

*„Śmierć jest ceną, jaką płacą najwyżej uorganizowane istoty za swą ewolucję.
Świadomość śmierci jest ceną, jaką płaci człowiek za ewolucję swego intelektu...”*
W. J. H. Kunicki-Goldfinger („Dziedzictwo i przyszłość”)

Przyjacielowi Markowi Skibie, który na zawsze zostanie w naszej pamięci
Autorzy

MAREK JURGOWIAK, RYSZARD OLIŃSKI

Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej,
Akademia Medyczna im. L. Rydygiera
Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz

E-mail: marekj@aci.amb.bydgoszcz.pl
ryszard@aci.amb.bydgoszcz.pl

PROCES STARZENIA — PRZEGLĄD AKTUALNYCH TEORII I POGLĄDÓW

WSTĘP

Proces starzenia się jest nadal zjawiskiem mało poznanym a wciąż interesującym wielu badaczy ze względu na fakt, że jest procesem uniwersalnym, dotyczącym wszystkich organizmów wielokomórkowych. Pomimo że w historii nauki wielu filozofów, biologów i lekarzy próbowało zgłębić naturę i znaczenie biologiczne procesu starzenia się, tak naprawdę nowoczesne podejście w tego typu badaniach datuje się dopiero począwszy od lat 60-tych naszego stulecia.

Biologia w sposób jasny udowadnia, że śmierć wieńcząca starzenie się jest nieunikniona, i że sama jest owocem ewolucji. Należy jednocześnie pamiętać, że jednokomórkowe Prokaryota są właściwie nieśmiertelne. Każdy z takich osobników dzieli się bowiem na dwa identyczne z nim osobniki. Śmierć naturalna, rozumiana jako kres istnienia osobnika, niezależny od przypadkowych czynników zewnętrznych, jest terminem nie opisującym żadnego rzeczywistego zjawiska u Prokaryota. To samo odnosi się do najprostszych Eukaryota. Zjawisko śmierci naturalnej pojawiło się w czasie ewolucji wraz z indywidualizacją układu żywego i wzrostem znaczenia rozmnażania płciowego. Pokolenia, rozdzielone zlanie się gamet i rekombinacją genetyczną w czasie mejozy, ustępują kolejnym swym następcom (KUNICKI-GOLDFINGER 1974). Uniwersalność procesu starzenia się powoduje, że wiele zjawisk przeważnie opi-

sywanych w badaniach organizmów niższych Eukaryota, aczkolwiek z pewnymi zastrzeżeniami, można odnosić do wyższych Eukaryota a nawet do człowieka (ROSE i NUSBAUM 1994).

W przypadku człowieka czas trwania życia jednostki zmieniał się stopniowo wraz z postępem rozwoju cywilizacyjnego. Około pięciu tysięcy lat temu czas trwania życia człowieka wynosił około 20 lat. Na początku obecnego stulecia (dobiegającego już końca!) w Stanach Zjednoczonych średnia długość życia człowieka wzrosła do 47 lat. Ostatnie 90 lat to okres dalszego wzrostu średniej długości życia człowieka o następne 28 lat. Jak podają źródła amerykańskie, w roku 1990 średnia długość życia wynosiła 75,4 lat, w tym kobiet 78,6 lat i mężczyzn 71,8 lat (KNIGHT 1995). Co ciekawe, obecnie wśród 255 milionów Amerykanów żyje 61 tysięcy stulatków. Oczywiście, dane te są wypadkową zgonów niemowląt, wypadków, samobójstw, chorób i wreszcie zgonów z powodu starości. Na tej podstawie oszacowano, że czas trwania życia współczesnego człowieka, pomijając czynniki nie związane ze starzeniem, może wynosić nawet ponad 100 lat. Nawet w Polsce, która pod względem długości życia ludzkiego zajmuje dopiero 25 miejsce w Europie mieszka 3600 osób, które dożyły co najmniej stu lat. Według Departamentu Badań Demograficznych GUS w 1996 roku w Polsce trwanie życia mężczyzn wzrosło w stosunku do roku poprze-

dniego o pół roku i po raz pierwszy przekroczyło 68 lat. Długość życia kobiet przekroczyła 76,5 lat, co jest także wielkością wcześniej nie notowaną (dane według: *Polityka* nr 34(2103) 23 sierpnia 1997). Współcześnie tylko niewielki odsetek ludzi umiera z powodu uwiąznięcia starczego, czyli procesu naturalnego starzenia się komórek i tkanek. Główne przyczyny zgonów (mimo postępu w medycynie) to choroby cywilizacyjne, wyniszczający tryb życia, wypadki losowe.

W anglojęzycznej nomenklaturze gerontologicznej spotyka się dwa pojęcia: *ageing* (wiekowienie) i *senescence* (starzenie) — nie odróżniane jasno w języku polskim. Zatem mówiąc o procesach starzenia mamy zwykle na uwadze zachodzące procesy inwolucyjne a nie fakt upływu czasu trwania organizmu. Procesy kataboliczne przeważają nad anabolicznymi a cały organizm wykazuje zmiany regresyjne nie nadążając z procesami odnowy i regeneracji w odpowiedzi na postępujące zniszczenia komórek i tkanek (WOLAŃSKI 1983, IMAHORI 1992).

Zarówno w przypadku zwierząt, jak i człowieka przyjmuje się kilka charakterystycznych cech wyróżniających starzejące się organizmy: wyższa śmiertelność po osiągnięciu dojrzałości wraz ze wzrastającym wiekiem organizmu; zmiany biochemiczne postępujące w tkankach starzejących się osobników; szerokie spektrum postępujących z wiekiem degeneracyjnych zmian fizjologicznych;

spadek zdolności adaptacyjnych organizmu w odpowiedzi na różnego typu stany stresowe; wzrost zapadalności wraz z wiekiem na różnego typu choroby, często charakterystyczne dla osobników w starszym wieku (np. nowotwory, choroby degeneracyjne mózgu).

Dane uzyskiwane w badaniach eksperymentalnych zdają się potwierdzać przedstawioną powyżej listę zmian zachodzących w starzejących się komórkach, tkankach i na poziomie organizmowym.

W ujęciu biomedycznym śmierć organizmu zawsze jest wynikiem rozwoju pojedynczego procesu chorobowego bądź zespołu wielu chorób (choroby o bardzo groźnych konsekwencjach patologicznych, takie jak choroba Alzheimera czy też miażdżyca, to schorzenia głównie wieku starczego). Sam proces starzenia się jest przez wielu autorów postrzegany jako długotrwały proces chorobowy, tym różniący się od innych, że jest zjawiskiem uniwersalnym, dotyczącym wszystkich organizmów wielokomórkowych.

Na łamach *Kosmosu* ukazał się wcześniej (1996, 45(1):69-96) artykuł R. ŻADZIŃSKIEGO poruszający tematykę starzenia, jednakże w innym zakresie i ujęciu. Zatem obie prace mogą stanowić, aczkolwiek w niektórych miejscach dyskusyjny, to jednak materiał wzajemnie uzupełniający się.

