



SPOMIENKA NA LADZIANSKEHO V ČASE COVID-19

**Eliška Kubíková
Peter Weismann
Jana Jakimová**



**Anatomický ústav LF UK v Bratislave
Slovenská anatomická spoločnosť
Dekan LF UK v Bratislave**

UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
LEKÁRSKA FAKULTA

Eliška Kubíková
Peter Weismann
Jana Jakimová

SPOMIENKA NA LADZIANSKEHO
V ČASE COVID-19

2020
UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

© Vydavateľstvo: Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, 2020

Editori: doc. MUDr. Eliška Kubíková, PhD.
 doc. RNDr. Peter Weismann, PhD.
 MUDr. Bc. Jana Jakimová

Recenzenti: prof. RNDr. Ivan Varga, PhD. et PhD.
 prof. MUDr. Oto Masár, PhD

Vytlačilo Polygrafické stredisko UK

ISBN: 978-80-223-5081-5
EAN: 9788022350815

OBSAH

PREDSLOV	3
----------------	---

KAPITOLA I. ANATÓMIA A PEDAGOGIKA

Boleková A. 350. výročie úmrtia učiteľa národov	8
Breza A., Kubíková E. Bolesti tváře, neuralgia n. trigeminus.....	11
Haviarová Z., Kachlík D. Processus supracondylaris.....	15
Korim F., Kuricová M. Variabilita odstupu <i>aa. renales</i> psov	20
Maretta M., Leško N., Gdovinová Z. Význam hypoplázie vertebrálnej artérie na vznik ischemickej cievnej mozgovej príhody	25
Výbohová D., Adamicová K., Hešková G., Mellová Y. Morfometrické hodnotenie krvnej a lymfatickej mikrocirkulácie v léziách lichen ruber planus vo vzťahu k zápalovej infiltrácii a epidermálnej hyperplázii	29

KAPITOLA II. COVID-19

Paduchová Z. Probiotiká a COVID-19	36
Svoboda M., Gergely L., Klimová D., Repiská V., Gbelcová H., Priščáková P. Spôsobuje COVID-19 preklampiú?	42

KAPITOLA III. KARDIOLÓGIA

Horváthová M. Adipokíny a ich úloha v patogenéze aterosklerózy u diabetických pacientov	46
Laubertová L., Dvořáková M., Bališ P., Žitňanová I., Bernátová I. Vplyv akútneho stresu a nanočastíc SPIONs na antioxidačný status spontánne hypertenzných potkanov	50
Sedlák M., Žitňanová I. Omega-3 mastné kyseliny a kardiovaskulárne ochorenia	56
Zohdi V., Adameová A., Griecsova-Kindernay L., Lonek L., El Falougy H., Kubíková E., Ravingerová T. Ischémia myokardu a mechanizmy bunkovej smrti - minireview	61

KAPITOLA IV. ONKOLÓGIA

Dovalová D., Zohdi V., Kubíková E.

Karcinóm obličky a jeho chirurgická terapia - minireview67

Hutník J., Gbelcová H.

PH-dependentný účinok atorvastatínu na ľudské bunky melanómu72

Koňariková K., Olejníková P., Víglaš J., Gbelcová H., Žitňanová I.

Krátké peptidy fungálneho pôvodu ako nové bioaktívne látky78

Styk J., Klimová D., Saade R., Krasničanová L., Pös O., Szemes T., Repiská V.

Enteropatogénne Escherichia coli a kolorektálny karcinóm82

KAPITOLA V. UROLÓGIA

Novotná O., Zaťkuliaková S., Ďubjaková P., Polák M., Breza J., Bartoň P.

Epidemiológia, incidencia a diagnostika urolitiázy u detí89

Novotná O., Zaťkuliaková S., Ďubjaková P., Polák M., Breza J., Bartoň P.

Typy konkrementov močových ciest92

Novotná O., Polák M., Zaťkuliaková S., Ďubjaková P., Breza J., Bartoň P.

