Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen

Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences

médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 24 (1968)

Artikel: Genetische Faktoren in cellulären Alternsprozess

Autor: Hahn, H.P. von

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307733

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 03.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Institut für experimentelle Gerontologie, Basel, und Universität Bern

Genetische Faktoren im cellulären Alternsprozeß

H. P. von Hahn

Altern scheint, jedenfalls bei höheren Organismen, ein universelles Phänomen zu sein, ein notwendiger Vorgänger des Todes. Wenn das so ist, so müßte man annehmen, daß der Vorgang des Alterns ein ebenso «normaler» physiologischer Vorgang ist wie die Embryogenese und alle Wachstumsvorgänge. Aus dieser Grundhypothese leiten sich für die Untersuchung der Biologie und der Biochemie des Alternsprozesses zwei primäre Thesen ab. die zu beweisen – oder zu widerlegen – das Hauptanliegen der experimentellen Gerontologie ist:

- 1. Der normale Alternsprozeß ist ein physiologischer Vorgang, der bei allen Individuen einer Species in gleicher Weise verläuft und der sich deutlich von altersassoziierten pathologischen Erscheinungen unterscheiden läßt.
- 2. Der normale Alternsprozeß ist das Resultat einer kontrollierten Folge genetisch determinierter Veränderungen des Stoffwechsels. Ebenso wie die Embryogenese ein genetisch determinierter Ablauf von biochemischen Stoffwechselprozessen ist, so ist das Altern der Zelle auf ein «genetisches Programm» zurückzuführen.

Beide Thesen sind heute noch umstritten. Ein Haupthindernis bei der experimentellen Erforschung des Alterns ist, daß es oft nicht möglich ist zu unterscheiden, ob eine bestimmte Veränderung physiologischer oder biochemischer Parameter ein pathologischer oder ein normaler physiologischer Vorgang ist, Eine zweite Komplikation ist, daß, während in einer bestimmten Population Embryogenese und Wachstum bei allen Individuen (oder jedenfalls beim allergrößten Teil) ein sehr einheitliches Bild ergeben, im Alternsprozeß eine fortlaufend größere Variabilität der Erscheinungen von Individuum zu Individuum beobachtet wird. Es sind daher auch viele Versuche unternommen worden, das «biologische Alter» unabhängig vom chronologischen Alter zu definieren. Ganz lassen sich die beiden Größen natürlich nicht trennen, aber es ist sinnvoll anzunehmen, daß die Summe der biologischen und biochemischen Vorgänge, die den Alternsprozeß ausmachen, nicht bei jedem Individuum gleich ausfällt. Schon allein die wesentlichen Variablen der Umgebungsfaktoren, z. B. Ernährung und Strahlung, müssen hier zur Auswirkung kommen.

Uns interessiert hier besonders die zweite These, die unter dem Schlag-

wort «programmiertes Altern» («programmed ageing») bekannt geworden ist. Das Altern der Zelle scheint ja ganz allgemein in einem Verlust an Adaptationsfähigkeit zu bestehen, in einer Abnahme der Fähigkeit, den homöostatischen Zustand unter Stress verschiedener Art aufrechtzuerhalten. Man kann dies durch eine progressive Abnahme der Fähigkeit der Zelle, wichtige Enzyme in genügender Menge zu synthetisieren, erklären. Und dies könnte das Resultat eines genetischen Programms sein, das die sukzessive Reduktion der Tätigkeit bestimmter Gene anordnet.

Die alternative Hypothese ist die, daß eine solche progressive Abnahme der Funktionsfähigkeit der Zelle auf einer mit der Zeit zunehmenden Anhäufung von «Fehlern» im Mechanismus der Proteinsynthese beruht. Solche «Fehler» sind in dieser Hypothese auf verschiedene innere und äußere Ursachen zurückzuführen, wie ionisierende Strahlung, freie Radikale, mutagene Agentien oder mikrothermische Ereignisse. Während bei der Hypothese des «programmierten Alterns» eine bestimmte Reihenfolge von Phänomenen beobachtet werden müßte, ist bei der «Fehlerhypothese» nur ein ganz allgemeines Phänomen voraussagbar, das von Individuum zu Individuum stark schwanken kann.

Beiden Hypothesen gemeinsam ist das Postulat, daß es Veränderungen in der Funktionsfähigkeit, also in der Struktur des Chromatins sind, welche zu den Veränderungen im Stoffwechsel führen. Nur die primäre genetische Matrix ist als Molekül langlebig genug, um für einen so langsamen Prozeß verantwortlich sein zu können. Alle anderen Molekülarten im Mechanismus der Proteinsynthese, Ribonucleinsäuren und Enzyme verschiedener Art, haben zu kurze Halblebenszeiten. Beide Hypothesen sagen auch, daß solche langfristigen Prozesse nur in langlebigen Zellen auftreten werden, also in solchen, die nicht mehr in Mitose gehen können (oder werden). Bei der Mitose werden nämlich erstens schlecht funktionsfähige Zellen ausgeschieden, weil sie in vielen Fällen nicht mehr fähig sind, den komplizierten Reaktionsablauf der Zellteilung erfolgreich durchzuführen; zweitens treten bei der Desoxyribonucleinsäure(DNA)-Reduplikation Reparaturprozesse auf, die viele Fehler eliminieren, ja ganze Basenfolgen ersetzen können.

