

University of Groningen

Genetics of lifespan determination in *Drosophila melanogaster*

Vermeulen, Cornelis Joseph

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2004

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Vermeulen, C. J. (2004). *Genetics of lifespan determination in Drosophila melanogaster*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

VEROUDERING EN LEVENSDUUR

Volgens een Engels gezegde bestaan er slechts twee zekerheden in ons bestaan: belastingen en de dood. Als schrale troost, delen we in ieder geval die laatste zekerheid met de meerderheid van levensvormen die de aarde bevolken. Eencellige organismen zijn voor zover bekend de enige organismen die zich kunnen onttrekken aan het proces van aftakeling dat we kennen als veroudering. Meercellige levensvormen (planten, dieren en de meeste schimmels) lijden er allen in meer of mindere mate aan, waarschijnlijk omdat zij een scheiding kennen tussen lichaams- en geslachtscellen. De lichaamscellen ondergaan veroudering, maar de geslachtslijn niet. Overigens bestaan er grote verschillen tussen soorten in de snelheid waarmee deze verouderen en de levensduur die ze toebedeeld krijgen. Zo kunnen sommige bomen van het geslacht *Pinus*, vergelijkbaar met de dennen die veel mensen in de tuin hebben staan, onder de juiste omstandigheden een leeftijd bereiken van bijna vijfduizend jaar, vele malen langer dan de maximale levensduur van mensen, die iets meer dan een eeuw bedraagt. Anderzijds heeft de langst levende fruitvlieg, *Drosophila melanogaster*, die ik tijdens het onderzoek beschreven in dit proefschrift ben tegengekomen een leeftijd bereikt van iets minder dan vier maanden. Deze waaier aan levensduren wordt gevormd door de erfelijke verschillen die aanwezig zijn tussen soorten. Maar ook binnen een soort bestaat vaak genetisch bepaalde variatie voor levensduur.

Een gebruikelijke maat voor het tempo van veroudering is de toename van de sterftেকans met toenemende leeftijd. Het meten van sterftেকansen aan individuen is uiteraard niet mogelijk en daarom dient dit te gebeuren in groepen vergelijkbare individuen. Door de grote werkbelasting voor de onderzoeker wordt echter vaak gekozen voor gemiddelde of maximale levensduur als maat voor het tempo van veroudering. Hierbij moet er op gelet worden dat levensduur niet alleen bepaald wordt door veroudering, maar ook door andere factoren, zoals vatbaarheid voor ziekten of inteeltdepressie. Overigens is er zowel over de genetische factoren van veroudering als over die van levensduur weinig bekend, dus nadere karakterisering van beide eigenschappen is gewenst. Het onderzoek in dit proefschrift handelt over de beschrijving en analyse van genetisch bepaalde variatie voor levensduur binnen het modelorganisme *Drosophila melanogaster*.

