Genetički pogled na teorije starenja

Ostojić, Saša; Pereza, Nina

Source / Izvornik: **Medicina, 2006, 42, 4 - 14**

Journal article, Published version
Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:735056

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-26**

Repository / Repozitorij:

Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository

UNIRI DIGITALNA KNJIŽNICA

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Pregledni rad
Review

Medicina 2006;42:4-14
UDK: 57.017.67:612.67

GENETIČKI POGLED NA TEORIJE STARENJA

GENETIC VIEW ON AGING THEORIES

Saša Ostojić[1], Nina Pereza[1]

SAŽETAK

Starenje je univerzalan biološki proces obilježen nepovratnim promjenama fizioloških funkcija cijeloga organizma. Posljedica je međudjelovanja gena i okolišnih čimbenika, odnosno životnoga stila. Više je od 300 teorija zasnovanih na istraživanjima složenih mehanizama kontrole i regulacije starenja u mnogobrojnih vrsta. S obzirom na to da nema jedinstvene sistematizacije, u ovome smo ih radu uvjetno podijelili na programirane i neprogramirane teorije starenja koje se međusobno neizbježno isprepliću. Neprogramirane teorije ili "teorije nakupljanja pogrešaka", koje uključuju teorije nakupljanja somatskih mutacija, djelovanje slobodnih radikala kisika i ograničena unosa kalorija, određuju starenje kao kumulativno nakupljanje oštećenja. Protijekom vremena dolazi do gubitka ravnoteže između oštećenja i sustava popravka na molekularnoj i staničnoj razini, što postupno uzrokuje patološke promjene i smrt. Programirane teorije koje uključuju gensku teoriju, hormonalnu teoriju i teoriju replikativna starenja, pretpostavljaju da starenje - kao prirodni nastavak rasta i razvoja - reguliraju geni odgovorni za održavanje homeostaze i aktiviranje obrambenih mehanizama, uključeni u živčani, endokrini i imunosni sustav. Iako "geni starenja" za sada nisu pronađeni, većina je teorija izravno ili posredno povezana s promjenama gena, ili posljedicama koje na njih ostavljaju okoliš i/ili životni stil. Cilj je ovoga preglednoga rada prikazati najzastupljenije teorije o starenju, uz genetički pogled zasnovan na istraživanjima gena koji utječu na metabolizam, stanično disanje, proizvodnju energije, stabilnost genoma, duljinu telomera, te kontrolu staničnoga ciklusa. U pojedinih vrsta modifikacija tih gena može produljiti životni vijek, što uz učinak kumulativnih oštećenja ukazuje na mogućnost postojanja programirana "biološkoga sata".

Ključne riječi: teorije starenja, slobodni radikali kisika, inzulinski/IGF-I signalni put, geni starenja, replikativno starenje, hormonska regulacija

ABSTRACT

Aging is an universal biological process marked by irreversible changes of physiological functions of the entire body. It is a result of the interaction of genes and environmental factors, i.e. lifestyle. There are more than three hundred theories based on the research of a complex control and regulation of aging mechanisms in different species. As there is no unique categorization, in this paper we divided them into two groups: programmed and non-programmed aging theories, which are inevitably related. Non-programmed theories or "theories of waste accumulation", that include the theories of somatic mutation, free oxygen radicals and caloric restriction define aging as a cumulative damage accumulation. Within a period of time the balance between the damage and the repair system at the molecular and cellular level is lost, leading to pathological changes and death. Programmed theories that include genetic and hormonal theory, as well as the theory of replicative aging, suppose that aging, naturally preceded by growth and development, is regulated by genes responsible for homeostatic maintenance and the activation of defense mechanisms in the nervous, endocrine and immune system. Although longevity genes have not yet been found, most theories are directly or indirectly connected with the genetic changes and the influence that the environment or lifestyle have on genes. The aim of this paper is to present the most common aging theories along with the genetic view based on genetic studies of metabolism, cellular respiration and energy production, genome stability, telomere length and cell cycle control. The modification of these genes has influence on the longevity of some species, which points to the possible existence of programmed "biological clock" besides the effect of cumulative damages.

Key words: aging theories, free oxygen radicals, insulin/IGF-I signal pathway, longevity genes, replicative aging, hormonal regulation

[1]Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet sveučilišta u Rijeci

Prispjelo: 20. 11. 2005.
Prihvaćeno: 22. 1. 2006.

Adresa za dopisivanje: doc. dr. sc. Saša Ostojić, dr. med., Medicinski fakultet u Rijeci, Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Braće Branchetta 22, 51000 Rijeka, e-mail: sasa@medri.hr

UVOD

Produljenjem očekivana životnoga vijeka u ljudi u prošlomu stoljeću za 30 godina, proučavanje biološkoga procesa starenja dobiva sve veću važnost.[1] Porast broja starijih osoba, uz negativan prirast, otvara novo poglavlje u medicinskoj praksi, te realan javnozdravstveni problem skrbi. Starenje, kao univerzalan i nezaustavljiv proces neprekidnih tjelesnih, umnih i psihičkih promjena, nastaje međudjelovanjem gena i okolišnih čimbenika, odnosno životnoga stila.[2] Protijekom vremena dolazi do štetnih promjena nasljedne tvari (DNA) i njenih produkata (proteina), stoga je za održavanje zdravlja ili razvoj bolesti, uz ubrzano starenje, bitna ravnoteža između oštećenja i sposobnosti njihova popravka.[3] Danas je poznato više od 300 teorija o starenju,[4] no ni jedna od njih nije u potpunosti objasnila proces starenja, jer svaka od tih teorija ostavlja mnoga pitanja otvorenim. Nebrojeni su i pokušaji da se navedene teorije sistematiziraju, stoga se tako određene podjele umnogome preklapaju, budući da međusobno dijele jednake teorije.[5] U potrazi za jedinstvenom sistematizacijom, u ovome smo radu teorije o starenju uvjetno podijelili na neprogramirane i programirane. *Neprogramirane teorije* ili *teorije nakupljanja pogrešaka*, definiraju starenje kao nakupljanje oštećenja koja protijekom godina dovode do raznih patoloških promjena i povećana rizika za razvoj bolesti i smrti.[6] Otkrićem mutacija gena kojima se može utjecati na proces starenja, razvilo se i suprotno stajalište o tomu da je starenje programirani proces.[7] *Programirane teorije* pretpostavljaju da starenje reguliraju "biološki satovi" pod utjecajem gena uključenih u živčani, endokrini i imunosni sustav, odgovornih za održavanje homeostaze i aktiviranje obrambenih mehanizama.[5]

S obzirom na to da je većina teorija izravno ili posredno povezana s promjenama gena ili posljedicama koje okoliš i/ili životni stil ostavljaju na njih, ovaj smo pregledni prikaz molekularnih i staničnih mehanizama starenja iznijeli kao genetički pogled zasnovan na istraživanjima gena koji utječu na taj proces u mnogih vrsta.

