

Лекція № 8

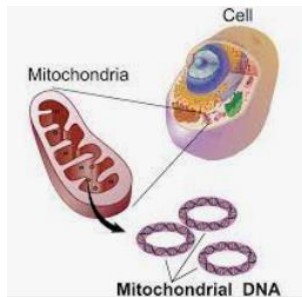
Тема: Прояв старіння на молекулярному, субклітинному та клітинному рівнях
План

1. Вік та частота мутацій
2. Зміна структури і функції генів при старінні
3. Глікозилювання білків і ДНК
4. Метилування ДНК і старіння
5. Окисний стрес та старіння
6. Старіння та репарація ДНК
7. Старіння та обмін речовин
8. Теломери, теломераза і старіння

1. Вік та частота мутацій

Теорія соматичних мутацій.

Старіння є результат взаємодій різних ендогенних та екзогенних пошкоджуючих агентів з генетичним матеріалом клітини і поступового накопичення випадкових мутацій в геномі соматичних клітин. Пошкодження ядерної та мітохондріальної ДНК соматичних клітин приводять до активації чи інактивації специфічних генів, що грають роль в регуляції клітинного циклу і контролю росту.



Точкова мутація:	Делеція	Транслокація
<p style="text-align: center;"> \dotsACGAUCUAU\dots Thr Ile Tyr ↓ точечная мутация \dotsAGGAUCUAU\dots Arg Ile Tyr </p>		
<p>Прогерія - один із рідкісних генетичних дефектів. При прогерії виникають зміни шкіри та внутрішніх органів, які зумовлені передчасним старінням організму. Класифікують дитячу прогерію (синдром Гетчінсона (Хатчінсона) - Гілфорда) і прогерію</p>	<p>Синдром «кошачого крику». В основі делеція (втрата від третини до половини, рідше повне втрачання) короткого плеча 5-ї хромосоми. Вперше описаний Леженом у 1963 р. Ознака синдрому - незвичайний плач дітей, що нагадує муркотіння або крик кішки Це пов'язано із патологією гортані або голосових зв'язок. Окрім</p>	<p>Філадельфійська хромосома або філадельфійська транслокація - це генетична аномалія, що виникає внаслідок обміну ділянками між ділянками 22-ї та 9-ї хромосом з подальшим синтезом химерного білка. Цю аномалію пов'язують з хронічним мієлоцитарним лейкозом.</p>

дорослих (синдром Вернера).

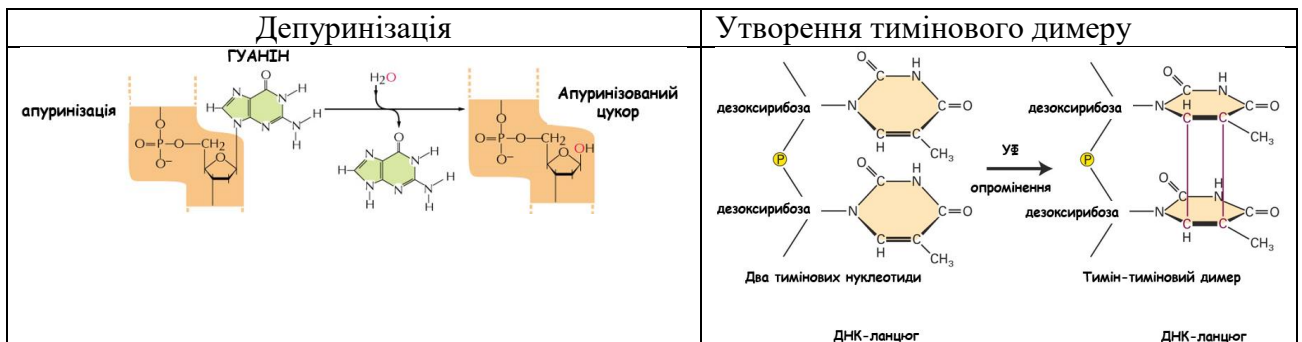
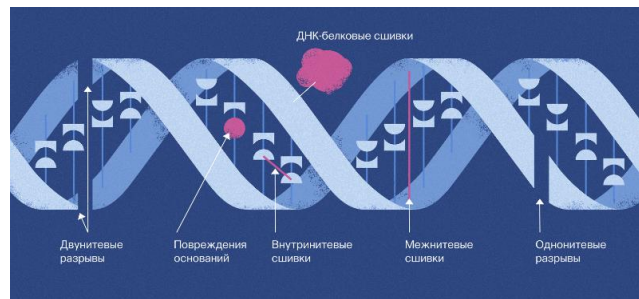
Американські дослідники виявили, що причиною «дитячої старості» або прогерії Хатчинсона-Гілфорда є лише одна мутація. Причиною хвороби є точкова мутація - при цьому в молекулі ДНК змінений лише один нуклеотид. Хвороба не є спадковою і виникає заново у кожного хворого.



