

Naukowe podglądanie starzenia



Czy wiedza, jaką obecnie zdobywamy w badaniach (głównie eksperymentalnych) o procesie starzenia, pozwoli nam odraczać starość, zapobiegać powstaniu fenotypu sekrecyjnego komórek starych, produkujących w nadmiarze białka odpowiedzi odpornościowej, które wywołują stany zapalne i są podłożem przedwczesnego starzenia? A może przyniesie nam nowe strategie geroprotekcyjne, leki senolityczne i senostatyczne wydłużające życie w zdrowiu? W rozmowie z Ewą Biernacką mówi o tym wybitny biogerontolog i biolog nowotworów prof. dr hab. n. med. Krzysztof Książek, dziekan Wydziału Nauk Medycznych Poznańskiej Akademii Medycznej Nauk Stosowanych im. Księcia Mieszka I

Medical Tribune: Co badają gerontologia, biogerontologia oraz immunogerontologia?

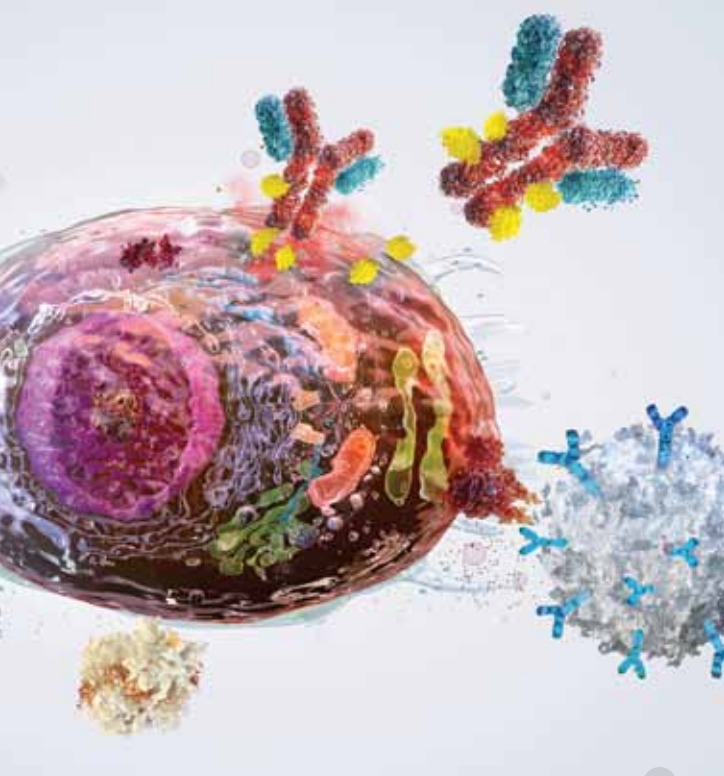
Prof. Krzysztof Książek: Nauka próbuje określić zakres naszej niewiedzy dotyczącej starzenia biologicznego i jego mechanizmów. Dotyczy to również starzenia rozumianego jako zaburzenie molekularne. W tym celu odtwarzane są na kolejnych modelach badawczych zjawiska już poznane. To oczywiście wnosi nowe informacje, ale nie wypełnia najważniejszej luki – powiązania obserwacji laboratoryjnych z procesami zachodzącymi in vivo, w organizmie. Stanowi to szeroką przestrzeń naukową do weryfikacji tezy, które dotąd w dużej mierze opierają się na spekulacjach. Tymczasem starzenie replikacyjne, które w latach 60. XX w. zaobserwował Leonard Hayflick, amerykański profesor anatomii, do dziś badamy głównie w warunkach laboratoryjnych, ponieważ zarówno obserwacja starzenia replikacyjnego, jak i tego wywołanego czynnikiem stresowym dla komórki, w warunkach naturalnych jest skrajnie trudna. Prowadzimy badania na gryzoniach i podejmujemy próby badań z udziałem ludzi, jednak zarówno względy etyczne, jak i brak odpowiednich technologii nie pozwalają na prześledzenie przebiegu starzenia w czasie rzeczywistym.

MT: Wiemy jednak dużo, np. to, że tkanki osób w podeszłym wieku bynajmniej nie są w całości zbudowane z komórek starych.

K.K.: Rzeczywiście, badania z początku XXI w. wykazały, że w próbkach tkanek pochodzących od starszych osobników, zwierząt i ludzi, udział komórek starzejących się stanowi jedynie 5-10% całkowitej masy komórkowej. Jednak, co potwierdziły również badania mojego zespołu, nawet tak niewielki odsetek istotnie wpływa na funkcjonowanie tkanki. Komórki stare dzięki wysokiej aktywności metabolicznej dominują nad metabolizmem komórek proliferujących, w efekcie nadając całej tkance lub narządowi cechy starzenia.

MT: Z niedawno opublikowanych wyników badań wynika, że postęp starzenia jest procesem aktywnie przekazywanym. Jego mechanizm polega na przenoszeniu przez krew zredukowanej formy białka HMGB1 (ReHMGB1), występującego w jądrach komórkowych, które zostaje uwolnione do krwiobiegu i rozprzestrzenienia proces starzenia się komórek w organizmie.

K.K.: Zjawisko to było również przedmiotem naszych badań, jednak z wykorzystaniem innego białka – transformującego czynnika wzrostu $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$). To białko wydzielnicze może indukować przyjmowanie fenotypu komórek starych przez komórki sąsiadujące, prowadząc do ich postarzenia (senescence



bystander effect). Mechanizmy rozprzestrzeniania się starzenia są złożone. Obejmują zarówno działanie czynników wydzielanych przez komórki, jak i bezpośredni kontakt komórki starej z komórką młodą, który również może indukować proces starzenia. W tym kontekście istotną rolę przypisuje się nanocząstkom, takim jak egzosomy, strukturom mniejszym od wirusów, wydzielanym przez komórki stare do środowiska zewnętrznego. Egzosomy mogą następnie przenikać do sąsiadujących komórek, wywołując określone efekty biologiczne, w tym indukcję starzenia.

