



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ»

ΚΑΡΑΪΣΚΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ-ΑΝΝΗ

ΙΑΤΡΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ασπασία Τσέζου(επιβλέπουσα)

Τραχανά Βαρβάρα(συνεπιβλέπουσα)

Τζέτη Μαρία(μέλος τριμελούς επιτροπής)

ΛΑΡΙΣΑ,2016



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

«GENETICS AND EPIGENETICS AND AGING SKIN»

Δομή διπλωματικής εργασίας:

ΕΞΩΦΥΛΛΟ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ABSTRACT

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γήρανση του δέρματος είναι μια προοδευτική διαδικασία στην οποία συμβάλλουν τόσο περιβαλλοντικοί παράγοντες όσο και εσωτερικοί(γενετικοί και επιγενετικοί). Αυτή απασχολεί τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερο το δυτικό κόσμο καθώς γίνεται προσπάθεια σε ερευνητικό επίπεδο να γίνουν κατανοητοί οι μηχανισμοί πρόκλησης της καθώς και παράγοντες που την επιταχύνουν η που μπορούν να την αναστείλουν. Η επαγωγή της γήρανσης του δέρματος είναι δύσκολο να αποσαφηνιστεί πλήρως διότι σ αυτήν συμμετέχουν τόσο εξωτερικοί παράγοντες όπως η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία, το κάπνισμα, ο τρόπος ζωής(εξωτερική γήρανση) όσο και γενετικοί παράγοντες προκαθορισμένοι (εσωτερική γήρανση). Οι δυο τύποι γήρανσης συνυπάρχουν και δεν γίνεται να απομονωθεί ο ένας από τον άλλο. Επομένως δεν μπορούμε να ξεκαθαρίσουμε εάν η γήρανση οφείλεται μόνο στον ένα ή κ στους δυο τύπους γήρανσης. Τα τελευταία χρόνια έχουμε καταφέρει να διαπιστώσουμε με ποιους μηχανισμούς προκαλείται η εξωτερική γήρανση και έχουμε αρκετές ενδείξεις για τον τρόπο πρόκλησης της εσωτερικής γήρανσης. Οι εξελίξεις στη γενωμική τεχνολογία και στη μοριακή βιολογία έχουν επιταχύνει την ταυτοποίηση αρκετών γενετικών τόπων που συμβάλλουν στην εμφάνιση ποικίλων χαρακτηριστικών της γήρανσης του δέρματος. Η κατανόηση των μοριακών και γενετικών ερεισμάτων των υπομονάδων των ατόμων με γήρανση του δέρματος θα βοηθήσει στην πρόληψη και ενδεχομένως στην αποτροπή αυτής. Η ανάλυση του γενετικού υπόβαθρου από γηρασμένο ιστό δέρματος έχει φέρει στην επιφάνεια την ανακάλυψη μονοπατιών τα οποία σχετίζονται με τη γήρανση. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών οι μελέτες ανάλυσης ολοκλήρου του γονιδιώματος (Genome Wide Association Studies) μας έχει δώσει τη δυνατότητα να ελέγξουμε ολόκληρο το γονιδίωμα και έχουν ανακαλυφθεί πολλοί πολυμορφισμοί που συμβάλλουν στην εξέλιξη της γήρανσης. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν μια πολυδιάστατη εμπλοκή πολλών επιγενετικών αλλαγών στη ρύθμιση της γενετικής έκφρασης όπως της μεθυλίωσης του DNA και της τροποποίησης των ιστονών της χρωματίνης καθώς και άλλων μικρών μορίων RNA (miRNA). Ολοένα και περισσότερο ενδιαφέρον εκδηλώνεται στην προσπάθεια ανάπτυξης θεραπειών που στοχεύουν στην ανάπτυξη αντιοξειδωτικών μηχανισμών άμυνας του οργανισμού και στην πρόληψη της γήρανσης.

ABSTRACT

Skin aging is highly complex but not yet fully understood process. It is particularly interesting because of the continuously increasing life expectancy in many countries. Several theories have been developed to comprehend this progressive process. Up to now, no integrative concept exists connecting the ageing models evolved so far. The skin aging process is difficult to become understood because skin is exposed to both environmental factors, such as UV radiation, smoking etc., and genetic and epigenetic parameters. During the last years, Genome Wide Association Studies has enabled us to uncover polymorphisms to the whole genome. Recent studies have revealed a complex involvement of epigenetic mechanisms in the regulation of gene expression including methylation DNA, chromatin modification and remodeling and the diverse activities of small RNAs (miRNAs). Also, clinical trials and experimental procedures are being conducted so as antioxidant mechanisms to be discovered against skin aging with aim to prevent it.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή

- 1.1 το δέρμα
- 1.2 η επιδερμίδα: βασική στιβάδα, ακανθωτή στιβάδα, κοκκιώδης στιβάδα, διαυγής στιβάδα, κερατίνη στιβάδα

2. γήρανση του δέρματος

- 2.1. εσωτερική γήρανση
- 2.2. εξωτερική γήρανση
- 2.3. μηχανισμός εσωτερικής γήρανσης
- 2.4. μηχανισμός εξωτερικής γήρανσης
- 2.5. παράγοντες κινδύνου εσωτερικής γήρανσης
- 2.6. παράγοντες κινδύνου εξωτερικής γήρανσης

3. Γενετική στη γήρανση του δέρματος

Κλινικές δοκιμές

- 3.1. γενετική στη γήρανση του δέρματος-σηματοδοτικά μονοπάτια

4. Επιγενετική στη γήρανση του δέρματος

- 4.1.Μεθυλίωση DNA και τροποποίηση ιστονών
- 4.2. miRNAs και γήρανση του δέρματος

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα εργασία αποτελεί βιβλιογραφική μελέτη όσον αφορά τη γενετική και την επιγενετική στη γήρανση του δέρματος. Στόχο έχει να καταδείξει τους πιθανούς μηχανισμούς που συμβάλλουν στη γήρανση του δέρματος. Η γήρανση του δέρματος είναι μια διαδικασία πολυπαραγοντική η οποία προκαλείται από ποικίλους παράγοντες και είναι το αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης δυο διαδικασιών, της ‘‘εσωτερικής’’ και της ‘‘εξωτερικής’’ γήρανσης. Η ‘‘εσωτερική’’ γήρανση είναι μια διαδικασία γενετικά προκαθορισμένη και ανεπαίσθητα αργή όσον αφορά στην εξέλιξή της. Ξεκινά από τη δεύτερη δεκαετία της ζωής και κορυφώνεται πολλά χρόνια αργότερα. Ωστόσο, η στρατηγική θέση του δέρματος στην επιφάνεια του ανθρωπίνου σώματος καθιστά δύσκολη την απομόνωση της ‘‘εσωτερικής’’ από την ‘‘εξωτερική’’ γήρανση. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ο ένας τύπος γήρανσης να αλληλεπιδρά με τον άλλο και να την επιταχύνει. Ως κύριος αιτιολογικός παράγων της εσωτερικής γήρανσης θεωρείται το οξειδωτικό στρες ενώ ως κύριος αιτιολογικός παράγων της φωτογήρανσης θεωρείται η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία η οποία δρα συσσωρευτικά.

Η ανάπτυξη γενωμικών μεθόδων και οι εξελίξεις στη μοριακή βιολογία και τη γενετική μας έχουν προσφέρει τη δυνατότητα τα τελευταία χρόνια να προβούμε σε αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος με τη μέθοδο GWAS και να μπορέσουμε να ανιχνεύσουμε πολυμορφισμούς σε γονίδια που έχουν σχετιστεί με χαρακτηριστικά της γήρανσης. Τα αποτελέσματα που έχουμε όσον αφορά τη γήρανση έχουν προκύψει κατά κύριο λόγο από κλινικές δοκιμές. Αυτό σημαίνει ότι θα πρέπει να μελετηθούν σε ακόμη μεγαλύτερη κλίμακα για να τεκμηριωθούν και να μπορέσουμε να τα ανάγουμε στο γενικό πληθυσμό. Από τα τις διαθέσιμες κλινικές μελέτες που υπάρχουν το γονίδιο που έχει μεγαλύτερη συσχέτιση με τη γήρανση είναι αυτό του υποδοχέα της μελανοκορτίνης 1 (MC1R). Εκτός από αυτό δεδομένα υπάρχουν και για το γονίδιο STXBP5L. Παράλληλα, οι μέθοδοι αυτές μας έχουν δώσει τη δυνατότητα να ανακαλύψουμε δεδομένα για σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία έχουν συσχετιστεί με φαινοτύπους γήρανσης. Εκτός όμως από τους γενετικούς παράγοντες καθοριστικό ρόλο στο φαινότυπο της γήρανσης φαίνεται να έχουν και οι επιγενετικές αλλαγές. Μελέτες για τις αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA και την τροποποίηση των ιστονών κατέδειξαν ότι το προφίλ μεθυλίωσης γονιδίων που εκφράζονται στην επιδερμίδα αλλάζει με την πρόοδο της ηλικίας. Υπερμεθυλίωση παρατηρείται κατά κύριο λόγο στα περισσότερα από αυτά. Παράλληλα η επίδραση της UV ακτινοβολίας προκαλεί αλλαγές στην τροποποίηση των ιστονών με την έκφραση πρωτεϊνών που τις αποδιοργανώνουν.

Παρακάτω αναλύονται τα χαρακτηριστικά των στιβάδων του δέρματος, οι μηχανισμοί που συμβάλλουν στην εσωτερική και την εξωτερική γήρανση καθώς και γενετικά και επιγενετικά δεδομένα από κλινικές μελέτες που έχουν συσχετιστεί με αυτή.

1.1 Το δέρμα

Το δέρμα είναι το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος, σε βάρος και έκταση, και αντιπροσωπεύει το 16% περίπου του συνολικού βάρους αυτού και στους ενήλικες αποτελεί μια επιφάνεια 1,2-2,3 τετραγωνικών μέτρων προς το εξωτερικό περιβάλλον. Λόγω αυτής της τελειότητας, και της εξελικτικής του προσαρμογής στη ζωή σε ένα περιβάλλον εκτεθειμένο στην υπεριώδη ακτινοβολία, η προσβολή του δέρματος κατέχει την τέταρτη θέση στις κυρίαρχες αίτιες που ενέχεται στις μη θανατηφόρες ασθένειες. Αυτή η επιβάρυνση φαίνεται να γίνεται όλο και μεγαλύτερη καθώς επιβαρύνουμε τον τρόπο ζωής μας με λιγότερες δραστηριότητες, κατανάλωση ζάχαρης, κάπνισμα, αλκοόλ κλπ.

