

ZDRAVSTVENE, KULTURNE I BIOLOŠKE ODREDNICE DUGOVJEČNOSTI: ANTROPOLOŠKA STUDIJA PREŽIVLJENJA U DUBOKOJ STAROSTI

HEalth, CUltural, and Biological determinants of longevity:
Anthropological perspective on survival in very old age

HECUBA

listopad 2018. – listopad 2022.



IP-01-2018-2497

17. rujna 2019.

213. GERONTOLOŠKA TRIBINA: DUGOVJEČNOST - ODRAZ USPJEŠNOG I AKTIVNOG STARENJA

Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar”

FENOMEN STARENJA

Starenje je proces koji se odvija na svim organizacijskim razinama živog sustava, od molekularne, preko stanične, tkivne i organske do razine čitavog organizma, a uključuje njegovu ukupnu fiziološku, motoričku, mentalnu i društvenu funkcionalnost.

OSOBE DUBOKE STAROSTI KAO OGLEDAN PRIMJER USPJEŠNOG STARENJA

Posebnu kvalitetu donose istraživanja procesa starenja čovjeka **iz cjeloživotne perspektive!**

Naime, **obilježja koja doprinose usporenju procesa starenja prisutni su u osoba duboke starosti**, što čini dugovječne osobe izvrsnim modelom za istraživanje zdravog starenja.

Riječ je o potrazi u cilju identifikacije obilježja koja najviše doprinose uspješnom starenju.

To mogu biti raznovrsni genetički i čimbenici okoliša te njihova interakcija, kao i psihološke i ponašajne crte koji utječu na dugovječnost.

Populacija osoba u dubokoj starosti kao model

- ! **skupina koja je preživjela selektivne pritiske**
(bolesti, prehrana, socijalni stres, težak fizički rad, ...)



- pronalaženje mogućih genetskih čimbenika koji doprinose dugom životnom vijeku
- pronalaženje mogućih okolišnih te psiholoških i ponašajnih obilježja koja doprinose dugom životnom vijeku

- ? reducirana genetička varijabilnost kod starijih:
učestaliji protektivni aleli (genotipovi) kandidatskih gena za dugovječnost
 - geni povezani s “održavanjem” i “popravkom kvara u stanici”
 - geni povezani sa sklonošću bolestima (tumori, kardiovaskularne bolesti)
- ? reducirana okolišna varijabilnost kod starijih

MULTIDISCIPLINARAN (HOLISTIČKI) PRISTUP!

Namjera je projekta HECUBA u uzorku osoba duboke starosti obuhvatiti širok spektar genetičkih, zdravstvenih, socioekonomskih, psiholoških, ponašajnih i kulturnih utjecaja potencijalno povezanih s fenomenom ljudske dugovječnosti.

Stoga projekt HECUBA pristupa istraživanju ljudske dugovječnosti multidisciplinarno, obuhvaćajući sljedeća tri aspekta:

- **BIOLOGIJA**
- **ZDRAVLJE**
- **KULTURA**

BIOLOGIJA

Biološko starenje

- Promjene na razini organizma

Progresivan pad učinkovitosti i vitalnosti	Atrofija gotovo svih organa	Povećana osjetljivost na traumu	Slabljene Imunološkog sustava	Učestalija pojava tumorskih promjena
--	-----------------------------------	---------------------------------------	-------------------------------------	---

- Promjene na razini stanica

Akumulacija mutacija mtDNA i jezgrine DNA	Skraćivanje telomera	Oštećenja i unakrsno vezivanje proteina	Epigenetske promjene	Nakupljanje toksičnih spojeva
---	-------------------------	--	-------------------------	-------------------------------------

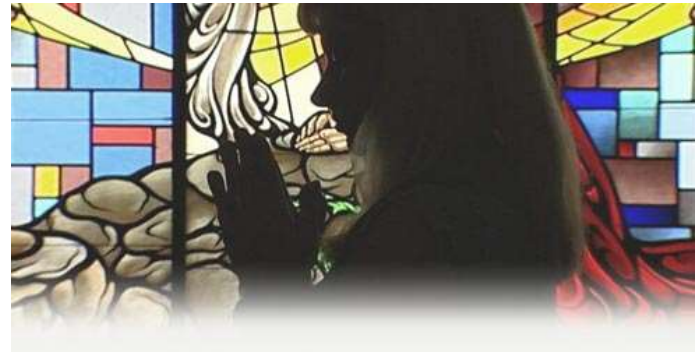
BIOLOŠKA DOB

Posebno su intrigantne novije spoznaje koje ukazuju na znatnu raznolikost među pojedincima u dinamici procesa starenja te strukturi deficita koji su individualno različiti.

Postojanje znatne varijacije među osobama u brzini odvijanja procesa starenja, dovelo je do razvoja koncepta **razlikovanja kronološke od biološke dobi** pri čemu potonja mjeri funkcionalnost organizma (stanje pojedinih fizioloških, psiholoških, socijalnih karakteristika) te ih uspoređuje s prosječnim vrijednostima populacije određene dobi kojom se onda označava biološka dob pojedinca.

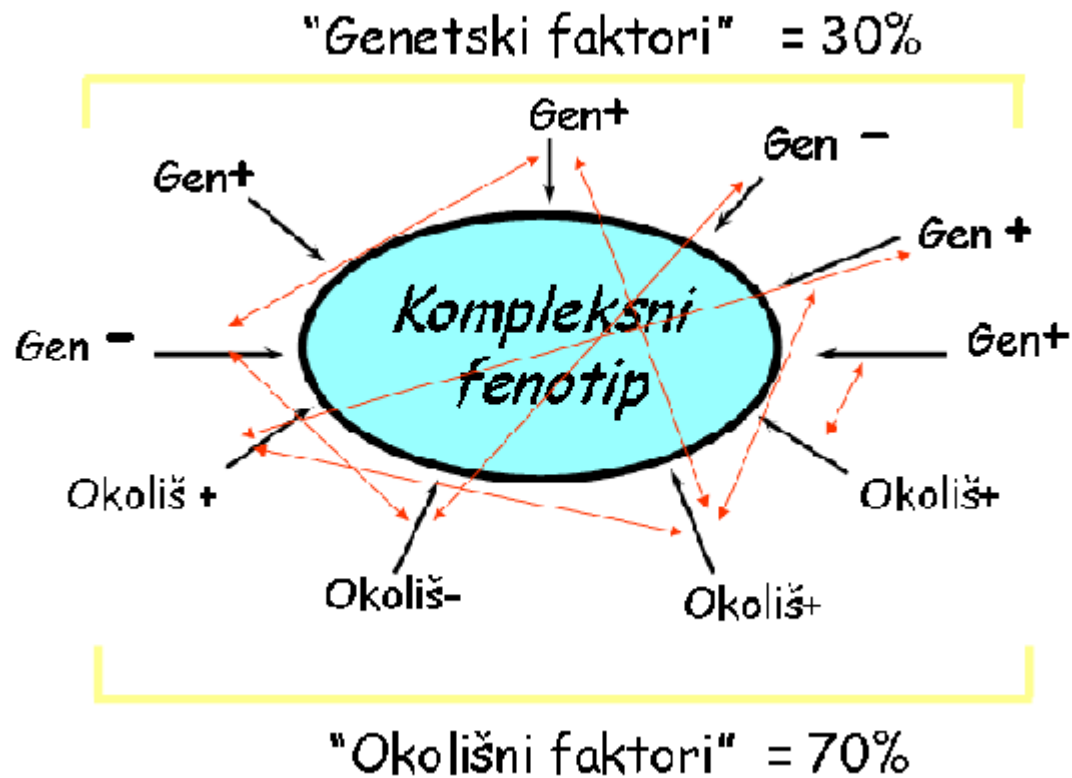
Geni ili okoliš?

- ❖ Učinak gena na dugovječnost iznosi približno 25%
- ❖ Veći utjecaj na očekivano trajanje života u ljudi imaju čimbenici okoliša (75%)
- ❖ Utjecaj gena na trajanje životnog vijeka povećava se nakon 60. godine života



Geni ili okoliš?

Istraživanja **međudjelovanja genetskih i okolinskih čimbenika** tijekom procesa starenja!