MT: Jaka jest historia powstania głównych teorii starzenia?

K.K.: Do czasu odkryć Leonarda Hayflicka w latach 60. XX w., który wykazał, że komórki nie są nieśmiertelne, lecz mają ograniczoną liczbę podziałów (tzw. limit Hayflicka), po osiągnięciu której nieodwracalnie przestają się dzielić, choć nie ulegają śmierci, dominował paradygmat wywodzący się z prac francuskiego noblisty w dziedzinie fizjologii lub medycyny z 1912 r. Alexisa Carrela (od początku XX w. do 1946 r.) o nieśmiertelności komórek. W latach 90. XX w. badania nad starzeniem komórkowym zostały rozszerzone o zagadnienie telomerów. Hayflick opisał zjawisko wyczerpania replikacyjnego, czyli osiągnięcia przez komórkę stanu starzenia w wyniku kolejnych podziałów. Z kolei amerykańska biolog molekularna i noblistka Elizabeth Blackburn wraz ze współpracownikami wykazała, że podczas podziałów komórkowych dochodzi do stopniowego skracania telomerów oraz odkryła telomerazę – enzym zdolny do ich odbudowy. Chromosom jako złożona struktura o silnie skondensowanym DNA ma na końcach swoich ramion telomery – odcinki niekodujące białek, pełniące funkcję ochronną, które zapobiegają łączeniu się końców chromosomów, co mogłoby prowadzić do potencjalnie letalnych mutacji. Telomery zbudowane są z powtarzającej się sekwencji nukleotydów TTAGGG (tymina–tymina–adenina–guanina–guanina–guanina), która ulega skracaniu z każdym kolejnym podziałem komórki. W zależności od typu komórki telomery osiągają długość progową 30-40% długości wyjściowej.

Osiągnięcie tego progu aktywuje mechanizmy komórkowe chroniące materiał genetyczny przed dalszą utratą sekwencji kodujących. W efekcie dochodzi do nieodwracalnego zatrzymania podziałów i przejścia komórki w stan starzenia, określane jako starzenie replikacyjne.

MT: Wiedza i zrozumienie procesu starzenia ewoluują. Czy starzenie komórkowe nadal uchodzi za tożsame ze starzeniem organizmu?

K.K.: Dzisiaj już nie jest utożsamiane ze starzeniem organizmu, ale raczej, i ten pogląd podzielam, jest traktowane jako proces regulacyjny w organizmie niezwiązany z wiekiem. W pewnej publikacji opisano zidentyfikowanie komórek starych w łożysku, czyli strukturze maczyno-płodowej. Istnieje nawet hipoteza, że komórki stare, gromadzące się w błonach owodniowych, poprzez nadprodukcję konkretnych cytokin prozapalnych mogą być powodem stopniowej degradacji struktury błon, a przejściowy stan zapalny, który się wówczas wytwarza, może być właściwym bodźcem do rozpoczęcia akcji porodowej. Generalnie można więc powiedzieć, że starzenie komórkowe towarzyszy nam od urodzenia do śmierci.

MT: Jak się starzeją komórki?

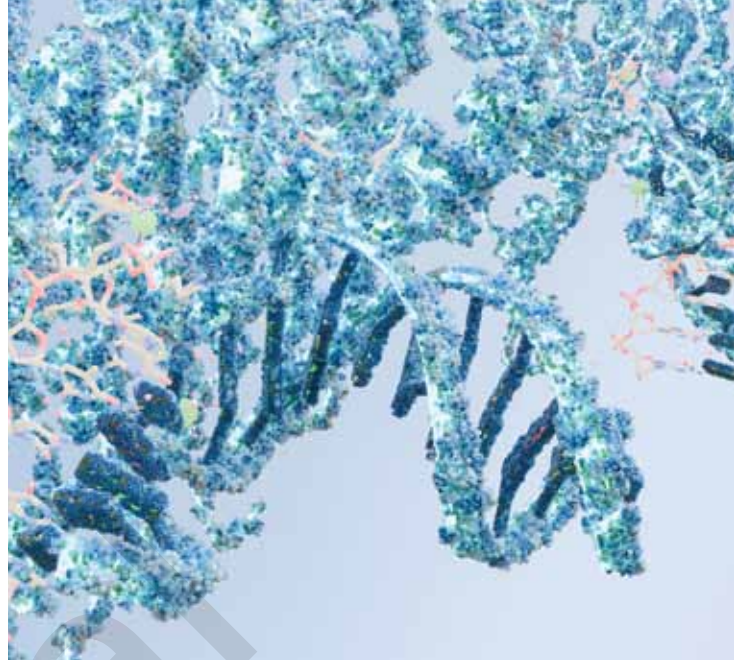
K.K.: Niektóre komórki starzeją się w sposób zależny od telomerów, inne – niezależnie od ich długości. Pierwszy mechanizm został opisany przez Hayflicka, drugi zidentyfikowano po kolejnych 40 latach badań, wykazując szczególną podatność niektórych komórek na endo- i egzogenne stresory uszkodzające DNA. Do czynników tych należą m.in. reaktywne formy tlenu (stres oksydacyjny), procesy chorobowe, leki (zwłaszcza cytostatyki) oraz bodźce fizyczne, takie jak promieniowanie jonizujące bądź ultradźwięki. Komórka wrażliwa na tego typu czynniki może wejść w stan starzenia już po kilku podziałach. Warto podkreślić, że także klasyczne starzenie telomerozależne (replikacyjne) wykazuje zróżnicowaną dynamikę, nawet w obrębie komórek tego samego typu, lecz o różnym pochodzeniu. Przykładem są fibroblasty – komórki tkanki łącznej – które różnią się zdolnością proliferacyjną w zależności od lokalizacji: fibroblasty płucne dzielą się ok. 50 razy, skórne ok. 100 razy. Badane przez mój zespół komórki mezotelium otrzewnowego starzeją się już po maksymalnie 10 podziałach. Od początku charakteryzują się one krótkimi telomerami, które szybko ulegają skracaniu ze względu na wysoką podatność na bodźce zewnętrzne. Różne są również mechanizmy efektorowe zatrzymania cyklu komórkowego. W starzeniu zależnym od telomerów kluczową rolę odgrywają białka p53 i p21. Natomiast w przypadku przedwczesnego starzenia indukowanego stresem (SIPS – stress-induced premature senescence) dominującą rolę odgrywa inhibitor cyklu komórkowego p16.

