

*Arh.farm 2009;59: 357 – 372*

*Stručni rad/Professional paper*

## **Biologija i fiziologija starenja**

**Bosiljka Plećaš, Lada Živković, Biljana Potparević**

Institut za fiziologiju i biologiju, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

---

### **Kratak sadržaj**

Starenje je neizbežno i kako zastupljenost starih osoba u populaciji raste, razumevanje fizioloških mehanizama uključenih u proces normalnog starenja ima sve veći značaj u cilju održavanja kvaliteta života u starosti. Takođe, očuvanje fizioloških funkcija ili „zdravlja” starih ljudi smanjiće pritisak na zdravstvene sisteme i troškove. U ovom radu, u svetlu najnovijih naučnih podataka i hipoteza, sažeto se razmatraju neka ključna pitanja u vezi biologije i fiziologije starenja: šta je starenje i zašto se ono događa, kao i mogućnosti odlaganja i usporavanja starenja.

**Ključne reči:** starenje – karakteristike, uzroci, teorije, odlaganje

---

Bosiljka.Plecas@pharmacy.bg.ac.rs

## Uvod

Enormno produženje ljudskog života u nekoliko poslednjih vekova smatra se jednim od najvećih dostignuća naše civilizacije. Od 25 do 30 godina, koliko su prvi ljudi verovatno živeli, do 1900. godine životni vek je u industrijalizovanim zemljama produžen na oko 45 do 50 godina, da bi samo sto godina kasnije u najzdravijoj naciji, japanskoj, očekivani životni vek iznosio oko 80 godina. Povećanje dužine života prvenstveno je bilo posledica drastičnog smanjenja smrtnosti novorođenčadi, uspešnog lečenja infektivnih bolesti i poboljšanih uslova života. Produženje životnog veka istovremeno je pokazalo da je starenje praćeno povećanom osetljivošću organizma prema velikom broju degenerativnih stanja koja se prema težini kreću od trivijalnih do fatalnih, i koja smanjuju kvalitet života starih ljudi.

Demografske promene koje su se odigrale u XX veku uslovile su i novi način razmišljanja o starenju. Danas većina istraživača smatra starost normalnom, zdravom i čak pozitivnom karakteristikom života čoveka. Slično razvoju i sazrevanju, starenje je praćeno brojnim i složenim interakcijama koje su skrenule pažnju istraživača ka fiziološkoj osnovi starenja, kao i genetskim faktorima i faktorima sredine koji utiču na funkcionalnu sposobnost na svim nivoima: molekularnom, ćelijskom i organizma kao celine. Razmatranje starenja u tom novom svetlu usmereno je ka očuvanju i jačanju fiziološke kompetentnosti i uvođenju odgovarajućih intervencija u cilju poboljšanja kvaliteta života starih osoba. Time se ne poriče neumitnost smrti, već se osporavaju nesposobnost, bolest i oćajanje kao obavezni pratioci starosti.

## Karakteristike starenja

Iako je znaćenje pojma starenja opštepoznato, sveobuhvatnu definiciju tog fenomena teško je dati, pre svega zbog toga što je starenje jedan od najsloženijih bioloških procesa. Najjednostavnije, starenje može da se definiše kao progresivno narušavanje fizioloških funkcija koje na kraju dovodi do smrti. Mada je starenje praćeno povećanim mortalitetom, ono nije bolest.

Kod čoveka, starošću se konvencionalno smatra životno doba koje poćinje oko 65. godine i završava se smrću. Međutim, imajući u vidu znaćajnu heterogenost stare populacije i kompleksnost fizioloških procesa, teško može da se povuće jasna vremenska granica poćetka starosti (1). Starenje zapoćinje u nepoznatom periodu života zrele osobe i progresivno se odvija na razlićit naćin kod razlićitih osoba, zavisno od genetskih i spoljašnjih faktora.

Starenje čoveka je udruženo sa širokim spektrom fizioloških promena koje, manje ili više, ogranićavaju normalno funkcionisanje organizma (2,3).

Te promene se uglavnom manifestuju u: izgledu (naborana, opuštena i istanjena koža i postepeno smanjenje telesne mase i visine, kao posledica gubitka mišićne i koštane mase), smanjenju intenziteta metabolizma, produženom refleksnom vremenu, smanjenju određenih funkcija memorije, smanjenju seksualne aktivnosti, funkcionalnom smanjenju čula sluha, vida i mirisa, slabljenju fizičkih sposobnosti, smanjenju aktivnosti bubrega, pluća i imunološkog sistema i višestrukim kardiovaskularnim i endokrinim promenama. Iako sva tkiva i organi stare (4), karakteristično je da ih starenje ne pogađa istovremeno i istim intenzitetom. Takođe, pojedine funkcionalne promene tokom starenja su različito osetljive na uticaje unutrašnjih i spoljašnjih faktora.

Tokom starenja se povećava frekvencija pojave pojedinih bolesti: dijabetesa, srčanih oboljenja, malignih bolesti, artritisa i bolesti bubrega, dok se, s druge strane, učestalost sinuzitisa ne menja, a astme čak i smanjuje (5). Ipak, starost nije samo „kolekcija različitih bolesti” i sve fiziološke i patološke promene koje je prate ne moraju nužno da vode ka obolevanju.