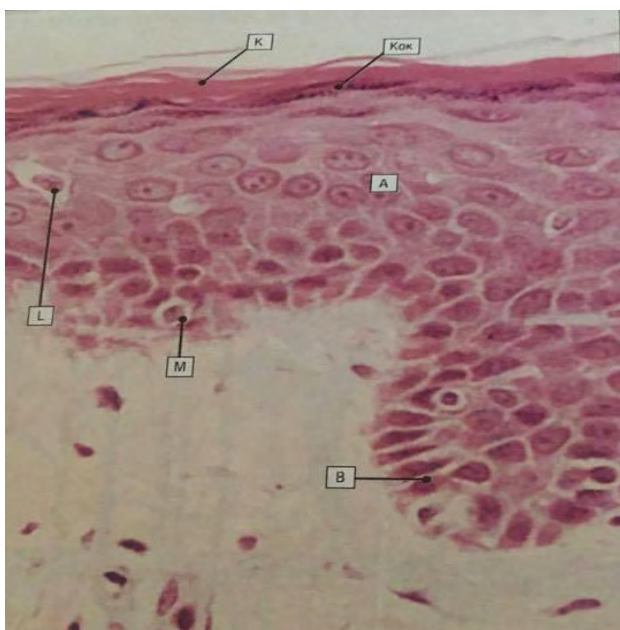
Αποτελείται από την επιδερμίδα, μια επιθηλιακή στιβάδα εξωδερμικής προέλευσης και τη δερμίδα ή χόριο, μια στιβάδα συνδετικού ιστού μεσοδερμικής προέλευσης. Με βάση το σχετικό πάχος της επιδερμίδας το δέρμα διακρίνεται σε παχύ και λεπτό. Η συμβολή της επιδερμίδας και του χορίου είναι ακανόνιστη με προσεκβολές του χορίου που αποκαλούνται θηλές και συνδυάζονται με καταδύσεις της ακρολοφίας που είναι γνωστές ως επιδερμίδες ακρολοφίες. Στα εξαρτήματα της επιδερμίδας περιλαμβάνονται οι τρίχες, οι όνυχες και οι αδένες, σμηγματογόνοι και ιδρωτοποιοί. Κάτω από τη δερμίδα ή χόριο βρίσκεται η υποδερμίδα ή υποδόριος ιστός, ένας χαλαρός συνδετικός ιστός που μπορεί να περιέχει ένα στρώμα λιπώδους ιστού, τη στιβάδα του υποδόριου λίπους. Ο υποδόριος ιστός που δεν θεωρείται μέρος του δέρματος συνδέει το δέρμα με τους υποκείμενους ιστούς και αντιστοιχεί στην επιπολής περιτονία της μακροσκοπικής ανατομίας.

Λειτουργεί ως αισθητήριο όργανο που βρίσκεται σε συνεχή επικοινωνία με το περιβάλλον και προστατεύει τον οργανισμό από κακώσεις λόγω εφαρμογής δυνάμεων τριβής και πίεσης. Λειτουργεί δηλαδή σαν ένας περιφερειακός αισθητήρας του σώματος, σαν ένας πραγματικός <<εξωτερικός εγκέφαλος>>. Η μελανίνη, μια χρωστική που παράγεται και αποθηκεύεται στα κύτταρα της επιδερμίδας παρέχει περαιτέρω προστασία απέναντι στις υπεριώδεις ακτίνες του ήλιου. Οι αδένες του δέρματος, τα αιμοφόρα αγγεία και ο λιπώδης ιστός συμμετέχουν στη θερμορύθμιση, το μεταβολισμό του σώματος και την έκκριση διαφόρων ουσιών. Είναι ένα πραγματικό βιολογικό σύμπαν, καθώς ενσωματώνει όλα τα μείζονα υποστηρικτικά συστήματα του σώματος: της αιμάτωσης, της νευρώσης, των μυών, καθώς και της άνοσο-επάρκειας, της ψυχοσυναισθηματικής δραστηριότητας, τη διαπίστωση της υπεριώδους

ακτινοβολίας, ενδοκρινικών λειτουργιών κλπ., δίνοντας την εντύπωση ότι το δέρμα κατέχει μια τόσο στρατηγική θέση ανάμεσα στο επιβλαβές εξωτερικό και το μεταβολικά ενεργό περιβάλλον. Πρόσφατη ενόραση στην στρεσοευαίσθητη χωρητικότητα η οποία επικοινωνεί με τον άξονα υποθάλαμος-βλεννογόνος-επινεφρίδια(κ θυρεοειδής) ,μας επιτρέπει να αξιολογήσουμε πως η γήρανση μπορεί να επηρεάσει αυτούς τους άξονες. Αντιφατικά, είναι σημαντικό να παρατηρήσουμε ότι το καλοθρεμμένο και το προστατευμένο από UVR ακτινοβολία δέρμα επιδεικνύει αξιοσημείωτη ελαστικότητα στη χρονολογική(η την εσωτερική) γήρανση και τα περισσότερα αν όχι όλα από αυτά που αναφερόμαστε για τη γήρανση είναι λόγω των δομικών αλλαγών στο δέρμα που είναι συνέπεια της αποκαλούμενης εξωτερικής γήρανσης(UVR, τραυματισμός, χημικά κλπ)

1.2 Η επιδερμίδα

Η επιδερμίδα αποτελείται κυρίως από πολύστιβο κερατινοποιημένο πλακώδες επιθήλιο, και τρεις ακόμη τύπους κυττάρων σε μικρότερη αναλογία: τα μελανοκύτταρα, τα κύτταρα του Langerhans και τα κύτταρα του Merkel. Τα κερατινοποιούμενα επιδερμικά κύτταρα αποκαλούνται κερατινοκύτταρα. Συνηθίζεται η διάκριση μεταξύ παχέος δέρματος(άτριχη, λείο και γυμνό) που συναντάται στις παλάμες και στα πέλματα και λεπτού δέρματος(τριχωτό)που βρίσκεται στα υπόλοιπα μέρη του σώματος. Ο χαρακτηρισμός ‘‘παχύ’’ και ‘‘λεπτό’’ αναφέρονται στο πάχος της επιδερμικής στιβάδας το οποίο ποικίλλει από 75εως 150 μm για το λεπτό δέρμα και από 400-600 μm για το παχύ δέρμα. Το ολικό πάχος του δέρματος (επιδερμίδα συν χόριο) ποικίλλει ανάλογα με την εντόπιση). Από το χόριο και προς τα έξω, η επιδερμίδα συγκροτείται από 5 στιβάδες κερατινοπαραγωγών κυττάρων(κερατινοκυττάρων).



Οι στιβάδες της επιδερμίδας όπου

B:Βασική στιβάδα

L: κύτταρα Langerhans

K:κερατίνη στιβάδα

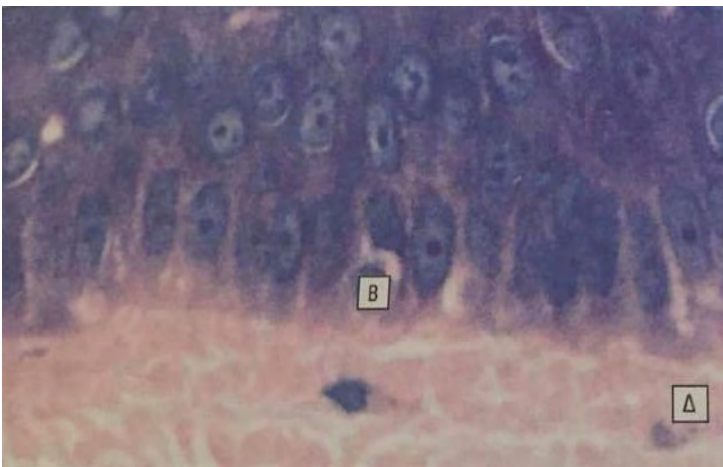
Kok: κοκκιώδης στιβάδα

A: ακανθωτή στιβάδα

M:μελανοκυτταρατταρα

Η βασική στιβάδα

Η βασική στιβάδα αποτελείται από μια σειρά βασεόφιλων κυλινδρικών ή κυβοειδών κυττάρων που στηρίζονται στη βασική μεμβράνη της συμβολής επιδερμίδας χορίου. Τα κύτταρα αυτής της στιβάδας συνδέονται μεταξύ τους με δεσμοσώματα. Ημιδεσμοσώματα που βρίσκονται στο βασικό τμήμα του κυττάρου βοηθούν στη σύνδεσή του με τη βασική μεμβράνη. Η βασική στιβάδα που περιέχει αρχέγονα κύτταρα χαρακτηρίζεται από έντονη μιτωτική δραστηριότητα και είναι υπεύθυνη μαζί με την αρχική μοίρα της επόμενης στιβάδας για τη συνεχή ανανέωση των επιδερμικών κυττάρων. Η επιδερμίδα του ανθρώπου ανανεώνεται κάθε 15-30 ημέρες περίπου ανάλογα με την ηλικία, την περιοχή του σώματος και άλλους παράγοντες. Όλα τα κύτταρα της βασικής στιβάδας περιέχουν ενδιάμεσα νηματία κερατίνης. Καθώς τα κύτταρα προωθούνται προς την επιφάνεια ο αριθμός των νηματίων αυξάνεται μέχρι του σημείου να αντιπροσωπεύουν το ήμισυ της συνολικής πρωτεΐνης στην κερατίνη στιβάδα.

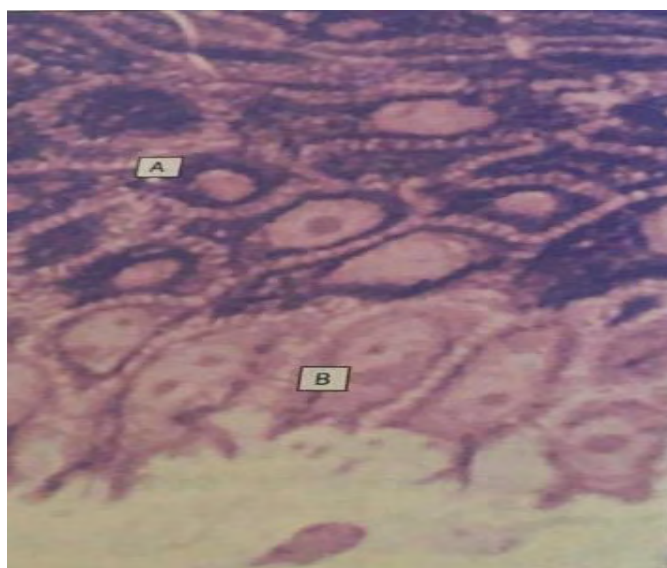


Όπου B: βασική στιβάδα
και Δ: δερμίδα

Η ακανθωτή στιβάδα

Η ακανθωτή στιβάδα αποτελείται από κυβοειδή ή ελαφρώς πεπλατυσμένα κύτταρα με κεντρικό πυρήνα και κυτταρόπλασμα του οποίου οι αποφυάδες είναι γεμάτες με δεσμίδες νηματίων κερατίνης. Τα κύτταρα αυτής της στιβάδας συνδέονται στενά μεταξύ τους με κυτταροπλασματικές “άκανθες” γεμάτες με ινίδια και δεσμοσώματα που προσδίδουν την ακανθωτή εικόνα στην επιφάνεια του κυττάρου. Οι δεσμίδες

κερατίνης διακρίνονται με το φωτοmikροσκόπιο, που ονομάζονται τονοϊνίδια και καταλήγουν στα δεσμοσώματα. Τα τονοϊνίδια παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της συνοχής μεταξύ των κυττάρων και στην αντίσταση απέναντι σε δυνάμεις τριβής. Η επιδερμίδα σε περιοχές που υπόκειται σε συνεχή τριβή και πίεση έχει παχύτερη ακανθωτή στιβάδα με περισσότερα τονοϊνίδια και δεσμοσώματα. Όλες οι μιτώσεις περιορίζονται στη χαρακτηριζόμενη ως μαλπιγγιανή στιβάδα που αποτελείται τόσο από τη βασική στιβάδα όσο και από την ακανθωτή στιβάδα. Μόνο η μαλπιγγιανή στιβάδα περιέχει αρχέγονα επιδερμικά κύτταρα.

