

Sabine Müller

Zelluläre Mechanismen des Alterns: DNA-Schäden und Telomerenverkürzung

Warum altern Pflanzen, Tiere und der Mensch, und wie geschieht das? Der Mechanismus des Alterns hat schon viele Wissenschaftler beschäftigt, und seit Beginn des letzten Jahrhunderts sind verschiedene Alterstheorien aufgestellt und diskutiert worden. Eine frühe Sichtweise der 20er Jahre geht davon aus, dass die Stoffwechselrate den Alterungsprozess wesentlich beeinflusst (*Rate of living-Theorie*). Für die Fruchtfliege *Drosophila* wurde beispielsweise gefunden, dass die Lebensdauer invers proportional zu Temperaturveränderungen ist. Als logische Schlussfolgerung hat man postuliert, dass sich bei höheren Temperaturen und einer damit einhergehenden erhöhten Stoffwechselrate die Lebensdauer deutlich verringert. Einige Jahre später entwickelte sich die *Radikaltheorie des Alterns*.^{2,3} Diese beruht auf der Beobachtung, dass eine erhöhte Stoffwechselrate mit der erhöhten Produktion von zellschädigenden Radikalen (*reactive oxygen species*: ROS) einhergeht. Das führt zur Schädigung der zellulären Strukturen, was wiederum die Seneszenz der Zelle oder deren programmierten Zelltod (Apoptose) bewirken kann. Basierend auf dieser Theorie könnte man Altern molekular betrachtet als einen Prozess beschreiben, der mit dem Verschleiß biomolekularer Funktionselemente einhergeht und sich dabei insbesondere auf DNA-Ebene abspielt.

Neben genetischer Prägung und der Akkumulation von DNA-Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) spielt auch die allmähliche Verkürzung der informationslosen Chromosomenenden (Telomere) in proliferierenden Zellen eine wichtige Rolle. Die Telomerenverkürzung wurde Ende des letzten Jahrhunderts als ein weiterer Faktor des Alterungsprozesses beschrieben. Bei jeder Replikationsrunde werden die Enden der DNA-Stränge aus mechanistischen Gründen nicht komplett

verdoppelt, was die sukzessive Verkürzung der Telomere über die Zeit bedingt. Mit zunehmendem Alter sind die Telomere soweit verkürzt, dass weitere Replikationsrunden auch eine Verkürzung der informationstragenden Abschnitte des DNA-Stranges bewirken, was zu Schäden und Funktionsverlust, und schließlich zum Zelltod führen kann. Telomerenverkürzung und die Akkumulation von Schäden werden häufig als eine Art Sanduhren der Zelle beschrieben, die deren Lebensdauer bestimmen.⁴

Als weitere Faktoren, die den Alterungsprozess beeinflussen, werden Art und Menge der Nahrung angeführt sowie insbesondere in den letzten Jahren genetische Faktoren, die beispielsweise die Stressresistenz der Zelle, die Reparatur von DNA-Schäden und antioxidative Wirkmechanismen bestimmen. Darauf basierend wird heute die allgemein akzeptierte These vertreten, dass Altern ein programmierter art- und zellspezifischer Prozess ist, der auf dem Zusammenspiel mehrerer Mechanismen beruht.

Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS)

Wie erwähnt, wird als eine Ursache des zellulären Alterns insbesondere die Akkumulation von DNA-Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) gesehen. Diese werden durch externe Faktoren wie Metalle, Strahlung oder verschiedene Chemikalien induziert, können aber auch endogen, also in der Zelle, produziert werden. Neben bestimmten Enzymen oder Entzündungsprozessen spielt dabei vor allem die Zellatmung eine entscheidende Rolle. Die Zellatmung findet in der inneren Membran der Mitochondrien statt und dient der Bereitstellung von Energie in Form von Adenosintriphosphat. Die Mitochondrien gelten als die stärkste Quelle für endogene ROS, da dort für die ATP-Synthese (oxidative Phosphorylierung) Elektronen von reduziertem Nicotinsäureadeninucleotid (NADH) über mehrere Stufen auf molekularen Sauerstoff übertragen werden. Wenn zwischen der Geschwindigkeit, mit der Elektronen in die Atmungskette gelangen, und der Geschwindigkeit, mit der sie durch die Atmungskette befördert werden, ein Ungleichgewicht besteht, dann steigt die Produktion von ROS. Ein lokaler Elektronenüberschuss führt zunächst zur Bildung von Superoxidanionenradikalen (O_2^-), die im weiteren Verlauf zu Wasserstoff-

