

PREDGOVOR	7
1. UVOD.....	11
DINAMIKA PROCESA STARENJA	17
2. BIOLOŠKE TEORIJE STARENJA.....	23
PROGRAMIRANE TEORIJE STARENJA	23
TEORIJE OŠTEĆENJA	24
TEORIJA AKUMULACIJE MUTACIJA	27
TEORIJA ANTAGONISTIČKE PLEJOTRIPIJE	28
TEORIJA NEINVESTIRANJA U SOMATSKE ĆELIJE I KRITIKA EVOLUCIJSKIH TEORIJA	31
3. MOLEKULARNA BIOLOGIJA STARENJA.....	35
GENOMSKA NESTABILNOST	36
RIBOZOMSKA DNK.....	37
WRN DNK HELIKAZE.....	40
PROMENE U ĆELIJSKOJ MEMBRANI TOKOM STARENJA - STARENJE MEMBRANA	44
ĆELIJSKA SMRT	45
CITOGERONTOLOGIJA – ĆELIJSKO STARENJE	46
REPLIKATIVNO STARENJE I HAYFLICKOV LIMIT	46
BIOMARKERI ĆELIJSKOG STARENJA.....	50
PRERANO STARENJE INDUKOVANO STRESOM	52
SENESCENTNE ĆELIJE, STRES I STARENJE ORGANIZMA	54
M1/M2 MEHANIZAM, ULAZAK U KRIZU I IMOTALIZACIJA.....	58
SENESCENCIJA UZROKOVANA STRESOM I ABERANTNIM SIGNALIMA	63
EFEKTI POZICIJE TELOMERA (TPE)	64
GUBITAK G BOGATIH NUKLEOTIDNIH SLEDOVA I M1 SENESCENCIJA	68
ULOGA SV40 VELIKOG T ANTIGENA.....	68
4. MOLEKULARNE OSNOVE PATOFIZIOLOGIJE ĆELIJSKOG STARENJA	75
STRUKTURA TELOMERA	75
TELOMERNI PROTEINI.....	76
SENESCENCIJA I TELOMERE	78
NAGLO SKRAĆIVANJE TELOMERA	79
SKRAĆIVANJE TELOMERA I STARENJE	80
G KVADRIPEKS	82
VIŠI STEPEN ORGANIZACIJE TELOMERA.....	83
TELOMERAZA.....	85
ALTERNATIVNO PRODUŽAVANJE TELOMERA –ALT	86
KARAKTERISTIKE ĆELIJA SA MEHANIZMOM ALT	87

ALT HOMOLOGNA REKOMBINACIJA.....	88
JEDARNA TELAŠCA ILI ALT-PML-NB	91
ALT DISFUNKCIJA TELOMERA.....	92
TELOMERAZA ILI ALT?.....	94
5. OKSIDATIVNI STRES U ĆELIJSKOM STARENJU	95
OKSIDATIVNI STRES KAO BIOLOŠKI SIGNALNI MODULATOR	95
HIPOKSIJA	96
OŠTEĆENJE ĆELIJE U HIPOKSIJI, REVERZIBILNE I IREVERZIBILNE PROMENE	99
PRODUKCIJA SLOBODNIH RADIKALA	100
ULOGA RADIKALA U PROCESU STARENJA.....	101
ULOGA NADPH OKSIDAZE (MEMBRANSKI ENZIM) KOJA UČESTVUJE U STVARANJU ROS-A	102
REAKTIVNA JEDINJENJA AZOTA	105
OKSIDATIVNI STRES I TELOMERE.....	111
ULOGA MITOHONDRIJA U NASTANKU ĆELIJSKIH OŠTEĆENJA I ĆELIJSKOM STARENJU	114
REPLIKATIVNO STARENJE.....	119
SINERGIČNA INTERAKCIJA IZMEĐU SENESCENTNO ASOCIRANOG SEKRETORNOG FENOTIPA I REAKTIVNIH VRSTA KISEONIKA TOKOM STARENJA.....	121
EFEKTI OKSIDATIVNOG STRESA – GENETIKA, FIZIOLOGIJA I BIOHEMIJSKI MEHANIZMI	125
EFEKTI OKSIDATIVNOG STRESA NA DNK.....	125
EFEKTI OKSIDATIVNOG STRESA NA LIPIDE	126
EFEKTI OKSIDATIVNOG STRESA NA PROTEINE	127
EFEKTI OKSIDATIVNOG STRESA NA SIGNALNU TRANSDUKCIJU	127
ANTIOKSIDANSI	129
SUPEROKSID DIZMUTAZA	131
GLUTATION PEROKSIDAZA	131
KATALAZA.....	131
HUMANA SERUMSKA PARAOKSONAZA (PON1).....	132
PROTEINSKI ANTIOKSIDANSI	132
ANTIOKSIDANSI MALE MOLEKULARNE TEŽINE.....	133
6. MOLEKULARNE OSNOVE PATOFIZIOLOGIJE STARENJA TKIVA I ORGANA	137
KOŽA KAO MODELNI OBJEKAT STARENJA.....	137
STARENJE FIBROBLASTA	137
STARENJE KERATINOCITA	144
STARENJE MELANOCITA	145
STARENJE ENDOTELNIH ĆELIJA	147
STARENJE INTERNIH ORGANA I NJHOVA OTPORNOST NA STRES	153
STARENJE MIOKARDA	154
STARENJE ĆELIJA GLATKIH MIŠIĆA.....	155

