



Warum und wie wir altern – Grundlagen, Forschung und Routinelabor

Referent: Michael Walter

Gliederung

- Definition von Altern und zellulärer Seneszenz
- Theorien zum Alterungsprozess und zur Entstehung altersabhängiger Erkrankungen
- Immortalisierung mit Telomerase als Werkzeug zur Charakterisierung des Alterns und altersabhängiger Erkrankungen:
 - Familiärer HDL-Mangel (Tangier-Krankheit)
 - Hutchinson-Gilford-Progerie
- Biomarker für Alterungsprozesse und chronische Krankheiten, Studien an der UMR

Altern des Organismus



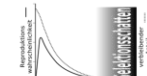
- (Nicht reversibler Prozess)
- Begleitet von einer Abnahme der Anpassungsfähigkeit und Belastbarkeit
- Betrifft die meisten Organismen
- Endet mit dem Tod
- Physiologischer Prozess
- (Keine Krankheit)
- Wichtiger Risikofaktor für chronische (Alters)-Krankheiten*

* Arteriosklerose, Altersdiabetes, Krebs, chron. Lungenerkrankungen, Autoimmunerkrankungen.....

Theorien des Alterns

Es gibt heute mehr als 300 verschiedene Theorien zum Altern, aber keine davon ist in der Lage, das Altern alleine zu erklären.

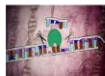
- Evolutionstheorien (Warum altern wir?)
- Schadenstheorien (Wie altern wir?)



Mangelnder Selektionsdruck



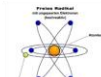
Genetik



Replikatives Altern



Verschleißtheorie

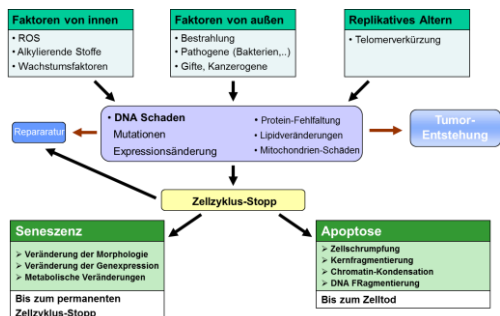


Sauerstoff-Radikale (ROS)

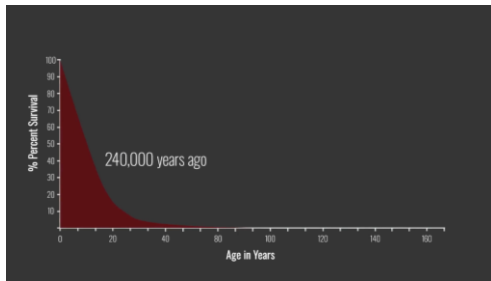


Replikatives Altern

Altern auf zellulärer Ebene



Früher....

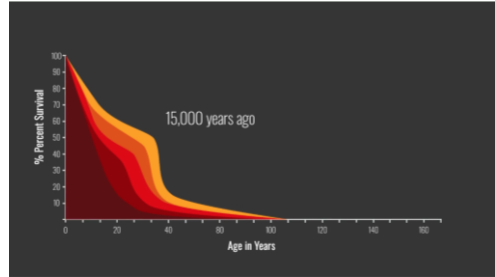


Longevity film competition, first prize 2018
(sens research foundation, international longevity alliance, Heales)

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Früher....

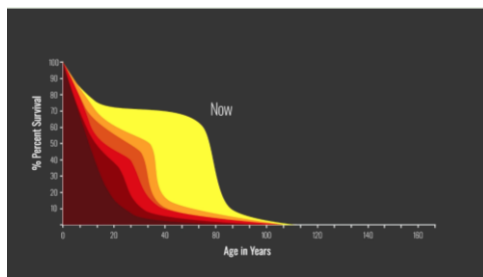


Longevity film competition, first prize 2018
(sens research foundation, international longevity alliance, Heales)

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Heute....

