

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Tomáš Větvička

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

DNA a dlouhověkost

Tomáš Větvička

Bakalářská práce

2025

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tomáš Větvička**
Osobní číslo: **C22269**
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**
Téma práce: **DNA a dlouhověkost**
Téma práce anglicky: **DNA and the Longevity**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Vypracujte literární rešerši o přehledu a podrobnější charakteristice DNA v kontextu s dlouhověkostí.
- 2) Definujte téma z genetického a klinického hlediska.
- 3) Pro vytvoření kompilačního textu využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod. Jako zdroje využijte zejména odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla § 60. odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jiného subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30.6.2025

Tomáš Větvička v. r.

Poděkování:

Touto cestou chci poděkovat vedoucí mojí bakalářské práce Mgr. Lucii Stříbrné, Ph.D. za vlídný přístup, trpělivost při vypracovávání této práce a za možnost zpracování tématu mně blízkému.

ANOTACE

Bakalářská práce představuje souhrn jaderných a buněčných mechanismů, které doprovází fyziologický proces stárnutí člověka. Důraz je kladen na podrobnější zpracování těch mechanismů, které se odehrávají v buněčném jádře a týkají se DNA – zkracování telomer, nestabilita genomu a epigenetické modifikace. Dále je představena řada genů a proteinů z řad enzymů a transkripčních faktorů, které ovlivňují dobu dožití, samotný proces stárnutí a případnou dlouhověkost člověka. Závěr práce je věnován enviromentálním faktorům, které ovlivňují proces stárnutí přes genom, epigenom, celou buňku a fyziologické procesy organismu.

KLÍČOVÁ SLOVA

dlouhověkost, stárnutí, epigenom, gen FOXO3, gen *APOE*, protein p53, sirtuiny, enzym mTOR, Yamanakovy faktory, hormezy, enviromentální faktory

TITLE

DNA and the Longevity

ANNOTATION

The bachelor thesis presents a summary of nuclear and cellular mechanisms that accompany the physiological process of human aging. From those, there is a focus on mechanisms that occur in the cell nucleus and involve DNA – telomere shortening, genomic instability, and epigenetic modifications. Furthermore, a group of genes and proteins including enzymes and transcription factors are introduced as factors influencing lifespan, the process of aging itself, and potential human longevity. The closing part of this thesis is devoted to environmental factors that influence the aging process through the genome, epigenome, the entire cell, and the physiological processes of the organism.

KEYWORDS

Longevity, Aging, epigenome, FOXO3 gene, *APOE* gene, p53 protein, sirtuins, mTOR enzyme, Yamanaka factors, hormesis, enviromental factors

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK.....	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD.....	14
1 TEORIE O STÁRNUTÍ.....	15
1.1 Teorie akumulace mutací.....	15
1.2 Teorie antagonistické pleiotropie	15
1.3 Teorie těla na jedno použití	15
2 CHARAKTERISTICKÉ ZNAKY STÁRNUTÍ.....	17
2.1 Nestabilita genomu	18
2.2 Zkracování telomer.....	18
2.3 Epigenetické modifikace.....	19
2.3.1 Methylace DNA.....	19
2.3.2 Modifikace histonů	19
3 GEN <i>FORKHEAD BOX O3</i>	21
3.1 Regulace genu <i>Forkhead box O3</i>	22
3.2 Výhledy do budoucna	23
4 GEN PRO APOLIPOPROTEIN E	24
4.1 Vliv genu apolipoproteinu E na dlouhověkost	24
5 PROTEIN p53.....	26
5.1 Protein p53, gen <i>TP53</i> a jejich vztah ke stárnutí a dlouhověkosti	26
6 SIRTUINY	29
6.1. Sirtuiny a buněčná senescence.....	30
6.1 Aktivátory sirtuinů	31
6.1.1 Resveratrol	31
6.1.2 Kurkumin.....	32

6.1.3	Pterostilben	32
6.1.4	Další sloučeniny.....	33
6.2	Spojitost sirtuinů se stárnutím a jejich kontroverze	33
7	SAVČÍ CÍL RAPAMYCINU	35
7.1	Funkce savčího cíle rapamycinu.....	35
7.2	Rapamycin a rapaloga.....	36
7.3	Savčí cíl rapamycinu, kalorická restrikce a přerušované půstování	388
8	YAMANAKOVY FAKTORY	39
8.1	Specifikace Yamanakových faktorů.....	39
8.2	Yamanakovy faktory v odvětví výzkumu dlouhověkosti	40
9	ENVIRONMENTÁLNÍ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ STÁRNUTÍ.....	44
9.1	Kalorická restrikce a přerušované půstování	44
9.2	Chladová a tepelná expozice	47
9.3	Mentální stres	49
9.4	Fyzická aktivita	50
9.5	Spánek.....	50
10	ZÁVĚR	52
	SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY	53

SEZNAM OBRÁZKŮ, SCHÉMAT A TABULEK

Obrázek 1: Propojenost jednotlivých faktorů ovlivňujících stárnutí, převzato a upraveno z: [17]	17
Obrázek 2: Rozdílná tumor-supresorová aktivita alel R72 a P72 pro gen kódující protein p53 porovnaná s nástupem znaků spojených se stárnutím, převzato a upraveno z: [41].	28
Obrázek 3: Buněčná lokalizace jednotlivých sirtuinů v eukaryotické buňce, převzato z: [45]	30
Obrázek 4: Waddingtonova krajina, převzato a upraveno z: [97]	41
Schéma 1: Rozšířený výčet regulačních funkcí FoxO3 v buňce, převzato a upraveno z: [18].	21
Schéma 2: Grafické znázornění spojitosti inhibice mTOR dráhy s přerušovaným půstováním, převzato a upraveno z: [85].....	38
Tabulka 1: Podmínky CR a IF pro myši v jednotlivých skupinách ze studie dopadu kombinace CR a IF na dobu dožití	47

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACE	Angiotensin-Converting Enzyme, angiotenzin-konvertující enzym
ACE	gen angiotenzin-konvertujícího enzymu
ACTH	AdrenoCorticoTropic Hormone, adrenokortikotropní hormon
ADF	zero-calorie Alternate-Day Fasting, typ přerušovaného půstování
AF6q21	synonymum genu <i>FOXO3</i>
APOE	APOlipoprotein E, gen Apolipoproteinu E
c-MYC	cellular MYeloCytomatosis oncogene, Yamanakův faktor
CCR4-NOT	Carbon Catabolite Repression-Negative On TATA-less, multiproteinový komplex s enzymatickou aktivitou
CEP164	CEntrosomal Protein 164
CIRBP	Cold-Inducible RNA-Binding Protein
CpG	Cytosine-phosphodiester-Guanine, oblasti DNA
CR	Caloric Restriction, kalorická restrikce
DDD	doporučená denní dávka
DNA	DeoxyriboNucleic Acid, deoxyribonukleová kyselina
FKHRL1	ForKHead in Rhabdomyosarcoma-Like 1, synonymum genu <i>FOXO3</i>
FOXO2	Forkhead bOX O2, synonymum genu <i>FOXO3</i>
FOXO3	Forkhead bOX O3, gen
H2A	Histone 2A, histon 2A
H2B	Histone 2B, histon 2B
H3	Histone 3, histon 3
H4	Histone 4, histon 4
HSP	Heat Shock Proteins, skupina proteinů
IF	Intermittent Fasting, přerušované půstování
IL-10	InterLeukin-10

IL-1β	InterLeukin-1 β
IL-6	InterLeukin-6
Klf4	Krüppel-like factor 4, Yamanakův faktor
LDL	Low-Density Lipoprotein, lipoprotein o nízké hustotě
LIN28	lin-28 homolog A, transkripční faktor
MADF	modified alternate-day fasting, typ přerušovaného půstování
MAX	Myc-Associated factor X, transkripční faktor
MDM2	Mouse Double Minute 2, enzym
MGMT	O-6-methylguanin-DNA-methyltransferáza, enzym
miRNA	microRNA, typ ribonukleové kyseliny
mRNA	messenger RNA, typ ribonukleové kyseliny
MSCs	Mesenchymal Stem Cells
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
mTORC1	mammalian Target of Rapamycin Complex 1
mTORC2	mammalian Target of Rapamycin Complex 2
hNanog	Homeobox protein NANOG
ncRNA	non-coding RNA, druh ribonukleové kyseliny
NDRG1	N-myc Downstream-Regulated Gene 1, protein
p21	protein
p53β	izoforma proteinu p53
<i>PDK4</i>	pyruvate dehydrogenase kinase 4, gen
<i>PGC-1α</i>	Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator 1- α , gen
<i>POU5F1</i>	POU class 5 homeobox 1, gen
RNA	Ribonucleic Acid, ribonukleová kyselina
ROS	Reactive Oxygen Species, volné kyslíkové radikály
RTG	Radioisotope Thermoelectric Generator, rentgenové záření

SIRT	Silent Information Regulator, rodina enzymů
SOX2	SRY-bOX transcription factor 2, transkripční faktor
TET	Ten-Eleven Translocation, rodina enzymů
<i>TP53</i>	Tumour Protein 53, gen
TRE	Time-Restricted Eating, typ přerušovaného půstování
<i>Trp53</i>	Transformation related protein 53, myší obdoba genu <i>TP53</i>
TWF	Twice-per-Week Fasting, typ přerušovaného půstování
UCP1	UnCoupling Protein 1
UV	UltraViolet light, ultrafialové záření
VC6TF	směs 5 látek: kyselina valproová, CHIR-99021, E-616452, Tranylcypromin a Forskolin
$\Delta 133p53\alpha$	izoforma proteinu p53

ÚVOD

Bakalářská práce shrnuje v literární rešerši přehled a podrobnější charakteristiku DNA v kontextu s dlouhověkostí a procesem stárnutí. Zabývá se problematikou jak z genetického, tak z klinického hlediska.

V úvodních kapitolách jsou nastíněny tři nejdůležitější teorie o stárnutí, které postavily základ dnešnímu výzkumu na poli dlouhověkosti a stárnutí, a charakteristické znaky stárnutí. Tyto charakteristické znaky jsou seřazeny od úrovně genetické (na úrovni DNA) přes epigenetickou až na úroveň celé buňky. Podrobněji jsou představeny vybrané charakteristické znaky, které se přímo týkají DNA.

V dalších oddílech práce jsou popsány nejdříve geny, které se podílejí na dlouhověkosti – *FOXO3* a *APOE*. Následně je představen protein p53, dále enzymy sirtuiny a mTOR a čtveřice transkripčních faktorů, tzv. Yamanakovy faktory. Jak u proteinu, tak i u enzymů a transkripčních faktorů jsou popsány jejich funkce jako je oprava DNA, umlčování genů nebo naopak jejich aktivace přes epigenetické mechanismy.

Závěr práce tvoří souhrn enviromentálních faktorů, které přímo ovlivňují epigenom buňky nebo opravu DNA. Mezi tyto enviromentální faktory patří kalorická restrikce, přerušované půstování, chladová expozice, dále expozice vysokým teplotám, mentální stres, fyzická aktivita a také spánek.

1 TEORIE O STÁRNUTÍ

Již od starověku byl člověk v těsném kontaktu se svojí smrtelností, jejíž neoddelitelnou součástí je i stárnutí. Pohled na toto téma se v průběhu staletí lišil, přičemž roli hrály společenské faktory, aspekt náboženství a kulturní vlivy. V posledních staletích se přirozeně toto téma začalo zkoumat blíže i z pohledu biologie. Existuje několik definic stárnutí. Jedna z nich tento proces popisuje např. jako ubikvitární biologický proces, který ústí v progresivní a nevratné snížení tělesných funkcí všech orgánových systémů, a který je vyvolaný akumulací poškození vycházejících z celé řady stresorů [1]. Mechanismy skryté za tímto procesem popisuje řada teorií, které budou podrobněji popsány v následujících kapitolách.

1.1 Teorie akumulace mutací

Jedna z prvních moderních teorií o stárnutí byla veřejnosti předložena Peterem Medawarem v roce 1952. Říká, že proces stárnutí je způsoben akumulací škodlivých mutací v genomu. Podle této teorie platí silný selekční tlak pouze pro geny s vlastnostmi, které jsou důležité pro reprodukci. Pokud se v genomu nachází různé mutace genů, které způsobí problém až v pozdějším věku, tělo jim nevěnuje pozornost, protože tyto mutace nijak neovlivňují schopnost reprodukce v mládí a nejsou proto vystaveny tak vysokému selekčnímu tlaku. Tyto mutace jsou potom předávány do dalších generací [2].

1.2 Teorie antagonistické pleiotropie

Tato teorie byla vytvořena evolučním biologem Georgem Williamsem v roce 1957. Zvažuje náhled, že stárnutí je vyvoláváno různorodou funkcí konkrétních genů či jejich variant na fenotyp člověka v závislosti na věku. Tyto geny mohou poskytovat v mladém a reprodukčním věku evoluční výhodu, ale v pozdějším věku mohou tyto geny vést k predispozici pro různá hereditární onemocnění [3].

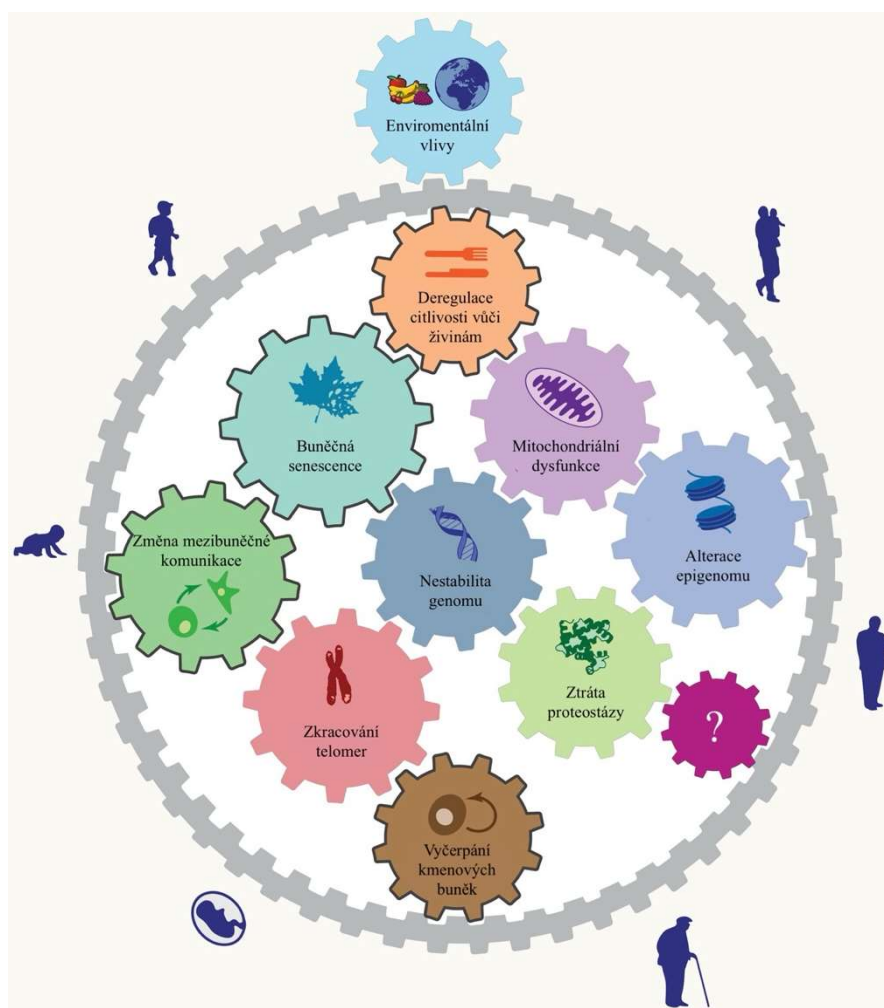
1.3 Teorie těla na jedno použití

„Teorie těla na jedno použití“ (z angl. Disposable soma theory) byla vytvořena biologem Thomasem Kirkwoodem v roce 1977. Tato teorie se zaměřuje na rozložení zdrojů energie v organismu jedince. Základem této teorie je předpoklad, že organismus má omezené množství zdrojů energie. Tyto energetické zdroje musí rozdělit mezi péči o tělesnou schránku (*soma*) a vlastnosti důležité pro reprodukci. Organismus se soustředí na maximalizaci šancí

na reprodukci, a také tímto směrem velkou část energie poskytuje. Po skončení reprodukčního věku však nedochází k alokaci zdrojů na péči o tělo, a tak dochází k jeho postupné degradaci [4].

2 CHARAKTERISTICKÉ ZNAKY STÁRNUTÍ

Stárnutí jako takové je výsledkem celé řady komplexních procesů, které na sebe přímo nebo nepřímo navazují, (viz Obrázek 1). Tyto procesy se odehrávají už v buněčném jádře, v buňce samotné i na vyšších úrovních jako jsou tkáně, orgány, a nakonec i celý systém. Je proto obtížné pro posouzení procesu a progresivního vývoje stárnutí vybrat jen jednu veličinu. Proto se sestavila celá řada charakteristických znaků (angl. Hallmarks of Aging), které tento proces činí jednodušším ke zhodnocení. Charakteristických znaků bylo původně devět a byly definovány v roce 2013. Patří mezi ně následující: narušení mezibuněčné komunikace, vyčerpání kmenových buněk, buněčná senescence, mitochondriální dysfunkce, nestabilita genomu, ztráta proteostázy, epigenetické modifikace, zkracování telomer a (buněčná) deregulace citlivosti vůči živinám [5]. V roce 2023 se ke výše zmíněným devíti znakům přidaly další tři: omezená makroautofagie, chronický zánět a dysbióza střevního mikrobiomu [6]. V rámci tématu této práce budou blíže popsány ty znaky, které mají svůj bezprostřední původ v DNA.



Obrázek 1: Propojenost jednotlivých faktorů ovlivňujících stárnutí, převzato a upraveno z: [17]

2.1 Nestabilita genomu

V průběhu celého života je lidský organismus vystavován celé řadě faktorů, které mohou mít negativní dopad na genetickou informaci jeho buněk. Z exogenních faktorů je nutno zmínit chemické vlivy (těžké kovy, kyslíkové radikály, anthracen), fyzikální vlivy (UV záření, RTG záření, gama záření) a biologické vlivy (adenoviry). Mezi endogenní faktory ovlivňující genom patří replikační chyby (nesprávné párování bází, posun čtecího rámce), nesprávné rozdělení chromozomů při mitóze a změny počtu chromozomů v jádře – euploidie a aneuploidie. Tyto faktory následně vedou ke strukturním nebo numerickým aberacím. S přibývajícím věkem chyb přibývá a jejich postupnou akumulací dochází ke stárnutí. Buňka má sice opravné mechanismy, které DNA opravují, ale s přibývajícím věkem jejich efektivita výrazně klesá. Na druhou stranu nestabilita genomu v podobě mutací má i svůj fyziologický účel. Ten tkví např. ve velmi zásadní schopnosti B lymfocytů – díky častým bodovým mutacím ve variabilních částech genů pro jejich imunoglobuliny dochází k jejich obrovské diverzitě lehkých a těžkých řetězců, což je tzv. somatická hypermutace [6, 7].

