

# ŽIVOT jako DĚDIČNÉ SMRTELNÉ ONEMOCNĚNÍ přenášené POHLAVNÍMI BUŇKAMI

*(Klinické projevy stárnutí, stáří a choroby, horméza, regenerace a kmenové buňky, oxidační a antioxidační mechanismy, nádorová proliferace, výjimečnost lidského mozku) - 3. část*

## 4. Klinické projevy stárnutí

U žen je to známá *menopauza* jako důsledek vyhasínání funkce vaječníků. Menší pozornost má obdobný proces u mužů (viz obrázky 19, 20, 21, 22).

### Stáří a choroby

„Stáří není nemoc, ale nebývá bez chorob.“ Snížená funkce orgánů u starších jedinců vede k vyššímu výskytu některých chorob (Obr. 23). Podle N. Lane (Lane N., 2003) stárnutí je spíše funkcí vzrůstajícího intracelulárního oxidačního stresu než postupujícího věku jedince. Na druhé straně však únik „volných radikálů“ (ROS) z mitochondrií se zvyšuje s věkem. Mitochondriální únik ROS navozuje genetikou odpověď způsobenou předcházejícími infekcemi (nebo většími stresy); tento únik však stále pokračuje a tím i odpověď, tj. zvýšená exprese genů na kritický redox-signal (nevyváženost mezi produkcí ROS

## Klinické projevy stárnutí

### Ženy

- **menopauza (vyhasínání funkce vaječníků)**

### Muži (po 40 r.)

- **andropauza (testosteron) – 20 % 60-80 let**  
psycholog. problémy, únavnost, slabost, úbytek svaloviny a kostní hmoty, porucha hematopoeze, oligospermie, sexuální dysfunkce, podrážděnost, úzkost, nespavost, porucha paměti, snížení kognitivních funkcí

- **adrenopauza (dehydroepiandrosteron DHEA)**

- **somatopauza (GH/IGF-1, melatonin)**

Obr. 19: Klinické projevy stárnutí u žen a u mužů

## **SARKOPENIE (úbytek svalové hmoty)**

- za každou dekádu o 2,5 až 5,0 kg (úbytek aktivní tělesné hmoty)
- zvyšuje se hmota neaktivní
- úbytek o 10 % → snížení imunity
- snížení výdeje energie (základ rozvoje obezity)
- pohybová inaktivita vede k atrofii svalových vláken (znamená to „šlápnutí na klouzačku, z níž je nesnadné vystoupit“)
- k oslabování svalu dochází, není-li pravidelně zatěžován na hladině 70 - 90% maxima

Obr. 20: Projevy sarkopenie (úbytek svalové hmoty)

## **OSTEOPORÓZA (úbytek kostního minerálu)**

**Postmenopauzová** (nedostatek estrogenů → potlačení životnosti osteocytů, nedostatečná odpověď osteoblastů na mechanické podněty a opravy mikropoškození při stárnutí)

- **Senilní** (převaha osteoresorpce nad osteoprodukcí)  
Potenciace osteoklastogeneze (změna v interakci mezi RANKL - RANK- osteoprotegerin)

**Tvorba kosti vyžaduje:** (1) osteoinduktivní signály,  
(2) schopnost buněk reagovat na signály  
**Morfogenní proteiny a nadrodina TGF**

**Osteoresorpci potlačuje:** kalcitonin (*inhibuje osteoklasty, ale nepotlačuje tvorbu kolagenu osteoblasty*)  
aminobisfosfonáty *sníží kostní remodelaci potlačením a apoptózou osteoklastů*  
raloxifen (agonista estrogenů)

Obr. 21: Projevy osteoporózy (úbytek kostního minerálu)

## **Stárnutí EPIDERMIS (POKOŽKA)**

**Morfologie:** oploštění dermis-epidermálních spojení  
FAS/FASL-apoptóza: ztenčování epidermis, pokles proliferace a nárůst apoptózy buněk pod granulární vrstvou