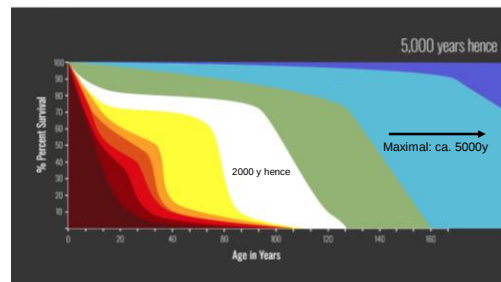


Longevity film competition, first prize 2018
(sens research foundation, international longevity alliance, Heales)

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

In Zukunft....



Longevity film competition, first prize 2018
(sens research foundation, international longevity alliance, Heales)

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Altern und Evolution



August Weismann
(1834-1914)



Peter Brian Medawar
(1915-1987)

Altern ist **programmiert**:
....zum Vorteil der Gesamt-Population

Altern ist **nicht programmiert**:
...sondern Verschleiß als Folge von
Selektion nur für die reproduktive
Phase

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

„Non-Programmed Aging Theory“



Reproduktive Phase:

- Eng gekoppelt mit Gesamtlebensspanne
- Unterschiedlich lang je nach Selektionsdruck und Todesrate durch äußere Einflüsse
- Je länger, desto komplexere Anti-Aging Mechanismen entwickeln sich durch Selektion
- Zeit muss begrenzt sein zur Vermeidung von Keimbahnmutationen!

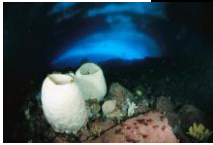
↓
Homöostase

- Kein Selektionsdruck mehr nach reproduktiver Phase
- Zunehmender Verschleiß und Tod

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Grönlandhai
Alter: bis 400 Jahre



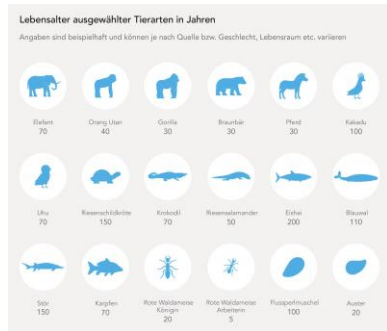
Anoxycalyx joubini
Alter: bis 10.000 Jahre



Eintagsfliegen
Alter: Minuten bis 4 Tage

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock



Max-Planck-Institut für demografische Forschung in Rostock: DATLife: <https://datlife.org/>
Deutsches Institut für Altersvorsorge

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Altern: nur ein technisches Problem mit einer technischen Lösung?



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Altern: nur ein technisches Problem mit einer technischen Lösung?

Damage type	The maintenance approach
Cell loss, cell atrophy	Replace, using stem cells
Division-obsessed cells	Reinforce, using telomere control
Death-resistant cells	Remove, using suicide genes etc
Mitochondrial mutations	Reinforce, using backup copies
Intracellular waste products	Remove, using foreign enzymes
Extracellular waste products	Remove, using immune system
Extracellular matrix stiffening	Repair, using crosslink-breakers

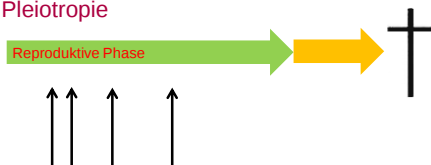
Aubrey de Grey, sens foundation



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Non-Programmed Aging Theory: Antagonistische Pleiotropie

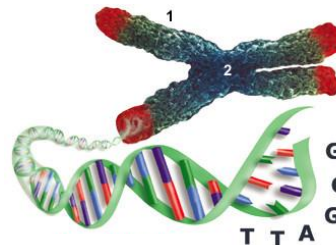


- Oft Gene/Proteine mit mehrere Funktionen (Pleiotropie).
- In jungen Jahren oder für Wachstum vorteilhaft, später oder in anderem Kontext ggf. schädlich
- Beispiele sind Sexualhormone, Tumor-Suppressor (p53), **Telomerverkürzung**, „inflammaging“, Dietary restriction (DR) pathways etc...