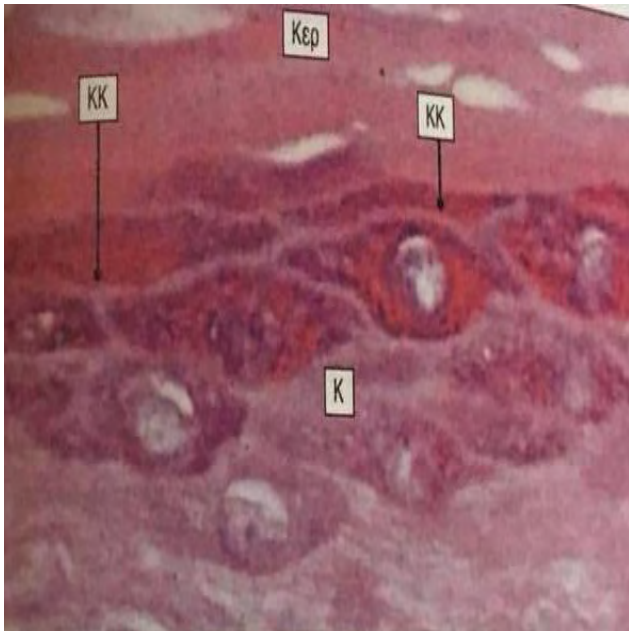


Όπου A:ακανθωτη στιβάδα
και B:βασικη στιβάδα

Η κοκκιώδης στιβάδα

Η κοκκιώδης στιβάδα αποτελείται από τρεις έως πέντε σειρές πεπλατυσμένων πολυγωνικών κυττάρων των οποίων το κυτταρόπλασμα είναι γεμάτο από αδρά βασεόφιλα κοκκία που ονομάζονται κοκκία κερατοϋαλίνης. Στις πρωτεΐνες αυτών των κοκκίων περιλαμβάνονται μια φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη, πλούσια σε ιστιδίνη καθώς και πρωτεΐνες που περιέχουν κυστίνη. Οι πολυάριθμες φωσφορικές ομάδες εξηγούν την έντονη βασεοφιλία των κοκκίων της κερατοϋαλίνης τα οποία δεν περιβάλλονται από μεμβράνη. Μια άλλη χαρακτηριστική δομή των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας της επιδερμίδας, που φαίνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι το περιβαλλόμενο από μεμβράνη πεταλιώδες κοκκίο. Αυτά τα κοκκία συντήκονται με τις κυτταρικές μεμβράνες και απελευθερώνουν το περιεχόμενό τους

στην ακανθωτή στιβάδα υλικό. Αυτό δρα ως μεσοκυττάρια συνεκτική ουσία η οποία ενεργεί ως φραγμός στην είσοδο ξένων ουσιών καθιστώντας το δέρμα αδιαπέραστο.



Όπου Κ:κοκκιώδης στιβάδα

Κερ: κερατίνη

ΚΚ :πέταλα κερατίνης

ΚΥ: πέταλα κερατοϋαλίνης

ΚΣ: κερατινοσώματα

Διαυγής στιβάδα

Φαίνεται καλύτερα στο παχύ δέρμα. Είναι μια διαφανής λεπτή στιβάδα που συντίθεται από εξαιρετικά πεπλατυσμένα, ηωσινόφιλα κύτταρα.

Κερατίνη στιβάδα

Η κερατίνη στιβάδα συνιστά το βασικό φραγμό του σώματος με το περιβάλλον και αποτελεί το κλειδί για την άριστη ενυδάτωση του δέρματος. Αποτελείται από στιβάδες αποπλατυσμένων κυττάρων των οποίων το κυτταρόπλασμα είναι γεμάτο από κερατίνη. Όταν ολοκληρωθεί η κερατινοποίηση τα κύτταρα αποτελούνται από ινώδεις ή άμορφες πρωτεΐνες και παχιά κυτταρική μεμβράνη. Τότε χαρακτηρίζονται ως κερατινοκύτταρα.

Είναι γενικά παραδεκτό ότι το πάχος της κερατίνης στιβάδας δεν μεταβάλλεται σημαντικά με την ηλικία. Παρ'όλα αυτά, ορισμένα χαρακτηριστικά της γήρανσης του δέρματος υποδεικνύουν έναν αφύσικο φραγμό στο δέρμα, που ονομάζεται ξηρότητα, και συνοδό αυξημένη επίπτωση για ερεθιστική δερματίτιδα.

Υπάρχουν ακόμη στοιχεία για διαταραχή της διαπερατότητας σε χημικές ουσίες και μειωμένη διαεπιδερμική διαπερατότητα στο νερό στο γηρασμένο δέρμα. Ωστόσο, η βασική λειτουργία του δέρματος ως φραγμός δεν επηρεάζεται από την ηλικία και οι ουσίες που μπορούν να ανακτηθούν από την

επιφάνεια του δέρματος(σμήγμα, ιδρώτας, συστατικά παραγόντων που συμβάλλουν στην ενυδάτωση και τα εναπομείναντα στοιχεία της κατεστραμμένης στιβάδας) ούτε αυτά επηρεάζονται από την ηλικία ούτε από την εθνικότητα και το γένος. Η λειτουργία ως φραγμός στο γερασμένο δέρμα(>80 ετών) διαταράσσεται περισσότερο λόγω της επερχόμενης φθοράς σε σχέση με το νεανικό δέρμα (20-30 ετών), όσον αφορά στην ανάκτησή της. Φαίνεται ότι υπάρχει μια καθολική μείωση στα λιπίδια της κερατίνης στιβάδας που μπορεί να επηρεάσει το εκμαγείο που συνδέει τα κερατινοκύτταρα μεταξύ τους. Στα άτομα μέσης ηλικίας(50-80 ετών) παθολογική όξυνση των λειτουργιών της κερατίνης στιβάδας οδηγεί σε καθυστερημένη επεξεργασία των λιπιδίων, καθυστερημένη ανάκτηση της διαπερατότητας του φραγμού και παθολογική ακεραιότητα της κερατίνης στιβάδας, της μεταφοράς και διαχείρισης των ιόντων. Η ισοπέδωση της δερμο-επιδερμικής σύνδεσης είναι η πιο σταθερή αλλαγή που παρατηρούμε στο γερασμένο δέρμα στις επιφάνειες που ήταν κυματοειδείς στους νέους και είναι λόγω της διάβρωσης των πλεγματικών ραβδώσεων. Αυτό οδηγεί στη μειωμένη συμπλοκή επιδερμίδας και δερμίδας και καταλήγει σε μικρότερη αντίσταση και μειωμένη παροχή οξυγόνου και θρεπτικών ουσιών. Αυτό το αποτέλεσμα φαίνεται να επηρεάζεται από αλλαγές στην ελαστικότητα του θηλώδους χορίου που προκαλούνται από την ακτινοβολία. Ακόμη και στην αρχόμενη φωτογήρανση μπορούμε να εκτιμήσουμε την απώλεια των μικροϊνιδίων σαν ένα πρόωρο δείκτη φωτογήρανσης. Είναι γενικά παραδεκτό ότι τα επιδερμικά κύτταρα αντικαθίστανται κατά το ήμισυ μεταξύ της τρίτης και της εβδόμης δεκαετίας της ζωής και αυτό γίνεται αντιληπτό αν παρατηρήσουμε την ικανότητα επούλωσης τραύματος σε μεγάλες ηλικίες. Το δέρμα είναι ένα άριστο μοντέλο στις μελέτες γήρανσης. Η γήρανση του δέρματος μπορεί να διαμορφωθεί από εξωτερικούς και εσωτερικούς παράγοντες αντανακλώντας την πολυπλοκότητα του. Δυο διαφορετικοί τύποι γήρανσης δέρματος ταυτοποιήθηκαν: η εσωτερική, που καθορίζεται κυρίως γενετικά και είναι σύμφωνη με τη γήρανση στα άλλα όργανα και η εξωτερική γήρανση που είναι αποτέλεσμα της επίδρασης περιβαλλοντικού στρες και ιδιαίτερα UV ακτινοβολίας. Παρότι αυτοί οι δυο τύποι παρουσιάζουν διαφορές σε μορφολογικό και ιστολογικό επίπεδο, μοιράζονται κοινές κυτταρικές ομοιομορφίες όπως οι μεταλλοπρωτεΐνες. Το ανθρώπινο δέρμα όπως και όλα τα άλλα όργανα υφίσταται αλλαγές λόγω της γήρανσης.(1)

2.ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Η γήρανση του δέρματος φαίνεται να είναι το αποτέλεσμα δυο τύπων γήρανσης της ‘εσωτερικής’ και της ‘εξωτερικής’. ‘Εσωτερικές’ δομικές αλλαγές συμβαίνουν ως αποτέλεσμα της φυσιολογικής γήρανσης και είναι γενετικά καθορισμένες. Ωστόσο είναι δύσκολο αν όχι απίθανο να διαχωρίσουμε την εσωτερική γήρανση από μια ποικιλία άλλων παραγόντων που ξεκάθαρα συμβάλλουν στη γήρανση όπως το κάπνισμα, η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία, η κατανάλωση αλκοόλ, διαιτητικές συνήθειες και άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής. Γενετικά κληρονομούμενες επιδράσεις πιστεύεται ότι συνεισφέρουν περί το 3% στη γήρανση, κάνοντας με αυτό τον τρόπο τις επιγενετικές και τις μέτα-μεταφραστικές τροποποιήσεις τα πιο σημαντικά μονοπάτια στη γήρανση.(2)

