde Zellen Platz zu machen und dadurch z.B. die Form eines Gewebes zu bestimmen. Nekrose entsteht durch eine Vielfalt an Schäden, wobei der Zellschwund im Alter auf sie zurückzuführen ist. Ihr Zweck ist die Weiterleitung geschädigter abgebauter Bestandteile an für die Entsorgung zuständige Subsysteme. Sie tritt im Alter vermehrt auf.

1.2.16.1 Apoptose

Zur Regulation der Masse und Architektur der Gewebe, sowohl in der Embryonalentwicklung als auch im erwachsenen Organismus und eventuell bei bestimmten Alternerscheinungen, dient der Zelltod durch die zuerst von Kerr und Mitarbeitern so bezeichnete Apoptose (Kerr et al. 1972, Evan 1994, Wyllie 1994). Sie ist charakterisiert durch morphologische und biochemische Änderungen, die sie von der Nekrose unterscheiden. Der initialen Chromatinkondensation schließt sich die DNA-Fragmentierung und schließlich die Bildung von membrangebundenen apoptotischen Körperchen an. In vivo werden die entstandenen Zellfragmente dann von Nachbarzellen und Makrophagen abgebaut. Die Apoptose ist also eine kontrollierte Art, ungewollte Zellen ohne immunologi-

sche Reaktion zu eliminieren. Sie kann durch bestimmte Wachstumsfaktoren wie IGF, PDGF, FGF usw. unterdrückt und durch andere, wie TNF- α oder EGF induziert werden, wobei der jeweilige Einfluss auch vom Gewebe abhängt (Kerr et al. 1994, Reed 1994). GF-gesteuerter Schutz vor Apoptose tritt auch in den S-, G₂- und M-Phasen des Zellzyklus auf, deren Fortschreiten GF-unabhängig ist, was zeigt, dass die antiapoptotische Funktion der GF nicht direkt mit ihrer proliferativen Aktivität verbunden ist (Harrington et al. 1994). Diese Autoren zeigten auch, dass PDGF und IGF-I ruhende Rattenfibroblasten vor ihr schützen, die konstitutiv exprimierte, deregulierte *c-myc*-Expression aufweisen. Dies ist auch für andere Zellen nachgewiesen worden. An bestimmten Zellen zeigen auch EGF und FGF solche Wirkungen, obwohl sie in vielen anderen Zellen Apoptose verhindern; der Mechanismus der GF-Wirkung ist also zellspezifisch. TGF- β („transforming growth factor β “) löst die Eliminierung von transformierten Zellen aus, wobei alle diese Befunde darauf hinweisen, dass die Wechselwirkung zwischen GF und Apoptose den protektiven Zug der GF erhellen, die sich als Überlebensfaktoren für einerseits die einzelnen Zellen, durch deren Elimination aber andererseits für die Gewebe herausstellen. Serumentzug, also Verlust der GF, in ruhenden jungen menschlichen Fibroblasten, aber auch in alten Zellen induziert Apoptose, was nahe legt, dass in vitro alternde Zellen resistent gegenüber dem programmierten Zelltod sind. In derselben Untersuchung wurde in alten Zellen eine ungewöhnlich hohe Konzentration des Produkts des antiapoptotischen *bcl2*-Onkogens gefunden, was zusammen mit der Repression der *c-fos*-Expression, der RB-Phosphorylierung und des verstärkten Auftretens von *p21* als Mechanismus angesehen werden kann, mit dem die alten Fibroblasten ihren eigenen Zellzyklus-Zickzackkurs verhindern, um nicht abzusterben. Die Energieproduktion jedoch hilft, Schäden zu vermeiden (Abb. 1.2.37). Das In-vitro-Zellaltern führt also einen Selektionsprozess ein, der Überlebende, d.h. Zellen, die weniger abhängig von GF sind, begünstigt (Wang 1995). Auch Reed (1994) kommt zu ähnlichen Schlüssen (Abb. 1.2.38).

1.2.16.2 Nekrose

Im Gegensatz zur Apoptose ist Nekrose ein Zelltod durch Verlust der Kontrolle der Ressourcen für Energie, Ionengleichgewicht und Homöostase, der im Anschwellen und Aufbrechen der Zellen resul-

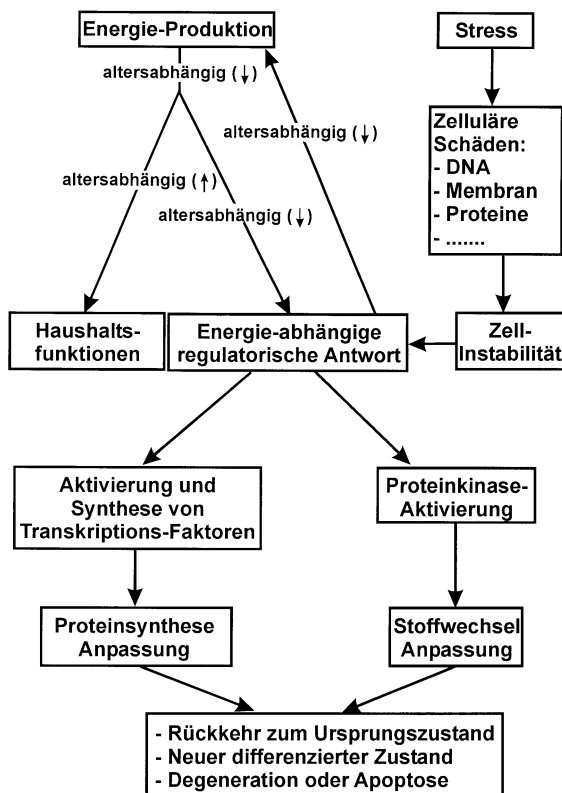


Abb. 1.2.37. Zelluläre Antworten auf Stress und seine Bewältigung durch Energieproduktion. Durch Stressbedingungen verursachte Zellschäden brauchen viel Energie für die Abwehr- und Reparatursysteme und es kommt zu Änderungen des Energieproduktions-Systems. Beides führt zu einem Energiemangel, der durch eine Abnahme an Energiesubstraten noch verstärkt wird. All dies führt zu einer Abnahme von Abwehr, Reparatur und Regulation, was wiederum mehr Schäden und beschleunigtes Zellaltern nach sich zieht

tiert und eine Entzündungsantwort hervorruft, also das Immunsystem involviert. Es sind Zellmassen und nicht einzelne Zellen betroffen. Kalzium dringt in Mitochondrien ein und fällt aus. Die Mitochondrien schwellen an und lysieren, ebenso die Zelle, wobei intrazelluläre Produkte zurückbleiben. Es folgt eine entzündliche Antwort und Phagozyten konsumieren die Reste (Walker et al. 1988). Die Zelle hatte nie eine Chance, mit einer Umstellung der Signaltransduktion und des Stoffwechsels zu reagieren.

Beide Arten des Zelltodes scheinen also mit dem Altern des Organismus sehr wenig zu tun zu haben, deshalb die nur sehr oberflächlichen Ausführungen. Neben umfangreichen früheren Beitragswerken (Davies u. Sigee 1984) gibt Driscoll (1995) eine ausführliche Übersicht.

1.2.17 Altern und Krebs auf molekularer Ebene

Mutationen allein verursachen Krebs nicht. Bei seiner Entwicklung ist ein kompliziertes vernetztes Kaskadensystem beteiligt. Es sind eine Reihe von Genen bekannt, die an dieser Promotion beteiligt sind. Oft laufen molekulare Altersveränderungen parallel zu solchen ab, die an der Krebsentstehung beteiligt sind. Diese Zusammenhänge sollen genauer untersucht werden (s. Abb. 1.2.3).

Auf zellulärer Ebene scheinen Altern und Krebs einander diametral entgegengesetzt zu sein. Im Alter beenden Zellen ihre Teilungen, während Krebszellen eine unendliche Teilungskapazität aufweisen. Dies ist ein Resultat multipler Mechanismen, in welche genetische und epigenetische Änderungen verwickelt sind. Der wichtigste Mechanismus der Aufrechterhaltung der Homöostase ist die Zellvermehrung, aber bedeutsam sind auch diejenigen, welche für das Gleichgewicht der Zelltod- und Proliferationsgeschwindigkeit sorgen. In diesen Kontext gehört die Apoptose (s. 1.2.16.1). Die Unsterblichkeit der Zellen ist so etwas wie eine homöostatische Unordnung, in der immer mehr Fehler der Proliferationskontrolle als Folge von vererbaren Änderungen wie Mutationen auftreten. Diese sind Ursache eines Klon, der ohne Beschränkung wächst. Krebszellen befinden sich nicht in einer Hyperhomöostase, sondern repräsentieren eine Flucht aus der normalen Homöostase in einen neuen Seinszustand.

Was Altern und Krebs gemeinsam haben, ist die somatische Mutation. Auf diese ist das Spektrum der degenerativen Altersänderungen mit einem Verlust der proliferativen Homöostase zurückzuführen (Martin 1991). Zur genetischen Instabilität kommt die Telomerinstabilität (s. 1.2.10) hinzu, so dass der Verlust der genomischen Integrität in vivo zum Verlust der proliferativen Homöostase führt, obwohl eine funktionale Beziehung zwischen replikativer Seneszenz und In-vivo-Altern immer noch unklar ist (Campisi 1966).

Mit den heutigen Techniken zur Bestimmung der Mutationen ist ein großer Fortschritt gemacht worden. So konnten viele Gene auf ihre Unversehrtheit untersucht werden. Die interessantesten sind wohl die, welche an Zellzykluskontrollpunkten beteiligt sind, wie z.B. das *p53*, das durch die Induktion von P21, einem Kinaseinhibitor, aktiviert wird. In einer Mutante (Maus) des Gens wird die Mutationsfrequenz mit dem Alter höher (Jacks et al. 1994). In Tumoren dieser Tiere ist die Muta-