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Telomere



Telomere sind sich wiederholende Abschnitte der Erbsubstanz (DNA) am Ende der Chromosomen. Sie haben beim Menschen bei der Geburt die Sequenz TTAGGG ca. 1700x. Sie dienen als Start-Sequenz bei der Zellteilung, werden aber bei der Zellteilung nicht komplett erneuert.

Ab ca. 700x TTAGGG-Sequenzen kann sich die Zelle nicht mehr teilen.

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Theorien des Alterns: Replikatives Altern



Replikatives Altern wird durch Telomer-Verkürzung ausgelöst: „DNA Damage Response“ bei stark verkürzten Telomeren führt zu Zellzyklus-Arrest.

Replikatives Altern ist vermutlich ein Tumor-Schutz-Mechanismus bei großen, langlebigen Organismen.

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Seneszenz

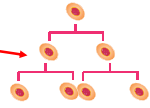
Lat. senescere = alt werden, altern

Als Seneszenz bezeichnet man das biologische Phänomen, dass die meisten Zellen von Wirbeltieren nach einer bestimmten Zahl von Zellteilungen (Mitosen) in der Zellkultur ihr Wachstum einstellen.

Seneszenz: Stopp der Zellteilung

Apoptose: Programmierter Zelltod

Quieszenz: Ruhezustand der Zellen (G0)



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

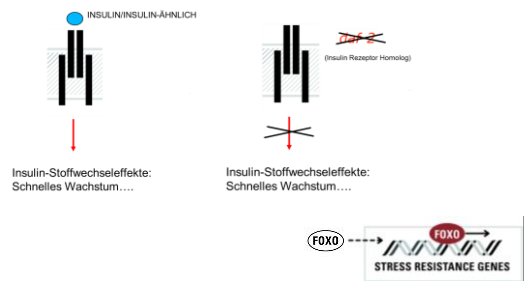
Modell

- Seneszenz – induziert durch Telomerverkürzung – wirkt als Tumor-Suppressor in großen, langlebigen Organismen
- Im Alter werden negative Effekte sichtbar (senescente Zellen sind funktions-eingeschränkt und genetisch instabil).

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type*

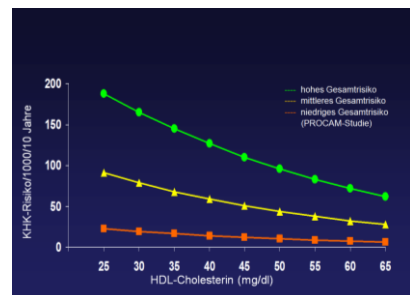


Nature 1993; C Kenyon et al. 366:461-4.

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Niedriges HDL ein sehr prädiktiver Risiko-Indikator



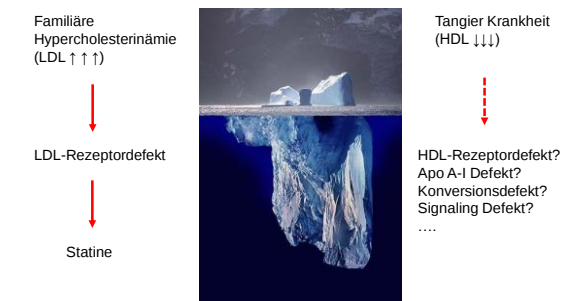
Wie bin ich zum Altern gekommen?

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

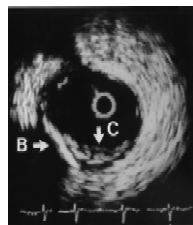
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock



„The history of Tangier disease research is full of seemingly plausible hypotheses for the genetic defect, which soon proved to be false or, at the very least, not causally related to the disease...”. Nofer et al. Cell Mol Life Sci 2005 ;62:2150-60.