2.2 Zkracování telomer

Dalším významným faktorem podílejícím se na procesu stárnutí jsou telomery. Tyto koncové části chromozomů jsou složeny z repetitivní sekvence šesti nukleotidů (5'-TTAGGG-3') a hrají důležitou roli v jejich ochraně – díky nim nejsou konce chromozomu rozpoznávány jako fragmentovaná DNA, což by vedlo k nestabilitě chromozomu. S každým buněčným dělením se však telomery zkracují. Při jejich dostatečném zkrácení potom dochází buďto k apoptóze (řízená smrt buňky) nebo k zastavení buněčného cyklu buňky, např. v podobě buněčné senescence (další charakteristický znak stárnutí) [8].

Existuje však enzym, který dokáže telomery zpět nasyntetizovat – telomeráza. Aktivita tohoto enzymu je nejvyšší v kmenových nebo embryonálních buňkách, v mnoha jiných somatických buňkách je však aktivita velmi nízká nebo žádná. V průběhu života tedy stejně dochází k pomalému zkracování telomer, což vede k výše zmíněné nestabilitě genomu. Zvýšená aktivita telomerázy by na první pohled mohla vzbuzovat pozitivní dojem, avšak i zde může nastat problém – vysoká aktivita tohoto enzymu se vyskytuje v nádorových buňkách, jelikož jsou zde narušeny regulační mechanismy zajišťující její správnou aktivitu. Existuje tedy velmi úzké rozmezí, ve kterém telomeráza zajišťuje ideální dosyntetizování telomer [9].

2.3 Epigenetické modifikace

Velmi důležitým charakteristickým znakem stárnutí je postupná změna epigenomu s přibývajícím věkem. Epigenom lze popsat jako soubor dědičných znaků, které ale nejsou přítomny v nukleotidové sekvenci, nýbrž „nad“ ní, např. v podobě kovalentních modifikací bázi DNA a histonů. Tyto znaky hrají důležitou roli v přepisování genetické informace z DNA až do proteinů, slouží totiž jako tzv. „vypínače genů“ – dokážou tlumit (nebo naopak podporovat) jejich expresi [10].

2.3.1 Methylace DNA

Jednou z výše zmíněných modifikací DNA je její methylace. Ta probíhá na 5. uhlíku heteroaromatického kruhu cytosinu v oblastech CpG – cytosin-guanin dinukleotidů. Pokud jsou cytosiny v těchto oblastech namethylované, dochází k umlčení genu, uvnitř kterého se cytosiny nachází. Methylaci katalyzuje rodina enzymů TET (*Ten-Eleven Translocation*). Tato methylace ale není ireverzibilní, demethylace je opět katalyzována enzymy, tentokrát methyltransferázami. S přibývajícím věkem potom dochází k tzv. epigenetickému driftu, kdy jsou CpG oblasti buď málo methylované nebo naopak příliš methylované. Tím dochází k větší či menší (nebo také k žádné) expresi celé řady genů, což vede např. k výše zmíněné nestabilitě genomu [11].

2.3.2 Modifikace histonů

Dalším důležitým epigenetickým mechanismem jsou různé modifikace histonů. Histony jsou evolučně zachovalé bazické proteiny bohaté na aminokyseliny arginin a lysin, které tvoří v buněčném jádře oktamery. Tyto oktamery obsahují vždy po dvou kopiích čtyř základních histonů – H2A, H2B, H3 a H4. Díky svému kladnému náboji interagují se záporně nabitou DNA, která se následně kolem histonu obtočí – někdy se tento jev přirovnává ke korálkům na niti. Společně tvoří histony s DNA základní strukturu chromatinu [12]. Chromatin je důležitou strukturou ve smyslu její regulační funkce – když je DNA navinuta kolem histonů, nemůže dojít k transkripci DNA, geny v této oblasti jsou tedy umlčeny. Tato vlastnost se může lišit po posttranslačních úpravách histonu, např. methylace nebo acetylace, kdy opět může docházet k přílišné nebo nedostatečné translaci genů. Umlčovacím schopnost histonů je také důležitá pro heterochromatin – v ideálním případě nejsou díky histonům tyto nekódující sekvence DNA vůbec transkribovány. Po jejich epigenetické modifikaci však k této transkripci dochází, což vede k nadměrné zátěži pro buňku. Tyto změny na histonech se v průběhu našeho

života akumulují, což poté přispívá ke stárnutí jak buňky, tak celého organismu [13]. Kromě výše zmíněných jevů existují i další epigenetické mechanismy ovlivňující stárnutí, např. změny chromatinu nebo vlivy tzv. ncRNA (non-coding RNA) [6]. Methylace DNA a modifikace histonů jsou však ty nejdéle známé a nejlépe prozkoumané.

Z výše uvedených informací lze usoudit, že genom, jeho případná nestabilita a epigenetické mechanismy hrají důležitou roli v procesu stárnutí a také v dlouhověkosti. Epigenetické informace jsou do určité míry děděné stejně jako genetické [14], ale na rozdíl od genetiky je epigenetika do velké míry ovlivnitelná enviromentálními faktory, což z ní činí nadějný cíl výzkumu v mnoha odvětvích. Ačkoliv se jednotlivé odborné zdroje do určité míry liší, je uváděno, že délka lidského života je dědičná cca z 20 % až 30 % [15, 16]. Do této dědičnosti musíme započítat i další faktory jako je metabolismus a odpovědi organismu na vnější podněty a také prostředí, v němž se organismus nachází převážnou část svého života. Pokud se jedná o geny, které jsou přímo spojené s dlouhověkostí, tak jsou nejvíce zmiňované geny *FOXO3* a *APOE*, které budou dále zmíněny v předložené bakalářské práci. V současnosti se výzkum zaměřuje na epigenetické aspekty stárnutí a dlouhověkosti, protože tyto procesy lze ovlivnit jak životním stylem, tak různými chemickými látkami, ale i dalšími vnějšími vlivy.

3 GEN *FORKHEAD BOX 03*

FOXO3 (z anglického názvu *Forkhead box O3*), je označení pro gen ležící na dlouhém raménku 6. chromozomu, přesněji v oblasti 6q21. Někdy ho lze identifikovat pod názvem *FOXO2*, *AF6q21* či *FKHRL1*. Tento gen kóduje protein FoxO3, který slouží jako transkripční faktor – reguluje přepis DNA do mRNA. Charakteristický tvar proteinové domény tohoto transkripčního faktoru dává následně vzniknout názvu a zařadit ho do rodiny transkripčních faktorů s podobnou strukturou jejich domén – tzv. forkhead family [18].

Regulační aktivita tohoto proteinu zasahuje do široké škály buněčných procesů jako je energetický metabolismus (přes inzulínovou signalizaci), boj proti oxidačnímu stresu, apoptóza či regulace buněčného cyklu, viz Obrázek 2 [19].

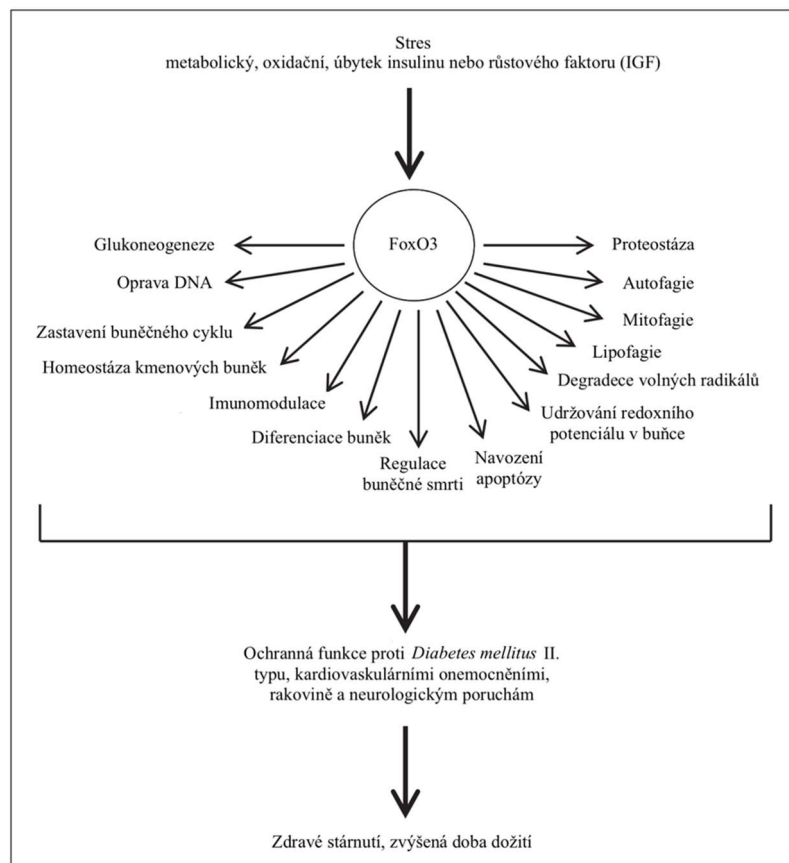


Schéma 1: Rozšířený výčet regulačních funkcí FoxO3 v buňce, převzato a upraveno z: [18]

S dlouhověkostí bývá spojená varianta *FOXO3* genu – G alela. Jedná se o případ jednonukleotidového polymorfismu (zkratkovitě SNP – Single Nucleotide Polymorphism), kdy rozdíl mezi alelami je dán pouze změnou jednoho nukleotidu. V roce 2019 probíhal

výzkum zkracování telomer na skupině 121 Okinawských obyvatel (ostrov, Japonsko) ve věku od 25 do 94 let. Tito jedinci měli ve svém genomu přítomnou jednu nebo dvě kopie G alely. Bylo zjištěno, že oproti jedincům s většinovou variantou *FOXO3* měli nosiči G alely výrazně sníženou míru zkracování telomer v jádrech periferních leukocytů. Jedinci s většinovou variantou genu přijdou za rok zhruba o 33 párů bází, zatímco zkoumaná skupina přišla průměrně pouze o 2 páry bází na osobu za rok. Podobné výsledky byly pozorovány i v jiných studiích zabývajících se touto problematikou [20].

Mezi nimi byla i studie z roku 2024, která posunula tento poznatek ještě dále. Byla studována skupina 325 Okinawských obyvatel ve věku 19-104 let, která byla rozdělena do dvou podskupin, a to na skupinu 19-54 let (mladší dospělí) a skupinu 55 let a výše (starší dospělí). Na leukocytárních telomerech bylo zjištěno, že mladší dospělí s TT genotypem (většinová varianta genu) sice měli delší telomery než jedinci s G alelou, ale ve skupině starších dospělých byl zpozorován menší úbytek telomer u jedinců s G alelou. Dále byla pozorována aktivita telomerázy. Zjistilo se, že starší jedinci s G alelou měli větší aktivitu telomerázy než jedinci s TT genotypem. Nebyl však zjištěn přesný mechanismus ovlivnění telomerázy. Co se týče exprese FoxO3 proteinu, jedinci s G alelou v obou vykazovali vyšší míru exprese než jedinci s TT genotypem. Také byla studována hladina IL-6 (prozánětlivý cytokin) a IL-10 (protizánětlivý cytokin), kde byly zjištěny rozdíly mezi pohlavími. U starších nositelek G alely byla pozorována snížená plazmatická hladina IL-6 oproti starším ženám s TT genotypem a starších mužů s oběma variantami genu. Naopak hladina IL-10 byla u starších nositelů G alely vyšší než u mužů s TT genotypem a ženami s oběma variantami genu. Lze tedy soudit, že G alela genu *FOXO3* a její protein FoxO3 hrají roli ve více mechanismech, které přispívají k dlouhověkosti [21].

3.1 Regulace genu *Forkhead box O3*

Výše uvedené mechanismy však musí být nějakým způsobem řízeny. Tyto procesy se odehrávají přes posttranskripční a posttranslační úpravy proteinu. Posttranskripční úpravy jsou regulovány miRNA, krátkými řetězci RNA, které se vážou na mRNA. Tím tlumí translaci proteinu nebo indukují degradaci mRNA, na kterou jsou navázány [22]. Posttranslační úpravy mají na regulační funkci FoxO3 větší dopad. Mezi ně patří hlavně fosforylace, acetylace, methylace a ubiquitinace [23].

3.2 Výhledy do budoucna

Ačkoliv je v mnoha studiích spojována hlavně G alela genu *FOXO3* s dlouhověkostí, přesný mechanismus tohoto účinku není zcela znám. I většinová varianta genu hraje klíčovou roli v celé řadě buněčných procesů, které jsou pro zdravé stárnutí důležité. Část výzkumu je proto věnována i modulátorům posttranslačních úprav FoxO3, které by mohly být do budoucna terapeutickým cílem léčby nemocí spojených se stárnutím [24].

4 GEN PRO APOLIPOPROTEIN E

Dalším genem často spojovaným s dlouhověkostí je gen *APOE*. Nachází se na dlouhém raménku 19. chromozomu, přesněji 19q13.32. Jak už napovídá název, gen *APOE* kóduje apolipoprotein E, který se nachází na povrchu chylomikronů a je důležitý pro jejich funkci v metabolismu tuků, hlavně triacylglycerolů a cholesterolu [25, 26].

Gen *APOE* má 3 alely: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ a $\epsilon 4$. Rozdíl mezi alelami je pouze v jedné bázi na dvou místech, jedná se tedy o jednonukleotidový polymorfismus. Ten vede k možné náhradě aminokyseliny cysteinu za arginin na kodónech 112 a 158. Alela $\epsilon 2$ kóduje na obou pozicích cystein. Alela $\epsilon 3$ kóduje na kodónu 112 cystein a na kodónu 158 arginin. Alela $\epsilon 4$ kóduje arginin na obou kodónech [27]. Každý jedinec si nese ve svém genomu 2 alely, které mají kodominantní charakter [28].

Statisticky se u člověka celosvětově nejčastěji vyskytuje $\epsilon 3$ alela. Druhou nejčastější alelou je alela $\epsilon 4$, a nejméně častá je alela $\epsilon 2$ [29].

4.1 Vliv genu apolipoproteinu E na dlouhověkost

Zájem o tento gen v souvislosti s dlouhověkostí začal již v 90. letech minulého století, kdy mimo jiné vznikla studie zaměřující se na vliv genu *APOE* a genu *ACE* (gen kódující enzym angiotensin konvertáza) na delší dobu dožití ve spojitosti se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob. Vytvořila se skupina skládající se z 338 centariánů a kontrolní skupina dospělých ve věku 20 – 70 let. Bylo zjištěno, že alela $\epsilon 4$ genu *APOE* byla méně častá u skupiny stoletých než u skupiny kontrolní. Naopak alela $\epsilon 2$ se u skupiny stoletých vyskytovala více než u skupiny kontrolní, což byl překvapivý fakt vzhledem k tomu, že tato alela s sebou přináší vyšší riziko výskytu hyperlipidémie [30].

V průběhu let bylo dále v mnoha studiích ověřeno a potvrzeno výše zmíněné zastoupení jednotlivých alel genu u starší populace. V roce 2019 byla publikována metaanalýza celogenomých asociačních studií na téma korelace určitých genů s dlouhověkostí. Byli vybráni jedinci, kteří přežili nad 90. a 99. percentil věku. Jako kontrolní skupina byla vybrána skupina jedinců, kteří zemřeli před dosažením věku odpovídajícímu 60. percentilu dožití. Tato studie se mimo jiné geny zabývala i genem *APOE*. Alela $\epsilon 4$ byla spojena se sníženou šancí na dosažení

dlouhověkosti. Naopak alela $\epsilon 2$ byla propojována se zvýšenou šancí na dosažení pokročilého věku [31].

Účinek alely $\epsilon 4$ na dobu dožití je z velké části spojován s Alzheimerovou chorobou. Je známo, že přítomnost alely $\epsilon 4$ v genomu zvyšuje riziko výskytu této nemoci. Naopak alela $\epsilon 2$ toto riziko snižuje [32]. Další studie z roku 2020 zjistila, že alela $\epsilon 4$ podmiňuje u jejich nosičů o zhruba 10 let dřívější pokles kognitivních funkcí a menší integritu bílé hmoty mozkové [33]. Naproti tomu alela $\epsilon 2$ vykazuje spíše protektivní účinky. V asociační studii z roku 2020 byla zkoumána spojitost alely $\epsilon 2$ s fenotypy spojenými se stárnutím. Po dobu zhruba devíti let byla sledována skupina 379 000 účastníků ve věku 40 až 70 let. Bylo zjištěno, že nositelé $\epsilon 2$ alely měli oproti jedincům s $\epsilon 3$ alelou snížené sérové hladiny celkového cholesterolu a LDL. Byla pozorována i hladina triacylglycerolů, přičemž tyto hodnoty byly u homozygotů alely $\epsilon 2$ vyšší než u heterozygotů s $\epsilon 2$ alelou ($\epsilon 2/\epsilon 3$). Tyto hodnoty byly spojeny s rizikem výskytu ischemické choroby srdeční a hypertenze – heterozygoti $\epsilon 2$ měli nižší šanci na výskyt těchto onemocnění. To však neplatilo u homozygotů $\epsilon 2$, kteří tento protektivní účinek nevykazovali [34].

Ačkoliv mechanismy, kterými gen *APOE* a jeho protein zasahují do buněčného stárnutí nejsou do dneška plně odhaleny, studie z roku 2022 ukázala nový náhled na tuto problematiku. Zkoumání mezenchymových kmenových buněk odhalilo, že se v nich apolipoprotein E kumuluje, a tím se přímo podílí na buněčné senescenci dané buňky. Senescence nastala po degradaci proteinů jaderné laminy a části heterochromatinu epigenetickými mechanismy, což následně vedlo k transkripci repetitivních sekvencí heterochromatinu. Tento jev následně urychloval buněčnou senescenci [35].

Gen *APOE* je stále frekventovaným objektem studií, ať už v oblasti výzkumu Alzheimerovy choroby, kardiovaskulárních onemocnění nebo dlouhověkosti. Je tomu tak kvůli možným terapeutickým intervencím plynoucích z pochopení mechanismů vlivu na výše zmíněné choroby.

