

***SIRT1* w restrykcji kalorii (*calorie restriction*) –
krok w stronę nieśmiertelności**

Rafał Marszałek

**MINIPROJEKT
KRAKÓW 2006**

"I don't want to achieve immortality through my work...
I want to achieve it through not dying."
Woody Allen

"What do the ancient purveyors of physical immortality all have in common?
They are all dead."
S. Jay Olshansky

Nie ma chyba na świecie religii, która nie zakładałaby nieśmiertelności duszy ludzkiej – jakkolwiek by tego nie nazywano. Bardzo rozsądnie jednak rzadna z nich nie zakłada nieśmiertelności ludzkiego ciała. Nie trzeba bowiem wnikliwego badacza – wystarczy całkiem przeciętny obserwator – aby zauważyć, że w pewnym momencie życia ludzkie ciało zaczyna bardzo przypominać biologiczny śmietnik i złomowisko. Słabe mięśnie, nieelastyczne stawy, kruche kości, słabnący wzrok, niewydolne organy wewnętrzne – trudno jest żyć wiecznie będąc w takim stanie.

Pojawia się pytanie: a co, jeśli by tak nie było? Co, gdyby ludzie mogli utrzymać swoje ciało w takim stanie, w jakim było, gdy mieli 20 lat? Czy wówczas dałoby się, jeśli nie osiągnąć nieśmiertelności, to chociaż stworzyć jej namiastkę poprzez znaczne przedłużenie życia?

Co to znaczy: „starzeć się”?

Żeby odpowiedzieć na zadane w poprzednim akapicie pytanie, trzeba najpierw odpowiedzieć na pytanie: czym jest proces starzenia się?

Teorie ewolucyjne

Istnieje kilka hipotez tłumaczących proces starzenia się za pomocą teorii ewolucji. J.B.S. Haldane oraz P. Medawar tłumaczyli to zjawisko poprzez teorię akumulacji mutacji. Pewne szkodliwe mutacje objawiają się dopiero w późnym, często poprodukcyjnym wieku, powodując różnego rodzaju uszkodzenia organizmu. Nie są jednak eliminowane na drodze selekcji naturalnej właśnie ze względu na to, że objawy występują tak późno i presja selekcyjna jest niewielka [1].

Z kolei G.C. Williams rozwinął teorię antagonistycznej plejotropii. Mówi ona, że pewne

geny mogą mieć efekty plejotropowe, tzn. mogą kodować takie cechy, które są bardzo przydatne w młodym wieku, podczas gdy są szkodliwe w wieku późniejszym [1].

Starzenie się komórek – telomery

Według teorii telomerowej każda komórka może podzielić się tylko ściśle określoną, skończoną ilość razy (poza nielicznymi wyjątkami). Wynika to z istnienia na końcu każdego chromosomu fragmentu strukturalnego zwanego telomerem. Telomery chronią DNA przed uszkodzeniami podczas kopiowania. Jednak polimeraza DNA nie potrafi dokładnie kopiować końców chromosomów i dlatego po każdym podziale długość telomerów maleje. Zanik telomeru uruchamia ciąg procesów prowadzących do aktywacji takich białek jak p53, które indukują apoptozę, czyli zaprogramowaną śmierć komórki [2].

Uszkodzenia chemiczne

Na poziomie komórkowym starzenie wynikać może także ze zniszczeń, jakie w białkach i kwasach nukleinowych powoduje tlen i jego aktywne formy (procesy oksydacji) oraz cukry, zwłaszcza monosacharydy (procesy glikacji). Dochodzić może do zrywania łańcuchów białkowych lub DNA, ich losowego łączenia (*cross-linking*) oraz do przyłączania różnego rodzaju nienaturalnych ligandów (np. haptenów) [3].

Regulacja genami

Pewne geny mogą regulować procesy dojrzewania, a także starzenia. O ile nie ma jeszcze badań, które wskazywałyby jednoznacznie na odpowiednie geny u ludzi, o tyle znanych

Poziom biologiczny/teoria	Opis
Ewolucyjny	
Akumulacja mutacji	Brak presji selekcyjnej na mutacje występujące w starszym wieku.
Jednorazowe ciało	Komórki somatyczne służą tylko do zapewnienia reprodukcji. Po tym akcie stają się bezużyteczne.
Antagonistyczna plejotropia	Geny korzystne w młodości zaczynają szkodzić na starość.
Molekularny	
Regulacja genu	Zmiany w ekspresji genów regulujących zarówno rozwój jak i starzenie.
Ograniczenia kodonowe	Wierność/dokładność translacji mRNA jest osłabiona przez niezdolność do dekodowania kodonów mRNA.
Katastrofa błędów	Spadek dokładności ekspresji genów powoduje wzrost ilości białek patologicznie zmienionych.
Mutacje somatyczne	Akumulacja uszkodzeń molekularnych, przede wszystkim w DNA.
Dysdyferencjacja	Stopniowa akumulacja losowych uszkodzeń molekularnych osłabia regulację ekspresji genów.
Komórkowy	
Teoria telomerów	Skracanie telomerów uniemożliwia dalsze podziały komórki.
Wolne rodniki	Metabolizm oksydacyjny produkuje wolne rodniki uszkadzające lipidy, białka oraz DNA.
<i>Wear-and-tear</i>	Akumulacja zwykłych uszkodzeń.
Apoptoza	Zaprogramowana śmierć komórki.
Systemowy	
Neuroendokrynną	Zmiany wywołane wahaniami neuroendokrynną regulacji homeostazy organizmu.
Immunologiczną	Oslabienie układu immunologicznego zwiększa podatność na zewnętrzne patogeny, a jednocześnie powoduje wzrost autoagresji.
Tempo życia	Zakłada stałą wartość potencjału metabolicznego dla każdego żywego organizmu (<i>live fast, die young</i>)