MT: Kiedyś sądzono, że nie starzeją się komórki macierzyste i nowotworowe. →

K.K.: Embrionalne komórki macierzyste, powstające na etapie rozwoju zarodkowego (blastocysty), nie ulegają starzeniu. Odmienne zachowują się mezenchymalne komórki macierzyste obecne w tkankach osób dorosłych, m.in. w szpiku kostnym i tkance tłuszczowej – podlegają one procesom starzenia podobnie jak inne komórki somatyczne. Z kolei komórki nowotworowe mogą ulegać starzeniu zarówno w mechanizmie replikacyjnym, jak i przedwczesnym, indukowanym działaniem czynników stresowych. Należy podkreślić, że w ujęciu biologii komórki starzenie nie oznacza samego procesu dochodzenia do momentu zaprzestania podziałów. Starzenie definiuje się jako stan rozwijający się po utracie zdolności proliferacyjnej, związany z postępującą deterioracją struktury i funkcji komórki oraz jej oddziaływaniem na otoczenie komórkowe. Jedną z najlepiej ugruntowanych koncepcji łączących starzenie komórkowe z ewolucją człowieka jest rola tego procesu w rozwoju chorób nowotworowych. Gdy komórka przestaje się dzielić, czyli wchodzi w stan starzenia, traci zdolność do transformacji nowotworowej. Zjawisko to wyjaśnia m.in. teoria antagonistycznej plejotropii, zgodnie z którą ta sama cecha lub proces może wywierać korzystny wpływ w młodym organizmie, a niekorzystny w wieku podeszłym. Starzenie komórkowe stanowi tego dobry przykład – w młodych organizmach, gdzie dominują komórki zdolne do podziału, proces ten pełni funkcję ochronną, eliminując z puli proliferacyjnej komórki z uszkodzonym DNA, potencjalnie onkogenne, i tym samym zmniejszając ryzyko rozwoju nowotworu. Jednak wraz z wiekiem dochodzi do kumulacji komórek starzejących się, co prowadzi do zwiększonej produkcji licznych czynników sprzyjających rozwojowi chorób nowotworowych.

MT: Jak często komórki się dzielą, wyczerpując przypisany im limit podziałów?

K.K.: Większość komórek organizmu pozostaje w fazie bezpodziałowej G₀, dlatego istotniejszym mechanizmem starzenia wydaje się starzenie indukowane stresem. Gdyby proces ten zależał wyłącznie od liczby podziałów komórkowych, wszystkie narządy starzałyby się w podobnym tempie. W rzeczywistości obserwuje się znaczne różnice w dynamice starzenia zarówno między poszczególnymi osobami, jak i tkankami, co wskazuje na dominującą rolę starzenia przedwczesnego, wywoływanego działaniem stresorów, takich jak leki, choroby (prowadzące do zmian mikrośrodowiska, produkcji cytokin i czynników wzrostu), używki, toksyny środowiskowe bądź promieniowanie. Zgodnie z tą koncepcją przeciętna komórka *in vivo* pozostaje w stanie spoczynku, podejmując podziały jedynie w sytuacjach wymagających regeneracji tkanki. Natomiast działanie stresorów prowadzi do nagłych uszkodzeń, rozwoju stanu zapalnego i w konsekwencji do wejścia komórek w stan starzenia już po niewielkiej liczbie podziałów. Co istotne, komórki starzejące się nie ulegają eliminacji, lecz utrzymują się w organizmie, co stanowi cechę charakterystyczną większości typów komórek



starczych, niezależnie od mechanizmu ich powstawania. Komórki stare wykazują wysoką aktywność metaboliczną oraz nasilone właściwości wydzielnicze, określane jako fenotyp wydzielniczy związany ze starzeniem (SASP – senescence-associated secretory phenotype). Szacuje się, że w komórkach tych zwiększonej ekspresji ulega nawet 30-40% genów, co prowadzi do nadprodukcji licznych białek o zróżnicowanym działaniu biologicznym. W zależności od kontekstu mogą one wywierać zarówno efekty korzystne, jak i niekorzystne – m.in. poprzez wydzielanie czynników prozapalnych oraz immunosupresyjnych, modulujących przebieg odpowiedzi zapalnej. Z jednej strony komórki starzejące się mogą wspierać procesy regeneracyjne, produkując zwiększone ilości kolagenu i elastyny, co sprzyja gojeniu ran i przebudowie tkanek, choć jednocześnie nasila proces bliznowacenia. Z drugiej strony ich aktywność wydzielnicza obejmuje również czynniki angiogenne oraz enzymy remodelujące macierz pozakomórkową. Szczególne znaczenie mają tu metaloproteiny (np. kolagenazy), które poprzez degradację struktur łącznotkankowych ułatwiają migrację i inwazję komórek nowotworowych. W efekcie komórki stare mogą sprzyjać progresji nowotworu, modulując mikrośrodowisko tkankowe w sposób wspierający rozwój zmian pierwotnych oraz powstawanie przerzutów.