ACHTERGROND VAN HET ONDERZOEK

Het bestaan van veroudering is voor evolutiebiologen erg onlogisch. Zij zijn gewend dat het proces van *natuurlijke selectie*, zoals beschreven door Charles Darwin, ervoor zorgt dat organismen optimaal kunnen functioneren. Veroudering is echter overduidelijk een nadelig proces, dat dus eigenlijk niet zou moeten kunnen evolueren. Een aantal evolutionaire theorieën van veroudering kunnen deze puzzel mogelijk oplossen. Al deze theorieën zijn op hetzelfde basisgegeven gebaseerd: natuurlijke selectie is minder effectief in het verwijderen van kwalen en ziektes die pas op late leeftijd tot uiting komen. Stelt U zich maar eens voor hoe onze voorouders leefden, voordat er moderne gezondheidszorg of een constante voedselvoorziening bestond. Vanwege ziekten en voedseltekorten was de vroegere levensverwachting van een pasgeborene een jaar of dertig. Dit is juist de leeftijd waarop de invloed van veroudering voor de meeste mensen merkbaar wordt. Doordat er toen, in tegenstelling tot vandaag, weinig oude mensen rondliepen, was het verouderingsproces verborgen en kon natuurlijke selectie hier ook geen invloed op uitoefenen; Veroudering bevond zich in wat wel de “selectieschaduw” genoemd wordt. De verschillen tussen de meest relevante evolutionaire theorieën van veroudering liggen in de details. Volgens de *mutatie accumulatie* theorie van Medawar (1952) zal het genoom (het totaal aan genetische informatie) fungeren als een “genetische vuilnisbak” waarin zich in de loop van de generaties nadelige mutaties van genen kunnen ophopen. Als deze geneffecten tot uiting komen, omdat de levensverwachting plotseling fors toeneemt, zoals in de moderne menselijke samenleving is gebeurd, wordt dit zichtbaar als veroudering. Vanaf dat moment krijgt natuurlijke selectie weer vat op het verouderingsproces, en zal de gemiddelde levensduur gedurende vele generaties weer toenemen. In de theorieën van *antagonistische pleiotropie* van Williams (1957) en *disposable soma* (vrij vertaald: wegwerplichaam) van Kirkwood en Holliday (1979) zijn deze nadelige effecten een bijproduct van processen met evolutionaire voordelen vroeg in het leven. Zo zou bijvoorbeeld de ontwikkeling van een efficiënter immuunsysteem een vergrote kans op auto-immuunziekten, zoals multiple sclerose, later in het leven met zich mee kunnen brengen. Deze theorieën zijn bedacht om de evolutie van veroudering te kunnen verklaren, maar kunnen ook de aanwezigheid van bestaande genetische variatie voor veroudering binnen soorten verklaren. Onderzoek aan deze levensduurvariatie kan informatie verschaffen over de relatieve invloed van ieder van de hierboven genoemde evolutionaire processen. Om de verschillende evolutionaire theorieën van veroudering te kunnen testen, moeten wel de genen die bijdragen aan de genetische variatie voor levensduur ontmaskerd worden. Over de functies van deze genen zijn al vele theorieën gevormd, gebaseerd op resultaten uit eerder onderzoek.

Ook deze theorieën kunnen getoetst worden door genetische variatie voor levensduur te onderzoeken.

SELECTIE OP LEVENSDUUR VOOR DROSOPHILA

Onderzoek aan de genetische variatie van levensduur in *Drosophila* wordt makkelijker als je deze variatie eerst uit elkaar pluist. Dit kun je bereiken door selectie, net zoals duivenkwekers doen om rassen met mooie kleuren of vormen te fokken. Op een vergelijkbare wijze zijn voorheen lijnen van *Drosophila* kunstmatig geselecteerd op verhoogde levensduur. Vliegen uit deze lijnen werden veel ouder dan “normale” vliegen en waren veel weerbaarder tegen ongunstige omstandigheden (*stress*). Helaas lieten deze lijnen ook zien dat er ernstige nadelen kleefden aan een verhoogde levensduur: Zij moesten voor hun hoge leeftijd boeten met een sterk verlaagde productie van nakomelingen vroeg in hun leven. Deze balans tussen twee eigenschappen wordt een *trade-off* genoemd. Dit resultaat strookt met de disposable soma theorie, die stelt dat de energie die nodig is om extra lang te kunnen leven onttrokken wordt aan het reproductieproces.

In dit proefschrift beschrijven we enkele eigenschappen die veranderd zijn in samenhang met levensduur in een unieke set selectielijnen, gemaakt door Zwaan en collega's (1995). Deze lijnen zijn bijzonder omdat ze, anders dan gebruikelijk is, geselecteerd zijn op maagdelijke (dus niet-reproducerende) levensduur en omdat er niet alleen lijnen met verlengde maar ook met verkorte levensduur zijn gemaakt. Ook in deze lijnen werd een verlaagde vroege reproductie gevonden in vliegen geselecteerd voor levensverlenging.