Manažment liečby urolitiázy 97

Novotná O., Zaťkuliaková S., Polák M., Ďubjaková P., Breza J., Bartoň P., Siváček M.

Akútne skrótum 101

KAPITOLA VI. VARIA

Andrežalová L., Lištiak M., Chrappová J., Rakovský E.

Interakcia DNA s Cu(II) komplexami obsahujúcimi 1,10 - fenantrolín 109

Bútorová B., Šimaljaková M., Weismann P., El Falougy H., Záborská M.

Autovakcíny v imunomodulačnej terapii vaginálnych infekcií 115

Dvořáková M., Rollerová E., Žitňanová I., Scsuková S.

Vplyv nanočastíc oxidu titaničitého na celkovú antioxidačnú kapacitu plazmy infantilných a dospelých samíc potkanov 120

Gajdošová L., Muchová J.

Zmeny lipidového profilu u pacientov s alkoholovým ochorením pečene 125

Jakuš V.

Význam pokročilých produktov glykácie a ich receptoru RAGE pri viacerých ochoreniach 130

Janubová M., Žitňanová I.

Vplyv γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na senescentné ľudské fibroblasty 136

Koňariková K., Chomová M., Janubová M., Muchová J., Ďuračková Z., Žitňanová I. Neuroprotektívne účinky vitamínu D.....	142
Pös O., Styk J., Szemes T. Črevný mikrobióm ovplyvňuje závažnosť Alzheimerovej choroby	146
Tóth Š., Urda M., Kalpakidis T., Pribula M., Kušnier M., Mareta M., Mechírová E. Vplyv betanínu na imunoreaktivitu katalázy v cytoplazme hepatocytov pri ischemicko- reperfúznom poškodení jejúna	151
Žitňanová I., Paduchová Z., Katrenčíková B., Koňariková K., Janubová M., Klobučníková K., Šiarnik P., Hlucháňová A., Kollár B. Poruchy metabolismu lipidov u pacientov so syndrómom spánkového apnoe	155

VPLYV γ -TOKOTRIENOLU A δ -TOKOTRIENOLU NA SENESCENTNÉ ĽUDSKÉ FIBROBLASTY

(Effect of γ -tocotrienol and δ -tocotrienol on senescent human fibroblasts)

Janubová Mária, Žitňanová Ingrid

Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave maria.janubova@fmed.uniba.sk

Súhrn

Bunková senescencia je ireverzibilné zastavenie bunkového cyklu sprevádzané zmenami v bunkovej morfológii a fyziológii. Nárast senescentných a teda nesprávne fungujúcich buniek v tkanivách a orgánoch vedie k postupnému zhoršovaniu ich funkcií. Je preto dôležité hľadať spôsoby ako senescentné bunky z organizmu eliminovať alebo zabrániť ich tvorbe. Tokotrienoly sú bioaktívne látky s rôznymi pozitívnymi biologickými účinkami. V našej práci sme sa zamerali na sledovanie účinku γ - a δ -tokotrienolu na senescentné ľudské pľúcne fibroblasty. Naše experimenty ukázali, že γ - a rovnako aj δ -tokotrienol znižuje viabilitu senescentných buniek a zároveň aj viabilitu/proliferáciu nesenescenčných buniek, ktoré prekonali stresové podmienky.

Kľúčové slová

γ -tokotrienol, δ -tokotrienol, bunková senescencia, MRC-5 ľudské pľúcne fibroblasty

Summary

Cell senescence is an irreversible cell cycle arrest accompanied by changes in cell morphology and physiology. The growth of senescent and thus malfunctioning cells in tissues and organs contributes to a gradual deterioration of their functions. It is therefore important to find out ways that eliminate senescent cells from the body or prevent the formation of senescent cells in the body. Tocotrienols are bioactive compounds with various positive biological effects. In our work, we focused on monitoring the effect of γ - and δ -tocotrienol on senescent human lung fibroblasts. Our experiments have shown that γ - as well as δ -tocotrienol reduces the viability of senescent cells as well as the viability/proliferation of non-senescent cells that overcame stress conditions.