Kandidatski geni

```
graph TD; A[Kandidatski geni] --> B[Geni dugovječnosti]; A --> C[Geni prepoznati kao čimbenici rizika za razvoj pojedinih dobnopovezanih bolesti];
```

- **Geni dugovječnosti**

- reguliraju mehanizme popravka DNA molekule i održavaju integritet genoma
- utječu na promjene u stanicama i tkivima vezane uz starenje (metabolički procesi, imunološke reakcije, oštećenja uzrokovana slobodnim radikalima)

- **Geni prepoznati kao čimbenici rizika za razvoj pojedinih dobnopovezanih bolesti**

- protektivne varijante doprinose izbjegavanju smrtnog ishoda čime doprinose dugovječnosti

Na staničnoj razini ne postoji striktna podjela na gene koji utječu na procese staničnog starenja i one koji sudjeluju u patološkim procesima vezanim uz degenerativne promjene koje se javljaju u starijoj dobi.

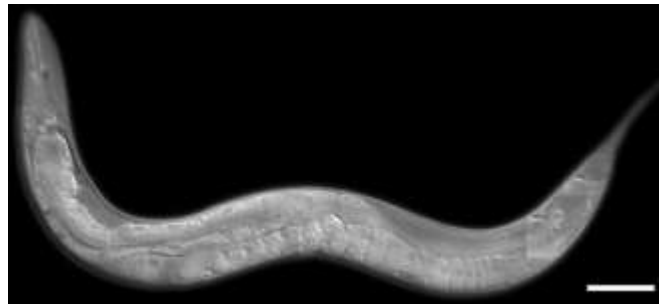
S obzirom da "geni dugovječnosti" imaju izrazitije pleiotropne učinke koji mogu utjecati na širok spektar fenotipova, očekuje se da bi oni mogli imati učinak na razini čitavog organizma što rezultira duljim trajanjem života, oni će biti primarni cilj istraživanja u okviru projekta HECUBA.

Mnogi geni koji utječu na varijacije u duljini života različitih modelnih organizama pokazali su veliku ovisnost o uvjetima okoliša, prije svega – prehrane. Smanjena dostupnost nutrijenata dovodi do smanjenja metaboličke aktivnosti eukariotske stanice, što dovodi do produljenja životnog vijeka modelnog organizma.

Neke "anti-ageing" genetičke manipulacije (poput smanjenja aktivnosti gena GH, IGF1 i INSR te povećanja aktivnosti FOXO, SIRT1 i KLOTHO gena) kao i ne-genetičke intervencije (kalorijska restrikcija, resveratrol i antidijabetici) pokazuju povezanost s poboljšanjem metaboličke učinkovitosti te posljedičnim smanjenjem stope stvaranja ROS-a.



Drosophila melanogaster



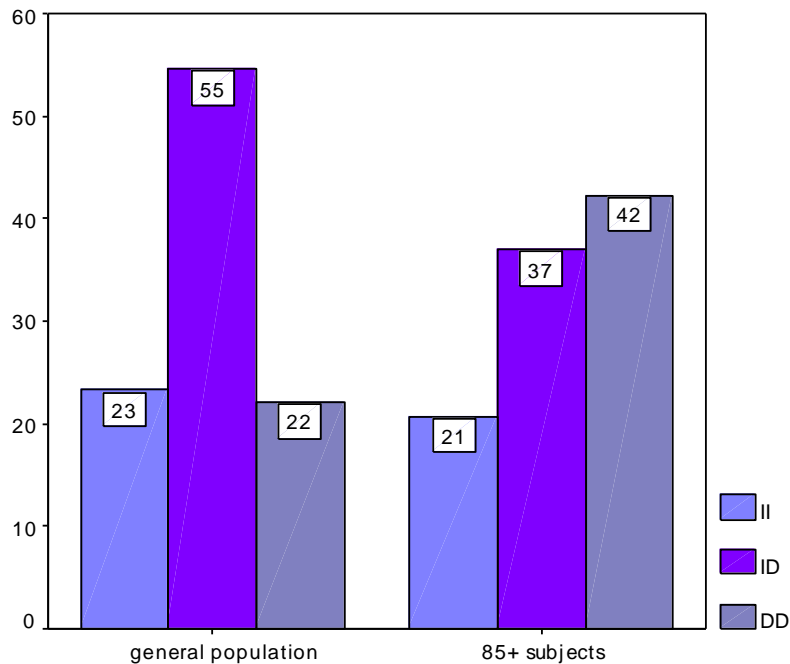
Caenorhabditis elegans



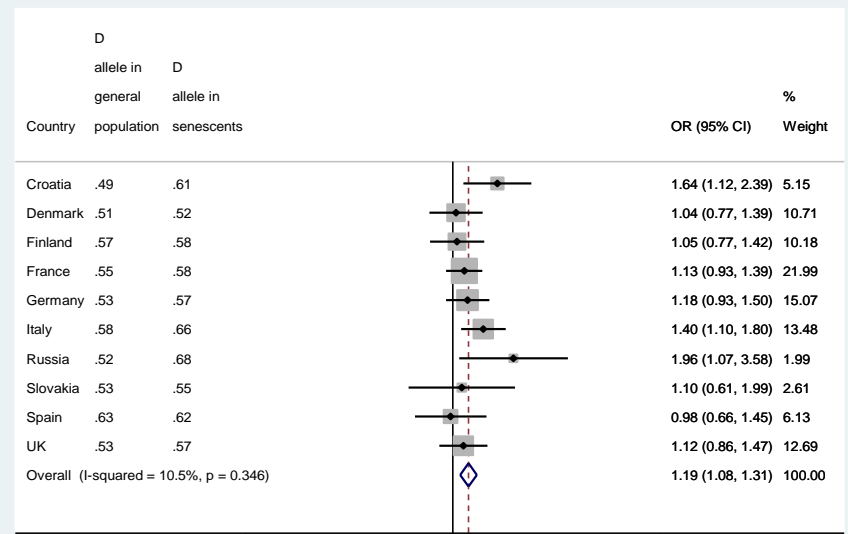
Mus Musculus

Rezultati dosadašnjih genetičkih analiza - ACE I/D polimorfizam (Zajc Petranović i sur. 2012)

Analiza uloge jednog od najčešće istraživanih kandidatskih gena za razvoj kardiovaskularnih bolesti u dugovječnosti: ACE I/D polimorfizma (gen za angiotenzin-pretvarajući enzim)



Meta-analysis of ACE I/D D allele distribution in ten European countries



Heterogeneity chi-squared = 10.06 (d.f.=9)
Test of OR=1, p=0.000

U populaciji Republike Hrvatske dobi 80 i više godina (80+), učestalost D alela ACE gena veća je negoli u općoj populaciji Hrvatske (18 – 79 godina), a DD genotip javlja se dvostruko češće u 80+ kohorti u odnosu na opću populaciju RH.

ZDRAVLJE

Glavni cilj biomedicinskih istraživanja procesa starenja i dugovječnosti

- ❖ **poboljšanje zdravlja i kvalitete života starije populacije**
- ❖ **produljenje duljine zdravog života osoba starije dobi**

a to će ujedno imati značajne pozitivne reperkusije na ekonomsku cijenu demografskog starenja

Tematika starenja ujedno jedno od prioritetnih područja znanstvenih programa Europske unije (2014-2020) – u sklopu cilja produljenja duljine zdravog života za dvije godine do 2020. godine.

ZDRAVLJE I DUGOVJEČNOST

Odnos zdravlja i dugovječnosti, premda naizgled jednoznačan, on nije u cijelosti takav.

- ❖ Moderna medicina vidi dobno-povezane bolesti kao odvojene entitete.
- ❖ Međutim, sve je više dokaza kako postoje temeljni celularni procesi starenja koji pokreću većinu ako ne i sve dobno-povezane bolesti, u rasponu od neurodegenerativnih bolesti do kardiovaskularnih bolesti.
- ❖ Stoga se biomedicinska istraživanja danas usmjeravaju ka identifikaciji i razumijevanju te **modulaciji procesu starenja koji je podlozi i zajednički je većini najčešćih kroničnih bolesti**, a sve u cilju kako bi se utjecaj starenja u rastućem udjelu stanovništva – ublažio.