Dies stimmt mit den Beobachtungen überein, daß besonders Organe mit totalem Verlust der Mitosefähigkeit ihrer funktionellen Zellen («irreversibel postmitotische» Zellen) Alternserscheinungen ihrer physiologischen Funktionsfähigkeit zeigen, z. B. Muskel- und Zentralnervensystem. Ein Funktionsverlust in einem solchen Organ beruht auf der quantitativen Abnahme an Zellen bzw. Zellkernen, die laufend altern und absterben. Mit histologischen Methoden ist eine solche Abnahme der Zahl bestimmter Zellarten vielfach beschrieben worden (z. B. Purkinje-Zellen im Cerebellum [Hodge 1894. Inukai 1919]). Mit quantitativen chemischen Analysenmethoden ist ein pauschaler Verlust an DNA pro Organ hingegen bisher nicht nachweisbar (Hahn 1966b; Zusammenstellung der Literatur bei Hahn 1963b). Entweder sind die Methoden noch zu ungenau oder, was wahrscheinlicher ist und sich histologisch auch zeigen läßt, die verlorengehenden funktionellen

Zellen werden durch Bindegewebszellen ersetzt. Es ist anzunehmen, daß sowohl Zellverluste wie auch abnehmende Funktionsfähigkeit der überlebenden Zellen im Altern solcher Organe eine Rolle spielen. Andererseits zeigen Organe, die regelmäßig ihre Zellen ersetzen, wie alle Epithelien und das reticuloendotheliale System, keine funktionellen Alternserscheinungen.

Aus solchen Überlegungen heraus kommt man zur Schlußfolgerung, daß primäre Alternserscheinungen der Zelle in den Nucleoproteinen des Zellkerns zu suchen sind, und zwar daß man speziell nach Strukturänderungen an der DNA selbst oder im Nucleoproteinkomplex suchen muß, welche eine Abnahme der Funktionsfähigkeit des genetischen Materials im Interphasekern zur Folge haben können.

Diese Überlegungen widersprechen natürlich nicht der wichtigen genetischen Lehre von der Stabilität des Erbmaterials. Erstens, wie wir sehen werden, sind die Alternserscheinungen eher in der Struktur des Nucleoproteinkomplexes und nicht in der DNA selbst zu suchen, und zweitens sind ja die Zellen der Keimbahn in regelmäßigen Mitosen begriffen, wobei mutierte oder sonst geschädigte Zellen eliminiert werden können. Daß aber auch Keimzellen altern können, zeigt die exponentiell ansteigende Frequenz des Mongolismus bei Kindern älterer Mütter (Penrose 1954).

Untersuchungen über das strukturelle Altern von DNA und Nucleoprotein

A. Alterskorrelierte Strukturveränderungen an DNA

Betrachtet man die freie Desoxyribonucleinsäure (DNA), wie sie als der Träger der genetischen Information in Doppelhelixform im Chromatin vorliegt, so sind drei Arten von Strukturveränderungen möglich, welche als Ursachen von Zellaltern wirksam sein könnten: Chromosomenaberrationen, Punkt- und «frameshift»-Mutationen, und «crosslinking» (Quervernetzung).

a) Chromosomenaberrationen. – Der «gröbste» Eingriff in die Struktur von DNA im Chromatin alternder somatischer Zellen sind die gesamthaft als «Chromosomenaberrationen» klassierten Erscheinungen, wie sie besonders von Curtis (1963, 1966) an Metaphaseplatten von regenerierender Leber alternder Mäuse beschrieben worden sind. Es handelt sich um mikroskopisch sichtbare strukturelle Schäden an Chromosomen. Die primären Ursachen solcher schwerer Schäden dürften ionisierende Strahlen, besonders y-Strahlen und schnelle Neutronen, sein, wie Curtis experimentell zeigen konnte. Da aber so schwere Abnormitäten kaum zu lebensfähigen Tochterzellen führen dürften, muß bezweifelt werden, ob die unter extrem unphysiologischen Bedingungen (schwere Schädigung der Leber mit Chloroform zur Anregung der Mitosetätigkeit) von Curtis erhaltenen Resultate tatsächlich einen biologischen Mechanismus darstellen. So beschreibt Curtis eine Zunahme der Frequenz von abnormalen Metaphasen bis zu 80% (aller Metaphasen) bei alten Tieren. Es muß auch diskutiert werden, ob in Abwesenheit der hohen Mitoseraten, wie sie Curtis experimentell produziert, so enorm hohe Frequenzen von Abnormitäten auftreten.

b) Mutationen in somatischen Zellen. – Curtis (loc. cit.) hat die Frequenz der Chromosomenaberrationen in seinen Leberzellen als direktes Maß für die Häufigkeit von Mutationen in diesen Zellen genommen. Diese Korrelation muß jedoch ernstlich bezweifelt werden, da es sich um in der Dimension sehr verschiedene Phänomene handelt und auch eine solche Korrelation bei Tierzellen experimentell gar nicht belegt ist. Es gibt leider heute noch keine befriedigende Methode zur direkten Messung von Mutationsraten in Zellen somatischer Organe, und daher sind alle Aussagen auf diesem Gebiet als spekulativ zu bewerten (s. z. B. Atwood und Scheinberg 1958; Schlager und Dickie 1965).