Tab.1. Główne teorie starzenia. Za: Weinert, Timiras, *J. Appl. Physiol.*, 2003; 95: 1706-16

i potwierdzonych jest wiele genów odpowiedzialnych za regulację starzenia u zwierząt modelowych [4]: *LAG1*, *RAS1*, *CDC7*, *BUD1* itd. u *Saccharomyces*; *daf-2*, *age-1*, *akt-1*, *mev-1* itd. u *C. Elegans*; *sod1*, *cat1*, *mth* u drozofili, czy też *Prop-1* i *p66Shc* u myszy.

Gen *p66Shc* u myszy wpływa na wzrost oraz sygnały apoptozogeniczne, a co za tym idzie reguluje długość życia [5].

Z kolei u *C. Elegans* scharakteryzowano gen *daf-2*, który reguluje sygnalizacyjną insulino-podobną kaskadę białkową, która może wpływać na czas życia tego organizmu [6].

Inne teorie

W Tab.1. zestawiono kilka podstawowych teorii starzenia się. Można zauważyć, że dzielą się one na takie, które zakładają wyniszczenie organizmu i niewydolność systemów naprawczych oraz na te, które traktują starzenie się i śmierć jako procesy zaprogramowane. Słuszności nie można odmówić prawie żadnej z podanych teorii. Przypuszczalnie jednak żadna z nich nie daje kompletnej odpowiedzi na pytanie, czym jest starzenie. Bardziej prawdopodobne wydaje się być to, że proces starzenia jest zjawiskiem kompleksowym, do którego wkład mają zarówno procesy genetycznie zaprogramowane, jak i zwykła akumulacja mutacji i uszkodzeń.

Przedłużenie życia

Jeśli zatem starzenie się jest procesem tak skomplikowanym, to wydaje się logiczne, że także sposób na przedłużenie życia – czy też spowolnienie starzenia – raczej nie będzie prosty. Ponieważ punktów widzenia – jak to doskonale widać w przypadku podanych mechanizmów starzenia – jest niemal tyle, ilu badaczy zajmuje się tym problemem, więc także i prób oraz propozycji, jak powstrzymać starzenie się, będzie równie wiele.

Dieta, jej suplementy i terapie hormonalne

Pierwszym i podstawowym sposobem na poprawienie jakości, a co za tym idzie także długości życia, jest odpowiednia dieta. Z każdej grupy związków – czy to białek, czy tłuszczów, cukrów, czy wreszcie alkoholi – można wybierać produkty, który w lepszy lub gorszy sposób wpływają na metabolizm organizmu. Tajemnicą poliszynela jest fakt, że powinno się jeść ryby zamiast czerwonego mięsa, brązowy ryż zamiast ziemniaków, oliwę z oliwek zamiast oleju i pić czerwone wino zamiast piwa (tzw. dieta śródziemnomorska) [7]. Jedną z przyczyn jest wysoka zawartość różnego rodzaju antyoksydantów w tych produktach (tokoferol – warzywa zielonolistne, glutation –

portulaka, szparagi, awokado, resweratrol – czerwone wino) [8].

Wiele metod walki ze starzeniem opiera się na eliminowaniu wolnorodnikowego przyczynku do tego procesu. Poza odpowiednią dietą można hamować w organizmie stres oksydacyjny poprzez dostarczanie przeciwutleniaczy jako suplementów diety.

Do takich substancji zaliczają się m.in. kwas liponowy – podawany jest razem z acetylokarnityną, która poprawia metabolizm, a zwłaszcza przepływ elektronów w mitochondriach. Kwas liponowy zmniejsza ilość reaktywnych form tlenu (ROS) powstających na skutek działania acetylokarnityny, a ponadto pobudza syntezę glutationu [9,10]. Innymi takimi związkami są askorbinian (witamina C), tokoferol (witamina E) oraz N-acetylocysteina.

Zagrożenie ze strony procesu glikacji, który – jak już wspomniano – uszkadza łańcuchy biopolimerów usuwa się np. za pomocą L-karnozyny, która poza hamowaniem procesu nieenzymatycznej glikozylacji białek jest antyoksydantem i pobudza aktywność enzymów błonowych oraz reguluje immunoreaktywność [11]. Podobne właściwości ma też pirydoksymina [12] oraz benfotiamina [13].

Kolejnym rozwiązaniem jest prowadzenie hormonalnej terapii zastępczej, którą próbowano stosować w celu odnowienia młodzieńczego poziomu testosteronu [14,15], hormonów wzrostu, estrogenu, melatoniny czy DHEA [15].