ZDRAVLJE I DUGOVJEČNOST

Smanjenje broja stanica u tkivu i neprimjeren regenerativni odgovor povezani s mnogim klasičnim, dobno povezanim medicinskim stanjima poput mišićne atrofije, anemije, slabog imunološkog odgovora i oslabljenog zacjeljivanja rana.

Na razini organizma starenje se manifestira smanjenjem funkcionalnog kapaciteta različitih organa za održavanje homeostaze i za fiziološki primjeren odgovor na stres.

Ova promjena je postupna, a postaje posebno vidljiva kada organizam treba odgovoriti na različite stresore robusnim fiziološkim i/ili regenerativnim odgovorom.

Ove procese ubrzavaju i čimbenici okoliša (izloženost mutagenima kao što je kemoterapija, UV svjetlo i dim duhana) te ukupno zdravstveno stanje organizma (pretilost, dijabetes, završni stadij kronične bolesti bubrega i dr.).

ZDRAVLJE I DUGOVJEČNOST

Svjedočimo pokušajima da se odrede biljezi koji bi na najučinkovitiji način definirali zdravstveni status osoba duboke starosti.

Cilj je pronalaženje mjernog instrumenta koji bi istovremeno bio jednostavan i pouzdan prediktor smrtnog ishoda u određenom razdoblju.

Koristi se niz skala koje sadržavaju različite kombinacije varijabli kojima se opisuje dugovječne osobe kao zdrave ili bolesne.

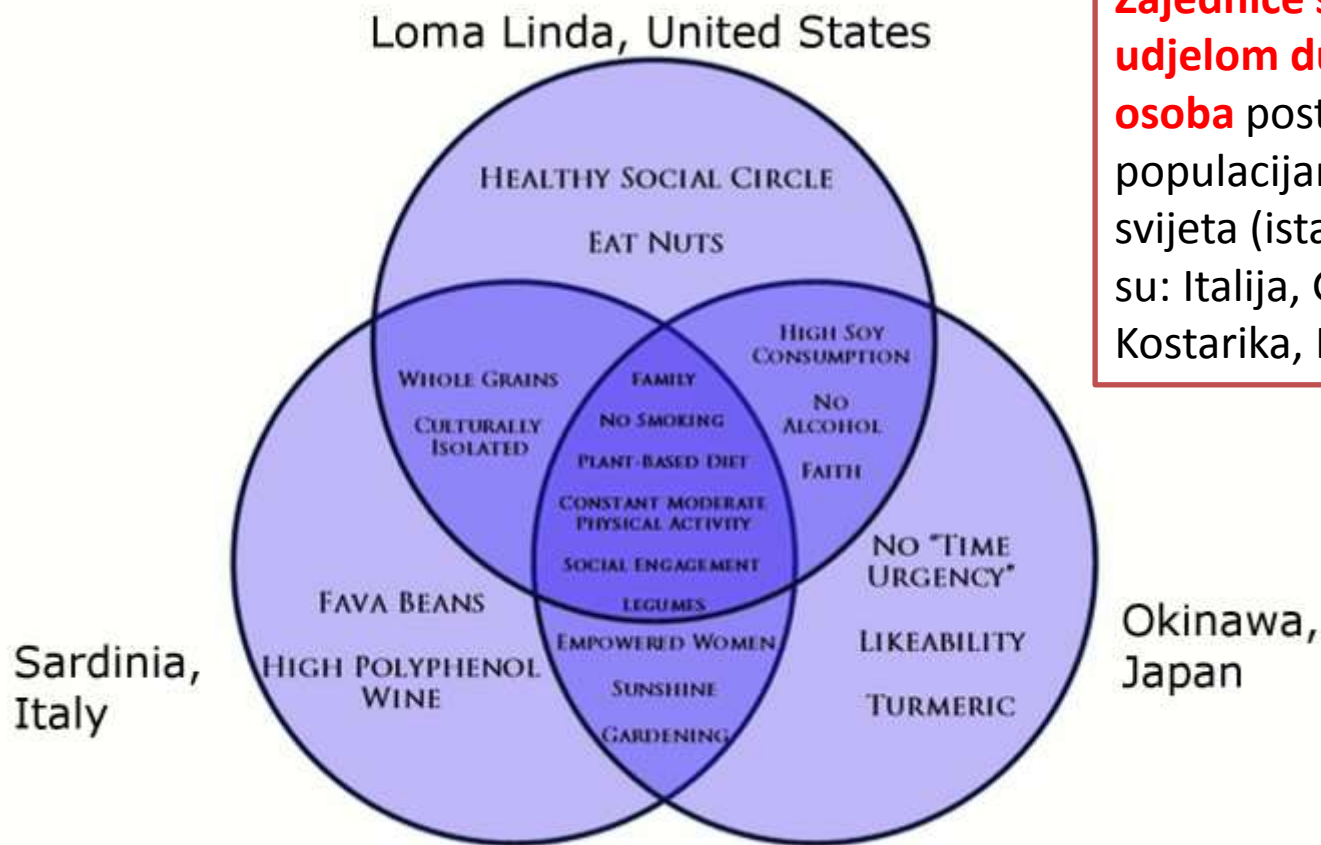
Skale uključuju različite kombinacije parametara **funkcionalne (ADL)** ili **mentalne (MMSE) sposobnosti**, stupnja **komorbiditeta**, **samoprocjene zdravlja**, **procjenu liječnika o zdravlju osobe**, kao i neke objektivne **biokemijske i hematološke parametre**.

No, univerzalna skala koja bi se sastojala od lako mjerljivih parametara koji bi vrijedili barem za određeni broj civilizacijski bliskih društvenih zajednica – nije još formirana.

Očekuje se da će rezultati istraživanja koja su u tijeku pronaći neke odgovore; ...i oni će barem dijelom biti kulturno specifični!

KULTURA

Neke karakteristike dugovječnih populacija



Zajednice s visokim udjelom dugovječnih osoba postoje u populacijama diljem svijeta (istaknuti primjeri su: Italija, Grčka, Japan, Kostarika, Kalifornija)

Dugovječnim članovima tih zajednica mogu se pripisati **neki zajednički čimbenici životnog stila** poput redovite tjelesne aktivnosti, uravnotežene prehrane (uglavnom niskokalorijske i s naglaskom na namirnicama bilnog porijekla), utjecaja duhovnosti te snažnih društvenih i obiteljskih veza, **dok se u mnogim drugim elementima one ipak razlikuju.**

Okoliš čovjeka - uz onaj biološki i fizikalni – u velikom dijelu čine – drugi ljudi!

Povezanost kulture s duljinom (zdravog) ljudskog života pokazali su brojni čimbenici.

Može se govoriti o **direktnoj povezanosti sa zdravljem** kada se ispituje ponašanje ljudi kao što je praksa **odlaska na preventivne preglede, pridržavanje liječničkih uputa**, primjena tradicijske, alternativne i komplementarne medicine u liječenju, kao i sam odnos prema bolesti i **trud koji se ulaže u očuvanje vlastitog zdravlja**.

Indirektnu povezanost sa zdravljem i duljinom života imaju kulturni čimbenici kao što su to **razina tjelesne, mentalne, duhovne i društvene aktivnosti, prehrambene navike, konzumacija alkohola, nikotina i druge ovisnosti**.