STARZENIE — AKTUALNE TEORIE I POGLĄDY

Coraz liczniejsze teorie starzenia się wskazują na działanie różnorodnych mechanizmów (ERSHLER i LONGO 1997, ŻADZIŃSKI 1996, JURGOVIK i OLIŃSKI 1995, KNIGHT 1995, VIJG i współaut. 1990). Jednakże obecnie żadna z proponowanych teorii nie znajduje wyłącznej i powszechnej akceptacji. Wątpliwe wydaje się też, aby tylko jedna z nich mogła wyjaśnić wszystkie mechanizmy związane z procesami starzenia. Jakkolwiek biologiczne podstawy starzenia wciąż pozostają mało poznanymi, to można przyjąć, że u podłoża tego procesu leżą zmiany zachodzące na poziomie molekularnym. Wskazują na to nie tylko zaobserwowane różnice międzygatunkowe w długości życia, ale także fakt, że chociażby różnego typu komórki nieproliferujące (krańcowo zróżnicowane), takie jak neurony i miocyty, podlegają relatywnie w jednakowym stopniu obniżeniu wydolności fizjologicznej wraz z wiekiem.

Obecnie jest proponowanych co najmniej kilka teorii próbujących wyjaśnić mechanizmy

starzenia się organizmów. Zróżnicowanie poglądów wyrażanych w tych teoriach objawia się chociażby w upatrywaniu jako czynników starzenia, czynników zewnętrznych (pochodzenia egzogenne) stopniowo prowadzących do kumulowania uszkodzeń i w efekcie śmierci komórki, bądź też specyficznych czynników wewnętrznych (endogennych) tak jak proponuje się w teorii genomowej. Akceptowany jest coraz powszechniej pogląd, że te same czynniki są odpowiedzialne za tempo wszystkich procesów rozwojowych, w tym procesu starzenia się, który nie jest wynikiem jednej tylko przyczyny.

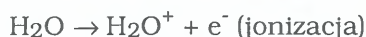
TEORIE STOCHASTYCZNE

Teorie zaliczane do tej grupy zakładają, że starzenie jest wynikiem akumulowania się w trakcie życia przypadkowo (losowo) powstających uszkodzeń makrocząstek o kluczowym znaczeniu dla procesów życiowych (DNA, białka), skutkiem czego jest osłabienie funkcji fizjo-

logicznych komórek, tkanek i wreszcie organizmów wraz z postępującym wiekiem.

Teoria mutacji somatycznych/ uszkodzeń DNA

Geneza tej teorii wywodzi się z zaobserwowanego faktu generowania uszkodzeń materiału genetycznego, zarówno na skutek wpływu tła radiacyjnego, jak i/bądź oddziaływania różnego typu endogennych i egzogennych mutagenów prowadzących do uszkodzeń chromosomów. Prace eksperymentalne, na których opiera się ta teoria są poparte dobrze udokumentowanymi obserwacjami, że ekspozycja na dawki promieniowania jonizującego prowadzi do skrócenia czasu życia (CASARETT 1963). Jednakże matematyczna analiza krzywych przeżywania napromieniowanych populacji gryzoni potwierdza, że nasilenie przedwczesnej umieralności jest bezpośrednim wynikiem ekspozycji na dawki promieniowania jonizującego a nie wzrostu tempa procesów starzenia (SACHER 1977). Skrócenie czasu życia, w tym przypadku, prawdopodobnie nie jest wynikiem przyspieszenia rozwoju zmian starczych, ale indukowanych naświetlaniem uszkodzeń, na przykład prowadzących do zmian neoplastycznych. Jakkolwiek sporo wątpliwości rodzi się wokół omawianej hipotezy, to warto pamiętać, iż promieniowanie jonizujące powoduje rozpad cząsteczek wody (komórki zawierają dużą jej ilość — nawet do 85% objętości), co wyzwała wzmożoną produkcję wolnych rodników (patrz reakcje poniżej), a implikacje z tym związane mogą stanowić integralną część omawianej teorii;



(rozpad wzbudzonych cząsteczek wody z utworzeniem rodników hydroksylowych), również jony H_2O^+ generują rodniki hydroksylowe:



Zaobserwowany fakt zdolności komórek do naprawy uszkodzeń powstałych w cząsteczkach DNA stanowi podstawę wysuwanej, coraz powszechniej, tak zwanej teorii naprawy DNA, stanowiącej również integralną część teorii mutacji somatycznych. Każda komórka ssaków posiada funkcjonujący z różną wydajnością system enzymów uczestniczących w procesie naprawy DNA, którego wydajność może ulegać obniżeniu wraz z wiekiem (SZYFTER 1994). HART i SETLOW (1974) wykazali, że zdolność do naprawy uszkodzeń DNA indukowanych promieniowaniem UV w hodowli komórek (np. fibroblastów), pochodzących z organizmów różnych gatunków zwierzęcych, jest skorelowana z ich maksymalnym czasem

życia. Konsekwencją upośledzenia zdolności do naprawy uszkodzonego DNA może być inaktywacja niektórych genów, w tym mających kluczowe znaczenie dla funkcjonowania komórki. Od czasu stwierdzenia korelacji między stopniem wydajności systemu naprawy DNA i długością życia (HART i SETLOW 1974) wydaje się, że obniżenie zdolności naprawczych w obrębie komórki wyzwalając może akumulację różnego typu uszkodzeń, co przyspiesza proces starzenia (STREHLER 1980).

Jedną z niedoskonałości prezentowanej teorii jest założenie, że proces starzenia się jest wyzwalany pod wpływem czynników działających losowo (przypadkowo). We współczesnej biologii zakłada się natomiast, że starzenie nie jest zjawiskiem przypadkowym (tym bardziej, że dotyczy wszystkich organizmów wielokomórkowych) i nie daje się wytłumaczyć wpływem tylko jednej, określonej grupy czynników.

Teoria katastrof — błędów

Teoria ta została zaproponowana po raz pierwszy przez ORGELA (1963), który zauważył, iż w trakcie trwania życia w komórkach nasilają się błędy w przebiegu procesu transkrypcji i translacji, a jeśli dotyczy to białek związanych z chromatyną, następstwem może być generowanie nieprawidłowości w materiale genetycznym. Zaburzenia mogą wystąpić w syntezie białek katalizujących następnie proces replikacji DNA, jak również uczestniczących w syntezie innych niezbędnych dla komórki makrocząsteczek. Wadliwe (uszkodzone) makrocząsteczki włączone następnie w procesy syntezy innych makrocząsteczek są przyczyną generowanych błędów w cząsteczkach, w syntezie których biorą udział. Efektem takiej kumulacji w komórkach nieprawidłowych makrocząsteczek jest stan katastrofy błędów, co uniemożliwia normalne funkcjonowanie komórek i ich przeżycie. Synteza prawidłowych pod względem funkcjonalnym białek jest zależna nie tylko od właściwie zakodowanej w kwasach nukleinowych informacji o ich sekwencji aminokwasowej ale także od dokładności i sprawności działania całego aparatu syntezy białek. Translacja informacji genetycznej musi bowiem przebiegać w sposób niezakłócony. Rozdzielenie w czasie i przestrzeni u Eukaryota procesów transkrypcji i translacji powoduje, że mechanizmy kontrolne są bardziej złożone i zrazem częściej mogą pojawiać się nieprawidłowości w ich przebiegu. Udowodniono, że wraz z wiekiem organizmu są akumulowane w komórkach nieprawidłowe (uszkodzone) białka. Większość z tych modyfikacji jest jednak skutkiem zmian posttranslacyjnych. Przykładem takich zmian może być występowanie (pojawianie się)

izoform kinazy kreatynowej (CK). Prawdopodobnie syntetyzowaną formą tego białka jest CK-MM (oznaczana też jako CK-33). Jednakże po uwolnieniu do krwiobiegu znajdujący się w surowicy enzym karboksypeptydaza hydrolizuje końcową cząsteczkę lizyny, jednego z peptydów-M do formy CK-32). Następstwem hydrolizy terminalnej cząsteczki lizyny drugiego peptydu-M jest powstanie trzeciej izoformy CK-MM, jaką jest CK-31 (KNIGHT 1995).