SENS tego wszystkiego [16,17]

Na początku dwudziestego pierwszego wieku Aubrey de Grey zapoczątkował inicjatywę, która zajmuje się promowaniem Strategii ku Efektywnej Nieistotności Starzenia się (*Strategies for Engineered Negligible Senescence, SENS*). U podstawy SENSu leży lista siedmiu powodów starzenia się. A do tych de Grey zalicza: utratę lub atrofię komórek, mutowanie jądra, mutowanie mitochondriów, obecność komórek odpornych na śmierć, osłabienie długożyjących białek pozakomórkowych, śmieci wewnątrz i na zewnątrz komórki. De Grey zaproponował rozwiązania na wyeliminowanie tych przyczyn. Większość tych rozwiązań opiera się na terapii komórkowej i inżynierii genetycznej.

Na chwytliwą teorię de Greya, pokazującą, jak prosto można się wyleczyć ze starzenia się, przyszła jednak bardzo szybka odpowiedź świata biogerontologów. De Greyowi zarzucano

nie właściwe podejście do tematu – ponieważ uznano, że zamiast tak ściśle ukierunkowanych na konkretne rozwiązania badań powinno się ciągle raczej prowadzić badania podstawowe, które dostarczą więcej informacji na temat mechanizmów starzenia się. Nie wystarczy bowiem wiedzieć, że raka powodują nieśmiertelne komórki – żeby móc go leczyć trzeba jeszcze znać molekularne mechanizmy leżące u podstaw tej nieśmiertelności.

SENS jest niewątpliwie teorią ciekawą, jednak w tej chwili wzbudzającą wciąż bardzo wiele kontrowersji. Jego zastosowanie w praktyce wymaga rozwoju wielu biotechnologicznych technologii, które nie są w tej chwili opanowane na tyle, aby można je było stosować na ludziach. Ponadto – wbrew temu, co sądzi de Grey (a twierdzi on, że pierwsze osoby, które mogą dożyć 1000 (!!)) lat mają w tej chwili około lat 60) – wydaje się, że jednak większość z żyjących w tej chwili osób raczej nie odniesie z tej teorii wymiernych, długodystansowych korzyści.

Mrożenie ciała

Patrząc na powolny rozwój wiedzy w zakresie mechanizmów starzenia oraz powstrzymywania go, można mieć pewne obawy dotyczące tego, czy ktokolwiek z żyjących współcześnie ludzi dożyje czasów, gdy będą istniały środki pozwalające na znaczne przedłużenie życia. Obawy te stanowią doskonałą pożywkę dla pomysłów z kategorii *science-fiction* – takich jak hibernacja ciała (zajmuje się tym nowa gałąź wiedzy – kryptonika), przy czym ciągle jeszcze za dużo jest w tym fikcji, a za mało nauki. Niezrażeni tym badacze prowadzą jednak cały czas badania nad zamrażaniem i witrifikacją organizmów zwierzęcych w taki sposób, aby możliwe było przywrócenie ich potem do życia.

Kriobiologia, a potem kryptonika, miały swój początek w obserwacji, że obniżenie temperatury ciała spowalnia metabolizm. Drugim ważnym założeniem jest koncepcja mówiąca, że tożsamość człowieka jest ściśle określona przez budowę jego mózgu – przypadkowy układ wiązań chemicznych oraz połączeń nerwowych. Ponieważ śmierć kliniczna człowieka nie jest równoznaczna ze śmiercią jego komórek, natychmiastowe zamrożenie ciała po śmierci klinicznej pozwolić może na przywrócenie człowieka do życia w późniejszym czasie.

Jednym z podstawowych problemów, na jakie natrafiła kriobiologia jest niszczylińska siła lodu – jego obecność dookoła oraz wewnątrz zamrożonych tkanek jest bardzo szkodliwa i może powodować przede wszystkim fizyczne uszkodzenia tkanek. Obecnie szuka się zatem sposobów na zachowanie zamrożonych tkanek w stanie zwitryfikowanym, w którym tkanki poddane są działaniu krioprotektantów (jak np. glicerolu). Pewne postępy w tej dziedzinie już nastąpiły: udało się np. dokonać zamrożenia do -45°C i rozmrożenia nerek króliczych, które zostały następnie z sukcesem transplantowane [18]. Podobne badania prowadzono na szczurzych hipokampach [19], gdyż niezwykle wrażliwym elementem całego procesu jest zachowanie tkanek nerwowych.

Mimo tych sukcesów daleka jeszcze droga, zanim uda się hibernować i z powodzeniem przywrócić do pełnosprawnego życia pierwszą żywą istotę.

Restrykcja kalorii

Istnieje powrzechne – a wynikające już z obserwacji badaczy starożytnych – przekonanie, że ograniczenie diety przyczynia się do przedłużania życia. W fachowych źródłach takie ograniczenie nazywa się restrykcją kalorii (CR). Pierwsze udokumentowane badania na gryzoniach, mające na celu zbadanie tej hipotezy, prowadził w latach trzydziestych ubiegłego stulecia McCay [20]. Spośród wielu proponowanych metod, tylko w przypadku restrykcji kalorii dowiedziono, że wydłuża ona maksymalny czas życia u ssaków bez modyfikowania ich na drodze genetycznej [5, 21].

Pierwsze kroki...

Początkowo sądzono, że restrykcja kalorii wydłuża życia ponieważ powoduje spowolnienie wzrostu i rozwoju. Wierzono wówczas, że

za starzenie odpowiadają specjalne geny starzenia – analogiczne do genów kierujących rozwojem organizmu. Jednak hipoteza ta upadła, gdy sprawdzono, że restrykcja kalorii działa także w przypadku starszych zwierząt, u których geny „starzenia” powinny już być aktywne [21].