MT: Czynniki wydzielane przez komórki stare ze skutkiem negatywnym dla organizmu, a pozytywnym dla komórek nowotworowych należą do obrazu fenotypu sekrecyjnego związanego ze starzeniem SASP.

K.K.: Jego obecność potwierdzono w wielu typach nowotworów, m.in. raka piersi i prostaty. Mój zespół także prowadził wieloaspektowe analizy zależności między komórkami starzejącymi się a rakiem jajnika – w warunkach *in vitro*, w modelach zwierzęcych i w badaniach materiału tkankowego pochodzącego od pacjentek. Wykazaliśmy m.in. istnienie związku przyczynowo-skutkowego, obejmującego nasilenie wewnątrztrzewnowej progresji choroby nowotworowej pod wpływem komórek starych. Ponadto eksperymentalne odmłodzenie tych komórek, uzyskane poprzez zahamowanie aktywności określonego białka z grupy kinaz, prowadziło do istotnego osłabienia ich działania pronowotworowego.

MT: Epigenetyka odkryła zmiany pewnych cech zależne od stopnia chemicznej obróbki genu, najczęściej metylacji pewnych jego sekwencji, powodującej korektę jego działania, co ma także udział w starzeniu. Czy w związku z tym powstała epigenetyczna teoria starzenia?

K.K.: Epigenetyka, wykorzystując metody biologii molekularnej, śledzi procesy prowadzące od ekspresji mRNA, poprzez kolejne etapy regulacji genetycznej i przemiany kwasów nukleinowych, aż do syntezy białek warunkujących cechy organizmu. W kontekście starzenia komórkowego szczególne znaczenie przypisuje się zjawiskom hiper- i hipometylacji. Precyzyjnie rzecz ujmując: obserwuje się zróżnicowany stopień metylacji genów – niektóre ulegają nasilonej metylacji, inne zaś pozostają względnie słabo zmodyfikowane. Hipermetylacja dotyczy zwłaszcza genów związanych z proliferacją komórkową, prowadząc do obniżenia ich ekspresji i stopniowego wyciszania. W konsekwencji komórki starzejące się tracą zdolność do ponownego wejścia w cykl podziałowy. Zjawisko to obejmuje również komórki macierzyste, które wraz z wiekiem wykazują ograniczoną zdolność regeneracyjną.

Istnieje koncepcja epigenetycznej teorii starzenia, jednak jej znaczenie pozostaje obecnie mniejsze w porównaniu z klasycznymi teoriami, takimi jak teoria wyczerpania replikacyjnego, stresu oksydacyjnego bądź wpływu czynników stresowych.

MT: Dzięki pracom pana zespołu nadciśnienie dołączyło do spektrum chorób związanych z procesem starzenia komórkowego i z nowotworami.

K.K.: Istotnie, w naszych badaniach wykazaliśmy istnienie takich zależności. Udowodniliśmy, że nadciśnienie tętnicze modyfikuje właściwości biochemiczne surowicy krwi, która oddziałując na komórki śródbłonna naczyniowego indukuje w nich cechy starzenia. Następnie scharakteryzowaliśmy mechanizmy tego procesu, wykazując, w jaki sposób starzejące się komórki śródbłonna przyjmują fenotyp pronowotworowy oraz jak wspierają poszczególne etapy onkogenezy w różnych typach nowotworów. Przeanalizowaliśmy również bezpośredni wpływ surowicy osób z nadciśnieniem tętniczym na komórki nowotworowe, z pominięciem udziału śródbłonna. Uzyskane wyniki wskazały, że zmienione właściwości biochemiczne tej surowicy sprzyjają rozwojowi komórek nowotworowych w większym stopniu niż surowica pochodząca od osób zdrowych. Co istotne, zastosowanie jednego z trzech badanych leków przeciwnadciśnieniowych prowadziło do zniesienia prostarzeniowego i pronowotworowego działania surowicy pacjentów z nadciśnieniem. Obserwowano również redukcję wybranych czynników odpowiedzialnych za indukcję starzenia komórek śródbłonna.

MT: Jako pole poszukiwań opcji terapeutycznych do chorób onkologicznych dołączyły schorzenia neurodegeneracyjne, związane z układem krążenia, ze zwyrodnieniem stawów, z układem odpornościowym.

SENOSTATYKI I SENOLITYKI

W obszarze senoterapii opisano już liczne mechanizmy opóźniania starzenia komórkowego, potwierdzone głównie w badaniach na modelach zwierzęcych. Wyróżnia się dwie podstawowe grupy związków: senostatyki oraz senolityki. Senostatyki działają poprzez ograniczanie niekorzystnych cech komórek starzejących się, przede wszystkim redukując ich fenotyp wydzielniczy. Senolityki wykazują radykalniejsze działanie, prowadząc do selektywnej eliminacji komórek starych. Badania na myszach wykazały, że niektóre związki mogą wybiórczo oddziaływać na komórki charakteryzujące się określonym profilem molekularnym, np. wysoką ekspresją białka p16, związanego z przedwczesnym starzeniem. Terapia ukierunkowana na komórki p16-dodatnie prowadziła do ich eliminacji z organizmu, co skutkowało odmłodzeniem tkanek oraz wydłużeniem życia zwierząt w porównaniu z grupą kontrolną. Senostatyki uznaje się za podejście bardziej zachowawcze niż senoliza. Obejmują one zarówno leki już stosowane klinicznie (np. metforminę), jak i związki eksperymentalne, takie jak kwercetyna oraz liczne syntetyczne związki – kandydatów na leki. Należy jednak podkreślić, że rozwój tej dziedziny wymaga dużej ostrożności i krytycznego podejścia. Interwencje w podstawowe mechanizmy biologii komórki rzadko mają wyłącznie jednokierunkowe skutki. Dobrym przykładem jest rewizja teorii wolnorodnikowej – początkowo zakładano, że eliminacja reaktywnych form tlenu przyniesie wyłącznie korzyści, tymczasem pełnią one istotne funkcje fizjologiczne. Nadmierna ingerencja w ich stężenie może zaburzać m.in. transport glukozy, przekąźnictwo sygnałowe, produkcję endogennych antyoksydantów bądź odpowiedź zapalną. Podobnie w przypadku senoterapii – choć perspektywa poprawy jakości i długości życia poprzez eliminację niekorzystnych aspektów starzenia jest realna, wdrażanie takich strategii powinno uwzględniać potencjalne działania niepożądane i długofalowe konsekwencje ingerencji w złożone procesy biologiczne.