Zur Unterstützung der somatischen Mutationstheorie des Alterns wird auch der Befund angeführt, daß kleine Dosen chronischer Bestrahlung lebensverkürzend wirken, und daß dies also einer Beschleunigung des Alternsprozesses gleichkommt (Failla 1960). Ionisierende Strahlung ist stark mutagen, also wird das Altern durch Erhöhung der Mutationsrate beschleunigt. Alexander (1966, 1967) hat jedoch zeigen können, daß die Todesursachen bei solchen chronisch bestrahlten Tieren nicht die gleichen sind wie bei einer unbestrahlten Kontrollpopulation und daß ganz spezifische neue pathologische Erscheinungen auftreten. Auch haben sowohl Verzar (1959) wie Connell und Alexander (1959) gefunden, daß bekannte physiologische Alternsvorgänge, wie die Erhöhung der thermischen Kontraktionsspannung der Kollagenfaser und die Häufigkeit des Auftretens bestimmter Tumoren, nicht durch Strahlung beschleunigt werden. Weiterhin erwiesen sich stark mutagene Agentien, wie das Äthylmethansulfonat (Alexander 1963, 1966) nicht lebensverkürzend. Die Resultate der langfristigen Untersuchung der Überlebenden von Hiroshima (Hollingsworth u. Mitarb. 1961, 1965) zeigen ebenfalls keine Beschleunigung normaler Alternsprozesse durch Bestrahlung. Die lebenverkürzende Wirkung ionisierender Strahlung ist demnach auf spezifische Effekte zurückzuführen und es besteht keine Kausalität Strahlung → Mutationen → Altern (Übersichtsreferate zu diesem Thema: ALEXANDER 1966, MAYNARD SMITH 1966, CURTIS 1966, WELCH 1967).

Man kann also, mit aller gebotenen Vorsicht, sagen, daß das normale Altern nicht auf einer Anhäufung von Mutationen (Informationsfehlern) in der genetischen Matrix beruht.

c) Kovalente Quervernetzungen («crosslinks») an DNA. – Am Beispiel des Kollagens ist gezeigt worden, daß ein komplexes fadenförmiges Makromole-kül mit Helixstruktur einen Alternsprozeß in vivo durch Ausbildung verschiedener Typen kovalenter Quervernetzungen zwischen benachbarten Ketten durchlaufen kann (Übersichtsreferat: Verzär 1964). Bei DNA sind kovalente «crosslinks» durch verschiedene Methoden experimentell erzeugbar, so durch Ultraviolettstrahlung (Setlow u. Mitarb. 1963), salpetrige Säure (Becker u. Mitarb. 1964) oder bifunktionelle Alkylierungsmittel vom N-lost(Stickstoffsenfgas)-Typ (Alexander und Stacey 1960, Kohn u. Mitarb. 1966). Würden bei alternden Zellen solche «crosslinks» an der DNA auftreten, so könnte der Transkriptionsvorgang (die Synthese der Messenger-

RNA an der DNA) stark gestört werden, da eine vollständige Trennung der beiden Ketten einer DNA-Doppelhelix für diesen Vorgang notwendig ist. Dies würde also in einer Störung der Proteinsynthese resultieren und zu einem Verlust an Funktionsfähigkeit der Zelle führen.

Kovalente «crosslinks» an DNA lassen sich experimentell einfach nachweisen: Durch sie wird die thermische Denaturierung der DNA vollständig reversibel, und diese Reversibilität läßt sich spektrophotometrisch verfolgen (Becker u. Mitarb. 1964). Wie Untersuchungen aus unserem Institut (Hahn 1964/65b) ergaben, konnte am Modellfall des Rinderthymus keine Zunahme der Reversibilität der Denaturierung der DNA mit zunehmendem Alter gefunden werden. Für dieses besondere Objekt kann also das Auftreten kovalenter «crosslinks» als möglicher Alternsmechanismus nicht nachgewiesen werden. Ob diese Schlußfolgerung verallgemeinert werden kann, läßt sich noch nicht sagen.

B. Alterskorrelierte Strukturveränderungen am Nucleoprotein

Wie wir im vorhergehenden Abschnitt gesehen haben, konnten bisher keine Strukturveränderungen an der DNA-Doppelhelix selbst gefunden werden, die ausreichend wären, den Vorgang des Zellalterns zu erklären. Wir müssen uns daher derjenigen Strukturform zuwenden, in der DNA im Chromatin des Zellkerns vorliegt: als Komplex mit verschiedenen speziellen Proteinen. Die zweite Möglichkeit strukturellen Alterns des genetischen Materials betrifft die Beziehungen zwischen DNA und ihren assoziierten Proteinen. Es handelt sich nun nicht mehr um eine Veränderung an genetischer Information, sondern um eine Blockierung der genetischen Regulationsmechanismen auf dem Niveau des Gens.

Die genaue Struktur des Nucleoproteins, wie es im Chromatin vorliegt, ist noch nicht bekannt. Man kann nur sagen, daß in den Zellkernen höherer Pflanzen und Tiere DNA mit bestimmten basischen Proteinen, den Histonen und Protaminen, etwa im Gewichtsverhältnis 1:1 bis 1:2 assoziiert ist. Daneben ist noch eine kleinere Menge neutraler und saurer Proteine mit DNA assoziiert, über deren Zusammensetzung und Funktion noch kaum etwas bekannt ist (zusammenfassende Darstellung zu diesem Thema: Bonner und Ts'o 1964, Vendrely und Vendrely 1966).