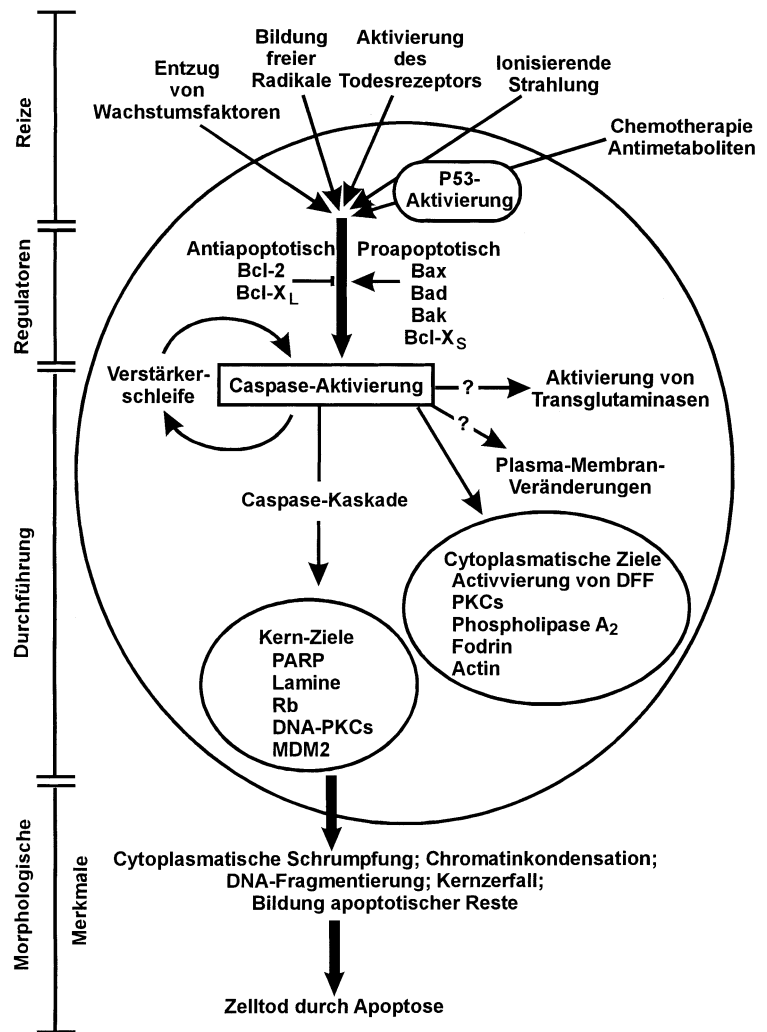


Abb. 1.2.38. Signalkette zum Zellzyklusstillstand und zur Apoptose. P53 wird durch DNA-Schädigung, Wachstums- und Stressorsignale aktiviert. Die DNA-Reparatur wird induziert, auch kann es über andere P53-Funktionen zur Caspasekaskade und Apoptose kommen. Schließlich werden über

Transaktivierung das *p21*-Gen und die *bax*-Gene induziert. Ersteres führt über Hypophosphorylierung des Retinoblastomproteins und Hemmung des Transkriptionsfaktors E2F zur Hemmung des Zellzyklus in G₁, letzteres wieder zur Apoptose. BCL2 („B-cell lymphoma“) hemmt dies

tionsfrequenz vergleichsweise höher. Das Gen ist also wichtig bei der Aufrechterhaltung der chromosomalen Stabilität, nicht aber der Stabilität auf dem Nukleotidniveau. In höherem Alter wird die Mutationsanhäufung beschleunigt, was ansteigende Empfänglichkeit für Tumoren zur Folge hat (s. Abb. 1.2.3). Die Apoptose verhindert die Anhäufung derart geschädigter Zellen.

Ein Verlust (oder Mutationen in Nukleotid-Exzisionsreparatur-Genen, wie dem *xpa*-Gen, s. 1.2.9), wie er mit dem Altern auftritt (Hoeijmakers 1994), führt zur Einschränkung der DNA-Reparatur, was wiederum Anlass zu weiteren Mutationen gibt. Dies erklärt die hohe Inzidenz von Tumoren bei alten

und besonders bei alten *xpa*-defizienten Tieren (De Vries et al. 1997). Die höchste Tumorzinzidenz nach Behandlung mit Benzo[a]pyrene ist bei Mäusen mit gleichzeitigen Mutationen im *p53*- und *xpa*-Gen zu beobachten. Wie wir von Untersuchungen der Signaltransduktion (s. 1.2.14) wissen, sind an solchen Genmanifestationen immer ein Netzwerk und eine Kaskade von biochemischen Schritten beteiligt, sodass auch in diesem Netzwerk Altersveränderungen die Expression der an der Tumorentstehung beteiligten Gene regulieren können (Abb. 1.2.39). Wir können also behaupten, dass dieselben Gene beim Altern und der Tumorentstehung beteiligt sind, nur werden sie je anders reguliert.

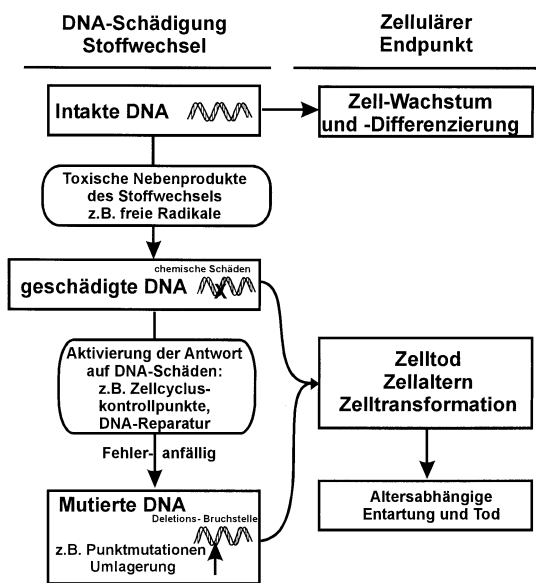


Abb. 1.2.39. DNA-Schädigung und Zellaltern. Die im Laufe des Alterns auftretenden DNA-Schäden werden weiterbearbeitet, z.B. mittels DNA-Reparatur, und enden unrepariert als irreversibel mutierte genomische DNA

1.2.18 Modulation auf molekular-zellulärer Ebene: Molekulare Möglichkeiten der Modulation

Von großem Interesse ist die positive Modulation des Alterns, d.h. die Verlangsamung der Alternsgeschwindigkeit, und dies nicht nur wegen des alten Menschheitstraums, eine hohe Lebenserwartung zu erreichen (Unsterblichkeit), sondern weil damit auch eine hohe funktionelle Kapazität erreicht wird, die geeignet ist, Alterskrankheiten und die Multimorbidität zu verhindern.

1.2.18.1 Lyophilisierte Zellen und ihre Wirkungsmechanismen

Obwohl sehr kontrovers diskutiert und von vielen Forschern als obsolet betrachtet, scheinen verschiedene Anwendungsmodi von fetalen und juvenilen Zellen (frisch verarbeitet oder lyophilisiert, ebenso Extrakte, meist von Wiederkäuern, aber auch von Nagern gewonnen) einen „revitalisierenden“ Effekt zu haben. Revitalisierung bedeutet Erreichen einer Vitalität, die einem jüngeren kalendarischen Alter entspricht. Mit Vitalität ist funktionelle Kapazität gemeint: „ein Maß für das Vermögen eines Organismus, alle lebensnotwendigen biologischen Funktionen zu realisieren“ (s. auch Abb. 1.2.1).

Die Makromoleküle dieser Zellen zeigen eine von kleineren Molekülen grundsätzlich verschiedene Pharmakokinetik und Pharmakodynamik und wirken in spezifischer Weise auf verschiedene Subsysteme. Weiter erhöhen sie die Lebenserwartung und heilen durch Retroviren hervorgerufene Krankheiten. Weil sie keine Oberflächenantigene besitzen, rufen sie auch keine Immunreaktionen hervor. Dieser ganze Komplex soll hier diskutiert werden.

Verzögert also fetales oder embryonales Gewebematerial das Altern und das Auftreten von Krankheiten? Eine andere mögliche Modulation der Alternsgeschwindigkeit beruht auf der Überlegung, dass die Applikation fetalen Materials Verluste oder Schäden von zellulären und subzellulären Strukturen kompensieren kann. Hofecker et al. (1980) testeten diese Hypothese in einer Reihe von Experimenten mittels fetaler Testis-, Plazenta- und Mesenchymzellen vom Schaf. Eine Reihe von Altersparametern zeigten signifikante Langzeitverbesserungen nach s.c.-Applikation dieser Zellen. In mehreren Überlebensstudien nach Zellapplikation war die durchschnittliche Lebenserwartung LE, und sogar die MLP einer Kohorte signifikant erhöht.

An Mäusen zeigte die Applikation von fetalen Mesenchymzellen ebenfalls eine stark erhöhte maximale Lebenserwartung, d.h. eine MLP von 700 Tagen (Kontrolle) auf 1100 Tage! Diese OF1-Mäuse sind aber charakterisiert durch das Auftreten von lymphatischer Leukose ab einem Alter von 7 Monaten, wobei nach den ersten äußeren Anzeichen nach drei Wochen der Tod eintritt. Nachdem die Hälfte der Kohorte gestorben war, erhielt die Hälfte der verbliebenen Tiere fetale Mesenchymzellen. Die Studie ergab dann die vorhin erwähnte Wirkung auf die Lebenserwartung.

Da das Material kaum mehr lebensfähige Zellen enthält, muss die Wirkung von Zellfragmenten oder Signalmolekülen ausgehen, die der Empfänger verwerten kann. Der von uns gefundene schwächere Effekt denaturierter Zellen weist darauf hin, dass in frischen oder lyophilisierten Zellen noch intakte Strukturen vorhanden sein müssen, Makromoleküle oder deren Cluster, und dass der Effekt nicht unspezifisch ist. Dies wird auch dadurch erhärtet, dass diese Beobachtung nur bei älteren Tieren oder bei zerstörten Strukturen (s. Leukose) gemacht wurde. Dieser Effekt ist so dramatisch, dass es angezeigt ist, in Zukunft die daran beteiligten Signaltransduktionsmechanismen zu untersuchen.

Durch die jüngsten umfangreichen Erkenntnisse der Stammzellenforschung bietet sich auch eine Erklärung der Wirkung an: Teile des injizierten fetalen Materials werden spezifisch in geschädigten Strukturen abgefangen, eingebaut und regen dort durch bestimmte Faktoren die Teilung von Stammzellen an. Die Wirkung von TGF- β sowohl auf die Transkription als auch auf die Zellteilung lässt sich heute ebenfalls erklären.

Unsere Hypothese geht von der vielfältigen Wirkung von TGF- β aus, der durch Bindung an den T-II-Rezeptor einerseits die Transkription beeinflusst (Abb. 1.2.40, 1.2.41), andererseits in geringen Mengen die Proliferation fördernde und in hoher Konzentration eine Zellzyklus inhibierende Funktion aufweist (Abb. 1.2.42). Das Wirkprinzip fetaler Zellen wäre dann über TGF- β -abhängige Prozesse zu erklären, wie es durch unsere jüngsten Untersuchungen an YAC-Zellen und Lymphozyten nahe gelegt wird. Künftige Studien über die Konzentration der beteiligten Faktoren und die Kinetik der damit verbundenen Signalwege sollten genaueren Aufschluss darüber geben.