Keywords

γ -tocotrienol, δ -tocotrienol, cell senescence, MRC-5 human lung fibroblasts

Úvod

Bunková senescencia je definovaná ako ireverzibilné zastavenie bunkového cyklu sprevádzané zmenami v bunkovej morfológii a fyziológii (1). Senescencia môže byť odpoveďou bunky na skracovanie telomér alebo rôzne formy stresu (DNA poškodenie, oxidačný stres ai.) (2-4).

Medzi najčastejšie znaky senescentných buniek patrí ich zväčšený a menej pravidelný tvar, zväčšené jadro, produkcia zvýšeného množstva reaktívnych foriem kyslíka a zvýšená aktivita lyzozomálnej β -galaktozidázy pri pH 6, ktorá je známa ako β -galaktozidáza asociovaná so senescenciou (SA- β -galaktozidáza) (1, 5, 6).

V senescentných bunkách ďalej dochádza k zvýšeniu expresie proteínov inhibujúcich progresiu bunkového cyklu ako je p21 a p16 (1).

Senescentné bunky boli detegované *in vitro* a aj *in vivo* (7). Navyše bolo zistené, že so zvyšujúcim sa vekom jedinca stúpa množstvo senescentných buniek v organizme (1). Zároveň bola prítomnosť senescentných buniek dokázaná aj v tkanivách a orgánoch postihnutých ochoreniami asociovanými so starnutím (8-10). Nárast senescentných a teda nefunkčných buniek v tkanivách a orgánoch vedie k postupnému zhoršovaniu ich funkcií (11). Tokotrienoly sú podskupinou vitamínu E. Podľa ich štruktúry sa rozdeľujú na α -, β -, γ - a δ -tokotrienoly. Tokotrienoly na rozdiel od tokoferolov nájdeme v semenách väčšiny jednoklíčnolistových rastlín (12). Bolo zistené, že tokotrienoly môžu vplývať aj na bunkovú senescenciu, konkrétne dokázali potlačiť rozvoj replikatívnej senescencie ľudských dermálnych fibroblastov a myoblastov (13, 14). Vplyv tokotrienolov na stresom indukovanú senescenciu nebol doteraz preskúmaný. V našej práci sme sa zamerali na sledovanie účinku γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na senescentné ľudské fibroblasty, v ktorých bola senescencia indukovaná pôsobením stresora peroxidu vodíka alebo etopozidu. γ - a δ -tokotrienol sme zvolili kvôli ich lepšej biodostupnosti u ľudí v porovnaní s aplikáciou všetkých tokotrienolov naraz (15).

Materiál a metódy

Kultivácia bunkovej línie MRC-5

Bunkovú líniu MRC-5 (ľudské pľúcne fetálne fibroblasty) sme kultivovali v MEM médiu, ktoré obsahovalo L-glutamín, neesenciálne aminokyseliny a 10% fetálne teľacie sérum. Bunky sme pasážovali 1x týždenne pomocou 0,25% trypsín-EDTA roztoku.

Indukcia senescencie v bunkách

Bunky sme nasadili na kultivačné platne a po 24 hodinovej kultivácii pri 37°C a 5% CO₂ sme k nim pridali 100 μ M peroxid vodíka na 0,5 hodinu alebo 80 μ M etopozid (VP16) na 1 hodinu. Po uplynutí uvedenej doby sme bunkám vymenili médium a kultivovali ich v termostate pri 37°C a 5% CO₂ do 5. dňa od nasadenia buniek, kedy sme uskutočnili experimentálne analýzy.