K.K.: Senoterapia nie wynika wyłącznie z idei stworzenia leku odwracającego proces starzenia. Jej podstawą jest m.in. koncepcja, zgodnie z którą starzenie można traktować jako proces chorobowy, a nie nieuchronny element biologii człowieka. W świetle dostępnych danych naukowych można zakładać, że eliminacja komórek starzejących się z organizmu może stopniowo przekładać się na poprawę ogólnej kondycji zdrowotnej populacji poprzez ograniczenie negatywnych konsekwencji starzenia. Czy podejście to umożliwi znaczące wydłużenie życia (jak sugerują niektórzy badacze) nawet do kilkuset lat? Kierunek badań rzeczywiście wskazuje na potencjał w tym zakresie, jednak obecnie pozostaje to w sferze spekulacji i wizji o charakterze fantastyki naukowej. ● →

Starość jako efekt immunobiografii i biografii środowiskowej



O mechanizmach starzenia, w tym o inflammagingu, czyli związanym z wiekiem przedklinicznym stanie zapalnym będącym czynnikiem patogenezy chorób wieku późnego na skutek przewlekłej fizjologicznej stymulacji układu odpornościowego, oraz jego udziale w starzeniu w dziejach naszej immunobiografii i envirobiografii – mówi w rozmowie z Ewą Biernacką prof. dr hab. n. med. Jacek Witkowski, immunogerontolog z Zakładu Embriologii Wydziału Lekarskiego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Medical Tribune: Mechanizm wielu chorób, np. nowotworowych bądź neurodegeneracyjnych związanych z wiekiem, od dawna łączono ze stanem zapalnym. Na początku tego stulecia powstała koncepcja inflammagingu, którą bada m.in. pana zespół. Proszę wyjaśnić, co kryje się pod tym pojęciem i za tym zjawiskiem.

Prof. Jacek Witkowski: Z punktu widzenia ewolucji nie jest istotne, czy dany osobnik po okresie zdolności do rozrodu będzie żył jeszcze rok, czy 100 lat, zgodnie z potencjałem długości życia gatunku *Homo sapiens*. Zagadnieniem tym zajmuje się koncepcja tzw. inflammagingu, czyli zjawiska polegającego na przewlekłym, cichym stanie zapalnym o niskim nasileniu, który przyspiesza starzenie się organizmu. Autorem tego pojęcia jest włoski immunolog i biogerontolog prof. Claudio Franceschi. Naukowiec ten w 2000 r. przedstawił wnioski ze swoich badań nad obecnością w organizmach starzejących się osób tzw. mediatorów procesu zapalnego (głównie cytokin prozapalnych, interleukin: IL-1, IL-6 i in.), których obecność wskazuje na subkliniczny proces zapalny, nie wywołany przez żaden z czynników normalnie go powodujących, np. infekcję. Dopiero w 2025 r. dr Maximilien Franck z Centrum Badawczego ds. Starzenia się na Wydziale Medycyny i Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Sherbrooke w Kanadzie stwierdził, że omawiany stan nie dotyczy wszystkich starzejących się przedstawicieli *Homo sapiens*, niezależnie od miejsca zamieszkania, przynależności etnicznej itd. Przebadane przez jego zespół osoby ze szczepów Tsimane z boliwijskiej Amazonii i Orang Asli z Półwyspu Malajskiego nie miały chorób związanych z wiekiem ani cech inflammagingu. Zapalenie związane z wiekiem wydaje się zatem w dużej mierze produktem ubocznym industrialnego stylu życia, z dużymi różnicami między środowiskami i populacjami, jak stwierdził Franck.

Lud Tsimane, prócz odmienności genetycznych w stosunku do populacji industrialnych (uprzemysłowionych), różni znacznie mniejsze narażenie na zanieczyszczenie środowiska np. pyłami zawieszonymi, które po dostaniu się do organizmu prowokują nieswoistą odpowiedź immunologiczną, ponieważ ludzkie komórki żerne (monocyty, makrofagi, neutrofile) mają ewolucyjny obowiązek zabić napotkanego obcego (obce białka). Te obserwacje doprowadziły do koncepcji envirobiografii, współautorstwa wspomnianego Franceschiego, czyli historii kontaktów każdego organizmu z czynnikami środowiskowymi. Tyle że pyłu – w przeciwieństwie do bakterii albo wirusa – nie da się zabić, a kiedy zostaje on pochłonięty i sfagocytowany przez komórkę żerną, uruchamia w niej odpowiedź wrodzoną układu

odpornościowego, polegającą m.in. na produkcji cytokin prozapalnych. Ta odpowiedź nieswoista jest z jednej strony dobra, ale z drugiej – gdy jest nadmiarowa – zła, ponieważ prowadzi do powstawania towarzyszących starzeniu komórek senescentnych oraz ich fenotypu sekrecyjnego związanego ze starzeniem (SASP – senescence-associated secretory phenotype). Komórki o tym fenotypie powstają w organizmie niemal od urodzenia, ale z wiekiem ich przybywa. Bez względu na to, czy jest to komórka nerwowa, glejowa bądź makrofag itd., przestaje się dzielić, nabywa fenotyp SASP i zaczyna z siebie wyrzucać cytokiny prozapalne, będące jednym ze źródeł inflammagingu.