Diese Hypothese wird auch durch pharmakokinetische Studien verstärkt (Niedermüller et al. 1986), welche zeigten, dass Abbauprodukte injizierter fetaler Zellen eine weit höhere Verweildauer in Organen zeigen als die zu ihrer Markierung verwendeten Präkursoren, Pharmaka und die meisten

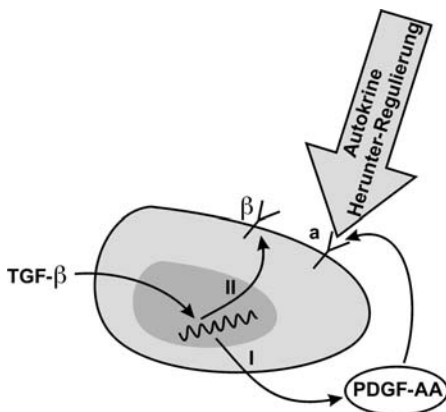


Abb. 1.2.40. Regulation der TGF- β -Wirkung. Bei kurzer Inkubation induziert TGF- β die Expression der PDGF-A-Kette (PDGFR- α wird dabei herunterreguliert), bei langer Inkubation die des PDGFR- β . TGF- β induziert also anfangs (I) die PDGF-AA-Ketten, welche an die PDGFR- α binden und durch einen autokrinen Mechanismus deren Herunterregulation induzieren und eine verminderte PDGF-Bindung bewirken. Später wird die Zelle durch die PDGFR- β -Synthese wieder empfindlicher auf PDGF. Der Prozess ist altersabhängig. PDGF thrombozytenständiger Wachstumsfaktor, TGF transformierender Wachstumsfaktor

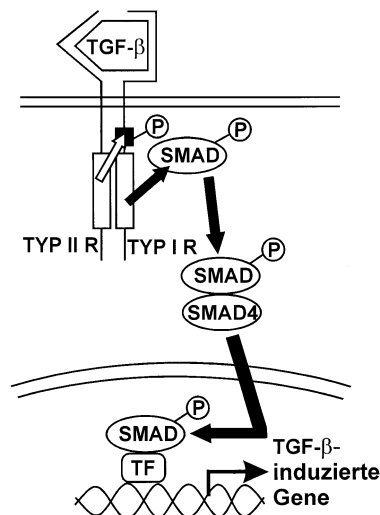


Abb. 1.2.41. Transkriptionsaktivierung durch TGF- β . Isoformen des Wachstumsfaktors TGF- β binden an Typ-II-Rezeptoren mit endogener Ser/Thr-Kinase-Aktivität und induzieren die Verbindung mit Typ-I-Rezeptoren. Dadurch werden diese phosphoryliert und können durch die neu gewonnene Kinaseaktivität Smads phosphorylieren. Diese bilden Heterodimere, die in den Kern transportiert werden. Dort lösen sie Transkriptionsaktivität aus. TGF transformierender Wachstumsfaktor („transforming growth factor“, Wirkung wie EGF „epidermal growth factor“); Smads transkriptionale Aktivatoren („small mothers against dpp“, ein Drosophila-Gen), die ubiquitär vorkommen

Metaboliten. Interessant ist, dass in der Stammzellenforschung heute oft der Ausdruck „Zelltherapie“ verwendet wird (Bordignon et al. 1999): Hier drängt sich auch die Frage auf, inwieweit sich embryonale und fetale Zellen von Stammzellen unterscheiden.

1.2.18.2 Wirkfaktoren auf molekular-zellulärer Ebene

Es gibt keinen Bereich der Modulation des Alterns, über den mehr Untersuchungen publiziert wurden, als den Komplex der Ernährung; wobei wegen verständlicher Schwierigkeiten weniger der Einfluss des Nahrungsmusters als der reduzierter Kalorienaufnahme studiert wurde. Trotzdem liegen nur wenige Informationen über Mechanismen und Auswirkungen auf molekularem und genetischem Niveau vor.

Dies gilt in noch stärkerem Maß für den Einfluss physischen Trainings, über das immer noch kontrovers diskutiert wird, da bisher ein Zusammenhang mit dem Altern kaum nachgewiesen werden konnte, wohl aber ein Einfluss auf die Multi-

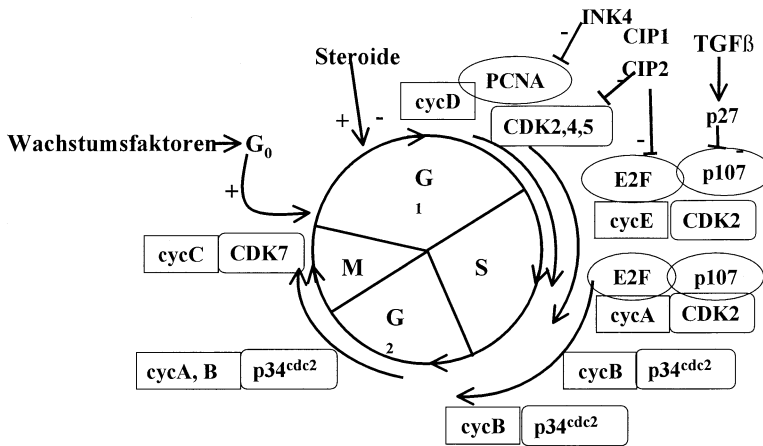


Abb. 1.2.42. Zellzyklusregulation. Das Schema zeigt einige der an der Regulation teilnehmenden Faktoren. Im Zusammenhang mit der Wirkung fetaler Zellen ist besonders der Einfluss von TGF- β auf die Zellteilung (geringe Konzentration:

stimulierend, hohe Konzentration: inhibierend) interessant. PCNA „proliferation nuclear antigen“, cyc Cycline, CDK cyclinabhängige Kinase, p am Zyklus beteiligte Proteine, INK Inhibitor der CDK, CIP Cyclininhibitorprotein

morbidität. Zusätzlich kommen die Untersuchungen zu widersprüchlichen Resultaten, da manches Training zu einer Verkürzung der Lebenserwartung führt (Coleman et al. 1987 a,b, Lichtig et al. 1987).

Veränderungen beider Maßnahmen auf molekularem Niveau werden hier diskutiert. Zusätzlich soll auf den Einfluss der Umwelt hingewiesen werden, der sich auch in molekularen Veränderungen im Nervensystem manifestiert.

Das Standardmodell zur Beeinflussung des Alterns ist die Verlängerung der gesunden Lebenserwartung bei Nagern durch kalorische Restriktion (CR) (McCay et al. 1935), das immer noch als ein Goldstandard für die Modifikation der Alternsgeschwindigkeit verwendet wird. Eine umfassende Forschung in diesem Bereich wurde von vielen Arbeitsgruppen, aber besonders von Masoro (1988, 1989) durchgeführt. Die Mechanismen, durch welche CR das Leben verlängert, sind immer noch zum großen Teil unklar. Doch fand man neben einem verzögerten Kollagenaltern (Everitt et al. 1980) positive Wirkungen auf das Altern des Immunsystems (Weindruch et al. 1979, Weindruch u. Walford 1988), die DNA-Reparatur (Lipman et al. 1989) und auf die Verbreitung von Tumoren und Nierenerkrankungen.

Spontanes Laufradtraining (Skalicky u. Viidik 1999) erhöhte die Expression von aus Gehirn gewonnenem Wachstumsfaktor („brain-derived GF“, BDNF) in Pyramidenzellen des CA1-Felds des Hippocampus und dem kaudalen Drittel des Neokortex, einer sehr alterssensitiven Region in Bezug auf das Lernen und Gedächtnis (Neeper et al. 1996).

Einige Untersuchungen weisen auf einen Anstieg der muskarinischen Rezeptordichte im Hippocampus und parietalen Kortex sowie der Dopaminrezeptordichte im Striatum hin. Ratten, die in abwechslungsreicher Umgebung gehalten werden, zeigen einen etwa 10%-igen Anstieg der Dicke des okzipitalen und frontalen Kortex verglichen mit ihren altersgleichen Kontrollen. Neurotrope Faktoren beteiligen sich an einem der fundamentalen Mechanismen, die das Wachstum oder die Sprossung nach Verletzungen regulieren. Da Wachstumsfaktoren (GF) das neuronale Wachstum stimulieren, sollten deren höhere Konzentrationen, angeregt durch aktivitätsabhängige Mechanismen, die reaktive Sprossung und den Reichtum der Verknüpfungen zwischen den Zellen während des Alterns erhöhen. Diese Erkenntnisse leiten zu neurogener Aktivität und neurotrophen Faktoren über.

Das Eintreten dieser Erhöhung dauert nur ein paar Tage und ist in den höheren, kognitiven Funktionen dienenden Regionen, z.B. Hippocampus, besonders deutlich. Die aktivitätsabhängige Produktion neurotroper Faktoren kann gemeinsame Mechanismen für die Wirkung physischer und mentaler Aktivität auf die Erhaltung der Gehirnfunktionen induzieren. Neurotrope Faktoren, wie BDNF und Neurotrophin-3 (NT-3), werden von Neuronen produziert und ausgeschüttet und können durch ihre Rezeptoren über parakrine Mechanismen auf dieselben Neuronen zurückwirken. Das erhöhte Niveau bestimmter Faktoren kann Neuronen hinsichtlich des Wachstumspotenzials und metabolischer Funktionen lebens- und leistungsfähiger machen und sie dadurch gesund und

anpassungsfähig erhalten. In Hinblick auf das Vorhandensein neuronaler Stammzellen in den Regionen, die am Lernen, Gedächtnis und an Motivation beteiligt sind, könnte ein möglicher Einfluss neurotroper Faktoren auf die Stammzellaktivität eine interessante Hypothese sein.

1.2.18.3 Andere Einflussnahmen

Moleküle (Pharmaka), die auf dieser Ebene wirken, sind Antioxidanzien (von Tocopherol bis Urate), MAO-Hemmer und Ubichinol. Bisher ist es nur möglich, ihre Wirkung auf den Alternsprozess – sollte es tatsächlich eine geben, was zwar biologisch einzusehen wäre, bis jetzt aber noch nicht eindeutig belegt ist – auf molekularer Ebene so weit zu erklären, als uns ihre biochemischen Funktionen bekannt sind. MAO-Hemmer wirken innerhalb der Signaltransduktion in Neuronen und Antioxidanzien als DNA-Schadensbegrenzer, auch auf der Ebene der Mitochondrien, die ja oxidativem Stress am stärksten ausgesetzt sind (Abb. 1.2.43).

Weitere Moleküle sind Zytokine im Immunsystem und anderswo, HSP-Chaperone und Wachstumsfaktoren aller Art (TNF, IFN, GF). Ihr Einfluss auf das Altern liegt im Bereich der Signaltransduktion und Genexpression; es gibt aber kaum Arbeiten über die Modulation des Alterns durch sie.

Die Verbesserung der Funktion des Zytokinnetzwerks dürfte zur Erhaltung der Immunkapazität, aber auch der Leistungsfähigkeit anderer Gewebe beitragen. Weiter könnten auch Eingriffe in die Stressantwort und die Verbesserung der im Alter eingeschränkten Reaktion von Zellen auf GF und ähnliche Moleküle (auch Fibronektin, Kollagen, Proteoglykane usw. haben Bedeutung) zur Verlangsamung des Altersprozesses beitragen. Daher könnte eine Hinaufregulierung der Antistressgene auch in Mammalia durch eine verbesserte Zytokinprotektion zu einer Revitalisierung führen. Untersuchungen dieser Hypothesen und Fragen wären sehr wünschenswert.