Można zatem przyjąć, że gromadzone, uszkodzone białka w starzejących się komórkach i tkankach powstają raczej nie w wyniku upośledzenia dokładności ich syntezy, ale w wyniku ich posttranslacyjnych modyfikacji, najczęściej takich jak utlenianie i nieenzymatyczna glikozylacja (czyli glikacja), której podlegają głównie białka długo żyjące (KRISTAL i YU 1992).

Teoria połączeń krzyżowych (ang. cross-linking)

Teorią zakładającą, że przyczyną starzenia jest akumulowanie uszkodzonych w wyniku modyfikacji posttranslacyjnych białek, których gromadzenie się zaburza normalne funkcjonowanie komórek, jest teoria połączeń krzyżowych (w polskojęzycznym piśmiennictwie utrwalił się też termin „wiązania sieciujące”) (ang. cross-linking). Teoria połączeń krzyżowych nie może ograniczać się wyłącznie do białek, bowiem na przykład DNA może podlegać również tego typu modyfikacjom. Jednakże zdecydowana większość badań eksperymentalnych dotyczy modyfikacji takich makrocząsteczek jak kolagen i elastyna, ponieważ są łatwo dostępne jako materiał badawczy, nie podlegają zbyt łatwo obrotowi metabolicznemu, i jak udowodniono, w miarę starzenia się rośnie w ich obrębie ilość modyfikacji typu połączeń krzyżowych.

Glukoza reagować może nieenzymatycznie z licznymi białkami (grupami aminowymi białek) na przykład hemoglobina, enzymami, kolagenem, elastyną i wielu innymi tworząc formy glikozylowanych produktów końcowych (ang. glycosylated end products). Podobnie glukoza łatwo wchodzi w reakcje z kwasami nukleinowymi. Chemiczna struktura wielu glikozylowanych produktów końcowych nie została jeszcze poznana, a obecnie dość dobrze poznanym produktem tego typu reakcji jest połączenie krzyżowe identyfikowane jako 2-furanylo-4-(5)-(2-furanylo)-1H-imidazol (CERAMI i współaut. 1987).

W omawianej teorii proponuje się, że wyzwolona seria nieenzymatycznych reakcji prowadzi do formowania i gromadzenia w tkankach różnych, powstałych w wyniku połączeń krzyżowych, cząsteczek białek. Wynikiem tego jest upośledzenie funkcji fizjologicznych wielu tka-

nek, na przykład utrata ich elastyczności, charakterystyczna dla osobników w wieku starczym. Przypomnijmy, że matriks pozakomórkowa, w skład której wchodzi kolagen i elastyna, stanowi ponad 20% ciężaru ciała ssaków. Glikozylowane białka są nie tylko przyczyną obniżenia jej elastyczności, ale i wydajności transportu substancji odżywczych i produktów przemiany materii do komórki i poza nią.

Ponadto glikozylacja, zarówno dotycząca DNA, jak i RNA daje produkty, których gromadzenie się w komórkach jest przyczyną zaburzenia ich funkcji.

Opisany powyżej mechanizm uszkodzeń makrocząsteczek jest przyczyną tworzenia połączeń krzyżowych w obrębie kolagenu, osteokalcyny oraz krystalin białkowych soczewki oka, odpowiadając za rozwój katarakty zarówno w soczewkach diabetyków, jak i starzejących się osobników.

TEORIE ROZWOJOWE (IMMUNOLOGICZNA, NEUROENDOKRYNOWA)

Ta grupa teorii zakłada, że starzenie jest kolejnym etapem — kontinuum — w procesach rozwoju i dojrzewania organizmu.

Układ immunologiczny a starzenie

Od dłuższego już czasu przyjmuje się, że osłabienie wydolności immunologicznej następuje wraz z wiekiem i ludzie osiągnąwszy podeszły wiek są bardziej podatni na choroby infekcyjne, zjawiska autoimmunologiczne, amyloidozę, leukemię i różne postacie nowotworów. Zdolność odpowiedzi immunologicznej jest związana z funkcjami grasiczo-pochodnych komórek limfocytów-T.

Organizmy w wieku podeszłym charakteryzuje: osłabienie odpowiedzi na stymulację mitogenami, niższa produkcja interleukiny-2 (IL-2), obniżona odpowiedź limfocytów-T na działanie IL-2, spadek produkcji przeciwciał po stymulacji, nasilenie produkcji autoprzeciwciał i zjawisk autoimmunologicznych.

Omawianą teorię starzenia zaproponował w 1969 roku WALFORD (1969). Oprócz powyższych wymienionych cech, charakteryzujących starzejące się organizmy, warto zwrócić uwagę na fakt, że różnice w maksymalnej długości życia różnych szczepów mysich są związane z obecnością specyficznych alleli w obrębie głównego układu zgodności tkankowej (MHC), kodującego determinanty immunologiczne (SMITH i WALFORD 1977). Geny tego regionu uczestniczą również w regulacji funkcji oksydaz (system cytochromu P-450), naprawy DNA oraz enzy-

mów włączonych w mechanizm antyoksydacyjny, na przykład dysmutazy ponadtlenkowej (SOD).

Teorię tę zdają się w pewnym stopniu popierać obserwacje wskazujące, że grasica podlega atrofia w miarę starzenia się, tak że u osobników w wieku 50 lat ciężar tego gruczołu stanowi 10–15% maksymalnego ciężaru, jaki może osiągnąć u młodych organizmów. Co więcej, transplanty grasicy mogą wydłużać okres życia w przypadku różnych zwierząt laboratoryjnych (MAKINODAN i KAY 1980).

Wraz ze wzrastającym wiekiem obniża się także zdolność limfocytów-B do produkcji przeciwciał (WALFORD 1969). Ponieważ wiadomo, że funkcjonalnie komórki typu B są zależne od komórek T niejasnym staje się, czy jest to zjawisko pierwotne, czy też wtórne. Wielokrotnie już wykazano ponadto, że system immunologiczny może być stymulowany przez różne witaminy, takie jak A, E, C oraz po podaniu niektórych pierwiastków, jak na przykład cynku (Zn) (DUCHATEAU i współaut. 1981, CHANDRA 1992, ENSTROM i współaut. 1992, FERRY i ROUSSEL 1996). System immunologiczny jest prawdopodobnie, przynajmniej w pewnym stopniu, pod regulującym wpływem układu endokrynowego. Znanym jest fakt, że synteza dehydroepiandrosteronu (DHEA) spada wraz ze wzrastającym wiekiem. W warunkach doświadczalnych stwierdzono, że układ immunologiczny myszy pozostaje prawidłowo działającym systemem mimo postępujących innych zmian starczych, gdy podaje się im regularnie siarczan-DHEA (DAYNES i ARANEO 1992).