### **Stárnutí vlasů**

**Cyklická rekonstrukce** intaktní jednotky pigmentového vlasového váčku je shodná na celé vlasové pokrývce, a to v prvních 10ti vlasových cyklech tj. asi do 40 let věku

*Pak se nastává geneticky regulované vyčerpávání pigmentové potence jednotlivých folikulů a tvorba šedivých až bílých vlasů; úbytek pigmentu navozuje nejprve snížení aktivity tyrosinasy v melanocytech vlasového bulbu, po té suboptimální interakce mezi kortikálními keratocyty a melanocyty a defektní migrace melanocytů z rezervoárů v horních vrstvách kořínků do pigmentovaných oblastí rozruší normální funkci celé vlasové jednotky. Významnou roli hraje zvýšení ROS a snížení anti-ROS potenciálu s poškozováním nukleární a mitochondriální DNA*

Obr. 22: Stárnutí epidermis

a anti-oxidačním systémem) perzistuje, což vede k chronickému stresovému stavu, charakteristickému pro vyšší věk.

Strašákem seniorů je *Alzheimerova* nebo *Parkinsonova choroba*.

*Alzheimerova choroba* je neurodegenerativní onemocnění především starších jedinců projevující se progresivní ztrátou paměti a demencí. Depozity amyloidu  $\beta$  ( $A\beta$ ) a vytváření neurofibrilárních smotků způsobuje progresivní zánik neuronů.

*Parkinsonova choroba* je neurodegenerativní onemocnění neuro-melanin obsahujících neuronů mozkového kmene (pars compacta substantia nigra). Při *ztrátě striátového dopaminu* o 80 % dochází k zhoršujícím se klinickým projevům jako je akineze, rigidita, klidový třes. Příčina je multifaktoriální s genetickou predispozicí: exogenní a interní (1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropteridin-like faktor nebo  $\alpha$ -synuklein), toxiny a faktory stárnutí, deplece DGNF (nervový růstový faktor gliových buněk) a především oxidační stres (substantia nigra obsahuje relativně málo glutathionu bránícímu účinku reaktivních forem kyslíku) iniciují zánětlivou reakci neuroglie vedoucí v konečném důsledku k zániku postižených motorických neuronů. (Obr.25)

S postupujícím věkem dospělých jedinců se snižují funkce řady orgánů, u někoho pomaleji u jiného rychleji. Jako měřítko „úspěšného stárnutí“, tj. bez výskytu závažnějších zdravotních nedostatků, byla doporučena hodnota *cystatinu C*. Jeho stanovení se používá jako měřítko funkce glomerulů; zřejmě odráží nejen dlouhodobé zvýšení krevního tlaku, ale má tímto i vliv na kardiovaskulární systém a kognitivní funkce (Guralnik JM, 2008).