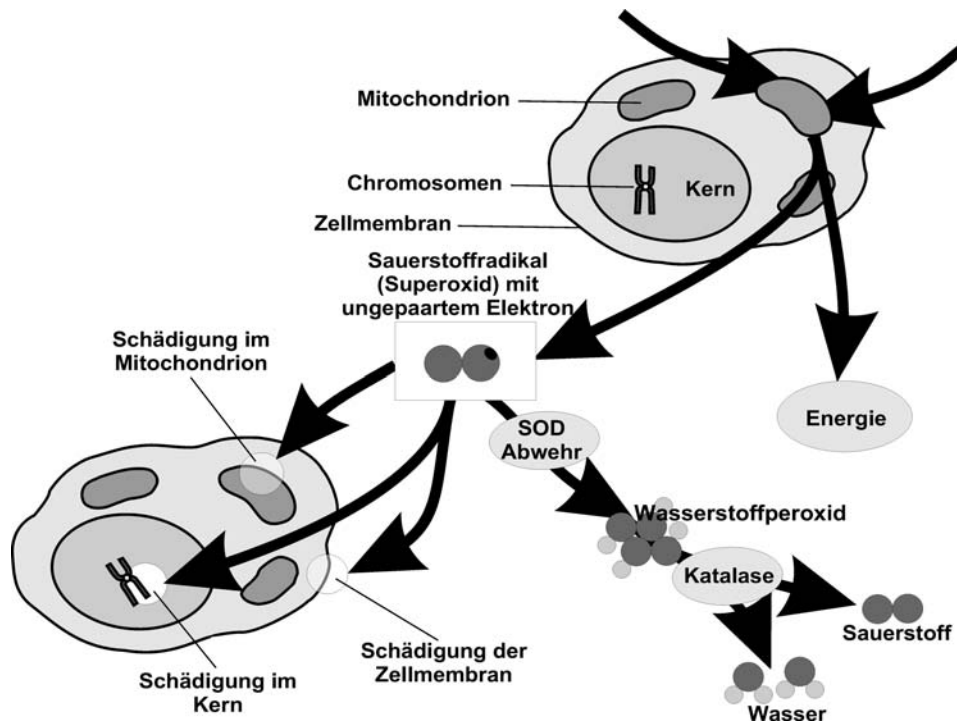


Abb. 1.2.43. DNA-Schäden und deren Abwehr. Mitochondrien wandeln Glukose und Sauerstoff in Energie um, dabei bilden sich als normales Nebenprodukt Sauerstoffradikale. Diese zerstören Proteine, DNA und Membranen. Besonders empfindlich ist die mitochondriale DNA (mtDNA). Die anti-

oxidative Abwehr bremst die Schäden durch Neutralisation der meisten Radikale: SOD wandelt Superoxidradikale in Wasserstoffperoxid um, das durch Katalase in Sauerstoff und Wasser zerlegt wird

1.2.19 Biogerontologie und der Alterungsprozess

Für den interessierten Leser ist es sicher von Bedeutung, mehr über die Möglichkeiten der Einflussnahmen auf Krankheiten auf molekularer Ebene zu erfahren. Krankheiten können den Alternsprozess beschleunigen und den Lebenswert in der Phase der Seneszenz reduzieren. Die Kenntnisse der genetischen Ausstattung, die für das Auftreten von Krankheiten verantwortlich ist, sowie der molekularen Mechanismen deren Ablaufs können wiederum Informationen über molekulare Grundlagen des Alterns liefern, was auch umgekehrt gilt und für die Aufrechterhaltung der Vitalität in der Seneszenz verwendet werden kann.

Von der genetischen und molekularen Ebene ausgehend können Schäden des Genoms aufgehoben

ben oder unschädlich gemacht und die Genexpression neu reguliert werden. Den Störungen der Signalübermittlung kann begegnet und dieses Netzwerk neu justiert werden und die Leistungen des Immunsystems könnten verbessert werden. All das dient zum Großteil der Prävention oder Therapie von Krankheiten, also der Bekämpfung der Multimorbidität des hohen Alters (Abb. 1.2.44).

Wenn es jedoch tatsächlich gelänge, den Alternsprozess zu verlangsamen, dann hätten wir neben den unbestreitbaren Problemen, die auf vielen Ebenen auftreten können, auch eine dadurch bedingte Zurückdrängung der Multimorbidität und könnten auch in dieser ausgedehnten Periode des hohen Alters eine hohe Vitalität erhalten. Die einzige Möglichkeit dazu scheint ein Eingreifen in das Genom, also eine gentechnische Veränderung des Gen- und Regulationsmusters zu sein, wobei sich aber sofort zwei Fragen ergeben:

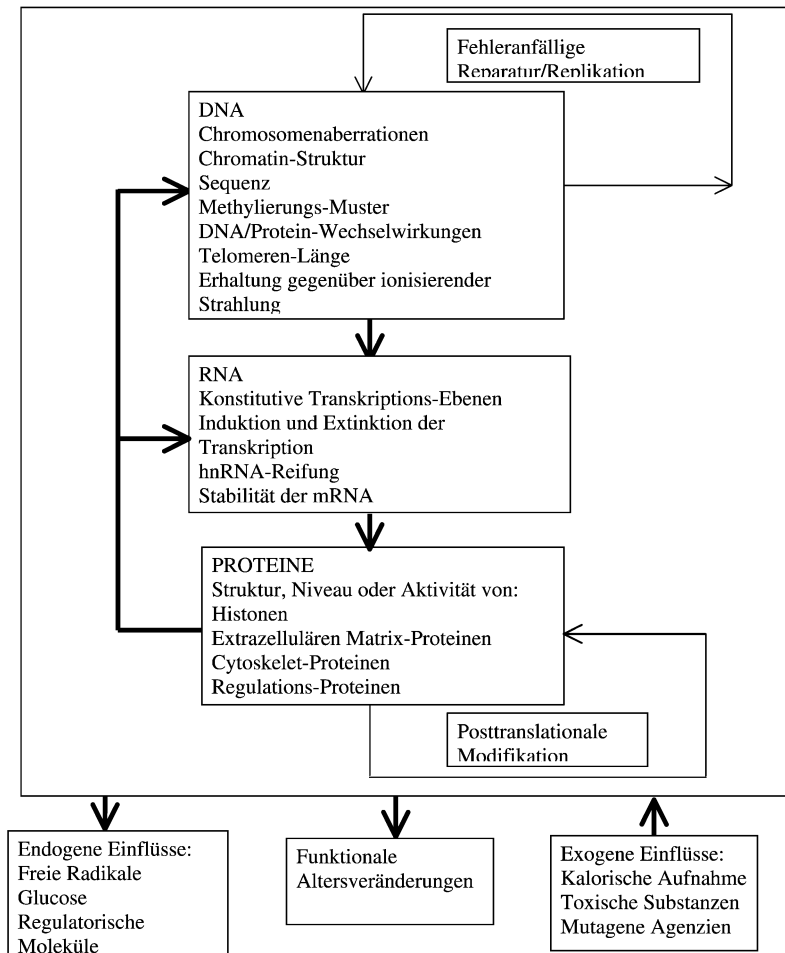


Abb. 1.2.44. Schematische Übersicht über die Natur von molekularen Altersveränderungen in somatischen Zellen kontinuierlich alternder Arten

1. Wie wird besonders beim Menschen die Richtung dieser Veränderung zur Optimierung hin bestimmt, da wir doch keinen länger lebenden Organismus als Muster haben?
2. Genügt eine immer weitergehende Optimierung des Genoms, ohne die lebenserhaltenden Systeme auf höherer Ebene neu zu justieren?

Die heutzutage schon rasanten Entwicklungen in diesen Bereichen der Biogerontologie und molekularen Biomedizin erwecken natürlich diesbezüglich die größten Hoffnungen.

1.2.20 Literatur

- Aggarwal S, Gupta S (1998) Increased apoptosis of T cell subsets in aging humans: altered expression of fas (CD95), fas ligand, bcl-2, and bax. *J Immunol* 160:1627–1637
- Alcorta DA, Xiong Y, Phelps D, Hannon G, Beach D, Barrett JC (1996) Involvement of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 (INK4a) in replicative senescence of normal human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:13742–13747
- Allsopp RC, Harley CB (1995) Evidence for a critical telomere length in senescent human fibroblasts. *Exp Cell Res* 219:130–136
- Allsopp RC, Vaziri H, Patterson C et al (1992) Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10114–10118
- Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL (2001) Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med* 7:393–395
- Andrews AD, Barrett SF, Robbins JH (1976) Relation of DNA repair processes to pathological ageing of the nervous system in xeroderma pigmentosum. *Lancet* (i):1318–1320
- Antequera F, Bird A (1993) Number of GpC islands and genes in human and mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:11995–11999
- Arking R (1998a) *Biology of Aging*. Sinauer, Sunderland MA, pp 19–23
- Arking R (1998b) *Biology of Aging*. Sinauer, Sunderland MA, pp 85–105
- Armbricht HJ, Boltz M, Strong R, Richardson A, Bruns ME, Christakos S (1989) *Endocrinology* 125:2950–2956
- Atadja PW, Stringer KE, Riabowol K (1994) Loss of serum response element-binding activity and hyperphosphorylation of serum response factor during cellular aging. *Mol Cell Biol* 119:4991–4999
- Atadja P, Wong H, Garkavtsev I, Veillette C, Riabowol K (1995) Increased activity of p53 in senescing fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:8348–8352
- Bartsch H, Ohshima H, Shuker DE, Pignatelli B, Calmels S (1990) Exposure of humans to endogenous N-nitroso compounds: implications in cancer etiology. *Mutat Res* 238:255–267
- Bauer EA, Silverman N, Busiek DF, Kronberger A, Deuel TF (1986) Diminished response of Werner's syndrome fibroblasts to growth factors PDGF and FGF. *Science* 234:1240–1243
- Bayreuther K, Rodemann HP, Hommer R, Dittmann K, Albiez M, Francz PI (1988) Human skin fibroblasts in vitro differentiate along a terminal cell lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:5112–5116
- Bennett SE, Umar A, Oshima J, Monnat RJ Jr, Kunkel TA (1997) Mismatch repair in extracts of Werner syndrome cell lines. *Cancer Res* 57: 2956–2960
- Berry RJ, Bronson FH (1992) Life history and bioeconomy of the house mouse. *Biol Rev* 67:519–550
- Blake MJ, Gershon D, Fargnoli J, Holbrook NJ (1990) Discordant expression of heat shock protein mRNAs in tissues of heat stressed rats. *J Biol Chem* 265:15275–15279
- Blake MJ, Fargnoli J, Gershon D, Holbrook NJ (1991) Concomitant decline in heat-induced hyperthermia and HSP70 and mRNA expression in aged rats. *Am J Physiol* 260:663–667
- Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB et al. (1998) Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 279:349–352
- Bond J, Haughton M, Blaydes J, Gire V, Wynford-Thomas D, Wyllie F (1996) Evidence that transcriptional activation by p53 plays a direct role in the induction of cellular senescence. *Oncogene* 13:2097–2104
- Bond JA, Wyllie FS, Wynford-Thomas D (1994) Escape from senescence in human diploid fibroblasts induced directly by mutant p53. *Oncogene* 9:1885–1889
- Bootsma D, Hoeijmakers JH (1993) DNA repair: engagement with transcription. *Nature* 363:114–115
- Bordignon C et al (1999) Cell therapy: achievements and perspectives. *Haematologica* 84:1110–1149
- Bowling AC, Mutisya EM, Walker LC et al (1993) Age-dependent impairment of mitochondrial function in primate brain. *J Neurochem* 60:1964–1969
- Buck SM, Wells RA, Dudas SP, Baker III GT, Arking R (1993a) Chromosomal localization and regulation of the longevity determinant genes in a selected strain of *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 71:11–12
- Buck SM, Nicholson M, Dudas S, Wells R, Force A, Baker III GT, Arking R (1993b) Larval regulation of adult longevity in a genetically-selected long-lived strain of *Drosophila*. *Heredity* 71:23–32
- Buck S, Vettraino J, Force AG, Arking R (2000) Extended longevity in *Drosophila* is consistently associated with a decrease in larval viability. *J Gerontol* 55:292–301
- Bunn CL, Tarrant GM (1980) Limited lifespan in somatic cell hybrids and cybrids. *J Cell Sci* 107:571–579
- Bürger M (1947) *Altern und Krankheit*. Thieme, Leipzig
- Calés C, Fando JL, Azura C, Salinas M (1986) Developmental studies of the first step of initiation of brain protein synthesis, role for initiation factor 2. *Mech Ageing Dev* 33:147–156
- Campisi J (1996) Replicative senescence: an old life's tale? *Cell* 84:497–500
- Calin G, Herlea V, Barbanti-Brodano G, Negrini M (1998) The coding region of the Bloom syndrome BLM gene and of the CBL proto-oncogene is mutated in genetically unstable sporadic gastrointestinal tumors. *Cancer Res* 58:3777–3781
- Castañeda M, Vargas R, Galván SC (1986) Stagewise decline in the activity of brain protein synthesis factors and relationship between this decline and longevity in two rodent species. *Mech Ageing Dev* 36:197–210
- Cerami A (1985) Hypothesis: glucose as a mediator of aging. *J Am Geriatr Soc* 33:626–634