Kolejnym wytłumaczeniem dla fenomenu CR była teoria mówiąca, że ograniczenie diety powoduje spadek tempa metabolizmu [21]. Pokutowała wówczas teoria Raymonda Pearla, mówiąca, że długość życia jest definiowana przez szybkość wytwarzania energii przez organizm – bo potencjał metaboliczny (czyli energia wytwarzana w przeliczeniu na jednostkę masy ciała) jest niemal identyczny dla większości ssaków. W związku z tym spadek metabolizmu był perfekcyjnym wytłumaczeniem, które jednak nie obroniło się – badania wykazały, że mimo początkowego spadku tempa metabolizmu, po kilku tygodniach następuje jego powrót do stanu wyjściowego, a nawet wzrost [22].

Im dalej w las, tym więcej drzew...

Inna propozycja wynika z obserwacji faktu, że otyłość u ludzi może być przyczyną krótszego czasu życia [23]. Większość badań prowadzonych w ostatnich latach pokazuje co prawda, że nie ma wyraźnego związku między czasem życia, a masą ciała czy też masą tkanki tłuszczowej (badania prowadzono np. na psach [24]). Autorzy tych badań sugerują, że być może starzenie nie wynika z masy tkanki tłuszczowej, ale jedno i drugie jest po prostu efektem działania pewnych szlaków metabolicznych), jednak z drugiej strony pokazano, że adipocyty wydzielają peptydy, takie jak TNF- α , leptyna, PAI-1 czy angiotensynogen [25], które mogą modulować procesy związane ze starzeniem się [26]. W zasadzie można powiedzieć, że nie dowiedziono w sposób bezwzględnie

Hipoteza	Za	Przeciw
Spowolnienie wzrostu i rozwoju	CR spowalnia rozwój	CR działa też u organizmów starszych
Zmiany w metabolizmie energetycznym	CR obniża temperaturę ciała, są też pewne dowody na obniżenie częstości mutacji	CR nie obniża tempa metabolizmu, ani częstości mutacji w mitochondriach
Zmiany endokrynologiczne	CR moduluje działanie wielu czynników hormonalnych	Poziom glukozy nie jest znacząco obniżony przez CR
Zwiększona obrona komórek, zmniejszenie apoptozy	Komórki zwierząt poddanych CR są odporne na stres i apoptozę	CR zwiększa stopień umieralności komórek w niektórych tkankach, np. wątrobie
Hormeza	Zwiększona odporność na stres, zgodność z ewolucyjnymi teoriami starzenia się	Nie dowiedziona dla ssaków

Tab.2. Podstawowe hipotezy działania CR. Za: Sinclair, *Mech. Ageing Dev.*, 2005; 126: 987-1002

dny ani prawdziwości, ani fałszywości tej hipotezy.

Zwrócano już uwagę na dość istotny hipotetyczny mechanizm starzenia, jakim jest kumulacja mutacji oraz uszkodzeń oksydacyjnych spowodowanych głównie reaktywnymi formami tlenu. Dość oczywistym zatem wydaje się upatrywanie w modyfikacjach tego mechanizmu sposobu, w jaki działa restrykcja kalorii [21,23]. Zauważono, że zmiany w łańcuchu oddechowym mają duży wpływ na długość życia, podobnie jak zmiany w systemie obrony antyoksydacyjnej. W związku z tym pierwotną koncepcję popierają obserwacje tego, że CR powoduje zmniejszenie produkcji reaktywnych form tlenu oraz wzrost ekspresji antyoksydantów [27]. Nie jest to jednak rozwiązanie ostateczne, gdyż hipoteza ma także drugą stronę medalu: w 2005 przeprowadzono badania, w których wykazano, że mutacje somatyczne mitochondrialnego DNA, które powodują starzenie, nie wpływają na działanie reaktywnych form tlenu [28]. Podobne wyniki uzyskiwano też znacznie wcześniej – dziesięć lat temu grupa badaczy z Bostonu prowadziła badania nad wpływem CR na aktywność enzymów antyoksydacyjnych w soczewkach, a także wątrobie i nerkach myszy [29]. Grupa ta stwierdziła jednak brak takich korelacji.

Oprócz omówionych jest jeszcze oczywiście wiele innych hipotez, z których praktycznie każda ma równie wiele zalet co wad. Kilka najważniejszych przedstawiono w Tab.2. Jednak najbardziej w chwili obecnej prawdopodobną (tzn. najlepiej opisującą eksperymentalne obserwacje) teorią jest hipoteza hormezy [21,23].

Puenta: hipoteza hormezy

Hormeza to termin ukuty przez Southama i Ehrlicha w 1943 roku, oznaczający zjawisko polegające na tym, że pewne substancje – które podawane w nadmiarze są szkodliwe – w małych dawkach mogą mieć bardzo korzystne rezultaty [30]. Hipoteza hormezy w odniesieniu do restrykcji kalorii ma następującą postać: CR powoduje w organizmie pewien – niezbyt wysoki – poziom stresu. Reakcja obronna na ten stres pomaga jednocześnie chronić organizm przed starzeniem [21,23]. Istotną różnicą między tą a poprzednimi hipotezami jest założenie, że odpowiedź obronna organizmu działa według aktywnego a nie biernego mechanizmu [31].