5 PROTEIN p53

Protein p53, spíše známý pod jiným názvem jako „strážce genomu“, je tumor supresorový protein, který funguje jako transkripční faktor. Je kódován genem s názvem *Tumour Protein p53* (zkráceně *TP53*), který leží na krátkém raménku 17. chromozomu, přesněji 17p13.1 [36]. Tento gen je dlouhý 20 kb a má 11 exonů, které kódují samotný protein skládající se z 393 aminokyselin. V nepoškozených somatických buňkách lidského těla se nachází v nízkých koncentracích, a navíc v inaktivní formě. Za inaktivaci proteinu odpovídá enzym s názvem *Mouse double minute 2* (zkráceně MDM2). Tento protein označí (ubikvitinuje) protein p53 a tím ho posílá k degradaci do proteazomu [37, 38]. Nejdříve byl p53 považován za onkoprotein, jelikož se vysoké koncentrace tohoto proteinu nacházely v rakovinných buňkách. Později se však zjistilo, že onkogenní vlastnosti mají pouze varianty vzniklé ze zmutovaných verzí genu *TP53*, a že nezmutovaná verze proteinu ve skutečnosti buňku naopak chrání. Zajímavým faktem je i to, že mutace genu *TP53* jsou nejvíce pozorovanými a nejběžnějšími mutacemi při výskytu rakoviny u lidí. Mezi důležité funkce p53 patří regulace buněčného cyklu, indukce oprav DNA v reakci na její poškození, navození apoptózy nebo senescence a také regulace některých metabolických drah. Všechny tyto funkce tkví ve schopnosti proteinu p53 ovlivňovat transkripci různých genů do mRNA, což má za důsledek expresi příslušných proteinů, které následně plní svoje specifické funkce [37].

5.1 Protein p53, gen *TP53* a jejich vztah ke stárnutí a dlouhověkosti

Dodnes je protein p53 nejvíce znám pro jeho tumor-supresorové vlastnosti. Jeho rozličné funkce v buňce ale zasahují i do dalších procesů, např. do procesu stárnutí, (viz Obrázek 3).

Prvním významným příspěvkem je schopnost tohoto proteinu navodit zastavení buněčného cyklu. Po expresi proteinu p21 pomocí signalizace proteinem p53 dochází v případě poškození DNA k zástavě cyklu, to ale nemusí být permanentní – záleží na rozsahu poškození a na době trvání signálu. Pokud je poškození DNA mírné a signál je krátkodobý, buňka se může pokusit DNA opravit (opět s pomocí p53) a pokud se to podaří, může pokračovat v rámci své existence v buněčném cyklu dále. Pokud je poškození natolik závažné a signalizace pouze krátkodobá, dochází k apoptóze buňky. Mechanismy oprav DNA si nedokážou s poškozením poradit. Je zde ještě další možnost – poškození je sice menšího rozsahu, ale signalizace je dlouhodobější. Pro buňku je to signál vstoupit do tzv. senescentního stavu. U všech tří

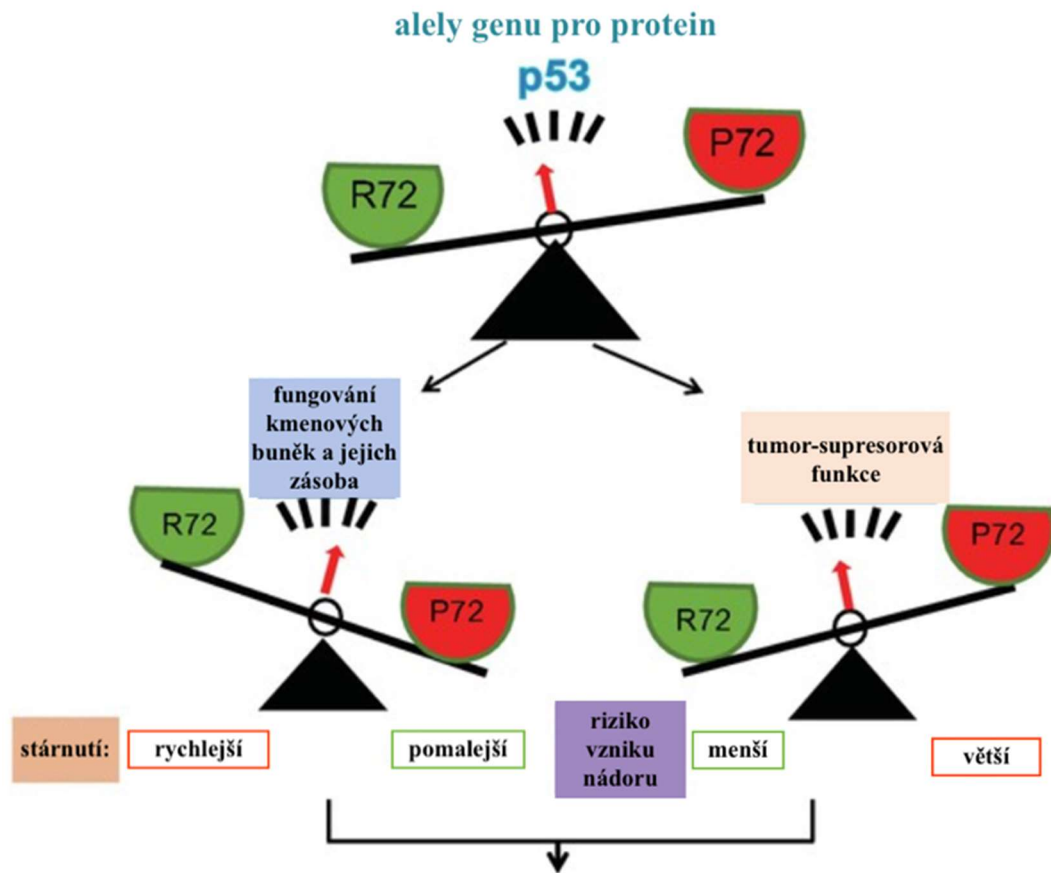
možností p53 hraje důležitou roli, záleží však na dalších proměnných v podobě ostatních spolupracujících signálních molekul. Nedá se tak říct, že tato vlastnost p53 je pouze kladná nebo záporná vůči procesu stárnutí – p53 se sice významně podílí na opravách DNA a stabilizuje genom, ale zároveň se podílí na navození buněčné senescence [39].

S buněčnou senescencí souvisí nejen samotná aktivace pomocí proteinu p53 a signálních molekul, ale také tzv. izoforma p53. V současné době je známo 12 zkrácených forem tohoto proteinu, které vznikají buď posttranskripčními úpravami mRNA nebo posttranslačními úpravami proteinu. Z těchto izoform jsou dvě spojovány s buněčnou senescencí – izoformy $\Delta 133p53\alpha$ a p53 β . Obě izoformy spolupracují s plnohodnotným proteinem p53 a mají vliv na funkci transkripčního faktoru, mají však opačné funkce. Isoforma p53 β indukuje navození senescence, zatímco izoforma $\Delta 133p53\alpha$ senescenci inhibuje [40].

Další problematika se netýká pouze proteinu p53, ale i jeho genu – *TP53*. Vyskytují se u něj jednonukleotidové polymorfismy. Nejčastější SNP se vyskytuje na kodonu 72, a existují dvě alely – P72 a R72. Alela P72 kóduje protein s prolinem na příslušném místě, zatímco alela R72 kóduje arginin. Ve studii z roku 2018 se zjistilo, že protein kódovaný alelou P72 vykazuje nižší tumor-supresorovou aktivitu než protein kódovaný alelou R72 za cenu pozdějšího nástupu procesů spojených se stárnutím. Studie se prováděla na souboru 300 myších jedinců, kterým byla do genomu vložena buď alela P72 nebo alela R72 genu *TP53* místo odpovídajícího genu u myši – *TRP53*. Zjistilo se, že i přes zvýšené riziko vzniku nádoru myši s alelou P72 vykazovaly pozdější nástup fenotypových projevů spojených se stárnutím (zakřivení páteře, úbytek kostní hmoty, ztenčení kůže a podkožního tuku a schopnost hojení kůže po poranění) oproti skupině s alelou R72. Dále byla u skupiny s alelou P72 pozorována lepší schopnost hematopoetických kmenových buněk si udržet regeneraci kmenových/progenitorových buněk během stárnutí, což je zásadní děj pro regeneraci tkání [41].

Funkce proteinu p53 v procesu stárnutí jsou stále z části neprozkoumané kvůli jeho komplexní, složité a někdy protichůdné roli v buněčných pochodech. Existují však studie, které zkoumají možné terapeutické intervence zahrnující právě p53. Jedna z nich je z roku 2024 a navrhuje použití tzv. malých molekul – inhibitorů vazby p53 na MDM2 [42]. I tak je zde však

ještě příliš mnoho neznámých mechanismů, které je potřeba prozkoumat před reálným zužitkováním pozitivních vlastností p53.



Ovlivnění doby života a případné dlouhověkosti

Obrázek 2: Rozdílná tumor-supresorová aktivita alel R72 a P72 pro gen kódující protein p53 porovnaná s nástupem znaků spojených se stárnutím, převzato a upraveno z: [41]

6 SIRTUINY

Sirtuiny, (jsou také známy pod zkratkou SIRT: *Silent Information Regulator*) náleží do rodiny enzymů, blíže NAD^+ -dependentní histonové deacetylázy, odebírající acetylové zbytky z proteinů. [43]. Jejich klasifikace dle EC je 2.3.1.286. [44]. V současné době je známo sedm savčích sirtuinů.

Sirtuiny byly poprvé popsány v 70. letech 20. století vědcem Amarem Klar na kvasince *Saccharomyces cerevisiae* po objevu genu *Sir-2*, který kóduje enzym Sir2 [45]. Výše zmíněné savčí sirtuiny mají rozdílnou buněčnou lokalizaci, a tedy i rozličné funkce, (viz Obrázek 4).

Sirtuin 1 (SIRT1) je savčí obdobou proteinu Sir2 kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* [46]. Jeho lokalizace je převážně v buněčném jádře. Zastává více funkcí, např. hraje roli v regulaci buněčného cyklu, indukuje opravu DNA, zpomaluje apoptózu a reguluje buněčnou senescenci nezralých buněk [47].

Sirtuin 2 (SIRT2) hraje důležitou roli v ochraně před oxidativním stresem [48], a je také proteinem kontrolního bodu rané metafáze mitózy, kde zastává funkci ochrany před formací polyploidních buněk [49]. Jeho buněčná lokalizace je v buněčném jádře a cytoplazmě [50].

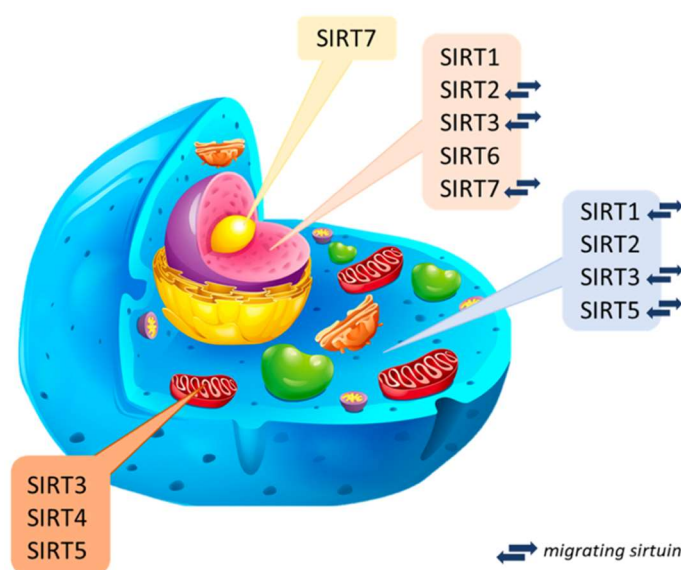
Sirtuin 3 (SIRT3) se primárně nachází v mitochondriích, ačkoliv může migrovat do jádra či do cytoplazmy [50]. Ve studii prováděné na myších [51] bylo zjištěno, že v mitochondriích aktivuje geny *PCG-1 α* a *UCP-1*, čímž se podílí na termogenezi organismu.

Sirtuin 4 (SIRT4) je sirtuinem nacházejícím se pouze v mitochondriích, přesněji v mitochondriální matrix. Nepodílí se na opravování DNA, ale vykazuje enzymatickou aktivitu proti oxidativnímu stresu vyprodukovanému v procesu buněčné respirace [45].

Sirtuin 5 (SIRT5) se vyskytuje především v mitochondriích. Podílí se na regulaci Krebsova cyklu a β -oxidace. Studie [52] provedená v roce 2022 na myších ukázala protektivní efekt SIRT5 proti kachektině indukované senescenci mezenchymálních kmenových buněk (MSCs) a tím pádem předcházení buněčnému stárnutí.

Sirtuin 6 (SIRT6) je primárně jaderný sirtuin, byl však nalezen i v buněčném cytozolu [53]. Se SIRT1 představuje hlavní předmět zájmu ve výzkumu stárnutí, jelikož jeho zvýšená aktivita je spojována s ovlivněním právě procesu stárnutí [54]. Ve studii [55] byly studovány metafázické chromozomy připravené z myších embryonálních fibroblastových buněk, které však byly geneticky modifikovány tak, aby neexprimovaly SIRT6. U těchto chromozomů byl zaznamenán vyšší výskyt aberací zahrnujících fragmentaci chromozomů a odpojení centromery. Lze tudíž předpokládat, že SIRT6 hraje roli v potlačování genomové nestability.

Sirtuin 7 (SIRT7) se jako jediný nachází v buněčném jádru, a je prozatím nejméně prostudovaným sirtuinem. Jeho funkce v jádru zahrnuje expresi ribozomální RNA, opravu poškozené DNA a regulaci kompaktnosti chromatinu [56].



Obrázek 3: Buněčná lokalizace jednotlivých sirtuinů v eukaryotické buňce, převzato z: [45]

6.1. Sirtuiny a buněčná senescence

Pro začátek je vhodné nadefinovat a osvětlit pojem buněčná senescence.

Buněčná senescence je definována jako proces, při kterém dochází k permanentnímu zastavení buněčného cyklu v G1 fázi, k morfologickým změnám a sekreci cytokinů. Jedná se

o strategickou odpověď buňky na poškození DNA či přílišné zkrácení telomer. Tato odpověď slouží k prevenci např. maligního zvratu buňky.

V ideálním případě je senescence buňky krátkodobá, následovaná odpovědí imunitního systému (reakce na sekretované cytokiny) a končící eliminací senescentní buňky. S přibývajícím věkem ale počet senescentních buněk stoupá a tělo si s těmito počty nedokáže efektivně poradit. Senescence může být dlouhodobá, a postižená buňka má schopnost komunikovat s buňkami sousedními, a tím je ovlivňovat.

Sirtuiny, jak již bylo výše zmíněno, indukují opravu DNA, blíže proto souvisí s buněčnou senescencí. Lze říct, že slouží jako jeden z mechanismů prevence vůči tomu, aby k tomuto jevu vůbec došlo. Dříve než by se postižená buňka přeměnila v senescentní, byla by opravena a byla stabilizována její DNA. [57, 58].

Buněčná senescence je dnes považována za jeden z charakteristických znaků stárnutí. Snížení výskytu tohoto jevu, např. pomocí sirtuinů, může prodloužit jak život buňky, tak i organismu. [58, 59].

6.1 Aktivátory sirtuinů

6.1.1 Resveratrol

Systematickým názvem *trans*-3,4',5-trihydroxystilben, spíše známý jako resveratrol, je v přírodě vyskytující se polyfenol, který můžeme najít např. v bobulovitém ovoci jako jsou borůvky, švestky či červené hrozny, dále také v jablkách a arašidech [60]. Kromě jeho účinku na sirtuiny vykazuje také antioxidační, protizánětlivé a hepatoprotektivní vlastnosti. Funguje také jako vazodilatancium [61]. Jedná se nejznámější aktivátor sirtuinů.

V roce 2020 byla provedena studie na krysách zkoumající neuroprotektivní vlastnosti resveratrolu. Krysám s kombinovaným *Diabetes mellitus* a Alzheimerovou chorobou (nemoci s vyšší prevalencí u pokročilejšího věku) bylo podáváno 25 mg/kg resveratrolu po dobu pěti týdnů, přičemž byly vytvořeny jak kontrolní skupiny s placebem, tak kontrolní skupiny s inhibítorem SIRT1 pro potvrzení role SIRT1 v účinku resveratrolu. Měřily se kognitivní funkce myši pomocí jejich chování, poté proběhly biochemické analýzy aktivity

acetylcholinesterázy, superoxiddismutázy a další testy. Samozřejmě byla měřena i míra exprese Sirt1 pomocí Western blottingu.

Ukázalo se, že resveratrol mírnil kognitivní deficit krys, dále byly částečně potlačeny zánětlivé procesy a zvýšila se aktivita SIRT1 v mozkové tkáni [62].

6.1.2 Kurkumin

Jak už napovídá název – kurkumin (systematickým názvem diferuloylmethan), tak tuto látku je možné najít v kurkumě dlouhé (*Curcuma longa*), která se kromě potravinářského odvětví v podobě koření využívá i v medicíně a také v kosmetickém průmyslu [63]. Vykazuje antioxidační, protizánětlivé účinky a funguje jako aktivátor sirtuinů [64]. Kurkumin ovšem vykazuje jednu nepřívětivou vlastnost, a tou je nízká biodostupnost u člověka. V současnosti probíhá kromě studií pozitivních efektů i výzkum, který se zaměřuje na zvýšení biodostupnosti této chemické sloučeniny [65].

V roce 2017 byla provedena studie na potkanech s chronickou obstrukční plicní nemocí z vystavení cigaretovému kouři, u kterých byla přítomna mitochondriální dysfunkce kosterního svalstva. Byla podána léčba kurkuminem (100 mg/kg) oproti neléčené skupině, a bylo pozorováno např. zmírnění atrofie svalových vláken a zmírnění zánětu dýchacích cest. Dále se studie zaměřila na stav mitochondrií: u potkanů suplementovaných kurkuminem se obnovila integrita buněčné membrány a mitochondriálních krist. A také bylo přítomné i větší množství mitochondrií. Tyto efekty byly zprostředkované přes zvýšenou expresi mRNA pro proteiny SIRT3 a PGC-1 α [66].

6.1.3 Pterostilben

Sloučenina se systematickým názvem 3',5'-Dimethoxy-resveratrol, známá pod názvem pterostilben, je analogem resveratrolu s podobným farmakologickým efektem. Rozdíl mezi nimi je kromě molekulární struktury i větší biodostupnost pterostilbenu [67].

Náhodně rozdělená, dvojité zaslepená a placebem kontrolovaná klinická studie z roku 2017 se 120 zdravými jedinci ve věku 60–80 let studovala efekt kombinace pterostilbenu (PT) a nikotinamid ribosidu (NR) na zvýšení hladin NAD⁺ za 8 týdnů suplementace. Zjistilo se, že

při standardní dávce tohoto doplňku stravy (250 mg NR + 50 mg PT) denně se zvýšila plasmatická koncentrace NAD^+ o 40 %, a při dvojité dávce o 90 % po 4 týdnech sledování, přičemž tento efekt přetrvával až do konce suplementace. Nebyly pozorovány žádné výrazné vedlejší účinky oproti placebo skupině. I přes nedostatky studie jako je homogenita studované populace (převážně postarší jedinci europoidní rasy) se ukázaly jisté přínosy a možnost dalšího výzkumu [68].

Jak již bylo uvedeno dříve, NAD^+ je kofaktorem sirtuinů, proto je nepostradatelnou součástí jejich fungování.