Λόγω της στρατηγικής θέσης που έχει δοθεί στο δέρμα στην επιφάνεια του σώματος, υπόκειται σε **εσωτερική(χρονολογική)** γήρανση, που οφείλεται σε γενετικές και ορμονικές επιδράσεις, και σε **εξωτερική** γήρανση που προκαλείται από περιβαλλοντικούς παράγοντες , κυρίως UV ακτινοβολία, κάπνισμα, διατροφή, χημικά, τραυματισμοί κ.α. Τα αποτελέσματα της UV ακτινοβολίας είναι τόσο δραστικά που αποδίδεται η φωτογήρανση και μόνο σε αυτά. Και οι δύο τύποι γήρανσης έχουν σαφή και αλληλεπικαλυπτόμενα χαρακτηριστικά. Τα χαρακτηριστικά της γήρανσης του δέρματος(π.χ. αντιληπτή ηλικία, γεροντικές κηλίδες, ρυτίδες δέρματος και καταστροφή του δέρματος από τον ήλιο) φαίνεται να επηρεάζονται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.(2,3)

2.1. ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

Η εσωτερική γήρανση του δέρματος είναι μια ανεπαίσθητα αργή διαδικασία όσον αφορά στην εξέλιξή της και δείχνει σημαντική ποικιλία μεταξύ ατόμων ίδιας εθνικότητας, δηλαδή μια διαφορετική πλευρά ενός παρόμοιου ανθρώπου. Ουσιώδης εσωτερική γήρανση μπορούμε να δούμε μόνο σε αρκετά μεγάλη ηλικία και χαρακτηρίζεται από: απουσία κηλίδων , ελαφρώς ωχρότερη, ξηρότερη και λιγότερο ελαστική επιδερμίδα με λεπτές ρυτίδες. (4,5) Παράλληλα, αλλαγές που παρατηρούνται στον υποδόριο ιστό του προσώπου καταλήγουν στο σχηματισμό γραμμών έκφρασης. Η εσωτερική γήρανση είναι μια διαδικασία που συμβαίνει αφ εαυτού μέσω μειώσεων στα δερματικά μαστοκύτταρα, στην παράγωγη κολλαγόνου από τους ινοβλάστες, ισοπεδώνοντας τη δερμο-επιδερμική σύνδεση /απώλεια πλεγματοειδών ραβδώσεων. Από μια πιο προοδευτική άποψη, η ισοπέδωση των παλαιών κυματισμών της επιδερμίδας είναι η πιο εμφανής αλλαγή και προκαλείται από την απώλεια των ραβδώσεων του πλέγματος. Μια πιθανή συνέπεια αυτού είναι η μειωμένη θρεπτική παροχή της ανάγγειας επιδερμίδας από το αγγειοποιημένο χόριο. Από μηχανιστική άποψη το εσωτερικά γερασμένο δέρμα ελέγχεται από την προοδευτική μείωση

του μεγέθους των τελομερών, που επιδεινώνεται από χαμηλού βαθμού οξειδωτική καταστροφή των τελομερών και από άλλα κυτταρικά συστατικά.(6,7)

2.2. ΕΞΩΤΕΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

Ενώ οι παρεμβάσεις στην εσωτερική γήρανση είναι δύσκολες ίσως μέσω της συμπλήρωσης των ορμονών, η πρόληψη και η θεραπεία των εξωτερικών-σχετιζόμενων με την ηλικία δομικών αλλαγών του δέρματος θα μπορούσε να αποτελέσει πεδίο παρέμβασης. Ωστόσο, η επίδραση της εξωτερικής γήρανσης δεν μπορεί να διαχωριστεί από το πώς η επιδερμίδα αποκρίνεται στη χρονολογική γήρανση. Εξωγενείς παράγοντες θα επηρεάσουν τη φυσιολογία του δέρματος μόνιμα. Μακράν, η μεγαλύτερη πηγή εξωτερικής γήρανσης είναι η συσσώρευση και η έκθεση στον ήλιο. Περιορίζεται κυρίως στο πρόσωπο, τα χέρια, το λαιμό και λιγότερο στα κατώτερα τμήματα των άνω και των κάτω άκρων.

Πάνω από 80% της γήρανσης του δέρματος στο πρόσωπο οφείλεται στη χαμηλού βαθμού χρόνια έκθεση στη UV ακτινοβολία. Η έκθεση μπορεί όμως να προκαλέσει και έγκαυμα, μαύρισμα, φλεγμονή, ανοσοκαταστολή και καταστροφή του δερματικού συνδετικού ιστού. (2,8, 9)

Σύγκριση εσωτερικά-εξωτερικά γηρασμένου δέρματος

Αλλαγές στο προστατευόμενο από την ήλιο δέρμα συμβαίνουν σαν αποτέλεσμα σταδιακής ατροφίας της επιδερμίδας, η οποία μπορεί να υποστεί σημαντική λέπτυνση(της τάξης του 10-50%) από την ηλικία των 30 ως των 80. Μία ξεχωριστή διαπλάτυνση της δερμο-επιδερμικής συμβολής συμβάλλει στη μείωση της επιφάνειας επαφής κατά 35%. Από την άλλη πλευρά, το δέρμα που έχει εκτεθεί στον ήλιο χαρακτηρίζεται από πάχυνση της επιδερμίδας, κάτι που μπορεί να θεωρηθεί απόρροια μιας κατάστασης συνεχούς "τραυματισμού" και προσπάθειας επιδιόρθωσης. Η κεράτινη στιβάδα είναι η περισσότερο επηρεασμένη και εμφανίζεται πεπαχυσμένη εξαιτίας της λανθασμένης αποδόμησης των δεσμοσωματίων των κερατινοκυττάρων.(10) Η ινβολουκρίνη, ένας δείκτης διαφοροποίησης που φυσιολογικά εκφράζεται από τα οριστικώς διαφοροποιημένα κερατινοκύτταρα στην κεράτινη στιβάδα, έχει βρεθεί να έχει αυξημένη έκφραση στο κατεστραμμένο από την ηλιακή ακτινοβολία δέρμα in vivo. Αυτό είναι ανάλογο με το γεγονός ότι η διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων βλάπτεται από την UV ακτινοβολία. Επιπρόσθετα, στα κύτταρα της βασικής στιβάδας η κυτταρική έκφραση της ιντεγκρίνης 1 ήταν σημαντικά μειωμένη με μία παράλληλη μείωση στο mRNA. Οι ιντεγκρίνες 1 είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς ετεροδιμερών και είναι υπεύθυνοι για τη σύνδεση των κερατινοκυττάρων της βασικής στιβάδας με τα υπόλοιπα και με τη βασική μεμβράνη . Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι ιντεγκρινών β1, οι ιντεγκρίνες α2β1 και α3β1, που αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες του εξωκυττάρου μέσου όπως φιμπρονεκτίνη, λαμινίνη 1 και 5 και κολλαγόνο τύπου I και IV. Οι ιντεγκρίνες χρησιμοποιούνται σαν

δείκτες πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων και της προσκόλλησης τους στο εξωκυττάριο μέσο. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι ικανότητα πολλαπλασιασμού αλλά και προσκόλλησης γερασμένων κερατινοκυττάρων σε δέρμα εκτεθειμένο στον ήλιο είναι σαφώς επηρεασμένη. Η δερμο-επιδερμική συμβολή είναι επίσης πιθανό σημείο για αλλαγές στο δέρμα εξαιτίας της UV ακτινοβολίας. Η φιμπριλλίνη εμφανίζεται σημαντικά ελαττωμένη στην άπω δερμίδα σε σχέση με το δέρμα το προστατευόμενο από τον ήλιο και παρατηρείται σαφής απώλεια δομών θετικών σε φιμπριλλίνη σε δέρμα εκτεθειμένο στον ήλιο. Παρόμοια, η έκφραση των κολλαγόνων ινών τύπου IV, που σχηματίζει τα αγκυροβολημένα ινίδια στη δερμο-επιδερμική συμβολή, είναι ελαττωμένη στα κερατινοκύτταρα σε περιοχές εκτεθειμένες στον ήλιο, επιβεβαιώνοντας δεδομένα που δείχνουν ότι ο αριθμός των αγκυροβολημένων ινιδίων είναι μειωμένος στο φωτογηρασμένο δέρμα. Μειωμένο κολλαγόνο τύπου VII μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό ρυτίδων μέσω της εξασθένησης του δεσμού μεταξύ δερμίδας και επιδερμίδας. (11)

Ενώ στο ενδογενώς γηρασμένο δέρμα οι πιο βασικές ιστολογικές αλλαγές συμβαίνουν στη βασική στιβάδα, το εκτεθειμένο στον ήλιο δέρμα χαρακτηρίζεται από συνάθροιση ανώμαλου ελαστικού ιστού στη μέση και βαθύτερη δερμίδα, κατάσταση που ονομάζεται ακτινική ελάστωση. Η UV ακτινοβολία προάγει την αντιγραφική ικανότητα του γονιδίου της ελαστίνης με την αύξηση κατά 4 φορές στη δραστηριότητα του υποκινητή της ελαστίνης και μειώνει την έκφραση της φιμπριλλίνης-1 οδηγώντας σε εναπόθεση ελαστικών ινών, που είναι δυστροφικές. Εκτός από ελαστίνη και φιμπριλλίνη, οι φυσιολογικές ελαστικές ίνες φαίνεται ότι περιέχουν και βερσικάνη, μία μεγάλη πρωτεογλυκάνη, η οποία σε περιοχές ακτινικής ελάστωσης παρουσιάζει αυξημένη έκφραση σε μελέτες με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους. Επιπλέον, μία αύξηση της δεσμοσίνης, ενός στοιχείου που προέρχεται από τη λυσίνη, έχει καταδειχθεί σε φωτογηρασμένο δέρμα. Σε αυτές τις τροποποιημένες ελαστικές ίνες, εξωγενείς ουσίες, όπως η λυσοζύμη, μπορεί να εναποτεθούν, κάτι που συσχετίζεται με τη βασιόφιλη αποδόμηση των ινών. Αυτός ο μη φυσιολογικός ελαστικός ιστός αντικαθιστά το φυσιολογικό μέσο που αποτελείται κυρίως από κολλαγόνο και είναι σχεδόν αποχωρισμένος από την επιδερμίδα μέσω μιας ζώνης που φαίνεται να έχει φυσιολογικό κολλαγόνο, με ή χωρίς ελαστικές ίνες. Αλλαγές στο περιεχόμενο του κολλαγόνου, του επηρεασμένου από τον ήλιο, δέρματος επίσης συνοδεύονται από αλλαγές στις ελαστικές ίνες. Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις κολλαγόνων ινών έχουν δείξει μία αραιή κατανομή σε περιοχές ακτινικής ελάστωσης, σε αντίθεση με τις φυσιολογικά πυκνές κολλαγόνες ίνες στην επιφάνεια της δερμίδας. (12) Το κολλαγόνο τύπου I έχει βρεθεί σημαντικά μειωμένο στο φωτογηρασμένο δέρμα. Δεδομένα δείχνουν ότι η ελάττωση σε κολλαγόνο στο φωτογηρασμένο δέρμα είναι απόρροια αυξημένης αποδόμησης κολλαγόνου, ενώ η παραγωγή κολλαγόνου μένει στα ίδια επίπεδα. Η ικανότητα εξωκυττάριας αποδόμησης έγκειται στους ινοβλάστες και στα κύτταρα της