peroxid (H_2O_2) und O_2 umgewandelt werden. H_2O_2 wird zu H_2O und O_2 abgebaut. In Gegenwart von Fe^{2+} , welches bei hoher Konzentration von Superoxidanionenradikalen aus Eisen-Schwefel-Proteinen freigesetzt wird, können jedoch auch Hydroxylradikale ($\cdot\text{OH}$) entstehen. Die gebildeten Superoxid- und Hydroxylradikale sind Ursache von DNA-Schäden. Da sie in der inneren Mitochondrienmembran gebildet werden, sind insbesondere Schädigungen der mitochondrialen DNA zu beobachten. Im mitochondrialen Genom des Menschen wurde beispielsweise eine altersabhängige Akkumulation der Deletion von 4977 Basenpaaren des ringförmigen Chromosoms beobachtet, die besonders ausgeprägt in Herzmuskel- und Hirnzellen ist.^{5,6} Schädigungen können auch Gene betreffen, die für Proteine der Atmungskette kodieren, was zu einer positiven Rückkopplungsschleife führt, da die defekten Proteine zu einem verstärkten Ungleichgewicht beim Elektronentransport in der Atmungskette sorgen. Das wiederum führt zur vermehrten ROS-Bildung und schließlich zu einer exponentiellen Erhöhung von ROS-Schäden mit der Zeit.⁵

Akkumulation von DNA-Schäden

Die Entstehung der Sauerstoffradikale durch die Zellatmung wird auch als oxidativer Stress bezeichnet. Die Akkumulation von DNA-Schäden vor allem durch oxidativen Stress wird als eine entscheidende Ursache für zelluläres Altern gesehen.⁷ Einzel- und Doppelstrangbrüche, die Bildung von DNA-DNA-, DNA-Protein- und DNA-Lipid-Addukten sowie Basenmodifikationen gehören zum Spektrum der induzierten Schädigungen. Mehr als 100 verschiedene oxidative Basenmodifikationen sind beschrieben worden, wobei die Zahl der durch ROS verursachten oxidativen Schäden auf 10^4 bis 10^5 pro Zelle und Tag geschätzt wird.⁸ Dabei wurden starke Hinweise auf eine altersabhängige Akkumulation von oxidativen DNA-Schäden in verschiedenen Geweben von Nagern gefunden. Interessanterweise verläuft die altersabhängige Akkumulation weitgehend linear, während in hohem Alter eine exponentielle Zunahme gemessen wurde.⁹ Die Radikaltheorie des Alterns wird durch eine Reihe weiterer experimenteller Befunden unterstützt. Beispielsweise wurde eine negative Korrelation gefunden zwischen der H_2O_2 -Produktion in der Leber pro Minute und mg Protein einerseits

und der Lebensdauer der zugehörigen Tiere andererseits.¹⁰ Umgekehrt ergab sich eine positive Korrelation zwischen ROS-Resistenz und Lebensdauer. Die Erhöhung der Expression von mitochondrialen Radikalabbauenden Enzymen wie der manganabhängigen Superoxiddismutase führte zur Erhöhung der Lebensdauer beim Fadenwurm *C. elegans* und bei der Tauffliege *D. melanogaster*.¹¹

Neben oxidativem Stress können auch spontane Veränderungen der DNA-Basen (z.B. Desaminierung bis zu 100-mal pro Tag und Zelle) und Fehlpaarungen während der Replikation zu DNA-Schäden führen. Daneben induzieren auch exogene Faktoren wie UV-, Röntgen- und radioaktive Strahlung oder Tabakrauch Schäden an der DNA. Intensives Sonnenbaden kann bis zu 100 000 Schäden pro Zelle und damit einen Sonnenbrand verursachen.¹² Als häufigster UV-Licht induzierter Schaden treten Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere auf. Zwei auf einem DNA-Strang benachbarte Thymidine werden dabei kovalent über einen Cyclobutan-Ring verbunden. Das führt zur Änderung der räumlichen Struktur der DNA, so dass wechselwirkende Proteine oder andere Interaktionspartner die DNA an diesen Stellen nicht mehr erkennen. Replikation und Transkription kommen zum Erliegen. Zigarettenrauch führt zu 103 bis 104 DNA-Adukten pro Zelle,¹³ und auch radioaktive Strahlung kann eine Reihe von DNA-Schäden, angefangen von DNA-Doppelstrangbrüchen, über Einzelstrangbrüche, Schäden an den Nucleobasen und am Zucker-Phosphat-Rückgrat, bis hin zu DNA-DNA- und DNA-Protein-Quervernetzungen (sog. „Crosslinks“) induzieren.¹⁴