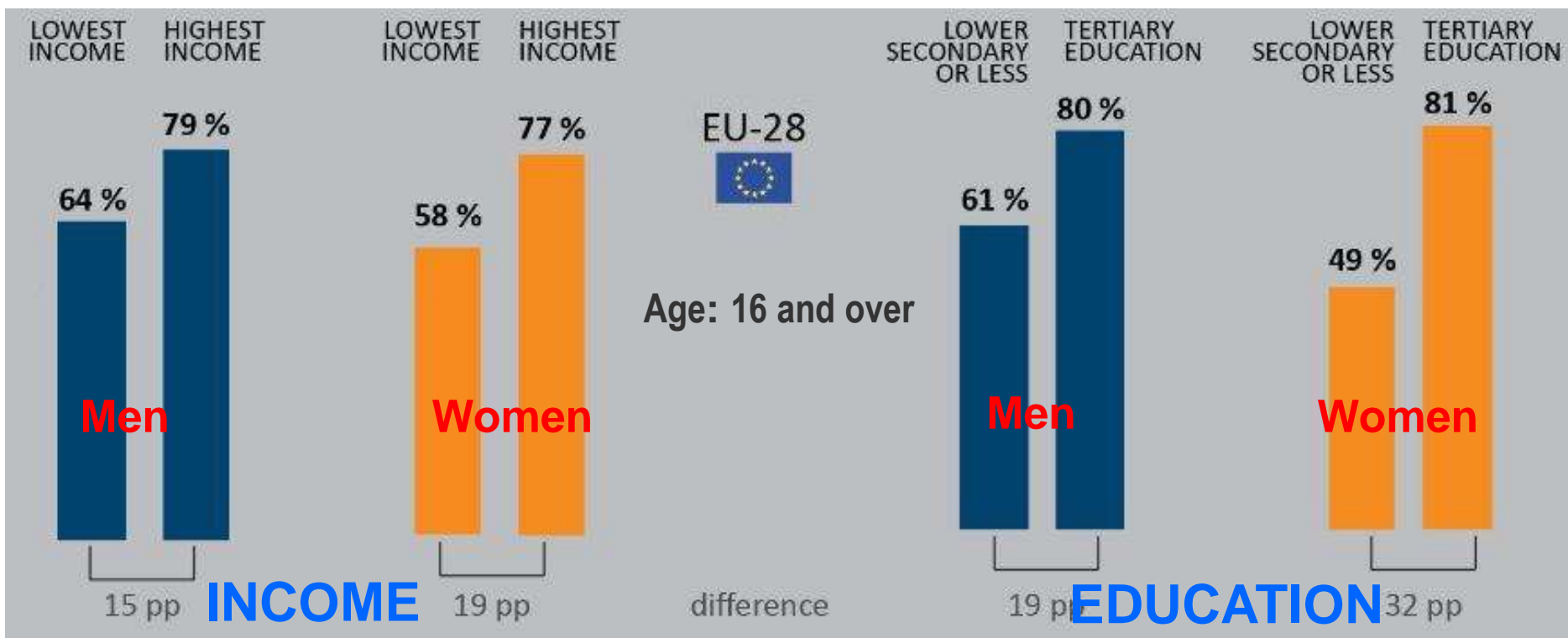
UTJECAJ SOCIOKULTURNIH FAKTORA

Međutim, sve je više **isključivo društvenih** - socioekonomskih i kulturnih - čimbenika čija se povezanost sa zdravljem, mortalitetom i dugovječnošću danas naširoko prepoznaje i istražuje (**socioekonomski status u pojedinim fazama života, mogućnost obrazovanja, karijerni put, pozicija moći, autonomije i zadovoljstva poslom, sigurnost posla i mirovine, ali i odnos prema starosti i način života u poodmakloj dobi, posebice nakon umirovljenja**).

U nizu istraživanja koja dokazuju povezanost biologije i kulture, kao primjer ćemo izdvojiti nalaz povezanosti duljine telomera s tipom diskriminacije koju osobe proživljavaju.

Determinante samoprocjene zdravlja: obrazovanje i primanja

Udjel osoba koja ocjenjuju svoje zdravlja kao dobro ili vrlo dobro raste s razinom obrazovanja i primanja



INICIJALNO ISTRAŽIVANJE

PRETHODNO, INICIJALNO ISTAŽIVANJE

Ciljano istraživanje procesa starenja u specifičnoj dobnoj skupini, a to su osobe duboke starosti (85 i više godina života), u gradu Zagrebu pokrenuto je u okviru MZOŠ projekta prof. dr. sc. Nine Smolej Narančić:

«KOMPLEKSNA OBILJEŽJA I ZDRAVLJE STANOVNIŠTVA OD DJETINJSTVA DO DUBOKE STAROSTI» (2007. – 2013.)

Terenska istraživanja u zagrebačkim domovima za starije osobe proveo je tim istraživača Instituta za antropologiju u suradnji s Referentnim centrom Ministarstva zdravlja RH za zaštitu zdravlja starijih osoba, Službe za javnozdravstvenu gerontologiju (tada: Centar za zdravstvenu gerontologiju) Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“.

ISPITANICI

87 MUŠKARACA
258 ŽENA
345 UKUPNO



- ❖ Ciljna skupina: osobe u dobi od 85 i više godina (85 – 101 g.; srednja dob 88,33 g.)
- ❖ Omjer muškaraca (25,2%) prema ženama (74,8%) u uzorku u skladu je s rezultatima popisa stanovništva za populaciju osoba dobi 80 i više godina
- ❖ Podaci prikupljeni u 11 domova za starije i nemoćne osobe čiji je osnivač Grad Zagreb te u dva privatna doma
- ❖ Istraživanje je provedeno u razdoblju od rujna 2007. do siječnja 2009.

Prikupljeni podaci u inicijalnom istraživanju

Prikupljeni podaci:

- **Anketni** podaci: zdravstveni status, zdravstveno-rizično ponašanje (pušenje), pokretnost i samostalnost, aktivnosti dnevnog života, kvaliteta života i zadovoljstvo životom, obrazovanje, radni vijek, ekonomski status, društveni i obiteljski status, način života (hobiji, tjelesna i duševna aktivnost), itd.
- **Biometrijski** podaci: antropometrija, ultrazvučna denzitometrija petne kosti, mjerenje krvnog tlaka
- **Hematološke i biokemijske** pretrage krvi i seruma: KKS, GUK, lipidogram, proteinski status, folna kiselina i vitamin B12
- **Genetički** podaci

Anketa je sadržavala i dva međunarodno standardizirana upitnika:

- ❖ **Mini Nutritional Assessment (MNA)** za procjenu prehrambenog statusa (Guigoz i sur. 1997) te
- ❖ **Mini Mental State Examination (MMSE)** psihometrijski test za procjenu mentalnog stanja ispitanika, odnosno, utvrđivanje prisutnosti kognitivnog oštećenja (Folstein i sur., 1975.).



DOSADAŠNJE ANALIZE

- ❖ Procjena visine i težine (u situaciji kada to nije moguće izravno mjeriti) razvojem regresijske jednadžbe specifične za našu populaciju! (koriste se: dob i visina koljena za visinu, opsezi nadlaktice i potkoljenice, kožni nabori te visina koljena za težinu)
- ❖ Stanje uhranjenosti:
 - ✓ povezanost stanja uhranjenosti s funkcionalnom sposobnošću (pokretnošću i samostalnošću)
 - ✓ usporedba procjena koje daju MNA (Mini Nutritional Assessment) i BMI (indeks tjelesne mase);
 - ✓ graničnik prekomjerne tjelesne mase kod starijih osoba (umjesto BMI>25, BMI>30?)
- ❖ Samoprocjena zdravlja i faktori koji na nju utječu u različitim dobnim skupinama
- ❖ Genetičke analize
 - ✓ Genetički čimbenici rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti (ACE, APOE, eNOS, MTHFR)
 - ✓ Geni dugovječnosti (TP53, IL-6, TNF- α i SIRT1)

HECUBA PROJEKT

HECUBA projekt – Dvije glavne ciljne varijable

Protok vremena od 10 godina od inicijalnog istraživanja daje prvorazrednu mogućnost utvrđivanja dvaju ključnih krajnja ishoda naših ispitanika, odnosno određivanja dva nova fenotipa, a to su:

1. **dob u trenutku smrti**, odnosno utvrđivanje duljine života ispitanika te izdvajanje poduzorka uistinu dugovječnih osoba
2. **dob nastupa funkcionalne nesposobnosti** (nesamostalnosti, nepokretnosti) ispitanika, koja omogućuje utvrđivanje duljine razdoblja njihove funkcionalne sposobnosti , odnosno duljine trajanja razdoblja potpune zavisnosti o tuđoj pomoći i njezi osoba ove dobne skupine, što je važno za planiranje javnozdravstvenih politika i za gerontološku i gerijatrijsku praksu.