6.1.4 Další sloučeniny

Aktivátorů sirtuinů je velké množství, které se neustále zvyšuje. Výše zmíněné sirtuiny jsou jen ty nejznámější. Je snaha zkoumat jak aktivátory vyskytující se v přírodě, tak i syntetizovat nové. V současnosti existují dvě generace syntetických látek vycházejících z resveratrolu a jemu podobných sloučenin [60].

6.2 Spojitost sirtuinů se stárnutím a jejich kontroverze

Sirtuiny jsou v některých studiích považovány za jedny z možných endogenních faktorů asociovaných se stárnutím. Jejich zvýšená aktivita v buňkách organismu pomáhá snížit riziko metabolických poruch a vzniku některých typů rakoviny [69]. Jejich epigenetická aktivita, tedy schopnost umlčovat expresi některých genů pomocí deacetylace histonů, a schopnost stabilizace a indukce opravy DNA, z této skupiny enzymů dělá slibný objekt zájmu mnohých studií.

K objektivizaci této skupiny enzymů je ale potřeba uvést to, že o sirtuinech nepanuje v odvětví výzkumu dlouhověkosti jednotný názor. Téma sirtuinů po objevu jejich efektů na dožití kvasinek zažilo obrovský zájem ve výzkumu i u široké veřejnosti, jelikož enzymy byly popisovány jako univerzální regulátory stárnutí. Velká medializace vytvořila tlak na část výzkumných skupin, které potom ignorovaly negativní výsledky výzkumu a zároveň glorifikovaly výsledky pozitivní. Došlo tedy k narušení objektivitu tohoto tématu a tento problém přetrvává do jisté míry dodnes. Některé studie resveratrolu např. uváděly falešnou pozitivitu výsledků kvůli interakci tohoto aktivátoru sirtuinů s fluoroforem. Dalším faktem

je, že i když je skupina enzymů evolučně konzervovaná od kvasinek až po savce včetně lidí, složitější organismy vykazují komplexnější fungování těchto enzymů prostřednictvím spolupráce s dalšími buněčnými mechanismy. Sirtuiny tak mohou mít pouze podružnou roli a může jim předcházet jiný, důležitější mechanismus, který stárnutí ovlivňuje. [70]

Sirtuiny jsou bezpochyby zajímavou skupinou enzymů, která si zaslouží své místo v řadě enzymů při výzkumu dlouhověkosti. Je ale potřeba jim nepřisovat přílišnou důležitost a potenciál, a brát je jako součást většího, komplexnějšího celku, kterým proces stárnutí je.

7 SAVČÍ CÍL RAPAMYCINU

Savčí cíl rapamycinu – mTOR (z angl. mammalian target of rapamycin) je evolučně zachovaný enzym, konkrétně serin-threoninová kináza. Tento enzym lze najít v eukaryotních buňkách kvasinek, hlístic a samozřejmě savců. Za tímto poněkud složitým názvem stojí skutečnost, že přirozený inhibitor tohoto enzymu, rapamycin, byl objeven dříve než enzym samotný [71]. Enzym má číslo EC 2.7.11.1 a je kódován genem lokalizovaným na krátkém raménku 1. chromozomu, blíže 1p36.22 [72, 73].

Rapamycin byl objeven roku 1975 ve vzorku půdy z Rapa Nui, tedy Velikonočního ostrova, v mikroorganismu *Streptomyces hygroscopicus*. Zjistilo se, že má antimykotické vlastnosti a jako antimykotikum byl později klasifikován. Následný výzkum zjistil, že má též imunosupresivní vlastnosti – inhibuje proliferaci T-lymfocytů [74, 75]. Této vlastnosti se začalo později využívat v transplantační medicíně – pod komerčním názvem Sirolimus byl a dnes stále je rapamycin využíván jako imunosupresivum u pacientů s transplantovanou ledvinou [76].

7.1 Funkce savčího cíle rapamycinu

V buňce má tento enzym celou řadu funkcí. Podílí se např. na regulaci buněčného metabolismu, katabolismu látek, imunitních odpovědí a autofagii, a to za cílem udržení homeostázy buňky. Může tvořit dva komplexy – mTOR complex 1 a 2 (zkráceně mTORC1 a mTORC2), přičemž každý má jinou funkci. mTORC1 aktivuje některé translační faktory a reguluje tvorbu lysozomů, mTORC2 např. ovlivňuje cytoskelet buňky. Narušení drah, ve kterých figurují tyto dva komplexy, je spojeno se vznikem nádorů, neurodegenerací a také stárnutím [77].

Komplex mTORC1 spolu s komplexem CCR4-NOT je také důležitým regulátorem indukce oprav DNA v záporném slova smyslu. Zasahuje do posttranskripčních úprav mRNA, která později kóduje proteiny důležité pro opravu DNA: O-6-methylguanin-DNA-methyltransferáza (MGMT) a protein NDRG1. Snížení aktivity komplexů mTORC1 a CCR4-NOT tedy zvyšuje míru translace výše zmíněných proteinů [78]. Tato funkce mTOR je dalším potvrzením jeho významné úlohy v procesu stárnutí.

Právě role mTOR v procesu stárnutí byla a je tématem mnohých studií. V raných stádiích života buňky komplexu mTORC1 podporují růst buňky a její rozmnožování např. stimulací proteosyntézy, avšak v pozdějších stádiích života buňky, kdy už se nedělí, je tento růst doprovázen akumulací poškozených organel. Protein mTOR poté způsobuje některé z nemocí spojených se stárnutím a to tak, že mimo jiné aktivuje buněčnou senescenci a potlačuje autofagii [79].

7.2 Rapamycin a rapaloga

Jak již bylo výše zmíněno, po objevení mTOR byl identifikován i jeho inhibitor – rapamycin. Ten se s vědomím, jaký účinek má mTOR na starší buňky, stal předmětem zájmu na poli výzkumu dlouhověkosti.

Premisa těchto studií byla taková, že při podávání rapamycinu by se mohla prodloužit doba přežití modelových organismů. Tento předpoklad se vyplnil již ve studii z roku 2010, kdy byl rapamycin v předem určených koncentracích podáván octomilkám, (*Drosophila melanogaster*). Zjistilo se, že inhibicí mTORC1 se zvýšil počet lyzozomů a snížila se proteosyntetická aktivita, to dalo prostor zvýšené indukci autofagie. Toto zjištění doprovázela skutečnost, že samičky reagovaly na podání rapamycinu intenzivněji. Dalším závěrem této studie bylo, že podávání rapamycinu společně s kalorickou restrikcí mělo větší dopad na přežití než samotné podávání této látky [80].

Další studie z roku 2016 na myších modelech ukázala, že se hlodavcům ve středním věku po podání nízkých dávek rapamycinu perorálně zvýšila doba dožití o cca 39 % – 45 % oproti myším, které rapamycin nepožívaly. V této studii bylo použito injekční dávkování vyšších množství látky. Samci vykazovali pozitivní nárůst doby dožití, u samic však vyvolával tento způsob podání hematopoetické malignity. Dalším zjištěním výzkumu byla skutečnost přetrvávající pozitivní efekt i po skončení léčby [81].

V roce 2020 byla zahájena studie PEARL – kontrolovaná klinická studie na vzorku 115 zdravých lidských jedinců ve věku 50 až 85 let, kterým byl po dobu 84 týdnů podáván rapamycin. V roce 2024 byla uveřejněna také zpráva kontrolující výsledky studie po jednom roku po skončení.

Účastníci byli rozděleni na tři skupiny podle dávky požitého rapamycinu: první skupina užívala 5 mg rapamycinu týdně, druhá skupina 10 mg a třetí bylo podáváno placebo.

U žen, které braly 10 mg rapamycinu týdně, se projevilo největší množství pozitivních změn – zvýšil se jim podíl svalové hmoty o cca 2 kg, došlo ke zlepšení sociálního fungování, celkové kvality života a snížení bolestí asociovaných s přibývajícím věkem. Dále došlo k úbytku symptomů osteoartrózy.

Druhou nejvíce pozitivně ovlivněnou skupinou byli muži s dávkou 10 mg rapamycinu týdně – zvýšila se jim hustota kostní tkáně, nebyly však pozorovány tak velké přínosy jako u žen.

Zjistilo se, že rapamycin nevykazoval žádné vážné vedlejší účinky. Dále se u části účastníků snížila hodnota LDL cholesterolu.

Tato studie i přes své nedostatky, jako byl nízký počet sledovaných jedinců z populace či hůře využitelná forma rapamycinu, ukázala že nízké dávky této látky mohou mít zdravotní přínosy a do jisté míry tak mohou chránit před nemocemi asociovanými s přibývajícím věkem [82].

Dalším předmětem zájmu jsou tzv. rapaloga, což jsou chemické sloučeniny odvozené od rapamycinu: Everolimus a Temsirolimus. Kromě již známých využití v transplantační medicíně a u pacientů s rakovinou se o tyto látky zajímají i výzkumné týmy zabývající se dlouhověkostí. Rapaloga totiž mají společnou vlastnost inhibice mTOR, jen jsou selektivnější vůči mTORC1 a mají méně vedlejších účinků [83].

7.3 Savčí cíl rapamycinu, kalorická restrikce a přerušované půstování

Kalorická restrikce, tedy příjem sníženého množství kalorií bez zdravotních obtíží a přerušovaný půst mají spojitost s mTOR. Při přerušovaném půstu dochází kromě stimulace AMPK i k inhibici mTOR v buňkách, a tím se stimuluje i autofagie, (viz Schéma 2) [84].

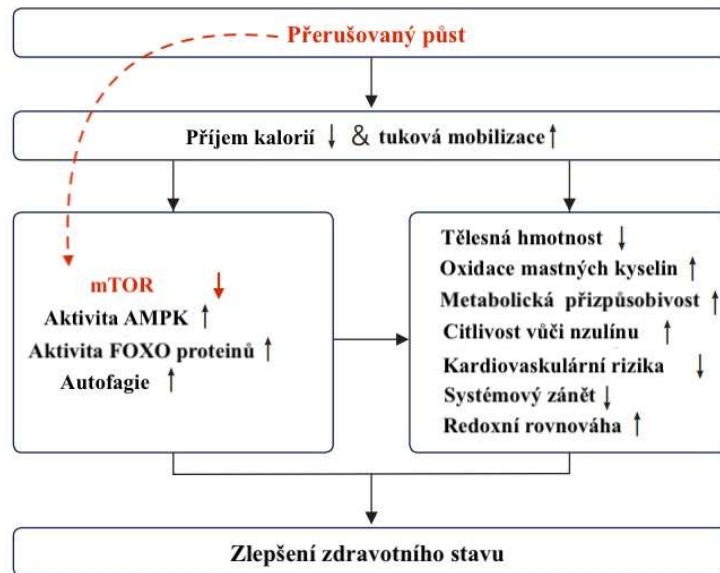


Schéma 2: Grafické znázornění spojitosti inhibice mTOR dráhy s přerušovaným půstováním, převzato a upraveno z: [85]

8 YAMANAKOVY FAKTORY

V roce 2006 byla v časopisu *Cell* publikována studie Kazutoshi Takahashiho a Shinya Yamanaky zabývající se indukcí pluripotentních kmenových buněk, přičemž byly použity buněčné linie myších embryonálních kmenových buněk a fibroblastů. Už tehdy bylo známo, že již diferenciované buňky mohou být „přeprogramovány“ zpět na nediferenciované. Tento děj je prováděn např. převedením jaderné DNA diferenciované buňky do oocyty. Mechanismus stojící za tímto jevem však nebyl v té době známý. Pro tuto studii bylo vybráno 24 možných kandidátních genů, které by mohly v tomto procesu hrát důležitou roli. Tyto geny kódují transkripční faktory, které zajišťují udržení buněčné identity embryonálních kmenových buněk. Do vybraných kandidátních genů byl transdukcí vložen gen zajišťující rezistenci vůči neomycinu. Indukce pluripotence fibroblastů, která je vlastností embryonálních kmenových buněk, tedy mohla být pozorována díky současné rezistenci buněk vůči geneticinu (strukturní analog neomycinu). Vylučovací metodou se poté vyselektovaly čtyři geny. Transkripční faktory, které tyto geny kódují, společně indukovaly pluripotentní stav buňky [86]. Za tento objev, díky kterému se zmíněným čtyřem transkripčním faktorům začalo přezdívat Yamanakovy faktory, získal Shinya Yamanaka v roce 2012 Nobelovu cenu [87].

8.1 Specifikace Yamanakových faktorů

Prvním transkripčním faktorem je Octamer-binding transcription factor 4, zkráceně Oct-4. Je kódován genem *POU class 5 homebox 1 (POU5F1)*, který se nachází na krátkém raménku 6. chromozomu, přesněji 6p21.33 [88]. Svojí aktivitou udržuje pluripotentní stav buňky a její sebeobnovovací schopnost. Tato aktivita zahrnuje např. interakce s dalšími proteiny nebo epigenetickou aktivitu v oblasti dalších genů potřebných pro regeneraci [89]. Protein má zároveň vícero izoform, které mají nepatrně odlišnou strukturu. Tato variabilita je zprostředkována mechanismy na úrovni transkripce, posttranskripčních úprav, translace i posttranslačních úprav [90].

Dalším transkripčním faktorem je SRY-box transcription factor 2, který je známý pod zkratkou SOX2. Gen, který kóduje tento protein, se nachází na dlouhém raménku 3. chromozomu, konkrétně 3q26.33 [91]. Funkce tohoto faktoru je stejná jako u Oct-4, tedy udržení pluripotence buňky. Navíc se podílí na regulaci diferenciaci buňky – pomáhá

„nasměrovat“ buňku do správné buněčné linie. Udržuje také homeostázu některých orgánových kmenových buněk a funguje jako aktivátor genů prostřednictvím rozvolnění chromatinu [92].

Třetím transkripčním faktorem je Krüppel-like factor 4, zkráceně Klf4. Gen, který kóduje tento protein, se nachází na dlouhém raménku 9. chromozomu, přesněji 9q31.2 [93]. Tento protein s terciární strukturou tzv. tří zinkových prstů je dále regulován na více úrovních. např. v post-translační úrovni je regulován pomocí fosforylace či acetylace, které dále ovlivňují jeho stabilitu a funkci. Kromě své úlohy v udržování pluripotence buňky má také úlohu v diferenciaci enterocytů, epidermálních a dalších buněk [94].

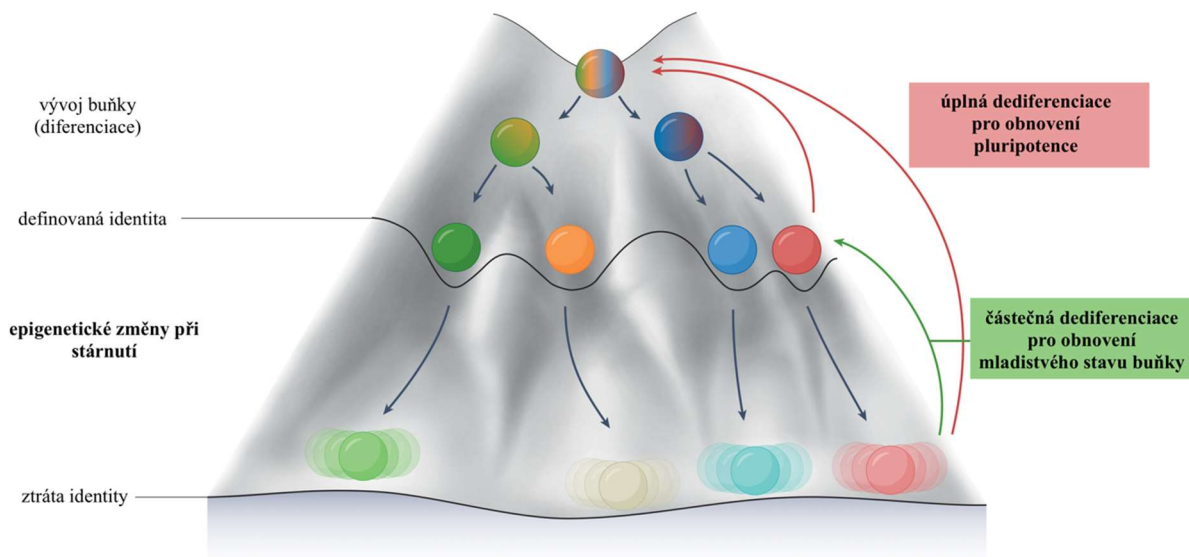
Posledním transkripčním faktorem je MYC protoonkogen, který je známý pod zkratkou c-MYC. Gen pro tento transkripční faktor se nachází na dlouhém raménku 8. chromozomu, blíže 8q24.21. Ke své transkripční aktivitě potřebuje tzv. transkripční faktor MAX, se kterým c-MYC tvoří heterodimer. Amplifikace exprese tohoto proteinu je spojována s výskytem některých druhů rakoviny. Translokace genu pro c-MYC je typická pro Burkittův lymfom [95]. c-MYC funguje jako amplifikátor transkripce, kdy svojí aktivitou ovlivňuje množství vytvořeného transkriptu. Tato amplifikace je globálního charakteru a ovlivňuje celkovou transkripci genů v buněčném jádře [96].

8.2 Yamanakovy faktory v odvětví výzkumu dlouhověkosti

Využití transkripčních faktorů, které při správném použití dokážou vrátit buňku do pluripotentního stavu, se stalo v posledních desetiletích objektem výzkumů na poli regenerativní medicíny a dlouhověkosti. Jako základní rámec pro nastínění této problematiky se využívá tzv. Waddingtonovy epigenetické krajiny, (viz Obrázek 5).

Waddingtonova epigenetická krajina je koncept vytvořený Conradem Hal Waddingtonem v 50. letech minulého století. Jde o vizuální znázornění osudu buňky ve smyslu její diferenciaci. Na začátku je buňka, která je znázorněna jako kulička, na vrcholku pomyslného údolí plném výšin a nížin. Tato buňka je pluripotentní, a při její další diferenciaci pomocí epigenetických změn chromatinu se „sklouzl“ do jedné z nížin, která reprezentuje její zčásti rozvinutou identitu. Tímto postupným „sklouzáváním“ dolů se buňka diferenciuje až do své finální zamýšlené podoby. Postupem času ale buňka opět „vypadne“ ze své zamýšlené nížiny

a opět se „kutálí“ dolů, což znázorňuje stárnutí buňky, v tomto případě nechtěné epigenetické změny v důsledku poškození. Tato buňka už zčásti ztratila svojí nabytou identitu a dalším



Obrázek 4: Waddingtonova krajina, převzato a upraveno z: [97]

„kutálením“ dolů dochází k úplné ztrátě identity a příp. ke smrti buňky. Dlouho se mělo za to, že tato ztráta identity je nevratná, ale tato domněnka byla vyvrácena řadou výzkumů a studií, do kterých lze zahrnout i výše zmíněný výzkum [86]. Při použití Yamanakových faktorů lze buňku „vzdvihnout“ zpět ze svého nejnižšího bodu na vyšší místo (tzv. dediferenciaci) až na vrcholek údolí k opětovnému dosažení pluripotentního stavu. Toto znovunastolení pluripotence avšak není cílem výzkumu dlouhověkosti, ale částečné omlazení buňky. Na Waddingtonově epigenetické krajině by tedy šlo o vytáhnutí kuličky z nejnižšího místa na vyšší pozici, ve které byla, když měla plně dosaženou identitu [97]. Celkové znázornění těchto dějů je znázorněno na Obrázku 5.