Die wichtigste Gruppe dieser Proteine, die basischen Histone, zeigt in vitro die Funktion von Genrepressoren (wie sie im Operon-Modell von Jacob und Monod [1961] postuliert sind): Diese Proteine blockieren die Synthese von Messenger-RNA an der DNA (neuere zusammenfassende Darstellungen: Bonner und Ts'o 1964, Vendrely und Vendrely 1966). Dies bewirken sie durch ihre strukturelle Assoziation mit der DNA: Das Ergebnis ist eine weitgehende Verfestigung der DNA-Doppelhelix, und dies äußert sich experimentell in einer Erhöhung der mittleren «Schmelztemperatur» (Tm). Dies ist die Temperatur, bei der in verdünnter wässeriger Lösung die Doppelhelix auseinanderfällt. Histone verhindern oder erschweren also die Auftrennung der Doppelhelix und, da eine lokale Auftrennung

der beiden DNA-Ketten für die Transkription eines Gens oder Cistrons auf Messenger-RNA erforderlich ist, blockieren also die Histone somit die Messenger-RNA-Synthese: Sie wirken als Genrepressoren. Normalerweise ist die Assoziation von Histon und DNA recht locker, da sie ausschließlich durch Ionenbindungen hergestellt wird. Verändert man nun etwas an diesem Bindungsverhältnis, an Art oder Zahl der Bindungen, so kann es zu irreversiblen Störungen, zur Blockierung der «Schlaufen-Bildung» und somit der Transkription kommen. Diese Überlegungen haben den Anstoß zu einigen Untersuchungen über mögliche altersbedingte Strukturveränderungen in der Assoziation von DNA-Protein gegeben.

Die «mittlere Schmelztemperatur» Tm von DNA oder DNA-Protein-Komplexen in verdünnter wässeriger Lösung ist ein Maß für die Stabilität der Doppelhelixstruktur unter den verwendeten experimentellen Bedingungen. Sie kann spektrophotometrisch bestimmt werden, da die Auflösung der Helixstruktur einen im Ultraviolett meßbaren hyperchromen Effekt ergibt. Faktoren, welche die Lage von Tm beeinflussen, sind: 1. die Herkunft der DNA-Probe, wobei besonders das Verhältnis der Basenpaare Adenin-Thymin zu Cytosin-Guanin ausschlaggebend ist; 2. die Ionenstärke der verwendeten Lösung; 3. der Gehalt des Präparates an restlichem Histon; 4. der Bindungszustand der Histone. Während die Faktoren 2 und 3 experimentell variierbar sind, ist Faktor 1 eine artspezifische Gegebene, und Faktor 4 könnte mit dem Altern von Nucleoprotein zusammenhängen.

Die ersten Untersuchungen über molekulares Altern von Nucleoprotein wurden von Hahn und Verzar (1963) an DNA-Präparaten aus Rinderthymus ausgeführt. Sie ergaben, daß DNA aus alten Tieren, mit einem kleinen restlichen Proteinanteil, stets höhere Schmelztemperaturen, also eine größere thermische Stabilität hatte als gleich präparierte DNA von jungen Tieren.

Die weitere Analyse dieser Befunde mit Rinderthymus und Rattenleber DNA und Nucleoproteinpräparaten ergab, kurz zusammengefaßt, folgende Befunde (Hahn 1963a, 1964/65b, 1965b, Hahn und Fritz 1966):

- 1. Der Alternseffekt, erhöhte thermische Stabilität, besteht nur bei Anwesenheit von Histon an der DNA. Diese restliche, essentielle Histonmenge kann nur 1–2% des DNA-Gewichts ausmachen. Entfernt man die Histone durch weitergehende Entproteinisierung des DNA-Präparats vollständig, so geht auch der Alternseffekt verloren (Hahn 1963a). Zu ganz ähnlichen Ergebnissen sind auch Russell, Dowling und Herrmann (1966) mit Maus-DNA und Pyhtilä und Sherman (1967) mit Rinderthymuspräparaten gekommen. Also haben wir es hier eindeutig mit einer Reaktion zwischen DNA und Histon, und nicht an der DNA selber, zu tun.
- 2. Während eine solche Erhöhung der Schmelztemperatur Tm auch durch rein quantitative Erhöhung der Menge gebundenen Histons erreicht werden kann (HNILICA und BILLEN 1964, HUANG u. Mitarb. 1964, HAHN 1965a), handelt es sich beim gefundenen Alternseffekt um eine qualitative «Versteifung» der DNA-Histon-Bindungen, denn die erhöhte Stabilität wird bei Präparaten mit gleichem Histongehalt gefunden (HAHN 1964/65b, HAHN

und Fritz 1966). Neueste Ergebnisse von Kurtz und Sinex (1967) mit Maushirnnucleoprotein bestätigen diese Befunde.