Obje vrste ishoda predstavljaju krajnje točke prema kojima se mogu ocjenjivati sve mjerene značajke ispitanika te detektirati one koje uistinu obilježavaju uspješno starenje.

Prikupljanje informacija za dvije ciljne varijable projekta HECUBA

Zahvaljujući suradnji s dvije javnozdravstvene ustanove, danas su projektu HECUBA na raspolaganju informacije o dva krucijalna krajnja ishoda naših ispitanika koje su potrebne za konstrukciju dviju osnovnih ciljnih (zavisnih) varijabli: dob smrti i dob nastupa funkcionalne nesposobnosti :

- ❖ Suradnja s **Hrvatskim zavodom za javno zdravstvo** koji vodi Registar umrlih osoba omogućila je dobivanje podataka o **datumu smrti pojedine osobe** iz početnog uzorka.
- ❖ Zahvaljujući naporima suradnika s **Nastavnog zavoda za javno zdravstvo "Dr. Andrija Štampar"** pri završetku je prikupljanje podataka o godini **nastupa funkcionalne nesposobnosti** za osobe duboke starosti inicijalnog uzorka.

DOB SMRTI – Prva ciljna varijabla HECUBA projekta

Istraživanje je studija praćenja kojom se za uzorak osoba koje su u vrijeme terenskog istraživanja (2007. – 2009.) imale 85 i više godina, danas, nakon deset godina, utvrđuju podaci najtočnijeg fenotipa za "dugovječnost", a to je dob smrti, odnosno, sadašnja dob (u slučaju da je osoba još uvijek živa).

Oba fenotipa se sastoje od po dvije ili više varijabli koje su ujedno i glavne zavisne varijable u analizama koje će se provesti.

- 1) DUGOVJEČNOST** je osnovni ciljni fenotip predloženog projekta. Ovaj fenotip bit će definiran na dva načina, kao kvantitativna varijabla – dob smrti (ili za žive – dob doživljenja) i kao kvalitativna varijabla – doživljenje 90 i više godina života, što se u mnogim studijama smatra graničnikom dugovječnosti.

Ovaj precizni fenotip omogućava postizanje osnovnog cilja istraživanja, a to je pronalaženje mogućih bioloških i zdravstvenih odrednica te socioekonomskih, psiholoških i ponašajnih obilježja koji doprinose usporenju procesa starenja te time doživljenju duboke starosti.

UZORAK U BAZI

30. lipnja 2018. je bio datum s kojim je završena akcija prikupljanja mortalitetnih podataka u Odjelu za mortalitetnu statistiku Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo.

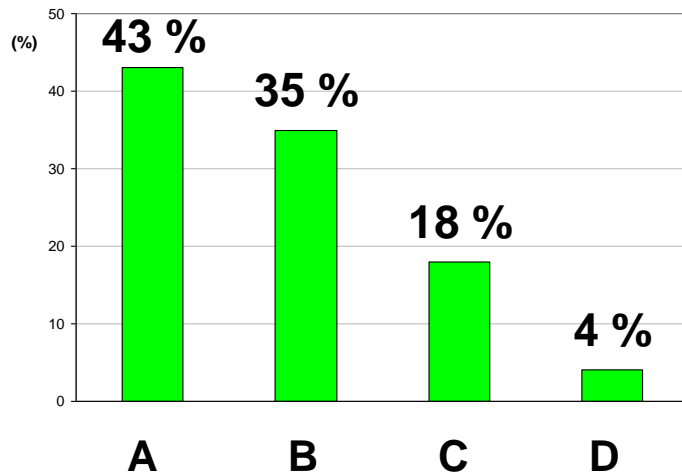
- **34 ispitanika još živo!** (ili je bilo živo do 30. lipnja 2018.)
- **23 ispitanika napunilo 100 godina života!** Ili 26 osoba, ako se koristi graničnik kakav se u našim dosadašnjim analizama koristio, a to je da se starijoj grupi pridružuju i osobe koje su „u toj godini“ a to su u ovom slučaju osobe koje imaju 99,51 godina ili više.
- **Također, prema kriteriju 90 g., 89 (25,8%) ispitanika NIJE dugovječno a njih 256 (74,2%) je DUGOVJEČNO!** Graničnik: 89,51+ za pripadnost skupini „dugovječnih osoba“.
- Naime, prema projektom prijedlogu HECUBA-e, granica dugovječnosti zamišljena je da bude 90 godina života. Nju smo koristili u dosadašnjim našim analizama koja su pokazala da se osobe 90+ zaista razlikuju u mnogim elementima (pa i genetičkim) od skupine 85-89,50 g. I koristeći te podatke (dob u vrijeme mjerenja 2007.-2009.) omjer osoba 90+ bio je $\frac{1}{4}$. No, sada se ispostavilo – u perspektivi desetgodišnjeg preživljenja – da osoba koje su doživjele 90+ iznosi $\frac{3}{4}$!!!

DOB ODRŽANE FUNKCIONALNE SPOSOBNOSTI

– Druga glavna ciljna varijabla HECUBA projekta

2. Dob održane funkcionalne sposobnosti (kratica: **DFS**). Ovaj fenotip kombinacija je procjena održane pokretnosti i samostalnosti ispitanika.

Ovaj sekundarni ciljni fenotip se također sastoji od nekoliko varijabli, među kojima ističemo tri: **dob nastupa nesamostalnosti i/ili nepokretnosti**, **vrijeme proteklo od nastupa nesamostalnosti/nepokretnosti do smrti** te **procjena stupanja samostalnosti/pokretnosti u trenutku smrti**.



Pokretnosti ispitanika u vrijeme inicijalnog mjerenja(2007/2009.)

- A sasvim pokretan
- B ograničeno pokretan
- C trajno ograničeno pokr.
- D trajno nepokretan

Dopuna inicijalnog istraživanja u okviru HECUBA projekta

U okviru projekta HECUBA provesti će se iscrpnije genetičke analize u odnosu na inicijalno istraživanje i to:

- ❖ **Utvrđivanje duljine telomera**
- ❖ **Genotipizacija odabranih lokusa „gena dugovječnosti“**
- ❖ **Genotipizacija odabranih lokusa ADME gena**

Dopuna koju donosi HECUBA projekt sadržana je i u **prikupljanju DNK uzorka nesrodnih mladih odraslih osoba** (dobi od 20 do 35 godina; 100 ispitanika) na kojem će se provesti sve planirane genetičke analize što će omogućiti barem preliminarne zaključke o selektivnom mortalitetu, odnosno, o protektivnom učinku "gena dugovječnosti".

Dobni raspon od 20-35 godina odabran je kako bi odgovarao rasponu od 15 godina kojeg imamo u uzorku osoba duboke starosti (85-100 g.) što će doprinijeti da varijabilnost uzrokovana utjecajem kohorte bude usporediva u dvije skupine ispitanika.

DULJINA TELOMERA

– Proširenja u odnosu na prethodno istraživanje

Stanično starenje nazivamo **senescencijom**. Prepoznata su dva tipa stanične starosti: **1) replikativna senescencija i 2) stresom potaknuta senescencija**.

Tijekom uzastopnih dijeljenja, **stanice ne uspijevaju održati duljinu telomera** što rezultira u kritično kratkim telomerama i tipu senescencije poznatom kao **replikativna senescencija**.

Telomere su strukture locirane na krajevima kromosoma a koje se sastoje od tisuća tandemskih ponavljanja TTAGGG sekvence (9-15 kb kod čovjeka). Telomere se skraćuju za 30 do 150 parova baza u svakom staničnom dijeljenju, jer DNA polimeraza ne može replicirati linearnu sekvencu na završnim dijelovima (3' kraj lanca), pa se kromosomi u tom području skraćuju.

Telomere se skraćuju sa svakim sukcesivnim dijeljenjem stanice sve dok se ne dosegne kritična duljina što za posljedicu ima njihovu disfunkciju.

Telomere sudjeluju u održavanju genomske stabilnosti jer ga štite od degradacije, neželjene rekombinacije i kromosomske fuzije.