NEPROGRAMIRANE TEORIJE STARENJA

Teorija slobodnih radikala kisika

Teorija slobodnih radikala kisika jedna od najbolje znanih i najkontroverznijih teorija starenja, postavljena godine 1954.[8] Slobodni radikali kisika (ROS - engl. reactive oxygen species), jesu energetski nestabilne, izrazito reaktivne molekule koje uključuju superoksidni anion (O_2^-), hidroksilni radikal (OH^-), vodikov peroksid (H_2O_2), dušični monoksid (NO) i drugo. Dok su endogeni radikali međuprodukti stvaranja energije u mitohondriju, egzogeni su radikali dio toksičnih tvari koje unosimo u organizam (dim cigarete, kemoterapeutici), ili koje nastaju pod djelovanjem UV ili ionizirajućega zračenja, hipertermije i drugog.[9] Ti reaktivni radikali oksidativnim stresom oštećuju različite stanične dijelove, i to se protijekom godina kumulativno povećava.[8] Posebice su osjetljive postmitotske stanice, uključujući živčane stanice, te stanice srčanoga i skeletnoga mišića, jer kada se jednom podijele, nemaju sposobnost nadomještanja.[10]

Radikali kisika dovode do promjena u strukturi staničnih proteina, s posljedičnim propadanjem ili ukriženim povezivanjem (engl. cross-linking), što dovodi do stvaranja nefunkcionalnih veza između različitih proteina i povećana rizika za razvoj patoloških stanja poput ateroskleroze i katarakte.[6] Također, djelovanjem na monoaminooksidazu B, stvara se toksični MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin), koji utječe na propadanje dopaminergičkih neurona u supstanciji nigri u Parkinsonovoj bolesti.[11] Štetnim djelovanjem, na staničnoj se membrani oslobađaju lipidi čijom oksidacijom nastaje smeđi pigment lipofuscin, u starijih ljudi vidljiv u obliku "staračkih pjega".[10]

Osobe s dijabetesom prije razvijaju simptome i poremećaje povezane sa starenjem, zbog procesa neenzimatske glikacije. U njih višak glukoze reagira s amino skupinama proteina, stvarajući AGE produkte (engl. advanced glycation end product), koji pridonose oštećenju i nakupljanju nefunkcionalnih proteina.[12] Uz to, protijekom godina smanjuje se razina **Hsp** proteina (engl. heat shock proteins), koji održavaju normalnu prostornu konformaciju staničnih proteina i štite stanicu u stanjima stresa.[13] Također, slobodni radikali kisika oštećuju DNA jezgre i mitohondrija.[14] Ukazano je na to da je mitohondrijska DNA šesnaest puta osjetljivija na oštećenja,[15] budući da je mitohondrij mjesto stvaranja reaktivnih radikala kisika,[9] te da mtDNA nema histone koji bi molekulu DNA štitili od štetnih utjecaja.[16] Međutim, slobodni radikali kisika imaju i mnogobrojne važne fiziološke funkcije, uključujući sudjelovanje u reguliranju odgovora na stimulaciju čimbenicima rasta,[17] važnost signalnih molekula u određenim oblicima metaboličkoga stresa,[18] a makrofazima omogućuju baktericidan učinak.[9]

Razinu oksidativnoga oštećenja stanice određuje sposobnost popravka oštećenja, odnosno ravnoteža između štetnih čimbenika i mogućnosti obrane stanice.

Antioksidansi su molekule koje neutraliziraju slobodne radikale kisika i pretvaraju ih u energetski stabilnije molekule. Razlikujemo endogene antioksidanse koji se stvaraju u organizmu (superoksid dismutaza, katalaza, glutation reduktaza i peroksidaza, bilirubin, urična kiselina, -SH proteini), i egzogene antioksidanse koje uzimamo iz okoliša (vitamini C i E, α i β karoten, koenzim Q10, lipoična kiselina, selen, likopen, flavonoidi).[19]

Povezanost slobodnih radikala kisika i procesa starenja, dokazana je pokusima na raznim organizmima. U oblića *Caenorhabditis elegans,* inaktivacijom **clk-1** gena koji kodira protein potreban za sintezu ubikinona (koenzim Q), životni se vijek produljuje.[20] Taj gen pripada u clk skupinu gena (engl. clock genes), koji utječu na starenje i višebrojne fiziološke ritmove, a evolucijski su konzervirani u mnogih vrsta.[21] Ukazano je na to da su inaktivacijom gena mclk-1, mišjega ortologa clk-1, embrionalne matične stanice postale otporne na oksidativni stres i oštećenja DNA molekule.[21]

Produljenje životnoga vijeka za 34% u transgeničnih vinskih mušica (*Drosophilae melanogaster*), povezano je s povećanom ekspresijom gena za superoksid dismutazu (SOD), što ukazuje na to da antioksidansi utječu na duljinu života i odgađaju proces starenja.[22] Osim produljena života, takve mušice pokazuju povećanu otpornost na oksidativni stres.[23] Nekoliko je istraživanja pokazalo da je povećana ekspresija SOD-a u kombinaciji s povećanom ekspresijom katalaze, također dala slične rezultate.[24] Povećanom ekspresijom **mth** (engl. methuselah) gena koji kodira transmembranski **G-protein**, također se produljio životni vijek vinske mušice, a istodobno su takve mušice bile izrazito otporne na toplinski i oksidativni stres.[25]

S teorijom o slobodnim radikalima kisika usko je povezana i *teorija o brzini življenja* (engl. rate of living), pretpostavljajući da je proizvodnja slobodnih radikala kisika proporcionalno povezana s brzinom metabolizma.[9] Prvi gen u komu je dokazana povezanost usporena metabolizma i produljena života, bio je **age-1** gen u oblića *C. elegans.* Uloga je gena age-1 složena, jer zajedno s **daf** (engl. dauer formation) genima sudjeluje u *inzulin/IGF-I signalnome putu* i regulaciji metabolizma. Pokazano je da se mutacijama toga sklopa gena usporava metabolizam i potiče otpornost na oksidativni stres, što utječe na produljenje životnoga vijeka.[26] Tako se mutacijama koje dovode do smanjene ekspresije age-1 gena, postiže do 65% dulji životni vijek.[27,28]

U glodavaca također postoji povezanost između unosa kalorija, brzine metabolizma i proizvodnje slobodnih radikala kisika, te se tako smanjuje razina oksidativnog oštećenja.[29] Za kontrolu razine oksidativnoga stresa bitan je gen **shc** (engl. src homology 2 domain containing) koji kodira proteine $p46^{shc}$, $p52^{shc}$ i $p66^{shc}$, od kojih je $p66^{shc}$ važan u kontroli starenja. To je citoplazmatski signalni protein koji sudjeluje u apoptozi i reguliranju redoks potencijala.[30] U slučaju oksidativnoga stresa, $p66^{shc}$ prima izvanstanične signale (uključujući vezanje inzulina), i kao odgovor na njih fosforilira se, što dovodi do apoptoze.[31]

U ljudskomu genomu nalazi se **PI3K/Akt gen** (fosfatidilinozitol-3-kinaza), ortolog gena age-1, koji zajedno s ERK-om (engl. extracellular signal-regulated kinase), cJun, MAPK (engl. mitogen-activated protein kinase), NFκB (engl. nuclear factor kappa B) i p53, sudjeluje u reguliranju odgovora na stres. Osim modulacije tog odgovora, to su važni čimbenici u procesima normalnoga rasta, metabolizma i stanična signaliziranja.[9] Povećana ekspresija onkogena **ras** (V12ras) posljeduje povećanom proizvodnjom slobodnih radikala kisika, što u fibroblastima dovodi do ubrzana starenja.[32]

Teorija ograničena unosa kalorija

Poznata je povezanost između brzine metabolizma, veličine tijela i trajanja života, s obzirom na to da su dugoživeće životinje veće i da stoga troše u prosjeku manje kalorija negoli malene, kratkoživuće životinje.[33] Ograničeni unos kalorija utječe na duljinu života i starenje u gljivica, nematoda, glodavaca, vjerojatno i u ljudi.[34] Unos kalorija iznad graničnih razina uvelike skraćuje životni vijek i dovodi do mnogobrojnih patoloških promjena. Nasuprotno, premali unos kalorija, ili pak ukupno izbjegavanje kalorija (primjerice kod *anorexiae nervose*), također dovodi do raznih patoloških stanja, uključujući anovulatorni menstruacijski ciklus i sekundarni sterilitet.[35] Ograničeni unos kalorija koji može utjecati na odgađanje procesa starenja, odnosi se na prehranu u kojoj su kalorije ograničene za 30% - 40%.[36]