Tangier-Krankheit

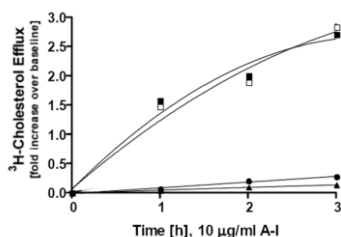


B/C: kazifizierte/weiche Plaque
Walter et al. Atherosclerosis 1994;110:203-209

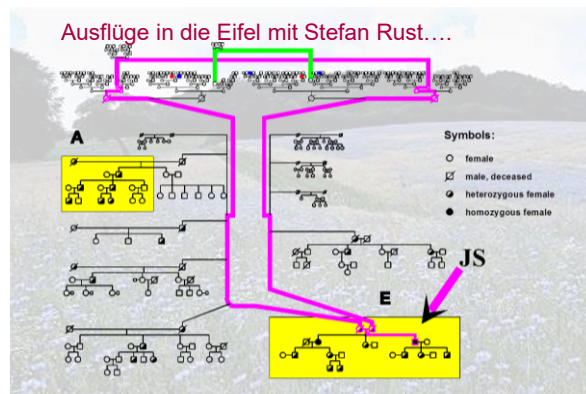


HDL ~ 0-2 mg/dl bei Homozygotie
HDL ~ 25 mg/dl bei Heterozygotie

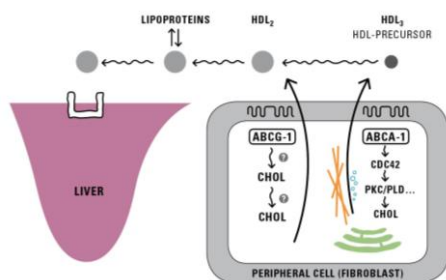
The high density lipoprotein- and apolipoprotein A-I-induced mobilization of cellular cholesterol is impaired in fibroblasts from Tangier disease subjects. Defekter Cholesterin-Efflux*



* Walter M, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1994; 205:850-6.
Walter M, et al. J Clin Invest. 1996;98:2315-23.

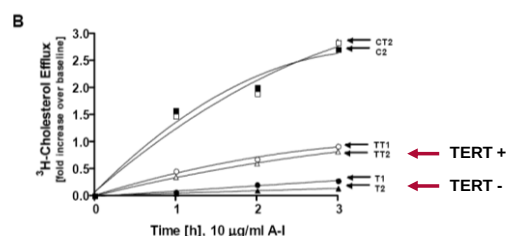


ABCA1 ist defekt bei Tangier Patienten



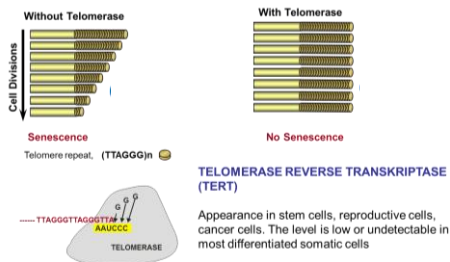
Rust S, et al. Nat Genet. 1998;20:96-8; Rust S, et al. Nat Genet. 1999;22:352-5; Bodzioch M, et al. Nat Genet. 1999;22:347-51; Brooks-Wilson A, et al. Nat Genet. 1999;22:336-45.

Defekter Cholesterin-Efflux: Partielle Reparatur mit Telomerase



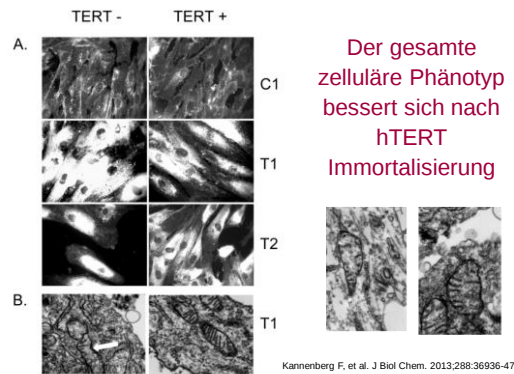
Walter M, et al. J Biol Chem. 2004; 279:20866-73.