STARENJE KARDIOMIOCITA	155
MERENJE DUŽINE TELOMERA	156
NEUROEDNOKRINA TEORIJA STARENJA	158
IMUNOLOŠKI SISTEM I STARENJE	162
7. GENETIČKA I EPIGENETIČKA KONTOLA STARENJA	163
DNK METILACIJA.....	164
EFEKTI HISTONSKOG REMODELIRANJA U KONTROLI STARENJA TOKOM KALORIJSKE DIJETE	170
SIRTUIN 1	171
METILACIJA HISTONA.....	172
POTENCIJALNI EPIGENETIČKI TRETMANI ZA BOLESTI POVEZANE SA STARENJEM	173
ISRAŽIVANJA GENETIČKE KONTROLE KOD CAENORHABDITIS ELEGANS	174
GEN DAF-2.....	177
IGF-1 SIGNALNI PUT	178
STARENJE SISTEMA GENETIČKE INFORMACIJE	178
GENETIČKA KONTROLA STARENJA I ŽIVOTNI VEK	180
GENSKA EKSPRESIJA TOKOM STARENJA	181
DNK OŠTEĆENJA	181
REPARACIJA DNK OŠTEĆENJA	182
8. MOLEKULARNI MEHANIZMI NEKIH DEGENERATIVNIH BOLESTI POVEZANIH SA STARENJEM	185
ALZHEIMEROVA BOLEST	185
AB U NERNVIM ČELIJAMA	189
WERNEROV SINDROM	191
HUTCHINSON-GILFORDOV SINDROM.....	193
9. EVOLUCIJSKE TEORIJE STARENJA I NJIHOVA UZAJAMNOST SA KANCEROGENEZOM.....	197
GENOMSKO OŠTEĆENJE.....	200
MITOGENI POVEZANI SA SIGNALIMA PROLIFERACIJE.....	201
EPIGENETIČKA OŠTEĆENJA.....	201
AKTIVACIJA TUMOR SUPRESORA.....	202
DELOVANJE TUMOR SUPRESORA U STARENJU	203
LITERATURA.....	207
INDEKS SKRAĆENICA:.....	214
INDEKS SLIKA:.....	215
INDEKS TABELA:.....	217
INDEKS GRAFIKONA:.....	218

PREDGOVOR

Starenje je kompleksan, misteriozan i univezralan proces za sva živa bića (organizme). Razlika u dužini trajanja života je posledica jednim delom različite ekspresije gena, a drugim delom posledica delovanja faktora spoljašnje sredine na gensku ekspresiju. To ukazuje da je starenje rezultat zajedničkog delovanja endogenih i egzogenih faktora. Uprkos postojanju mnogobrojnih teorija koje su pokušale objasniti mehanizam nastanka starenja još uvek ne postoji jedno objašnjenje koje je univerzalno i dovoljno, jer je starenje multifaktorijalni proces. Najčešći modeli koji su korišćeni za proučavanje fenomena starenja su animalni modeli kao što su: *C.elegans*, *S.cerevisiae*, *Drosophila*, te različite vrste miševa i pacova. U kulturama ćelija su kontrolisani uslovi koji obezbeđuju opstanak ćelija i na taj način ograničavaju realno delovanje endogenih faktora koji utiču na dinamiku starenja.