### **Stárnutí a imunitní systém**

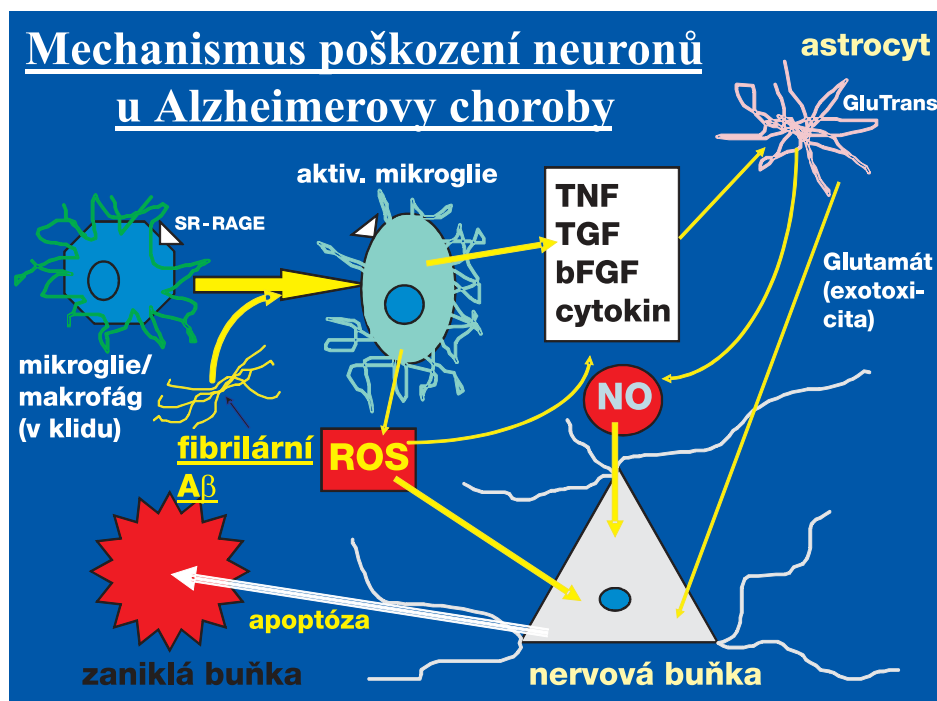
Je všeobecně známo, že stárnutím ubývá na imunitní obraně organismu (De La Fuente M., 2002). Nejvíce bývá postižena imunita zprostředkovaná buňkami, což se projevuje hlavně na funkci T-lymfocytů (snížení proliferativní aktivity a produkce IL-2). Přitom nespecifická imunitní odpověď nebývá dotčena. Není tomu však u všech jedinců. Ti, kteří mají zachovanou dobrou imunitní odpověď, se dožívají vyššího věku. Poruchy v imunitním obranném mechanismu se kladou na vrub zvýšenému oxidačnímu stresu.

# Choroby přibývající s věkem

- \* **M. Alzheimer**
  - \* **Ateroskleróza**  
ICHS, AMI, iktus  
nefropatie
  - \* **Nádory**
  - \* **Katarakty**
  - \* **Diabetes typ 2**
  - \* **Osteoporóza**
  - \* **M. Parkinson**
- \* **Hyperparatyreóza**
  - \* **Hypotyreóza**
  - \* **Poruchy imunity**
  - \* **Monoklonální gamapatie**
  - \* **Mnohočetný myelom**
  - \* **Degenerace makuly**

Jejich přítomnost ovlivňuje hodnoty biochemických testů

Obr. 23: Nejčastější choroby vyššího věku



Obr. 24: Schéma mechanismu vzniku Alzheimerovy choroby

## 5. Reparace a regenerace

V průběhu života jedince buňky některých tkání jednak zanikají a jednak vznikají nové (regenerace), některé existují po celý život. Udává se, že tkáň lidského jedince se v průměru obnoví za každých sedm let. Je to zkrácený údaj; jsou značné rozdíly mezi buňkami různých tkání (orgánů). Kupř. velmi rychle se obnovují epitelové buňky tenkého střeva (každých 24-48 hodin), rovněž tak parietální buňky žaludeční sliznice; epitelové kožní buňky se obnovují v průměru během tří týdnů, životnost červených krvinek je 120 dní, hepatocyty se obnovují po sedmi měsících; kardio-

myocyty v množství 1 % za rok ve věku 25 let a pouze 0,45 % v 75ti letech (Bergmann O., 2009). Buňky nervové se po narození neobnovují vůbec, jen ve velmi malém počtu v 1. roce života. Získané informace uložené v cytoplasmě neuronů v průběhu ontogeneze by jejich zánikem zanikly také.

Zánik pro organismus nepotřebných nebo „opotřebovaných“ buněk se děje pochodem, nazývaným **apoptóza**. Jde o proces, který probíhá v organismu nepozorovaně a je programovaný, na rozdíl od násilného zániku buněk způsobeném škodlivinou, který se nazývá **nekróza**. Ta navozuje větší nebo menší odpověď orga-

nismu (lokální nebo celkovou). Obrazně řečeno: apoptózu můžeme přirovnat k jakési „eutanázii buňky“ a nekrózu k „buněčné vraždě“.