Točni mehanizam kojim ograničeni unos kalorija utječe na starenje nije poznat, no pretpostavlja se da usporava metabolizam, te smanjuje razinu stvaranja slobodnih radikala kisika i oštećenje stanica.[37] Ograničeni unos kalorija onemogućuje mnoge promjene u genskoj ekspresiji i aktivnosti transkripcijskih čimbenika, koje se uobičajeno događaju sa starenjem, te priječe smanjenje razine Hsp proteina.[38]

Unošenje kalorija i prehrana usko je povezano s endokrinim sustavom (poglavito inzulinom, IGF-I-om i hormonom rasta). Također, pronađeni su geni čijom se aktivacijom potiču stanja slična stanjima do kojih dolazi

tijekom ograničena unosa kalorija, a većim su dijelom uključeni u kodiranje čimbenika signalnoga sustava koji nalikuje inzulinskom/IGF-I putu u sisavaca.[39] Svi dugoživeći mutanti pokazuju sličnosti u smanjenoj razini cirkulirajućeg inzulina, povećanoj osjetljivosti tkiva na inzulin i smanjenoj plazmatskoj razini IGF-I-a, zajedno sa smanjenom razinom oksidativnoga stresa i povećanom otpornošću na stres.[40] Navedeno upućuje na zaključak o tomu da bi temeljni mehanizmi starenja povezani s tim signalnim putom, mogli biti evolucijski očuvani u većine organizama.[40]

Glavni signalni put odgovoran za produljenje života u oblića *C. elegans*, jest inzulinska/IGF-I signalna kaskada. Glavni je gen te kaskade **daf-2** koji nadzire funkcije ostalih gena toga puta, uključujući **age-1 (daf-26), daf-12, daf-16** i **daf-18**.[41] Ti geni nadziru prijelaz iz normalnoga metaboličkoga stanja oblića u metabolički inaktivno stanje, tzv. *dauer* larva tvorbu.[42]

Gen daf-2 kodira protein sličan receptoru za inzulin/IGF-I, i vjerojatno je zajednički prethodnik humana receptora za inzulin, receptora za IGF-I i receptora dodanome inzulinskome receptoru, jer im se sekvence uvelike preklapaju.[43,44] Receptor za inzulin i receptor za IGF-I u oblića *C. elegans,* jedinstveni su receptor DAF-2 koga kodira gen daf-2. Mutacije koje dovode do smanjene razine ekspresije daf-2 gena, dovode do dvaput duljega životnog vijeka, a oblić ostaje dulje aktivan i mlad.[45,46] Genom *C. elegans* ima samo jedan gen (daf-2) za zajednički receptor inzulina i IGF-I, ali ima 37 gena koji kodiraju inzulinu slične proteine, odnosno proteine koji se vežu uza zajednički receptor, od kojih je ljudskomu inzulinu najsličniji INS-1.[47] Također, postoje genski dokazi o tomu da su ograničeni unos kalorija i proizvodnja slobodnih radikala kisika povezani. Naime, gen **ctl-1** koji kodira citosolnu katalazu (endogeni antioksidans), potreban je za produljenje života preko gena daf-2.[48]

U *D. melanogaster*, inzulinski/IGF-I signalni put također utječe na brzinu starenja, a geni toga puta pokazuju homologiju s genima *C. elegans.* Smanjena funkcija **Inr** gena koji kodira inzulinski receptor (homolog inzulinskoga receptora u ljudi), dovodi do produljenja životnoga vijeka u 85% ženki.[49] Smanjenje aktivnosti **chico** proteina (supstrat za Inr), dovodi do produljenja životnoga vijeka u 52% ženki.[50] Razlika između inzulinskog/IGF-I puta u *C. elegans* i *D. melanogaster* jest u tomu da se mutacijom Inr i chico gena produljio životni vijek u ženki koje su uz to bile i sterilne, a u *C. elegans* plodnost je bila očuvana.[49,50]

I u kvaščevim gljivicama postoji signalni put koji uključuje promjene u metabolizmu stanice, i kojim se može modulirati duljina života. Taj se unutarstanični signalni put koji uključuje komunikaciju između mitohondrija i jezgre, naziva *retrogradnim odgovorom*, a prema konačnu ishodu vrlo je sličan inzulinskom/IGF-I putu.[51] Gen koji regulira retrogradni odgovor jest gen **Ras2**. Ako se taj gen inaktivira, gljivica postaje vrlo osjetljiva na toplinski stres.[52] Naime, Ras proteini u gljivicama imaju sličnu funkciju kao Hsp proteini. Pojačana ekspresija Ras2 gena dovodi do promjena u metabolizmu, uključujući pojačanu glukoneogenezu i korištenje acetata kao izvora energije namjesto glukoze.[53]

U glodavaca, ograničenim unosom kalorija također se može usporiti proces starenja zbog promjena do kojih dolazi u metabolizmu glukoze.[54] Ukazano je da mutacije gena **Prop-1** (engl. prophet-I) i **Pit-1** (engl. pituitary--specific transcription factor I) produljuju život, a povezane su s hormonskim sustavom.[55] Pit-1 gen kodira protein potreban za pravilan razvoj hipofize.[56] **Ames** patuljasti miš recesivni je homozigot za Prop-1, a **Snell** za Pit-1 gen.[57] Ames miševi pokazuju 50% dulji život u ženki i 64% dulji život u mužjaka, a Snell miševi 40% dulji život u obama spolovima.[58] Ageneza hipofize posljeduje panhipopituitarizmom i niskim rastom. Glavni se učinak na odgođeno starenje i produljeni životni vijek pripisuje nedostatku hormona rasta i IGF-I-a, jer se tako povećava osjetljivost tkiva na inzulin.[59] Hormon rasta potiče oslobađanje IGF-I-a iz jetre, koji posreduje većinu njegovih učinaka.[60] Patuljasti miševi s povišenom razinom hormona rasta uz 90% niži IGF-I žive dulje negoli normalni miševi, što pokazuje da je za većinu učinaka odgođena starenja u patuljastih miševa odgovorna niska razina IGF-I-a, a ne hormona rasta.[61,62] Dodatni dokaz tomu da je IGF-I odgovoran za produljenje životnoga vijeka u patuljastih miševa jest i taj da je gubitak jedne kopije **Igf1r** gena koji kodira receptor za IGF-I rezultirao 26% duljim životnim vijekom, jer se tako smanjuje osjetljivost tkiva na IGF-I.[63] Stoga, životni se vijek može produljiti ili smanjenom razinom IGF-I-a u krvi, ili neosjetljivošću receptora za IGF-I, čime se modulira metabolizam glukoze zbog povećane osjetljivosti tkiva na inzulin.

Mutacija koja smanjuje razinu ekspresije specifičnoga inzulinskog receptora u masnome tkivu, posljeduje produljenjem životnoga vijeka u miševa **FIRKO** (engl. fat-specific insulin receptor knock-out) za 134 dana od prosječnoga (18%), uz uobičajeni unos kalorija.[64] Tako se nedostatkom inzulinskoga receptora u masnome tkivu usporava prijenos glukoze i aminokiselina u

masno tkivo, te se onemogućuje njihova pretvorba i pohrana u obliku masti, što dovodi do smanjene tjelesne težine. Iz masnoga se tkiva FIRKO miševa otpušta povećana količina leptina i mijenja se aktivnost sintetaza masnih kiselina.[65] Leptin je adipocitokinski hormon koji djeluje na hipotalamus, a povećane razine leptina između ostaloga povećavaju i proizvodnju tvari koje smanjuju unos hrane, povećavaju potrošnju energije i smanjuju izlučivanje inzulina.[66]

U vrlo starih osoba, u usporedbi s mlađima, povećana je osjetljivost tkiva na inzulin.[67] Stogodišnjaci također imaju nižu razinu cirkulirajućega IGF-I-a, što vjerojatno pridonosi smanjenoj proliferaciji stanica, te se tako smanjuje rizik razvoja neoplastičnih promjena.[68]

Teorija nakupljanja somatskih mutacija

Medawar i suradnici[69] smatraju da je starenje posljedica prirodne selekcije - ako neka funkcija ne pridonosi reproduktivnu napretku, neće se održati u narednim generacijama. Štetne mutacije do kojih dolazi u ranijoj dobi imaju negativni utjecaj na reproduktivnu sposobnost, stoga ih prirodna selekcija odbacuje.[70] Dokaz je toj postavci *Hutchinson-Gilford progeroidni sindrom* sa svega 30-ak oboljelih u svijetu.[71] Taj sindrom uvijek nastaje mutacijom *de novo*, jer bolesnici ne dožive reproduktivnu dob.[72] Nasuprotno, poremećaji poput Huntingtonove ili Alzheimerove bolesti pojavljuju se nakon reproduktivne dobi, a posljedica su mutacija koje se u ljudi pojavljuju češće.