Starenje je univerzalno za jedinke jedne vrste, ali ne i za sve životinjske vrste, mada je ekstremno često (6). Kao i prosečan životni vek, tako se i forme starenja veoma razlikuju među vrstama. Jedna od najinteresantnijih karakteristika starenja sisara jeste da većina vrsta stari na sličan način i pati od sličnih bolesti u starosti, uprkos ogromnim razlikama u dužini života (3); kod dobro proučenih vrsta sisara, uobičajeni su reproduktivna starost ženki u sredini života, osteoporoza, artritis, vaskularne lezije i katarakta.

## **Modeli za istraživanje starenja čoveka**

Glavne teškoće u istraživanju starenja čoveka su dugovečnost ljudi i veliki troškovi. Starost se razvija nekoliko decenija, tokom kojih stare i umiru i sami istraživači. Gotovo je nemoguće pratiti humano starenje *in vivo* i ispitivanja se uglavnom svode na deskripciju starenja i istraživanja patologija koje ga prate. Naučnici su primorani da koriste modele istraživanja starenja čoveka, od kojih su najčešći: izolovane humane ćelije (kulture ćelija i tkiva), jednoćelijski organizmi, voćne mušice i glodari (7). Mali organizmi i životinje su pogodni zbog kratkog životnog veka i samim tim manjih troškova istraživanja, kao i mogućnosti genetskih manipulacija. Međutim, tumačenju rezultata i njihovoj ekstrapolaciji na čoveka mora da se pristupa izuzetno oprezno; podaci dobijeni u uslovima *in vitro* ne moraju da odslikavaju situaciju *in vivo* (8), dok se, uprkos sličnostima u starenju sisara, ne može *a priori* očekivati da su uzroci i mehanizmi starenja kod čoveka i miša isti (9).

## Zašto starimo?

Trenutno se u PubMed elektronskoj bazi podataka nalazi skoro 222000 naučnih radova u vezi različiti aspekata starenja, ali mehanizam odgovoran za započinjanje starenja je i dalje daleko od poznatog. Malo je verovatno da je jedan faktor (gen, sistem organa ili spoljašnji uticaj) okidač starenja i smrti ljudskog organizma. Svi naučni podaci za sada ukazuju na to da su starenje i smrt rezultat brojnih interakcija na genetskom nivou i uticaja iz spoljašnje sredine. Imajući u vidu da dužina i kvalitet našeg života zavise od dve komponente, nasleđa i faktora sredine, nameće se pitanje pojedinačnog udela svake od njih. Studije sa monozigotnim blizancima pokazale su da su nasledni faktori odgovorni samo za 1/3, a faktori sredine za ostale 2/3 varijacija u dužini života (10). Prema tome, izražena heterogenost u starenju pojedinaca rezultat je razlika u genetskom sistemu, uslovima i načinu života i slučajnih varijacija (11).

## Starenje ćelija

Ćelije su osnovne strukturne jedinice organizma i zato pretpostavka da njihovo starenje i propadanje doprinosi starenju organizma ima smisla. Prirodno starenje čoveka može da bude rezultat: 1) slabljenja procesa odgovornih za kontinuirano obnavljanje ćelija, 2) gubitka ili nemogućnosti nadoknađivanja postmitotičkih ćelija i 3) defekata u sigurnosnim mehanizmima koji sprečavaju pojavu i preživljavanje ćelija sa genetskim poremećajima (12,13).

Do 1961. godine vladalo je uverenje da ćelije u kulturi mogu beskonačno da se dele. Hayflick i Moorhead (14) su, međutim, otkrili da se humane ćelije poreklom iz embrionalnog tkiva u kulturi dele konačan, određen broj puta, posle čega gube sposobnost proliferacije, ali ostaju žive i metabolički aktivne još izvesno vreme. Taj fenomen je nazvan replikativna starost (RS) ili ćelijska starost (eng. cellular senescence). RS, prvobitno otkrivena u fibroblastima vezivnog tkiva, kasnije je pokazana u brojnim tipovima ćelija, ćelijama embrionalnog tkiva i ćelijama odraslih jedinki različite starosti (3). Već prvi nalazi su ukazali na korelaciju između broja deoba ćelija u kulturi i životnog veka vrste od koje su ćelije uzete. Na primer, ćelije Galapagoske kornjače, koja živi preko 100 godina, prosečno se dele oko 110 puta (15), dok se ćelije miša dele oko 15 puta (16). Dalje, ćelije uzete od pacijenata koji boluju od progeroidnog Werner-ovog sindroma, jednog oblika ubrzanog starenja, dele se u kulturi mnogo manje puta od normalnih ćelija (17).

Stare ćelije pokazuju određene funkcionalne i morfološke karakteristike koje se nazivaju i biomarkerima RS (18):

- Ireverzibilni prestanak deoba i zaustavljanje ćelijskog ciklusa na prelasku G1 u S fazu

- Morfološke promene: povećanje veličine ćelija, režnjevitoost jedra, heterogenost
- Izmenjena aktivnost enzima  $\beta$  galaktozidaze i povećana ekspresija tog enzima
- Pojava aneuploidije (tri ili više hromozoma)
- Mutacije mitohondrijske DNK (mtDNK)
- Smanjena ekspresija „heat shock” proteina
- Promena ekspresije većeg broja gena
- Povećana aktivnost metaloproteinaza, enzima koji razgrađuju ekstracelularni matriks
- Postepeno skraćivanje telomera pri svakoj deobi ćelije.