Pewną nowością w stosunku do hipotezy hormezy jest ugruntowana kilka lat temu hipoteza

ksenohormezy, która zakłada, że korzystny wpływ na starzenie organizmów mogą mieć substancje pozyskane z całkiem innych organizmów (np. roślin lub grzybów) poddanych restrykcji kalorii [32].

Hipoteza hormezy dla restrykcji kalorii czyni cztery podstawowe założenia:

1. CR pobudza sygnalizacyjne szlaki wewnątrzkomórkowe, które odpowiadają na stres oraz ograniczenie kalorii;
2. szlaki te pomagają bronić komórki i tkanki przed skutkami starzenia;
3. szlaki te regulują metabolizm glukozy, tłuszczów oraz białek w ten sposób, że zwiększają szanse przeżycia w warunkach stresu;
4. szlaki te są pod kontrolą systemu endokrynnego, aby zapewnić odpowiednią kontrolę ze strony organizmu i umożliwić utrzymanie jego homeostazy [21].

Sirtuiny – wspólne ogniwo

Pozostaje postawić najistotniejsze pytanie: w jaki sposób restrykcja kalorii przyczynia się do przedłużania życia u badanych organizmów – a ściślej, jaki molekularny mechanizm, który może wydłużać czas życia, jest regulowany przez ograniczenia kaloryczne diety?

Sir2

Około dziesięciu lat temu odkryto, że starzenie się drożdży wynika z niestabilności tzw. rybosomalnego DNA (rDNA). Gdy widełki replikacyjne zatrzymują się na rDNA, dochodzi do przerwania DNA i cyklizacji molekuly rDNA w tzw. ERC (*extrachromosomal ribosomal DNA circle*). Cząsteczki te replikują potem wraz z każdym podziałem komórki, jednak ich podział między komórki potomne jest asymetryczny. Wskutek tego po pewnym czasie, w komórkach znajduje się wiele setek kopii ERC, które absorbują cały aparat replikacyjny komórki uniemożliwiając jej dalszy podział [33].

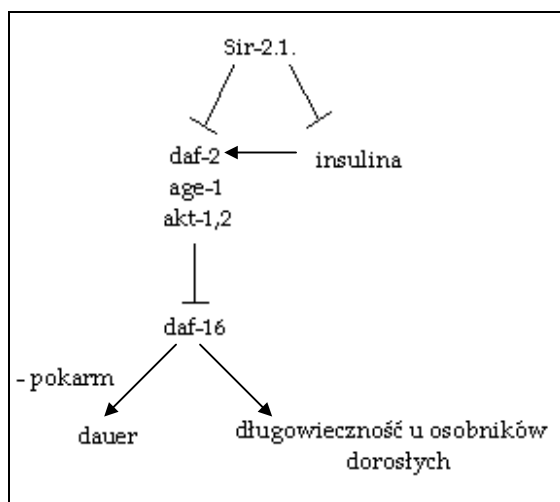
*Sir2*¹ to gen drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, który koduje białko posiadające aktywność enzymatyczną NAD-zależnej deacetylazy, która deacetyluje acetylowaną histonów [34]. Produkty ekspresji genów z rodziny *Sir2* nazywa się sirtuinami (zarówno dla drożdży, nicieni, jak i ssaków). *Sir2* tworzy kompleks z telomerami, a także z powtórzeniami rDNA, stabilizując je [35]. Pokazano, że nadekspresja

¹ Przyjęto konwencję, że nazwy genów pisane są kursywą, podczas gdy nazwy białek kodowanych przez te geny – prostą czcionką.

Sir2 prowadzi do hamowania działania ERC oraz zwiększenia długości życia drożdży nawet o 30% [33]. W późniejszych badaniach wykazano, że *Sir2* jest aktywowany w odpowiedzi na restrikcję kalorii na kilka sposobów. W jednym z nich CR powoduje wzrost oddychania prowadząc do spadku poziomu NADH w komórce. Ponieważ NADH jest kompetywnym inhibitorem *Sir2*, zmiana stosunku NAD/NADH spowodowała wzrost aktywności *Sir2*. W innym CR zwiększa aktywność nikotynamidazy. Jako że nikotynamid także jest inhibitorem *Sir2*, działanie CR zwiększa pośrednio aktywność tego enzymu [36].

Sir-2.1

Mechanizm starzenia się *Caenorhabditis elegans* różni się zasadniczo od drożdży z tej przyczyny, że ciało osobników dorosłych tego nicienia składa się tylko i wyłącznie z komórek postmitotycznych. Pomimo tego, także u tego organizmu regulacja życia przez CR następuje poprzez gen homologiczny do *Sir2* u drożdży – *Sir-2.1* [37]. Gen ten hamuje sygnalizacyjny szlak insulinowy (Rys.1.), głównie poprzez hamowanie ekspresji genu *daf-2*. *daf-2* koduje receptor dla insuliny oraz dla związanego z nią hormonu peptydowego IGF [38]. Oprócz długowieczności u osobników dorosłych, gen *Sir-2.1* może w sytuacji braku pokarmu prowadzić do powstawania form larwalnych (*dauer*).