Nakon reproduktivne dobi, kumulativna oštećenja nasljedne tvari (DNA jezgre i mitohondrija) postaju izrazitije vidljiva, a sustav popravka sve je neučinkovitiji. Dokazano je da miševi s nedostatkom sposobnosti popravka mtDNA polimeraze brže nakupljaju mutacije i ubrzano stare pokazujući indukciju apoptotičkih biljega, što ukazuje na moguću središnju važnost mutacija mtDNA u procesu starenja u sisavaca.[73]

Oštećenja genetičke tvari uključuju točkaste mutacije, amplifikacije, kromosomske abnormalnosti, mitotske rekombinacije i drugo.[74] Povećanu riziku za mutacije pridonose emocionalni stres, UV(A) i ionizirajuće zračenje, slobodni radikali kisika, otrovne tvari, etanol, dim cigarete, lijekovi (citostatici), te mnogi drugi čimbenici.

Iako teorija o nakupljanju somatskih mutacija pretpostavlja nasumično nakupljanje oštećenja, geni poput HLA gena nakupljaju oštećenja 2 - 3 puta brže od ostalih.[75] Pojedini dijelovi genoma također pokazuju veće nakupljanje mutacija, uključujući ponavljane sljedove u koje se svrstava i telomerna DNA.[76] Protijekom godina smanjuje se i razina DNA metilacije na CG bazama, što je povezano s inaktivacijom i promjenama genske ekspresije.[77]

Na teoriju o nakupljanju somatskih mutacija izravno se vezuje *teorija o antagonističkoj plejotropnosti* koja navodi da gen može imati nekoliko različitih, međusobno suprotnih učinaka. Williams i suradnici[78] smatraju da u mlađoj dobi određeni geni mogu biti korisni i pozitivno utjecati na vitalnost, no u starijoj dobi njihov je učinak negativan. Primjerice, dok će u mladosti mutacije koje će dovesti do pojačane ekspresije gena za spolne hormone posljedovati pojačanim seksualnim nagonom, u starijoj će dobi biti čimbenik rizika za nastanak raka prostate, dojke, jajnika i/ili maternice.[70]

Rose i suradnici[79] eksperimentalno su produljili život *D. melanogaster* tako da su mušice razmnožavali tek pretkraj reproduktivnoga razdoblja. Pokazano je da su njihovi potomci živjeli dvaput dulje negoli je to uobičajeno, što bi u čovjeka iznosilo približno 150 godina.

Na povezanost reprodukcije i brzine starenja ukazuje i *teorija neinvestiranja u somatske stanice*, koja pretpostavlja da se energija ulaže u održavanje tijela tek toliko koliko je potrebno da bi se organizam mogao uspješno reproducirati.[80-82] Ta teorija također objašnjava zašto različite vrste žive različito dugo. Što je veći stupanj smrtnosti zbog vanjskih uzroka životni je vijek kraći, jer takvi organizmi većinu energije ulažu u čim raniju reprodukciju i ostavljanje čim većega broja potomaka. U životinja u zaštićenu okruženju starenje je sporije, a sporije je i razmnožavanje, jer je stupanj smrtnosti zbog vanjskih uzroka nizak.[83]

PROGRAMIRANE TEORIJE STARENJA

Hormonalna teorija

Ta teorija pretpostavlja da je starenje rezultat promjena koje se događaju u endokrinoj funkciji koja kemijski posreduje sve važne životne funkcije. Hipotalamus je struktura mozga povezana s regulacijom temperature, ponašanjem, regulacijom visceralnih funkcija, bolova i drugog.[84] Uz to, hipotalamus regulira lučenje hormona hipofize koji utječu na rast, razvoj, metabolizam, laktaciju, porođaj i mnoge druge funkcije, stoga se os hipotalamus - hipofiza opravdano smatra jednim od prvoredno važnih regulacijskih sustava ljudskog organizma.

Razina **hormona rasta** koga izlučuje hipofiza, protijekom se godina smanjuje. Hormon rasta koristi se danas i kao mogući "lijek protiv starenja", jer povećava mišićnu masu i elastičnost tkiva, smanjuje količinu masnoga tkiva i demineralizaciju kosti.[85] Prevelike količine hormona rasta mogu imati višestruke negativne

učinke, uključujući netoleranciju glukoze (razvoj šećerne bolesti), visoki krvni tlak, srčanu dekompenzaciju i mialgije.[86] Također, velike količine hormona rasta i posljedično IGF-I-a, pojačano potiču stanice na diobu, što može dovesti do povećana rizika za razvoj tumora.[87]

Melatonin je hormon koji u većine sisavaca izlučuje epifiza.[88] Povezan je s dnevnim biološkim ritmovima, stoga utječe i na spavanje. Protijekom godina njegovo se lučenje smanjuje, što posljedično uzrokuje mnogobrojne promjene u spoznajnome, fiziološkome i psihološkome ponašanju, te poremećaje spavanja.[89] Melatonin ima funkciju antioksidansa, jer povećava razinu izražavanja mitohondrijalnih gena (16S, citokrom c oksidaze 1 i 3, NADH dehidrogenaze), koji sudjeluju u smanjenoj proizvodnji slobodnih radikala kisika.[90] Također, melatonin sudjeluje u reguliranju ekspresije gena uključenih u kontrolu staničnoga ciklusa i pojedinih onkogena, čime pridonosi sprečavanju razvoja tumora.[90] U ljudi, melatonin se osim u epifizi sintetizira i u limfocitima uz imunomodulacijsko djelovanje poticanjem stvaranja stanica imunosnoga sustava.[91] S obzirom na to da se protijekom godina lučenje melatonina smanjuje, smatra se da bi melatonin mogao biti odgovoran za slabljenje toga sustava (imunosenescencija).[92]

Os hipotalamus - hipofiza sudjeluje u odgovoru na stres stvaranjem oslobađajućega čimbenika kortikotropina (CRH) i adenokortikotropnoga hormona (ACTH). ACTH djeluje na nadbubrežnu žlijezdu iz koje se posljedično otpušta glukokortikoid **kortizol**. Kortizol i ostali glukokortikoidi djeluju negativnom povratnom spregom na hipokampus i os hipotalamus - hipofiza, smanjujući izlučivanje CRH-a i ACTH-a. Zbog trajnoga psihičkoga stresa povećava se njihova razina u hipokampusu, djelujući toksično izravno na neurone, povećavajući nakupljanje oštećenja i njihovo propadanje, što dovodi do promjena u spoznajnim sposobnostima.[93]

DHEA (dehidroepiandrostendon) je androgen koji luče nadbubrežna žlijezda, gonade i središnji živčani sustav.[94] Razina izlučivanja toga hormona u dobi nakon pedesete godine počinje se smanjivati, što se povezuje s pojavom višestrukih patoloških promjena u procesu starenja, uključujući pojavu tumora, osteoporozu i bolesti kardiovaskularnoga, živčanoga, te imunosnoga sustava.[94] Istraživanja na mozgu glodavaca pokazala su da se primjenom DHEA smanjuje razina slobodnih radikala kisika i poboljšava oksidativni metabolizam cerebralnih mitohondrija.[95]