Arbeitsweise der Telomerase



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Altersabhängige HDL-Reduktion

Wie stabilisiert die Telomerase den HDL-Stoffwechsel und den zellulären Phänotyp?

- HDL-Cholesterinreduktion um etwa 1%/Jahr*
- KHK-Risikozunahme um 2 bis 3%/Jahr*
(ermittelt an 58 bis 96-jährigen Männern und Frauen)

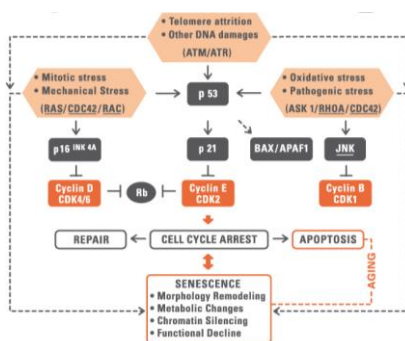
* Ferrara et al. The Rancho Bernardo Study 1984-1994. Circulation 1997;96:37;
Walter M. Interrelationships among HDL metabolism, aging and atherosclerosis. ATVB 2009;29:1244-1250

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

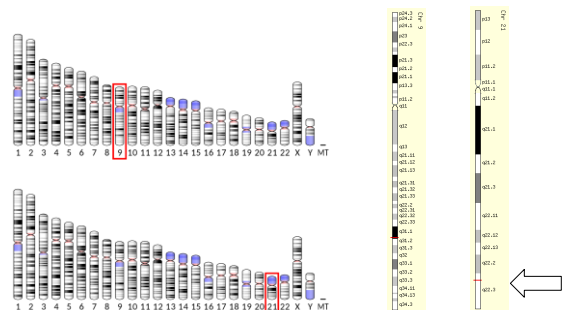


Walter M. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2009;29:1244-1250

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

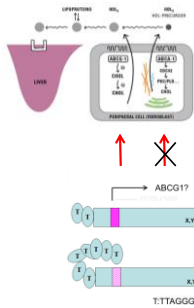
Chromosomale Lokalisation von ABCA1 und ABCG1



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

ABCG1 ein TPE-OLD* Gen?

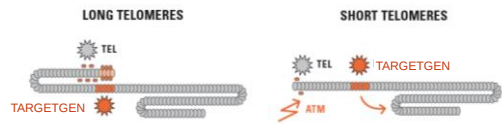


* TPE-OLD: Telomere Position Effect Over Long Distances; Robin JD et al., Genes Dev. 2014;15;28:2464-76.

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Telomer-Positions-Effekte als mögliche Ursache für die Veränderung des Phänotyps*



*Jäger et al, unpublished

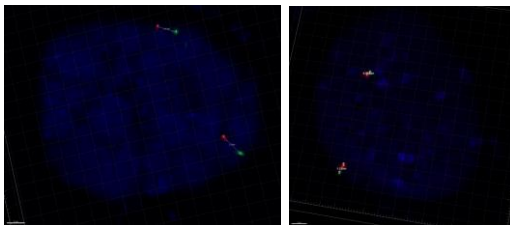
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Sonden Abstände Kurze vs. Lange Telomere

Short Telomere

Long Telomere

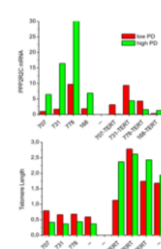


* Jäger et al, unpublished

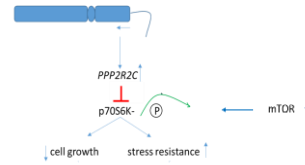
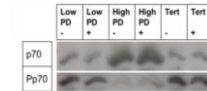
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

PPP2R2C: Verbindung von zwei Alterungswegen und neues Target für Anti Aging!