Układ neuroendokrynowy a starzenie

Teoria neuroendokrynowa starzenia (STREHLER 1980, FINCH i LANDFIELD 1985) bazuje na zaobserwowanych faktach udziału systemu neuroendokrynowego w regulacji wczesnych etapów rozwoju organizmu, wzrostu, dojrzewania, regulacji funkcjonowania systemu reprodukcyjnego, metabolizmu i wielu innych aspektów fizjologicznego funkcjonowania organizmu. Funkcjonalne zmiany, jakie zachodzą w tym skomplikowanym systemie, mogą być przyczyną postępujących zmian objawiających się starzeniem organizmu. Zwolennicy tej teorii podpierają się także tezą, że obniżenie zdolności reprodukcyjnych organizmów płci żeńskiej jest wyraźnym objawem, związanych z wiekiem, postępujących zmian w układzie neuroendokrynowym. Podobnie zmiany w sekrecji hormonu wzrostu, jak i wydzielania innych hormonów wraz z wiekiem wiąże się z obniżeniem wydolności funkcjonalnej organizmu. Jakkolwiek wiekowo-zależna utrata komórek nerwowych jest

obserwowana w różnych obszarach mózgu, takich jak: miejsce sinawe, hipokamp, jądro ogoniaste, skorupa, istota szara pnia mózgu, kora mózgowa, to jednak nie obserwuje się podobnych zmian w podwzgórzu bądź przysadce mózgowej. Pomimo że wiele z chorób, określanych jako neuroendokrynowe, takich jak: cukrzyca, hiper- i hipotyroidyzm, atrofia mięśniowa związana ze spadkiem wydzielania hormonu wzrostu, dysfunkcje gonad, nadciśnienie, częściej pojawia się u osób w wieku podeszłym, to jednak przynajmniej niektóre z nich mogą rozwijać się jako wtórny efekt procesów starzenia się organizmu.

System neuroendokrynowy zwykle jest brany pod uwagę przy opisie zmian zachodzących z wiekiem u wyższych organizmów (wyższe Eukaryota). Jednakże wiele organizmów, u których zachodzą zmiany fenotypowe, które określić można jako objawy starzenia się podobne do występujących u wyższych kręgowców nie posiada złożonego systemu neuroendokrynowego. Zatem sporo można wysunąć zastrzeżeń i krytycznych uwag odnośnie, wcześniej opisywanej teorii immunologicznej, jak i teorii neuroendokrynowej.

TEORIA PROGRAMOWANEGO STARZENIA (GENOMOWA)

Teoria genomowa zakłada, że w przypadku każdego organizmu działa zaprogramowany „wewnętrzny zegar” określający specyficzny dla każdego gatunku czas życia. Skutkiem tego jest założenie, że w genach są zakodowane instrukcje, nie tylko sterujące procesami wzrostu i dojrzewania, ale także odpowiedzialne za stopniowe obniżanie aktywności życiowej komórek a w konsekwencji ich śmierć. Omawiana teoria znajduje przynajmniej częściowe poparcie, zarówno w badaniach doświadczalnych (laboratoryjnych), jak i w obserwacjach populacyjnych. Powszechnie wiadomym jest, że w przypadku człowieka istnieje słabo zarysowana zależność, dotycząca oczekiwanego czasu życia pomiędzy członkami jednej rodziny. Jednakże członkowie rodzin, w których spotyka się już osoby długowieczne mają większe szanse na długie życie niż członkowie innych rodzin. Ponadto różnice w długości życia są przeciętnie mniejsze w przypadku bliźniąt jednojajowych niż w przypadku rodzeństwa nie będącego bliźniętami tego typu. Bardzo interesujące, szczególnie pod kątem omawianej teorii, są przypadki chorób objawiających się przyspieszonym starzeniem pacjentów i znacznym skróceniem czasu ich życia. Przypadki te mogą sugerować, że procesy starzenia znajdują się pod kontrolą genetyczną. Do schorzeń tych należą:

Progeria (zespół Hutchinsona- Guillforda) o nieznanym, jak dotąd, podłożu patogenetycznym i co ciekawe, z nie stwierdzonymi przypadkami występowania rodzinnego (śmierć następuje poniżej 20 roku życia).

Zespół Wernera, rzadko występująca choroba dziedziczona w sposób recesywny, autosomalny z objawami przedwczesnego starzenia się (komórki pacjentów w hodowlach charakteryzuje ograniczona liczba podziałów komórkowych). Według GOTO i współautorów (1992) istnieje związek między tym schorzeniem a pięcioma markerami chromosomu nr 8.

Zespół Downa (trisomia 21 pary autosomów w 19% przypadków powiązana z translokacją krótkiego ramienia chromosomu nr 5). U osobników około 40 roku życia obserwuje się zmiany starcze typowe dla pacjentów z chorobą Alzheimera. Ponieważ na chromosomie nr 21 jest zlokalizowany gen *SOD1* kodujący enzym dysmutazę nadtlenkową (CuZn SOD) istnieje duże prawdopodobieństwo udziału wolnych rodników tlenowych w patogenezie zespołu Downa i tym samym powiązanie tego faktu z tak zwaną wolnorodnikową teorią starzenia (patrz dalej).

Teoria genomowa znajduje silne oparcie we wczesnych badaniach Hayflicka, który już 30 lat temu wykazał, że komórki człowieka (fibroblasty) w hodowli charakteryzuje ściśle ograniczony czas życia. Potencjał proliferacyjny diploidalnych komórek człowieka w warunkach *in vitro* wynosi około 50 cykli podziałowych (HAYFLICK 1965), i, jak przypuszczał cytowany autor, prawdopodobnie dlatego, że jest to wpisane w genetyczny program starzenia się. W licznych badaniach stwierdzono korelację pomiędzy liczbą podziałów fibroblastów (ich wydolnością proliferacyjną) a długością życia, w przypadku różnych gatunków zwierząt. Ponadto, jak zaznaczono powyżej, komórki osobników z zespołem Wernera i Progerią, w warunkach *in vitro* cechuje mniejszy potencjał podziałowy niż w przypadku komórek zdrowych osobników. Z drugiej strony, odnotowuje się słabą korelację pomiędzy potencjalnym (możliwym) okresem życia a potencjałem podziałowym (MARTIN i współaut. 1970). Interesujące są wyniki badań, w których wykazano, że po ekspozycji komórek na działanie różnych wirusów i czynników chemicznych, transformowane komórki (uzłośliwione) kontynuują replikację wyłamując się spod mechanizmów kontrolnych i stając się komórkami właściwie nieśmiertelnymi (LAND i współaut. 1983). W tym aspekcie ciekawe wydają się odkrycia nasilonej ekspresji enzymu telomerazy w komórkach transformowanych nowotworowo w porównaniu do komórek nie wykazujących