Protijekom godina promjene u razini spolnih hormona također pridonose procesu starenja. Tako **estrogeni** prije menopauze štite žene od osteoporoze, potičući odlaganje kalcija u kosti i izravno smanjuju aktivnost osteoklasta.[96] Nadalje, estrogeni štite od kardiovaskularnih bolesti tako što smanjuju razinu LDL-a i povećavaju razinu HLD-a.[97] Također, imaju zaštitni učinak na živčane stanice, jer ih štite od toksičnosti neurotransmitera glutamata, gubitka glukoze i nakupljanja Abeta-amiloida.[98] Na zaštitni učinak estrogena na neurone ukazuje i činjenica da su nakon menopauze žene dva do triput sklonije obolijevanju od Alzheimerove bolesti, u odnosu prema muškarcima te dobi.[99]

Genska teorija

Genska teorija pretpostavlja da su geni, njihove promjene i razina izražavanja, odgovorni za proces starenja. Do sada nisu pronađeni geni koji izravno reguliraju starenje, jer je to vjerojatno fiziološki proces nastavka rasta i razvoja, stoga "geni starenja" određuju sve životne funkcije, kako popravka DNA i održavanja stabilnosti genoma, tako i proizvodnje slobodnih radikala kisika i hormona.[100] Također, u ljudi veliku važnost imaju geni koji utječu na pojavu određenih bolesti poput ateroskleroze i šećerne bolesti, koje pak utječu na duljinu života.[101]

Proučavanjem genoma *Saccharomyces cerevisiae*, ukazano je na to da su geni uključeni u inaktivaciju kromatina, mogući geni-kandidati odgovorni za proces starenja.[36] Starenjem se povećava rekombinacija rDNA sljedova i nastaju izdvojeni prstenovi izvankromosomske rDNA (ERC, engl. extrachromosomal rDNA circles).[102] Tako se povećava genomska nestabilnost rDNA sljedova, što se smatra jednim od prvorednih uzroka starenja u *S. cerevisiae*.

Sirtuini su porodica gena, evolucijski konzerviranih od bakterije do čovjeka, koji se aktiviraju u stanjima stresa da bi zaštitili i stabilizirali genom.[103] Regulatorni proteini **Sirtuini – Sir2,3,4** (histonske deacetilaze) stišavaju genom na telomerama i genima za reprodukciju (engl. mating loci), te tako utječu na spolni ciklus.[104] Mutacija SIR4-42 dovodi do preusmjeravanja kompleksa Sir2,3,4 s telomera i gena za reprodukciju, na regiju genoma koja kodira rDNA.[105] Delecijom **Sir2** gena s nedostatkom produkta **Sir2p** koji regulira razinu ekspresije drugih gena skraćuje se životni vijek, a povećano izražavanje toga gena dovodi do produljenja životnoga vijeka.[106]

Delecija gena koji kodira **Rpd3** globalnu histonsku deacetilazu produljuje život, jer također posljeduje povećanim stišavanjem rDNA.[107] Homolog DNA helikaze, gen **SGS1** (engl. slow growth suppressor), onemogućuje rekombinaciju u genomskoj DNA,

poglavito u rDNA, stoga također može pridonijeti duljemu životu.[108]

U *C. elegans* pronađen je **Sir2.1**, ortolog proteina Sir2 iz genoma *S. cerevisiae*. Taj gen negativnom povratnom spregom nadzire inzulinski/IGF-I signalni put, što je dodatni dokaz tomu da geni utječu na starenje preko regulacije, u navedenome slučaju metabolizma.[109]

U sisavaca, ortolog Sir2p proteina je **SIRT1** koji se veže i deacetilira p53 tumor supresorski gen, što smanjuje njegovu aktivnost i priječi apoptozu, te stoga produljuje životni vijek stanice, istodobno povećavajući rizik za nastanak tumora.[110,111]

Sirtuini reagiraju i aktiviraju se na okolišne promjene pomoću njihova kofaktora NAD+. Sirtuine aktivira polifenol *resveratrol* koji se nalazi u crvenu vinu, zelenu čaju, kakau, a pripisuje mu se protuupalno i antioksidativno djelovanje.[112] Tako su sirtuini, unosom kalorija i proizvodnjom slobodnih radikala kisika, uključeni u regulaciju metaboličkih reakcija.[113]

Ukazano je na to da je u miševa s povećanom ekspresijom gena **Klotho,** životni vijek produljen između 19% i 31% u usporedbi s normalnim miševima, a miševi kojima taj gen nedostaje pokazuju znakove ubrzana starenja.[114] Klotho protein regulira metabolizam kalcija, inhibira inzulinski/IGF-I signalni put i povećava otpornost na oksidativni stres, inducirajući ekspresiju SOD-a.[115,116]

Teorija replikativnoga starenja (staničnoga sata)

Još su godine 1892. Weismann i suradnici[117] pretpostavili da postoji određen, konačni broj dioba stanice koji je određen već u zigoti, a nakon toga stanica nastavlja živjeti kao ostarjela (engl. cell senescence), ili umire.[70]

Postoje dvije vrste staničnoga starenja. *Stresom izazvano prerano starenje* (engl. stress-induced premature senescence) jest gubitak funkcije stanice i njeno starenje zbog utjecaja mnogih štetnih čimbenika uključujući slobodne radikale kisika, etanol, ionizirajuće zračenje i mitomicin C.[118] *Replikativno starenje* nastaje zbog ograničena broja dioba stanice, koje pak ovisi o telomerama - vršnim dijelovima kromosoma. To su specijalizirane kromatinske strukture koje ta područja štite od rekombinacije i degradacije, a sastoje se od tandemskih ponavljanja TTAGGG-a uz koje se vežu specifični proteini.[119] Tripleti GGG mjesto su učestala oksidativnoga oštećenja, stoga su to područja koja povećanim nakupljanjem oštećenja štite ostale dijelove genoma.[120] Tijekom svake diobe telomere se skraćuju, jer DNA polimeraza ne može produljiti linearne krajeve molekule DNA. Tako su telomere poput "staničnoga sata" koji programirano određuje u kome će trenutku stanice ostarjeti i/ili odumrijeti. Enzim telomeraza koji može završiti replikaciju linearne DNA dodavanjem specifičnih telomernih sljedova, aktivan je jedino u stanicama koje se brzo dijele, uključujući stanice zametne linije, embrijske i matične stanice, stanice imunosnoga sustava, epitel kože i crijeva, te stanice folikula dlake.[121] Enzim telomeraza aktivan je u više od 90% tumora tvoreći tako tumorske stanice besmrtnim, jer u njih nema replikativna ograničenja. Programirani broj ukupnih dioba stanice mogući je zaštitni mehanizam protiv nastanka tumora, jer tumorska stanica koja se može vječno dijeliti ima sposobnost nakupljanja dodatnih onkogenih mutacija, bez sposobnosti umiranja.[122]

Duljina je telomera nasljedna, a promjena u njihovoj duljini ili funkciji može dovesti do višestrukih patoloških promjena koje utječu na proces starenja i duljinu života.[123] Kratke telomere povezane su s razvojem patoloških stanja, uključujući koronarnu aterosklerozu, vaskularnu demenciju i Alzheimerovu bolest.[101] Smatra se da kratke telomere predstavljaju DNA oštećenje, pa stoga uzrokuju zastoj u staničnome ciklusu i staničnu smrt.[124]

Eksperimenti na glodavcima pokazuju da se kratke telomere u odsutnosti telomeraze ponašaju kao oštećeni dio DNA molekule i aktiviraju gen p53 koji stanicu uvodi u apoptozu.[125] Dok je gen p53 tumor supresorski gen koji je "izbrisan" u 80% tumora, u normalnim stanicama sudjeluje u regulaciji staničnoga ciklusa, replikativnom i stresom induciranome starenju, te apoptozi.[126] Međutim, kada je p53 inaktivan, kratke telomere pridonose visokoj nestabilnosti genoma, što je obilježje tumora u ljudi.[127]

U glodavaca u kojih je eksperimentalno povećana razina ekspresije gena p53, s namjerom da se smanji rizik za pojavu tumora, dobiven je očekivani rezultat a neočekivan je bio nalaz da miševi sa smanjenim brojem tumora žive kraće i pokazuju ubrzano starenje.[128] Mnogobrojni štetni čimbenici koji uzrokuju stresom izazvano prijevremeno starenje utječu na brže skraćivanje telomera[129] i mogu aktivirati gen p53, što posljedično dovodi do stanične smrti.[130] Ti nalazi ukazuju na to da su mehanizmi staničnoga starenja povezani, i da se u mnogim segmentima preklapaju.