Expression: hoch niedrig
Telomere: kurz lang

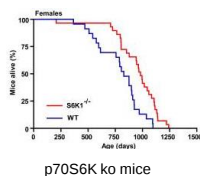


* Jäger et al, unpublished

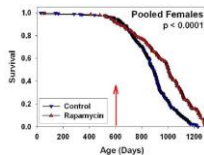
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

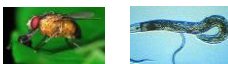
PPP2R2C: Verbindung von zwei Alterungswegen und neues Target für Anti Aging!



p70S6K ko mice



mTOR Inhibition mit Rapamycin in Mäusen



Selman C, et al. Science 2009;326:140-4.
Harrison DE, et al. Nature. 2009;460:392-5.

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Modell II

- Seneszenz – induziert durch Telomerverkürzung – wirkt als Tumor-Suppressor in großen, langlebigen Organismen ✓
- Im Alter werden negative Effekte sichtbar (senescente Zellen sind funktions-eingeschränkt und genetisch instabil). ✓
- In der Präseneszenz werden möglicherweise durch Telomerverkürzung auch weitere protektive Effekte sichtbar ?

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

```

graph TD
    A[Telomerverkürzung] --> B[Induktion von Seneszenz]
    B --> C[Tumor-Suppressor-Effekt + zufällige negative Effekte]
    C --> D[UND/ODER]
    D --> E[Tumor-Suppressor-Effekt + weitere günstige Effekte]
    C --- F[ANTI-AGING TARGETS!]
    E --- F

```

**Universitätsmedizin
Rostock**

Normal geformter Zellkern

Deformierter Zellkern

Vergleich Stress-Induzierte Seneszenz vs Telomer-Induzierte Seneszenz

Experimental Workflow:

- Fibroblasten bei 80 % Konfluenz
- UV-B Bestrahlung für 30' über drei Tage
- Mit DAPIEM auffüllen
- 24 h Erholung
- Cholesterinbeladung
- Realtime PCR
- Kontrollzellen

Markers:

- Nukleolin
- Hsp70
- SP1
- senescence
- Substratumbindungsdomäne
- Telomere (800 bp)
- Telomer-Short repeat (100)

**Universitätsmedizin
Rostock**

**Universitätsmedizin
Rostock**

Figure 1: A horizontal bar chart showing the estimated TPE OLD Range for 15 species. The x-axis represents time in millions of years (Ma) from 0 to 18. The y-axis lists species: *Homo sapiens**, *Chimpanzee**, *Gorilla**, *Orangutan**, *Baboon**, *Rhesus monkey**, *Horse**, *Cat**, *Pig**, *Sheep**, *Dog**, *Chickadee**, *Zebrafinch**, *Mouse**, *Rat**, and *European rabbit**. For each species, a horizontal bar indicates the estimated TPE OLD Range, with a vertical line marking the estimated TPE OLD. The bars are color-coded: green for species with a TPE OLD range between 0 and 10 Ma, yellow for 10 to 15 Ma, and orange for 15 to 18 Ma. The vertical lines are color-coded: green for 0 to 10 Ma, yellow for 10 to 15 Ma, and orange for 15 to 18 Ma. The chart also shows the estimated TPE OLD Range for the entire species group, indicated by a green bar at the top.

**Universitätsmedizin
Rostock**

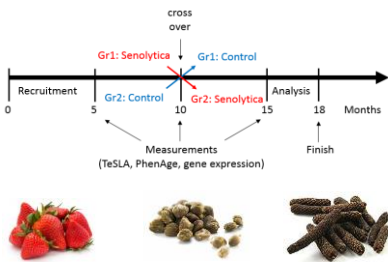
[illegible]