«кошачого крику», є розумова та фізична недорозвиненість, мікроцефалія (аномально зменшена голова). Характерний зовнішній вигляд хворих: місяцеподібне обличчя (лялькове), малі розміри верхньої щелепи, високе піднебіння, плоска спинка носу, косоокість, вушні раковини розташовані низько і деформовані.



Протягом доби на одну клітину приходить 12000-14000 депуринізацій, 600-700 депіримідинізацій, 55000 однострижкових розривів ДНК, 9 двострижкових розривів ДНК, 8 міжстрижкових перехресних швів в молекулі ДНК. Накопичення з віком таких мутацій в різних органах і тканинах є основним фактором, що визначає розвиток вікової патології, включаючи рак.



Кожної секунди у геномі виникає як мінімум одне пошкодження. Тому важливою є система репарації таких пошкоджень. Частота мутацій збільшується з віком у багатьох

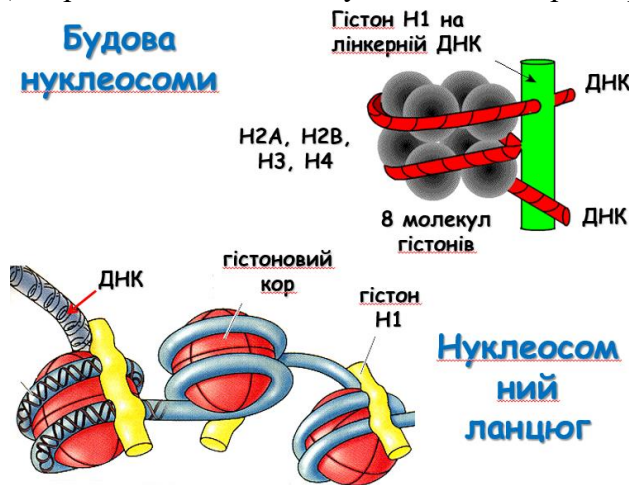
тканинах, проте ступінь такого збільшення суттєво змінюється. Найбільша частота мутацій в клітинах тонкого кишечника та сечового міхура.

2. Зміна структури і функції генів при старінні

Вираженість транскрипційного процесу

Із віком у соматичних клітинах накопичуються не тільки мутації, але й хромосомні перебудови. В результаті змінюється регуляція експресії генів. **Експресія генів** – це регуляція реалізації генетичної інформації на рівні синтезу РНК та білків. **Транскрипційна активність клітини** (синтез РНК) при старінні організму знижується. Проте рівень загальної РНК залишається постійним за рахунок зниження швидкості оновлення РНК.

В організмі, що старіє спостерігається зникнення в клітинах певних типів мРНК, та реєструється поява деяких типів мРНК, що не утворювалися раніше. Було з'ясовано, що змінюється хроматин через зміни у гістоні Н1, що призводить до зміни взаємодії «Гістон-ДНК», внаслідок чого ДНК робиться більш доступною для транскрипції.



Зміни трансляції (синтез білка) в процесі старіння вивчають за вмістом рРНК, мРНК і активності аміноацил-тРНК-синтетази (ферменти активації амінокислот). З'ясувалося, що у віці від 12 до 70 років у людей втрачається до половини генів рРНК, які продубльовані в геномі більше 300 разів.



Інтенсивність білкового синтезу у зрілому віці у цілому знижується.

3. Глікозилювання білків і ДНК

Нуклеїнові кислоти і білки можуть бути модифікованими за допомогою додавання цукрів до їх вільних аміногруп, що веде до структурної та функціональної перебудови молекул. Глюкоза здатна ковалентно, без участі ферментів, модифікувати білки.

Глюкоза + вільні аміногрупи → перетворення їх у більш стабільні продукти Амадори → кінцеві продукти глибокого глікозилювання (AGE).