DULJINA TELOMERA

– Proširenja u odnosu na prethodno istraživanje

Duljina telomera je velikim dijelom **nasljedna i modulirana je različitim intrizičnim i okolišnim faktorima tijekom života**. Trošenje telomera može biti usporeno aktivnošću telomeraze, estrogena i antioksidansa.

Bržem skraćivanju telomera doprinosi i nezdrav način života (pušenje, prekomjerna konzumacija kalorija i alkohola, sjedilački način života, mentalni stres) dok je zdrav način života povezan s održavanjem dugih telomera.

U okviru projekta HECUBA napraviti će se analiza duljine telomera, kao jednog od najvažnijih biomarkera procesa starenja. Ovakva analiza je dosad napravljena u Hrvatskoj samo na manjem uzorku mladih osoba.

GENI DUGOVJEČNOSTI

– Proširenja u odnosu na prethodno istraživanje

Studije povezanosti polimorfizama "gena dugovječnosti", u cilju utvrđivanja njihovog utjecaja na duljinu života, usmjerit će se genima koji sudjeluju u više metaboličkih putova i međusobno su u interakciji, ali primarno djeluju na različite mehanizme starenja, kao što je to regulacija staničnog ciklusa i učinkovitost održavanje integriteta genoma (npr. p53), imunološke i upalne reakcije (npr. IL-6, TNF- α) te oštećenja uzrokovana slobodnim radikalima (npr. SIRT1).

Kako je riječ o ključnim procesima staničnog starenja koji su univerzalno prisutni u ljudskom tijelu, sve navedene gene karakterizira djelovanje na više organskih sustava i očekuje se da će se u ovoj studiji očitovati njihovi pleiotropni, sistemski učinci.

GENI DUGOVJEČNOSTI

– Proširenja u odnosu na prethodno istraživanje

Potvrdu sistemskih učinaka protektivnih varijanti ovih "gena dugovječnosti" može donijeti samo usporedba s mlađom populacijom koja još nije prošla selekciju koju donosi dugo življenje.

Stoga će se napraviti međugeneracijska usporedba učestalost ispitivanih alela korištenjem komparacijskog uzorka osoba mlađe životne dobi koji će se prikupiti u sklopu predloženog projekta i (gdje je to moguće) literaturnih podataka za Hrvatsku, kao i za druge populacije svijeta.

**A) Human
„longevity genes“
- 45 lokusa**

No.	Gene	rs
1.	CDKN2B/ANRIL	rs4977756
2.	ERCC2	rs50871
3.	FOXO3A	rs10457180
4.	FOXO3A	rs12206094
5.	FOXO3A	rs13217795
6.	FOXO3A	rs2764264
7.	FOXO3A	rs2802292
8.	FOXO3A	rs4946935
9.	GHRHR	rs2267723
10.	GHSR	rs572169
11.	HLA-DRB5	rs76380179
12.	IGF1R	rs12437963
13.	IGF1R	rs2229765
14.	IGF2R	rs9456497
15.	IL6	rs1800795
16.	IL6	rs2069837
17.	IRF4	rs12203592
18.	KL (KLOTHO)	rs1207362
19.	KLF7	rs2360675
20.	KLOTHO	rs9527025
21.	KLOTHO	rs9536314
22.	LINC02227 (EBF1)	rs2149954
23.	LPA	rs10455872
24.	MRE11A	rs533984
25.	PAPPA	rs4837525
26.	PARK7	rs225119
27.	PTPN1	rs6067484
28.	RAD50/IL13 region	rs2706372
29.	SH2B3/ATXN2	rs3184504
30.	SIRT6	rs107251
31.	TERC	rs12696304
32.	TERC	rs16847897
33.	TERC	rs3772190
34.	TERT	rs2853691
35.	TERT	rs33954691
36.	TNF-alfa	rs1800629
37.	TOMM40/APOE/APOC1	rs2075650
38.	TOMM40/APOE/APOC1	rs429358
39.	TOMM40/APOE/APOC1	rs4420638
40.	TOMM40/APOE/APOC1	rs7412
41.	TP53	rs1042522
42.	TP53	rs2078486
43.	TP53/ CDKN2A	rs1333049
44.	TXNRD1	rs17202060
45.	WRN	rs13251813

ADME GENI

– Proširenja u odnosu na prethodno istraživanje

Utvrđiti će se i učestalost rizičnih varijanti farmakogenetički relevantnih ADME gena koje mogu dovesti do štetnih djelovanja pri uzimanju pojedinih lijekova.

ADME geni su odgovorni za apsorpciju, distribuciju, metabolizam i izlučivanje lijekova, a ubrajaju se među gene koji pokazuju značajnu međupopulacijsku varijabilnost. Prema dosadašnjim farmakogenetičkim spoznajama utvrđen je popis od 32 osnovna ADME gena kod kojih je definirano ukupno 184 biljega čija genotipizacija pruža osnovne informacije o mogućem negativnom odgovoru na lijekove (www.pharmadme.org).

To je još jedan aspekt u kojem se projekt HECUBA nadovezuje na istraživanja Instituta za antropologiju, a to su analize ADME gena koje se provode u sklopu ADMEROMA projekta (HRZZ-IP-2014-09-4454; 2015. – 2019.) prof. dr. sc. Marijane Peričić Salihović.

Na temelju iskustva stečenih u sklopu rada na ADMEROMA projektu **izdvojiti će se funkcionalno najrelevantnije polimorfizme koji će se analizirati u populaciji osoba duboke starosti** što je od velikog praktičnog značaja s obzirom na polipragmaziju prisutnoj u ovoj dobnoj skupini.

B) ADME genes (www.pharmadme.org) - 30 lokusa

Broj	Gene	rs	Farmako. level	drug
1.	ABCB1	1045642	2A	Digoxin, ondansetron, methotrexate, nevirapine
2.	ABCB1	1128503	3	Modafinil, sunitinib, imatinib
3.	ABCB1	2032582	2A	Simvastatin, ondansetron
4.	ABCC2 (CYP2B6)	3745274	1B, 2A	Efiravenz, nevirapine, methadone
5.	ABCG2	2231142	2A	Rosuvastatin, allopurinol
6.	CYP1A1*2C	1048943	3	Capecitabine, docetaxel
7.	CYP2A6	1801272	2B	nicotine
8.	CYP2B6	8192709	3	Efiravenz, methadone, cyclophosphamide
9.	CYP2C19	4986893	1A	clopidogrel
10.	CYP2C19*1	3758581	1A	Voriconazole, citalopram, sertraline
11.	CYP2C19*17	12248560	1A	Voriconazole, citalopram, amitriptyline, clopidogrel
12.	CYP2C19*2	4244285	1A	Clopidogrel, amitriptyline, sertraline
13.	CYP2C8*3	10509681	2A	rosiglitazone
14.	CYP2C9*2	1799853	1A	Warfarin, phenytoin
15.	CYP2C9*3	1057910	1A	Warfarin, phenytoin
16.	CYP2D6 (*41)	28371725	1A	Tamoxifen, codeine, amitriptyline
17.	CYP2D6 (*8; *14)	5030865	2A	risperidone
18.	CYP3A4	2242480	3	Methadone, carbamazepine, clopidogrel, tacrolimus
19.	CYP3A5	776746	1A	Tacrolimus
20.	DPYD	1801265	1A	fluorouracil
21.	GSTP1	1695	2A	Cyclophosphamide, epirubicin, platinum compounds, fluorouracil, oxaliplatin, cisplatin
22.	NAT2*13A	1041983	2A	Ethambutol, isoniazid, pyrazinamide, rifampin
23.	NAT2*6B	1799930	2A	Ethambutol, isoniazid, pyrazinamide, rifampin
24.	SLCO1B1	4149056	1A	simvastatin
25.	SLCO1B3	4149117	3	Carboplatin, paclitaxel, sunitinib
26.	TPMT*2	1800462	1A	Azathioprine, mercaptopurine, purine analogues, thioguanine
27.	UGT1A1	4148323	2A	Irinotecan, SN-38
28.	UGT2B15	1902023	2B	Lorazepam, oxazepam
29.	VKORC1	9923231	1A	warfarin
30.	CYP2B6	2279343	3	methadone, propofol, mitotane, imatinib, cyclophosphamide, dexorubitin

Lista nezavisnih varijabli koje će se koristiti u istraživanju

Lista nezavisnih varijabli koja će biti uključena u detekciju najvažnijih varijabli za dugovječnost i DFS podijeljena je u tri tematska seta: zdravstveni, kulturni i biološki.