S myšlenkou částečného přeprogramování pomocí Yamanakových faktorů přišla v roce 2010 dvojice vědců – Prim B. Singh a Fred Zacouto, šlo však pouze o teoretický model [98]. Rok nato vyšla studie vedená Laure Lapassetem, která zkoumala vliv senescence na možnost reprogramování do pluripotentního stavu. Studie probíhala *in vitro* na senescentních i proliferujících fibroblastech starších jedinců a místo původních čtyř faktorů byly použity ještě další dva: faktory homeobox protein NANOG (hNanog) a lin-28 homolog A (LIN28). Pomocí reverzní transkriptázy lentivirů (rod Retrovirů) byly do genomu zakomponovány příslušné geny pro expresi těchto faktorů. Výsledné buňky vykazovaly povrchové markery pluripotentních buněk a tím došlo k opětovné aktivaci endogenních transkripčních faktorů zajišťujících

pluripotenci, a to pomocí demethylace jejich promotorů. Došlo také k obnově délky telomer chromozomů. Když se poté nechaly buňky zpět diferencovat do fibroblastů, vykazovaly fenotyp mladých buněk [99].

V následujících letech se podobné výzkumy přesunuly do *in vivo* formy. V roce 2016 vyšla první *in vivo* studie na zvířecím modelu. Byly použity geneticky modifikované progerické myši, které díky mutaci genu pro lamin A exprimovaly zkrácenou formu tohoto proteinu a trpěly tedy lidským ekvivalentem Hutchinsonova-Gilfordova syndromu – vykazovaly tedy dřívější nástup potíží spojených se stárnutím a stáří samotné. Tyto myši byly zkříženy s další linií transgenních myší, kterým byla do genomu vložena doxycyklinem indukovatelná forma genů Yamanakových faktorů. Vznikly tedy progerické myši s indukovatelnými Yamanakovými faktory. Následně byl myším cyklicky podáván ve vodě rozpuštěný doxycyklin v režimu 2 dny podávání a 5 dní pauza. Tento protokol byl vytvořen za cílem zamezení vzniku teratomů, kompletní dediferenciace buněk a bezpečné epigenetické úpravy genomu. Kontinuální podávání doxycyklinu totiž vedlo k úbytku váhy a vysoké mortalitě. Myším se zvýšil medián délky života o přibližně 30 % a maximální délka života o 18 % oproti kontrolní skupině. Zároveň myši vykazovaly mladistvější vzhled a bylo u nich pozorováno menší poškození DNA a menší množství epigenetických dysregulací [100].

Jedna z nejnovějších studií z roku 2024 se podobá výše uvedené, s tím rozdílem, že místo transgenních myší byly použity myši, u kterých nebyl v minulosti proveden žádný zásah do genomu. Aplikace pomocí adeno-asociovaných virů byla použita u myší ve věku 124 týdnů. Dále nebyly do genomu přeneseny všechny Yamanakovy faktory – nebyl použit faktor c-Myc kvůli svým onkogenním vlastnostem. Indukce exprese transkripčních faktorů opět probíhala pomocí doxycyklinu v režimu týden podávání a týden bez dávky této látky. Výsledky byly pozoruhodné: medián zbývající délky života myší se prodloužil o 109 % (18,5 týdne) ve srovnání s kontrolní skupinou (8,86 týdne). Kromě prodloužení života bylo pozorováno také zlepšení jeho kvality. Byly též pozorovány epigenetické změny – buňky jater a srdce odpovídaly svým epigenetickým stavem mladším buňkám [101].

Ačkoliv výše uvedené studie představují vcelku pozitivní náhled na studovanou problematiku, je zde několik problémů, které brání studiím převést výzkum do klinického stádia aplikace na člověku. První problém je etického rázu – použití genetických modifikací na lidech

jsou do dnešního dne tabu, které možná ještě dlouhou dobu nebude překročeno. Druhý problém představuje možnost vzniku mutací a rakoviny. Vědci se proto snaží tyto problémy obejít použitím jiných metod. Jednou z nich je použití různých směsí chemických látek, které vyvolávají podobný efekt jako Yamanakovy faktory. Studie z roku 2023 identifikovala řadu „směsí“ chemických látek, které měly podobnou úspěšnost jako použití Yamanakových faktorů – nejúčinnější směs s názvem VC6TF obsahovala 5 látek: kyselinu valproovou, CHIR-99021, E-616452, tranlycypromin a forskolin. Starší lidské a senescentní fibroblasty, na kterých byla studie prováděna, vykazovaly řadu pozitivních změn, např. zvýšenou funkci transportu proteinů přes jadernou membránu (snížení této funkce je jedním z mnoha markerů stáří buňky) a zvrácení změn genové exprese spojených se stárnutím [102].

9 ENVIRONMENTÁLNÍ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ STÁRNUTÍ

V kapitole 2 pojednávající o charakteristických znacích stárnutí byly již zmíněny tři znaky přímo související s DNA, a to se zkracováním telomer, nestabilitou genomu a epigenetickými modifikacemi. U dvou znaků (nestabilita genomu a epigenetické modifikace) lze ale najít i světlou stránku – jsou reverzibilní, obzvlášť změny epigenomu. Existují dokonce i různé stresory a druhy životního stylu, které se běžně vyskytují v každodenním životě lidí, a které mohou pozitivně zvrátit tyto změny. Na stres je obvykle nahlíženo jako na negativní faktor, ale v přiměřené míře má i svá pozitiva. Tento jev je známý jako hormeze a již delší dobu je intenzivně zkoumaným tématem v oblasti výzkumu stárnutí a dlouhověkosti. Koncept hormeze vychází z definice závislosti dávky léčiva na účinku, kterou představil už na začátku 16. století Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, známý spíše pod jménem Paracelsus - „*Sola dosis facit venenum*” (Samotná dávka dělá jed). Později se zjistilo, že tato bifázická závislost se uplatňuje napříč celou řadou oborů. V současnosti je hormeze popisována jako adaptivní odpověď organismu na různé stresory, která má nelineární charakter [103].

9.1 Kalorická restrikce a přerušované půstování

Kalorická restrikce (CR – Caloric Restriction) je definována jako snížení příjmu energie bez výskytu podvýživy. Procentuálně by se mělo jednat o 10 % – 30 % úbytek energetického příjmu, přičemž větší úbytek už nepřináší kladné účinky – byl pozorován dopad jak na fyzické, tak na psychické zdraví člověka. Strava přijímaná při CR by měla být vyvážená a bohatá na mikronutrienty a vlákninu. Postupně přibývajícím důkazům z preklinických a klinických studií naznačují, že samotná CR bez dalších úprav životního stylu může prodloužit život o 1 až 5 let se současným zlepšením kvality života. Mezi benefity CR patří zvýšení funkčnosti mitochondrií v produkci energie pro buňku a snížení rizika vzniku *Diabetes mellitus* 2. typu (prostřednictvím zvýšení citlivosti buněk na inzulín) a kardiovaskulárních onemocnění. Současně s CR dochází k dlouhodobému snížení tělesné teploty [104].

Kromě svého účinku na mitochondrie má kalorická restrikce vliv i na epigenom buňky. Studie z roku 2017 zkoumala na třech různých druzích saveců (myš domácí, makak rhesus a člověk) vliv věkové kategorie testovaných jedinců a kalorické restrikce na metylaci DNA.

Prvním zjištěním byla korelace mezi změnou methylace DNA a hodnot věku u všech tří druhů – s přibývajícím věkem docházelo k hypomethylaci u původně více methylovaných oblastí genomu a naopak. U myši a makaků navíc bylo zjištěno, že kalorická restrikce napomohla k částečnému zvratu změn methylace s přibývajícím věkem [105].

S důležitým zjištěním přišla studie z roku 2023, která dodatečně analyzovala výsledky studie CALERIE (Comprehensive Assessment of Long-term Effects of Reducing Intake of Energy), která zde bude níže stručně specifikována pro širší uchopení problematiky v rámci kontextu. Studie CALERIE zkoumala vlivy dlouhodobé kalorické restrikce (24 měsíců) na zdravotní stav souboru 220 lidských jedinců. Ti byli rozděleni do dvou skupin v poměru 2 : 1 – skupina s kalorickou restrikcí a kontrolní skupina bez kalorické restrikce. Původně měla být kalorická restrikce 25 %, ale účastníkům se podařilo dosáhnout pouze zhruba 12 % snížení. Při této studii se zjistilo, že došlo k úbytku hmotnosti u skupiny s CR, v průměru o 7,5 kg. Dále došlo ke zlepšení rizikových faktorů podmiňujících kardiovaskulárních onemocnění – snížení koncentrace LDL a celkového cholesterolu, snížení systolického i diastolického tlaku, snížení koncentrace triglyceridů v krvi a také snížení koncentrace C-reaktivního proteinu. Dále došlo ke zlepšení parametrů hodnotících metabolismus glukózy, což naznačuje, že CR může do určité míry sloužit jako prevence proti vzniku *Diabetes mellitus 2.* typu [106].

Dříve zmíněná studie z roku 2023 se zaměřila na sledování biologického stárnutí pomocí změn DNA methylace. Data o methylaci DNA byla dostupná od 197 účastníků z původní studie, z toho 128 jedinců patřilo do skupiny s CR a 69 do kontrolní skupiny se standardním příjmem potravy. Bylo zjištěno, že u skupiny s CR se oproti kontrolní skupině zpomalilo tempo stárnutí epigenomu (v podobě methylace DNA) o 2 % – 3 %. I když nejde o příliš vysoké hodnoty, tak by toto mírné zpomalení tempa stárnutí znamenalo určitý dopad na obecné zdraví populace ve formě předcházení chronickým onemocněním spojených s rostoucím věkem [107].

Přerušované půstování (zkráceně IF – intermittent fasting) je definováno jako stravovací režim, při němž dochází ke střídání fáze půstu (absence potravy) a fáze neomezeného příjmu potravy. Tento stravovací režim je v posledních letech stále více zkoumán kvůli svým zdravotním benefitům a efektu na dlouhověkost. IF má řadu podtypů – prvním je půst každý druhý den (zero-calorie alternate-day fasting, ADF), kdy dochází ke střídání dnů neomezeného příjmu potravy a dnů půstu. Dalším typem je modifikace předchozího typu (modified

alternate-day fasting, MADF), kdy se střídají dny neomezeného příjmu potravy a dny s omezeným příjmem potravy (kdekoliv od 0 % do 40 % doporučené denní dávky – DDD) 3x až 5x týdně. Třetí kategorie je velmi podobná té předchozí – dvoudenní půst týdně (twice-per-week fasting, TWF), kdy tyto dva dny mohou být dohromady nebo odděleně, a při dnech půstu je příjem potravy 0 % – 40 % DDD. Čtvrtou, velmi oblíbenou skupinou je časově omezené půstování (time-restricted eating – TRE), kdy ve 24 hodinách je fáze příjmu potravy (8 – 12 hodin) a zbytek dne je zařazen půst (12 – 16 hodin). Poslední kategorií je tzv. periodické půstování, kdy jednotlivé fáze půstu jsou delší, ale ne tak frekventované [108]. Lze si povšimnout, že jednotlivé kategorie na sebe navazují nebo se překrývají. Každá kategorie má svoje výhody a nevýhody, souhrnně jsou ale přínosné všechny výše zmíněné.

Studie z roku 2020 zkoumala dopad přerušovaného půstování po dobu 30 dní na proteomický profil a vybrané metabolické parametry u 14 zdravých jedinců – 13 mužů a 1 žena. Půst probíhal v režimu od východu do západu slunce (cca 14,5 hodin). Od všech testovaných jedinců byly odebrány vzorky krve – na začátku studie, na konci 4. týdne od začátku půstu, a nakonec týden po konci půstu. Všechny sérové markery byly analyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí. Bylo zjištěno, že na konci půstu došlo k úpravě proteomického profilu, který naznačoval zvýšenou ochrannou funkci proti několika typům rakoviny, zlepšení funkce imunitního systému a jaterní clearance. Další proteomická data se týkala proteinu ovlivňujícího opravu DNA – proteinu CEP164. Tento protein hraje významnou úlohu v opravě DNA po poškození UV zářením. Na konci půstu byla koncentrace tohoto proteinu v séru zvýšena až 45x. Týden po skončení půstu byla navíc zaznamenána zvýšená exprese několika genů klíčových pro metabolismus glukózy a lipidů a regulaci krevního tlaku [109].

V roce 2022 byla dokonce publikována studie, která kombinovala oba dva výše zmíněné přístupy – CR a IF. Na myších byl pozorován dopad 30 % kalorické restrikce spojené s TRE. Skupiny myši byly rozděleny do 6 skupin, které zobrazuje následující Tabulka 1.

Tabulka 1: Podmínky CR a IF pro myši v jednotlivých skupinách ze studie dopadu kombinace CR a IF na dobu dožití

skupina	procento CR [%]	doba příjmu potravy [h]	denní doba příjmu potravy
Ad libitum	0	24	kdykoliv
CR, potrava v noci	30	2	noční (aktivní fáze)
CR, potrava ve dne	30	2	denní (klidová fáze)
CR, potrava v noci	30	12	noční (aktivní fáze)
CR, potrava ve dne	30	12	denní (klidová fáze)
CR, potrava kdykoli	30	24	kdykoliv

CR – kalorická restrikce, IF – přerušované půstování

Bylo zjištěno, že samotná kalorická restrikce prodloužila medián dožití myši cca o 10 %. Nejlépe ze všech skupin ovšem vykazovala výsledky skupina, která přijímala potravu 70 % DDD po 2 hodiny během noci, kdy jsou myši normálně aktivní – jejich medián dožití se prodloužil o 34,8 %. I skupina s nočním příjmem potravy (70 % DDD) po 12 hodin vykazovala velmi dobré výsledky – medián dožití se prodloužil o 28,3 %. Současně byl u nejúspěšnější skupiny pozorován pozdější nástup manifestace nádorových onemocnění, což v celé studii byla nejčastější příčina úmrtí myši. Uvedené zjištění v rámci studie naznačuje pozdější nástup patologických změn spojených se stárnutím [110].

9.2 Chladová a tepelná expozice

Dalším environmentálním faktorem ovlivňujícím stárnutí je změna teploty okolního prostředí. Jako první bude objasněna chladová expozice. Ta se v posledních letech stala populární zejména u širší veřejnosti ve formě otužování. Chladová expozice v menší míře tlumí chronický zánět organismu přes zvýšení protizánětlivých či snížení prozánětlivých hladin cytokinů, zvyšuje citlivost na inzulín a mírní oxidativní stres [111]. Expozice chladem aktivuje hnědou tukovou hmotu, která v sobě obsahuje větší množství mitochondrií než bílý tuk.

Zatímco bílý tuk slouží ke „skladování“ energie, hnědý tuk energii spotřebovává především k produkci tepla, čímž zajišťuje regulaci teploty organismu. Tento jev je známý pod názvem termogeneze a je zprostředkováván proteinem s názvem uncoupling protein 1 (česky odpojovací protein 1, zkratka UCP1). Spolu s termoregulací organismu zprostředkovává oxidaci glukózy a lipidů, čímž snižuje riziko vzniku *Diabetes mellitus* 2. typu, obezity a kardiovaskulárních onemocnění. Právě zvýšená aktivita či množství hnědé tukové tkáně při expozici chladem je spojováno s pozitivním vlivem na stárnutí a prodloužení života [112]. Dalším zajímavým úkazem spojeným s expozicí chladem je výskyt proteinu CIRBP (cold-inducible RNA-binding protein, chladem vyvolatelný RNA-vázací protein). Ten totiž figuruje v opravě dvouvláknových zlomů DNA. Při poškození DNA se CIRBP akumuluje v postižených místech a společně s dalšími proteiny iniciuje následnou opravu [113]. Tento protein je ve vysokých koncentracích exprimován v buňkách tkání u Velryb grónských (*Balaena mysticetus*), které se dožívají přes 200 let. Navíc u nich je zaznamenán mnohem menší výskyt rakoviny. To je připisováno mimo jiné i proteinu CIRBP, který přispívá k velmi účinné a přesné opravě DNA [114].

Na druhé straně teplotního spektra, tedy ve vyšších teplotách, jsou nejslibnější skupinou látek tzv. heat shock proteiny (zkráceně HSP, česky tepelné šokové proteiny). Jedná se o skupinu evolučně konzervovaných molekulárních chaperonů. Podílejí se na celé řadě fyziologických procesů, např. diferenciace buněk. Na molekulární úrovni v buňce se podílejí na proteostáze – zabraňují denaturaci a rozbalování proteinů v normálních i stresových podmínkách. Další významnou funkcí HSP je jejich role v opravných mechanismech DNA. Ve spojení s dalšími komponentami (např. enzymy) jsou přítomny u oprav chybného párování bází, oprav po poškození UV zářením, nebo u oprav dvouřetězcových zlomů DNA [115]. Ke zvýšení exprese HSP dochází i při saunování. Saunování lze definovat jako krátkodobé vystavení teplotám od 45 °C do 100 °C. Již po jednom saunovacím cyklu trvajícím 30 min při teplotě 72 °C se hladina HSP může zvýšit až o 49 %. Dále saunování vede ke snížení rizika vzniku kardiovaskulárních chorob a neurodegenerativních chorob jako Alzheimerova choroba či demence [116].

Jak chladová expozice, tak tepelná expozice se považují za hormetické. To znamená, že splňují bifázickou závislost a vystavování se chladu nebo teplu po delší časové období již není pro organismus nadále přínosné. Příkladem může být studie z roku 2025, která zkoumala vliv

vyšších venkovních teplot na epigenetický věk u starší populace ve Spojených státech amerických. Konkrétně se prováděla analýza methylace DNA z krevních složek na vzorku 3686 dospělých Američanů ve věku 56 let a více. Methylační data byla porovnávána s různými časovými okny (den odběru krve, předchozích 7 dní, 30 dní, 60 dní, 1 rok, 6 let) ve kterých byl zjištěn počet dní s vysokými teplotami (3 teplotní skupiny v rozmezí od 26,7 °C do 51,1 °C). Byl zjištěn přímý vztah mezi zvýšenou venkovní teplotou a urychleným epigenetickým stárnutím již v nejkratším časovém okně [117]. Další studie uvádí, že jak příliš vysoká, tak příliš nízká teplota zvyšuje riziko kardiovaskulárních onemocnění [118]. Je tedy nutné brát při dalším výzkumu teplotních expozic a jejich vlivu na dlouhověkost v potaz i tyto vnější skutečnosti.