Veoma ekstenzivne studije starenja ćelija sisara u kulturi dovele su do sledećih značajnih zaključaka (19-21):

- Većina normalnih somatskih ćelija deli se određen broj puta; mehanizmi koji određuju dužinu replikativnog veka mogu da budu različiti u različitim tipovima ćelija.
- Germinativne i rane embrionalne ćelije mogu beskonačno da se dele (replikativna besmrtnost).
- Većina malignih ćelija ima neograničeni potencijal deoba.
- RS kontrolišu tumor-supresorski geni, koji se u većini malignih ćelija inaktiviraju mutacijama ili epigenetičkim promenama.
- RS ljudskih ćelija je izuzetno precizno kontrolisana, tako da one veoma retko spontano postaju besmrtne.
- Prelazak ćelije u besmrtnost veoma povećava verovatnoću maligne transformacije.

### **Skraćivanje telomera**

Telomere i telomeraza zaslužuju posebnu pažnju i veoma se intenzivno istražuju zbog moguće ključne uloge u starenju i nastanku maligniteta.

Telomere su repetitivne (ponavljajuće), nekodirajuće sekvence DNK na krajevima linearnih delova hromozoma (12). Telomere svih kičmenjaka se sastoje od dvostrukih lanaca sekvence 5'TTAGGG3', koje se zavisno od vrste ponavljaju nekoliko stotina do više hiljada puta (22). DNK telomera se na 3' kraju završava jednostrukim lancem nukleotida koji se savija unazad i strukturu koja se zove T-petlja. Direktno ili indirektno, u vezi sa DNK telomera je veliki broj proteina koji olakšavaju formiranje T-petlji i učestvuju u funkciji telomera.

Telomere imaju centralnu ulogu u sudbini i starenju ćelija zato što podešavaju odgovor ćelija na stres ili stimulaciju proliferacije prema broju

prethodnih deoba i oštećenja DNK (13). One štite krajeve DNK hromozoma od degradacije, fuzije ili ulaska u procese reparacije. Na taj način, telomere sprečavaju gubitak genetskog materijala i genetsku nestabilnost, kao stanja koja mogu da dovedu do ćelijske smrti ili maligne transformacije, obezbeđuju hromozomsku stabilnost i pouzdano prenošenje kompletnog genetskog materijala u ćerke ćelije prilikom deobe.

Proces replikacije DNK nije besprekoran, tj. 3' završetak linearne DNK, koji pripada telomeri i ne sadrži značajne informacije, ne može potpuno da se kopira DNK-polimerazom. James Watson (23) je taj fenomen nazvao „problemom replikacije krajeva”. Taj problem je odgovoran za gubitak 50 do 200 parova baza na 3' kraju telomera tokom svake S faze ćelijskog ciklusa (24), čime se telomere progresivno skraćuju tokom svake deobe ćelije. Ako na krajevima hromozoma ne bi postojala zaštita u vidu telomera, pri deobi ćelija bi se skraćivala kodirajuća DNK hromozoma, tj. gubili bi se geni. Kada se telomere skrate do određene kritične dužine, pri kojoj više ne mogu da obrazuju T-petlje (25), dostiže se tzv. Hayflick-ova granica posle koje ćelije ireverzibilno prestaju da se dele i ulaze u RS. Smatra se da su skraćene, disfunkcionalne telomere jedan od glavnih uzroka RS. Starenjem ćelije sprečava se njena dalja deoba i smanjuje rizik od nastanka genetske nestabilnosti i maligne transformacije. Pretpostavlja se da je starenje ćelija nastalo tokom evolucije kao pouzdan sigurnosni mehanizam koji treba da omogući ireverzibilno povlačenje potencijalno malignih ćelija iz ćelijskog ciklusa i tako spreči nastanak tumora (13).

Mehanizam kojim disfunkcionalne telomere izazivaju RS nije u potpunosti rasvetljen; danas se uglavnom smatra da skraćivanje telomera indukuje klasični odgovor ćelija na oštećenje DNK (24,26). Signali o oštećenju DNK potiču iz kratkih telomera, a odgovor zahteva učešće nekoliko proteina, od kojih p53 ima najvažniju ulogu (27). p53 je jedarni tumor-supresorni protein i transkripcioni faktor uključen u kontrolu velikog broja osnovnih ćelijskih procesa. On je i ključni regulator odgovora ćelije u smislu prelaska u RS pod uticajem različitih signala: skraćivanja telomera, oštećenja DNK, aktivacije onkogenih ili suprafizioloških mitogenih signala i prekomerne ekspresije tumor-supresornih gena (24). Ovaj protein registruje prisustvo jedne ili više kritično skraćenih telomera u ćeliji verovatno istim mehanizmom kojim registruje oštećenje DNK, budući da skraćene telomere liče na razdvojene lance DNK, i dovodi do zaustavljanja ćelijskog ciklusa ili do apoptoze. Ciljni protein za p53 u tom procesu je p21, čije prolazno povećanje verovatno započinje proces zaustavljanja proliferacije starih ćelija sprečavanjem tranzicija G1 u S fazu ćelijskog ciklusa. Posle toga, jedan drugi protein, p16, nezavisno od p53

sprečava obnavljanje proliferacije. Složeni i nedovoljno poznati molekularni mehanizmi delovanja p21 i p16 prevazilaze temu ovog rada.