MT: Czy wiemy, dlaczego komórki wchodzą w senescencję?

J.W.: Wiemy, że komórka nienowotworowa może się podzielić skończoną, maksymalną liczbę razy i w sposób nieodwracalny przestaje proliferować (osiągając tym samym granicę Hayflicka), co w latach 60. XX w. wykazali naukowcy Leonard Hayflick i Paul Moorhead podczas hodowli fibroblastów z ludzkiej skóry. Potem odkryto powód: skracanie się telomerów – naturalny mechanizm zatrzymujący dzielenie się komórek wtedy, kiedy w istotny sposób zwiększa się ryzyko, że mogłyby się stać komórkami nowotworowymi.

MT: Jaki jest ciąg wydarzeń prowadzący do przedwczesnego starzenia?

J.W.: Z każdym podziałem komórkowym, także tym spowodowanym stresem komórkowym (infekcja, rana, choroba nieinfekcyjna itd.), komórka odpornościowa, np. limfocyt T, traci końcowe odcinki telomerów, które ulegają stopniowemu skróceniu. Po osiągnięciu limitu Hayflicka taki limfocyt, podobnie jak inne komórki, które ten limit osiągnęły, staje się komórką senescentną o fenotypie SASP, wytwarza cytokiny prozapalne, uczestniczące w wywołaniu stanu inflammagingu, czyli starzenia zapalnego, co staje się punktem wyjścia patogenezy chorób wieku podeszłego.

MT: Czyli to, że w ciągu życia komórki przechodzą liczne stresy, co wyczerpuje układ immunologiczny, który z nimi walczy, jest powodem starzenia?

J.W.: Poniekąd, m.in. dlatego wspomniany Claudio Franceschi wprowadził pojęcie immunobiografii, która jest dla każdego indywidualna. Każdy z nas bowiem w swoim życiu od urodzenia, a czasami jeszcze w życiu płodowym, spotkał się z różnymi czynnikami pobudzającymi układ odpornościowy. Nieustanna praca układu odpornościowego wyczerpuje jego zdolność odpowiedzi, zużywa bowiem np. kłony limfocytów, które mają receptory dla antygenów patogenów popularnych w danym środowisku (np. wirus grypy itp.). Wyczerpanie klonów limfocytów pobudzanych wielokrotnie w ciągu życia wprowadza je w stan senescencji, a ich odpowiedź na konkretny antygen jakiegoś patogenu zmniejsza się lub zanika.

MT: Co ze stanu immunosenescencji wynika dla organizmu? Gorsza obrona przed zagrożeniami, choroby wieku starszego?

J.W.: Konsekwencje dotyczą w szczególności odporności nabytej, czyli tej zależnej od różnych populacji limfocytów T, limfocytów B i komórek plazmatycznych, które z nich powstają, produkujących przeciwciała. Odpowiedź nabyta, limfocytna, jest ewolucyjnie młodsza (powstała później niż odpowiedź wrodzona) – komórki żerne (fagocyty) mają już, jak wykazał biolog Ilya Miecznikow (Nagroda Nobla 1908 r.), larwy rozwiazd, czyli organizmy bardzo wczesne ewolucyjnie. Długo jeszcze kolejne stadia rozwojowe biologii na Ziemi nie miały funkcjonalnych limfocytów. Odpowiedź nabyta wymaga znacznie większych zasobów energetycznych organizmu do zapewnienia skutecznej reakcji: np. w infekcji górnych dróg oddechowych, kiedy następuje kontakt z antygenami pochodzącymi z infekującego nas patogenu, te antygeny stymulują limfocyty, które intensywnie proliferują, powodując powiększenie migdałków i/lub lokalnych węzłów chłonnych. Początkowo nieliczne limfocyty, które rozpoznały różne antygeny patogenu, wytwarzają potężne, czasami miliardowe kłony komórek efektorowych w celu zneutralizowania go, a potem zapamiętania (pamięć odpornościowa). Wyprodukowanie w ciągu kilku dni od kontaktu z patogenem takiej liczby komórek jest ciężką pracą metaboliczną, wymagającą dużo energii. Po zlikwidowaniu patogenu migdałki bądź węzły chłonne zmniejszają się, a ta ogromna armia efektorowych komórek umiera w ciągu paru dni w procesie apoptozy. Każda infekcja w naszej immunobiografii uruchamia licznik podziałów możliwych klonów limfocytarnych, które wcześniej ileś razy już odpowiadały (reagowały na obecność patogenu), ileś razy się dzieliły, aż w końcu możliwość ich proliferacji się wyczerpuje.

MT: Jeszcze dekadę temu uważano, że osób w wieku podeszłym w ogóle nie warto szczepić, ponieważ ich odporność nabyta już się wyczerpała i nie zachodzi u nich skuteczna budowa odpornościowych przeciwciał. Jak to się ma do obecnego stanu wiedzy i jakie jest stanowisko w tej kwestii?