φλεγμονής που είναι αυξημένα. Πολλές μεταλλοπρωτεΐνάσες, η σερίνη και άλλες πρωτεάσες είναι υπεύθυνες για την αποδόμηση στοιχείων του συνδετικού ιστού όπως το κολλαγόνο. Αυτές διεγείρονται in vitro και in vivo από ακτινοβολία UVA και UVB . Επίσης, το κολλαγόνο εμφανίζεται με μία βασεόφιλη εμφάνιση.(13)

Η αναλογία κολλαγόνων ινών τύπου III είναι αυξημένη στο φωτο-κατεστραμμένο δέρμα. Η δερματική φωτογήρανση έχει επίσης συσχετισθεί με αυξημένα επίπεδα γλυκοζαμινογλυκανών. Η παρουσία γλυκοζαμινογλυκανών εντός περιοχών ακτινικής ελάστωσης σε δέρμα προσβεβλημένο από τον ήλιο ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι η πρωτεογλυκάνη εναποτίθεται στις ελαστικές ίνες επειδή διαθέτει μία περιοχή σύνδεσης με το υαλουρονικό οξύ. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες κατανέμονται φυσιολογικά διάχυτα στη δερμίδα μεταξύ του κολλαγόνου και αποτελούν κύρια πηγή ενυδάτωσης του δέρματος, δεσμεύοντας νερό για να προωθήσουν την κίνηση συστατικών και κυτταρικών μεταβολιτών. Παρόλο που το βεβλαμμένο από τον ήλιο δέρμα περιέχει αυξημένη ποσότητα γλυκοζαμινογλυκανών, αυτές οι γλυκοζαμινογλυκάνες ίσως σχετίζονται με ανώμαλο υλικό και έτσι δεν μπορούν να λειτουργήσουν σαν τις γλυκοζαμινογλυκάνες του φωτο-προστατευμένου δέρματος. Οι ινοβλάστες αποκτούν έναν αστεροειδή φαινότυπο και σε πολυδιάστατο επίπεδο αποκαλύπτεται ένα ισχυρά ενεργοποιημένο ενδοπλασματικό δίκτυο, ενδεικτικό αυξημένης βιοσυνθετικής δραστηριότητας. Τα αγγειακά τοιχώματα των μετα-τριχοειδικών καναλιών είναι πεπαχυσμένα από τη περιφερική προσθήκη ενός υλικού-στιβάδας τύπου " βασικής μεμβράνης". Τα κύτταρα veil , που σχετίζονται άμεσα με αυτές τις στιβάδες, συχνά έχουν διατεταμένες τις δεξαμενές του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου, περιέχοντας υλικό πυκνό σε ηλεκτρόνια.

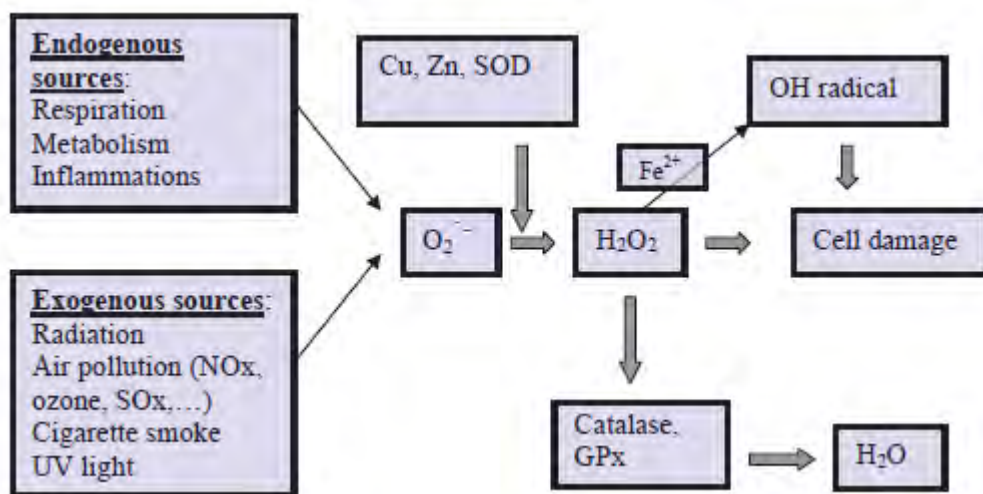
Αντίθετα, το προστατευμένο από τον ήλιο δέρμα χαρακτηρίζεται από μετριότερες μορφολογικές αλλαγές της δερμίδας. Υπάρχει γενικευμένη ατροφία του εξωκυττάριου μέσου, συνοδευόμενη από δυσλειτουργία κυττάρων, ιδίως ινοβλαστών. Επιπρόσθετα, η δερμίδα χαρακτηρίζεται από μειωμένα επίπεδα κολλαγόνου και ελαστικών ινών είτε λόγω μειωμένης παραγωγής είτε λόγω αυξημένης αποδόμησης είτε λόγω και των δύο. Κλινικά, το προστατευμένο από τον ήλιο δέρμα εμφανίζεται λεπτό, χωρίς πολλές ρυτίδες, χωρίς κηλίδες, ωχρό και στεγνό με απώλεια ελαστικότητας. Από την άλλη πλευρά, το φωτογηρασμένο δέρμα χαρακτηρίζεται από βαθιές ρυτίδες, τραχύτητα, ευθραυστότητα, τηλαγγειεκτασίες, αλλαγές στο χρώμα, βεβλαμμένη επιδιορθωτική ικανότητα των τραυμάτων , καλοήθη και κακοήθη μορφώματα.

Πολλές θεωρίες έχουν επιχειρήσει να ερμηνεύσουν τη διαδικασία της γήρανσης, όπως κυτταρική γήρανση και μείωση του μήκους των τελομερών, μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA, οξειδωτικό στρες, γενετικές μεταλλάξεις και σημαντική μείωση του επιπέδου των ορμονών, άλλα η πιο εύλογη εξ αυτών επικεντρώνεται στην καταστροφή του DNA και στην συνακόλουθη διαδικασία επιδιόρθωσης του. Αυτή επάγει επιγενετικές αλλαγές σε όλο το γονιδίωμα, απώλεια των κυριότερων κυτταρικών λειτουργιών και γενωμικές εκτροπές.(14) Εάν οι μέτα-μεταφραστικοί μηχανισμοί είναι ανεξάρτητα μονοπάτια της γήρανσης του δέρματος ή συνέπεια της καταστροφής του DNA και των επακόλουθων επιγενετικών αλλαγών δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Οι διαδικασίες της “εσωτερικής” και της “εξωτερικής” γήρανσης αλληλεπικαλύπτονται και σχετίζονται ισχυρά με την αυξημένη παράγωγή των ελευθέρων ριζών στην επιδερμίδα. Ο βασικός μηχανισμός και των δυο διαδικασιών είναι το αυξημένο οξειδωτικό στρες, που είναι πιθανόν ο πιο επιβλαβής παράγοντας που συνεισφέρει στη γήρανση του δέρματος, που οδηγεί σε απώλεια των κυττάρων και του εξοκυττάριου σκελετού, τα οποία αποτελούν τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά της χρονολογικής γήρανσης. Το οξειδωτικό στρες είναι η ανισορροπία ανάμεσα στα παραγόμενα ROS και τους μηχανισμούς άμυνας. Είναι αποδεκτό ότι η “εσωτερική” γήρανση προκαλείται κυρίως από συσσωρευμένη καταστροφή λόγω των αλληλεπιδράσεων των ελευθέρων ριζών και από τη ROS επαγόμενη καταστροφή σε κριτικά κυτταρικά μακρομόρια.(15)

2.3. Μηχανισμός ανάπτυξης “εσωτερικής” γήρανσης

Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν ζωτικό μέρος του μεταβολισμού και είναι απαραίτητες για τη ζωή, παίζοντας ρόλο στην καταστροφή μικροβίων στα μικροφάγα. Η “εσωτερική” γήρανση εξαρτάται από την ομοιότητα ανάμεσα στην παραγωγή των ελευθέρων ριζών και στην αποτελεσματικότητα της άμυνας και των μηχανισμών επιδιόρθωσης. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι το οξυγόνο(O₂) είναι ουσιώδες για τη ζωή. Στη σημερινή εποχή οι αερόβιοι οργανισμοί υφίστανται οξειδωτική καταστροφή. Ο όρος δραστικές μορφές οξυγόνου(ROS) χρησιμοποιείται συχνά για να περιγράψει όχι μόνο τις ρίζες αλλά και τις μη ρίζες. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου είναι δραστικά μόρια τα οποία περιέχουν ένα ελεύθερο άτομο οξυγόνου.(16) Υπάρχουν δυο κύριες πηγές ROS: μιτοχονδριακής προέλευσης και μη-μιτοχονδριακής προέλευσης . Οι περισσότερες μελέτες υποστηρίζουν ότι η πλειονότητα των ενδοκυττάριων ROS πηγάζει από τα μιτοχόνδρια. Η μιτοχονδριακή προέλευση των ROS εκπροσωπείται από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και από την αντίδραση συνθάσης νιτρικού οξειδίου. Η παραγωγή ROS μπορεί να συσχετιστεί με το αντίστοιχο ποσοστό οξειδωτικού στρες. Τα κύτταρα του δέρματος είναι διαρκώς εκτεθειμένα στα ROS και στο οξειδωτικό στρες από εξωγενείς και ενδογενείς πηγές. Η παραγωγή των ROS όχι μόνο αυξάνεται με την ηλικία αλλά παράλληλα μειώνεται σταθερά η δυνατότητα για επιδιόρθωση του DNA. Μειώνοντας την παραγωγή ελευθέρων ριζών σε πρώτο χρόνο είναι πιο αποτελεσματικό από το να προσπαθούμε να εξουδετερώσουμε τις

ελεύθερες ρίζες αφού έχουν παραχθεί. Στην παρακάτω εικόνα μπορούμε να παρατηρήσουμε ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες που συμβάλλουν στη δημιουργία των ROS.