AGE – важкорозчинні, стійкі до протеолітичного розщеплення, активні хімічно, утворюють внутрішньомолекулярні зшивання (наприклад, у колагені), ковалентно пов'язують білки (ЛПНЩ, IgG), ДНК, деякі ліпіди.

Рецептори для **AGE** є на фібробластах, Т-лімфоцитах, мезангіальних клітинах (у нирках), ендотеліальних та гладком'язових клітинах (на стінках судин), мозку, печінці, селезінці. У цих тканинах міститься багато макрофагів, які здатні руйнувати **AGE**. При цьому активується ендоцитоз і синтезуються регуляторні молекули (наприклад, інсуліноподібний фактор росту і тромбоцитарний фактор росту), які стимулюють поділ фібробластів та інших клітин (див. вище). **Накопичення AGE є маркером старіння.**

Негативний ефект глікозилювання є не безпосередньо приєднання глюкози до довгоживучих білків, а подальше їх окислення вільними радикалами.

Гіперглікемія сприяє накопиченню делецій у мітохондріальній ДНК та інших мутацій у клітинах м'язової оболонки судин.

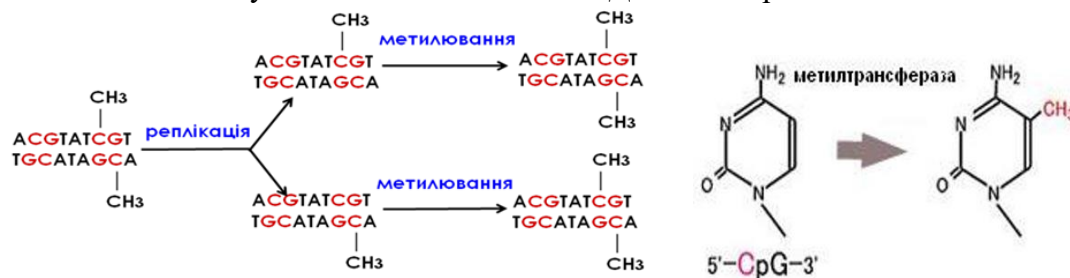
Спосіб попередження старіння: зниження калорійності їжі. В результаті знижується концентрація глюкози у крові та, як наслідок, приєднання її до довгоживучих білків (наприклад, гемоглобін). Зниження глюкози призводить до зниження глікозилювання білків та перекисного окиснення ліпідів.

Нуклеотиди та ДНК також підпадають неензиматичному глікозилюванню, що призводить до мутацій через пряме пошкодження ДНК і інактивацію систем репарації.

4. Метилування ДНК і старіння

5.

До 5 % залишків цитозину в ДНК ссавців метильовано з утворенням 5-метилцитозину у послідовності CG. Це єдина постійно модифікована основа у ДНК вищих еукаріотів. Метилування відбувається в обох ланцюгах ДНК симетрично.



Метилування призводить до тимчасової інактивації гену і блокування його транскрипції. Метилування – це зворотний процес і разом із метилуванням існує процес деметилування. Деметильований ген транскрибується. Однак, метилування деяких генів є незворотнім, зокрема генів, які функціонують під час ембріогенезу, а потім стають непотрібними. Вікове деметилування описане у 1973 р. Було висловлено припущення, що вікове деметилування прихиляє клітини до пухлинної трансформації.

6. Окисний стрес та старіння

Вільнорадикальна теорія старіння (Д.Харман, 1955, М.М. Емануель, 1958)

Згідно неї, у мітохондріях продукуються молекули:

- супероксидних аніон-радикалів	$\cdot\ddot{O}:\ddot{O}\cdot$
- H_2O_2	$H-\ddot{O}-\ddot{O}-H$
- гідроксильного радикалу	$H-\ddot{O}\cdot$
- синглетного кисню	$\cdot\ddot{O}:\ddot{O}\cdot$



Вони пошкоджують ДНК, білки, ліпіди, викликаючи пошкодження мембран і макромолекул. Більша частина з них нейтралізується ще до того, як встигне пошкодити ті чи інші компоненти клітини. Наприклад, з кожного мільйона супероксидних аніон-радикалів, що утворюються від ферментного захисту вислизає не більше чотирьох.