**Universitätsmedizin
Rostock**

The diagram illustrates the central role of SIRT6 in various cellular processes. At the center is a pink circle labeled 'SIRT6'. Surrounding it are eight colored segments representing different cellular functions: DNA repair (top), Glucose metabolism (top-right), Lipid metabolism (right), Cancer (bottom-right), Aging (bottom), Inflammation (bottom-left), Mitochondria (left), and Synaptic function (top-left). Arrows radiate from the central SIRT6 circle to each segment, indicating its involvement. Specific proteins and pathways are labeled within each segment: DNA repair includes PARP1, NERF1, and CIP; Glucose metabolism includes SIRT6 and GLUT4; Lipid metabolism includes SIRT6 and SIRT6; Cancer includes SIRT6 and SIRT6; Aging includes SIRT6 and SIRT6; Inflammation includes SIRT6 and SIRT6; Mitochondria includes SIRT6 and SIRT6; Synaptic function includes SIRT6 and SIRT6. A red box at the bottom left highlights 'Telomere Dysfunction'.

**Universitätsmedizin
Rostock**

Beseitigung seneszenten Zellen mit Senolytika (Dr. A. Kowald, Prof. G. Füllen, Prof. M. Walter)



Senolytika: (Dasatinib), Quercetin, Piperlongumin, Fisetin

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Projekte: Biomarker des Alterns

- Antrag mit Prof. Rainer Bader und Kollegen: „Impact of aging and senescence on osseointegration and wear diseases“
- Antrag mit Prof. Füllen und Kollegen: „QPF - Can eating senolytics reverse your clock of life?“
- Influence of aging on neurological diseases (Prof. Andreas Herrmann und Kollegen)
- Entwicklung von HPLC-MS/MS-Methoden zur Quantifizierung von NAD⁺-Metaboliten (Dr. F. Gabriel)

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Andere Projekte

- Identifizierung neuer Tumormarker (Dr. Bastian mit Klinik für Urologie/Pathologie/Immunologie)
- Stammzell-Charakterisierung mit FACS (Dr. Bastian mit Klinik für Herzchirurgie)
- Etablierung neuer Multistandard-Panels mit Massenspektrometrie (Dr. Bastian mit Klinik für Endokrinologie)
- Etablierung neuer Marker zur Beurteilung der Nierenfunktion (Dr. Holdt-Lehmann mit Klinik für Nephrologie)
- Entwicklung von HPLC-MS/MS-Methoden zur Quantifizierung von Medikamenten (Dr. F. Gabriel)
- Bedeutung der dysmorphen Erythrozyten für die Diagnostik (Dr. F. Gabriel)
- Etablierung neuer Biomarker für neurodegenerative Veränderungen mit Hilfe von Datamining, maschinellem Lernen und Big Data (Dr. M. Waklehn mit Klinik für Neurologie)
- Identifizierung von Infektions-Prädispositions-Markern (Dr. M. Sombetzki)

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

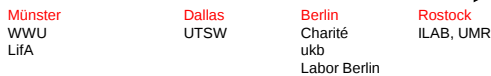
Past.....Today.....Future



Münster



Dallas



WWU, Westfälische Wilhelms-Universität Münster; Lifa, Leibniz Institut für Arterioskleroseforschung; UTSW, University of Texas Southwestern Medical Center; ukb, Unfallkrankenhaus Berlin; UMR, Universitätsmedizin Rostock; ILAB, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Past.....Today.....Future



Berlin



Münster
WWU
Lifa



Dallas
UTSW

Berlin
Charité
ukb
Labor Berlin

Rostock
ILAB, UMR

WWU, Westfälische Wilhelms-Universität Münster; Lifa, Leibniz Institut für Arterioskleroseforschung; UTSW, University of Texas Southwestern Medical Center; ukb, Unfallkrankenhaus Berlin; UMR, Universitätsmedizin Rostock; ILAB, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Past.....Today.....Future