Zahlreiche antioxidative Abwehrmechanismen und andere DNA-Reparaturstrategien wirken der DNA-Schädigung entgegen. Wenn jedoch die Schäden aufgrund ihrer Vielzahl nicht mehr komplett repariert werden können, sind Genveränderungen (Mutationen), die sich in Krankheiten wie Krebs, Hautschädigungen, Gewebetoxizität und Neurodegeneration widerspiegeln, die Folge und tragen maßgeblich zum zellulären Altern bei.

Telomerenverkürzung

Wie bereits erwähnt, gilt die allmähliche Verkürzung der Chromosomenenden (Telomere) in proliferierenden Zellen als ein weiterer Faktor des Alterungsprozesses. Mit dem Begriff Telomer wird das fadenförmige

ge nicht codierende Ende der Chromosomen bezeichnet, das aus einer langen Reihe von Wiederholungen immer der gleichen Bausteinabfolge besteht. Beim Menschen handelt es sich um Wiederholungen der Sequenz (TTAGGG)_n, die Tausende von Basenpaaren umfassen kann.

Telomere haben zwei wichtige Funktionen. Zum einen stabilisieren sie die Chromosomenenden, zum anderen spielen Telomere eine wichtige Rolle bei der DNA-Replikation. Bedingt durch den semi-konservativen Mechanismus der Replikation benötigt die DNA-Polymerase RNA-Primer, die die stückweise Synthese eines der beiden Tochterstränge in 5'→3'-Richtung einleiten. Die RNA-Primer werden anschließend abgebaut und durch DNA ersetzt. Am äußersten 3'-Ende kann der RNA-Primer aus mechanistischen Gründen nicht ersetzt werden, so dass der neu synthetisierte Strang um 25–200 Basen verkürzt ist. Somit würden bei jeder Zellteilung genetische Informationen verloren gehen. Dieser Verlust ist unkritisch, solange das restliche Telomer eine bestimmte Länge nicht unterschreitet, da Telomere keine entscheidende genetische Information tragen. Die Telomere werden mit der Zahl der Replikationszyklen immer kürzer, bis schließlich auch die informationstragenden Teile der Chromosomen beschädigt werden bzw. die Chromosomenstabilität beeinträchtigt wird. Das kann zur Instabilität des Genoms und zur proliferativen Seneszenz der Zelle bzw. zum programmierten Zelltod führen. Das geschieht hauptsächlich bei proliferierenden Zellen, während Keimbahn-, Stamm- und Krebszellen ein Enzym (Telomerase) produzieren, das die Telomere nach jeder Replikationsrunde wieder verlängert. Die Länge der Telomere scheint die Anzahl der möglichen Teilungen der Zelle zu bestimmen, was auch als „mitotic“ oder „molecular clock“ bezeichnet wird.¹⁵

Die Telomerase ist ein Enzym, welches aus einem Protein- und einem RNA-Anteil besteht. Es ist eine reverse Transkriptase und nutzt den RNA-Anteil als Matrize zur Neusynthese von DNA. Die Aktivität der Telomerase ist mitentscheidend für die „Fitness“ der Zelle und ihre Fähigkeit sich zu teilen. In den meisten somatischen Zellen ist die Aktivität der Telomerase nicht nachweisbar. Aktiv ist die Telomerase nur in sich kontinuierlich teilenden Zellen. Keimbahnzellen beispielsweise besitzen von Beginn an Telomeraseaktivität und können somit ihre Telomerlängen über ihre gesamte Lebenszeit erhalten. Stammzellen, wie z.B. epitheliale Basalzellen oder T- und B-Zellen zeigen eine

geringe Telomeraseaktivität, die jedoch ausreichend ist für eine relative Erhaltung der Telomerlängen über die gesamte Lebensdauer des Organismus. Krebszellen besitzen eine hohe Telomeraseaktivität, was ihnen dazu verhilft, sich unendlich oft zu teilen und im Körper zu wuchern.

Es ist also nicht die Telomerlänge allein, die darüber bestimmt, wie oft sich Zellen noch teilen können, sondern ein Zusammenspiel aus beidem: der Telomerlänge und der Menge an Telomerase.