Skraćenje telomera je samo jedan od uzroka RS, budući da ne postoji korelacija između dužine života i dužine telomera *per se*. Od svih ispitivanih primata, čovek ima najduži životni vek i prosečno najkraće telomere (28). Laboratorijski miševi imaju dugačke telomere u odnosu na čoveka (29), ali njihove ćelije u kulturi generalno imaju kraći životni vek, a miševi, naravno, žive daleko kraće od ljudi. Štaviše, starenje mišjih ćelija u kulturi odvija se mehanizmom nezavisnim od skraćenja telomera (21).

Uprkos velikim i značajnim otkrićima o ulogama telomera i gledištima da RS i biologija telomera mogu da budu moćna oruđa u istraživanje raka i tretmana protiv te bolesti (13), njihova precizna uloga u starenju čoveka tek treba da se rasvetli.

### **Telomeraza**

Poblem replikacije krajeva hromozoma ne postoji u germinativnim i ranim embrionalnim ćelijama zahvaljujući ekspresiji enzima telomeraze, jedne specijalizovane reverzne transkriptaze koja produžava 3' završetak hromozoma dodavanjem sekvenci (TTAGGG)<sub>n</sub> telomerama *de novo* (15). Pri optimalnoj aktivnosti telomeraze, dužina telomera germinativnih i ranih embrionalnih ćelije se ne menja tokom proliferacije i te ćelije postaju besmrtno: mogu beskonačno da se dele a da se ne ispolji RS zavisna od dužine telomera. Telomeraza je glavni, ali ne i jedini mehanizam koji produžava telomere.

Tokom embrionalnog i postnatalnog života ekspresija telomeraze se održava u gonadama, dok u većini somatskih tkiva do njene represije, potpune ili skoro potpune, dolazi u sredini gestacije (29,30). U određenim tkivima odraslog čoveka postoje matične (eng. stem) ćelije, unipotentne ili pluripotentne, koje mogu da se diferenciraju u jedan, odnosno više tipova ćelija (31,32) i koje ekspimiraju telomerazu (31). Većina malignih ćelija ekspimirira telomerazu (33), pa bi represija telomeraze mogla da bude strategija sprečavanja nastanka ili povlačenja tumora u organizmima dugačkog životnog veka.

### **Starenje *in vivo***

Za gerontologe, proces starenja *in vivo* je od primarnog značaja i zato se nameće pitanje da li RS ćelija, kao fenomen koji egzistira u uslovima *in vitro*, postoji kao starost ćelija *in vivo* i, ako postoji, kakve su posledice prisustva starih ćelija u tkivima i organima. Za sada nije utvrđena direktna uzročna veza između starenja ćelija i ćelijske smrti, s jedne strane, i starenja organizma, s

druge strane. Međutim, postoje brojni posredni dokazi da oba procesa doprinose opštem starenju organizma.

### **Fenotip stare ćelije**

Uprkos brojnim sumnjama da je RS ćelija zapravo artefakt koji se javlja u stresnim uslovima ćelijske kulture, ostarele ćelije i biomarkeri starenja mogu da se detektuju *in vivo* (34). Stare ćelije se češće javljaju u tkivima podložnim stresu, kao što su vene donjih ekstremiteta, krvni sudovi, prostata, kosti, zglobovi i koža. Ostarela ćelija ima dve ili tri karakteristike koje zajedno definišu njen fenotip: 1) u osnovi ireverzibilni prestanak proliferacije, 2) neosetljivost na signale koji izazivaju apoptozu u nekim tipovima ćelija i 3) promene u funkcijama diferencirane ćelije

**Prestanak proliferacije.** Ireverzibilni prestanak deobe je najupadljivija karakteristika ostarele ćelije. On je, kao što je već rečeno, posledica represije gena koji su neophodni za odvijanje ćelijskog ciklusa i povećane ekspresije gena koji inhibiraju odvijanje ćelijskog ciklusa (35), pri čemu je uticaj povećane sinteze inhibitora proliferacije dominantan. Zaustavljanje deoba, kao nesumnjivi znak starenja ćelije, moglo bi da bude odgovorno za slabljenje nervnih funkcija, hematopoeze i razvoj dijabetesa tokom starenja (36). Prema tome, starenje ćelija bi moglo da doprinese ukupnom starenju sprečavanjem proliferacije matičnih ćelija ili prekursorskih ćelija.