*Εικόνα 1.
Κυτταρική
ανάπτυξη των
ROS και οι
αντιοξειδωτικοί
μηχανισμοί
άμυνας*

Η ενέργεια που απαιτείται από τα κύτταρα του δέρματος προέρχεται από τρεις πηγές: από τη μιτοχονδριακή οξειδωτική φωσφορυλίωση, από τη γλυκόλυση και από το σύστημα κρεατίνης/φωσφοκρεατίνης. Και οι τρεις κύριες πηγές ενέργειας επηρεάζονται από την εσωτερική και την εξωτερική γήρανση και προσφέρουν ενδεχόμενα σημεία εισόδου για στρατηγικές παρεμβάσεις με στόχο την επιβράδυνση της γήρανσης. Λόγω διαταραχών στα μιτοχόνδρια με την πρόοδο της ηλικίας λιγότερη ενέργεια παράγεται με την οξειδωτική φωσφορυλίωση, παρότι ο αριθμός των μιτοχονδρίων δεν μεταβάλλεται με τα χρόνια. Περισσότερη ενέργεια απαιτεί περισσότερη παραγωγή ενέργειας μέσα από μη-μιτοχονδριακά μονοπάτια όπως η γλυκόλυση. Οι ανθρώπινοι ινοβλάστες έχουν ένα περιορισμένο προσδόκιμο ζωής και διακόπτουν την αύξηση τους μετά από ένα καθορισμένο αριθμό κυτταρικών διαιρέσεων. Αυτή η διαδικασία με την οποία η αύξηση σταμάτα ονομάζεται κυτταρική γήρανση. Η γήρανση χαρακτηρίζεται και από μείωση στο συνολικό αριθμό των κυττάρων. Απώλεια μιτοχονδριακών λειτουργιών μπορεί να προκαλέσει πρόωρη γήρανση των κυττάρων του δέρματος. Αυτό οδηγεί σε μείωση του βαθμού της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στους ανθρώπινους ινοβλάστες το οποίο προκαλεί αναστολή της ανάπτυξης των κυττάρων και πρόωρη γήρανση. Επιπρόσθετα, μείωση στο επίπεδο της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης σχετίζεται αρκετά συχνά με μείωση της κυτταρικής διαφοροποίησης και επαγωγή πρόωρης γήρανσης. Οι αλλαγές που συμβαίνουν στη γήρανση μπορούν να επηρεάσουν τη μιτοχονδριακή αναπνοή. Οι γηρασμένοι ινοβλάστες υπαισέρχονται σε κατάσταση μεταβολικής ανισορροπίας που σχετίζεται με ισχυρή μείωση στα επίπεδα των ριβονουκλεοτιδικών τριφωσφατασών, συμπεριλαμβανομένου της ATP, που απαιτείται για τη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων και ως εκ τούτου του πολλαπλασιασμού. Η εξάντληση της ATP στους γηρασμένους ινοβλάστες είναι λόγω της

απορρύθμισης των γλυκολυτικών ενζύμων και καταλήγει στη μείωση του κυτταρικού AMP που έχει δείχθει ότι επάγει την πρόωρη γήρανση. Καθώς τα χρόνια περνούν, οι γηρασμένοι ινοβλάστες παρουσιάζουν μια μείωση στη διαπερατότητα της μεμβράνης και μείωση στην παραγωγή της ATP. Σημαντική έκπτωση των λειτουργιών της μιτοχονδριακής μεμβράνης σχετίστηκε με σημαντική αύξηση στα επίπεδα των ROS. Φαίνεται ότι η μακροχρόνια έκθεση των κυττάρων στα ROS δημιουργεί έναν φαύλο κύκλο που καταλήγει σε μειωμένη ικανότητα για απάντηση στο στρες, μείωση στη σύνθεση του ATP και περαιτέρω μείωση στην παραγωγή των ROS στα προσβεβλημένα κύτταρα. Ο δερματικός ιστός συμμετέχει και αντλεί ενέργεια κυρίως μέσω της αερόβιας γλυκόλυσης. Παρά την παρουσία οξυγόνου υπάρχει προτίμηση στη μετατροπή γλυκόζης σε γαλακτικό. Αυτό οδηγεί στην παραγωγή ουσιαστικού ποσού γαλακτικού το οποίο μεταφέρεται στο ήπαρ μέσω της αιματικής κυκλοφορίας και μετατρέπεται τελικά σε γλυκόζη. Το δέρμα έχει προτίμηση στο μεταβολισμό γλυκόζης σε σχέση με το μεταβολισμό λιπαρών οξέων ή κετονικών σωμάτων. Από τη σχετικά μικρή ποσότητα οξυγόνου που μεταβολίζεται στο δέρμα, η πλειονότητα παρέχεται στην επιδερμίδα και στο ανώτερο στρώμα της δερμίδας μέσω διάχυσης από την ατμόσφαιρα. Επειδή το μεγαλύτερο μέρος της ATP στην επιδερμίδα παράγεται από τη γλυκόλυση, τα μιτοχόνδρια ίσως είναι λιγότερο σημαντικά για την παραγωγή ATP, παρόλα αυτά παίζουν ζωτικό ρόλο στη γήρανση.

Σύμφωνα με τη θεωρία των ελευθέρων ριζών οι δραστικές μορφές οξυγόνου προκύπτουν από οξειδωτικό κυτταρικό μεταβολισμό και παίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στη χρονολογική όσο και στην εξωτερική γήρανση. Εκτός από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς άμυνας που χειροτερεύουν με την ηλικία βρίθεται και η αύξηση των ROS που καταστρέφουν τα κυτταρικά συστατικά.

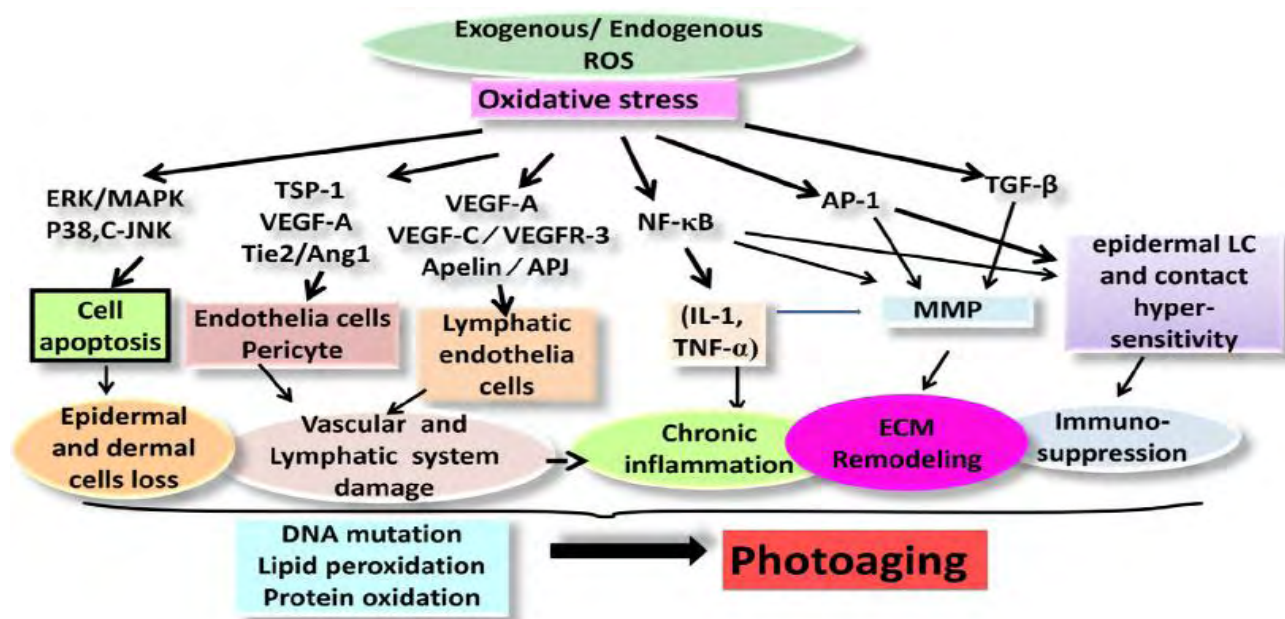
Συμπερασματικά, η υπερβολική παραγωγή ROS και η μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα σε συνδυασμό με την προχωρημένη ηλικία συνεισφέρουν σημαντικά στη χρονολογική γήρανση. Η οξειδωτική καταστροφή είναι η κύρια αιτία και ο μοναδικός τόσο ισχυρά συνεισφέρων παράγοντας στη γήρανση του δέρματος. Τα ROS τόσο στην εσωτερική όσο και στην εξωτερική γήρανση θεωρείται ότι επάγουν τη μεταγραφή του παράγοντα c-jun μέσω της μιτογονο-ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης(MAPK).(15) Το γεγονός αυτό ενεργοποιεί το μεταγραφικό παράγοντα AP-1 που καταλήγει στην έκφραση της MMP-1, MMP-3 και MMP-9(17) και αποτρέπει την έκφραση του προκολλαγόνου-1. Τα αυξημένα επίπεδα του μερικώς αποδομημένου κολλαγόνου βρίσκονται τόσο στο εσωτερικά όσο και στο εξωτερικά γηρασμένο δέρμα. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη μειωμένη έκφραση του αυξητικού παράγοντα του συνδετικού ιστού(CTGF) και του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα(TGF)-β/Smad στη σηματοδότηση θεωρούνται υπεύθυνα για την απώλεια έκφρασης του προκολλαγόνου τύπου 1 στο εσωτερικά γηρασμένο δέρμα.