Sledovanie viability/proliferácie zdravých buniek

Vplyv γ - a δ -tokotrienolu na viabilitu/proliferáciu zdravých buniek sme sledovali pomocou metyltiazol tetrazoliového (MTT) testu. Bunky sme vysievali na 96-jamkové platničky v množstve 10 000 buniek/cm². Po 24 hodinovej kultivácii pri 37°C a 6% CO₂ sme k bunkám pridali γ -tokotrienol v koncentrácii 5, 10, 25, 40 a 50 μ M na 24 hodín alebo δ -tokotrienol v koncentrácii 5, 10, 15 a 25 μ M na 24 hodín. Po 24 hodinách sme bunkám vymenili médium za čerstvé. MTT test sme uskutočnili po uplynutí 3 dní od výmeny média. K bunkám sme pridali 20 μ l MTT roztoku (5 mg/ml v 1 x PBS) do každej jamky a inkubovali sme 4 hodiny pri 37°C a 6% CO₂. Po skončení inkubácie sme odsali médium a do každej jamky sme pridali 200 μ l DMSO a platničku sme na 5 minút umiestnili na trepačku. Absorbanciu sme merali pomocou mikropatničkového spektrofotometra pri 490 nm.

Sledovanie vplyvu γ - a δ -tokotrienolu na viabilitu/proliferáciu senescentných buniek

Vplyv γ - a δ -tokotrienolu na viabilitu/proliferáciu senescentných buniek sme sledovali pomocou metyltiazol tetrazoliového (MTT) testu. Bunky sme vysievali na 96-jamkové platničky v množstve 10 000 buniek/cm². Po 4 dňoch od indukcie senescencie sme k bunkám pridali 25 μ M γ -tokotrienol na 24 hodín alebo 10 μ M δ -tokotrienol na 24 hodín. Po 24 hodinách od pridania tokotrienolov k bunkám sme uskutočnili MTT test. K bunkám sme pridali 20 μ l MTT roztoku (5 mg/ml v 1 x PBS) do každej jamky a inkubovali sme 4 hodiny pri 37°C a 6% CO₂. Po skončení inkubácie sme odsali médium a do každej jamky sme pridali 200 μ l DMSO a platničku sme na 5 minút umiestnili na trepačku. Absorbanciu sme merali pomocou mikropatničkového spektrofotometra pri 490 nm.

Sledovanie vplyvu γ - a δ -tokotrienolu na aktivitu SA- β -galaktozidázy v senescentných bunkách
Na 24-jamkovú platničku sme vysievali buď 5 000 buniek/cm² (kontrolné bunky) alebo 38 000 buniek/cm² (bunky, v ktorých bola indukovaná senescencia).

Po 4 dňoch od indukcie senescencie sme k bunkám pridali 25 μ M γ -tokotrienol na 24 hodín alebo 10 μ M δ -tokotrienol na 24 hodín. Po 24 hodinách od pridania tokotrienolov k bunkám sme uskutočnili analýzu aktivity SA- β -galaktozidázy pomocou komerčného kitu *Senescence Cells Histochemical Staining Kit (Sigma-Aldrich)*, podľa návodu.

Bunky sme farbili cez noc a na druhý deň sme farbiacu zmes nahradili roztokom 70% glycerolu, aby sme mohli farbené bunky dlhšie skladovať. Na 1 jamku na 24-jamkovej platničke sme použili 200 μ l 70% glycerolu. Farbené bunky zaliate glycerolom sme skladovali pri 4-6 °C. Bunky sme pozorovali inverzným mikroskopom *Microskop inverzal MBL 3200- KRUSS*, Nemecko. Bunky sme odfotoografovali fotoaparátom *Olympus C-5060, Olympus*, Anglicko pri mikroskopickom zväčšení 100x a následne vypočítali množstvo senescentných buniek. Množstvo senescentných buniek sme stanovili na základe počítania buniek v 15 obrázkoch z troch rôznych experimentov.