- Cerami A, Vlassara H, Brownlee M (1987) Glucose and Aging. *Sci Am* 257/5:90–96
- Chang B-D, Xuan Y, Broude EV, Zhu H, Schott B, Fang J, Roninson IB (1999) Role of p53 and p21^{waf1/cip1} in senescence-like terminal proliferation arrest induced in human tumor cells by chemotherapeutic drugs. *Oncogene* 18:4808–4818
- Chang B-D, Watanabe K, Broude EV, Fang J, Poole JC, Kalininchenko TV, Roninson IB (2000) Effects of p21^{Waf1/Cip1/Sdi1} on cellular gene expression: implications for carcinogenesis, senescence and age-related diseases. *PNAS* 97:4291–4296
- Chatterjee B, Majumdar D, Ozbillan O, Murty CVR, Roy AK (1987) Molecular cloning and characterisation of the cDNA for androgen repressible rat liver protein SMP-2. *J Biol Chem* 262:822–825
- Chen J, Astle BA, Harrison DE (1999) Development and aging of primitive hematopoietic stem cells in BALB/cBy mice. *Exp Hematol* 27:928–935
- Cleaver JE (1994) It was a very good year for DNA repair. *Cell* 76:1–4
- Coleman R, Silbermann M, Gershon D, Reznick AZ (1987a) Effect of long term stress on the ultrastructure of the aging mouse heart. *Gerontology* 33:19–33
- Coleman R, Silbermann M, Gershon D, Reznick AZ (1987b) Giant mitochondria in the myocardium of aging and endurance-trained mice. *Gerontology* 33:34–39
- Counter CM, Gupta J, Harley CB, Leber B, Bacchetti S (1995) Telomerase activity in normal leukocytes and in hematologic malignancies. *Blood* 85:2315–2320
- Cowled PA, Ciccarelli C, Coccia E, Philipson L, Sorrentino V (1994) Expression of growth arrest specific (gas) genes in senescent murine cells. *Exp Cell Res* 211:197–202
- Cristofalo VJ, Phillips PD, Sorger T, Gerhard G (1989) Alterations in the responsiveness of senescent cells to growth factors. *J Gerontol* 44:55–62
- Cutler RG (1973) Redundancy of information content in the genome of mammalian species as a protective mechanism determining aging rate. *Mech Ageing Dev* 2:381–408
- Cutler RG (1982) The dysdifferentiation hypothesis of mammalian aging and longevity. In: Giacobini E, Filogamo, Giacobini G, Vernadakis VA (eds) *The aging brain: cellular and molecular mechanisms of aging in the nervous system*. Raven, New York, pp 1–19
- Cutler RG (1985) Antioxidants and longevity of mammalian species. In: Woodhead AD, Blackett AD, Hollaender A (eds) *Molecular biology of aging*. Plenum Press, New York, pp 15–73
- D'Mello NP, Childress AM, Franklin DS, Kale SP, Pinswasdi C, Jazwinski SM (1994) Cloning and characterization of LAG1, a longevity assurance gene in yeast. *J Biol Chem* 269:15451–15459
- Davies I, Sigee DC (1984) *Cell ageing and cell death*. Cambridge University Press
- De Boer J, de Wit J, van Steeg H, Berg RJ, Morreau H, Visser P et al (1998) A mouse model for the basal transcription/DNA repair syndrome trichothiodystrophy. *Mol Cell* 1:981–990
- De Rijk P, Van de Peer Y, De Wachter R (1997) Database on the structure of large ribosomal subunit RNA. *Nucl Acids Res* 25:117–122
- De Vries A, Van Oostrom CTh, Doortant PM, Beems RB, Van Kreijl CF, Capel PJA, Van Steeg H (1997) Spontaneous liver tumours and benzo[a]pyrene-induced lymphomas in XPA-deficient mice. *Mol Carcinogen* 19:46–53
- Dell'Orco RT, Anderson LE (1991) Decline of poly-ADP-ribosylation during in vitro senescence in human diploid fibroblasts. *J Cell Physiol* 146:216–221
- Dimri G, Campisi J (1994) Altered profile of transcription factor-binding activities in senescent human fibroblasts. *Exp Cell Res* 212:132–140
- Driscoll M (1995) Genes controlling programmed cell death: relation to mechanisms of cell senescence and aging? In: Esser K, Martin GM (eds) *Molecular aspects of aging*. Wiley, Chichester, pp 45–58
- Dudas SP, Arking R (1994) The expression of the EF1 α genes of *Drosophila* is not associated with the extended longevity phenotype in a selected long-lived strain. *Exp Gerontol* 29:645–657
- Dulić V, Kaufmann WK, Wilson SJ, Tlsty TD, Lees E et al (1994) p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human fibroblasts during radiation-induced G1 arrest. *Cell* 76:1013–1023
- Dulić V, Beney GE, Frebourg G, Drullinger LF, Stein GH (2000) Uncoupling between phenotypic senescence and cell cycle arrest in aging p21-deficient fibroblasts. *Mol Cell Biol* 20:6741–6754
- Ellis NA, Groden J, Ye TZ, Straughen J, Lennon DJ, Ciocci S et al (1995) The Bloom's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. *Cell* 83:655–666
- Evan GI (1994) Old cells never die, they just apoptose. *Trends Cell Biol* 4:191–192
- Everitt A, Meites J (1989) Aging and anti-aging effects of hormones. *J Gerontol* 44:139–141
- Everitt AV, Seedsman NJ, Jones F (1980) The effects of hypophysectomy and continuous food restriction, begun at ages 70 and 400 days, on collagen aging, proteinuria, incidence of pathology and longevity in the male rat. *Mech Ageing Dev* 12:161–172
- Exton JH (1994) Phosphatidylcholine breakdown and signal transduction. *Biochim Biophys Acta* 1212:26–42
- Fargnoli J, Blake MJ, Holbrook NJ (1990) In vivo and in vitro studies on the heat shock response and aging. In: Finch CE, Johnson TE (eds) *Molecular biology of aging*. Wiley-Liss, New York, pp 379–390
- Feuers et al (1995) Intermediate metabolism and antioxidant systems. In: Hart RW, Neumann DA, Robertson RT (eds) *Dietary restriction: implications for the design and interpretation of toxicity and carcinogenicity studies*. ILSI Press, Washington, pp 180–195
- Finch CE (1990) *Longevity, senescence and the genome*. University Press, Chicago
- Finch CE, Kirkwood TB (2000) *Chance, development and aging*. University Press, Oxford
- Foucault F, Vauray C, Barakat A, Thibout D, Planchon P, Jaulin C et al (1997) Characterization of a new BLM mutation associated with a topoisomerase II α defect in a patient with Bloom's syndrome. *Hum Mol Genet* 6:1427–1434
- Friedberg EC (1985) *DNA repair*. Freeman, New York
- Fujita T, Maruyama N (1991) Elevated levels of c-jun and c-fos transcripts in the rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 178:1485–1488
- Futreal PA, Barrett JC (1991) Failure of senescent cells to phosphorylate the RB protein. *Oncogene* 6:1109–1113
- Gabius HJ, Goldbach S, Graupner G, Rehm S, Cramer F (1982) Organ pattern of age-related changes in the aminoacylation synthetase activities of the mouse. *Mech Ageing Dev* 20:305–313