Η εσωτερική γήρανση του δέρματος επηρεάζεται και από ορμονικές αλλαγές.(18) Η παραγωγή φυλετικών ορμονών στις γονάδες, στο βλεννογόνο και τα επινεφρίδια εξασθενεί στην τρίτη δεκαετία της

ζωής. Τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη φθίνουν με την έναρξη της εμμηνόπαυσης. Η έλλειψη σε ανδρογόνα και οιστρογόνα προκαλεί ξηρότητα, εμφάνιση ρυτίδων, επιδερμική ατροφία, έλλειψη κολλαγόνου και απώλεια ελαστικότητας του δέρματος.(19)

2.4. Μηχανισμοί ανάπτυξης “εξωτερικής” γήρανσης (φωτο-γήρανσης)

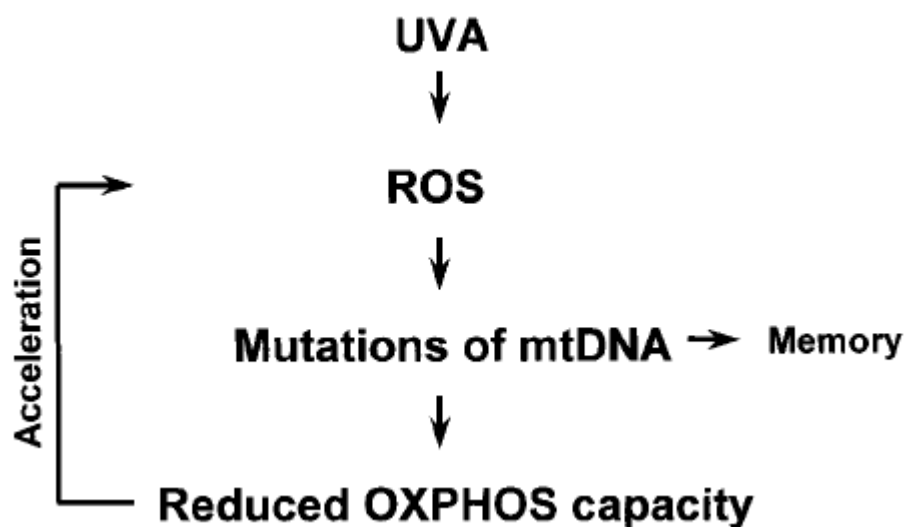
Η εξωτερική γήρανση του δέρματος προκύπτει κυρίως από την έκθεση στη UV-ακτινοβολία. Σχεδόν 80% της γήρανσης του δέρματος αποδίδεται στην επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας. Άλλοι σχετιζόμενοι εξωγενείς παράγοντες είναι το κάπνισμα, τα αερομεταφερόμενα σωματίδια, οι υπέρυθρες ακτίνες, το όζον και η κακή διατροφή. Τα αποτελέσματα της UV- ακτινοβολίας βασίζονται στην απορρόφηση της στα χρωμοφόρα και την επακόλουθη μετατροπή της ενέργειας σε χημικές αντιδράσεις. Τα αποτελέσματα της UVA/UVB ακτινοβολίας συνεισφέρουν τόσο στη φωτογήρανση όσο και στην φωτοκαρκινογένεση. Η UVB ακτινοβολία απορροφάται κυρίως από την επιδερμίδα και οδηγεί στην καταστροφή του DNA δημιουργώντας φωτοκαρκινογόνα, διμερή πυριμιδίνης, κυκλοβουτανίου και 6,4-φωτοπροϊόντα. Η UVA ακτινοβολία απορροφάται από τα χρωμοφόρα των κυττάρων. Αυτά τα εκτεθειμένα στο φως χρωμοφόρα συμβάλλουν στην ανάπτυξη των ROS τα οποία καταστρέφουν τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA. Η έκθεση σε UVA ακτινοβολία είναι ιδιαίτερος σχετιζόμενη με τη φωτογήρανση λόγω της υψηλής διεισδυτικότητας της.(20) Διάφοροι μηχανισμοί έχουν ενοχοποιηθεί για την εξωτερική γήρανση. Παρακάτω αναλύονται οι σημαντικότεροι εξ αυτών: 1)Μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA, 2)Ρόλος των τελομερών, 3)Μεταλλοπρωτεΐνάσες κύτταρο-σκελετού και μεταγωγικά σηματοδοτικά μονοπάτια, 4)Μηχανική τάση και ECM(“εξοκυττάριος κυτταροσκελετός”), 5)Αγγειακές αλλαγές, 6)Οξειδωση πρωτεϊνών



Μπορούμε να παρατηρήσουμε σε συνοπτική απεικόνιση όλους τους μηχανισμούς που έχουν ενοχοποιηθεί ότι συμβάλλουν με τη βοήθεια των ROS στη φωτογήρανση.

1)Μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA

Η κύρια ενδογενής πηγή ROS είναι τα μιτοχόνδρια και τα ROS δημιουργούνται από περίπου 1% του οξυγόνου που καταναλώνεται στα μιτοχόνδρια. Τα ROS επιπρόσθετα από το φυσιολογικό τους ρόλο ως σηματοδοτικά μόρια, καταλήγουν στο οξειδωτικό στρες μετά από εξάντληση των κυτταρικών μηχανισμών άμυνας. Λόγω της εγγύτητάς τους, τα ROS που αναπτύσσονται από την αναπνευστική αλυσίδα είναι ιδιαίτερα σημαντικά για το μιτοχονδριακό DNA(mtDNA). Το μιτοχονδριακό DNA παρουσιάζει αρκετά υψηλότερο ποσοστό μεταλλάξεων σε σχέση με το πυρηνικό DNA λόγω της ανεπιτυχούς αναγνώρισης και των ανεπαρκών επιδιορθωτικών μηχανισμών. Οι μεταλλάξεις του mtDNA είναι σημαντικές για τις διαδικασίες της γήρανσης, για τη φωτογήρανση και για ποικίλες νευρολογικές παθήσεις. Το φωτογηρασμένο δέρμα παρουσιάζει περισσότερες μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό DNA σε σχέση με το φωτοπροστατευμένο δέρμα. Η πιο συχνή μετάλλαξη είναι μια μεγάλης κλίμακας διαγραφή 4977 ζευγών βάσεων γνωστή ως ‘κοινή διαγραφή’ που επάγεται απευθείας από τη χρόνια έκθεση σε UVA ακτινοβολία. Η διαγραφή των 4977 ζευγών βάσεων ήταν ανιχνεύσιμη ακόμη και μετά από μήνες από τη διακοπή της UVA ακτινοβολίας. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι οι ROS-επαγόμενες μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA καταλήγουν σε δυσλειτουργική οξειδωτική φωσφορυλίωση. Γι αυτό όσο περισσότερα ROS δημιουργούνται τόσο περισσότερες μεταλλάξεις προκαλούνται. Μια αιτιολογική συσχέτιση πρέπει να αναλάβει για την εξάντληση του μιτοχονδριακού DNA που οδηγεί στο οξειδωτικό στρες και την αυξημένη έκφραση της MMP-1. Έχει δείχτει από in vitro μελέτες ότι η επαναλαμβανόμενη έκθεση σε ακτινοβολία των φυσιολογικών κυττάρων του δέρματος οδηγεί στην επαγωγή της ‘κοινής διαγραφής’. Θα μπορούσε να λεχθεί ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην ύπαρξη ‘κοινής διαγραφής’ και στη μείωση της μιτοχονδριακής λειτουργίας όπως και στην έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών που είναι συχνό χαρακτηριστικό της φωτογήρανσης. Αυτές οι αλλαγές στο φωτογηρασμένο δέρμα πιθανότατα δημιουργούν μια ‘λειτουργική μνήμη’ για την UV καταστροφή που έχει προκληθεί και τη μείωση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης που μπορεί να καταλήξει στη γένεση των ROS. Η γένεση των μεταλλάξεων του mtDNA οφείλονται στην παραγωγή μονήρους οξυγόνου όπως και στην παραγωγή MMP που προκύπτει από την επίδραση της UVA. Παρακάτω μπορούμε παρατηρήσουμε ένα πιθανό παθοφυσιολογικό μοντέλο για την πρόκληση μιτοχονδριακών μεταλλάξεων μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία (15, 21)



2) Ο ρόλος των τελομερών

Τα τελομερή αποτελούνται από 1000 και επιπλέον επαναλαμβανόμενες ακολουθίες TTAGGG στον άνθρωπο στο τέλος του χρωμοσώματος. Τα τελομερή δεν κωδικοποιούν προϊόντα γονιδίων και απαρτίζονται από τουλάχιστον 7000-12000 ζεύγη βάσεων. Το μέγεθος των τελομερών ποικίλει ανάλογα με τα είδη και μειώνεται με την πρόοδο της ηλικίας. Τα τελομερή αποτελούνται από μια διπλή έλικα με επαναληπτική αλληλουχία TTAGGG και ένα ελεύθερο 3' άκρο. Αυτά έχουν μια δομή(θηλιά)δύο διαστάσεων(t-loop) που προστατεύει το τέλος του χρωμοσώματος και αποτρέπει την αστάθεια του χρωμοσώματος. Δεν είναι δυνατή η πλήρης αντιγραφή των τελικών βάσεων από τη DNA πολυμεράση. Γι αυτό το λόγο τα τελομερή κονταίνουν σε κάθε κυτταρική διαίρεση κατά μέσο όρο εκατό βάσεις λόγω της κριτικής σμίκρυνσης των τελομερών.(15,22) Η κριτική στένωση των τελομερών προκαλεί διάσπαση του σχηματισμού της θηλιάς και αφήνει εκτεθειμένο το 3' άκρο. Αυτή η διαδικασία ωθεί στην καταστροφή του DNA, οδηγώντας στην απόπτωση, στη γήρανση ή στην αναχαίτιση του κυτταρικού κύκλου. Εκτός από μείωση του μήκους των τελομερών σε κάθε κυτταρική διαίρεση, η UV-ακτινοβολία η άλλη καταστροφή του DNA μπορεί να οδηγήσει σε διάσπαση της θηλιάς και σε έκθεση της επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας TTAGGG. Αυτή η διαδικασία προκαλεί την απάντηση στην καταστροφή του DNA υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός κοινού μηχανισμού εσωτερικής γήρανσης ή φωτογήρανσης. Η UV-ακτινοβολία καταστρέφει κατά κύριο λόγο τα τελομερή λόγω του υψηλού αριθμού των TT και G βάσεων σε σύγκριση με άλλα μέρη του χρωμοσώματος. Η UV-ακτινοβολία στοχεύει τις TT και G βάσεις αποσταθεροποιώντας τη θηλιά και ενεργοποιούνται κοινά σηματοδοτικά

μονοπάτια. Ο αιτιοπαθολογικός ρόλος των τελομερών στη φωτογήρανση ακόμη μελετάται. Το μήκος των τελομερών στο φωτοπροστατευμένο και το εκτεθειμένο στο φως δέρμα δεν διαφέρει. Και στα δυο το μήκος των τελομερών ήταν μικρότερο στην επιδερμίδα σε σχέση με το χόριο. Η τελομεράση λειτουργεί σαν ένας σηματοδοτικός μηχανισμός συνθέτοντας αλληλουχίες TTAGGG. Υπάρχουν στοιχεία τα οποία αποδεικνύουν έκφραση τελομεράσης στα κερατινοκύτταρα της ταχέως ανανεούμενης επιδερμίδας. Η λειτουργικά ενεργή τελομεράση στην ανθρώπινη επιδερμίδα σε συνδυασμό με την απώλεια τελομερών στα κερατινοκύτταρα και τους ινοβλάστες συνηγορούν υπέρ της διαπίστωσης ότι η απώλεια των τελομερών δεν παίζει ρόλο στην εσωτερική γήρανση του δέρματος.(15,23)