9.3 Mentální stres

Dalším enviromentálním faktorem je tzv. mentální stres. Ten se mezi hormetické faktory nezařazuje přímo, lze ho ale v určité míře za hormetický považovat. Z fyziologického hlediska lze krátkodobý mírný mentální stres (také nazýván eustres) považovat za pozitivní. Je obecně známo, že eustres dokáže např. pozitivně stimulovat imunitní systém, zatímco chronický stres imunitní systém naopak dereguluje a může zhoršovat průběh alergií či autoimunitních chorob [119]. Dále je chronický mentální stres příčinou rychlejšího zkracování telomer chromozomů ve všech typech buněk, je zodpovědný za zvýšenou produkci reaktivních forem kyslíku (ang. Reactive Oxygen Species, zkratka ROS) vinou poruchy mitofagie, což poškozuje okolní tkáň a urychluje tak stárnutí, a nakonec způsobuje chronický zánět, který přispívá ke vzniku chronických onemocnění [120]. Ovlivňuje také metylaci DNA, takže figuruje i v epigenetické rovině. V roce 2021 byla provedena studie na vzorku 444 účastníků, z nichž 245 byly ženy a 199 muži. Zkoumány byly faktory ovlivňující metylaci DNA z příčiny chronického stresu, který v této studii byl odvozen z dotazníku, hodnotící např. traumatické události, subjektivní míru zahlcení, atd. Mezi faktory se řadily: míra emoční regulace (zjištěno z dotazníku – např. nedostatečné vnímání emocí, impulzivita při zvládání emocí atd.), míra sebekontroly (zjištěno taktéž z dotazníku zkoumajícího míru zvládání různých impulzů za účelem dosažení dlouhodobého cíle) a fyziologické faktory (poměr kortizolu a adrenokortikotropního hormonu – ACTH, míra inzulínové rezistence). Kromě hlavního zjištění, že chronický stres zrychluje epigenetické stárnutí, byl také zaznamenán významný vliv regulace emocí na míru zrychlení – mentálně odolnější jedinci byli odolní též vůči zrychlení

epigenetického stárnutí. Zrychlení bylo zaznamenáno také u lidí s vyšší inzulínovou rezistencí [121].

9.4 Fyzická aktivita

Enviromentální faktor ovlivňující stárnutí, který se projevuje na úrovni DNA i celé buňky je fyzická aktivita. Ovlivňuje délku telomer, metylaci DNA a produkci reaktivních forem kyslíku (ROS – Reactive Oxygen Species). Pravidelné cvičení (zejména aerobní – vytrvalostní) je spojeno s delšími telomery v DNA leukocytů a svalových buněk oproti jedincům se sedavým životním stylem. Extrémní vytrvalostní zatížení však může naopak vést ke zkracování telomer, což opět poukazuje na hormetické účinky. Aerobní i anaerobní trénink způsobuje změny v metylaci DNA, a tím i expresi genů spojených hlavně se svalovou hmotou (např. geny exprimující proteiny pro kontrolu diferenciaci svalových buněk), spojených se zánětem (geny pro protizánětlivé cytokiny, např. IL-10) a energetickým metabolismem (např. gen pro regulátor mitochondriální biogeneze *PGC-1 α* , gen pro enzym zapojený v oxidaci glukózy a mastných kyselin *PDK4*). Jednorázové intenzivní cvičení vede k rychlým a dočasným změnám epigenomu, přičemž dlouhodobý trénink může vést k trvalejším epigenetickým změnám. Co se týče zvýšené tvorby ROS, intenzivní cvičení se na něm podílí ve všech případech což vede k poškození DNA. U trénovaných jedinců je však tento efekt méně výrazný díky zvýšené aktivitě antioxidantních enzymů a mechanismů opravy DNA [122].

9.5 Spánek

Posledním zmíněným, ale neméně důležitým enviromentálním faktorem, je spánek. Od ostatních faktorů se liší v tom, že podle převládajícího výzkumu není hormetický. Existují studie, které tvrdí opak. Jedním z důkazů je studie z roku 2009, kdy byl na myších zkoumán vliv akutní spánkové deprivace na zánětlivou odpověď organismu. Výsledkem této studie bylo snížení exprese prozánětlivého cytokinu IL-1 β , zvýšení exprese IL-10 (protizánětlivý cytokin) a IL-6 (prozánětlivý cytokin), zmírnění neuronálního poškození a zánětlivé odpovědi v CNS i v periferních tkáních [123]. Obecně ale převažuje názor, že nedostatek (méně než 7 hod) či přebytek (více než 9 hod) spánku má na organismus převážně negativní vliv, hlavně při chronickém charakteru. Populační studie z roku 2024 na vzorku 13 569 jedinců a jejich biomarkerů zjistila, že jak příliš krátký, tak příliš dlouhý spánek negativně ovlivňuje proces stárnutí [124]. Neoptimální doba spánku ovlivňuje také stav telomer a epigenom buněk.

Ke zkracování telomer díky nedostatku spánku dochází obzvláště v pokročilém věku [125]. Co se týče vlivu spánku na epigenom buňky, existuje celá řada studií spojující změny methylace DNA při zhoršené kvalitě spánku či při příliš krátké době trvání spánku. Studie z roku 2024 zkoumala spojitost mezi kvalitou spánku a změnami epigenomu charakteristickými pro stárnutí. Vzorek 692 Korejců byl nejdříve ohodnocen pomocí Pittsburského indexu kvality spánku (hodnotí se subjektivní kvalita spánku, latence spánku, trvání spánku, obvyklá účinnost spánku, poruchy spánku, užívání léků na spaní a denní dysfunkce). Na základě studie byla získaná data rozdělena do 2 skupin: skupina s dobrým spánkem a skupina se špatným spánkem. Analýza probíhala ze vzorků krve účastníků. Ačkoliv nebyly mezi těmito skupinami zjištěny žádné významné změny v životním stylu (včetně fyzické aktivity, kouření a konzumace alkoholu) ani v klinických parametrech (např. krevní tlak, glykovaný hemoglobin, celkový cholesterol...), pouze u skupiny se špatným spánkem bylo pozorováno zrychlení tempa stárnutí. Navíc byla pozorována korelace mezi hodnocením Pittsburského indexu kvality spánku a zvýšením rizika vzniku metabolického syndromu – s každým bodem indexu docházelo k 18% zvýšení rizika [126]. Další studie z roku 2019 objevila charakteristický vzor methylace DNA při nedostatečné době spánku. Po porovnání vzorku od 105 mužů se spánkovým deficitem ze dvou populačních studií bylo zjištěno, že jednotlivé vzorky vykazovaly na 399 místech v genomu shodné methylační vzorce DNA, přičemž 78 % těchto míst bylo oproti kontrole hypomethylováno. Geny, kterých se tato shoda methylačního vzorce týkala, navíc byly identifikovány jako geny důležité pro vývoj nervového systému (např. geny exprimující proteiny důležité pro neurogenezi, regulaci vývoje nervového systému atd.) [127].

10 ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce uceleně shrnuje problematiku stárnutí a dlouhověkosti z komplexního pohledu zapojení rozličných mechanismů, přičemž důraz je kladen na ty mechanismy, které přímo souvisí s DNA a epigenomem buňky.

V prvních dvou kapitolách bakalářské práce je zmíněna charakteristika stárnutí jako takového, tedy jsou uvedeny teorie o stárnutí a popis jednotlivých charakteristických znaků stárnutí. Bez řádného pochopení procesu stárnutí totiž nelze zkoumat dlouhověkost člověka a ostatních organismů.

Hlavní oddíl bakalářské práce tvoří kapitoly rozkrývající témata zahrnující tzv. geny dlouhověkosti a jednotlivé epigenetické efekty, kterými alely těchto genů ovlivňují dobu dožití organismů. Dále jsou v této části popsány jednotlivé proteiny z řad enzymů, které ovlivňují stárnutí pomocí opravy DNA a aktivaci genů důležitých pro správné fungování buněčných pochodů. Obzvláště zajímavou a poměrně aktuální problematiku tvoří kapitola o Yamanakových transkripčních faktorech, které navrací buňce mladistvý stav díky částečné nebo úplné dediferenciaci.

V rámci rešeršního zpracování předložené závěrečné práce lze vybrané zajímavosti shrnout do několika podstatných bodů. První bod představuje fakt, že v genomu člověka existují alely genů, které poskytují větší šanci na prodloužení věku života člověka. Další bod představuje vcelku pozitivní náhled na výzkum dlouhověkosti do budoucna, hlavně prostřednictvím chemických a jiných látek, které dokážou např. zvýšit aktivitu sirtuinů nebo naopak utlumit aktivitu enzymu mTOR, čímž pozitivně ovlivní proces stárnutí u člověka a ostatních modelových organismů.

Zajímavé je také srovnání jednotlivých environmentálních faktorů mezi sebou a také jejich dopadu na fyziologické funkce člověka a na epigenom buněk. V současnosti existuje nemalá část populace, která svým životním stylem ovlivňuje proces stárnutí především v negativním slova smyslu. Je proto kladnou zprávou to, že tato poškození buněk a následně organismu, jsou z nemalé části opravitelné, a že je v moci každého jedince tyto opravy přirozeně spustit např. pomocí úpravy životního stylu.

SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

- [1] GUO, J., X. HUANG, L. DOU, M. YAN, T. SHEN, W. TANG a J. LI. Aging and Aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal transduction and targeted therapy* [online]. 2022, **7**, s. 1–40 [cit. 2025-04-07]. Dostupné z: doi:10.1038/s41392-022-01251-0.
- [2] KYRIAZIS, M. Ageing Throughout History: The Evolution of Human Lifespan. *Journal of Molecular Evolution* [online]. 2020, **88**, s. 57–65 [cit. 2025-04-08]. Dostupné z: doi:10.1007/s00239-019-09896-2.
- [3] VOSKARIDES, K. Combination of 247 Genome-Wide Association Studies Reveals High Cancer Risk as a Result of Evolutionary Adaptation. *Molecular Biology and Evolution* [online]. 2018, **35**(2), s. 473–485 [cit. 2025-04-08]. Dostupné z: doi:10.1093/molbev/msx305.
- [4] MITCHELL, S. E., M. SIMPSON, L. COULET, S. GOUEDARD, C. HAMBLY, J. MORIMOTO, D. B. ALLISON a J. R. SPEAKMAN. Reproduction has immediate effects on female mortality, but no discernible lasting physiological impacts: A test of the disposable soma theory. *National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 2024, **121**(42), s. 1–12 [cit. 2025-04-08]. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.2408682121.
- [5] LÓPEZ-OTÍN, C., M. A. BLASCO, L. PARTRIDGE, M. SERRANO a G. KROEMER. The Hallmarks of Aging. *Cell* [online]. 2013, **153**(6), s. 1194–1217 [cit. 2025-04-11]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2013.05.039.
- [6] LÓPEZ-OTÍN, C., M. A. BLASCO, L. PARTRIDGE, M. SERRANO a G. KROEMER. Hallmarks of Aging: An expanding universe. *Cell* [online]. 2023, **186**(2), s. 243–278 [cit. 2025-04-12]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2022.11.001.
- [7] VIJG, J. a X. DONG. Pathogenic Mechanisms of Somatic Mutation and Genome Mosaicism in Aging. *Cell* [online]. 2020, **182**(1), s. 12–23 [cit. 2025-04-12]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2020.06.024.

- [8] CHAKRAVARTI, D., K. A. LABELLA a R. A. DEPINHO. Telomeres: history, health, and hallmarks of Aging. *Cell* [online]. 2021, **184**(2), s. 306–322 [cit. 2025-04-12]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2020.12.028.
- [9] BLACKBURN, E. H., E. S. EPEL a J. LIN. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in Aging, disease risks, and protection. *Science* [online]. 2015, **350**(6265), s. 1193–1198 [cit. 2025-04-12]. Dostupné z: doi:10.1126/science.aab3389.
- [10] DAI, W., X. QIAO, Y. FANG, R. GUO, P. BAI, S. LIU, T. LI, Y. JIANG, S. WEI, Z. NA, X. XIAO a D. LI. Epigenetics-targeted drugs: current paradigms and future challenges. *Signal Transduction and Targeted Therapy* [online]. 2024, **9**, s. 1–71 [cit. 2025-04-14]. Dostupné z: doi:10.1038/s41392-024-02039-0.
- [11] SEALE, K., S. HORVATH, A. TESCHENDORFF, N. EYNON a S. VOISIN. Making sense of the Ageing methylome. *Nature Reviews Genetics* [online]. 2022, **23**, s. 585–605 [cit. 2025-04-15]. Dostupné z: doi:10.1038/ s41576-022-00477-6.
- [12] HEGAZY, Y. A., H. DHAHRI, N. E. OSMANI, S. GEORGE, D. P. CHANDLER a Y. N. FONDUFÉ-MITTENDORF. Histone variants: The bricks that fit differently. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2025, **301**(1), s. 1–18 [cit. 2025-04-15]. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbc.2024.108048.
- [13] YI, S.-J. a K. KIM. New Insights into the Role of Histone Changes in Aging. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, **21**(21), s. 1–20 [cit. 2025-04-15]. Dostupné z: doi:10.3390/ijms21218241.
- [14] TAKAHASHI, Y., M. M. VALENCIA, Y. YU, Y. OUCHI, K. TAKAHASHI, M. N. SHOKHIREV, K. LANDE, A. E. WILLIAMS, C. FRESIA, M. KURITA, T. HISHIDA, K. SHOJIMA, F. HATANAKA, E. NUÑEZ-DELICANDO, C. R. ESTEBAN a J. C. I. BELMONTE. Transgenerational inheritance of acquired epigenetic signatures at CpG islands in mice. *Cell* [online]. 2023, **186**(4), s. 715–731 [cit. 2025-04-19]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2022.12.047.

- [15] VAN DEN BERG, N., M. RODRÍGUEZ-GIRONDO, I. K. VAN DIJK, R. J. MOURITS, K. MANDEMAKERS, A. A. P. O. JANSSENS, M. BEEKMAN, K. R. SMITH a P. E. SLAGBOOM. Longevity defined as top 10% survivors and beyond is transmitted as a quantitative genetic trait. *Nature Communications* [online]. 2019, **10**, s. 1–12 [cit. 2025-04-19]. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-018-07925-0.
- [16] BIN-JUMAH, M. N., M. S. SHAHID NADEEM, S. J. GILANI, F. A. AL-ABBASI, I. ULLAH, S. I. ALZAREA, M. M. GHONEIM, S. ALSHEHRI, A. UDDIN, B. N. MURTAZA a I. KAZMI. Genes and Longevity of Lifespan. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **23**(3), s. 1–27 [cit. 2025-04-19]. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23031499.
- [17] SINGH, P. P., B. A. DEMMITT, R. D. NATH a A. BRUNET. The Genetics of Aging: A Vertebrate Perspective. *Cell* [online]. 2019, **177**(1), s. 200–220 [cit. 2025-05-28]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2019.02.038.
- [18] FOXO3 forkhead box O3. *National Library of Medicine* [online]. 1996, 2025-02-19 [cit. 2025-03-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/genes/2309/>.
- [19] MORRIS, B. J, D. C. WILLCOX a T. A. DONLON. FOXO3: A Major Gene for Human Longevity – A Mini-Review. *Gerontology* [online]. 2015, **61**(6), s. 515–525 [cit. 2025-03-01]. Dostupné z: doi:10.1159/000375235.
- [20] ALLSOPP, R., P. DAVY, C. WILLCOX, R. CHEN, M. SHIMABUKURO, I. DE VIVO a B. J. WILLCOX. THE LONGEVITY ASSOCIATED ALLELE OF FOXO3 PROTECTS AGAINST TELOMERE ATTRITION DURING AGING. *Innovation in Aging* [online]. 2019, **3**(Suppl 1), s. 99–100 [cit. 2025-03-01]. Dostupné z: doi:10.1093/geroni/igz038.374.
- [21] TORIGOE, T. H., D. C. WILLCOX, M. SHIMABUKURO, M. HIGA, M. GERSCHENSON, A. ANDRUKHIV, M. SUZUKI, B. J. MORRIS, R. CHEN, G. S. GOJANOVICH, R. C. ALLSOPP, B. J. WILLCOX. Novel protective effect of the FOXO3

longevity genotype on mechanisms of cellular Aging in Okinawans. *Npj Aging* [online]. 2024, **10**(18), s. 1–9 [cit. 2025-03-03]. Dostupné z: doi:10.1038/s41514-024-00142-8.

[22] LIU, Y., X. AO, W. DING, M. PONNUSAMY, W. WU, X. HAO, W. YU, Y. WANG, P. LI, J. WANG. Critical role of FOXO3a in carcinogenesis. *Molecular Cancer* [online]. 2018, **17**(104), s. 1–12 [cit. 2025-03-04]. Dostupné z: doi:10.1186/s12943-018-0856-3.

[23] WANG, X., S. HU a L. LIU. Phosphorylation and acetylation modifications of FOXO3a: Independently or synergistically? (Review). *Oncology Letters* [online]. 2017, **13**(5), s. 2867–2872 [cit. 2025-03-04]. Dostupné z: doi:10.3892/ol.2017.5851.

[24] ZHAO, Y. a Y.-S. LIU. Longevity Factor FOXO3: A Key Regulator in Aging-Related Vascular Diseases. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* [online]. 2021, **8**, s. 1–13 [cit. 2025-03-04]. Dostupné z: doi:10.3389/fcvm.2021.778674.

[25] APOE apolipoprotein E [Homo sapiens (human)]. *National Library of Medicine* [online]. 1993, 4.3.2025 [cit. 2025-03-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=348#gene-expression>.

[26] TROUTWINE, B. R., L. HAMID, C. R. LYSAKER, T. A. STROPE a H. M. WILKINS. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Acta Pharmaceutica Sinica B* [online]. 2022, **12**(2), s. 496–510 [cit. 2025-03-18]. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsb.2021.10.002.

[27] ČECHOVÁ, K., Z. CHMÁTALOVÁ, V. MATUŠKOVÁ, V. MAŤOŠKA a J. HORT. APOE a BDNF jako rizikové genetické markery pro predikci nástupu a rozvoje kognitivního deficitu při Alzheimerově nemoci. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie* [online]. 2020, **116**(3), s. 257–262 [cit. 2025-03-18]. Dostupné z: doi:10.14735/amcsnn2020257.

[28] ZAJAC, D. J., S. J. GREEN, L. A. JOHNSON a S. ESTUS. APOE genetics influence murine gut microbiome. *Scientific Reports* [online]. 2019, **12**, s. 1–14 [cit. 2025-03-18]. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-022-05763-1.

[29] ABONDIO, P., M. SAZZINI, P. GARAGNANI, A. BOATTINI, D. MONTI, C. FRANCESCHI, D. LUISELLI a C. GIULIANI. The Genetic Variability of APOE in Different Human Populations and Its Implications for Longevity. *Genes* [online]. 2019, **10**(3), s. 1–28 [cit. 2025-03-22]. Dostupné z: doi:10.3390/genes10030222.

[30] SCHÄCHTER, F., L. FAURE-DELANEF, F. GUÉNOT, H. ROUGER, P. FROGUEL, L. LESUEUR-GINOT a D. COHEN. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nature Genetics* [online]. 1994, **6**, s. 29–32 [cit. 2025-03-22]. Dostupné z: doi:10.1038/ng0194-29.