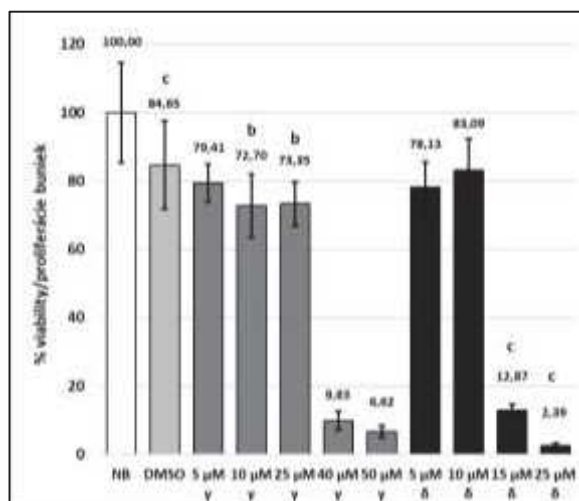
Štatistické vyhodnotenie výsledkov

Štatistická analýza bola uskutočnená pomocou jednosmernej *ANOVY* s *Bonferroniho* korekciou. Hodnota $p < 0,05$ bola považovaná za štatisticky významnú.

Výsledky

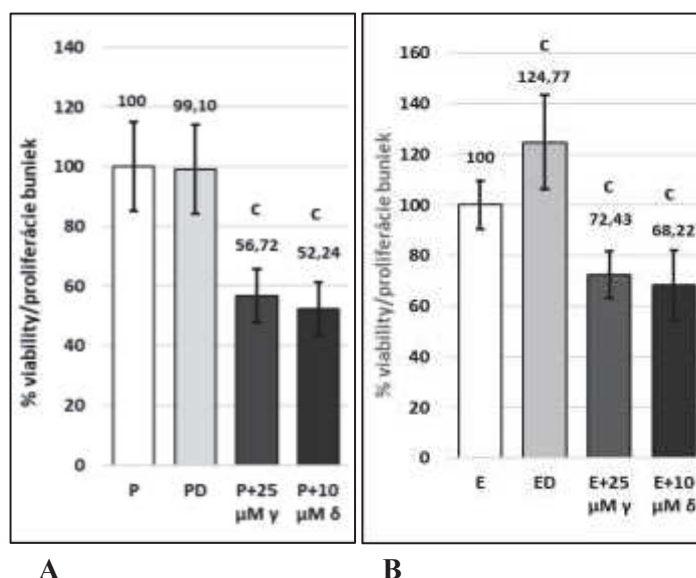
Vplyv γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na viabilitu/proliferáciu zdravých buniek

MRC-5 ľudské pľúcne fibroblasty, v ktorých nebola indukovaná senescencia boli inkubované s γ -tokotrienolom (5, 10, 25, 40 a 50 μ M/24 hod) alebo δ -tokotrienolom (5, 10, 15 a 25 μ M/24 hod), aby sme detegovali vplyv týchto tokotrienolov na viabilitu/ proliferáciu zdravých buniek. Ovplyvnenie buniek so 40 alebo 50 μ M γ -tokotrienolom viedlo k výraznému poklesu viability/ proliferácie buniek (na $9,83 \pm 2,76\%$ a $6,62 \pm 1,84\%$) (Obr. 1). Podobne, ovplyvnenie buniek s 15 alebo 25 μ M δ -tokotrienolom bolo sprevádzané výrazným poklesom viability/ proliferácie buniek (na $12,87 \pm 1,84\%$ a $2,39 \pm 0,83\%$) (Obr. 1). Na základe uvedených zistení sme sa rozhodli pre ďalšie experimenty použiť γ -tokotrienol v koncentrácii 25 μ M a δ -tokotrienol v koncentrácii 10 μ M.