- Gelman R, Watson A, Bronson R, Yunis E (1988) Murine chromosomal regions correlated with longevity. *Genetics* 118:693–704
- Gerhard GS, Phillips PD, Cristofalo VJ (1991) EGF- and PDGF-stimulated phosphorylation in young and senescent WI-38 cells. *Exp Cell Res* 193:87–92
- Globerson A (1999) Hematopoietic stem cells and aging. *Exp Gerontol* 34:137–146
- Gray MD, Shen JC, Kamath-Loeb AS et al (1997) The Werner syndrome protein is a DNA helicase. *Nat Genet* 17:100–103
- Gresik EW, Wenk-Salamone K, Onetti-Muda A, Gubits RM, Shaw PA (1986) Effect of advanced age on the induction by androgen or thyroid hormone of epidermal growth factor and epidermal growth factor mRNA in the submandibular glands of C57B1/6 male mice. *Mech Ageing Dev* 34:175–189
- Grube K, Bürkle A (1992) Poly(ADP-ribose) polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlates with species-specific life span. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:11759–11763
- Haan G de, Van Zant G (1997) Intrinsic and extrinsic control of hemopoietic stem cell numbers: mapping of a stem cell gene. *J Exp Med* 186:529–536
- Haan G de, Van Zant G (1999a) Dynamic changes in mouse hematopoietic stem cell numbers during aging. *Blood* 93:3294–3301
- Haan G de, Van Zant G (1999b) Genetic analysis of hemopoietic cell cycling in mice suggests its involvement in organismal life span. *FASEB J* 13:707–713
- Hanawalt PC (1987) On the role of DNA damage and repair processes in aging: evidence for and against. In: Warner HR, Butler RN, Sprott RL, Schneider EL (eds) *Modern biological theories of aging*. Raven Press, New York, pp 183–198
- Hara E, Smith R, Parry D, Tahara H, Stone S, Peters G (1996) Regulation of p16CDNK2 expression and its implications for cell immortalization and senescence. *Mol Cell Biol* 16:859–867
- Harle-Bachor C, Boukamp P (1996) Telomerase activity in the regenerative basal layer of the epidermis in human skin and carcinoma-derived skin keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:6476–6481
- Harley CB (1991) Telomere loss: mitotic clock or time bomb? *Mutat Res* 256:271–282
- Harley CB (1997) Human ageing and telomeres. In: *Telomeres and telomerase*. Ciba Foundation Symposium 211. Wiley, Chichester, pp 129–144
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW (1990) Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345:458–460
- Harley CB (1995) Telomeres and aging. In: Blackburn EH, Greider CW (1995) *Telomeres*. CSHL Press, pp 247–263
- Harper JW, Adami GR, Wie N, Keyomarsi K, Elledge SJ (1993) The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 75:805–816
- Harrington EA, Bennett SE, Fanidi A, Evan GI (1994) c-Myc induced apoptosis in fibroblasts is inhibited by specific cytokines. *EMBO J* 13:3286–3295
- Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC (1990) Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature* 346:866–868
- Hawkes K, O'Connell JE, Jones NG, Alvarez H, Charnov EL (1998) Grandmothering, menopause, and the evolution of human life histories. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:1336–1339
- Hayflick L, Moorehead PS (1961) The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 37:614–636
- Helfand SL, Rogina B (2000) Regulation of gene expression during aging. In: Hekimi S (ed) *The molecular genetics of aging*. Springer, Berlin Heidelberg, pp 67–80
- Henning KA, Li L, Iyer N, McDaniel LD, Reagan MS, Legerski R et al (1995) The Cockayne syndrome group A gene encodes a WD repeat protein that interacts with CSB protein and a subunit of RNA polymerase II TFIIF. *Cell* 82:555–564
- Hensley K et al (1994) A model for beta-amyloid aggregation and neurotoxicity based on free radical generation by the peptide: relevance to Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:3270–3274
- Heydari AR, Wu B, Takahashi R, Strong R, Richardson A (1993) Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription. *Mol Cell Biol* 13:2909–2918
- Hoeijmakers JH (1994) Human nucleotide excision repair syndromes: molecular clues to unexpected intricacies. *Eur J Cancer* 30A:1912–1921
- Holliday R (1984) The significance of DNA methylation in cellular aging. In: Woodhead AD, Blackett AD, Hollander A (eds) *Molecular biology of aging*. Plenum Press, New York, pp 269–283
- Horbach GJ, van Bezooijen CF (1991) The effect of age on the synthesis of rat liver proteins. In: Kitani K (ed) *Liver and aging*. Elsevier, Amsterdam, pp 183–191
- Hornsby PJ, Cheng CY, Ryan RE, Yang L (1990) Stochastic changes in gene expression in adrenal cell senescence. In: Finch CE, Johnson TE (eds) *Molecular biology of aging*. Wiley-Liss, New York, pp 249–263
- Hsieh J-K, Kletsas D, Clunn Hughes AD, Schachter M, Demoliou-Mason C (2000) p53, p21^{waf1/cip1}, and MDM2 involvement in the proliferation and apoptosis in an in vitro model of conditionally immortalized human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:973–981
- Iijima M, Mihara K, Kondo T, Tsuji T, Ishioka C, Namba M (1966) Mutation in p53 and de-regulation of p53-related gene expression in three human cell lines immortalized with 4-nitroquinoline 1-oxide or ⁶⁰Co gamma rays. *Int J Cancer* 66:698–702
- Imai SI, Kitano H (1998) Heterochromatin islands and their dynamic reorganization: a hypothesis for three distinctive features of cellular aging. *Exp Gerontol* 33:555–570
- Jacks T, Remington L, Williams BO, et al (1994) Tumor spectrum analysis in p53-mutant mice. *Curr Biol* 4:1–7
- Jazwinski SM (1993) The genetics of aging in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetica* 91:35–51
- Jazwinski SM (1996) Models of aging: invertebrates, filamentous fungi, and yeasts. In: Birren JE (ed) *Encyclopedia of gerontology*, vol 2. Acad Press, San Diego, pp 151–161
- Jazwinski SM (1998) Genetics of longevity. *Exp Gerontol* 33:773–783
- Jazwinski SM (1999) Longevity, genes, and aging: a view provided by a genetic model system. *Exp Gerontol* 34:1–6
- Jazwinski SM (2000) Coordination of metabolic activity and stress resistance in yeast longevity. In: Hekimi S (ed) *The molecular genetics of aging*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 21–44

- Jian-Gang Z et al (1998) Apolipoprotein E and longevity among Han Chinese population. *Mech Ageing Dev* 104:159–167
- Johansson CB, Momma S, Lendahl U, Frisen J (1999) Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. *Cell* 96:25–34
- Kaneko H, Orii KO, Matsui E, Shimozaawa N, Fukao T, Matsumoto T et al (1997) BLM (the causative gene of Bloom syndrome) protein translocation into the nucleus by a nuclear localization signal. *Biochem Biophys Res Commun* 240:348–353
- Karow JK, Chakraverty RK, Hickson ID (1997) The Bloom's syndrome gene product is a 3'-5'-DNA helicase. *J. Biol Chem* 272:30611–30614
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR (1972) Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Brit J Cancer* 26:239–257
- Kerr JF, Winterford CM, Harmon PV (1994) Apoptosis: its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 73:2013–2026
- Khasigov PC, Nikolaev AY (1987) Age-related changes in the rates of polypeptide chain elongation. *Biochem Int* 15:1171–1178
- Kimura KD, Tissenbaum HA, Liu Y, Ruvkun G (1997) Daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 277:942–946
- Kirkwood TBL (1985) Comparative evolutionary aspects of longevity. In: Finch CE, Schneider EL (eds) *Handbook of the biology of aging*, 2nd ed. Van Nostrand, New York, pp 27–45
- Kirkwood TBL (1991) Genetic basis of limited cell proliferation. *Mutat Res* 256:323–328
- Kirkwood TBL (2001a) *Aging vulnerability: causes and interventions*. Wiley, Chichester
- Kirkwood TBL (2001b) *An atlas of aging*. Parthenon, London
- Kirkwood TBL (2001c) *The end of age*. Profile, London
- Kirkwood TBL, Austad SN (2000) Why do we age? *Nature* 408:233–238
- Kirkwood TBL et al (1996) Cell maintenance and stress response in ageing and longevity. In: Rattan SIS, Toussaint O (eds) *Molecular gerontology*. Plenum Press, New York, pp 193–200
- Kitano H, Imai SI (1998) The two process model of cellular aging. *Exp Gerontol* 33:393–419
- Kiyono T, Foster SA, Koop JI, McDougall JK, Galloway DA, Klingelhutz AJ (1998) Both Rb/p16 INK4a inactivation and telomerase activity required to immortalize human epithelial cells. *Nature* 396:84–88
- Klass M, Hirsh D (1976) Non-ageing developmental variant of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 260:523–525
- Kohn RR, Cerami A, Monnier V (1984) Collagen aging in vitro by nonenzymatic glycosylation and browning. *Diabetes* 33:57–59
- Kruk PA, Rampino NJ, Bohr VA (1995) DNA damage and repair in telomeres: relation to aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:258–262
- Kuro-o M et al (1997) Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling aging. *Nature* 390:45–51
- Lakowski B, Hekimi S (1996) Determination of life-span in *Caenorhabditis elegans* by four clock genes. *Science* 272:1010–1013
- Lanza RP et al (2000) Extension of cell life-span and telomere length in animals cloned from senescent somatic cells. *Science* 288:665–669
- Lebel M, Leder P (1998) A deletion within the murine Werner syndrome helicase induces sensitivity to inhibitors of topoisomerase and loss of cellular proliferative capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:13097–13102
- Lecka-Czernik B, Moerman EJ, Jones RA, Goldstein S (1996) Identification of gene sequences overexpressed in senescent and Werner syndrome human fibroblasts. *Exp Gerontol* 31:159–174
- Lee AT, Cerami A (1992) Role of glycation in aging. *Ann NY Acad Sci* 663:63–70
- Li L, Bales ES, Peterson CA, Legerski RJ (1993) Characterization of molecular defects in xeroderma pigmentosum group C. *Nat Genet* 5:413–417
- Lichtig C, Levy J, Gershon D, Reznick AZ (1987) Effect of aging and exercise on the kidney. *Gerontology* 33:40–48
- Lin J-Y, Seroude L, Benzer S (1998) Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant methuselah. *Science* 282:943–946
- Lin K, Dorman JB, Rodan A, Kenyon C (1997) Daf-16: an HNF3/forkhead family member that can function to double the life-span of *Caenorhabditis elegans*. *Science* 278:1319–1322
- Lindsey J, McGill NI, Lindsey LA, Green DK, Cooke HJ (1991) In vivo loss of telomeric repeats with age in humans. *Mutat Res* 256:45–48
- Lipman JM, Turturro A, Hart RW (1989) The influence of dietary restriction on DNA repair in rodents: a preliminary study. *Mech Ageing Dev* 48:135–143
- Liu A-Y, Lin Z, Choi HS, Sorhage F, Li B (1989) Attenuated induction of heat shock gene expression in aging diploid fibroblasts. *J Biol Chem* 264:12037–12045
- Louda N, Niedermüller H (1994) Age changes within the genome. In: Knook DL, Hafecker G (eds) *Aspects of aging and disease*. Vienna aging series, vol 4. Facultas, Wien, pp 61–70
- Macieira-Coelho A (1995a) Reorganization of the genome during aging of proliferative cell compartments. In: Macieira-Coelho A (ed) *Molecular basis of aging*. CRC Press, Boca Raton, pp 21–70
- Macieira-Coelho A (1995b) Structural changes modifying the intracellular flow of information. In: Macieira-Coelho A (ed) *Molecular basis of aging*. CRC Press, Boca Raton, pp 307–326
- Macieira-Coelho A, Pontén J, Phillipson L (1966) The division cycle and RNA synthesis in diploid human cells at different passage levels in vitro. *Exp Cell Res* 42:673–684
- Maeda T, Sato K, Minami H, Taguchi H, Yoshikawa K (1995) Chronological difference in walking impairment among Japanese group A xeroderma pigmentosum (XP-A) patients with various combinations of mutation sites. *Clin Genet* 48:225–231
- Magnuson VL, Young M, Schalterberg DG, Mancini MA, Chen D, Steffensen B, Kleba RJ (1991) Is alternative splicing of fibronectin pre-mRNA altered during aging and in response to growth factors? *J Biol Chem* 266:14654–14657
- Makarov VL, Hirose Y, Langmore JP (1997) Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. *Cell* 88:657–666
- Martin GM (1990) Segmental and unimodal progeroid syndromes of man. In: Harrison DE (ed) *Genetic effects on aging II*. Telford, Caldwell, pp 493–519
- Martin GM (1991) Genetic and environmental modulations of chromosomal stability: their roles in aging and oncogenesis. *Ann NY Acad Sci* 621:401–417