zmian nowotworowych (COUNTER i współaut. 1994, JARUGA 1994). Wraz z każdym podziałem komórkowym telomery (końcowe fragmenty ramion chromosomowych) ulegają skróceniu. Znaczne skrócenie telomerów może być przyczyną zahamowania proliferacji komórek i wystąpienia zmian prowadzących do ich starzenia się. W niektórych komórkach nowotworowych telomeraza występując w zwiększonej ilości stymuluje nasiloną proliferację poprzez stałe wydłużanie odcinków telomerowych. Niewielki spadek długości telomerowego DNA fibroblastów człowieka obserwuje się podczas starzenia *in vivo*. U dawców w wieku od 0 do 93 lat stwierdzono spadek 15 ± 6 par zasad na rok ($r = -0.43$), co daje około 1500 par zasad w ciągu całego życia, czyli prawie 30% telomerowego DNA (wg JARUGA 1994). Telomery leukocytów krwi obwodowej płodu są średnio o 12 000 par zasad krótsze niż telomery plemników. Podobnie w przypadku nabłonka błony śluzowej okrężnicy różnica ta wynosi 14 000 par zasad. Można zatem mówić o istnieniu zbieżności między długością sekwencji telomerowej a liczbą podziałów komórkowych *in vitro*, jak również o istnieniu zależności: wiek dawcy — długość telomerów.

WOLNORODNIKOWA TEORIA STARZENIA

Obszerny opis głównych założeń wolnorodnikowej teorii starzenia się znajdzie Czytelnik we wcześniejszym artykule autorów niniejszego opracowania (JURGOVIK i OLIŃSKI 1995). Wolnorodnikowa teoria starzenia została zaproponowana po raz pierwszy przez Denhama Harmana (University of Nebraska College of Medicine) w 1956 roku (HARMAN 1956, 1994). Autor ten wysunął przypuszczenie, że zmiany prowadzące do starzenia są indukowane uszkodzeniami makrocząstek komórkowych (DNA, białka, lipidy, węglowodany), które powstają na skutek działania wolnych rodników. Wolne rodniki są to wysoce reaktywne atomy bądź cząsteczki, posiadające niesparowany elektron na orbicie zewnętrznej. Każdy organizm aerobowy w toku metabolizmu komórkowego produkuje dużą ilość wolnych rodników tlenowych (BARTOSZ 1995, OLIŃSKI i JURGOVIK 1996). Anionorodnik nadtlenkowy ($O_2^{\cdot -}$) jest generowany w dużych ilościach podczas metabolizmu aerobowego: $O_2 + e \rightarrow O_2^{\cdot -}$, a następnie może być metabolizowany z udziałem różnych enzymów, w tym na przykład dysmutazy nadtlenkowej (SOD), która katalizuje reakcję prowadzącą do powstania nadtlenku wodoru:



Produkt tej enzymatycznej reakcji, jakim jest nadtlenek wodoru, ma działanie toksyczne dla komórek (aczkolwiek w mniejszym stopniu niż formy wolnorodnikowe) i również może być metabolizowany, zarówno z udziałem enzymu katalazy, jak i peroksydazy glutationowej:



Jeżeli H_2O_2 nie ulegnie powyższej przemianie może uczestniczyć w formowaniu chyba najbardziej reaktywnej formy tlenu, jaką jest rodnik hydroksylowy ($\cdot\text{OH}$):



Wolne rodniki tlenowe są przyczyną uszkodzeń lipidów komórkowych, czego przejawem może być gromadzenie lipofuscyny (pigmentu starczego) w starzejących się komórkach, jak również uszkodzają białka (błonowe, enzymatyczne, kolagen, elastynę) i DNA jądrowy oraz mitochondrialny (oksydacyjne uszkodzenia zasad azotowych), co prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu komórek i zmian starczych, a w konsekwencji do ich śmierci. Ponieważ mitochondrialny łańcuch oddechowy jest znaczącym źródłem anionorodnika ponadtlenkowego jest postulowany udział wolnorodnikowych uszkodzeń DNA mitochondrialnego, co pociąga za sobą osłabienie wydolności oddechowej komórek w procesie starzenia. Znajduje to odzwierciedlenie w proponowanych tak zwanych mitochondrialnych wolnorodnikowych teoriach starzenia (DE GREY 1997, GROSSMAN i SHOUBRIDGE 1996, JURGOWIAK i OLIŃSKI 1997).

Organizmy aerobowe posiadają liczne mechanizmy neutralizujące rodniki tlenowe, jak i naprawiające uszkodzenia spowodowane działaniem reaktywnych form tlenu (RFT), to jednak w trakcie życia dochodzi do akumulowania wolnorodnikowych uszkodzeń makrocząstek komórkowych.

Produkcja wolnych rodników w narządach różnych grup ssaków jest odwrotnie proporcjonalna do maksymalnego czasu ich życia. Natomiast poziom enzymów uczestniczących w metabolizmie RFT, takich jak SOD, jest wyższy u gatunków długo żyjących (SOHAL i współaut. 1989, 1990). Uzyskiwany w doświadczeniach efekt wzrostu długości życia poprzez wzbogacenie diety witaminami o działaniu antyoksydacyjnym (np. wit. E) jest raczej wynikiem modyfikacji średniej a nie maksymalnej długości życia (SOHAL i ALLEN 1990). Interesujące są natomiast wyniki tych doświadczeń, w których wykazano, że transgeniczne muszki *Drosophila melanogaster* wykazujące podwyższony poziom CuZn SOD i katalazy (REVEILLAUD i współaut. 1991), jak również transgeniczne myszy z

podwyższonym poziomem CuZn SOD i peroksydazy glutationowej (EPSTEIN i współaut. 1987, MIRAULT i współaut. 1992) charakteryzuje dłuższy czas życia. Ściślej mówiąc, udało się w ten sposób wywołać niewielki efekt wydłużenia maksymalnej długości życia, i, co chyba jest równie interesujące, dało się zauważyć większą odporność tych zwierząt na działanie różnych oksydantów. Wyniki tych doświadczeń zdają się potwierdzać dużą rolę wolnych rodników tlenowych w procesach starzenia się organizmów. W niedawno przeprowadzonych badaniach porównawczych (GAAL i współaut. 1996), dotyczących różnych gatunków zwierząt, uzyskano ciekawe wyniki, wskazujące na zmiany parametrów antyoksydacyjnych podczas starzenia. Na przykład, u zdrowych cieląt podczas dwu pierwszych miesięcy życia (pamiętajmy, że organizm starzeje się właściwie z każdą chwilą swojego istnienia) stopniowo wzrasta poziom MDA (aldehid dimalonowy — produkt peroksydacji lipidów), obniża się poziom GSH (zredukowany glutation); GPX (peroksydaza glutationowa) i katalaza nie podlegają zmianom, podczas gdy koncentracja witaminy E i karotenu w surowicy znacząco zwiększa się. U młodych (1-rok życia) i starych (9-letnich) psów krwinki czerwone znacząco różnią się, co objawiają się podwyższonym poziomem MDA i obniżonym GSH u starych osobników męskich. Aktywność GPX i SOD krwinek czerwonych jest wyższa u starych psów, niż młodych a szczególnie u osobników płci żeńskiej (GAAL i współaut. 1996).