J.W.: Obserwowane u ludzi w wieku podeszłym wyczerpywanie się klonów limfocytów zdolnych do odpowiedzi na określone →

By mikrobiota wytwarzała z tego, co zjemy, potrzebne organizmowi substancje, musi być w tzw. stanie eubiozy. Chodzi o właściwe liczby i proporcje bytujących w niej gatunków i szczepów mikroorganizmów

antygeny dzięki posiadaniu odpowiednich receptorów dla antygeny, zwanych receptorami komórki T (TCR – T cell receptor), powoduje, że zdolność do reakcji na te same patogeny, np. na wirusa grypy, jest coraz słabsza. Wykazano jednak, że zwiększenie w szczepionce dawki antygeny lub zmiana adiuwantu na silniej pobudzający odporność wrodzoną bądź zastosowanie obu tych strategii w celu uzyskania skuteczności pozwala u osób starszych na wybudowanie odporności humoralnej (produkcję przeciwciał), podobnie jak u osób młodych (a także wystarczającej odporności komórkowej). Wypracowano więc m.in. szczepionki przeciw pneumokokowe, przeciw wirusowi grypy bądź półpaśca, zapewniające ochronę tej populacji w przypadku infekcji.

MT: Szczepienia wymienia się wśród udowodnionych metod zapobiegania/zmniejszania senescencji, po lekach przeciwwirusowych, senolitykach, leczeniu komórkami macierzystymi itd.

J.W.: Z wiekiem równowaga między dwiema gałęziami układu odpornościowego przesuwana się w kierunku układu odporności wrodzonej, także z powodu wyczerpywania się odporności nabytej. Gdyby ona się wyczerpywała, a odporność wrodzona tego by nie kompensowała, nigdy byśmy nie dożyli późnej starości. Tymczasem wykazano, że 100-latkowie mają świetne mechanizmy przeciwzapalne, które niejako kierują odpowiedź wrodzoną konkretnie przeciw patogenom, kontrolując natężenie procesu zapalnego. Odpowiedź przeciwzapalna pochodzi m.in. z limfocytów T-regulatorowych o różnym przeznaczeniu. Pierwszy typ, zarazem pierwsze zabezpieczenie występujące jeszcze w grasicy, rozpoznaje i prowadzi do zablokowania i ostatecznie do wymarcia tych klonów limfocytów T, które mogłyby atakować autoimmunologicznie własne komórki, własne autoantygeny. Właśnie komórki T-regulatorowe, gdy kończy się intensywna (na ogół skuteczna) odpowiedź na atak jakiegoś patogenu, dają limfocytom sygnał do apoptozy. Wymuszają na nich programowaną śmierć z użyciem antygenów punktów kontrolnych (checkpoints antigens) – molekuł na komórkach regulatorowych, które łączą się z odpowiednimi cząsteczkami receptorowymi na limfocytach efektorowych.

MT: Podobno z wiekiem grasicca zanika.

J.W.: Jako narząd limfatyczny z wiekiem rzeczywiście przestaje ona istnieć, ale pozostaje jej część nielimfatyczna, w której pewne komórki produkują różnego rodzaju czynniki stymulujące układ odpornościowy (hormony grasiczne), podtrzymując produkcję

limfocytów naiwnych. Dzięki temu nawet 100-latek jest zdolny odpowiedzieć na nowy antygen, np. na nowy wariant wirusa grypy itp. Gdyby tej odpowiedzi nie było, to zachorowanie na grypę przez osobę w podeszłym wieku zawsze kończyłoby się śmiercią, a tak nie jest. Obrona immunologiczna u takich osób potrzebuje tylko intensywniejszej stymulacji i więcej czasu.

MT: Biogerontolodzy i immunogerontolodzy twierdzą, że mechanizmy, które zachodzą w trakcie starzenia biologicznego, są adaptacyjne i mają nas utrzymać w zdrowiu dłużej. Podobno są też dwie strony medalu – proces starzenia idzie w złą stronę, ale ma również dobre strony. Jakże?

J.W.: Na skutek immunosenescencji i ogólnej senescencji komórkowej powstaje coraz więcej cytokin prozapalnych, co docelowo sprzyja powstawaniu przewlekłych chorób zapalnych, poczynając od miażdżycy, poprzez cukrzycę typu 2, przewlekłe choroby reumatyczne typu zapalnego, aż do chorób neurodegeneracyjnych, także o podłożu zapalnym. Czyli do pewnego momentu immunosenescencja i inflammaging są „pożyteczne” i ich wzajemne działania są formą adaptacji starzejącego się układu odpornościowego do wyzwań bogatego w patogeny środowiska. Ale po jakimś czasie u większości z nas immunosenescencja plus senescencja ogólna zaczynają mocno przeważać i wtedy popadamy w przewlekłe choroby zapalne, które docelowo na ogół nas zabijają.

MT: Czy w inflammagingu jako podłożu chorób wieku podeszłego mają udział mechanizmy epigenetyczne?

J.W.: Z pewnością, i zależą one od osobniczej historii. Im mniej chorób zaszło w organizmie (czyli czym uboższa immunobiografia, ale też wspomniana wyżej enviobiografia danej osoby), tym proces starzenia jest powolniejszy. Układ odpornościowy ma u tych osób większe zasoby, co pozwala na dłuższe życie.

MT: Poza epigenetyką, w badaniach nad starzeniem zaangażowani są specjaliści od mikrobioty jelitowej, która ma z immunologią wiele wspólnego.

J.W.: By mikrobiota wytwarzała z tego, co zjemy, potrzebne organizmowi substancje, musi być w tzw. stanie eubiozy (chodzi o właściwe liczby i proporcje bytujących w niej gatunków i szczepów mikroorganizmów). Mikrobiota eubiotyczna promuje wytwarzanie komórek regulatorowych spośród limfocytów T i B, komórek szpikowych (mieloidalne komórki regulatorowe i supresorowe), zaś dysbiotyczna promuje stan zapalny. Skoro tak, to



może powinniśmy leczyć dysbiozę? Od kilkunastu lat trwa Projekt Ludzkiego Mikrobiomu (Human Microbiome Project, analogiczny do projektu ludzkiego genomu – Human Genome Project), którego celem jest skatalogowanie ilościowe składu prawidłowej mikrobioty. Opracowano już kapsułki zawierające taką prawidłową mikrobiotę. Poprzedziły to udane próby z przeszczepianiem kału od zdrowych osób, oparte na założeniu, że będzie on zawierał mikrobiotę eubiotyczną, skutecznie stosowaną w leczeniu biegunk będących konsekwencją infekcji bakterią *Clostridium difficile*.