- Masoro E (1988) Food restriction in rodents: an evaluation of its role in the study of aging. *J Gerontol* 43:59–64
- Masoro E (1989) Overview of the effect of food restriction. In: Snyder DL (ed) *Dietary restriction and aging*. Liss, New York, pp 27–35
- Masoro EJ (1996) Models of aging: vertebrates. In: Birren JE (ed) *Encyclopedia of gerontology*. Acad Press, San Diego, pp 163–170
- Masoro NJ (1998) Influence of caloric intake on aging and on the response to stressors. *J Toxicol Environ Health* 1:243–257
- Matsumoto T, Shimamoto A, Goto M, Furuichi Y (1997) Impaired nuclear localization of defective DNA helicases in Werner's syndrome. *Nat Genet* 16:335–336
- Matsuoka K, Takenawa T (1998) Downregulated expression of the signaling molecules Nck, c-Crk, Grb2/Ash, PI 3-kinase p110 alpha and WRN during fibroblast aging in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1401:211–215
- Mays-Hoopers LL (1985) Macromolecular methylation during aging. *Rev Biol Res Aging* 2:361–393
- Mays-Hoopers LL (1989) Age related changes in DNA methylation. Do they represent continued developmental changes? *Int Rev Cytol* 114:181–220
- McElligott R, Wellinger RJ (1997) The terminal DNA structure of mammalian chromosomes. *EMBO J* 16:3705–3714
- McCay C, Crowell M, Maynard L (1935) The effect of retarded growth upon the length of lifespan and upon the ultimate body size. *J Nutr* 10:63–79
- McClernan GE (1996) Markers of aging. In: Birren JE (ed) *Encyclopedia of gerontology*. Acad Press, San Diego, pp 97–105
- Medawar PB (1952) *An unsolved problem of biology*. Lewis, London
- Medcalf AS, Klein-Szanto AJ, Cristofalo VJ (1996) Expression of p21 is not required for senescence in human fibroblasts. *Cancer Research* 56:4582–4585
- Medvedev ZA (1986) Age-related changes of transcription and RNA processing. In: Platt D (ed) *Drugs and aging*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 1–19
- Merry BJ, Holehan AM (1991) Effect of age and restricted feeding on polypeptide chain assembly kinetics in liver protein synthesis in vivo. *Mech Ageing Dev* 58:139–150
- Miller RA (1999) Kleemeir award lecture: are there genes for aging? *J Gerontol* 54A:B297–B307
- Milman N, Graudel N, Andersen HC (1988) Acute phase reactants in the elderly. *Clin Chem Acta* 176:59–61
- Miquel J (1995) Role of mitochondria in cell aging. In: Macieira-Coelho A (ed) *Molecular basis of aging*. CRC Press, Boca Raton, pp 219–233
- Modrich P (1995) Mismatch repair, genetic stability, and cancer. *Science* 266:1959–1960
- Morris JZ, Tissenbaum HA, Ruvkun G (1996) A phosphatidylinositol-3-OH kinase family member regulating longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 382:536–539
- Muggleton-Harris AL, Hayflick L (1976) Cellular aging studied by the reconstruction of replicating cells from nuclei and cytoplasmas isolated from normal human diploid cells. *Exp Cell Res* 103:321–330
- Muggleton-Harris AL, DeSimone DW (1980) Replicative potentials of fusion products between WI 38 and SV40-transformed WI38 cells and their components. *Somat Cell Gen* 6:689–698
- Müller WE, Agutter PS, Schröder HC (1995) Transport of mRNA into the cytoplasm. In: Macieira-Coelho A (ed) *Molecular basis of aging*. CRC Press, Boca Raton, pp 353–388
- Munkres KD, Furtek C (1984) Linkage of conidial longevity determinant genes in *Neurospora crassa*. *Mech Ageing Dev* 25:63–77
- Murakami S, Johnson TE (1998) Life extension and stress resistance in *Caenorhabditis elegans* modulated by the *trk-1* gene. *Curr Biol* 8:1091–1094
- Murano S, Thweatt R, Shmookler Reis RJ, Jones RA, Moerman EJ, Goldstein S (1991) Diverse gene sequences are overexpressed in Werner syndrome fibroblasts undergoing premature replicative senescence. *Mol Cell Biol* 11:3905–3914
- Nair J, Barbin A, Guichard Y, Bartsch H (1995) 1,N⁶-ethenodeoxyadenosine and 3,N⁴-ethenodeoxycytidine in liver DNA from humans and untreated rodents detected by immunoaffinity/³²P-postlabelling. *Carcinogenesis* 16:613–617
- Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW (1996) Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 726:49–56
- Niedermüller H (1985) DNA repair during aging. In: Sohal RS, Birnbaum LS, Cutler RG (eds) *Molecular biology of aging. Gene stability and gene expression*. Raven Press, New York, pp 173–193
- Niedermüller H (1995) DNA repair during aging. In: Macieira-Coelho A (ed) *Molecular basis of aging*. CRC Press, Boca Raton, pp 137–182
- Niedermüller H, Hofecker G (1994) Ist die Selektion auf höhere Lebenserwartung durch einen gesetzmäßigen Alternsprozess möglich? *Z Gerontol* 27:166–171
- Niedermüller H, Hofecker G, Skalicky M (1986) Wirkungsmechanismen von subcutan implantiertem fetalem Gewebe bei der Ratte. *Cytobiol Rev* 3:111–121
- Nigro JM et al (1989) Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 342:705–708
- Noble RJ, Rogan EM, Neumann AA, Maclean K, Bryan TM, Reddel RR (1996) Association of extended in vitro proliferative potential with loss of p16 INK4 expression. *Oncogene* 13:1259–1268
- Noda A, Ning Y, Venable SF, Pereira-Smith OM, Smith JR (1994) Cloning of senescent cell-derived inhibitors of DNA synthesis using an expression screen. *Exp Cell Res* 211:90–98
- Ogden DA, Micklem HS (1976) The fate of serially transplanted bone marrow cell populations from young and old donors. *Transplantation* 22:287–293
- Okada M, Goto M, Furuichi Y, Sugimoto M (1998) Differential effects of cytotoxic drugs on mortal and immortalized B-lymphoblastoid cell lines from normal and Werner's syndrome patients. *Biol Pharm Bull* 21:235–239
- Olovnikov AM (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides. *Dokl Acad Nauk* 201:1496–1499
- Osawa M, Hanada K-I, Hamada H, Nakauchi H (1996) Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 273:242–245
- Pantoja C, Serrano M (1999) Murine fibroblasts lacking p21 undergo senescence and are resistant to transformation by oncogenic ras. *Oncogene* 18:4974–4982
- Park WY, Hwang CI, Kang MJ et al (2001) Gene profile of replicative senescence is different from progeria or elderly donor. *Biochem Biophys Res Comm* 282:934–939

- Partridge L, Prowse N, Pignatelli P (1999) Another set of responses and correlated responses to selection of age of reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 266:255–261
- Paulsson Y et al (1986) Growth factors induce early pre-replicative changes in senescent human fibroblasts. *EMBO J* 5:2157–2162
- Pereira-Smith OM, Smith JR (1981) Expression of SV40 T antigen in finite lifespan hybrids of normal SV40 transformed fibroblasts. *Somat Cell Gen* 7:411–421
- Pierpaoli W, Dall'Ara A, Pedrinis E, Regelson W (1991) The pineal control of aging. The effects of melatonin and pineal grafting on the survival of older mice. *Ann NY Acad Sci* 621:291–313
- Pipkin JL et al (1997) p53 synthesis and phosphorylation in the aging diet-restricted rat following retinoic acid administration. *Mech Ageing Dev* 97:15–34
- Pontén J, Stein WD, Shall S (1983) A quantitative analysis of the ageing of human glial cells in culture. *J Cell Physiol* 117:342–352
- Psarras PD, Kletsas D, Stathakos D (1994) Restoration of down-regulated PDGF receptors by TGF- β in human embryonic fibroblasts. Enhanced response during cellular in vitro aging. *FEBS Lett* 339:84–88
- Quellette MM, McDaniel LD, Wright WE, Shay JW, Schultz RA (2000) The establishment of telomerase-immortalized cell lines representing human chromosome instability syndromes. *Hum Mol Genet* 9:403–411
- Rattan SIS (1992) Regulation of protein synthesis during aging. *Eur J Gerontol* 1:128–136
- Rattan SIS (1995a) Gerontogenes: real or virtual. *FASEB J* 9:284–286
- Rattan SIS (1995b) Translation and post-translational modifications during aging. In: Macieira-Coelho A (ed) *Molecular basis of aging*. CRC Press, Boca Raton, pp 389–420
- Rattan SIS (1996) Synthesis, modifications and turnover of proteins during aging. *Exp Gerontol* 31:33–47
- Rattan SIS (1998a) Is gene therapy for aging possible? *Ind J Exp Biol* 36:233–236
- Rattan SIS (1998b) The nature of gerontogenes and vitagenes. Antiaging effects of repeated heat shock on human fibroblasts. *Ann NY Acad Sci USA* 854:54–60
- Rattan SIS (2001) From vitagenes to gerontogenes and the other way around: research strategies. In: Bertoni-Fredari C, Niedermüller H (eds) *Current concepts in experimental gerontology*. Vienna Aging Series, vol 6. Facultas, Wien, pp 15–22
- Rattan SIS, Derventzi A, Clark BFC (1992) Protein synthesis, post-translational modifications and aging. *Ann NY Acad Sci* 663:48–62
- Reed JC (1994) Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 124:1–6
- Reenstra WR, Yaar M, Gilchrist BA (1993) Effect of donor age on epidermal growth factor processing in man. *Exp Cell Res* 209:118–122
- Regelson W (1983) The evidence for pituitary and thyroid control of aging: is aging reversal, a myth or reality? The search for a „death hormone“. In: Regelson W, Sinex FM (eds). Alan Liss, New York, pp 3–52
- Richardson A, Semsei I (1987) Effects of aging on translation and transcription. *Rev Biol Res Aging* 3:467–483
- Rogan EM et al (1995) Alterations in p53 and p16 INK4a expression and telomere length during spontaneous immortalization of Li-Fraumeni syndrome fibroblasts. *Mol Cell Biol* 15:4745–4753
- Rosen R (1975) Biological systems as paradigms for adaptation. In: Day RH, Groves T (eds) *Adaptive economic models*. Acad Press, New York, pp 39–72
- Roth GS (1997) Age changes in signal transduction and gene expression. *Mech Ageing Dev* 98:231–238
- Russel ES (1978) Genetic origins and some research uses C57BL/6, DBA/2 and B6D2F1 mice. In: Gibson DC, Adelman RC, Finch CE (eds) *NIH Publication*. DNEW, Bethesda, pp 37–44
- Salk D (1982) Werner's syndrome: a review of recent research with an analysis of connective tissue metabolism, growth control of cultured cells, and chromosomal aberrations. *Hum Genet* 62:1–5
- Schächter F et al (1994) Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nat Genet* 6:29–32
- Schmutte C, Yang AS, Beart RW, Jones PA (1995) Base excision repair of U:G mismatches at a mutational hotspot in the p53 gene is more efficient than base excision repair of T:G mismatches in extracts of human colon tumors. *Cancer Res* 55:3742–3746
- Schröder HC, Ugarkovic D, Müller WE, Mizushima H, Nemoto F, Kuchino Y (1992) Increased expression of UAG suppressor tRNA in aged mice: consequences for retroviral gene expression. *Eur J Gerontol* 1:452–457
- Serrano M, Hannon GJ, Beach D (1993) A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/Cdk4. *Nature* 366:704–707
- Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW (1997) Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation on p53 and p16 INK4. *Cell* 88:593–602
- Seshadri T, Campisi J (1990) Repression of c-fos transcription and an altered genetic program in senescent human fibroblasts. *Science* 247:205–209
- Shanley DP, Kirkwood TB (2000) Calorie restriction and aging: a life history analysis. *Evolution* 54:740–750
- Shay JW, Pereira-Smith OM, Wright WE (1991) A role for both RB and p53 regulation of human cellular senescence. *Exp Cell Res* 196:33–40
- Shay JW, Werbin H (1992) New evidence for the insertion of mitochondrial DNA into the human genome: significance for cancer and aging. *Mutat Res* 275:227–235
- Shay JW (1998) Accelerated telomere shortening in bone-marrow recipients. *Lancet* 351:153–154
- Shepherd JC, Walldorf U, Hug P, Gehring WJ (1989) Fruit-flies with additional expression of the elongation factor EF1 α live longer. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:7520–7521
- Shiels PG, Kind AJ, Campbell KH, Waddington D, Wilmut I, Colman A, Schnieke AE (1999) Analysis of telomere length in cloned sheep. *Nature* 399:316–317
- Sierra F, Fey GH, Guigoz Y (1989) T-kininogen expression is induced during aging. *Mol Cell Biol* 9:5610–5613
- Sinclair DA, Mills K, Guarente L (1997) Accelerated aging and nucleolar fragmentation in yeast *sgs1* mutants. *Science* 277:1313–1316
- Singh S, Kanungo MS (1991) DNase I hypersensitive sites of the 5' region of the fibronectin gene of the liver of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 181:131–135
- Singh S, Kanungo MS (1993) Changes in expression and CRE binding proteins of the fibronectin gene during aging of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 193:440–445
- Sirover MA, Vollberg TM, Seal G (1990) DNA repair and the molecular mechanisms of Bloom's syndrome. *Crit Rev Oncog* 2:19–33