Udział RFT w procesach starzenia został wykazany również w serii doświadczeń polegających na stosowaniu u zwierząt restrykcji kalorycznej, co wydłużało średni, jak również maksymalny czas życia myszy i szczurów nawet o ponad 50% (YU 1994, 1996).

Ostra restrykcja kaloryczna w opisanych eksperymentach nie wykluczała jednak z diety witamin i soli mineralnych, które były podawane w ilościach odpowiadających diecie *ad-libitum*.

Restrykcja kaloryczna pozostaje nadal jedyną znaną metodą pozwalającą na wydłużenie czasu życia zwierząt stałocieplnych i jednocześnie często stosowaną metodą w badaniach eksperymentalnych nad procesami starzenia (CRISTOFALO i współaut. 1994, YU 1994, 1996).

Niewiele, jak dotąd, przeprowadzonych badań dotyczących Naczelnych sugeruje, że niektóre z parametrów biochemicznych i funkcjonalnych zmieniają się wraz z uzyskaniem efektu obniżenia tempa starzenia się (LANE i współaut. 1993). Jednakże z wcześniejszych badań innych autorów wynika (MASORO 1985), że tempo metabolizmu, poziom konsumpcji tlenu na

gram tkanki jest zbliżony zarówno u szczurów poddanych restrzykcji kalorycznej, jak i zwierząt stanowiących grupę kontrolną. Dane uzyskiwane z takich doświadczeń są zatem dość zróżnicowane i trudno jest wprost określić zależność między produkcją wolnych rodników a modulacją starzenia poprzez restrzykcję kaloryczną. Jednak udowodniono, że restrzykcja kaloryczna nasila efekt działania antyoksydantów przeciw-

działając peroksydacji lipidów, utlenianiu glukozy i produktów glikacji, czy też uszkodzeniom oksydacyjnym DNA, które to procesy odgrywają znaczącą rolę w patogenezie chorób, których rozwój wiąże się ze skróceniem czasu życia. Ponadto wiadomym jest, że restrzykcja kaloryczna znacząco redukuje poziom cholesterolu i trójglicerydów surowicy oraz peroksydację lipidów (YU 1994).

BIOLOGICZNE WYZNACZNIKI (MARKERY) STARZENIA

Dla badaczy, zajmujących się procesami naturalnego starzenia, bardzo istotnym wydaje się ustalenie biologicznych wyznaczników (markerów), pozwalających na ocenę stopnia zmian starczych, innych niż zmiany chorobowe, zarówno u człowieka, jak i zwierząt stanowiących obiekty modelowe w badaniach gerontologicznych. Wykaz takich bio-markerów przedstawia tabela 1, a szerzej zagadnienie to porusza

wczesny artykuł przeglądowy opublikowany przez BAKERA i SPROTTA (1988). Zakłada się, że idealny marker zmian starczych nie powinien być wogóle, bądź tylko w znikomym stopniu, efektem zachodzących zmian chorobowych występujących często u starych osobników, jak i związany powinien być z tak zwanym wiekiem fizjologicznym i oczekiwaną długością życia.

Tabela 1. Przykładowe bio-markery starzenia (dane różnych autorów wg ERSHLERA i LONGO, 1997)

Badany organizm lub obiekt biologiczny	Markery
Komórki z hodowli	β -galaktozydaza długość telomerów wielkość kolonii zrębu szpikowego
Mucha domowa	białkowe grupy karbonylowe uwalnianie H_2O_2 przez mitochondria
Mysz, Szczur	receptory dopaminowe prążkowiec odpowiedź proliferacyjna limfocytów T pod wpływem jonoforów Ca^{+2} wytrzymałość włókien ścięgna ogona
Małpy wąskonose (Makaki)	uszkodzenia mitochondrialnego DNA starczowzroczność tempo wzrostu paznokcia poziom interleukiny-6
Człowiek	końcowe produkty glikacji uszkodzenia mitochondrialnego DNA β -galaktozydaza w biopsjach skóry glutation soczewki oka starczowzroczność tempo rozwijania DNA

ZAKOŃCZENIE

Starzenie jest złożonym procesem, który trudno jest wytłumaczyć przy założeniu istnienia jednego uniwersalnego mechanizmu, który dotyczyłby wszystkich form życia i przebiegał na jednym tylko uniwersalnym poziomie molekularnym (YING 1997, CRISTOFALO i współaut. 1994, VIJG 1990, MEDVEDEV 1990).

Zakłada się obecnie, że starzenie jest procesem wieloczynnikowym regulowanym zarówno z udziałem endogennych czynników genetycznych, jak i czynników egzogennych oddziałują-

cych na organizm (YING 1997, CRISTOFALO i współaut. 1994).

Lepsze poznanie molekularnego podłoża zmian prowadzących do starzenia może mieć dla człowieka znaczące implikacje biomedyczne, związane chociażby ze stosowaniem form terapii i odpowiedniej modulacji stylu życia, co prowadziłoby do opóźniania i łagodzenia skutków procesu starzenia, bowiem chyba nigdy nie będziemy w stanie uniknąć tego „nieuchronnego losu”. Nadzieje te urzeczywistniają fakty, że

w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat w krajach wysoko rozwiniętych znacznie wzrosła długość życia zarówno w przypadku kobiet, jak i mężczyzn (KNIGHT 1995, HARMAN 1994, FERRY i ROUSSEL 1996). Również śmiertelność osobników w wieku poniżej 28 roku życia znacznie obniżyła się i obecnie jest szacowana na 2–3%. W Szwecji średnia długość życia mężczyzn wynosi obecnie 75 lat a kobiet 80 lat. Japonia jest przykładem kraju, w którym długość życia znacznie wzrosła w okresie od lat 50-tych do chwili obecnej i jest to aktualnie populacja o najdłuższym średnim okresie życia. W kraju tym w roku 1989 oczekiwany czas życia kobiet wynosił 81,8 lat a mężczyzn 75,9 i obserwuje się jego stałe wydłużanie o około 0,38 lat/rok (HARMAN 1994). Ważne jest również, aby w ślad za wydłużaniem czasu trwania życia poprawiała się jego jakość po osiągnięciu wieku określanego jako podeszły bądź starczy, a obecny stan biologii i medycyny stwarza takie nadzieje. Wydłużający się czas życia człowieka, a tym samym zmiana struktury wiekowej populacji ludzkiej niesie ze sobą również znaczące implikacje socjologiczne. Zatem aktualnie, i zapewne w niedalekiej przyszłości, starzenie stanie się jednym z najważniejszych zagadnień interesującym nie tylko biologów ale i lekarzy oraz socjologów (świadczą o tym duże nakłady finansowe kierowane w badania gerontologiczne w coraz liczniejszych, wysoko rozwiniętych krajach).

Marzenia człowieka o nieśmiertelnym bycie na Ziemi należy, przynajmniej obecnie, traktować w sferze fantastyki naukowej (choćby udane doświadczenia z klonowaniem i postęp w biologii molekularnej mogą takie śmiałe wizje czynić nieco bardziej realistycznymi). Słowa wypowiedziane przez Bernarda Shawa będą obecnie chyba najlepszym zwięźleniem niniejszych rozważań: „Do not try to live forever, you will not succeed”.