Primjeri varijabli prema setu su:

Biološki set:

genetički podset – duljina telomera, "geni dugovječnosti", ADME geni

Zdravstveni set:

broj kroničnih bolesti, dijagnoze bolesti, broj i terapijska skupina lijekova, korištenje protetskih pomagala, operativni zahvati, preventivni i kurativni pregledi, cijepljenja, MMSE, skala svakodnevnih aktivnosti (ADLs), dijagnoza uzroka smrti.

Kulturni set:

zadovoljstvo životom, životne vrijednosti, subjektivna procjena razloga dugovječnosti, obrazovanje, sadašnji i prijašnji ekonomski status, radna anamneza (radni staž, fizički i mentalni stres povezan s poslom te zadovoljstvo poslom), obiteljska anamneza (bračni status, broj djece, unuka, praunuka), mreža socijalnih kontakata (obitelj, prijatelji, poznanici, intenzitet i kvaliteta kontakata), analiza povijesti života (rad, migracije tijekom života, hobiji, kućni ljubimci, navike, razlozi odlaska u dom).

Lista nezavisnih varijabli koje će se koristiti u istraživanju

Varijable koje će se nalaziti u zdravstvenom i u biološkom setu:

biometrijski podset – antropometrija, ultrazvučna denzitometrija, krvni tlak, hematološki nalazi, biokemijske analize seruma.

Varijable koje će se nalaziti u zdravstvenom i u kulturnom setu:

samoprocjena zdravlja, zdravstveno-relevantno ponašanje (pušenje, tjelesna aktivnost, konzumacija alkohola, prehrambene navike (uključujući količinu i učestalost obroka, pijenje vode), MNA, spavanje (broj noćnih sati spavanja, dnevno spavanje), pridržavanje liječničkih uputa (uključujući i uzimanje lijekova), uzimanje ljekovitih sredstava (komplementarna medicina).

Svi navedeni podaci bit će sagledani u svjetlu novodostupnih informacija, a koje se odnose na dva glavna ciljna fenotipa, a to su **dugovječnost i dob održane funkcionalne sposobnosti**.

HECUBA projekt – Općeniti cilj

Cilj je istraživanja da sveobuhvatno istraži utjecaj pojedinih bioloških odrednica i zdravstvenog stanja, ali i socioekonomskih i psiholoških odlika kao i utjecaja osobne povijesti te čimbenika kulture (stavova, ponašanja, navika) na dinamiku procesa starenja.

Istraživanje će provesti **multidisciplinarni tim stručnjaka** iz različitih znanstvenih područja (**medicina, biologija, antropologija, psihologija, ekonomija**). Osim toga, oni će provesti sveobuhvatnije i specijaliziranije analize prikupljenih podataka, koji su još uvijek nedovoljno iskorišteni, a pripadaju područjima njihovih užih tematskih specijalnosti .

Ciljevi – glavna linija istraživanja

Temeljni cilj predloženog istraživanja jest utvrđivanje zdravstvenih, kulturnih i bioloških varijabli koje doprinose dugovječnosti i dobi održane funkcionalne sposobnosti (DFS)

Operativni ciljevi:

- Utvrditi povezanost zdravstvenog statusa s fenotipovima dugovječnosti i DFS
- Utvrditi povezanost kulturnih značajki s fenotipovima dugovječnosti i DFS
- Utvrditi povezanost bioloških značajki s fenotipovima dugovječnosti i DFS
- Utvrditi relativni utjecaj svakog od tri ispitivana seta varijabli (zdravlje, kulturni i biološki čimbenici) na dugovječnost i DFS *
- Utvrditi varijable za sve setove zajedno koje najviše doprinose ciljnim fenotipovima dugovječnosti i DFS

* Zajedničkom analizom kompozitnih varijabli - aditivne skale i vrijednosti faktora - koje su proizvedene unutar svakog od tri seta

Dopunski (sekundarni) ciljevi

Tematski specifične analize!

Provedba niza analiza koje će biti usmjerene posebnim podtemama (sekundarni ciljevi).

Kao projektni cilj zamišljena je s obzirom na bogatstvo podataka koji su sadržani u materijalu koji se kroz projekt analizira.

Naime, dostupni materijal je saturiran podacima koji mogu dati i čitav niz važnih informacija koje nisu direktno vezane uz dva glavna ciljna fenotipa.

Stoga je predviđeno da se znanstvenici okupljeni na ovom projektu posvete analizama koje pripadaju njihovim užim tematskim područjima interesa.

Provedba tematski specifičnih analiza

Potencijalno postoji velik broj takvih tema, pri čemu će zasigurno nekoliko njih biti obrađene u sklopu ovog projekta. Primjerice,

- analiza **strukture uzroka smrti** kod osoba duboke starosti (**T. Ćorić**),
- **socioekonomski status** korisnika domova za starije i nemoćne osobe duboke starosti (**Š. Smolić**),
- **kvalitativne analize anketnih odgovora iz domene kulturnog seta** koji još nisu do sada bili korišteni (stavovi, kvantiteta i kvaliteta obiteljskih i društvenih kontakata, korištenje slobodnog vremena, ključni momenti osobne povijesti, i dr.) (**A. Perinić Lewis**),
- analiza **farmakogenetičkih podataka** (učestalost alela koji predstavljaju rizik za primjenu određenih lijekova ili njihovih kombinacija) (**H.M. Zeljko, N. Smolej Narančić**),
- istraživanja povezanosti genskih lokusa **"gena dugovječnosti" i duljine telomera s ostalim mjerenim značajkama** (prvenstveno onim povezanim sa zdravljem); specifično, utjecaj navedenih generičkih čimbenika na biološku dob kod osoba duboke starosti (85+) (**N. Smolej Narančić, L. Bočkor**),

Provedba tematski specifičnih analiza

- istraživanje povezanosti specifičnih značajki **osobne povijesti** (ponašajni obrasci, hobiji, navike, migracije, ratna iskustva, kao i radna, obiteljska i socioekonomska anamneza) **s biološkim i zdravstvenim parametrima** (**A. Perinić Lewis, Š. Smolić**),
- analiza **utjecaja prehrambenih navika te prehrambenog statusa** (MNA) na zdravstveni i funkcionalni status ispitanika (**N. Smolej Narančić**),
- definiranje značajki koje doprinose razvoju **sindroma krhkosti** i s njime povezanoj **sarkopeniji** temeljem mjerenih varijabli (uključujući i antropometriju) (**H.M. Zeljko, N. Smolej Narančić**).
- definiranje seta varijabli koji formira tzv. **resilience kao ponašajni obrazac** ispitanika te ispitivanje njegovog utjecaja na ostale mjerene značajke (**J. Despot Lučanin, N. Smolej Narančić**),
- analize dobne i spolne strukture preživljenja i APC (Age, Period, Cohort) analize, odnosno modeliranje **specifičnosti određenih kohorti** (uzorak ispitanika koji su rođeni iste kalendarske godine) (**poslijedoktorand, doktorand**),

HECUBA - Očekivani učinak istraživanja

1. Očekuje se da istraživanje **doprinese suvremenim teorijama starenja** utvrđivanjem doprinosa odabranih „gena dugovječnosti“ i duljine telomera ciljnim fenotipovima (dugovječnost, DFS).

Ovo istraživanje bi moglo pružiti **potvrdu pleiotropnog učinka** na biološku dob čovjeka koji je za „**gene dugovječnosti**“ ustanovljen na životinjskim modelima jer će omogućiti testiranje njihovog učinka kako na proces starenja u cijelosti, tako i na pojedine komponente, uključujući i razvoj najčešćih degenerativnih bolesti.

HECUBA - Očekivani učinak istraživanja

2. Očekuje se da ovo sveobuhvatno antropološko istraživanje fenomena dugovječnosti doprinese spoznajama o važnosti utjecaja ne samo pojedinih bioloških odrednica, već i pojedinih **socioekonomskih, psiholoških i ponašajnih odlika na fenotip dugovječnosti**.