In **Hoofdstuk 2** van dit proefschrift wordt beschreven hoe, bijna tien jaar nadat selectie van deze lijnen gestaakt was, de selectieprocedure opnieuw wordt gestart. Naast de originele set lijnen (de primaire set) wordt door een aantal extra generaties selectie ook een nieuwe set selectielijnen (de afgeleide set) gemaakt. Daarna worden een aantal belangrijke eigenschappen onderzocht in beide sets. Daaruit blijkt dat de vliegen uit de langlevende lijnen helemaal geen verlaagde reproductie meer hebben, noch in de primaire noch in de afgeleide set. Deze vliegen hebben een inhaalslag gemaakt tijdens de tien jaar zonder selectie, zonder dat het verschil in maagdelijke levensduur is beïnvloed. Ongestraft gaat dit overigens niet, want als deze vliegen eieren produceren (en dus niet maagdelijk zijn) leven ze even lang als “normale” vliegen. Ook blijkt dat de vliegen die kunstmatig geselecteerd zijn, of dat nu voor korter of langer leven is, minder goed presteren dan soortgenoten met een gemiddelde

Samenvatting

levensduur. Zo hebben deze vliegen verminderde levensvatbaarheid tijdens de ontwikkeling, een langere ontwikkelingsduur en lager lichaamsgewicht. Volgens de theorie van antagonistische pleiotropie is het normaal dat levensduur samenhangt met andere eigenschappen, maar meestal wordt aangenomen dat er een eenvoudig verband is. Dit is dus duidelijk niet altijd het geval.

In **Hoofdstuk 3** worden grote verschillen in vetgehalte (lipiden) tussen de selectielijnen aangetoond. Het *lipidenmetabolisme* is al eerder geassocieerd met variatie voor levensduur. Er is eerder al geopperd dat langlevende vliegen beter tegen uithongering kunnen omdat ze grotere vetreserves aanlegden. Dit zou dan de oorzaak zijn van een verlaagde eiproductie in wijfjes, omdat deze ook afhankelijk is van lipiden. Omdat er geen verschil in vroege reproductie meer wordt waargenomen tussen de selectielijnen (hoofdstuk 2), werden ook geen verschillen in vetgehalte en resistentie tegen uithongering verwacht. Dergelijke verschillen worden wel degelijk gevonden, maar niet in de volgorde die verwacht zou worden op basis van een positief verband tussen levensduur en stressresistentie. Er bestaat dus wel een associatie tussen het lipidenmetabolisme en levensduur, maar hoe deze twee functioneel met elkaar samenhangen, is nog onbekend. Ook werd verwacht dat er verhoogde ophoping van lipiden in langlevende volwassen vliegen zou plaatsvinden, maar er blijken geen verschillen tussen selectielijnen te zijn.

Omdat onderhoud en reparatie van het lichaam belangrijke processen zijn in de evolutionaire theorieën van veroudering, is het niet vreemd dat van genen die bescherming bieden tegen stress en schade, verwacht werd dat ze levensduur kunnen beïnvloeden. Dit betreft vooral genen die zich richten tegen *oxidatieve stress*. Het idee dat oxidatieve stress een grote invloed op levensduur heeft, stamt van de *vrije radicalen theorie* van Harman (1956). Hij dacht dat toxische zuurstofradicalen die tijdens normaal zuurstofmetabolisme ontstaan in het lichaam, veel schade aanrichten aan de daar aanwezige eiwitten en vetzuren en aan het DNA in de celkern. In **Hoofdstuk 4** worden inderdaad verschillen in de resistentie tegen oxidatieve stress tussen selectielijnen gevonden. Deze oxidatieve stress wordt opgewekt door de vliegen de chemische verbinding paraquat aan te bieden in het voedingsmedium. Eenmaal ingenomen, genereert paraquat zuurstofradicalen in het lichaam. Kortlevende vliegen blijken inderdaad een lagere overleving te hebben op voer met paraquat dan normale vliegen. Langlevende vliegen nemen meer paraquat in, maar hebben desondanks een even lange overleving als normale vliegen, en kunnen dus grotere hoeveelheden paraquat weerstaan. Kortlevende vliegen hebben dus een slechter

afweermechanisme tegen oxidatieve stress dan normale vliegen en langlevende vliegen juist een betere afweer.