Auf Grund dieser Ergebnisse läßt sich ein Modell für einen Alternsmechanismus konstruieren (Hahn 1966a): Im Nucleoprotein entstehen – so kann man postulieren – durch Zufallsereignisse (oder programmiert?) festere Bindungen zwischen den negativ geladenen Phosphatgruppen der DNA und den positiv geladenen Arginin- und Lysin-Seitengruppen der Histone. Wo solche neuen Bindungen auftreten, ist das Histon so an DNA gebunden, daß es nicht mehr durch die zelleigenen Regulationsmechanismen entfernt werden kann. Dadurch wird der betreffende Genbereich irreversibel blockiert und die genetische Information geht der Zelle verloren. Eine progressive Anhäufung solcher blockierter Genregionen würde zu einer Abnahme der Funktionsfähigkeit der Zelle führen.

Es sind auch Untersuchungen über die Histone selbst durchgeführt worden, so von Hahn (1964/65a) über das Auftreten histongebundener DNA in Histonfraktionen und deren Zunahme im Alter sowie von Klimenko (1964, 1966) über Veränderungen des quantitativen DNA-Histon-Verhältnisses.

C. Funktionelle Studien an DNA und Nucleoprotein

Neben der Suche nach strukturellen Veränderungen im Chromatin alternder Zellen ist auch versucht worden, direkt die «Fähigkeit» der DNA bzw. des Chromatins, die Proteinsynthese oder die Messenger-RNA-Synthese durchzuführen, zu messen. Es gibt dazu eine ganze Reihe verschiedener Versuchsmethoden von verschiedenem Aussagewert, und wir werden kurz vier Methoden, die für die Untersuchung des Alterns von Chromatin und DNA verwendet worden sind, diskutieren.

- a) RNA-Synthese in vitro im zellfreien System. Die wenigen Studien, die direkt Veränderungen der «priming ability» von DNA, also die Fähigkeit zur Förderung der RNA-Polymerase-Reaktion in zellfreien Systemen zum Objekt hatten, haben mit reiner DNA keine Abnahme dieser Reaktion mit zunehmendem Alter gefunden (Russell, Dowling und Herrmann 1966, Pyhtilä und Sherman 1967). Nach dem vorhergehend Besprochenen wäre dies auch verständlich und in das von uns entwickelte Modell passend. Demgegenüber war Nucleoprotein aus Thymus alter Rinder ein deutlich weniger guter «primer» als Nucleoprotein aus Kalbsthymus (Pyhtilä und Sherman 1967). Auch dieser Befund paßt in unser Modell.
- b) RNA-Synthese in vitro in intakten Zellkernen. Die Gruppe von Wulff hat ein Testsystem entwickelt, in dem gereinigte, intakte Zellkerne aus Rattenorganen mit markierten RNA-«precursors» (Bausteine) inkubiert werden und die Inkorporationsrate der Markierung in die nucleare RNA bestimmt wird. Überraschenderweise ergab sich in ihren Versuchen, daß mit zunehmendem Alter der Tiere eine Steigerung der Inkorporationsrate vorlag (Wulff, Quastler und Sherman 1962a, 1962b, 1964; Samis, Wulff und Falzone 1964; Wulff, Samis und Falzone 1967). Zugleich wurde aber eine Abnahme der Menge der intranuclearen RNA gefunden.

Da aber bei diesen Studien die Größe der «precursor pools» nicht mitbestimmt wurde, läßt sich nicht sagen, ob es sich um eine reale Steigerung der effektiven RNA-Synthese handelt. Die Autoren stellen dazu die Hypothese auf, daß es sich um einen «feed-back»-Mechanismus handelt, eine Derepression gewisser Gene als Resultat der Synthese (durch diese Gene) fehlerhafter und daher biologisch inaktiver Enzymproteine. Ähnliche Befunde wurden von Maynard Smith an alternden Drosophilae gefunden und mit der gleichen Hypothese erklärt (Maynard Smith 1966, Clarke und Maynard Smith 1966). Auch hier sind Ergebnisse und Schlußfolgerungen noch als «vorläufig» zu bezeichnen und bedürfen noch der ausführlichen experimentellen Belege.

einer großen Zahl Enzyme durch direkte Induktion mit dem Substrat auf dem Niveau der Genregulation in Gang bringen. Man kann so selektiv Mutationen in bestimmten Genen qualitativ und quantitativ bestimmen. In Organen höherer Tiere und besonders bei Säugetieren ist die Enzyminduktion noch sehr wenig bekannt und scheint nicht so eindeutig zu verlaufen wie bei Bakterien. Besonders konnte gezeigt werden, daß eine scheinbare Induktion durch Substrat nicht eine reale Steigerung der Enzymproteinsynthese bewirkte. Dies gilt für das Enzym Tryptophan-Pyrrolase in der Rattenleber. Daher haben auch die Befunde von Gregerman (1959) sowie von Correll, Turner und Haining (1965) und Haining, Correll und Turner (1964), daß keine alterskorrelierte Abnahme der Induzierbarkeit dieses Enzyms durch Tryptophan vorliegt, keinen direkten Aussagewert, was den Zustand der DNA im Tryptophan-Pyrrolase-Cistron betrifft. Diese Methode ist in diesem Falle nicht zweckmäßig.