Rostock



Münster
WWU
Lifa

Dallas
UTSW

Berlin
Charité
ukb
Labor Berlin

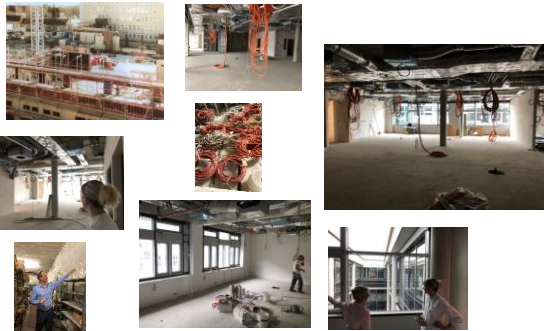
Rostock
ILAB, UMR

WWU, Westfälische Wilhelms-Universität Münster; Lifa, Leibniz Institut für Arterioskleroseforschung; UTSW, University of Texas Southwestern Medical Center; ukb, Unfallkrankenhaus Berlin; UMR, Universitätsmedizin Rostock; ILAB, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Past.....Today.....Future



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Danke....

Münster:

Gerd Assmann, Roch Nofer, Holger Reinecke, Udo Seedorf, Sebastian Kerber, Arnold von Eckardstein, Ute Gerdes, Elmar Berendes, Martin Tepel, Walter Zidek, Beate Kehrel, Gunnar Höbbel, Paul Cullen, Jürgen Heinrich, Günter Breithardt, Harald Funke, Stefan Rust, Michael Erren, Ralf Junker, Bernhard Schlüter, Ali Chirazi, Manfred Fobker, Reinhard Voss, Markus Utech, Claudia Rudack, Claus Langer, Janine Reunert, Thorsten Marquardt, Jonas Denecke, Frank Kannenberg, Reinhard Voss, Anna Lenfers, ...

Dallas:

Mike Roth, Woody Wright, Jerry Shay, Joyce Repa, David Padron, Renee Tall,...

Berlin:

Kerstin Gorzelniak, Kathrin Jäger, Bruno Neuner, Nina Brüggmann, Ghia Hallak, Jörg Schefold, Brigitte Rapsch, Katharina Kim, Juliane Mensch, Esmirara Bakhshaliyeva, Brigitte Köttgen, Maria Haschke, Nick Neuwinger, Jens Demedde, Hendrik Fuchs, Klaus Affeld, Hua Fan, Veonique Blanchard, Anje Sperber, Seval Türkmen, Mathias Zimmermann, Jaber Haj Ali, Haihuan Lin,...

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

...und allen Mitarbeitern des Instituts für Laboratoriumsmedizin Münster, des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie Berlin, des Unfallkrankenhauses Berlin, und des MVZ der Labor Berlin Services GmbH



Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock

Und natürlich...

Barbara Heizeler, Christiane Vogel, **Petra Bartels**, Angelika Voß, Heidrun Klemmer, **Sebastian Senk**, **Anja Schache**, **Britta Theile**, **Ilka Häfke**, Katherina Gericke, KATHARINA SEIDEL, *Andi Martens*, **Elisabeth Dieckmann**, **Cornelia Meuthen**, **Regine-Christin Wenzel**, **Melanie Schöler**, **Sandra Schubert**, **Dörte Ernst**, **Anje Waldbauer**, **Dorit Strey**, **ANJA MÜLLER**, *Franziska Schumann*, **Michael Steiner**, Steffi Salzwedel, **DENNIS LOPPNOW**, Katharina Piwko, **Ulrike Grotkopp**, Doris Meiske, **ULRIKE ROMISCHKE**, Marion Burmeister, **Angelika Bonk**, **Doris Heimann**, **Britt Schwarz-Andrews**, **INGRID BAUER**, **Christine Burstein**, *Michael Wakileh*, *Frédéric Gabriel*, **Birgit Holdt-Lehmann**, Manuela Bastian, **Peter Schuff-Werner**, **Kathrin Jäger**, **Petra Zeyer**, *Jeno Casselli*, **Katrin Dreißiger**, Katharina Gottschall, **MICHELLE GRUBE**, **Heidemarie Hartmann**, **Christine Kurras**, **Ute Milbrandt**, **Jessica Schwarz**, Sophia Ogorreck

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Michael Walter

Universitätsmedizin
Rostock