**Neosetljivost na apoptozu.** Apoptoza ili programirana ćelijska smrt je odgovor na fiziološke signale, stres i oštećenje, koji na precizno kontrolisan način eliminiše nepotrebne, disfunkcionalne ili potencijalno maligne ćelije iz tkiva. Kao i ćelijska starost, i apoptoza je u mladosti zaštitni mehanizam protiv razvoja malignih tumora. Tokom starenja, međutim, neke mitotički aktivne ćelije (humani fibroblasti, T ćelije, epitelne ćelije mlečne žlezde) postaju neosetljive na stimuluse koji normalno izazivaju apoptozu, dolazi do njihove akumulacije i povećanja broja oštećenih i disfunkcionalnih ćelija u tkivima (36). S druge strane, potencijalno štetni efekti ćelijske smrti tokom starenja najočigledniji su u postmitotičkim tkivima, u kojima se ćelije teško obnavljaju. U nekim delovima mozga i u skeletnim mišićima ćelije mogu da se nadoknade mobilizacijom matičnih ili prekursorskih ćelija, ali izgleda da i te ćelije imaju konačni životni vek i u starosti se njihov broj smanjuje. Štaviše, tkivni ili sistemski milje starog organizma dodatno kompromituje mobilizaciju i/ili funkciju adultnih matičnih ćelija (32). I apoptoza i nekroza, kao drugi tip ćelijske smrti, mogu da se intenziviraju tokom starenja zbog porasta oksidativnog ili nekog drugog tipa oštećenja i dovedu do iscrpljivanja ćelijskih rezervi u stepenu koji ima za posledicu atrofiju ili degeneraciju.



**Funkcionalne promene.** Starenjem ćelija menjaju se njihove funkcije, uključujući i povećanu sekreciju molekula koji mogu štetno da deluju na strukturu i integritet tkiva. Stare ćelije mogu da sekretiraju proteaze, proinflamatorne citokine (IL-1), faktor nekroze tumora (TNF) i faktore rasta (38-40). Proteaze direktno, a drugi molekuli indirektno, stimulacijom inflamacije, oštećuju strukture tkiva. Faktori rasta mogu da poremete proliferativnu homeostazu i čak da stimulišu rast mutiranih preneoplastičnih ili neoplastičnih ćelija.

### **Uloga ćelijskog starenja i ćelijske smrti u starenju organizma**

Ćelijska starost i smrt mogu da igraju ulogu u starenju na dva načina (36):

1. Pošto su oba procesa važna za suprimiranje raka u mladosti, to su mehanizmi koji obezbeđuju dugovečnost, tj. odlažu pojavu karakteristika starenja i bolesti koje prate starenje, na primer rak.
2. Međutim, kako se sa godinama smanjuje osetljivost mitotički aktivnih ćelija na apoptozu, disfunkcionalne „stare” ćelije se akumuliraju u tkivima koja se obnavljaju, dok se apoptozom smanjuje broj funkcionalnih ćelija u postmitotičkim tkivima, tako oba procesa mogu da imaju suprotan efekat od onog u mladosti, tj. da ubrzaju fenotipske karakteristike starenja. Ovaj očigledni paradoks – povoljni efekti istih procesa ili istih gena u mladosti, a nepovoljni u starosti, saglasan je sa evolucionom teorijom antagonističke plejotropije.

### **Teorije starenja**

Teorije starenja pokušavaju da objasne zašto eukarioti stare i umiru. Do sada se u literaturi pojavio veliki broj teorija starenja, čak više od 300 (7,40). Brojne teorije ne moraju međusobno da se isključuju, već se mnoge preklapaju i dopunjuju. Štaviše, zbog izuzetne složenosti procesa starenja malo je verovatno da postoji samo jedan mehanizam odgovoran za nastanak starenja, a koji je pri tome univerzalan za sve životinje. Jedan od najvećih problema u formiranju koherentne teorije starenje jeste jasno sagledavanje uzroka i posledice starenja. Kao što statističari naglašavaju da postojanje korelacije ne podrazumeva uzročnu vezu, tako i paralelno odvijanje nekih procesa tokom starenja ne znači da su oni uzročno povezani. Ni posle više decenija istraživanja i ogromnog broja radova, ne zna se da li su replikativna starost i slobodni radikali uzroci ili posledice starenja. U svakom slučaju, i krajem prve decenije XXI veka starenje ostaje velika misterija biologije i fiziologije.

Teorije starenja mogu da se klasifikuju na različite načine, ali najčešće se grupišu prema nivoima za koje se smatra da imaju primarnu ulogu u starenju. Tako, glavne teorije starenja tumače starenje na molekularnom, ćelijskom, sistemskom i evolucionom nivou. Svaki od tih nivoa može da sadrži više teorija.

### **Molekularne teorije starenja**

Postoji više molekularnih teorija starenja (restrikcija kodona, regulacija gena, disdiferencijacija, teorija greške i katastrofe, somatske mutacije i oštećenja DNK), ali samo pojedine imaju donekle potvrdu u eksperimentalnim podacima.

Teorija oštećenja DNK je jedna od nekoliko teorija koje tvrde da oštećenja DNK ili akumulacije mutacija izazivaju starenje (41). U prilog toj hipotezi govori činjenica da je uzrok progeroidnog Werner-ovog sindroma mutacija WRN gena. WRN gen je odgovoran za sintezu jedne RecQ helikaze uključene u reparaciju oštećene DNK (42).

Poznato je da se mutacije i alteracije DNK, kao hromozomske abnormalnosti, povećavaju tokom starenja čoveka i eksperimentalnih životinja. Međutim, nije jasno da li su te promene uzrok ili posledica starenja, kao i koji bi tip oštećenja DNK mogao da ima ključnu ulogu u starenju. Postoje mišljenja da je oksidativno oštećenje mitohondrijske DNK (mtDNK) mnogo važnije od istog tipa oštećenja jedarne DNK (43). Nalaz da oštećenje mtDNK polimeraze ima za posledicu ubrzano starenje (44) je prvi nagoveštaj direktne uloge mtDNK u starenju.