Rys.1. Działanie produktu genu *Sir-2.1*. jako czynnika promującego wydłużony czas życia u *C. elegans* poprzez działanie na szlak insulinowy. Za: Guarente, *Trends Genet.*, 2001; 17(7): 391-2

SIRT1

U ssaków zidentyfikowano siedem genów *SIRT1-7*, będących homologami *Sir2*. Nie po-

twierdzono jeszcze, że – i jeśli tak to w jaki sposób – *SIRT1* wydłuża czas życia ssaków, lecz istnieją przypuszczenia, że może on regulować przetrwanie komórek poprzez wpływ na czynniki indukujące apoptozę [39]. Do takich zaliczają się Foxo – wywołujący apoptozę w odpowiedzi na wycofanie czynników wzrostu – oraz p53, który powoduje zaprogramowaną śmierć komórki w odpowiedzi na znaczne jej zniszczenia. *SIRT1* reguluje działanie koaktywatora p300 niezbędnego do działania zarówno Foxo jak i p53. Ponadto oba te białka wymagają do pełnej aktywności acetylacji, co koresponduje z deacetylacyjną aktywnością białek z rodziny *Sir2* [40,41].

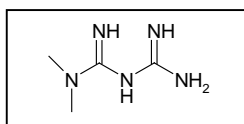
SIRT1 może też korzystnie wpływać na związany z rodziną białek Bcl-2 szlak apoptozy. Białka te regulują przepuszczalność błony mitochondrialnej. Część z nich funkcjonuje też jako sygnały antyapoptyczne, a część jako sygnały proapoptyczne. Do tych drugich zalicza się białko Bax, które jest regulowane przez czynnik Ku70. *SIRT1* deacetyluje dwie kluczowe reszty lizyny Ku70, w ten sposób hamując ten szlak apoptozy [42].

Mimetyki restrikcji kalorii

Będąc bogatszym w wiedzę i doświadczenie mówiące, że restrikcja kalorii wydłuża czas życia wielu prostszych organizmów, ale także niektórych gryzoni, a być może – tego nie wiadomo, bo nie przeprowadzono jeszcze odpowiednich badań – będzie to prawdą także dla ludzi, można próbować stosowania tej metody. Łatwo sobie jednak wyobrazić, że czym innym jest ograniczanie diety bezbronnego gryzonia w klatce, a czym innym – przejście samemu na stałą dietę np. o jedną trzecią mniejszą niż zalecana (nie wspominając o tym, że przeciętny człowiek żyjący w kraju średniozaawansowanym gospodarczo i tak przyjmuje dziennie więcej kalorii niż powinien).

Rozwiązaniem tego problemu jest znalezienie lub stworzenie substancji, które będą naśladowały działanie restrikcji kalorii – związku takie nazywa się mimetykami restrikcji kalorii (CRM). Aby substancja została zakwalifikowana do tej grupy musi jednak spełniać kilka warunków: musi naśladować metaboliczne, fizjologiczne oraz hormonalne skutki CR, nie może znacząco wpływać na przyjmowanie pokarmu (w skali długoterminowej), musi aktywować szlaki odpowiedzi na stres i zapewniać ochronę przed licznymi czynnikami powodującymi stres i wreszcie: musi wywoływać

podobne do CR efekty długowieczności i hamować występowanie związanych z wiekiem chorób. Pierwszym związkiem spełniającym te kryteria była 2-deoksy-D-glukoza. Następnymi testowanymi substancjami były IGF-1, uczulające insuliny, tiazolidinodiony i inne [31]. Niektóre z tych substancji – np. metformina (Rys.2.) – już są stosowane w leczeniu cukrzycy typu II [21].



Rys.2. Metformina stosowana w leczeniu cukrzycy typu II – lek z rodziny biguanidów uzyskiwanych z rutwicy lekarskiej (*Galega officinalis*). Za: Sinclair, *Mech. Ageing Dev.*, 2005; 126: 987-1002

I znowu te sirtuiny...

Z punktu widzenia niniejszej pracy najciekawsze okazały się być cząsteczki nazywane w skrócie STAC (*sirtuin-activating compounds*). Są to związki, które wpływają na aktywację sirtuin (czyli białek z rodziny Sir2).

Bardzo wiele związków aktywujących sirtuiny należy do grupy drugich metabolitów roślinnych obejmujących flawony, stilbeny, katechiny, flawonony i izoflawony. Przegląd tych substancji pozwolił grupie badaczy z Harvardu na wyodrębnienie 18 związków, które zwiększały aktywność sirtuin co najmniej dwukrotnie (Tab.3.).

Spśród wytypowanych związków największą aktywność wykazuje wspomniany już wcześniej, występujący w czerwonym winie, resweratrol. Od dawna znana była jego właściwość wydłużania życia u gryzoni, ale dopiero niedawno przeprowadzono badania, dzięki którym skojarzono jego działanie z redukcją kalorii [21]. Resweratrol chroni komórkę przed różnego rodzaju sytuacjami stresu: hamuje powstawanie reaktywnych form tlenu, a także peroksydację lipidów, hamuje działanie czynników zapalnych[43], wpływa na wzrost przeżycia komórek poddanych promieniowaniu jonizującemu [32]. Ponadto wykazano, że CR wydłuża także czas życia poprzez redukcję białej tkanki tłuszczowej, podczas gdy resweratrol wspomaga lipolizę oraz hamuje gromadzenie tłuszczów [44].