Onlangs werd in *Drosophila* een genetisch verband aangetoond tussen het *dopamine metabolisme* en levensduur. In **Hoofdstuk 5** wordt dit nader onderzocht. In mensen is dopamine een belangrijke neurotransmitter en verstoorde dopaminespiegels worden verantwoordelijk gehouden voor aandoeningen als de ziekte van Parkinson. In *Drosophila* is dopamine naast zijn functie als neurotransmitter tevens nodig voor de vorming van pigmenten. De selectielijnen verschillen van elkaar in lichaamskleur en ook in hun dopaminespiegels, wat bevestigt dat er een verband bestaat tussen dopamine en levensduur. Hoe de veranderde dopaminespiegels samenhangen met levensduur is nog niet bekend, maar een tipje van de sluier kon worden opgelicht. In kortlevende lijnen hangen hoge dopaminespiegels samen met een verhoogde bewegingsactiviteit en verhoogde ademhalingsnelheid. Dit wijst op een verhoging van de oxidatieve stress in de kortlevende vliegen. De resultaten van de langlevende lijnen kloppen echter weer niet met deze hypothese, want deze hebben een normale dopaminespiegel en ademhalingsnelheid en, net als de kortlevende vliegen, ook een verhoogde bewegingsactiviteit. Misschien wordt de langere levensduur in deze lijnen op een andere manier veroorzaakt. Omdat dopamine zowel gedrag als verschillende fysiologische processen beïnvloedt, gaan genetische veranderingen in de dopaminespiegels waarschijnlijk gepaard met vele neveneffecten in, onder andere, de immuunrespons en het paringsgedrag. Daarom is het dopamine metabolisme een veelbelovend systeem voor onderzoek naar genetische associaties die voorspeld worden door de theorie van antagonistische pleiotropie, met positieve effecten vroeg, en negatieve effecten laat in het leven.

HET EFFECT VAN INTEELTDEPRESSIE OP LEVENSDUUR

Inteeltdepressie ontstaat als naaste verwanten met elkaar nakomelingen krijgen. Deze nakomelingen lijden vaak aan afwijkingen en presteren minder goed op een groot aantal eigenschappen. Ook tijdens inteelt komt er genetische variatie voor levensduur tot uiting, wat doorgaans leidt tot een verkorte levensduur. Het is niet bekend of de genetische varianten die tot uiting komen tijdens inteeltdepressie ook levensduur in niet-ingeteelde individuen beïnvloeden. Het zou bijvoorbeeld mogelijk kunnen zijn dat bepaalde genetisch beïnvloede aandoeningen vaker tot uiting komen tijdens inteeltdepressie. Om dit proces nader te onderzoeken wordt variatie voor levensduur in een set van sterk ingeteelde lijnen van *Drosophila melanogaster* onderzocht.

Samenvatting

In **Hoofdstuk 6** wordt onderzocht in hoeverre levensduur in inteeltlijnen beïnvloed wordt door veroudering. Als de verkorte levensduur in inteeltlijnen het resultaat is van een versnelde veroudering, dan zou levensduur in inteeltlijnen op een vergelijkbare manier moeten reageren op veranderingen in temperatuur als levensduur in niet ingeteelde lijnen. Dit blijkt echter niet het geval te zijn. Dit wijst er op dat levensduur in inteeltlijnen korter is doordat deze een toegenomen gevoeligheid hebben voor andere doodsoorzaken, bijvoorbeeld infectie. De sterftekans in inteeltlijnen is inderdaad op alle, dus ook op jonge, leeftijden hoger is dan in niet ingeteelde lijnen. Aangezien jonge dieren nog niet sterven door veroudering, ondersteunt dit het idee dat ingeteelde vliegen minder weerbaar zijn.