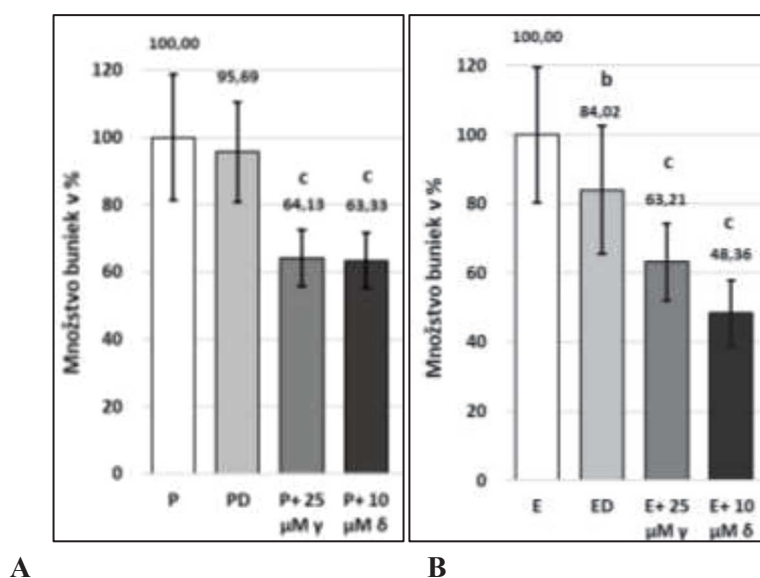
Obr. 1 Detekcia viability/proliferácie buniek po ovplyvnení γ - tokotrienolom a δ -tokotrienolom
 NB – normálne bunky neovplyvnené tokotrienolmi; DMSO – bunky ovplyvnené 1000x riedeným DMSO/24 hod; Výsledky sú priemer $\pm$ SD 3 nezávislých experimentov, každý experiment bol robený v 4-6 jamkách; jednosmerná ANOVA s *Bonferroniho* korekciou; NB vs. DMSO; DMSO vs. γ ; DMSO vs. δ ; **b** - $p < 0.01$; **c** - $p < 0.001$

Vplyv γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na viability/proliferáciu populácie buniek s prevahou senescentných buniek - V našej práci sme ďalej sledovali účinok γ - alebo δ -tokotrienolu na populáciu buniek s prevahou senescentných buniek. V tomto type experimentu sme k bunkám na 4. deň po indukcii senescencie pridali 25 μ M γ -tokotrienol alebo 10 μ M δ -tokotrienol na 24 hodín. Ovplyvnenie buniek oboma tokotrienolmi malo za následok silný pokles viability/ proliferácie buniek pri peroxidom indukovanej senescencii ($56,72 \pm 8,92\%$ a $52,24 \pm 8,9\%$) (Obr. 2A) a aj pri etopozidom indukovanej senescencii ($72,43 \pm 9,35\%$ a $68,22 \pm 14,02\%$) (Obr. 2B).



Obr. 2 Vplyv γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na viability/proliferáciu senescentných buniek
 A - peroxidom indukovaná senescencia B - etopozidom indukovaná senescencia P – bunky ovplyvnené 100 μ M peroxidom vodíka/0,5 hod; E - bunky ovplyvnené 80 μ M etopozidom/1 hod; PD/ED – bunky ovplyvnené 2000x riedeným DMSO/24h; Výsledky sú priemer $\pm$ SD 3 nezávislých experimentov, každý experiment bol robený v 4-6 jamkách; jednosmerná ANOVA s *Bonferroniho* korekciou; P vs. PD; PD vs. P γ ; PD vs. P δ ; E vs. ED; ED vs. E γ ; ED vs. E δ ; **c** - $p < 0.001$