Očekujemo također nove spoznaje o **utjecaju osobne povijesti** te pojedinih čimbenika **kulture** (stavova, ponašanja, navika te prilagodbenih sposobnosti) **na dinamiku procesa starenja**.

HECUBA - Očekivani učinak istraživanja

3. Premda je riječ o temeljnom istraživanju, očekuje se da će njegovi rezultati biti osnova za **praktičnu primjenu** u različitim sferama **javnih politika**, primarno javnozdravstvene i gerontološke, ali i **u području socijalne politike, demografije, ekonomskih planiranja** i drugdje.

Posebno značajan doprinos za svakodnevnu gerontološku i gerijatrijsku praksu, ali i za planiranje socijalne skrbi i javnozdravstvenih politika imat će **informacije o trajanju funkcionalne nesposobnosti (potpune zavisnosti o tuđoj brizi i njezi) pa do smrti dugovječne osobe.**

HECUBA - Očekivani učinak istraživanja

4. Očekuje se će rezultati tematskih specifičnih analiza također biti dragocjeni širokom spektru profesionalaca koji se u **svakodnevnoj praksi** bave problemima iz područja **gerontologije, gerijatrije i javnog zdravstva**.

Specifičan praktični doprinos projekta imat će utvrđivanje učestalosti rizičnih varijanti **relevantnih ADME gena u hrvatskoj populaciji** osoba starijih od 85 g. koje mogu dovesti do štetnih djelovanja pri uzimanju pojedinih lijekova ili štetnih interakcija s drugim lijekovima, što je izrazit problem s obzirom na polipragmaziju prisutnu u ovoj dobnoj skupini.

HECUBA - Očekivani učinak istraživanja

5. Očekuje se i **diseminacija rezultata projekta općoj i stručnoj javnosti** putem prezentacija koje će provoditi projektni suradnici, ali i institucionalnim putem s obzirom na uključenost suradnika koji su zaposlenici institucija kao što su HZJZ, NZJZ AŠ, ali i drugih.

Na temelju rezultata ovog projekta planira se deset sudjelovanja na međunarodnim i domaćim skupovima te objava šest **znanstvenih publikacija** od kojih najmanje 3 u vrhunskim (Q1,Q2) časopisima.

ISTRAŽIVAČKI TIM

1) Tematska cjelina: ZDRAVLJE

Tanja Ćorić, liječnica, specijalistica epidemiologije

- organizacija prikupljanja informacija o početku funkcionalne nesposobnosti
- analiza mortalitetnih podataka kao i onih o uzroku smrti u uzorku osoba duboke starosti.
- evaluacija rezultata te diseminacija novih informacija stručnim službama i institucijama.

Hrvojka Marija Zeljko, liječnica, specijalistica interne medicine i kardiologije, s dodatnom edukacijom iz zdravstvene ekonomike (na London School of Economics and Political Sciences)

- evaluacija rezultata biostatističkih analiza vezanih uz zdravstveni set podataka, a posebno uz hematološke i biokemijske parametre kao i uz analizu mogućeg utjecaja učestalosti rizičnih varijanti ADME gena na svakodnevnu farmakoterapijsku praksu u ovoj dobnoj skupini.
- sudjelovanje u odabiru rezultata koji mogu imati primjenu u javnom zdravstvu i medicinskoj praksi.

Spomenka Tomek-Roksandić, liječnica, specijalistica socijalne medicine

- stručna pomoć u organizaciji prikupljanja informacija o početku funkcionalne nesposobnosti ispitanika u zagrebačkim domovima za starije i nemoćne osobe
- sudjelovanje u evaluaciji rezultata te u njihovoj prezentaciji javnosti.

Branko Kolarić, liječnik, specijalist epidemiologije, voditelj Službe za javnozdravstvenu gerontologiju NZJZ "Dr. Andrija Štampar,,

- konzultant koji će pomoći u evaluaciji rezultata te u diseminaciji novih informacija stručnim službama i institucijama (Ministarstvu zdravstva, javnozdravstvenim institucijama, stručnim službama pri domovima za starije i nemoćne osobe) kao i općoj javnosti.

ISTRAŽIVAČKI TIM

2) Tematska cjelina: BIOLOGIJA

Nina Smolej Narančić, biologinja

- provođenje biostatističkih analiza (uključujući definiranje setova nezavisnih varijabli
- sudjelovanje u odabiru polimorfizama "gena dugovječnosti" i ADME gena.

Luka Bočkor, biolog i kemičar

- uvođenje i validacija novog protokola za određivanje duljine telomera jer je riječ o analitičkom postupku koji još nije proveden na Institutu za antropologiju, a
- sudjelovanje u statističkim analizama i interpretaciji rezultata za genetičke podatke.

Ivica Rubelj, molekularni biolog, najveći hrvatski stručnjak za laboratorijske tehnike koje se provode u analizama duljine telomera (u modelnim organizmima i kod čovjeka) ali i osoba širokog teorijskog znanja o ulozi duljine telomera u procesu starenja.

- konzultant koji će pomoći kako u validaciji laboratorijskog protokola za određivanje duljine telomera tako i u interpretaciji dobivenih rezultata ove analize.

Poslijedoktorand, dr. sc. biologije

Doktorand, magistar biologije

- sudjelovanje u laboratorijskim i biostatističkim analizama (analize povezanosti biološkog seta varijabli s fenotipovima dugovječnosti i DFS, analize preživljenja, međugeneracijske i međupopulacijske usporedbe učestalosti alela).
- usavršavanje u području primjene različitih biostatističkih i bioinformatičkih metoda.
- prema mogućnosti, usavršavanje i potom uvođenje specifičnih analiza vremenskih serija (metodologije analize longitudinalnih podataka te analiza razlučivanja efekata dobi, godine mjerenja i kohorte, tzv. APC analiza).

ISTRAŽIVAČKI TIM

3) Tematska cjelina: KULTURA

Jasminka Despot Lučanin, psihologinja

- provedba kvantitativnih analiza kulturnog seta podataka
- analiza skala psihosocijalne i tjelesne funkcionalnosti, samoprocjenu kvalitete života i zdravlja.

Šime Smolić, makroekonomist, s posebnim interesom za problematiku demografskog starenja

- provođenje analiza socioekonomskog podseta kulturnog seta podataka.
- harmoniziranje analitičkih pristupa s onima koji se primjenjuju u okviru paneuropske SHARE studije zdravlja, starenja i umirovljenja (*Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe*) kao voditelj istraživačke skupine za Hrvatsku.

Ana Perinić Lewis, etnologinja i kulturna antropologinja

- provođenje kvalitativne analize kulturnog seta (uključujući odabir i unos izjava, posebno iz sfere životne povijesti ispitanika)
- provedba kvalitativnih i kvantitativnih analiza socioekonomskih, psiholoških i ponašajnih značajki osoba duboke starosti (zajedno s prof. Despot Lučanin i doc. Smolić) .

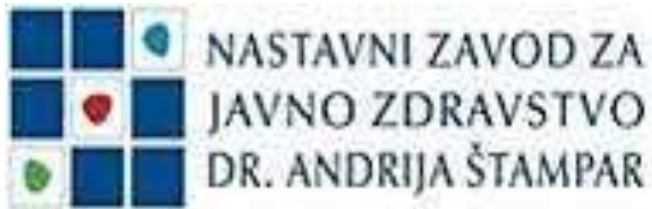
VODITELJICA PROJEKTA

Tatjana Škarić-Jurić, liječnica

- koordinacija svih projektnih zadataka, izvršavanje organizacijskih i administrativnih poslova te edukacija i vođenje karijere mladih znanstvenika (poslijedoktorand i doktorand)
- nadgledanje svih biostatističkih analiza, analize zdravstvenog seta podataka kao i objedinjene analize

HECUBA

Institut za antropologiju



Sveučilište u Zagrebu
Ekonomski fakultet



Sveučilište u Zagrebu
HRVATSKI STUDIJI



<http://hecuba.inantro.hr/>

HVALA NA PAŽNJI !