MT: Zapalenie to jeden z siedmiu ewolucyjnie zachowanych filarów starzenia się wspólnych dla chorób związanych z wiekiem, w tym metabolicznych. O jakie filary chodzi?

J.W.: Są to m.in. zdolność do naprawy DNA i do replikacji komórkowej, prawidłowa sygnalizacja wewnątrz- i międzykomórkowa, właściwe interakcje między komórką a dostarczaniem jej pożywieniem. Znając te zasady, ustalono m.in. funkcję białka mTOR. Rapamycyna (syrolimus), antybiotyk, uderza właśnie w mTOR i jest w tej chwili jednym z odkryć w dziedzinie przeciwdziałania starzeniu (senolitykiem). Pod tym kątem badano (i udowodniono korzystne działanie senolityczne) także wykazujący podobne działanie antybiotyk everolimus oraz m.in. powszechnie obecną w wielu owocach i warzywach kwercetynę. A w opóźnieniu procesu starzenia ustalono pozytywną rolę regularnej aktywności fizycznej, metforminy, rekombinowanego ludzkiego hormonu wzrostu i dehydroepiandrosteronu, czyli DHEA. Jednak nie można ich bezkrytycznie stosować w dużych dawkach, bo to się może źle skończyć.

MT: Podobno na przykładzie badań mechanizmu chorób związanych z wiekiem, m.in. neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, dobrze widać rolę naszej immunobiografii.

J.W.: Doktor Alzheimer w mózgach chorych zidentyfikował post mortem i pierwszy opisał blaszki zbudowane z β -amyloidu. Uważał, że zapalenie, które one mogą wywoływać, ostatecznie uszkadza mózg. Wiele lat później dzięki neuroobrazowaniu żywego mózgu okazało się, że te blaszki są obecne nie tylko w mózgach osób z objawami choroby Alzheimera, ale też u ludzi zdrowych w starszym wieku. I powstało pytanie: skoro wiemy, że do powstania β -amyloidu potrzeba działania dwóch enzymów, które muszą go wyciąć z cząsteczki prekursorowego białka

(APP – amyloid precursor protein) w błonie neuronu, to po co ewolucja wytworzyła enzymy, które docelowo mają nam zniszczyć układ nerwowy przez swój produkt, tenże β -amyloid? To byłoby niemożliwe z punktu widzenia jej mechanizmów, zaprzeczaloby nadrzędnej zasadzie ewolucji – promowania mechanizmów sprzyjających przetrwaniu. I okazało się, że β -amyloid jest potrzebny. Zbadala go m.in. międzynarodowa grupa, w której jako immunogerontolog pracuję.

β -amyloid jest peptydem przeciwpatogenowym, produkowanym przez neurony i przez glej w odpowiedzi na pojawienie się w mózgu np. wirusa opryszczki, półpaśca lub bakterii. Powoduje zlepianie się cząstek patogenu, dzięki czemu uniemożliwia mu przemieszczanie się i infekowanie kolejnych komórek nerwowych. Jest w tym haczyk, rodem z naszej immunobiografii i biografii jako takiej. Jeśli takich kontaktów z patogenami zdolnymi atakować układ nerwowy było w naszym życiu dużo, to β -amyloidu w mózgu przybywało. A on niestety stymuluje mikroglej, czyli rezydujące w mózgu komórki żerne. A jak mikroglej fagocytuje β -amyloid, to oczywiście wydziela czynniki prozapalne – i tak koło się zamyka.

Wspomniana grupa badawcza kilka lat temu opublikowała pracę poglądową, w której wskazała, co może opóźnić, ograniczyć, a nawet nie dopuścić do neurodegeneracji typu alzheimerowskiego. Pierwszą z takich aktywności powinno być likwidowanie wszelkich infekcji, bo każda z nich na obwodzie wywołuje odczyn zapalny, a ten m.in. rozszczelnia barierę krew–mózg, umożliwiając łatwiejsze wnikanie do mózgu patogenów (i samych cytokin prozapalnych pochodzących spoza mózgu), w ten sposób otwierając drogę patogenom. Ważne jest zatem zapobieganie infekcjom za pomocą szczepień przeciw czemu tylko można, żeby układ odpornościowy był przygotowany i żeby nie była konieczna odpowiedź z użyciem β -amyloidu. Poza tym eliminowanie komórek senescentnych, które dostarczają cytokin prozapalnych, stając się ogniwem reakcji prowadzącej do neurodegeneracji alzheimerowskiej. Możemy w tym celu zastosować wspomnianą kwercetynę i kilka innych senolityków, które eliminują w miarę bezpieczny sposób komórki senescentne. Stosujemy też eubiotyzację mikrobioty. Skoro bowiem ta dysbiotyczna jest prozapalna, to przywrócenie jej do stanu eubiozy nada jej właściwości przeciwzapalne.

MT: Czy można usuwać komórki senescentne?

J.W.: Jako pierwsza odkrywczyni komórek senescentnych prof. Judith Campisi, amerykańska biochemik i biolog komórkowy badająca procesy starzenia się, wykazała w warunkach doświadczalnych u myszy oraz u innych organizmów żywych, że senescentne komórki można eliminować za pomocą różnych czynników, takich jak wspomniane rapamycyna i kwercetyna, a także metformina – lista senolityków się wydłuża. Eliminacja starych komórek wyklucza jeden z procesów prowadzących do przewlekłego zapalenia, grożącego chronicznymi chorobami zapalnymi – inflammaging. I to jest bardzo dobra wiadomość. ●