ZAKLJUČAK

Kao što smo pokazali u ovom preglednom radu, važan uvid u složenost genske kontrole procesa starenja daju nam životinjski modeli. S obzirom na postojanje evolucijski konzerviranih ortologa, sljedova s jednakom funk-

cijom u genomima različitih vrsta, geni povezani s procesima starenja u mnogih vrsta ukazuju na postojanje gena starenja i u čovjeka. Tako, baza podataka *GenAge* (HAGR - Human Ageing Genomics Resource), zasad opisuje 243 gena kandidata moguće povezanih s procesima starenja u čovjeka, predstavljajući temelj za primjenu funkcionalne genomike u tim istraživanjima.[131] Smatra se da veliku važnost u pojavi određenih bolesti, a time i u procesu ubrzana starenja, imaju geni uključeni u popravak DNA, održavanje genomske stabilnosti i duljine telomera, regulaciju oksidativnoga stresa, metabolizma, upale i drugog.

Jedan od pristupa otkrivanju potencijalnih gena starenja u ljudi, zasniva se na istraživanju genetičkih varijabilnosti polimorfizama jednog nukleotida (SNP; engl. single nucleotide polymorphisms) genoma u dugoživećih ljudi.[132] Velika je važnost i DNA mikročip tehnologije i pokusa kojima će se analizom ekspresije tisuća gena, transkripcijskim programom tijekom trajanja specifičnih fizioloških odgovora ili nastajućih procesa, možda odrediti geni koji moduliraju proces starenja.

Za potpunije shvaćanje mehanizama starenja potreban je integrativan pristup mnogobrojnim teorijama, koji bi uz genetičke i okolišne čimbenike, uključio važnost bioloških, psiholoških te socijalnih promjena u starijoj životnoj dobi.

LITERATURA

1. Marshall J. Life extension research: an analysis of contemporary biological theories and ethical issues. Med Health Care Philos 2006;9:87-96.
2. Kowald A, Kirkwood TB. A network theory of ageing: the interactions of defective mitochondria, aberrant proteins, free radicals and scavengers in the ageing process. Mutat Res 1996;316:209–36.
3. Nemoto S, Finkel T. Ageing and the mystery at Arles. Nature 2004;429:149–52.
4. Medvedev ZA. An attempt at a rationale classification of theories of aging. Biol Rev 1990;65:375-98.
5. Weinert BT, Timiras PS. Invited review: Theories of aging. J Appl Physiol 2003;95:1706-16.
6. Harman D. The aging process: major risk factor for disease and death. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:5360-3.
7. Longo VD, Mitteldorf J, Skulachev VP. Opinion: programmed and altruistic ageing. Nat Rev Genet 2005;6:866-72.
8. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol 1957;2:298–300.
9. Finkel T, Holbrook JN. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature 2000;408:239-47.
10. Terman A, Brunk UT. Oxidative stress, accumulation of biological 'garbage', and aging. Antioxid Redox Signal 2006;8:197-204.
11. Hald A, Lotharius J. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? Exp Neurol 2005;193:279-90.
12. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation: role in the pathogenesis of diabetic complications. Clin Chem 1986;32:37-41.
13. Alsbury S, Papageorgiou K, Latchman DS. Heat shock proteins can protect aged human and rodent cells from different stressful stimuli. Mech Ageing Dev 2004;125:201-9.
14. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. Physiol Rev 1998;78: 547–81.
15. Richter C, Park JN, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. Proc Natl Acad Sci USA 1988;85:6465-7.
16. Richter C. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to ageing. International Journal of Biochemistry and Cell Biology 1995;27:647-53.
17. Finkel T. Oxygen radicals and signaling. Curr. Opin. Cell Biol1998;10:248–53.
18. Nemoto S, Takeda K, Yu ZX, Ferrans VJ, Finkel T. A role for mitochondrial oxidants as regulators of cellular metabolism. Mol Cell Biol 2000;20:7311–8.
19. Knight JA. The biochemistry of aging. Adv Clin Chem 2000;35:1-62.
20. Rodriguez-Aguilera JC, Gavilan A, Asencio C, Navas P. The role of ubiquinone in Caenorhabditis elegans longevity. Ageing Res Rev 2005;4:41-53.
21. Liu X, Jiang N, Hughes B, Bigras E, Shoubridge E, Hekimi S. Evolutionary conservation of the clk-1-dependent mechanism of longevity: loss of mclk1 increases cellular fitness and lifespan in mice. Genes Dev 2005;19:2424-34.
22. Tower J. Transgenic methods for increasing Drosophila life span. Mech Ageing Dev 2000;118:1–14.
23. Arking R, Burde V, Graves K, Hari R, Feldman E, Zeevi A i sur. Forward and reverse selection for longevity in Drosophila is characterized by alteration of antioxidant gene expression and oxidative damage patterns. Exp Gerontol 2000;35:167–85.
24. Sun J, Tower J. FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult Drosophila melanogaster flies. Mol Cell Biol 1999;19:216–28.
25. Lin YJ, Seroude L, Benzer S. Extended life-span and stress resistance in the Drosophila mutant methuselah. Science 1998;282:943-6.
26. Murakami S, Johnson TE. A genetic pathway conferring life extension and resistance to UV stress in Caenorhabditis elegans. Genetics 1996;143:1207–18.
27. Paradis S, Ailion M, Toker A, Thomas JH, Ruvkun G. A PDK1 homolog is necessary and sufficient to transduce AGE-1 PI3 kinase signals that regulate diapause in Caenorhabditis elegans. Genes Dev 1999;13:1438–52.
28. Friedman DB, Johnson TE. Three mutants that extend both mean and maximum life span of the nematode,