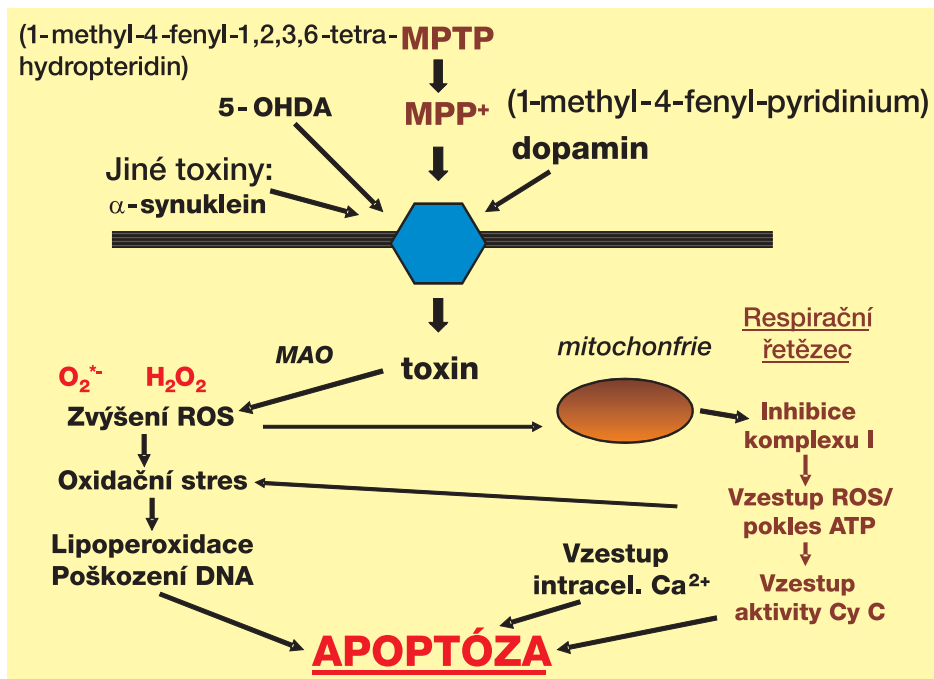
Za „odklízení četů“ proteinových molekul je možno považovat **ubikvitin-proteasomový systém** nazývaný také **multikatalytický proteinázový komplex**. Jde o velmi důležitou *extralyzozomální degradaci nepotřebných proteinů* v eukaryontních buňkách. Odstraňují se takto kupř. klíčové proteiny důležité při regulaci cyklu buněčného dělení (cykliny aktivující cyklin-dependentní kinázy), které splnily momentálně svoji úlohu, a další proteinové faktory umožňující vývoj plodu, diferenciaci, apoptózu, genovou transkripci, signální transdukcii, stárnutí, zánětlivou nebo stresovou odpověď. Oxidované proteiny jsou přednostně degradovány **20S-proteasomovým komplexem** nezávislým na přítomnosti ATP, kdežto proteiny označené ubikvitinem a polypeptidy jsou degradovány **26S-proteasomem**, který potřebuje ATP.

**Lysozomy** jsou dalším místem, kde dochází k degradaci proteinů proteolýzou. I tato dráha je aktivována stárnutím buněk. Akumulace *lipofuscinu*, což je agregát oxidovaných proteinů a lipidů, který tvoří typické inkluze ve stárnoucích buňkách, ovlivňuje lyzozomální aktivitu. Opravné mechanismy začínají už při poškození jaderné DNA (Obr. 26).