Uzupełnienie

Na początku bieżącego roku (już po zaakceptowaniu niniejszej pracy do druku) można się było dowiedzieć z czasopisma *Science* o nowych odkryciach rozszerzających pole badań gerontologicznych. Podane poniżej informacje są cytowane z artykułu Elizabeth Pennisi 1998. Do *Fateful Circles of DNA Cause Cells to Grow Old?* *Science* 279, 34.

Niedawno ukazało się w czasopiśmie *Cell* (26 grudnia 1997) doniesienie Leonarda Guarente i Davida Sinclaira z MIT (Massachusetts Institute of Technology) w Cambridge wskazujące na powiązania wiekowe i w zaawansowaniu procesów starzenia się komórek drożdży z po-

wstającymi w jądrze komórkowym kolistymi cząsteczkami DNA.

Cząsteczki te lokują się poza chromosomem i są kopiowane w każdym cyklu replikacyjnym komórek drożdżowych. Cytowani autorzy wysunęli przypuszczenie, że akumulujące się w jądrze koliste, pozachromosomowe cząsteczki DNA stopniowo wypełniają jądro i ograniczają odczyt oraz replikację genomu, co skutecznie hamuje podziały komórkowe i prowadzi ostatecznie do śmierci komórki. Jak dotąd nie wykazano obecności takich kolistych cząsteczek DNA w komórkach ssaków. Podkreśla się jednak, że opisywany mechanizm prowadzący do starzenia i śmierci komórek, może prawdopodobnie występować w komórkach innych organizmów. Odkrycia powyższego dokonano używając pączkujących komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, stanowiących obiekt modelowy w badaniach nad zespołem Wernera — schorzeniem objawiającym się przedwczesnym starzeniem i śmiercią pacjenta przed osiągnięciem 50 roku życia.

Nie wiadomo, jak dotąd, defekt jakiego genu wyzwała w tym przypadku przyspieszone starzenie. Jednakże odkrycie ludzkiego genu (ponad rok temu) stanowiącego odpowiednik drożdżowego genu, zwanego *SGS1*, stanowi o tym, że powyższy problem może być rozwiązany w badaniach na tym prostym organizmie eukariotycznym.

SGS1 nie tylko jest podobny do genu ludzkiego, ale również wpływa na tempo starzenia, jak wykazali cytowani badacze z MIT. Normalne komórki *S. cerevisiae* powtarzają proces pączkowania około 25 razy. Mutanty *SGS1* wcześniej starzeją się, przestają pączkować i stają się sterylnymi po około 9 rundach pączkowania.

Formowanie kolistego DNA dotyczy jąderka. Jąderko zawiera RNA wchodzące w skład rybosomów uczestniczących w syntezie białek. Cząsteczki te są transkrybowane na matrycy rybosomowego DNA jąderka. Prawidłowe jąderko jest strukturą zwartą o kształcie owalnym a u mutantów drożdżowych jest powiększone i pofragmentowane. Gdy macierzysta komórka replikuje DNA przed pączkowaniem, także są replikowane małe koliste cząsteczki rybosomalnego DNA. Pierwsze cząsteczki kolistego DNA prawdopodobnie powstają przypadkowo, wynikać to może z wysoce repetytywnej natury rybosomalnego DNA. Raz powstałe koliste DNA są replikowane z resztą DNA komórki drożdżowej. Koliste DNA obserwuje się zarówno w normalnych komórkach, jak i mutantów *SGS1*, w których jednak jest akumulowany szybciej, co może mieć związek z szybszym tempem starzenia

się tych komórek. Długość życia takich komórek maleje o około 40%. U różnych szczepów drożdży jak wykazano, wstrzymanie formowania rybosomalnego kolistego DNA przedłuża okres ich życia o 25%. Według cytowanych autorów w komórce są obecne pewne białka normalnie zatrzymujące formowanie się kolistych cząsteczek DNA, co jednocześnie spowalnia starzenie. Jednym z takich czynników jest białko SGS1 skoncentrowane w jąderku. Następne z takich czynników to kompleks białkowy SIR. SIR stopniowo migruje w obszar jąderka w miarę jak komórka starzeje się. U długo żyjących mutantów SIR migracja ta jest wcześniejsza niż zwykle, co sugeruje, że wczesne przemieszczenie opóźnia procesy starzenia. Nie wiadomo

jednak w jaki sposób białka te uczestniczą w kontroli formowania kolistych DNA.

Przypuszcza się natomiast, że kolisty DNA przyspieszają starzenie komórek poprzez zaburzenie procesów replikacji i transkrypcji. Nie jest pewne, czy odkrycia te można odnosić do ludzkich komórek. Jednak jest prawdopodobne, że może to być uniwersalny molekularny mechanizm wyzwalający zmiany prowadzące do starzenia się.

O ile drożdże produkują mało repetytywnego DNA, poza genami rybosomalnymi, to komórki człowieka posiadają dużą jego ilość. Następnym krokiem w badaniach będzie wyjaśnienie, czy ludzkie komórki także akumulują kolisty DNA w jądrze i jakie to są komórki.

THE AGING PROCESS — ACTUAL THEORIES AND HYPOTHESES

Summary

A wide variety of theories to explain the aging process have been proposed including: stochastic, developmental, genome-based (programmed) and free radical ones. No single theory has been generally accepted: this remarkable

process remains a mystery. Although no single hypothesis fully explains all aging phenomena, the genome based and free radical theories, in particular, are supported by significant observational and experimental evidence.