Podsumowanie: krok ku nieśmiertelności

Należy zadać sobie pytanie, w jaki sposób nauka może pomóc w osiągnięciu nieśmiertel-

Związek	Struktura
Resweratrol (3,5,4'-trihydroksy- trans-stilben)	
Buteina (3,4,2',4'-tetrahydroksy- benzylidenoacetofenon)	
Piceatannol (3,5,3',4'-tetrahydroksy- trans-stilben)	
Isoliquiritigenin (4,2',4'-trihydroksy- benzylidenoacetofenon)	
Fizetyna (3,7,3',4'-tetrahydroksy- flawon)	
Kwercetyna (3,5,7,3',4'-pentahydroksy- flawon)	

Tab.3. Kilka wybranych STAC. Za: Howitz et al., *Nature*, 2003; 425: 191-6

ności? Na pewne rzeczy nie ma bowiem wpływu – nie ma jeszcze sposobu, w jaki rozwój biologii molekularnej mógłby zmniejszyć ilość wybuchających wojen, w jaki odkrycia genetyki molekularnej powstrzymałyby terrorystów, a badania nad medycyną zmniejszyły ilość śmiertelnych wypadków drogowych. Trzeba zatem szukać tych dziedzin, w których rozwój nauki może pomóc – a może pomóc nie tyle zapewniając nieśmiertelność (zresztą zasadnicze pytanie brzmi – jak mógłby to ocenić ktośkolwiek, kto żyłby krócej od tego „nieśmiertelnego” organizmu?), ile przedłużając życie, opóźniając proces starzenia się. I tutaj są dwie drogi.

Pierwsza droga

Pierwsza droga to taka, jak ta zaproponowana przez teorię SENS: należy dążyć do wyeliminowania z organizmu tych czynników, które powodują starzenie się. W niektórych przypadkach można to robić po prostu podając odpowiednie leki, ale w innych wymagana jest już ingerencja w badany organizm za pomocą terapii genowej. Tchnie to odrobinę eugeniką i jako takie może jeszcze długo czekać na pełną akceptację. Ma poza tym teoria de Greya jeszcze jeden mankament – zakłada, że starość można wypunktować, a potem punkt po punkcie się jej pozbyć. W ostatecznym rachunku może się jednak okazać, że starzenie się nie jest prostą sumą procesów, nie wystarczy zatem zastosować oddzielną metodę do walki z każdym z nich z osobna.

Druga droga

Druga droga to ta, którą podążą większość badaczy: należy najpierw dokładnie poznać mechanizmy starzenia się, a potem szukać ich słabych punktów. W niniejszej pracy pokazano, jak liczne są teorie mówiące o podstawach starzenia się: od zaprogramowanej apoptozy, przez kumulację uszkodzeń, mutacji, błędów w powielaniu, aż po odgórną limitację podziałów. I o ile autor każdej hipotezy uważa swoją za jedyną słuszną, o tyle nie można wykluczyć – a nawet wydaje się to najbardziej prawdopodobne – że starzenie się wynika z wszystkich tych czynników na raz, które zresztą wpływają przecież na siebie nawzajem. Bo na przykład wolne rodniki będą wpływały na mutacje i uszkodzenia DNA oraz wywoływały apoptozę, ale oba te procesy mogą mieć też inne podłoże – uszkodzenia mogą wynikać z szoku termicznego, a apoptoza być wywołana przez atak patogenu. Trudno zatem orzec, że którykolwiek z tych mechanizmów jest bezwzględnie najważniejszy i leży u podstaw pozostałych, które są tylko jego skutkiem. Starzenie jest raczej zbiorem równorzędnych procesów, które każdy z osobna i w interakcji z innymi powodują, że w końcu ludzkie ciało zamienia się w ruinę.

Pokazano też kilka sposobów, na jakie można walczyć ze starością. Jedynym sensownym i osiągalnym dla każdego przeciętnego człowieka rozwiązaniem jest w tej chwili zdrowa dieta i codzienne ćwiczenia. Można też eksperymentować z terapią hormonalną i oczywiście zażywać dużo witamin. Wszystkie te metody

nie gwarantują niestety życia o wiele dłuższego ponad średnią krajową.

Wspomniane osiągnięcia kriobiologii i krioniki – przez niektórych uważanej bardziej za paranaukę – są z pewnością niezwykle budujące, jednak nijak nie przyczyniają się do przedłużania życia, a raczej do odłożenia życia na późniejsze, oby-się-tak-udało lepsze czasy.

Dużo miejsca poświęcono wreszcie restrykcji kalorii. Nie bez przyczyny, bo od dawna znany jest fakt, że ograniczenie diety wydłuża czas życia u gryzoni, a tym już do ludzi nie tak daleko (a z pewnością bliżej niż drożdżom, czy nicieniom). Pokazano, w jaki sposób może działać restrykcja kalorii, kończąc na hipotezie w tej dziedzinie najmłodszej, a zarazem najbardziej obiecującej: hormezie.

Hormeza działa zgodnie ze starym ludowym przysłowiem, że „co cię nie zabije, to cię wzmocni”. Tłumaczy, że restrykcja kalorii powoduje niewielki szok dla organizmu, który w odpowiedzi działa tak, jakby ten szok wcale nie był taki niewielki. Pobudza w ten sposób do działania mechanizmy, które bronią komórki w sytuacjach stresu. A ponieważ starzenie jest niewątpliwie stresujące – chronią je także przed starzeniem.