Dalším důležitým mechanismem, který ovlivňuje přenos genetické informace, je **interference RNA (RNAi)**. Efektorovou molekulou je soubor tzv. **mikroRNA (miRNA = RNA)**, což jsou krátké (19 - 24 bází) nekódující úseky RNA, které posttranslačně regulují genovou expresi. V lidském genomu bylo identifikováno asi 300 molekul různých miRNA. Tímto mechanismem lze rovněž zabránit uplatnění škodlivých alterací v DNA.

### Udržování buněk ve funkčním stavu a jejich regenerace

Děje se tak za pomoci mechanismu nazývaného **hormesis**. Aplikace hormézy v aktivitách ovlivňujících stárnutí respektive zpomalujících stárnutí je založena na hypotéze, že biologické stárnutí spočívá na progresivním **selhávání homeodynamiky** (Suresh I.S. Rattan, 2006). Se vzrůstajícím věkem se hromadí narůstající alterace nuk-



Obr. 25: Schéma mechanismu vzniku Parkinsonovy choroby



Obr. 26: Schéma opravných mechanismů poškozeného úseku DNA

leových kyselin, proteinů a lipidů. *Neschopnost udržovat tyto molekuly ve funkčním stavu a porucha mechanismů jejich obnovy ve stáří značně stoupá.* Tato nepříznivou situaci zlepšuje krátké vystavení buněk i celého organismu mírným stresovým podnětům, které navodí expresi genů produkujících faktory, které pozitivně ovlivňují mechanismy údržby a reparace buněk.

Indukce stresové odpovědi se děje prostřednictvím transkripčních faktorů reagujících na tepelný šok (heat shock transcription factors = HSF), působících jako zprostředkovatelé mezi environmen-

tálním stresem a stresovou odpovědí buněk (organismu). U obratlovců byly identifikovány čtyři různé HSF (HSF1 až HSF4). Tyto transkripční faktory aktivují v buněčném jádře geny kódující produkci proteinů teplotního šoku (heat shock proteins = HSP). HSP u savců tvoří rodiny členů, které se liší mírou inducibility, intracelulární lokalizací a funkcí (jako chaperony nebo proteázy). Úloha chaperonů spočívá v renaturaci „rozbalených“ (unfolded tj. částečně denaturovaných) molekul proteinů. Na ty, které nelze takto opravit, působí proteázy, pomáhající denaturované proteiny odstranit.

Na bifázický efekt při aplikaci různých látek (kupř. jedů) upozorňoval už *Paracelsus*, když konstatoval, že každá látka se může stát jedem, záleží jen na množství podané dávky. Přitom v určitém malém množství může působit i blahodárně (Obr. 27).

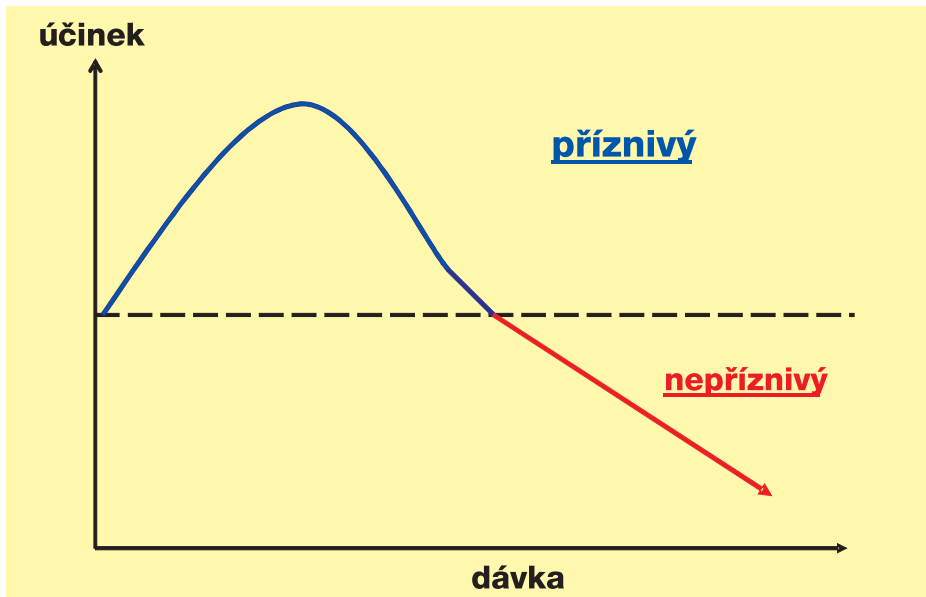
Hormetický efekt (bifázický účinek) se netýká jen podávaných chemických látek (nebo nutrientů), ale též různých aktivit organismu, přísunu a výdeje energie a také vlivu vnějšího prostředí (Tab. 4). Na rozdíl od mírného stresu nadměrný stres (!!) způsobuje urychlení stárnutí (viz Obr. 28) (*Ben-Porath I., 2004*). K tomu se váže další termín - *allostasis*, což je nastavení organismu na hraniční hodnoty zátěže (stresoru), které mají ještě schopnost pomocí regulačních mechanismů ustát a adaptovat se i na větší změny prostředí, tj. udržet stabilitu organismu při větších a dlouhodobých změnách prostředí.