### **Teorije ćelijskog starenja**

**Hipoteza slobodnih radikala** je jedna od najpoznatijih teorija starenja. Ona tvrdi da slobodni radikali, oštećujući ćelijske makromolekule, dovode do starenja i na kraju do smrti ćelije (45). Dve glavne grupe slobodnih radikala u organizmu su: slobodni radikali molekularnog kiseonika (ROS, akronim od engl. reactive oxygen species), koji su i najprisutniji, i slobodni radikali azotnih jedinjenja (RNS, od engl. reactive nitrogen species). NO je glavni RNS; on sam po sebi nije slobodni radikal, ali može da reaguje sa mnogim slobodnim radikalima, kao što je superoksidni radikal ( $O_2^{\cdot -}$ ), pri čemu nastaju novi, veoma reaktivni slobodni radikali (46).

U normalnim fiziološkim procesima, većina ćelijskih ROS generiše se u mitohondrijama, u procesu oksidativne fosforilacije. Tokom prenošenja elektrona respiratornim lancem do molekularnog kiseonika, pojedini elektroni „iscure” iz respiratornog lanca i njih direktno apsorbuje molekularni kiseonik,

prelazeći u  $O_2^{\cdot-}$ . Prisustvo ROS u ćelijama predstavlja veliki izazov za biološke sisteme jer ROS, zbog velike reaktivnosti, mogu neselektivno da oštećuju esencijalne makromolekule (proteine, lipide i DNK), dovodeći do disfunkcije fizioloških sistema i ugrožavanja integriteta ćelija. S druge strane, postoje ubedljivi dokazi za to da ROS mogu da imaju pozitivnu fiziološku ulogu u raznim biološkim procesima, npr. u imunološkom odgovoru na patogene (40).

Ćelije su razvile mehanizme koji precizno održavaju ravnotežu između stvaranja i uklanjanja ROS u cilju odbrane od oksidativnog stresa pri održavanju normalnih fizioloških funkcija (47). Jedan antioksidansni sistem čini nekoliko enzima i proteina od kojih najznačajniju ulogu ima superoksiddizmutaza (SOD), prisutna u svim aerobnim organizmima. SOD specifično inaktivira superoksidne radikale konvertujući ih u  $H_2O_2$ , koji pod uticajem ćelijskih katalaza može da se konvertuje u vodu. Drugi antioksidansni sistem čine mali antioksidansni molekuli, tzv. „hvatači” ili „čistači” ROS: vitamin C, tokoferol,  $\beta$  karoten, glutation, bilirubin, lipoična kiselina i urea. Neke od ovih molekula sintetišu same ćelije, dok se drugi unose hranom.

Različiti i brojni egzogeni uticaji, kao što su jonizujuće zračenje, toksične supstance iz okoline, infekcije patogenim mikroorganizmima, UV zračenje, lekovi, sastojci hrane, mogu da povećaju sintezu ROS i kad količina ROS prevaziđe kapacitet antioksidansnih sistema organizma, oni ispoljavaju toksične efekte u ćelijama i tkivima.

Prema teoriji slobodnih radikala, ROS su glavni uzrok starenja. Mada ROS neosporno imaju ulogu u određenim patološkim stanjima karakterističnim za starost, kao što je npr. katarakta, direktni dokazi o njihovom uticaju na starenje sisara su veoma oskudni (47). Interesantno je da restrikcija unosa kalorija, kao jedna od široko proučavanih intervencija koja produžava životni vek skoro svih do sada ispitivanih vrsta, osim ljudske, smanjuje stepen oksidativnog oštećenja u tkivima (48), a to je, bar delom, posledica redukovane proizvodnje ROS u mitohondrijama.

**Mitotički sat.** Jedna od najnovijih i najubedljivijih hipoteza koja bar delimično objašnjava replikativnu starost jeste da nekompletna replikacija telomera prilikom svake ćelijske deobe postepeno dovodi do gubitka proliferativnog potencijala (49). Po ovoj hipotezi, za ireverzibilno zaustavljanje ćelijske deobe odgovoran je kontrolni mehanizam koji interpretira kritično smanjenu dužinu telomera kao oštećenje DNK i dovodi do blokade ćelijskog ciklusa. Pri tome, dužina telomera ima ulogu tzv. mitotičkog sata ili replikometra koji prati broj deoba normalnih somatskih ćelija.

## Sistemske teorije starenja

**Teorija brzine života.** Fiziolog Max Rubnek je još 1908. godine otkrio odnos između intenziteta metabolizma, veličine tela i dužine života: dugovečnije životinjske vrste su u proseku veće i troše manje kalorija po jedinici telesne mase od vrsta malog tela i kratkog životnog veka. Hipoteza o potrošnji energije pretpostavljala je da se životinje rađaju sa ograničenom količinom neke supstancije, potencijalne energije ili fiziološkog kapaciteta, čije brzo iscrpljivanje brže dovodi do smrti (3). Ta hipoteza je evoluirala u Teoriju brzine života: što je brži metabolizam, brži su biohemijski procesi i organizam će ranije umreti/uginuti. Ova teorija je u skladu sa karakteristikama života sisara kod kojih je dugačak životni vek udružen sa sporim odrastanjem i sazrevanjem i sporom reprodukcijom (50).