In het onderzoek beschreven in hoofdstuk 6 worden twee lijnen beschreven, die hoge voortijdige sterfte vertonen onder specifieke temperatuursomstandigheden. Deze lijnen kunnen wellicht belangrijke informatie leveren over de genetische oorzaken van inteeltdepressie. Nader onderzoek van deze lijnen is dus gewenst en dit is beschreven in **Hoofdstuk 7**. Eerst worden de condities uitgezocht waarop het letale (dodelijke) effect tot uiting kwam. Voor één lijn werd het letale effect tot expressie gebracht bij hoge temperatuur (29°C), terwijl de andere lijn slechts reageerde na een koudeschok bij 0°C, gevolgd door relatief koude temperaturen (20°C of lager). Met behulp van deze gegevens kan worden bepaald wanneer de lijnen gevoelig zijn voor de dodelijke condities. De hittegevoelige lijn is hiervoor ontvankelijk tijdens de gehele volwassen fase, maar niet tijdens de ontwikkeling. Het kan daarom niet worden uitgesloten dat de betrokken genen in deze lijn ook veroudering beïnvloeden in niet-ingeteelde vliegen. De koudegevoelige lijn echter is alleen gevoelig voor de dodelijke condities in het popstadium, en als jong volwassene (hooguit één dag oud), wat erop wijst dat de sterfte wordt veroorzaakt door een defect in de ontwikkeling, en dus niets met veroudering te maken heeft.

AFSLUITENDE OPMERKINGEN

Het is duidelijk dat veroudering een zeer complex proces is. De genetica van levensduur en veroudering hangt sterk samen met vele andere aspecten van de levensgeschiedenis, waardoor complexe patronen in meerdere eigenschappen ontstaan. Toch is het systeem erg flexibel, zodat bijvoorbeeld de mogelijkheid heeft bestaan om de verlaging van reproductie te compenseren in de langlevende vliegen. Hierdoor zouden genetische verbanden kunnen veranderen, wat de voorspelling van evolutie in de levenshistorie ernstig kan vertroebelen.

Vele verschillende mechanismen lijken levensduur te beïnvloeden. Toch is de verwachting dat de effecten van de meeste genen niet simpelweg optelbaar zijn, maar dat hun interacties afhangen van de leeftijdsklasse die ze beïnvloeden. Dit wordt ondersteund door het feit dat verschillende mechanismen voor de respons in kort- en langlevende lijnen verantwoordelijk lijken te zijn. De specificiteit van mechanismen voor bepaalde leeftijdsklassen kan ontdekt worden door leeftijdsspecifieke sterfte te analyseren. Zo wordt bijvoorbeeld de afname in levensduur in vele inteeltlijnen veroorzaakt door verhoogde sterfte in alle leeftijdsklassen, terwijl in sommige gevallen genetische catastrofes optreden die sterftepieken geven tijdens een klein tijdsinterval. Dit geeft aan dat de verkorte levensduur in inteeltlijnen meestal wordt veroorzaakt door een verlaagde weerbaarheid en soms door verlies van vitale functies. De bij inteeltdepressie betrokken genen zouden kunnen bijdragen aan natuurlijke variatie voor levensduur, maar dan waarschijnlijk alleen in relatief kortlevende individuen. Dit is ook van belang voor onderzoek aan veroudering in mensen. De studie van ziekten die leiden tot versnelde veroudering kan wellicht ook informatie verschaffen over fysiologische veroudering in relatief vroege leeftijdsklassen. Tot nog toe zijn dergelijke zaken onbekend en is verder onderzoek noodzakelijk. Er is nog genoeg werk om een leven mee te kunnen vullen, zelfs een lang leven.