Porušená alostáza je charakterizována výrazně zvýšenou stresovou odpovědí a pomalým návratem k normě. (Tab. 4)

**Mírný stres** navodí aktivaci transkripčních faktorů jako jsou faktory odpovědi na teplotní šok (heat shock factors = HSFs) a jejich translokaci do buněčného jádra, kde iniciují expresi genů teplotního šoku s následnou transkripcí a preferenční translací a tvorbou proteinů teplotního šoku (HSP). Optimální odpověď na mírný stresor prostřednictvím syntézy a aktivity HSP je nezbytná pro přežívání buněk. Na druhé straně nedostatečná nebo pozmeněná odpověď navozuje abnormální růst a vývoj, stárnutí a apoptózu. Když na buňky začne působit stresor, projeví se to ve změnách cytoskeletonu a cytoplazmatických struktur, morfologii buněčných povrchů, celulárním redox-stavu, syntéze DNA, proteinovém metabolismu a na stabilitě buněčných bílkovin.

Stres vyvolává molekulové poškození, zejména abnormální poskládání polypeptidového řetězce proteinů, které mohou agregovat a navodit kaskádu stresové odpovědi (*Rattan S., 2006*). Na stresovou odpověď buněk možno nahlížet jako na adaptivní reakci, jejímž účelem je ochrana a uchování jejich strukturální a funkční integrity.

Pravidelná mírná tělesná námaha (*Raddak Z., 2008*) zlepšuje kardiovaskulární systém stimulací adaptačních mechanismů jako je *produkce NO* (vazodilatace), zvyšuje objem svalové hmoty a ovlivňuje



Obr. 27: Bifázický efekt při podání určité látky v různém množství

<b>HORMETICKÉ FAKTORY</b>	<b>BUNĚČNÝ STRES, SIGNALIZACE</b>	<b>HORMETICKÉ EFEKTY</b>
<b>Životní styl</b> Pohyb Restrikce energie Strava Mentální cvičení	Volné radikály Tok iontů Deplece energie ↓	<b>Antioxidanty</b> Superoxiddismutasa Katalasa Glutathionperoxidasa
<b>Expozice zevních škodlivin</b> toxiny, radiace teplota voda	↓ <b>Receptory</b> Kinázy, fosfatázy deacetylázy ↓	<b>Proteinové chaperony</b> HSP-70 GRP-78
<b>Expozice vnitřních faktorů</b> Ischemie Endokrinní faktory neurotransmitery	↓ <b>Transkripční faktory</b> Nrf-2 FOXO, CREB NF-κB	<b>Růstové faktory</b> BDNF, VEGF bFGF Mitochondr. proteiny Ca-reg. faktory

Tab. 4: Hormesis (indukující faktory, mechanismus, následné účinky)

pozitivně rezistenci vůči stresu. Ukázalo se, že pravidelná tělesná cvičení snižují incidenci Alzheimerovy choroby zvýšením tvorby *neurotrofinů* jako je nervový růstový faktor (NGF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), dochází k aktivaci IGF-1 nebo Ca-kalmodulinové proteinkinázy II. Hormetický účinek na mentální zdraví lze navodit nejen cvičením, plaváním ale též zdravou dietou a správným životním stylem (Gomez-Pinilla F., 2008).