[31] DEELEN, J., D. S. EVANS, D. E. ARKING, N. TESI, M. NYGAARD, X. LIU a M. K. WOJCZYNSKI, M.L. BIGGS, A. VAN DER SPEK, G. ATZMON, E. B. WARE, C. SARNOWSKI, A. V. SMITH, I SEPPÄLÄ, H. J. CORDELL, J. DOSE, N. AMIN, A. M. ARNOLD, K.L. AYERS, N. BARZILAI, E. J. BECKER, M. BEEKMAN, H. BLANCHÉ, K. CHRISTENSEN, L. CHRISTENSEN, J. C. COLLERTON, S. CUBAYNES, S. R. CUMMINGS, K. DAVIES, B. DEBRABANT, J.-F. DELEUZE, R. DUNCAN, J. D. FAUL, C. FRANCESCHI, P. GALAN, V. GUDNASON, T. B. HARRIS, M. HUISMAN, M. A. HURME, C. JAGGER, I. JANSEN, M. JYLHÄ, M. KÄHÖNEN, D. KARASIK, S. L. R. KARDIA, A. KINGSTON, T. B. L. KIRKWOOD, L. J. LAUNER, T. LEHTIMÄKI, W. LIEB, L.-P. LYYTIKÄINEN, C. MARTIN-RUIZ, J. MIN, A. NEBEL, A. B. NEWMAN, C. NIE, E. A. NOHR, E. S. ORWOLL, T. T. PERLS, M. A. PROVINCE, B. M. PSATY, O. T. RAITAKARI, M. J. T. REINDERS, J.-M. ROBINE, J. I. ROTTER, P. SEBASTIANI, J. SMITH, T. I. A. SØRENSEN, K. D. TAYLOR, A. G. UITTERLINDEN, W. VAN DER FLIER, S. J. VAN DER LEE, C. M. VAN DUIJN, D. VAN HEEMST, J. W. VAUPEL, D. WEIR, K. YE, Y. ZENG, W. ZHENG, H. HOLSTEGE, D. P. KIEL, K. L. LUNETTA, P. E. SLAGBOOM a J. M. MURABITO. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies multiple longevity genes. *Nature Communications* [online]. 2019, **10**, s. 1-14 [cit. 2025-03-22]. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-019-11558-2.

- [32] LI, Z., F. SHUE, N. ZHAO, M. SHINOHARA a G. BU. APOE2: protective mechanism and therapeutic implications for Alzheimer's disease. *Molecular neurodegeneration* [online]. 2020, **15**(1), s. 1–19 [cit. 2025-03-22]. Dostupné z: doi:10.1186/s13024-020-00413-4.
- [33] SUN, J., Z. ZHU, K. CHEN, D. WEI, X. LI, H. LI, J. ZHAN a X. CHEN. APOE ϵ 4 allele accelerates age-related multi-cognitive decline and white matter damage in non-demented elderly. *Aging* [online]. 2020, **12**(12), s. 12019–12031 [cit. 2025-03-25]. Dostupné z: doi:10.18632/aging.103367.
- [34] KUO, C., L. C. PILLING, J. L. ATKINS, G. A. KUCHEL a D. MELZER. ApoE ϵ 2 and Aging-related outcomes in 379,000 UK Biobank participants. *Aging* [online]. 2020, **12**(12), s. 12222–12233 [cit. 2025-03-25]. Dostupné z: doi:10.18632/aging.103405.
- [35] ZHAO, H., Q. JI, Z. WU, S. WANG, J. REN, K. YAN, Z. WANG, Q. CHU, H. HU, Y. CAI, Q. WANG, D. HUANG, Z. JI, J. LI, J. C. I. BELMONTE, M. SONG, W. ZHANG, J. QU a G. LIU. Destabilizing heterochromatin by APOE mediates senescence. *Nature Aging* [online]. 2022, **2**, s. 303–316 [cit. 2025-03-25]. Dostupné z: doi:10.1038/s43587-022-00186-z.
- [36] TP53 tumor protein p53 [Homo sapiens (human)]. *National Library of Medicine* [online]. 1993, 13.4.2025 [cit. 2025-04-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7157>.
- [37] TORNESELLO, M. L. TP53 mutations in cancer: Molecular features and therapeutic opportunities (Review). *International Journal of Molecular Medicine* [online]. 2024, **55**(1), s. 1–11 [cit. 2025-04-19]. Dostupné z: doi:10.3892/ijmm.2024.5448.
- [38] YAO, Y., Q. ZHANG, Z. LI a H. ZHANG. MDM2: current research status and prospects of tumor treatment. *Cancer Cell International* [online]. 2024, **24**, s. 1–13 [cit. 2025-04-19]. Dostupné z: doi:10.1186/s12935-024-03356-8.

- [39] MIJIT, M., V. CARACCIOLO, A. MELILLO, F. AMICARELLI a A. GIORDANO. Role of p53 in the Regulation of Cellular Senescence. *Biomolecules* [online]. 2020, **10**(3), s. 1–16 [cit. 2025-04-21]. Dostupné z: doi:10.3390/biom10030420.
- [40] BECK, J., C. TURNQUIST, I. HORIKAWA a C. HARRIS. Targeting cellular senescence in cancer and Aging: roles of p53 and its isoforms. *Carcinogenesis* [online]. 2020, **41**(8), s. 1017–1029 [cit. 2025-04-24]. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/bgaa071.
- [41] ZHAO, Y., L. WU, X. YUE, C. ZHANG, J. WANG, J. LI, X. SUN, Y. ZHU, Z. FENG a W. HU. A polymorphism in the tumor suppressor p53 affects Aging and longevity in mouse model. *ELife* [online]. 2018, **7**, s. 1–18 [cit. 2025-04-21]. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.34701.
- [42] HUANG, Y., X. CHE, P. W. WANG a X. QU. P53/MDM2 signaling pathway in Aging, senescence and tumorigenesis. *Seminars in Cancer Biology* [online]. 2024, **101**, s. 44–57 [cit. 2025-04-25]. Dostupné z: doi:10.1016/j.semcancer.2024.05.001.
- [43] WU, Q.-J., T.-N. ZHANG, H.-H. CHEN, X.-F. YU, J.-L. LV, Y.-Y. LIU, Y.-S. LIU a G. ZHENG, J.-Q. ZHAO, Y.-F. WEI, J.-Y. GUO, F.-H. LIU, Q. CHANG, Y.-X. ZHANG, C.-G. LIU a Y.-H. ZHAO. The sirtuin family in health and disease. *Nature* [online]. 2022, **7**, s. 1–73 [cit. 2025-03-28]. Dostupné z: doi:10.1038/s41392-022-01257-8.
- [44] ENZYME entry: EC 2.3.1.286. SIB SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. *Expasy* [online]. [cit. 2024-10-21]. Dostupné z: <https://enzyme.expasy.org/EC/2.3.1.286>.
- [45] ZIĘTARA, P., M. DZIEWIEŃKA a M. AUGUSTYNIAK. Why Is Longevity Still a Scientific Mystery? Sirtuins— Past, Present and Future. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **24**(1), s. 1–33 [cit. 2024-10-25]. Dostupné z: doi:10.3390/ijms24010728.

- [46] SMITH, J. S.. Human Sir2 and the ‘silencing’ of p53 activity. *Trends in Cell Biology* [online]. 2002, **12**(9), s. 404–406 [cit. 2024-10-25]. Dostupné z: doi:10.1016/S0962-8924(02)02342-5.
- [47] SANTOS-LOZANO, A., A. SANTAMARINA, H. PAREJA-GALEANO, F. SANCHIS-GOMAR, C. FIUZA-LUCES, C. CRISTI-MONTERO, A. BERNAL-PINO, A. LUCIA a N. GARATACHEA. The genetics of exceptional longevity: Insights from centenarians. *Maturitas* [online]. 2016, **90**, s. 49–57 [cit. 2025-03-28]. Dostupné z: doi:10.1016/j.maturitas.2016.05.006.
- [48] WU, B., S. YOU, H. QIAN, S. WU, S. LU, Y. ZHANG, Y. SUN a N. ZHANG. The role of SIRT2 in vascular-related and heart-related diseases: A review. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* [online]. 2021, **25**(14), s. 6470–6478 [cit. 2025-03-28]. Dostupné z: doi:10.1111/jcmm.16618.
- [49] INOUE, T., M. HIRATSUKA, M. OSAKI, H. YAMADA, I. KISHIMOTO, S. YAMAGUCHI, S. NAKANO, M. KATOH, H. ITO a M. OSHIMURA. SIRT2, a tubulin deacetylase, acts to block the entry to chromosome condensation in response to mitotic stress. *Oncogene* [online]. 2007, **26**, s. 945–957 [cit. 2024-10-27]. Dostupné z: doi:10.1038/sj.onc.1209857.
- [50] TONGTONG, L., Y. LIPING, M. HUIMIN, M. FANG, W. YUYANG, L. SHEN, L. PING a Z. YONGLI. Sirtuins as novel pharmacological targets in podocyte injury and related glomerular diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. 2022, **155**, s. 1–13 [cit. 2024-10-27]. ISSN 0753-3322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2022.113620.
- [51] SHI, TONG, F. WENG, E. STIEREN, a Q. TONG. SIRT3, a Mitochondrial Sirtuin Deacetylase, Regulates Mitochondrial Function and Thermogenesis in Brown Adipocytes. *Metabolism and Bioenergetics* [online]. 2005, **280**(14), s. 13560–13567 [cit. 2024-10-28]. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M414670200.

- [52] JUNG, Y. H., W. C. CHANG, H. S. CHANG, G. E. CHOI, H. J. LEE a H. J. HAN. Silencing SIRT5 induces the senescence of UCB-MSCs exposed to TNF- α by reduction of fatty acid β -oxidation and anti-oxidation. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2022, **192**, s. 1–12 [cit. 2024-10-28]. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2022.09.002.
- [53] JI, Z., G.-H. LIU a J. QU. Mitochondrial sirtuins, metabolism, and Aging. *Journal of Genetics and Genomics* [online]. 2022, **49**(4), s. 287–298 [cit. 2024-11-18]. ISSN 1673-8527. Dostupné z: doi:10.1016/j.jgg.2021.11.005.
- [54] KOROTKOV, A., A. SELUANOV a V. GORBUNOVA. Sirtuin 6: linking longevity with genome and epigenome stability. *Trends in Cell Biology* [online]. 2021, **31**(12), s. 994–1006 [cit. 2024-11-18]. Dostupné z: doi:10.1016/j.tcb.2021.06.009.
- [55] MOSTOSLAVSKY, R., K. F. CHUA, D. B. LOMBARD, W. W. PANG, M. R. FISCHER, L. GELLON, P. LIU, G. MOSTOSLAVSKY, S. FRANCO, M. M. MURPHY, K. D. MILLS, P. PATEL, J. T. HSU, A. L. HONG, E. FORD, H.-L. CHENG, C. KENNEDY, N. NUNEZ, R. BRONSON, D. FRENDEWEY, W. AUERBACH, D. VALENZUELA, M. KAROW, M. O. HOTTIGER, S. HURSTING, J. C. BARRETT, L. GUARENTE, R. MULLIGAN, B. DEMPTE, G. D. YANCOPOULOS a F. W. ALT. Genomic Instability and Aging-like Phenotype in the Absence of Mammalian SIRT6. *Cell* [online]. 2006, **124**(2), s. 315–329 [cit. 2024-11-18]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2005.11.044.
- [56] LAGUNAS-RANGEL F. A.. SIRT7 in the Aging process. *Cellular and Molecular Life Sciences* [online]. 2022, **79**(297), s. 1–17 [cit. 2024-11-19]. Dostupné z: doi:10.1007/s00018-022-04342-x.
- [57] SEHNALOVÁ, K. *Regulace buněčné senescence*. Brno, 2021. Bakalářská práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce prof. RNDr. Jan Šmarda, CSc.
- [58] LEE, S.-H., J.-H. LEE, H.-Y. LEE a K.-J. MIN. Sirtuin signaling in cellular senescence and Aging. *BMB reports online*[online]. 2019, **52**(1), s. 24–34 [cit. 2024-11-20]. Dostupné z: doi:10.5483/BMBRep.2019.52.1.290.

- [59] VON ZGLINICKI, T.. Oxidative stress and cell senescence as drivers of Ageing: Chicken and egg. *Ageing Research Reviews* [online]. 2024, **102**, s. 1–6 [cit. 2025-02-11]. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2024.102558.
- [60] SAH, P., A. K. RAI a D. SYIEM. Sirtuin activators as an anti-Aging intervention for longevity. *Exploration of Drug Science* [online]. 2025, **3**, s. 1–16 [cit. 2025-02-23]. Dostupné z: doi:10.37349/eds.2025.100881.
- [61] YADEGAR, S., F. MOHAMMADI, A. YADEGAR, A. M. NAEINI, A. AYATI, N. MILAN, A. TAYEBI, S. A. SEYEDI, S. A. NABIPOORASHRAFI, S. RABIZADEH, A. ESTEGHAMATI a M. NAKHJAVANI. Effects and safety of resveratrol supplementation in older adults: A comprehensive systematic review. *Phytotherapy Research* [online]. 2024, **38**(5), s. 2097–2594 [cit. 2025-02-23]. Dostupné z: doi:10.1002/ptr.8171.
- [62] MA, X.-R., Z.-K. SUN, X. HAN, S. LI, X. JIANG, S. CHEN, J. ZHANG a H. LU. Neuroprotective Effect of Resveratrol via Activation of Sirt1 Signaling in a Rat Model of Combined Diabetes and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience* [online]. 2020, **13**, s. 1–11 [cit. 2025-02-23]. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2019.01400.
- [63] PRAKASH, C. a D. SHARMA. Chapter 19 - Curcumin usage in epilepsy. In: *Treatments, Nutraceuticals, Supplements, and Herbal Medicine in Neurological Disorders* [online]. Academic Press, 2023, s. 345-360 [cit. 2025-02-24]. 1068 s. ISBN 9780323900522. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323900522000433>.
- [64] YANG, Y., W. DUAN, Y. LIN, W. YI, Z. LIANG, J. YAN, N. WANG, C. DENG, S. ZHANG, Y. LI, W. CHEN, S. YU, D. YI a Z. JIN. SIRT1 activation by curcumin pretreatment attenuates mitochondrial oxidative damage induced by myocardial ischemia reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2013, **65**, s. 667–679 [cit. 2025-02-24]. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.007.

[65] LOPRESTI, A. L. The Problem of Curcumin and Its Bioavailability: Could Its Gastrointestinal Influence Contribute to Its Overall Health-Enhancing Effects? *Advances in Nutrition* [online]. 2018, **9**(1), s. 41–50 [cit. 2025-02-24]. Dostupné z: doi:10.1093/advances/nmx011.

[66] ZHANG, M., J. TANG, Y. LI, Y. XIE, H. SHAN, M. CHEN, J. ZHANG, X. YANG, Q. ZHANG a X. YANG. Curcumin attenuates skeletal muscle mitochondrial impairment in COPD rats: PGC-1 α /SIRT3 pathway involved. *Chemico-Biological Interactions* [online]. 2017, **277**, s. 168–175 [cit. 2025-02-24]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cbi.2017.09.018.

[67] WANG, P. a S. SANG. Metabolism and pharmacokinetics of resveratrol and pterostilbene. *BioFactors* [online]. 2018, **44**(1), s. 16–25 [cit. 2025-02-24]. Dostupné z: doi:10.1002/biof.1410.

[68] DELLINGER, R. W., S. R. SANTOS, M. MORRIS, M. EVANS, D. ALMINANA, L. GUARENTE a E. MARCOTULLI. Repeat dose NRPT (nicotinamide riboside and pterostilbene) increases NAD⁺ levels in humans safely and sustainably: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Npj Aging and Mechanisms of Disease* [online]. 2017, **3**, s. 1–17 [cit. 2025-02-24]. Dostupné z: doi:10.1038/s41514-017-0016-9.

[69] MORRIS, B. J., B. J. WILLCOX a T. A. DONLON. Genetic and epigenetic regulation of human Aging and longevity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* [online]. 2019, **1865**(7), s. 1718-1744 [cit. 2025-02-11]. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbadis.2018.08.039.

[70] BRENNER, C. Sirtuins are not conserved longevity genes. *Life Metabolism* [online]. 2022, **1**(2), s. 122–133 [cit. 2025-02-25]. Dostupné z: doi:10.1093/lifemeta/loac025.

[71] LAMMING, D. W. Mechanistic Target of Rapamycin (mTOR)-Rapamycin and Beyond. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* [online]. 2016, **6**(5), s. 1–14 [cit. 2025-02-13]. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a025924.

[72] ENZYME entry: EC 2.7.11.1. SIB SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. Expaty [online]. [cit. 2025-02-22]. Dostupné z: <https://enzyme.expasy.org/EC/2.7.11.1>.

[73] MTOR mechanistic target of rapamycin kinase [Homo sapiens (human)]. *National Library of Medicine* [online]. [cit. 2025-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2475>.

[74] VÉZINA, C., A. KUDELSKI a S. N. SEHGAL. RAPAMYCIN (AY-22, 989), A NEW ANTIFUNGAL ANTIBIOTIC. *JAPAN ANTIBIOTICS RESEARCH ASSOCIATION* [online]. 1975, **28**(10), s. 721–726 [cit. 2025-02-13]. Dostupné z: doi:10.7164/antibiotics.28.721.

[75] DUMONT, F. J., M. J. STARUCH, S. L. KOPRAK, M. R. MELINO a N. H. SIGAL. Distinct mechanisms of suppression of murine T cell activation by the related macrolides FK-506 and rapamycin. *The Journal of Immunology* [online]. 1990, **144**(1), s. 251–258 [cit. 2025-02-13]. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.144.1.251.

[76] ALSULIMANI, A., A. K. JOHARGY, H. F. FAIDAH, et al. Effectiveness and safety of chemical inhibitors against mammalian target of rapamycin (mTOR) for primary immunosuppression in recipients of kidney transplant: A systematic review and meta-analysis. *Journal of King Saud University - Science* [online]. 2024, **36**(11), s. 1–9 [cit. 2025-02-14]. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2024.103481.

[77] PANWAR, V., A. SINGH, M. BHATT, R. K. TONK, S. AZIZOV, A. S. RAZA, S. SENGUPTA, D. KUMAR a M. GARG. Multifaceted role of mTOR (mammalian target of rapamycin) signaling pathway in human health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy* [online]. 2023, **8**, s. 1–25 [cit. 2025-02-19]. Dostupné z: doi:10.1038/s41392-023-01608-z.

[78] DOMINICK, G., J. BOWMAN, X. LI, R. A. MILLER a G. G. GARCIA. MTOR regulates the expression of DNA damage response enzymes in long-lived Snell dwarf, GHRKO, and

PAPPA-KO mice. *Aging Cell* [online]. 2016, **16**(1), s. 52–60 [cit. 2025-02-22]. Dostupné z: doi:10.1111/accel.12525.