Na koniec zaprezentowano, jak znajomość mechanizmu, według którego CR chroni przed starzeniem, może pomóc w walce z tym ostatnim. Gdyby bowiem dało się stworzyć substancję, które podawane jak leki – działając podobnie do witamin – wywoływałyby takie efekty jak CR, to możnaby z powodzeniem unikać starzenia nie rezygnując z dobrodziejstw dziedzictwa kulinarnego ludzkości. Okazuje się jednak, że nie trzeba ich tworzyć – one już są, produkowane przez różnego rodzaju rośliny, jak resweratrol zawarty w winogronach, ale także w ziołach.

Dylemat Epikura

Tak więc trwają badania, by już wkrótce można było żyć i żyć i żyć... Należy jednak pamiętać o jednej, niezwykle istotnej sprawie – jakich by nie tworzone leków, jakich by nie wymyślano terapii, nie da się zrobić tak, żeby rzeczy przyjemne nie szkodziły. Bo to, co sprawia nam przyjemność, zazwyczaj jest szkodliwe. Można oczywiście słodzić herbatę słodzikiem i pić kawę bezkofeinową tylko pytanie, czy to ma sens? Czy lepiej jest żyć 1000 lat, na ciągłej diecie, wspomagając się lekami i terapiami, z duszą na ramieniu, żeby przypadkiem nie wpaść pod samochód (a 1000 lat, to naprawdę

mnóstwo czasu na wpadanie pod samochód), czy nie lepiej żyć krótko, intensywnie i z przyjemnością i umrzeć jako młody ale zadowolony siedemdziesięcioletek?

Literatura

- [1] Charlesworth, *Genetics*, 2000; 156(3): 927-31
- [2] Weinert, Timiras, *J. Appl. Physiol.*, 2003; 95: 1706-16
- [3] Januszewski et al., *J. Lipid Res.*, 2005; 46:1440-9
- [4] Jazwinski, *Acta Biochim. Pol.*, 2000; 47(2): 269-79
- [5] Ventura et al., *J. Biol. Chem.*, 2002; 277(25): 22370-6
- [6] Holzenberger, *Eur. J. Endocrinol.*, 2004; 151, Suppl.1: S23-7
- [7] Grossman, *Keio J. Med.*, 2005; 54(2): 85-94
- [8] Simopoulos, *J. Nutr.*, 2001; 131(11): 3065-73
- [9] Hagen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99(4): 1870-5
- [10] Ames, *J. Nutr.*, 2003; 133(5 Suppl. 1): 1544S-8S
- [11] Wang et al., *Biochemistry (Mosc)*, 2000; 65(7): 869-71
- [12] Onorato et al., *J. Biol. Chem.*, 2000; 275(28): 21177-84
- [13] Babaei-Jadidi et al., *Diabetes*, 2003; 52(8): 2110-20
- [14] Liu et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004; 89(10): 4789-96
- [15] Lunenfeld, *Asian J. Androl.*, 2001; 3(3): 161-8
- [16] <http://www.sens.org>
- [17] de Grey et al., *Annals NY Acad. Sci.*, 2002; 959: 452-62
- [18] Fahy et al., *Cryobiology*, 2004; 48: 157-78
- [19] Pichugin et al., *Cryobiology*, 2006; 52: 228-40
- [20] Heilbronn, Ravussin, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003; 78(3): 361-9
- [21] Sinclair, *Mech. Ageing Dev.*, 2005; 126: 987-1002
- [22] Masoro, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982; 79(13): 4239-41
- [23] Masoro, *Mech. Ageing Dev.*, 2005; 126: 913-22
- [24] Speakman et al., *Aging Cell*, 2001; 2: 265-75
- [25] Gabriely, Barzilai, *Mech. Ageing Dev.*, 2001; 122: 1565-76
- [26] Bordone, Guarente, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2005; 6(4): 298-305
- [27] Dufour, Larsson, *Biochim. Biophys. Acta*, 2004; 1658: 122-32
- [28] Trifunovic et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 17993-98
- [29] Gong et al., *Mech. Ageing Dev.*, 1997; 99: 181-92
- [30] Calabrese, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2004; 197: 125-36
- [31] Ingram et al., *Aging Cell*, 2006; 5: 97-108
- [32] Howitz et al., *Nature*, 2003; 425: 191-6
- [33] Kaeberlein et al., *Genes Dev.*, 1999; 13(19): 2570-80
- [34] Wolf, *Nutr. Rev.*, 2006; 64(2): 89-92
- [35] Rodgers, Puigserver, *Cell Metab.*, 2006; 3: 77-8
- [36] Guarente, *Mech. Ageing Dev.*, 2005; 126:923-8
- [37] Guarente, *Trends Genet.*, 2001; 17(7): 391-2
- [38] Koubova, Guarente, *Genes Dev.*, 2003; 17(3): 313-21
- [39] Tang, *Neurobiol. Aging*, 2006; 27:501-5
- [40] Motta et al., *Cell*, 2004; 115: 551-63
- [41] Giannakou, Partridge, *Trends Cell Biol.*, 2004; 14(8): 408-12
- [42] Cohen et al., *Science*, 2004; 305:390-2
- [43] Pervaiz, *FASEB J.*, 2003; 17: 1975-85
- [44] Picard, Guarente, *Int. J. Obes.*, 2005; 29:536-9