Тривалість життя корелює з активністю антиоксидантної системи: супероксиддисмутази, вмістом каротину, токоферолу, сечової кислоти, каталази. З віком відбувається зниження загальної антиоксидантної та антирадикальної активності крові. У людей старечого віку (83-85 років) та довгожителів (90-105 років) підвищений рівень продуктів перекисного окислення ліпідів в ЛПНЩ порівняно із здоровими людьми віком 36-59 років.

7. Старіння та репарація ДНК

Репарація - особлива функція клітин, що полягає в здатності виправляти хімічні пошкодження і розриви в молекулах ДНК, пошкодженій при нормальному біосинтезі ДНК в клітині або в результаті впливу фізичних або хімічних агентів. Здійснюється спеціальними ферментними системами клітини.



Однією з причин накопичення пошкоджень ДНК із віком може бути зниження ефективності систем її репарації. Коли швидкість репарації не досягає швидкості індукції пошкоджень, відбувається збільшення спонтанних пошкоджень із віком. При старінні

репараційні системи ДНК сильніше підпадають помилкам, що приводять до посилення індукції мутацій. В результаті накопичуються пошкодження ДНК та змінюється послідовність ДНК.

8. Старіння та обмін речовин

Існує зворотній зв'язок між тривалістю життя тварин різних видів та питомою швидкістю обміну речовин. Зміни потоку енергії в процесі старіння складаються в зниженні кількості мітохондрій у клітинах, а також падінні ефективності їх функціонування.

Не існує певної закономірності у вікових змінах функціонування ферментів. Можна лише відмітити, що активність ферментів, що каталізують ОВР, знижується. Можливо, це пов'язано із зменшенням кількості білків-ферментів.

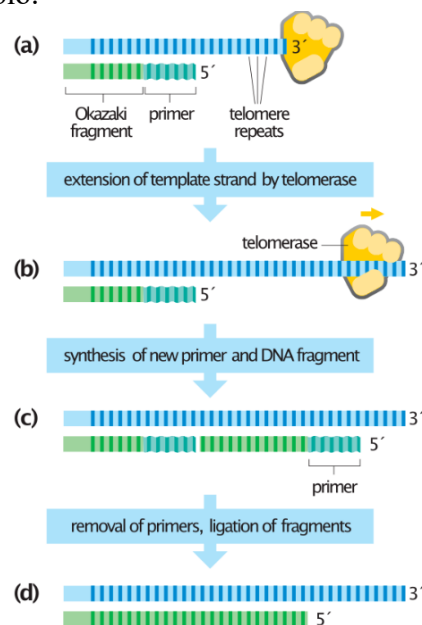
Однією з причин старіння є зниження інтенсивності функціонування ферментативних та неферментативних антиоксидантних систем, що викликає негативну дію активних метаболітів кисню та азоту.

На основі біохімічних досліджень були сформовані гіпотези, згідно яким початок старіння організму пов'язаний із змінами будови, фізико-хімічних і біологічних властивостей ДНК, РНК, білків хроматину, цитоплазматичних і ядерних білків, ферментів. Мішенями для вільних радикалів є ліпіди мембран. Збій в роботі рецепторів клітинних мембран порушує ефективність регуляторних механізмів.

9. Теломери, теломераза і старіння

На 3'-кінцях хромосом еукаріотів розташовані **теломери**, що складаються із послідовностей TTAGGG, що повторюються. Вони, захищаючи лінійні кінці хромосом еукаріотів від деградації і злиття, підтримують стабільність генома.

Хромосоми гублять невелику кількість ДНК після кожного клітинного поділу. У результаті при кожному поділі клітини теломери скорочуються. У більшості організмів основним механізмом підтримки довжини теломер служить добудовування теломерних повторів ДНК ферментом **теломеразою** після закінчення синтезу відстаючого ланцюга при реплікації. Цей фермент подовжує 3'-кінець хромосоми, тоді як комплементарний ланцюг добудовується ДНК-полімеразою.



Довжина теломери підтримується теломеразою у клітинах, що зберігають здатність до проліферації – стоволові, статеві клітини і ракові клітини. Диференційовані соматичні клітини не мають теломеразної активності, тому у них відбувається скорочення теломер при недореплікації хромосом, і як результат – проліферативне старіння клітин.

Згідно теломеразної теорії старіння відбувається не зі зменшенням довжини теломер в онтогенезі, а зі зниженням активності теломерази під час диференціювання клітин, що розглядається як зниження сумарної транскрипційної та трансляційної активності генетичного апарату в онтогенезі.