Caenorhabditis elegans, define the age-1 gene. J Gerontol 1988;43:102–9.
29. Merry BJ. Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity. Int J Biochem Cell Biol 2002;34:1340–54.
30. Migliaccio E, Giorgio M, Mele S, Pelicci G, Reboldi P, Pandolfi PP, Lanfrancone L, Pelicci PG. The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. Nature 1999;402:309–13.
31. Kao AW, Waters SB, Okada S, Pessin JE. Insulin stimulates the phosphorylation of the 66- and 52-kilodalton Shc isoforms by distinct pathways. Endocrinology 1997;138:2474–80.
32. Lee AC, Fenster BE, Ito H, Takeda K, Bae NS, Hirai T i sur. Ras proteins induce senescence by altering the intracellular levels of reactive oxygen species. J Biol Chem 1999;274:7936–40.
33. Speakman JR. Body size, energy metabolism and lifespan. J Exp Biol 2005;208:1717-30.
34. Weindruch RH, Walford RL, Fligiel S, Guthrie D. The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity, and lifetime energy intake. J Nutr 1986;116:641–54.
35. Girardon N, Corcos M. Eating disorders. Osteoporosis and infertility after anorexia nervosa. Presse Med 1999;28:103-5.
36. Guarente L, Kenyon C. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. Nature 2000;408:255-62.
37. Harman D. The aging process. Proc Natl Acad Sci USA 1981;78:7124–8.
38. Heydari AR, Wu B, Takahashi R, Strong R, Richardson A. Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription. Mol Cell Biol 1993;13:2909–18.
39. Gems D, Partridge L. Insulin/IGF signalling and ageing: seeing the bigger picture. Curr Opin Genet Dev 2001;11:287–92.
40. Bonafe M, Barbieri M, Marchegiani F, Olivieri F, Ragno E, Giampieri C i sur. Polymorphic variants of IGF-1R and phosphoinositide 3-kinase genes affect IGF-I plasma levels and human longevity: cues for an evolutionary-conserved mechanism of lifespan control. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:3299–304.
41. Larsen PL, Albert PS, Riddle DL. Genes that regulate both development and longevity in Caenorhabditis elegans. Genetics 1995;139:1567–83.
42. Antebi A, Culotti JG, Hedgecock EM. daf-12 regulates developmental age and the dauer alternative in Caenorhabditis elegans. Development 1998;125: 1191–205.
43. Tissenbaum HA, Ruvkun G. An insulin like signaling pathway affects both longevity and reproduction in Caenorhabditis elegans. Genetics 1998;148:703–18.
44. Vanfleteren JR, De Vreese A. The gerontogenes age-1 and daf-2 determine metabolic rate potential in aging Caenorhabditis elegans. FASEB J 1995;13:1355–61.
45. Kimura KD, Tissenbaum HA, Liu Y, Ruvkun G. daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in Caenorhabditis elegans. Science 1997;277:942–6.
46. Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, Tabtiang R. A C.elegans mutant that lives twice as long as wild type. Nature 1993;366:461–4.
47. Pierce SB, Costa M, Wisotzkey R, Devadhar S, Homburger SA, Buchman AR i sur. Regulation of DAF-2 receptor signaling by human insulin and ins-1, a member of the unusually large and diverse C. elegans insulin gene family. Genes Dev 2001;15:672-86.
48. Taub J, Lau JF, Ma C, Hahn JH, Hoque R, Rothblatt J i sur. A cytosolic catalase is needed to extend adult life span in C. elegans daf-C and clk-1 mutants. Nature 1999;399:162–6.
49. Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu MP, Yin CM, Garofalo RS. A mutant Drosophila insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. Science 2001;292:107–10.
50. Clancy DJ, Gems D, Harshman LG, Oldham S, Stocker H, Hafen E i sur. Extension of lifespan by loss of chico, a Drosophila insulin receptor substrate protein. Science 2001;292:104–6.
51. Kirchman PA, Kim S, Lai CY, Jazwinski SM. Interorganelle signaling is a determinant of longevity in Saccharomyces cerevisiae. Genetics 1999;152:179–90.
52. Shama S, Kirchman PA, Jiang JC, Jazwinski SM. Role of RAS2 in recovery from chronic stress: Effect on yeast life span. Exp Cell Res 1998;245:368–78.
53. Jazwinski SM. Aging and longevity genes. Acta Biochimica Polonica 2000;47:269-79.
54. Masoro E. Dietary restriction. Exp.Gerontol 1995;30:291–8.
55. Wu W, Cogan JD, Pfaffle RW, Dasen JS, Frisch H, O'Connell SM i sur. Mutations in PROP1 cause familial combined pituitary hormone deficiency. Nature Genet 1998;18:147–9.
56. Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ, Bartke A. Dwarf mice and the ageing process. Nature 1996;384:33.
57. Dozmrov I, Bartke A, Miller RA. Array-based expression analysis of mouse liver genes: effect of age and of the longevity mutant Prop 1df. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2000;56:B72–B80.
58. Flurkey K, Papaconstantinou J, Miller R, Harrison D. Lifespan extension and delayed immune and collagen aging in mutant mice with defects in growth hormone production. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:6736–41.
59. Argentino DP, Dominici FP, Munoz MC, Al-Regaiey K, Bartke A, Turyn D. Effects of long-term caloric restriction on glucose homeostasis and on the first steps of the insulin signaling system in skeletal muscle of normal and Ames dwarf (Prop1df/Prop1df) mice. Exp Gerontol. 2005;40:27-35.
60. Radosavljevic T, Todorovic V, Vucevic D, Sikic B. The growth hormone axis and insulin-like growth factors. Med Pregl 2005;58:558-62.
61. Coschigano KT, Clemmons D, Bellush LL, Kopchick JJ. Assessment of growth parameters and life span of GHR/BP gene-disrupted mice. Endocrinology 2000;141: 2608–13.

62. Longo VD, Finch CE. Evolutionary Medicine: From Dwarf Model Systems to Healthy Centenarians? Science 2003;28:1342-6.
63. Holzenberger M, Dupont J, Ducos B, Leneuve P, Geloen A, Even PC i sur. IGF-1 receptor regulates life span and resistance to oxidative stress in mice. Nature 2003;421: 182–6.
64. Bluher M, Kahn BB, Kahn CR. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue. Science 2003;299:572–4.
65. Bluher M, Michael MD, Peroni OD, Ueki K, Carter N, Kahn BB. Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance. Dev Cell 2002;3:25–38.
66. Isaia GC, D'Amelio P, Di Bella S, Tamone C. Is leptin the link between fat and bone mass? J Endocrinol Invest 2005;28:61-5.
67. Paolisso G, Barbieri M, Bonafe M, Franceschi C. Metabolic age remodeling: the lessons from centenarians. Eur J Clin Invest 2000;30:888–94.
68. Barbieri M, Bonafe M, Franceschi C, Paolisso G. Insulin/IGF-I signaling pathway: an evolutionary conserved mechanism of longevity from yeast to humans. Am J Physiol Endocrinol Meatb 2003;285:1064-71.
69. Medawar PB. Old age and natural death. Modern Quart 1946;1:30–56.
70. Gavrilov LA, Gavrilova NS. Evolutionary theories of aging and longevity. Sci World J 2002;2:339-56.
71. Brune T, Bonne G, Denecke J, Elcioglu N, Hennekam RC, Marquardt T i sur. Progeria: a new kind of Laminopathy - report of the First European Symposium on Progeria and creation of EURO-Progeria, a European Consortium on Progeria and related disorders. Pediatr Endocrinol Rev 2004;2:39-45.
72. Martin GM, Oshima J. Lessons from human progeroid syndromes. Nature 2000;408:263-6.
73. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE i sur. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. Science. 2005;309:481-4.
74. Vijg J. Somatic mutations and aging: a re-evaluation. Mutation Research 2000;447:117-35.
75. Grist SA, McCarron M, Kutlaca A, Turner Dr, Morley AA. In vivo human somatic mutation: frequency and spectrum with age. Mutation Research 1992;266:189-96.
76. Dubrova YE, Jeffreys AJ, Malashenko AM. Mouse minisatellite mutations induced by ionizing radiation. Nature Genetics 1993;5:92-4.
77. Singhal RP, Mays-Hoopes LL, Eichhorn GL. DNA methylation in aging of mice. Mechanisms of Ageing and Development 1987;41:199-210.
78. Williams GC. Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. Evolution 1957;11:398–411.
79. Rose MR, Charlesworth B. Genetics of life history in Drosophila melanogaster. II. Exploratory selection experiments. Genetics 1981;97:187-96.
80. Kirkwood, TB. The nature and causes of ageing. Ciba Found Symp 1988;134:193-207.
81. Kirkwood, TB. Evolution of ageing. Mech Ageing Dev 2002;123:737-45.
82. Kirkwood, TB. Comparative life spans of species: why do species have the life spans they do? Am J Clin Nutr 1992;55:1191-5.
83. Austad, SN. Retarded Senescence in an Insular Population of Virginia Opossums (Didelphis-Virginiana). Journal of Zoology 1993;229:695-708.
84. Montagna P. Hypothalamus, sleep and headaches. Neurol Sci 2006;27:138-43.
85. Harman SM, Blackman MR. Use of growth hormone for prevention or treatment of effects of aging. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2004;59:652-8.
86. Blackman MR, Sorkin JD, Munzer T, Bellantoni MF, Busby-Whitehead J, Stevens TE i sur. Growth hormone and sex steroid administration in healthy aged women and men: a randomized controlled trial. JAMA 2002;288:2282-92.
87. Swerdlow AJ, Higgins CD, Adlard P, Preece MA. Risk of cancer in patients treated with human pituitary growth hormone in the UK, 1959-85:a cohort study. Lancet 2002;360:273-7.
88. Cardinali DP, Pévet P. Basic aspects of melatonin action. Sleep Med Rev 1998;2:175–90.
89. Iguchi H, Kato KI, Ibayashi H. Age-dependent reduction in serum melatonin. concentrations in healthy human subjects. J Clin Endocrinol Metab 1982;55:27–9.
90. Anisimov VN, Popovich IG, Zabezhinski MA, Anisimov SV, Vesnushkin GM, Vinogradova IA. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen. Biochim Biophys Acta 2006;(u tisku)
91. Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, Garcia-Maurino S, Reiter RJ i sur. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. FASEB J 2004;18:537–9.
92. Srinivasan V, Maestroni GJM, Cardinali DP, Esquifino AI, Pandi Perumal SR, Miller SC. Melatonin, immune function and aging. Immun Ageing 2005;2:17.
93. Ostwald D, Karpac J, Hochgeschwender U. Effects on hippocampus of lifelong absence of glucocorticoids in the pro-opiomelanocortin null mutant mouse reveal complex relationship between glucocorticoids and hippocampal structure and function. J Mol Neurosci 2006;28:291-302.
94. Uzieblo-Zyczkowska B, Sidlo E, Stelmaszuk T. DHEA-slows down the aging process? Pol Merkuriusz Lek 2005;114:831-4.
95. Patel MA, Katyare SS. Treatment with DHEA stimulates oxidative energy metabolism in the cerebral mitochondria A comparative study of effects in old and young adult rats. Neurosci Lett 2006;402:131-6.
96. Eastell R. Role of oestrogen in the regulation of bone turnover at the menarche. J Endocrinol 2005;185:223-34.
97. Lamon-Fava S, Postfai B, Diffenderfer M, DeLuca C, O'Connor J Jr, Welty FK i sur. Role of the estrogen and progestin in hormonal replacement therapy on apolipoprotein A-I kinetics in postmenopausal women. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006;26:385-91.
98. Goodman Y, Bruce AJ, Cheng B, Mattson MP. Estrogens attenuate and corticosterone exacerbates excitotoxicity,