[79] LEONTIEVA, O. V., G. M. PASZKIEWICZ a M. V. BLAGOSKLONNY. Mechanistic or mammalian target of rapamycin (mTOR) may determine robustness in young male mice at the cost of accelerated Aging. *Aging* [online]. 2012, **4**(12), s. 899–916 [cit. 2025-02-20]. Dostupné z: doi:10.18632/aging.100528.

[80] BJEDOV, I., J. M. TOIVONEN, F. KERR, C. SLACK, J. JACOBSON, A. FOLEY a L. PARTRIDGE. Mechanisms of life span extension by rapamycin in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Cell Metabolism* [online]. 2010, **11**(1), s. 35–46 [cit. 2025-02-20]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cmet.2009.11.010.

[81] BITTO, A., T. K. ITO, V. V. PINEDA, N. J. LETEXIER, H. Z. HUANG, E. SUTLIEF, H. TUNG, N. VIZZINI, B. CHEN, K. SMITH, D. MEZA, M. YAJIMA, R. P. BEYER, K. F. KERR, D. J. DAVIS, C. H. GILLESPIE, J. M. SNYDER, P. M. TREUTING a M. KAEBERLEIN. Transient rapamycin treatment can increase lifespan and healthspan in middle-aged mice. *ELife* [online]. 2016, **5**, s. 1–17 [cit. 2025-02-20]. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.16351.

[82] HARINATH, G., V. LEE, A. NYQUIST, M. MOEL, S. L. MORGAN, A. ISMAN a S. ZALZALA. Safety and efficacy of rapamycin on healthspan metrics after one year: PEARL Trial Results. *MedRxiv* [online]. 2024 [cit. 2025-02-21]. Dostupné z: doi:10.1101/2024.08.21.24312372.

[83] BLAGOSKLONNY, M. V. From rapalogs to anti-Aging formula. *Oncotarget* [online]. 2017, **8**(22), s. 35492–35507 [cit. 2025-02-21]. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.18033.

[84] SONG, D.-K. a Y.-W. KIM. Eneficial effects of intermittent fasting: a narrative review. *JOURNAL OF YEUNGNAM MEDICAL SCIENCE* [online]. 2023, **40**(1), s. 4–11 [cit. 2025-02-22]. Dostupné z: doi:10.12701/jyms.2022.00010.

- [85] SONG, D.-K. a Y.-W. KIM. Beneficial effects of intermittent fasting: a narrative review. *Yeungnam medical science* [online]. 2022, **40**(1), s. 4–11 [cit. 2025-05-28]. Dostupné z: doi:10.12701/jyms.2022.00010.
- [86] TAKAHASHI, K. a S. YAMANAKA. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell* [online]. 2006, **126**(4), s. 663–676 [cit. 2025-03-31]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2006.07.024.
- [87] Shinya Yamanaka – Facts. *THE NOBEL PRIZE* [online]. c2025 [cit. 2025-04-01]. Dostupné z: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2012/yamanaka/facts/>.
- [88] POU5F1 POU class 5 homeobox 1 [Homo sapiens (human)]. *National library of Medicine* [online]. 1996, 26.3.2025 [cit. 2025-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5460>.
- [89] HAN, D., G. WU, R. CHEN, H. C. A. DREXLER, C. M. MACCARTHY, K.-P. KIM, K. ADACHI, D. GEROVSKA, L. MAVROMMATIS, I. BEDZHOV, M. J. ARAÚZO-BRAVO a H. R. SCHÖLER. A balanced Oct4 interactome is crucial for maintaining pluripotency. *SCIENCE ADVANCES* [online]. 2022, **8**(7), s. 1–19 [cit. 2025-04-01]. Dostupné z: doi:10.1126/sciadv.abe4375.
- [90] MEHRAVAR, M., F. GHAEMIMANESH a E. M. POURSANI. An Overview on the Complexity of OCT4: at the Level of DNA, RNA and Protein. *Stem Cell Reviews and Reports* [online]. 2021, **17**, s. 1121–1136 [cit. 2025-04-01]. Dostupné z: doi:10.1007/s12015-020-10098-3.
- [91] SOX2 SRY-box transcription factor 2 [Homo sapiens (human)]. *National Library of Medicine* [online]. 1996, 26.3.2025 [cit. 2025-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6657>.

- [92] HAGEY, D. W., M. BERGLAND a J. MUHR. SOX2 transcription factor binding and function. *Development* [online]. 2022, **149**(14), s. 1-11 [cit. 2025-04-03]. Dostupné z: doi:10.1242/dev.200547.
- [93] KLF4 KLF transcription factor 4 [Homo sapiens (human)]. *National library of Medicine* [online]. 1996, 26.3.2025 [cit. 2025-04-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=9314>.
- [94] GHALEB, A. M. a V. W. YANG. Krüppel-like factor 4 (KLF4): What we currently know. *Gene* [online]. 2018, **611**, s. 27-37 [cit. 2025-04-03]. Dostupné z: doi:10.1016/j.gene.2017.02.025.
- [95] MYC MYC proto-oncogene, bHLH transcription factor [Homo sapiens (human)]. *National Library of Medicine* [online]. 1996, 27.3.2025 [cit. 2025-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4609>.
- [96] JHA, F. KOUZINE a D. LEVENS. MYC function and regulation in physiological perspective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*[online]. 2023, **11**, s. 1–15 [cit. 2025-04-05]. Dostupné z: doi:10.3389/fcell.2023.1268275.
- [97] LU, Y. R., X. TIAN a D. A. SINCLAIR. The Information Theory of Aging. *Nature Aging* [online]. 2024, **13**(4), s. 1486–1499 [cit. 2025-04-05]. Dostupné z: doi:10.1038/s43587-023-00527-6.
- [98] SINGH, P. B. a F. ZACOUTO. Nuclear reprogramming and epigenetic rejuvenation. *Journal of Biosciences* [online]. 2010, **35**, s. 315–319 [cit. 2025-04-05]. Dostupné z: doi:10.1007/s12038-010-0034-2.
- [99] LAPASSET, L., O. MILHAVET, A. PRIEUR, E. BESNARD, A. BABLED, N. AÏT-HAMOU, J. LESCHIK a F. PELLESTOR. Rejuvenating senescent and centenarian human

cells by reprogramming through the pluripotent state. *Genes & Development* [online]. 2011, **25**, s. 2248–2253 [cit. 2025-04-05]. Dostupné z: doi:10.1101/gad.173922.111.

[100] OCAMPO, A., P. REDDY, P. MARTINEZ-REDONDO, A. PLATERO- LUENGO, F. HATANAKA, T. HISHIDA, M. LI, D. LAM, M. KURITA, E. BEYRET, T. ARAOKA, E. VAZQUEZ-FERRER, D. DONOSO, J. L. ROMAN, J. XU, C. RODRIGUEZ ESTEBAN, G. NUÑEZ DELICADO, J. M. CAMPISTO, I. GUILLEN, P. GUILLEN a J. C. IZPISUA BELMONTE. In Vivo Amelioration of Age-Associated Hallmarks by Partial Reprogramming. *Cell* [online]. 2016, **167**(7), s. 1719–1733 [cit. 2025-04-06]. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2016.11.052.

[101] MACIP, C. C., R. HASAN, V. HOZNEK, J. KIM, Y. R. LU, L. E. METZGER IV, S. SETHNA a N. DAVIDSOHN. Gene Therapy-Mediated Partial Reprogramming Extends Lifespan and Reverses Age-Related Changes in Aged Mice. *Cellular Reprogramming* [online]. 2024, **26**(1), s. 24–32 [cit. 2025-04-06]. Dostupné z: doi:10.1089/cell.2023.0072.

[102] YANG, J.-H., C. A. PETTY, T. DIXON-MCDOUGALL, M. V. LOPEZ, A. TYSHKOVSKIY, S. MAYBURY-LEWIS, X. TIAN, N. IBRAHIM, Z. CHEN, P. T. GRIFFIN, M. ARNOLD, J. LI, O. A. MARTINEZ, A. BEHN, R. ROGERS-HAMMOND, S. ANGELI, V. N. GLADYSHEV a D. A. SINCLAIR. Chemically induced reprogramming to reverse cellular Aging. *Aging* [online]. 2023, **15**(13), s. 5966–5989 [cit. 2025-04-07]. Dostupné z: doi:10.18632/aging.204896.

[103] WAN, Y., J. LIU, Y. MAI, Y. HONG, Z. JIA, G. TIAN, Y. LIU a H. LIANG. Current advances and future trends of hormesis in disease. *Npj Aging* [online]. 2024, **10**, s. 1–19 [cit. 2025-04-26]. Dostupné z: doi:10.1038/s41514-024-00155-3.

[104] FLANAGAN, E. W., J. MOST, J. T. MEY a L. M. REDMAN. Calorie Restriction and Aging in Humans. *Annual Review of Nutrition* [online]. 2020, **40**, s. 105–133 [cit. 2025-04-27]. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-nutr-122319-034601.

[105] MAEGAWA, S., Y. LU, T. TAHARA, J. T. LEE, J. MADZO, S. LIANG, J. JELINEK, R. J. COLMAN a J.-P. J. ISSA. Caloric restriction delays age-related methylation drift. *Nature Communications* [online]. 2017, **8**, s. 1–11 [cit. 2025-04-29]. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-017-00607-3.

[106] KRAUS, W. E., M. BHAPKAR, K. M. HUFFMAN, C. F. PIEPER, S. K. DAS, L. M. REDMAN, D. T. VILLAREAL, J. ROCHON, S. B. ROBERTS, E. RAVUSSIN, J. O. HOLLOSZY a L. FONTANA. 2 years of calorie restriction and cardiometabolic risk (CALERIE): exploratory outcomes of a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinology* [online]. 2019, **7**(9), s. 673–683 [cit. 2025-05-11]. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-8587(19)30151-2.

[107] WAZIRY, R., C. P. RYAN, D. L. CORCORAN, K. M. HUFFMAN, M. S. KOBOR, M. KOTHARI, G. H. GRAF, V. B. KRAUS, W. E. KRAUS, D. T. S. LIN, C. F. PIEPER, M. E. RAMAKER, M. BHAPKAR, S. K. DAS, L. FERRUCCI, W. J. HASTINGS, M. KEBBE, D. C. PARKER, S. B. RACETTE, I. SHALEV, B. SCHILLING a D. W. BELSKY. Effect of long-term caloric restriction on DNA methylation measures of biological Aging in healthy adults from the CALERIE trial. *Nature Aging* [online]. 2023, **3**, s. 248–257 [cit. 2025-05-11]. Dostupné z: doi:10.1038/s43587-022-00357-y.

[108] SUN, M.-L., W. YAO, X.-Y. WANG, S. GAO, K. A. VARADY, S. K. FORSLUND, M. ZHANG, Z.-Y. SHI, F. CAO, B.-J. ZOU, M.-H. SUN, K.-X. LIU, Q. BAO, J. XU, X. QIN, Q. XIAO, L. WU, Y.-H. ZHAO, D.-Y. ZHANG, Q.-J. WU a T.-T. GONG. Intermittent fasting and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of randomised controlled trials. *EClinicalMedicine* [online]. 2024, **70**, s. 1–15 [cit. 2025-05-11]. Dostupné z: doi:10.1016/j.eclinm.2024.102519.

[109] MINDIKOGLU, A. L., M. M. ABDULSADA, A. JAIN, J. M. CHOI, P. K. JALAL, S. DEVARAJ, M. P. MEZZARI, J. F. PETROSINO, A. R. OPEKUN a S. Y. JUNG. Intermittent fasting from dawn to sunset for 30 consecutive days is associated with anticancer proteomic signature and upregulates key regulatory proteins of glucose and lipid metabolism, circadian clock, DNA repair, cytoskeleton remodeling, immune system and cognitive function in healthy

subjects. *Journal of Proteomics* [online]. 2020, **217**, s. 1–12 [cit. 2025-05-12]. Dostupné z: doi:10.1016/j.jprot.2020.103645.

[110] ACOSTA-RODRÍGUEZ, V., F. RIJO-FERREIRA, M. IZUMO, P. XU, M. WIGHT-CARTER, C. B. GREEN a J. S. TAKAHASHI. Circadian alignment of early onset caloric restriction promotes longevity in male C57BL/6J mice. *Science* [online]. 2022, **376**(6598), s. 1192–1202 [cit. 2025-05-13]. Dostupné z: doi:10.1126/science.abk0297.

[111] BOULARES, A., H. JDIDI a W. DOUZI. Cold and longevity: Can cold exposure counteract Aging? *Life Sciences* [online]. 2025, **364**, s. 1–8 [cit. 2025-05-14]. Dostupné z: doi:10.1016/j.lfs.2025.123431.

[112] ZHANG, J., B. G. KIBRET, D. E. VATNER a S. F. VATNER. The role of brown adipose tissue in mediating healthful longevity. *The Journal of Cardiovascular Aging* [online]. 2024, **4**(2), s. 1–33 [cit. 2025-05-17]. Dostupné z: doi:10.20517/jca.2024.01.

[113] CHEN, J.-K., W.-L. LIN, Z. CHEN a H.-W. LIU. PARP-1–dependent recruitment of cold-inducible RNA-binding protein promotes double-strand break repair and genome stability. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2018, **115**(8), s. 1759–1768 [cit. 2025-05-18]. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1713912115.

[114] FIRSANOV, D., M. ZACHER, X. TIAN, T. L. SFORMO, Y. ZHAO, G. TOMBLINE, J. Y. LU, Z. ZHENG, L. PERELLI, E. GURRERI, L. ZHANG, J. GUO, A. KOROTKOV, V. VOLOBAEV, S. A. BIASHAD, Z. ZHANG, J. HEID, A. MASLOV, S. SUN, Z. WU, J. GIGAS, E. HILLPOT, J. MARTINEZ, M. LEE, A. WILLIAMS, A. GILMAN, N. HAMILTON, E. HASELJIC, A. PATEL, M. STRAIGHT, N. MILLER, J. ABLAEVA, L. M. TAM, C. COUDERC, M. HOOPMAN, R. MORITZ, S. FUJII, D. J. HAYMAN, H. LIU, Y. CAI, A. K. L. LEUNG, M. J. P. SIMONS, Z. ZHANG, C. B. NELSON, L. M. ABEGGLEN, J. D. SCHIFFMAN, V. N. GLADYSHEV, M. MODESTI, G. GENOVESE, J. VIJG, A. SELUANOV a V. GORBUNOVA. DNA repair and anti-cancer mechanisms in the long-lived bowhead whale. *BioRxiv* [online]. 2024, s. 1–88 [cit. 2025-05-18]. Dostupné z: doi:10.1101/2023.05.07.539748.

- [115] SOTTILE, M. L. a S. B. NADIN. Heat shock proteins and DNA repair mechanisms: an updated overview. *Cell Stress Chaperones*[online]. 2017, **23**(3), s. 303–315 [cit. 2025-05-18]. Dostupné z: doi:10.1007/s12192-017-0843-4.
- [116] PATRICK, R. P. a T. L. JOHNSON. Sauna use as a lifestyle practice to extend healthspan. *Experimental Gerontology* [online]. 2021, **154**, s. 1–14 [cit. 2025-05-18]. Dostupné z: doi:10.1016/j.exger.2021.111509.
- [117] CHOI, E. Y. a J. A. AILSHIR. Ambient outdoor heat and accelerated epigenetic Aging among older adults in the US. *Science Advances*[online]. 2025, **11**(9), s. 1–10 [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: doi:10.1126/sciadv.adr0616.
- [118] AL-KINDI, S., I. MOTAIREK, H. KHRAISHAH a S. RAJAGOPALAN. Cardiovascular disease burden attributable to non-optimal temperature: analysis of the 1990–2019 global burden of disease. *European Journal of Preventive Cardiology* [online]. 23, **30**(15), s. 1623–1631 [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: doi:10.1093/eurjpc/zwad130.
- [119] DHABHAR, F. S. Nancing versus Suppressive Effects of Stress on Immune Function: Implications for Immunoprotection versus Immunopathology. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* [online]. 2008, **4**(1), s. 2–11 [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: doi:10.2310/7480.2008.00001.
- [120] YEGOROV, Y. E., A. V. POZNYAK, N. G. NIKIFOROV, I. A. SOBENIN a A. N. OREKHOV. The Link between Chronic Stress and Accelerated Aging. *Biomedicines* [online]. 2020, **8**(7), s. 1–14 [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines8070198.
- [121] HARVANEK, Z. M., N. FOGELMAN, K. XU a R. SINHA. Psychological and biological resilience modulates the effects of stress on epigenetic Aging. *Translational Psychiatry* [online]. 2021, **11**, s. 1–9 [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: doi:10.1038/s41398-021-01735-7.

- [122] SELLAMI, M., N. BRAGAZZI, M. S. PRINCE, J. DENHAM a M. ELRAYESS. Regular, Intense Exercise Training as a Healthy Aging Lifestyle Strategy: Preventing DNA Damage, Telomere Shortening and Adverse DNA Methylation Changes Over a Lifetime. *Frontiers in Genetics* [online]. 2021, **12**, s. 1–12 [cit. 2025-05-20]. Dostupné z: doi:10.3389/fgene.2021.652497.
- [123] WEIL, Z. M., G. J. NORMAN, K. KARELINA, J. S. MORRIS, J. M. BARKER, A. J. SU, J. C. WALTON, S. BOHINC, R. J. NELSON a A. C. DEVRIES. Sleep Deprivation Attenuates Inflammatory Responses and Ischemic Cell Death. *Experimental neurology* [online]. 2009, **218**(1), s. 129–136 [cit. 2025-05-20]. Dostupné z: doi:10.1016/j.expneurol.2009.04.018.
- [124] YOU, Y., Y. CHEN, R. LIU, Y. ZHANG, M. WANG, Z. YANG, J. LIU a X. MA. Inverted U-shaped relationship between sleep duration and phenotypic age in US adults: a population-based study. *Scientific Reports* [online]. 2024, **14**, s. 1–12 [cit. 2025-05-20]. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-024-56316-7.
- [125] CARROLL, J. E., S. ESQUIVEL, A. GOLDBERG, T. E. SEEMAN, R. B. EFFROS, J. DOCK, R. OLMSTEAD, E. C. BREEN a M. R. IRWIN. Insomnia and Telomere Length in Older Adults. *Sleep* [online]. 2016, **39**(3), s. 559–564 [cit. 2025-05-20]. Dostupné z: doi:10.5665/sleep.5526.
- [126] LEE, H.-S., B. KIM a T. PARK. The association between sleep quality and accelerated epigenetic Aging with metabolic syndrome in Korean adults. *Clinical Epigenetics* [online]. 2024, **16**(1), s. 1–9 [cit. 2025-05-21]. Dostupné z: doi:10.1186/s13148-024-01706-x.
- [127] LAHTINEN, A., S. PUTTONEN, P. VANTTOLA, K. VIITASALO, S. SULKAVA, N. PERVJAKOVA, A. JOENSUU a P. SALO. A distinctive DNA methylation pattern in insufficient sleep. *Scientific Reports* [online]. 2019, **9**, s. 1–9 [cit. 2025-05-21]. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-38009-0.