Vplyv γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na aktivitu SA- β -galaktozidázy v populácii buniek s prevahou senescentných buniek - Cieľom bolo stanoviť aktivitu SA- β -galaktozidázy, v populácii buniek s prevahou senescentných buniek, ktoré sme ovplyvnili 25 μ M γ -tokotrienolom/24 hodín alebo 10 μ M δ -tokotrienolom/24 hodín. SA- β -galaktozidáza je lyzozomálna β -galaktozidáza, ktorá je aktívna v senescentných bunkách pri pH 6. Aktivita SA- β -galaktozidázy pri pH 6 je v senescentných bunkách zvýšená a slúži ako marker pri určovaní senescencie buniek. Senescentné bunky sa pri tomto experimente sfarbia do modra. Po ovplyvnení buniek s 25 μ M γ -tokotrienolom alebo 10 μ M δ -tokotrienolom klesalo celkové množstvo buniek (Obr. 3A, 3B), čo koreluje s výsledkami, ktoré sme získali MTT testom. Percento senescentných buniek sa však po ovplyvnení buniek γ - alebo δ -tokotrienolom významne nemenilo v porovnaní s percentom senescentných buniek v kontrole neovplyvnenej tokotrienolmi. (Tab. 1; Obr. 3C a Obr. 3D).



Obr. 3 Vplyv γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na aktivitu SA- β -galaktozidázy v senescentných bunkách A - peroxidom indukovaná senescencia B- etopozidom indukovaná senescencia P – bunky ovplyvnené 100 μ M peroxidom vodíka/0,5 hod; E - bunky ovplyvnené 80 μ M etopozidom/1 hod; PD/ED – bunky ovplyvnené 2000x riedeným DMSO/24h; Výsledky sú priemer $\pm$ SD 3 nezávislých experimentov, každý experiment zahŕňa 5 obrázkov; jednosmerná ANOVA s Bonferroniho korekciou; P vs. PD; PD vs. P γ ; PD vs. P δ ; E vs. ED; ED vs. E γ ; ED vs. E δ ; b - p < 0.01 c - p < 0.001;

Ovplyvnenie buniek	Senescentné bunky % $\pm$ SD	Signifikancia
100 μ M Peroxid vodíka /0,5 hod	94.26 $\pm$ 3.06	
100 μ M Peroxid vodíka/0,5 hod+DMSO 2000x/24 hod	93.84 $\pm$ 2.96	n
100 μ M Peroxid vodíka /0,5 hod+25 μ M γ - tokotrienol/24 hod	95.40 $\pm$ 1.87	n
100 μ M Peroxid vodíka/0,5 hod+10 μ M δ - tokotrienol/24 hod	92.84 $\pm$ 3.86	n
80 μ M Etopozid /1 hod	94.59 $\pm$ 2.44	
80 μ M Etopozid /1 hod+DMSO 2000x/24 hod	93.71 $\pm$ 3.27	n
80 μ M Etopozid /1 hod+25 μ M γ - tokotrienol/24 hod	96.66 $\pm$ 1.6	**
80 μ M Etopozid /1 hod+10 μ M δ - tokotrienol/ 24 hod	92.76 $\pm$ 3.28	n

Tab. 1 Vplyv γ -tokotrienolu a δ -tokotrienolu na aktivitu SA- β -galaktozidázy v senescentných bunkách Výsledky sú priemer $\pm$ SD 3 nezávislých experimentov, každý experiment zahŕňa 5 obrázkov; Jednosmerná ANOVA s Bonferroniho korekciou; Peroxid vodíka vs. Peroxid vodíka+DMSO; Peroxid vodíka+DMSO vs. Peroxid vodíka+ γ -tokotrienol; Peroxid vodíka+DMSO vs. Peroxid vodíka+ δ -tokotrienol; Etopozid vs. Etopozid+DMSO; Etopozid+DMSO vs. Etopozid+ δ -tokotrienol; n – nesignifikantné; ** - p < 0.01