- Skalicky M, Viidik A (1999) Comparison between continuous and intermittent physical exercise on aging rats: changes in patterns of spontaneous activity and connective tissue stability. *Aging* 11:227–234
- Slagboom PE, Vijg J (1989) Genetic instability and aging: theories, facts and future perspectives. *Genome* 31:373–385
- Smith JR, Whitney RG (1980) Intracloonal variation in proliferative potential of human diploid fibroblasts: stochastic mechanism for cellular aging. *Science* 207:82–84
- Stadtman ER (1992) Protein oxidation and aging. *Science* 257:1220–1224
- Stearns SC, Kaiser M (1993 a) The effect of enhanced expression of elongation factor EF1- α on lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Genetica* 91:158–166
- Stearns SC, Kaiser M (1993 b) The effects of enhanced expression of elongation factor EF1- α on lifespan of *Drosophila melanogaster*. IV. A summary of three experiments. *Genetica* 91:167–182
- Stefanini M, Vermeulen W, Weeda G, Giliani S, Nardo T, Mezzina M et al (1993) A new nucleotide-excision-repair gene associated with the disorder trichothiodystrophy. *Am J Hum Genet* 53:817–821
- Stein GH, Dulic V (1995) Origins of G1 arrest in senescent human fibroblasts. *Bio Assay* 17:537–543
- Stein GH, Beeson M, Gordon L (1990) Failure to phosphorylate the retinoblastoma gene product in senescent human fibroblasts. *Science* 249:666–669
- Stein G, Drullinger LF, Soulard A, Dulić V (1999) Differential roles for cyclin-dependent kinase inhibitors p21 and p16 in the mechanism of senescence and differentiation in human fibroblasts. *Mol Cell Biol* 19:2109–2117
- Sugasawa K, Ng JM, Masutani C, Iwai S, Spek van der PJ, Eker AP et al (1998) Xeroderma pigmentosum group C protein complex is the initiator of global genome nucleotide excision repair. *Mol Cell* 2:223–232
- Swim HE, Parker RF (1957) Culture characteristics of human fibroblasts propagated serially. *Am J Hygiene* 66:235–243
- Takahashi R, Mori N, Goto S (1985) Alteration of aminoacyl-tRNA synthetases with age: accumulation of heat-labile molecules in rat liver, kidney and brain. *Mech Ageing Dev* 33:67–75
- Tice RR, Setlow RB (1985) DNA repair and replication in aging organisms and cells. In: Finch CE, Schneider EL (eds) *Handbook of the biology of aging*, Van Nostrand Reinhold, New York, pp 173–224
- Tolmasoff JM, Ohno T, Cutler RG (1980) Superoxide dismutase: correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:2777–2781
- Troelstra C, Gool van A, Wit de J, Vermeulen W, Bootsma D, Hoeijmakers JH (1992) ERCC6, a member of a subfamily of putative helicases, is involved in Cockayne's syndrome and preferential repair of active genes. *Cell* 71:939–953
- Van de Peer Y, Jansen J, De Rijk P, De Wachter R (1997) Database on the structure of small ribosomal subunit RNA. *Nucleic Acids Res* 25:111–116
- Van Duin M et al (1988) Evolution and mutagenesis of the mammalian excision repair gene ERCC-1. *Nucleic Acids Res* 16:5305–5322
- Van Voorheis WA, Ward S (1999) Genetic and environmental conditions that increase longevity in *Caenorhabditis elegans* decrease metabolic rate. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:11399–11403
- Van Zant G, Holland BP, Eldridge PW, Chen J-J (1990) Genotype-restricted growth and aging patterns in hematopoietic stem cell populations of allophenic mice. *J Exp Med* 171:1547–1565
- Veletzky S, Skalicky M, Hofecker G (1990) Non-enzymatic glycosylation as a possible mechanism of collagen aging. In: Robert L, Hofecker G (eds) *The theoretical basis of aging research*. Vienna Aging Series, vol 2. Facultas, Wien, pp 169–176
- Venable ME, Blobel GC, Obeid LM (1994) Identification of a defect in the phospholipase D/diacylglycerol pathway in cellular senescence. *J Biol Chem* 269:26040–26044
- Walford RL, Spindler SR (1997) The response to calorie restriction in mammals shows features also common to hibernation: a cross-adaption hypothesis. *J Gerontol* 52:179–183
- Walker DW, McColl G, Jenkins NL, Harris J, Lithgow GJ (2000) Evolution of lifespan in *C. elegans*. *Nature* 405:296–297
- Walker NI, Harmon BV, Gobe GC, Kerr JFR (1988) Patterns of cell death. *Methods Archive Exp Pathol* 113:18–54
- Wang E (1995) Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl-2 is involved. *Cancer Res* 55:2284–2292
- Webb DK, Evans MK, Bohr VA (1996) DNA repair fine structure in Werner's syndrome cell lines. *Exp Cell Res* 224:272–278
- Webster GC (1985) Protein synthesis in aging organisms. In: Sohal RS, Birnbaum LS, Cutler RG (eds) *Molecular biology of aging: gene stability and gene expression*. Raven Press, New York, pp 263–289
- Webster GC (1986) Effect of aging on the components of the protein synthesis system. In: Collatz KG, Sohal RS (eds) *Insect aging*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 207–216
- Weeda G, Eveno E, Donker I, Vermeulen W, Chevallier-Lagente O, Taieb A et al (1997 a) A mutation in the XPB/ERCC3 DNA repair transcription gene, associated with trichothiodystrophy. *Am J Hum Genet* 60:320–329
- Weeda G, Rossignol M, Fraser RA, Winkler GS, Vermeulen W, van't Veer LJ et al (1997 b) The XPB subunit of repair/transcription factor TFIIH directly interacts with SUG1, a subunit of the 26S proteasome and putative transcription factor. *Nucleic Acids Res* 25:2274–2283
- Weindruch RH, Kristie JA, Cheney K, Walford RL (1979) The influence of controlled dietary restriction on immunologic function and aging. *Fed Proc* 38:2007–2015
- Weindruch RH, Walford RL (1988) *The retardation of aging and disease by dietary restriction*. Thomas, Springfield
- Weissman IL (2000) Stem cells: units of development, units of regeneration, and units of evolution. *Cell* 100:157–168
- Williams GC (1957) Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. *Evolution* 11:398–411
- Wilson VL, Jones PA (1983) DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells. *Science* 220:1055–1057
- Wilson VL, Smith RA, Ma S, Cutler RG (1987) Genomic 5-methyl deoxycytidine decreases with age. *J Biol Chem* 262:9948–9951
- Wyllie AH (1994) Apoptosis: death gets a brake. *Nature* 369:272–273
- Wynford-Thomas D (1996) p53: guardian of cellular senescence. *J Pathol* 180:118–121
- Wynn RF, Cross MA, Hatton C, Will AM, Lashford LS, Dexter TM, Testa NG (1998) Accelerated telomere shortening

- in young recipients of allogeneic bone-marrow transplants. *Lancet* 351:178–181
- Yan H, Chen CY, Kobayashi R, Newport J (1998) Replication focus-forming activity 1 and the Werner syndrome gene product. *Nat Genet* 19:375–378
- Yan SD et al (1994) Glycated tau protein in Alzheimer disease: a mechanism for induction of oxidant stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:7787–7791
- Yang Y, Wilson DL (1999) Characterization of life-extending mutation in age-2, a new aging gene in *Caenorhabditis elegans*. *J Gerontol* 54A:137–142
- Ye L, Miki T, Nakura J, Oshima J, Kamino K, Rakugi H, et al (1997) Association of a polymorphic variant of the Werner helicase gene with myocardial infarction in a Japanese population. *Am J Med Genet* 68:494–498
- Yu C-E et al (1996) Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* 272:258–262

Molekularmedizinische Grundlagen von
altersspezifischen Erkrankungen

Ganten, D.; Ruckpaul, K. (Hrsg.)

2004, XXXIII, 546 S., Hardcover

ISBN: 978-3-540-00858-3