**Teorije starenja kontrolnih sistema.** Nervni, endokrini i imunološki sistem su tri glavna i međusobno povezana kontrolna sistema organizma, pri čemu imunološki sistem ima i vitalno značajne odbrambene uloge. Starenjem kontrolnih sistema smanjuje se efikasnost homeostatskih prilagođavanja i slabe adaptivni mehanizmi, zbog čega dolazi do starenja i smrti (50). Međutim, sistemske teorije ne objašnjavaju šta je uzrok starenja samih kontrolnih sistema. Paradigma uticaja starenja endokrinog sistema je menopauza i posledice na nivou reproduktivnih organa, koštanog tkiva i zglobova, kardiovaskularnog sistema i kože. Imunološka teorija starenja se bazira na značajnim promenama u imunološkom sistemu (51): i humoralni i ćelijski posredovani imunološki odgovori se menjaju tokom godina i velikim delom su posledica involucije timusa. Odgovor T i B ćelija na strane antigene je smanjen, dok je odgovor na sopstvene antigene organizma povećan. Takve promene u imunološkom sistemu odgovorne su za povećanu učestalost infekcija, karcinoma i autoimunoloških bolesti u starosti.

## Vraćanje sata

Odmah treba naglasiti da, za sada, ne postoji naučno zasnovan dokaz da je podmlađivanje, sprečavanje i usporavanje starenja, kao uostalom i besmrtnost čoveka, moguće (3,7,52). Produženje života ne znači nužno i usporavanje fundamentalnih procesa starenja. Iako je ljudski vek u poslednjih sto godina skoro udvostručen, nema dokaza da je starenje ljudi usporeno; mi živimo duže uglavnom zbog drastično smanjenog mortaliteta od infektivnih bolesti (3). Neke od mnogobrojnih aspekata starenja možemo da usporimo, npr. starenje kože izbegavanjem sunčanja, ali ne i ukupno starenje. Danas ne postoji prava „anti-age” medicina i „anti-age” terapija prvenstveno zbog toga što uzroci i mehanizmi starenja nisu poznati. Kao moguće intervencije u cilju odlaganja i

usporavanja starenja, a možda i lečenja, u literaturi se navode genska terapija, ćelijska terapija (matične ćelije), kao i terapija nanostrukturama. Tehnologije koje bi omogućile ovakve intervencije su tek u povoju.

## Zaključak

Danas, krajem prve decenije XXI veka, starenje čoveka je i dalje velika enigma. Značajni pomaci u odlaganju i usporavanju starenja, kao i uspešno lečenje bolesti koje su najčešći uzrok smrti starih ljudi, mogu da se očekuju tek kada se spoznaju fundamentalni procesi odgovorni za fiziološko starenje: promene na molekularnom i ćelijskom nivou i uticaji faktora spoljašnje sredine na njih. Do tada, pravilnom ishranom, fizičkom aktivnošću, izbegavanjem štetnih navika, i uopšte, umerenim načinom života i redovnim kontrolama zdravlja, možemo da odložimo ili čak sprečimo nastanak nekih bolesti karakterističnih za starost, ali ne i neumitni proces starenja i samu starost.

## Literatura

1. Timiras PS. Old age as a stage of life: common terms related to aging and methods used to study aging. In: Timiras PS. ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. 4<sup>th</sup> ed. New York: Informa Healthcare USA, 2007: 3-10.
2. Craik FIM, Salthouse TA. *Handbook of Aging and Cognition*. Erlbaum: Hillsdale, 1992.
3. Hayflick L. *How and Why We Age*. New York: Ballantine Books, 1994.
4. Strehler BL. *Time, Cells, and Aging* Larnaca: Demetriades Brothers. 1999.
5. <http://www.cdc.gov/nchs/products/pubs/pubd/nhsr/nhsr.html>
6. Faragher RGA. The relationship between cell turnover and tissue aging. In: Aspinall R. ed. *Aging of Organs and Systems*. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishers, 2003: 1-28.
7. <http://www.senescence.info/models.html>
8. de Magalhaes JP. From cells to ageing: a review of models and mechanisms of cellular senescence and their impact on human ageing. *Exp Cell Res* 2004; 300: 1-10.
9. Gershon H, Gershon D. Paradigms in aging research: a critical review and assessment. *Mech Ageing Dev* 2000; 117: 21-8.
10. Strohman R. Maneuvering in the complex path from genotype to phenotype. *Science* 2002; 296: 701.
11. Rose MR, Nusbaum TJ. Prospects for postponing human aging. *FASEB J* 1994; 8: 925-8.
12. Autaxier C. Telomeres, Telomerase and Aging. *Geriatr Aging* 2008; 11 (S10): 12-3.