oxidative injury, and amyloid beta-peptide toxicity in hippocampal neurons. J Neurochem 1996;66:1836-44.
99. Markou A, Duka T, Prelevic GM. Estrogens and brain function. Hormones 2005;4:9-17.
100. Kirkwood TB. New science for an old problem. Trends Genet 2002;18:441–2.
101. Browner WS, Kahn AJ, Ziv E, Reiner AP, Oshima J, Cawthon RM i sur. The genetics of human longevity. Am J Med 2004;117:851-60.
102. Sinclair D, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles – a cause of aging in yeast. Cell 1997;91:1033–42.
103. Brachmann CB, Sherman JM, Devine SE, Cameron EE, Pillus L, Boeke JD. The SIR2 gene family, conserved from bacteria to humans, functions in silencing, cell cycle progression, and chromosome stability. Genes Dev 1995;9:2888–902.
104. Rine J, Herskowitz I. Four genes responsible for a position effect on expression from HML and HMR in Saccharomyces cerevisiae. Genetics 1987;116:9–22.
105. Kennedy BK, Austriaco NR Jr, Zhang J, Guarente L. Mutation in the silencing gene SIR4 can delay aging in S. cerevisiae. Cell 1995;80:485–6.
106. Kaeberlein M, McVey M, Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in Saccharomyces cerevisiae by two different mechanisms. Genes Dev 1990;13:2570–80.
107. Kim S, Benguria A, Lai CY, Jazwinski M. Modulation of life span by histone deacetylase genes in S. cerevisiae. Mol Biol Cell 1999;10:3125–36.
108. Gangloff S, McDonald JP, Bendixen C, Artur L, Rothstein R. The yeast type 1 topoisomerase top3 interacts with Sgs1, a DNA helicase homologue: a potential eukaryotic reverse gyrase. Mol Cell Biol 1994;14:8391–8.
109. Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in Caenorhabditis elegans. Nature 2001;410:227-30.
110. Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A i sur. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. Cell 2001;107:137-48.
111. Langley E, Pearson M, Faretta M, Bauer UM, Frye RA, Minucci S. Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. EMBO J 2002;21:2383-96.
112. Labinskyy N, Csiszar A, Veress G, Stef G, Pacher P, Oroszi G i sur. Vascular dysfunction in aging: potential effects of resveratrol, an anti-inflammatory phytoestrogen. Curr Med Chem 2006;13:989-96.
113. Hekimi S, Guarente L. Genetics and the specificity of the aging process. Science 2003;299:1351-4.
114. Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Nandi A, Gurnani P i sur. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. Science. 2005;309:1829-33.
115. Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Gurnani P, Nandi A, Kurosu H i sur. Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho. J Biol Chem 2005;280:38029-34.
116. Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Nandi A, Gurnani P i sur. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. Science 2005;309:1829-33.
117. Weismann, A. Über die Dauer des Lebens. Verlag von Gustav Fisher, Jena, Germany 1882.
118. Toussaint O, Remacle J, Dierick JF, Pascal T, Frippiat C, Zdanov S i sur. From the Hayflick mosaic to the mosaics of ageing. Role of stress-induced premature senescence in human ageing. Int J Biochem Cell Biol 2002;34: 1415–29.
119. De Lange T. Protection of mammalian telomeres. Oncogene 2002;21:532–40.
120. Oikawa S, Kawanishi S. Site specific DNA damage at GGG sequence by oxidative stress may accelerate telomere shortening. FEBS Lett 1999;453:365-8.
121. Blackburn EH. Telomere states and cell fates. Nature 2000;408:53-6.
122. Wright WE, Shay JW. Historical claims and current interpretations of replicative aging. Nature biotechnology 2002;20:682–8.
123. Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. Am J Hum Genet 1994;55:876-82.
124. Harley CB. Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb? Mutat rec 1991;256:271-82.
125. d'Adda di Fagagna F, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, Von Zglinicki T, i sur. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. Nature 2003;426:194–8.
126. Donehower LA. Does p53 affect organismal aging? J Cell Physiol 2002;192:23–33.
127. Shay JW, Wright WE. Telomerase: a target for cancer therapeutics. Cancer Cell 2002;2:257–65.
128. Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, Jones S, Ghebranious N, Igelmann H i sur. p53 mutant mice that display early aging associated phenotypes. Nature 2002;415:45–53.
129. Dumont P, Royer V, Pascal T, Dierick JF, Chainiaux F i sur. Growth kinetics rather than stress accelerate telomere shortening in cultures of human diploid fibroblasts in oxidative stress-induced premature senescence. FEBS Lett 2001;502:109–12.
130. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. J Cell Physiol 2002;192:1–15.
131. de Magalhaes JP, Toussaint O. GenAge: a genomic and proteomic network map of human ageing. FEBS Lett 2004;571:243-7.
132. Lee WC. Detecting population stratification using a panel of single nucleotide polymorphisms. Int J Epidemiol 2003;32:1120.