Die von Singhal (1967) untersuchte Induktion von Glucose-6-phosphatase und Fructose-1,6-diphosphatase durch Dexamethasone in der Leber von 1–15 Monate alten Ratten zeigte eine Abnahme von etwa 40% vom 1. bis zum 3. Altersmonat, dann eine weitere geringere Abnahme von etwa 20% bis zum 15. Monat. Leider wurden keine älteren Tiere untersucht. Die größte Abnahme ist hier während des Wachstums zu beobachten.

d) Isolierung und Charakterisierung von Messenger-RNA. – Der interessanteste Befund der letzten Zeit ist ein erst in «Abstract»-Form publizierter Kongreßvortrag von Cutler und Curtis (1967). Diese Autoren analysieren die Heterogenität der totalen Messenger-RNA aus verschiedenen Mausorganen, indem sie die extrahierte RNA mit denaturierter «single-stranded» DNA aus Tieren verschiedenen Alters kompetitiv hybridisieren lassen. Das Ausmaß der Hybridbildung gibt an, ob und wie stark sich die RNA-Zusammensetzung von einer Altersstufe zur nächsten geändert hat. Die bisherigen Ergebnisse zeigen wenig Veränderung von 4 bis 17 Wochen Alter, dann aber eine starke Abnahme der Heterogenität der Messenger-RNA bis ins Alter von 102 Wochen. Dieser Befund paßt wiederum in unser Alternsmodell, denn er deutet auf eine progressive Abschaltung von Genbereichen, was sich hier in einer geringeren Heterogenität der Messenger-RNA äußert.

Diskussion und Schlußfolgerungen

- 1. Die genaue Untersuchung der Ereignisse im Chromatin alternder Zellen ist abhängig von der genauen Kenntnis der Struktur und Funktion des Chromatins in gesunden adulten Organismen. Daher hat die biochemische und biophysikalische Gerontologie ihre Grundlagen und ihre Basis in den Methoden und den Ergebnissen der allgemeinen biochemischen und biophysikalischen Grundlagenforschung und baut auf deren Resultaten auf. Wie die experimentelle Embryologie den Beginn der Lebenskurve biochemisch und physiologisch beschreibt, so tut es die experimentelle Gerontologie für den abfallenden Ast der Lebenskurve. Neu sind hier die besonderen Erscheinungsformen des Alternsprozesses und ganz besonders die auf dem Niveau der Makromoleküle. Diese aufzuklären und so die Phase des Alterns an Wachstum- und Reifephasen anzuschließen, ist das Ziel der experimentellen Gerontologie.
- 2. Da das Altern der Zelle hauptsächlich in einem Verlust an Adaptationsfähigkeit zu bestehen scheint, muß nach den Primärursachen dieser Veränderungen am primären Sitz der Regulation des Zellstoffwechsels gesucht werden: im Chromatin, im Mechanismus der Proteinsynthese. Einerseits müssen noch viel genauer die in vivo auftretenden Veränderungen der chemischen und physikalischen Eigenschaften des Chromatins und aller Stufen der Proteinsynthese während des Alterns analysiert und beschrieben werden. Andererseits müssen vermehrt Modelle des molekularen Alterns entwickelt und diese an Hand von gezielten Experimenten geprüft werden.
- 3. Die bisher auf diesem Gebiet vorliegenden Ergebnisse lassen noch keine eindeutigen Schlußfolgerungen über primäre Alternsmechanismen der Zelle zu. Verschiedene mögliche Mechanismen sind noch zu wenig geprüft und belegt. Jedoch kann man auf Grund der hier aufgeführten Arbeiten ganz allgemein doch sagen, daß ein strukturelles Altern des Nucleoproteins und der angeschlossenen Systeme einer der primären Alternsmechanismen der Zelle ist.

Zusammenfassung

Das Altern der postmitotischen Zellen beruht vermutlich auf progressiven Veränderungen der Struktur- und Bindungsverhältnisse in den biologischen Makromolekülen, besonders im Nucleoproteinkomplex der Chromosomen. An Hand der Literatur und eigener Experimente wurde die Hypothese entwickelt, daß nicht somatische Mutationen oder intramolekulare Quervernetzungen in der Desoxyribonucleinsäure selbst als «Alternsschäden» in Frage kommen, sondern die Ausbildung stärkerer Bindungen zwischen der DNA und den mit ihr assoziierten regulatorischen Proteinen. Dies führt zu einer progressiven Blockierung der genetischen Information, daher zu einem Verlust an Adaptationsfähigkeit der Zelle, welche für den Alternsprozeß charakteristisch ist.

Résumé

Le vieillissement des cellules après la mitose est probablement dû à des modifications progressives dans la structure et les relations des macromolécules biologiques, surtout dans le complexe nucléoprotéinique des chromosomes. En se basant sur la littérature et des expériences personnelles, l'auteur émet l'hypothèse que ce ne sont pas des mutations somatiques ou des altérations intramoléculaires de l'acide désoxyribonucléinique qui font la «lésion de vieillesse», mais que c'est l'apparition de liaisons plus solides entre le DNA et les protéines de régulation qui lui sont associées. Ceci aboutit peu à peu à un blocage de l'information génétique, par conséquent à une perte des facultés d'adaptation cellulaire, ce qui est caractéristique pour les phénomènes de vieillissement.