LITERATURA

- BARTOSZ G., 1995. *Druga twarz tlenu*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- CASARETT G. W., 1963. *Concept and criteria of radiologic ageing*. [W:] *Cellular Basis and Aetiology of Late Somatic Effects of Ionizing Radiation*. Harris R. J. (red.). New York, Academic Press, 189.
- CERAMI A., VLASSARA H., BROWNLEE M. 1987. *Glucose and aging*. *Sci. Amer.* 256, 90–96.
- CHANDRA R. K. 1992. *Effect of vitamin and trace element supplementation on immune responses and infection in elderly patients*. *Lancet* 340, 1124–1127.
- COUNTER C. M., HIRTE H. W., BACCHETTI S. 1994. *Telomerase activity in human ovarian carcinoma*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 2900–2904.
- CRISTOFALO V. J., GERHARD G. S., PIGNOLO R. J. 1994. *Molecular biology of aging*. *Surg. Clin. N. Am.* 74(1), 1–21.
- DAYNES R. A., ARANEO B. A. 1992. *Prevention and reversal of some age-associated changes in immunologic responses by supplemental dehydroepiandrosterone sulfate therapy*. *Aging: Immunol. Inf. Dis.* 3, 135–154.
- DUCHATEAU J., DELEPESSE G., VRIJENS R., COLLET H. 1981. *Beneficial effects of oral zinc supplementation on the immune response of old people*. *Am. J. Med.* 70, 1001–1004.
- ENSTROM J. E., KANIM L. E., KLEIN M. A. 1992. *Vitamin C intake and mortality among a sample of the United States population*. *Epidemiology* 3, 194–202.
- EPSTEIN C. J., AVRAHAM K. B., LOVETT M. 1987. *Transgenic mice with increased Cu/Zn superoxide dismutase activity: Animal model of dosage effects in Downs syndrome*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 8044.
- ERSHLER W. B., LONGO D. L. 1997. *The biology of aging*. *Cancer* 80(7), 1284–1293.
- FERRY M., ROUSSEL A. M. 1996. *Trace elements and aging*. [W:] *Therapeutic Uses of Trace Elements*, Neve J. (red.), Plenum Press, New York, 99–105.
- FINCH C. E., LANDFIELD P. W. 1985. *Neuroendocrine and autonomic functions in aging mammals*. [W:] *Handbook of the biology of aging*, FINCH C. E., SCHNEIDER E. L. (red.), New York, Van Nostrand Reinhold, 567.
- GAAL T., SPEAKE B. K., MEZES M., NOBLE R. C., SURAI P. F., VAJDOVICH P. 1996. *Antioxidant parameters and ageing in some animal species*. *Comp. Haematol. Int.* 6, 208–213.
- DE GREY A. D. N. J. 1997. *A proposed refinement of the mitochondrial free radical theory of aging*. *BioEssays* 19(2), 161–167.
- GOTO M., RUBENSTEIN M., WEBER J. 1992. *Genetic linkage of Werners syndrome to five markers on chromosome 8*. *Nature* 355, 735.
- GROSSMAN L. I., SHOUBRIDGE E. A. 1996. *Mitochondrial genetics and human disease*. *BioEssays* 18(12), 983–991.
- HARMAN D. 1956. *Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry*. *J. Gerontol.* 11, 298–300.
- HARMAN D. 1994. *Free radical theory of aging. Increasing the functional life span*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 717, 1–15.
- HART R. W., SETLOW R. B. 1974. *Correlation between deoxyribonucleic acid excision-repair and life span in a number of mammalian species*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71, 2169–2173.
- HAYFLICK L. 1965. *The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains*. *Exp. Cell. Res.* 37, 614–636.
- IMAHORI K. 1992. *How I understand aging*. *Nutr. Rev.* 50(12), 351–352.
- JURGOWIAK M., OLIŃSKI R. 1995. *Wolne rodniki a starzenie się*. *Kosmos* 44(1), 71–88.
- JURGOWIAK M., OLIŃSKI R. 1997. *Oksydacyjne uszkodzenia mitochondrialnego DNA związane z rozwojem stanów patologicznych i starzeniem się*. *Post. Biochem.* 43(1), 30–40.
- JARUGA E. 1994. *Telomerazowa hipoteza starzenia się komórek*. *Post. Biochem.* 40(3), 161–165.
- KNIGHT J. A. 1995. *The process and theories of aging*. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 25(1), 1–12.

- KRISTAL B. S., YU B. P. 1992. An emerging hypothesis: Synergistic induction of aging by free radicals and Mailard reactions. *J. Gerontol.* 47, B107-B114.
- KUNICKI-GOLDGIFINGER W. J. H. 1974. Dziedzictwo i przyszłość. Rozważania nad biologią molekularną, ewolucją i człowiekiem. PWN Warszawa, 427-430.
- LAND H., PARADA L. F., WEINBURG R. A. 1983. Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. *Nature* 304, 596-602.
- LANE M. A., BAER D., RUMPLER W. V. 1993. Long-term diet restriction in nonhuman primates: The NIA study [abstract 4736]. W: *Abstracts of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. New Orleans, Louisiana, A820.
- MAKINODAN T., KAY M.B. 1980. Age influence on the immune system. *Adv. Immunol.* 29, 287-325.
- MARTIN G. M., SPRAGUE C. A., EPSTEIN C. J. 1970. Replicative life span of cultivated human cells. Effects of donors age, tissue and genotype. *Lab. Invest.* 23, 86-92.
- MASORO E. J. 1985. *Metabolism*. [W:] *Handbook of the biology of aging*. FINCH C. E., SCHNEIDER E. L. (red.), New York, Van Nostrand Reinhold, 540.
- MEDVEDEV Z. A. 1990. An attempt at a rational classification of theories of aging. *Biol. Rev.* 65, 375-398.
- MIRAULT M. E., TREMBLAY A., POTHIER F. 1992. Phenotypes of transgenic mice overexpressing glutathione peroxidase. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 183, 1095A.
- OLIŃSKI R., JURGOVIK M. 1996. Reaktywne formy tlenu — uniwersalny czynnik patogenny? [W:] *Nowe tendencje w biologii molekularnej i inżynierii genetycznej oraz medycynie*. BARCISZEWSKI J., ŁASTOWSKI K., TWARDOWSKI T. (red.). Wyd. Sorus, Poznań, 373-400.
- ORGE L. E. 1963. The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 49, 517-521.
- REVEILLAUD I., NIEDZWIECKI A., BENSCH K. G. 1991. Expression of bovine superoxide dismutase in *Drosophila melanogaster* augments resistance to oxidative stress. *Mol. Cell. Biol.* 11, 632.
- ROSE M. R., NUSBAUM T. J. 1994. Prospects for postponing human aging. *FASEB J.* 8, 925-928.
- SACHER G. A. 1977. Life table modification and life prolongation. [W:] *Handbook of the biology of aging*. FINCH C. E., Hayflick L. (red.). New York, Van Nostrand Reinhold, 582.
- SOHAL R. S., ALLEN R. G. 1990. Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging: A unifying hypothesis. *J. Gerontol.* 25, 499.
- SOHAL R. S., SVENSSON I., SOHOL B. H. 1989. Superoxide radical production in different animal species. *Mech. Ageing. Dev.* 49, 129.
- SOHAL R. S., SOHOL B. H., BRUNK U. T. 1990. Relationship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species. *Mech. Ageing. Dev.* 53, 217.
- STREHLER B. L. 1980. A critique of theories of biological aging. [W:] *Aging — Its Chemistry*. Dietz A. A. (red.). Washington DC: American Association of Clinical Chemistry, 25-45.
- SMITH G. S., WALFORD R. L. 1977. Influence of the main histocompatibility complex on aging in mice. *Nature* 270, 727.
- SZYFTER K. 1994. Zróżnicowanie procesu naprawy DNA w normie i patologii człowieka. *Kosmos* 43 (3-4), 551-562.
- VIJG J., GOSSEN J. A., SLAGBOOM P. E. 1990. New methods for the detection of DNA sequence variation: Applications in molecular genetic studies on aging. [W:] *Molecular biology of aging*. FINCH C. E., JOHNSON T. E. (red.). UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology 123, New York, Alan R. Liss, 103.
- WALFORD R. 1969. *The immunologic theory of aging*. Copenhagen, Munksgaard.
- WOLAŃSKI N. 1983. *Rozwój biologiczny człowieka*. PWN Warszawa, 634-646.
- YING W. 1997. Deleterious network hypothesis of aging. *Med. Hypotheses* 48, 143-148.
- YU B. P. 1994. How diet influences the aging process of the rat (43684). *P.S.E.B.M.* 205, 97-105.
- YU B. P. 1996. Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. *Free Radical Bio. Med.* 21 (5), 651-668.
- ŻADZIŃSKI R. 1996. Program czy niedoskonałość — nierozwiązana zagadka gerontologii. *Kosmos* 45(1), 69-96.