13. Aubert G, Lansdorf PM. Telomeres and aging. *Physiol Rev* 2008; 88: 557 - 79.
14. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25: 585-621.
15. Goldstein S. Aging in vitro. Growth of cultured cells from the Galapagos tortoise. *Exp Cell Res* 1974; 83: 297-302.
16. Stanley JF, Pye D, MacGregor A. Comparison of doubling numbers attained by cultured animal cells with life span of species. *Nature* 1975; 255: 158-9.
17. Salk D, Bryant E, Au K, Hoehn H, Martin GM. Systematic growth studies, cocultivation, and cell hybridization studies of Werner syndrome cultured skin fibroblasts. *Hum Genet* 1981; 58: 310-6.
18. Campisi J. Replicative senescence and immortalization. In: Stein GS, Baserga A, Giordano A, Denhardt DT. (eds). *The Molecular Basis of Cell Cycle and Growth Control*. New York: Wiley-Liss, 1999: 348-73.
19. Cristofalo VJ, Lorenzini A, Allen RG, Torres C, Tresini M. Replicative senescence: a critical review. *Mech Ageing Dev* 2004; 125: 827-48.
20. Campisi J. Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. *Trends Cell Biol* 2001; 11: S27-31.
21. Wright WE, Shay JW. Historical claims and current interpretations of replicative aging. *Nat Biotechnol* 2002; 20: 682-8.
22. Kim SH, Kaminker P, Campisi J. Telomeres, aging and cancer: in search of a happy ending. *Oncogene* 2002; 21: 503-11.
23. Watson JD. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat New Biol* 1972; 239: 197-201.
24. Levy MZ, Allsopp RC, Futcher AB, Greider CW, Harley CB. Telomere end-replication problem and cell aging. *J Mol Biol* 1992; 225: 951-60.
25. d'Adda di Fagagna FP, Reaper M, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, Von Zglinicki T, et al. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature* 2003; 426:194-8.
26. Takai H, Smogorzewska A, de Lange T. DNA damage foci at dysfunctional telomeres. *Curr Biol* 2003; 13: 1549-56.
27. Itahana K, Dimri G, Campisi J. Regulation of cellular senescence by p53. *Eur J Biochem* 2001; 268: 2784-91.
28. Kakuo S, Asaoka K, Ide T. Human is a unique species among primates in terms of telomere length. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 263: 308-14.
29. Prowse KR, Greider CW. Developmental and tissue-specific regulation of mouse telomerase and telomere length. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4818-4822.
30. Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev Genet* 1996; 18: 173-9.
31. Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 387-403.

32. Rao MS, Mattson MP. Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 713-34.
33. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, *et al.* Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011 -5.
34. Campisi J. Aging, chromatin, and food restriction--connecting the dots. *Science* 2000; 289: 2062-3.
35. Ben-Porath I, Weinberg RA. When cells get stressed: an integrative view of cellular senescence. *J Clin Invest* 2004; 113: 8-13.
36. Campisi J. Cellular senescence, cell death, and transgenic mouse models of aging. In: Timiras PS. ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. 4<sup>th</sup> ed. New York: Informa Healthcare USA, 2007: 41-54.
37. Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL, Rando TA. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature* 2005; 433: 760-4.
38. Campisi J. Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes. *Exp Gerontol* 2003; 38: 5-11.
39. Lio D, Scola L, Crivello A, Colonna-Romano G, Candore G, Bonafe M, *et al.* Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 -1082 promoter SNP and its interaction with TNF-alpha -308 promoter SNP. *J Med Genet* 2003; 40: 296-9.
40. Carey JR, Zou S. Theories of life span and aging. In: Timiras PS. ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. 4<sup>th</sup> ed. New York: Informa Healthcare USA, 2007: 55-70.
41. Gensler HL, Bernstein H. DNA damage as the primary cause of aging. *Q Rev Biol* 1981; 56: 279-303.
42. Yu CE, Oshima J, Fu YH, Wijsman EM, Hisama F, Alisch R, *et al.* Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* 1996; 272: 258-262.
43. Barja G. Endogenous oxidative stress: relationship to aging, longevity and caloric restriction. *Ageing Res Rev* 2002; 1: 397-411.
44. Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder C E, *et al.* Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 2004; 429: 417-23.
45. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11: 298-300.
46. Niles JC, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Peroxynitrite- induced oxidation and nitration products of guanine and 8-oxoguanine: structures and mechanisms of product formation. *Nitric Oxide* 2006; 14: 109-21.
47. Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2007; 292: R18 - R36.

48. Heilbronn LK, Ravussin E. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Am J Clinical Nutrition* 2003; 78: 361- 9.
49. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, *et al.* Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998; 279: 349-52.
50. Austad SN. *Why We Age: What Science is Discovering about the Body's Journey through Life*. New York: John Wiley & Sons, 1997.
51. Pawelec G. Immunosenescence and human longevity. *Biogerontology* 2003; 4: 167-70.
52. <http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=antiaging-medicine>

## **The biology and physiology of aging**

**Bosiljka Plećaš, Lada Živković, Biljana Potparević**

Institute of physiology and biology, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

---

### **Summary**

Aging is inevitable, and as the percentage of elderly in the population increases it becomes more important to understand physiological mechanisms associated with the normal aging process so the quality of life can be sustained. Maintaining physiological functions or „health” in aging population will help to reduce the burden on the medical systems. In this work, we briefly consider, in the light of up-to-date scientific data and hypotheses, some key questions on the biology and physiology of aging: what is it and why does it happen. Prospects for delaying and impeding the aging process are disputed as well.

**Key words:** aging – traits, causes, theories, delaying

---