Riassunto

La senescenza delle cellule postmitotiche dipende probabilmente da mutazioni progressive dei rapporti di struttura ed affinità nelle macromolecole biologiche, specie nel complesso nucleoproteinico dei cromosomi. Basandosi sulla letteratura e su degli esperimenti personali si sviluppò l'ipotesi che non sono le mutazioni somatiche o le lesioni intramolecolari dell'acido desossiribonucleinico stesso che contano quali lesioni dovute alla senescenza, ma la formazione di legami più forti fra il DNA e le proteine regolatrici ad esso associate. Ciò produce un blocco progressivo dell'informazione genetica e di conseguenza una perdita della facoltà d'adattamento della cellula, caratteristica per il processo di senescenza.

Summary

Ageing of post-mitotic cells appears to depend on progressive changes of the structural and binding relationships in the biological macromolecules, especially in the nucleoprotein complex of the chromosomes. On the grounds of the literature and of the author's own experiments, the hypothesis is developed that it is not somatic mutations or intramolecular cross linkages in the desoxyribonucleic acid itself which should be considered as "old age damage" but the formation of stronger bonds between DNA and the associated regulatory proteins. This leads to a progressive blocking of genetic information and thus to a loss of adaptability of the cell, which is characteristic for the ageing process in general.

ALEXANDER P., in: Cellular basis and aetiology of late somatic effects of ionizing radiation (hrg. von R. J. C. Harris), S. 257. Academic Press, New York 1963.

ALEXANDER P.: Is there a relationship between aging, the shortening of lifespan by radiation and the induction of somatic mutation? In: Perspectives in experimental gerontology (hrg. von N. W. Shock), S. 266-279. Charles C. Thomas, Springfield 1966.

ALEXANDER P.: The role of DNA lesions in the processes leading to ageing in mice. In: Aspects of the biology of ageing (hrg. von H. W. Woolhouse), Symposium of the Soc. for exp. Biol. No. 21. Cambridge University Press, Cambridge 1967.

- ALEXANDER P. und STACEY K. A.: Effects of nitrogen mustards and related compounds on the nucleoproteins of the cell nucleus. Acta Un. int. caner. 16, 533-539 (1960).
- ATWOOD K. C. und Scheinberg S. L. (1958): Somatic variation in human erythrocyte antigens. J. cell. comp. Physiol. 52, Suppl. 1, 97-123 (1958).
- BECKER E. F., ZIMMERMANN B. K. und GEIDUSHEK E. P.: Structure and function of cross-linked DNA. 1: Reversible denaturation and B. subtilis transformation. J. molec. Biol. 8, 377–391 (1964).
- BONNER J. u. Ts'o P.O. P. (Hsg.): The nucleohistones. Holden-Day, San Francisco 1964. CLARKE J. M. und MAYNARD SMITH J.: Increase in the rate of protein synthesis with age in Drosophila subobscura. Nature (Lond.) 209, 627-629 (1966).
- CONNELL D. I. und ALEXANDER P.: The incidence of hepatomas in irradiated and non-irradiated CBA mice as a criterion of ageing, Gerontologia (Basel) 3, 153-158 (1959).
- CORRELL W. W., TURNER M. D. und Haining J. L.: Changes in tryptophan pyrrolase induction with age. J. Geront. 20, 507-510 (1965).
- Curtis H. J.: Biological mechanisms underlying the aging process, Science 141, 686-694 (1963).
- Curtis H. J.: The role of somatic mutations in aging. In: Topics in the biology of aging (hrg. von P. L. Krohn), S. 63-74. Interscience Publ., New York 1966.
- CUTLER R. G. und CURTIS H. J.: Synthesis of messenger RNA species as a function of age in mice. Abstr. 20th ann. Meet. geront. Soc., St. Petersburg, Fla. 1967, S. 13.
- Failla G.: The aging process and somatic mutations. In: The biology of aging (hrg. von B. L. Strehler), S. 170-175, Amer. Inst. biol. Sci. Publ. 1960.
- Gregerman R. I.: Adaptive enzyme responses in the senescent rat: tryptophan peroxidase and tyrosine transaminase. Amer. J. Physiol. 197, 63-64 (1959).
- VON HAHN H. P.: Agedependent thermal denaturation and viscosity of crude and purified DNA prepared from bovine thymus. Gerontologia (Basel) 8, 123-131 (1963a).
- VON HAHN H. P.: The role of DNA in the ageing process review. Gerontologia (Basel) 8, 168-178 (1963b).
- von Hahn H. P.: Analysis of histones from thymus of young and old bovines by gel filtration. Gerontologia (Basel) 10, 107-116 (1964/65a).
- VON HAHN H. P.: Age-related alterations in the structure of DNA. 11: The role of histones. Gerontologia (Basel) 10, 174-182 (1964/65b).
- von Hahn H. P.: Stabilization of DNA structure by histones against thermal denaturation. Experientia (Basel) 21, 90-91 (1965a).
- VON HAHN H. P.: Nucleinsäuren und Nucleoproteine in Zellen alternder Organe, Habilitationsschrift, Bern 1965b.
- VON HAHN H. P.: A model of regulatory aging of the cell at the gene level. J. Geront. 21, 291–294 (1966a).
- VON HAHN H. P.: Distribution of DNA and RNA in the brain during the lifespan of the albino rat. Gerontologia (Basel) 12, 18-29 (1966b).
- VON HAHN H. P. und FRITZ E.: Agerelated alterations in the structure of DNA. III: Thermal stability of rat liver DNA, related to age, histone content and ionic strength. Gerontologia (Basel) 12, 237-250 (1966).
- VON HAHN H. P. und VERZÁR F.: Agedependent thermal denaturation of DNA from bovine thymus. Preliminary communication. Gerontologia (Basel) 7, 104-107 (1963).
- HAINING J. L., CORRELL W. W. und TURNER M. D.: Changes in tryptophan pyrrolase induction rate with age. Abstr. 17th ann. Meet. geront. Soc., Minneapolis, 1964, S. 12.
- HNILICA L. S. und BILLEN D.: The effect of DNA-histone interactions on the biosynthesis of DNA in vitro. Biochem. biophys. Acta (Amst.) 91, 271-280 (1964).
- Hodge C. F.: Changes in ganglion cells from birth to senile death. Observations on man and honeybee. J. Physiol. (Lond.) 17, 129 (1894).
- Hollingsworth J. W., Hashizume A. and Jablon S.: Correlations between tests of aging in Hiroshima subjects an attempt to define «physiological age». Yale J. Biol. Med. 38, 11–26 (1965).