Starenje se posmatra od nivoa molekula, preko ćelija, tkiva, organa pa sve do organskih sistema. Sa godinama se nakupljaju oštećenja koji na kraju vode do propadanja ćelija, tkiva i organa. Hayflickov sistem ćelijskog starenja ćelija kože u kulturi pokazao se korisnim u razvoju ćelijskog i molekularnog razumevanja procesa starenja. Gubitak proliferativnog kapaciteta bilo kojeg ćelijskog tipa ima uticaj na funkcionisanje i opstanak celog organizma. Gubitak ili usporavanje proliferacije (osteoblasta, glija ćelija, mioblasta, epitelnih ćelija, limfocita i fibroblasta), može dovesti do nastanka dobro povezanih bolesti i oštećenja kao što su: osteoporoza, artritis, gubitak imuniteta, usporeno zarastanje rana, promene funkcionisanja mozga i dr.

Promena senescentnih ili skoro senescentnih heterogenih ćelija *in vivo* može uzrokovati disfunkcionalnost tkiva, prouzrokujući štetne signale ili stimulisati rast i nastanak kancerogenih ćelija. Evolutivno gledano, starenje je proces koji potiskuje nastanak kancera. Starenje se smatra ireverzibilnim jer nema poznatih fizioloških mehanizama koji mogu povratiti starije ćelije u ćelijski ciklus. Međutim, molekularni mehanizmi poput inaktivacije određenih gena koji utiču na suzbijanje kancera, mogu podstaći starije ćelije na proliferaciju. Hayflickov model ćelijskog starenja u kulturi je model za proučavanje sporog i

progresivnog akumuliranja oštećenja koja rezultiraju nepovratnim zaustavljanjem rasta. Zračenje, oksidativni stres ili trasfekcija gena su korišćeni za indukciju naglog i brzog nakupljanja molekularnih oštećenja, što dovodi do pojave preranog senescentnog fenotipa.

Mitohondrije imaju nesumnjivu ulogu u nastanku starenja akumulacijom mutacija i neispravnim elektron transportnim lancem, gde se stvaraju ROS koje su uzročnik nastanka oksidativnog stresa. Dokazano je da povećano stvaranje slobodnih radikala unutar mitohondrija uzrokuje indukciju povećanog antioksidativnog odbrambenog kapaciteta. Nesposobnost posmitotičkih tkiva da zamene ćelije sa mutiranom mtDNK govori o većoj učestalosti mtDNK mutacija u postmitotičkim tkivima u odnosu na mitotična tkiva. Neke neurološke bolesti su povezane sa starenjem, na primjer, rizik za nastanak Alzheimerera se povećava sa godinama, obično se dijagnostikuje osobama iznad 65 godina, dok su na primer, Wernerov i Hutchinson-Gilfordov sindrom genetički determinisana oboljenja sa poremećajem na molekularnom nivou koji se manifestuje fenotipski kao prerano nastalo starenje.

Otkriće molekularnih osnova uključenih u patologiju modelnih sistema starenja mogu pomoći u boljem razumevanju procesa starenja. Epigenetički posredovane promene u ekspresiji gena su postale glavni molekularni mehanizam, koji povezuje kalorijsku dijetu sa poboljšavanjem funkcija ćelija i zdravljem, što dovodi do pružavanja životnog veka. Razumjevanje epigenetičkih mehanizama koji utiču na prirodu starenja pomoću kalorijske dijetete može dovesti do otkrića novih kliničkih strategija za kontrolu dugovečnosti kod ljudi. DNK metilacija i histonska acetilacija imaju uticaj na regulaciju hromatinske strukture i ekspresije gena ključnih za globalni odgovor na kalorijsku dijetu. Iako je naše sadašnje znanje o ulozi epigenetičkih mehanizama u kaloriskoj dijeti i povezanosti sa uticajem na zdravlje relativno ograničeno, daljnja istrživanja će verovatno omogućiti preciznije objašnjavanje ove komplikovane interakcije, čime bi se olakšao pronalazak novih pristupa koji povezuju prehrambene ili farmaceutske intervencije u rešavanju dugovečnosti kod ljudi i životinja.