#### **Regenerace pomocí kmenových buněk**

Pro regenerační medicínu by se z teoretického hlediska hodily nejlépe *embryonální*

*kmenové buňky*, které se vyznačují omnipotencí (pluripotencí), to znamená, že z nich mohou vzniknout všechny buňky určitého jedince, kupř. kdyby byly k dispozici skladované buňky z oplodněného vajíčka jednoho z identických dvojčat. Toto není v humánní medicíně reálné, proto jsou hledány jiné cesty, kupř. reprogramování somatických buněk, které by tak získaly vývojový program (pluripotenci) embryonálních kmenových buněk. Byly hledány způsoby, jak buňky s pluripotentními vlastnostmi připravit z buněk tkání daného jedince i v dospělosti. Jednou z takových technik je příprava *indukovaných pluripotentních kmenových buněk*

(iPS). Princip spočívá v simultánním vnesení definovaných transkripčních faktorů aktivujících vývojový embryonální program pomocí retrovirových vektorů (kupř. Okita K., 2007 nebo Yamanaka S., 2007). Tento způsob ale má potenciální nebezpečí mutagenese (nepředvídatelné genetické dysfunkce). Jsou proto hledány další modifikace. Jednou z velmi slibných je *reprogramování somatických buněk za použití polycistronového vektoru* (Carey BW, 2009). Reprogramování spočívá v non-virové transfekci multiprotein exprimujícího vektoru (vazba na 2A peptidy), který kóduje sekvenci čtyř transkripčních faktorů (*Oct3/4, Sox2, c-Myc a Klf4*) charakteristických pro pluripotenci embryonálních kmenových buněk, do genomu somatických buněk (kupř. fibroblastů nebo keratocytů). Kombinací tohoto non-virového vektoru s „piggyBac transposonem“ se výrazně zvýšila exprese potřebných markerů pluripotence.

Vysoce diferencované savčí buňky jako jsou kupř. *kardiomyocyty* nejsou schopny dále se dělit; jsou-li poškozeny (akutní infarkt myokardu), neregenerují a jsou nahrazeny jizvou. Naproti tomu embryonální a fetální kardiomyocyty si schopnost proliferovat udržují. Nedávno (Engel FB, 2005) bylo v experimentu prokázáno, že ovlivněním jednoho z regulačních faktorů cyklu buněčného dělení, kterým je *p38 MAP-kináza*, lze navodit proliferaci též u dospělých savčích kardiomyocytů. Faktor *p38* je negativní regulátor exprese genů působících na mitózu, jako jsou cykliny A a B. Aktivita kardiocystického *p38α* nepřímo koreluje s proliferací kardiomyocytů v embryonálním a fetálním období. Tyto experimenty prokazují, že je možné ovlivnit potlačenou proliferaci buněk srdečního svalu, navodit jejich dediferenciaci (návrat do embryonálního stádia) a umožnit jejich regeneraci v poškozeném místě aplikací látek inhibujících faktor *p38*. Srdeční tkáň obsahuje také malý rezervoár kmenových a progenitorových buněk (Barile L., 2007; Roccio M., 2008) prokazatelné přítomností charakteristických markerů jako je *c-Kit, Sca-1, Isl-1* nebo *MDR-1* s regeneračním potenciálem. Toto otvírá novou terapeutickou strategii - *kardiomyoplastiku*, která by mohla být využita pro obnovení poškozeného myokardu.

*Pokračování příště*