- Hollingsworth J. W., Ishi G. und Conrad R. A.: Skin aging and hair graying in Hiroshima, Geriatrics 16, 27-36 (1961).
- HUANG R.-C. C., BONNER J. und MURRAY K.: Physical and biological properties of soluble nucleohistones, J. molec. Biol. 8, 54-64 (1964).
- INUKAI T.: On the loss of Purkinje cells, with advancing age, from the cerebellar cortex of the albino rat. J. comp. Neurol. 30, 229 (1919).
- Jacob F. und Monod J.: Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. J. molec. Biol. 3, 318-356 (1961).
- KLIMENKO A. I.: Concerning the histone-DNA ratio in the nuclei of liver cells of young and aged albino rats (russisch). Biokhimiya 29, 820-823 (1964).
- KLIMENKO A. I.: Quantitative changes in the histones and nucleic acids in the cellular nuclei of the liver during stimulation and inhibition of processes of protein synthesis in the organism (russisch). Biokhimiya 31, 446–452 (1966).
- Kohn K. W., Spears C. L. und Doty P.: Interstrand crosslinking of DNA by nitrogen mustard. J. molec. Biol. 19, 266-288 (1966).
- Kurtz D. I. und Sinex F. M.: Age-related differences in the association of brain DNA and nuclear protein. Biochim. biophys. Acta (Amst.) 145, 840-842 (1967).
- MAYNARD SMITH J.: Theories of aging. In: Topics in the biology of aging (hrg. von P. L. Krohn), S. 1-27. Interscience Publ., New York 1966.
- Penrose L. S.: Mongolian idiocy (mongolism) and maternal age. Ann. N.Y. Acad. Sci. 57, 494-502 (1954).
- Pyhtilä M. J. und Sherman F. G.: Age-related changes in chromatin and its components. Fed. Proc. 26, 667 (1967).
- Russell A. P., Dowling L. E. und Herrmann R. L.: Investigation of possible agerelated changes in DNA structure and function. Proc. 7th int, Congr. Geront. Vienna 8, 119–120 (1966).
- Samis H. V., Wulff V. J. und Falzone J. A.: The incorporation of H⁸-cytidine into RNA of liver nuclei of young and old rats. Biochim. biophys. Acta (Amst.) 91, 223–232 (1964).
- Schlager G. und Dickie M. M.: Spontaneous mutation rates at five coat-color loci in mice. Science 151, 205-206 (1965).
- Setlow R. B. Swenson P. A. und Carrier W. L.: Thymine dimers and inhibition of DNA synthesis by UV irradiation of cells. Science 142, 1464–1466 (1963).
- Singual R. L.: Effect of age on the induction of glucose-6-phosphatase and fructose-1,6-diphosphatase in rat liver. J. Geront. 22, 77-82 (1967).
- VENDRELY R. und VENDRELY C.: Biochemistry of histones and protamines. Protoplasmatologia V, Section 3, Chapter c. Springer, Wien/New York 1966.
- Verzár F.: Influence of ionizing radiation on the age reaction of collagen fibres. Gerontologia (Basel) 3, 163-170 (1959).
- Verzár F.: Ageing of the collagen fibre. Int. Rev. conn. Tissue Res. 2, 243-300 (1964).
- Welch J. P.: Somatic mutations and the aging process. Advanc. geront. Res. 2, 1–36 (1967).
- Wulff V. J., Quastler H. und Sherman F. G.: A possible role of RNA metabolism in the aging process. J. Geront. 17, 456 (1962a).
- Wulff V. J., Quastler H. und Sherman F. G.: An hypothesis concerning RNA metabolism and aging. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 48, 1373-1375 (1962b).
- WULFF V. J., QUASTLER H. und SHERMAN F. G.: The incorporation of H³-cytidine into some viscera and skeletal muscle of young and old mice. J. Geront. 19, 294–300 (1964).
- Wulff V. J., Samis H. V. und Falzone J. A.: The metabolism of ribonucleic acid in young and old rodents, Advanc. geront. Res. 2, 37-76 (1967).
- Adresse des Autors: PD Dr. H.-P. von Hahn, Institut für experimentelle Gerontologie, Nonnenweg 7, 4000 Basel.