Cilj ove knjige je da studentima, ali i široj publici, predstavi ključne mehanizme procesa starenja, na nivou molekula, ćelija, tkiva i organizama, kao i mehanizme kojim ovaj proces može biti kontrolisan, te potencijalni način na koji se može doprineti poboljšanju zdravlja tokom starenja, te smanjenju nastanka bolesti koje su povezane sa starenjem.

1. UVOD

Starenje je postalo jedna od glavnih tema u mnogim naukama, od bioloških preko socijalnih do psiholoških. Najstarija su tumačenja starenja zadržana u mitovima koji potiču iz pradavnih vremena, ta su tumačenja utkana u različite religije te su pomogla ljudima da lakše prihvate misteriju starenja. Tako su prema mitovima, ljudi živeli jako dugo, nekoliko stotina godina. Prvi pokušaji da se naučnom metodom objasni proces starenja potiču iz 17. veka, a jedan od prvih naučnika koji je posvetio svoja istraživanja izučavanju starosti je Francis Bacon. Bacon je tvrdio da se pomoću sistemskog opažanja mogu otkriti uzroci starenja.



Slika 1.1. Prirodni proces starenja u humanoj populaciji.

Proces starenja je univerzalan fenomen (Slika 1.1.). Postoji preko 300 teorija koje pokušavaju da objasne fenomen starenja. Biološke teorije pokušavaju objasniti proces starenja na nivou ćelija, tkiva, organa i organizma kao celine. Za svaku biološku vrstu postoji genetički kontrolisana maksimalna dužina života. Uprkos mnogim biološkim i kliničkim opservacijama o promenama do kojih dolazi tokom starenja, daleko smo od razumevanja uzroka starenja i mehanizama koji obezbeđuju maksimalno trajanje života. Generalno, teorije starenja se mogu podeliti na mikroskopske teorije (genetičke i negenetičke) i makroskopske, sistemske.

Starenje se može smatrati normalnim, postupnim slabljenjem životnog ciklusa koje se završava otkazivanjem homeostatskih mehanizama koji dovode do smrti organizma. Starenje predstavlja prirodan proces koji je vremenski zavistan. Starenje karakterišu progresivne ireverzibilne promene na molekularnom nivou, u ćelijama, tkivima i organima, i na kraju pogađa celi organizam. Starenje ćelija obuhvata morfo-funkcionalne promene u ćelijskom kontrolnom sistemu koje smanjuju proliferativni kapacitet ćelije. Pretpodstavlja se da starenje nastaje kao rezultat kumulativnog oštećenja na različitim nivoima organizacije biološkog sistema, naročito oštećenjem proteina i DNK molekula (nuklearne i mitohondrijalne DNK), delovanjem slobodnih kiseonikovih radikala (ROS). Dokazano je da starenje ćelija zavisi od skraćivanja telomera u toku svakog ćelijskog ciklusa. Telomere su strukture na krajevima hromozoma koji se naziva i molekularni sat biološkog sistema. Skraćivanjem telomera aktivira se sistem za prevenciju daljeg deljenja ćelija.

Ulogu u procesu starenja imaju neuroendokrini i imunološki sistem, kao i njihove međusobne interakcije. Proces starenja je složen tako da je posledica delovanja različitih mehanizama (ne samo genetičkih nego i stečenih), koji vode ka stalnom gubitku proliferativnog kapaciteta, poremećaja homeostaze, smanjenoj otpornosti na stres i učestalijoj pojavi bolesti.

Prvi naučni pokušaji objašnjavanja procesa starenja potiču od Augusta Weismanna koji je postavio programiranu teoriju smrti 1889. godine. Prema toj teoriji starenje nastaje kao rezultat poremećaja u kontrolnim mehanizmima organizma, što je nasuprot teoriji o akumulaciji mutacija, koja ističe značaj egzogenih faktora u procesu starenja kao što su oštećenja izazvana zračenjem, hemijskim toksinima, slobodnim radikalima, hidrolizom i glikozilacijom. Po ovoj teoriji spoljašnji faktori mogu da oštete gene, proteine, ćelijske membrane, enzime i krvne sudove. August Weismann je mislio da u procesu starenja veliku ulogu ima trošenje ćelija i tkiva tokom života. Neurološke teorije starenja zasnivaju se na uočenom smanjenju lučenja hormona tokom ontogeneze. Leonardo Hayflick, američki lekar je sredinom 20. veka (1965. god.) dokazao da kultivisani fibroblasti čoveka mogu imati ograničen broj