Es ist wissenschaftlich nicht eindeutig bewiesen, inwieweit sich die Telomerenlänge durch innere und äußere Faktoren beeinflussen lässt. Eine beschleunigte Telomerenverkürzung wurde in Lymphozyten beobachtet, als Folge verschiedener Erkrankungen wie HIV, Down-Syndrom oder Arteriosklerose, weiterhin bei psychischem Stress und Entzündungen.¹⁶ Umgekehrt scheint sich eine höhere Aufnahme von Vitamin D positiv auf die Telomerenlänge von menschlichen Leukozyten auszuwirken. In einer Studie mit einer großen Gruppe von Zwillingen fand sich eine positive Korrelation der Konzentration von Vitamin D mit der Telomerenlänge. Der Unterschied zwischen der höchsten und niedrigsten Vitamin D-Konzentration entsprach einem Unterschied in der Telomerenlänge von 107 Basenpaaren, und umgerechnet in „Telomerenalter“ einem Unterschied von etwa fünf Jahren.¹⁷ Entsprechend ließen sich deutlich längere Telomere in Leukozyten von physisch aktiven Menschen beobachten, während Rauchen, ein hoher Body-Mass-Index und ein niedriger sozio-ökonomischer Status die Länge verkürzten.¹⁸

Altern und Lebensdauer werden also durch verschiedene endogene und exogene Faktoren bestimmt. Auf DNA-Ebene sind das zum einen oxidative Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies und deren Akkumulation in postmitotischem Gewebe, zum anderen die Verkürzung der Chromosomenenden bei der Zellteilung. Weiterhin werden Polymorphismen und Defekte in Genen, die im Zusammenhang mit der Reparatur von DNA-Schäden oder der Resistenz gegen schädigende Radikale stehen, als Alterungsfaktor gesehen. Neben den Prozessen, die sich auf der Ebene der DNA abspielen, beeinflussen auch andere Faktoren die zellulären Mechanismen des Alterns. Beispielsweise wurde in Modellorganismen eine Verlängerung der Lebensdauer durch verringerte Nahrungszufuhr beobachtet. Beim Menschen gelten die Befunde allerdings noch als unklar.

Abschließend bleibt festzustellen, dass die eigene zelluläre Abwehr gegen freie Radikale (ROS) ein wichtiger Faktor gegen den Alterungsprozess ist. Neben der eigenen genetischen Prägung sind mit der Nahrung aufgenommene Antioxidantien (Vitamine A, C und E) dafür von entscheidender Bedeutung, ebenso wie eine insgesamt gesunde Ernährung und Bewegung in Freien (Vitamin D-Produktion). Dann können auch die Gene/Chromosomen gesund alt werden.

Quellen

- 1 Pearl, R. The rate of living. Knopf, New York, 1928
- 2 Harmann, D. (1956) *J. Gerontol.* 11, 298–300
- 3 Harmann, D. (1972) *J. Am. Geriatr. Soc.* 20, 145–147
- 4 Rensing, L., Meyer-Grahe, U., Ruoff, P. (2001) *Biol. Unserer Zeit* 31, 305–311.
- 5 Rensing, L., Koch, M., Rippe, V. Mensch im Stress. Psyche, Körper, Moleküle. Spektrum/Elsevier, Heidelberg, 2006
- 6 Rensing, L. et al. (2004) *Blickpunkt der Mann* 2, 7–12.
- 7 Marnett, L.J. (2002) *Toxicology* 181/182, 219–222.
- 8 Rensing, L. & Rippe, V. *Altern*. Springer, Berlin-Heidelberg, 2014.
- 9 Moller, P. et al. (2010) *Free Radic. Biol. Med.*, 48, 1275–1285.
- 10 Barja G. (2004) *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 79, 235–251.
- 11 Orr, W.C. & Sohal, R. S. (1994) *Science* 263, 1128–1130.
- 12 Bykov, V.J. et al., (1998) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7, 199–202.
- 13 *Biomarkers Prev.* 7(3): 199–202, 1998
- 14 Hecht, S.S. (1999) *J. Natl. Cancer Inst.*, 91, 1194–1210.
- 15 Powell, S. & McMillan, T. J. (1990) *Radiother Oncol.* 19, 95–108.
- 16 Allsopp, R. C. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 10114–10118.
- 17 Choi J. et al. (2008) *Brain Behav. Immun.* 22, 600–625.
- 18 Richards, J.B. et al. (2007) *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 1420–1425.
- 19 Cherkas, L.F. et al. (2008) *Arch Intern. Med.* 168, 154–158.