Diskusia

Naše experimenty ukázali, že γ - a aj δ -tokotrienol dokáže redukovať viabilitu/proliferáciu buniek v populácii s prevahou senescentných buniek, zatiaľčo ani jeden z nich nespôsobuje výrazný pokles viability/proliferácie zdravých buniek. Je známe, že α -tokoferol pôsobí aj ako prooxidant cez α -tokoferylový radikál (16). Je preto možné, že podobne pôsobia aj tokotrienoly. Sprievodným javom senescencie je tvorba reaktívnych foriem kyslíka, ktorých negatívny vplyv na bunku by mohol byť v prítomnosti tokotrienolov zvýšený. Sledovanie aktivity SA- β -galaktozidázy v senescentných bunkách po pridaní γ - a δ -tokotrienolu nám odhalilo, že množstvo senescentných buniek po pridaní γ - a δ -tokotrienolu sa výrazne nemenilo v porovnaní s kontrolou neovplyvnenou tokotrienolmi, čo poukazuje na to, že γ - a ani δ -tokotrienol pravdepodobne nepôsobia selektívne voči senescentným bunkám. Iné štúdie však prišli k záverom, že tokotrienoly dokážu zlepšiť rast senescentných ľudských dermálnych fibroblastov a myoblastov (13, 14). Uvedené štúdie sa však zaoberali vplyvom tokotrienolov na bunky, ktoré sa do stavu senescencie dostali v dôsledku replikatívnej senescencie. Navyše, bunky boli ovplyvňované zmesou tokotrienolov, nie tokotrienolmi jednotlivo (13, 14).

Záver

Z našich experimentov vyplýva, že γ - a aj δ -tokotrienol znižuje viabilitu senescentných buniek a zároveň aj viabilitu/proliferáciu nesenescenčných buniek, ktoré prekonal stresové podmienky.

PodĎakovanie

Práca je podporená z grantu EU, z programu CBC, Interreg V-A-NutriAging V-0014.

Literatúra

1. **Campisi J, d'Adda di Fagagna F.** Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007; 8 (9): 729–740.
2. **Harley CB, et al.** Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345:458–460.
3. **Chen QM, Bartholomew JC, et al.** analysis of H₂O₂-induced senescent-like growth arrest in normal human fibroblasts: p53 and Rb control G1 arrest but not cell replication. *Biochem. J* 1998; 332: 43–50.
4. **DiLeonardo A, Linke SP, et al.** DNA damage triggers a prolonged p53- dependent G1 arrest and long-term induction of Cip1 in normal human fibroblasts. *Genes Dev.* 1994; 8: 2540–2551.
5. **Passos JF, Nelson G, Wang C, et al.** Feedback between p21 and reactive oxygen production is necessary for cell senescence. *Mol. Syst. Biol.* 2010; 6: 1–14.
6. **Dimri GP, Lee X, Basile G, et al.** A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92: 9363–7.
7. **van Deursen JM.** The role of senescent cells in ageing, *Nature* 2014; 509: 439–446.
8. **Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, et al.** Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation* 2002; 105: 1541–1544.
9. **Price JS, Waters JG, et al.** role of chondrocyte senescence in osteoarthritis. *Aging Cell* 2002; 1: 57–65.
10. **Bhat R, Crowe EP, Bitto A, et al.** Astrocyte senescence as a component of Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2012; DOI: 10.1371/journal.pone.0045069.
11. **Jeyapalan, JC, et al.** Cellular senescence and organismal aging. *Mech. Ageing* 2008; 129: 467–474.
12. **Sen CK, Khanna S, et al.** Tocotrienols: Vitamin E Beyond Tocopherols. *Life Sci.* 2006; 78: 2088–2098.
13. **Khor SC, et al.** The Tocotrienol-Rich Fraction Is Superior to Tocopherol in Promoting Myogenic Differentiation. *PLoS One* 2016; DOI: 10.1371/journal.pone.0149265.
14. **Makpol S, et al.** Tocotrienol-Rich Fraction Prevents Cell Cycle Arrest and Elongates Telomere Length in Senescent Human Diploid Fibroblasts. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011; DOI: /2011/506171
15. **Meganathan P, et al.** A new formulation of γ , δ tocotrienol has superior bioavailability compared to existing tocotrienol rich fraction in healthy human subjects. *Scient. Rep.* 2015; DOI: 10.1038/srep13550.
16. **Bowry VW, Mohr D, Cleary J, Stocker R.** Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 (11): 5756–5763.