3)Μέταλλοπρωτεΐνες κυτταροσκελετού (MMP) και μεταγωγικά σηματοδοτικά μονοπάτια

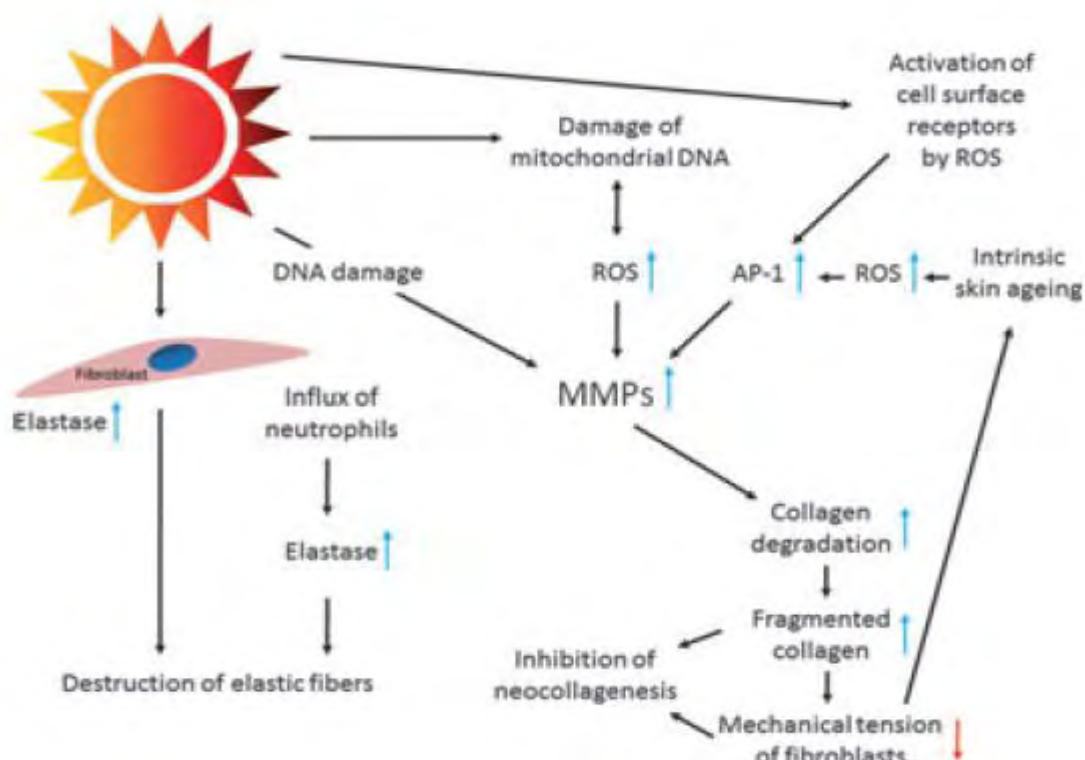
Το κολλαγόνο τύπου I αποτελεί μείζονα δομική πρωτεΐνη του κυτταροσκελετού(ECM) το οποίο εκκρίνεται από τους ινοβλάστες σχηματίζοντας περισσότερο από το 90% του ξηρού βάρους του χορίου του δέρματος. Εκτός από τις MMP πρωτεΐνες που εκκρίνονται, υδρολύονται και πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού όπως οι κολλαγόνες ίνες. Μετά από έκθεση σε πολύ μεγάλες ποσότητες UVB-ακτινοβολίας παρατηρήθηκε αύξηση των MMPs. Η MMP-1 προκαλεί τη διάσπαση του κολλαγόνου τύπου I και επακόλουθη αποδόμηση του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού.

Επιπρόσθετα, η UV-ακτινοβολία ισοδυναμεί με μειωμένη παραγωγή κολλαγόνου. Το φωτογηρασμένο δέρμα διακατέχεται από κατακερματισμένο σκελετό κολλαγόνου από τις MMPs. Το οξειδωτικό στρες το οποίο επάγεται από τη UV-ακτινοβολία προάγει σηματοδοτικούς καταρράκτες μέσω ενεργοποίησης κυτταρικών υποδοχέων. Αυτή η ενεργοποίηση οδηγεί στην αποδιοργάνωση του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού και στην αρνητική ρύθμιση για τη διαδικασία της νεοκολλαγένεσης. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων διεγείρει την ενεργοποίηση των MAP-κινάσης,p38,JNK, και ERK γεγονός που προάγει τη μεταγραφή του μεταγραφικού παράγοντα AP-1. Ο παράγοντας AP-1 επάγει την αποδόμηση του κολλαγόνου μέσω θετικής ρύθμισης του MMP-1, MMP-3 και MMP-9.(15,24) Επιπλέον, η σύνθεση του προκολλαγόνου αναστέλλεται από τη UV-επαγόμενη μεταγραφή του AP-1. Αυξημένα επίπεδα μεταγραφής του AP-1 αναστέλλουν τα αποτελέσματα του TGF-β(μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β), μια κυτοκίνη που προωθεί την παραγωγή του κολλαγόνου. Η αποδόμηση του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού ενισχύεται ακόμη περισσότερο από UV-επαγόμενη ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB. Αυτός ο παράγοντας διεγείρει την έκφραση των MMPs και διαφόρων κυτοκινών και προκαλεί UV απάντηση ενεργοποιώντας υποδοχείς επιφανείας. Έχει δειχθεί σε RNA και σε επίπεδα πρωτεϊνών στο ανθρώπινο δέρμα, ότι η έκθεση σε UVB ακτινοβολία που ήταν το ένα δέκατο της δόσης που απαιτείται για να “κοκκινίσει” το δέρμα προκαλούσε την έκφραση του AP-1 και του NF-κB εντός λεπτών και την έκφραση των MMPs εντός ωρών. Τα αυξημένα επίπεδα MMPs που οφείλονται στη UV-

ακτινοβολία δεν συνοδεύονται από συνακόλουθη παράγωγη των αναστολέων των MMPs(TIMPs). Η επαγωγή των MMPs μπορεί να επηρεάζεται από τη UVA και τη UVB ακτινοβολία. Έκφραση των MMP-1, MMP-3 και MMP-9 συμβαίνει τόσο στα κερατινοκύτταρα όσο και στους ινοβλάστες. Όπως προκύπτει και από το όνομα τους οι MMPs ασκούν πρωτεολυτική δραστηριότητα για να αποδομήσουν τις πρωτεΐνες του σκελετού. Κάθε MMP αποδομεί διαφορετικό συστατικό των δερματικών πρωτεϊνών του σκελετού. Για παράδειγμα η MMP-1 διασπά το κολλαγόνο τύπου I,II,III και τη MMP-9 αποδομεί το κολλαγόνο IV,V και τη ζελατίνη. Μελέτες σε ζώντες οργανισμούς έχουν δείξει ότι οι MMPs στο εκτεθειμένο δέρμα στη UV ακτινοβολία διαχωρίζονται από τα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας και εισχωρούν στο χόριο όπου και συνδέονται με τον εξωκυττάριο κυτταροσκελετό.(15,25,21)

4)Μηχανική τάση και ECM(εξωκυττάρια ουσία/“εξωκυττάριος κυτταροσκελετός”)

Απώλεια της μηχανικής τάσης μπορεί να συνεισφέρει στις μοριακές αλλαγές που δύνανται να ανιχνευθούν στο γηρασμένο δέρμα. Εκτός από τη διαδικασία της κυτταρικής γήρανσης των ινοβλαστών, η μειωμένη νεοκολλαγένεση μπορεί να αποδοθεί στην ελαττωμένη μηχανική διέγερση από τους ινοβλάστες. Στο γηρασμένο δέρμα οι ινοβλάστες καταρρέουν εξαιτίας της απώλειας μηχανικής τάσης που προκαλείται από τη συσσώρευση του κατακερματισμένου κολλαγόνου και την απώλεια των συνδέσεων ανάμεσα στο ανέπαφο οξυγόνο και τους ινοβλάστες. Αυτή η διαδικασία συμβαίνει με μια αύξηση στις μεταλλοπρωτεϊνάσες, στο ενδοκυττάριο οξειδωτικό επίπεδο, στον μεταγραφικό παράγοντα AP-1 και συνοδό μείωση στην παραγωγή κολλαγόνου καταλήγοντας σε έναν συνεχώς αυτοδιαιωνιζόμενο κύκλο.(15,26)



Το παραπάνω σχήμα αναπαριστά σχηματικά τους παράγοντες παθογένεσης της γήρανσης του δέρματος. Η επαγωγή των μεταλλοπρωτεϊνών του κυτταροσκελετού είναι εξαιρετικής σημασίας καθώς αποδομούν το κολλαγόνο και τα συστατικά του στην εξωκυττάρια ουσία . Κυρίως η επαγωγή των ROS που προκαλείται από τη UV ακτινοβολία και η επακόλουθη καταστροφή του DNA καταλήγουν στην αυξημένη επαγωγή μεταλλοπρωτεϊνών στα κερατινοκύτταρα και τους ινοβλάστες. Πρωτεολυτικά ένζυμα όπως η ελαστίνη και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες του κυτταροσκελετού προέρχονται από ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα και συνεισφέρουν στην αποδόμηση του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού. Άλλωστε από τη UV-ακτινοβολία απευθείας διεγείρεται η παραγωγή ελαστάσης από τους ινοβλάστες. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μερική αποδόμηση του κολλαγόνου και τη μειωμένη μηχανική τάση των ινοβλαστών που καταλήγουν σε περαιτέρω παραγωγή των ROS με αποτέλεσμα αυξημένη έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών του κυτταροσκελετού.

Η αποδόμηση των ελαστικών ινών είναι επίσης σχετική με τη γήρανση του δέρματος και ειδικά με το σχηματισμό ρυτίδων. Η έκφραση ελαστάσης στους ινοβλάστες διεγείρεται από τη UV ακτινοβολία η οποία προωθεί την έκκριση κερατινοκυττάρων. Υπέρ-δραστηριότητα της ελαστάσης των ινοβλαστών καταστρέφει τις ελαστικές ίνες και δημιουργεί ρυτίδες.

Λόγω της UV-έκθεσης απελευθερώνεται MMP-1, MMP-8, MMP-9 και ουδετεροφιλική ελαστάση που συμμετέχουν στην αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας.

5)Αγγειακές αλλαγές

Η γήρανση του δέρματος περιλαμβάνει και αλλαγές στην αιμάτωση του δέρματος. Στο θηλώδες χόριο του φωτογηρασμένου δέρματος τόσο το μέγεθος των αγγείων όσο και η πυκνότητα αυτών μειώνεται. Ωστόσο, στο εσωτερικά γηρασμένο δέρμα παρουσιάζεται μείωση μόνο στο μέγεθος των αγγείων διότι η πυκνότητα της ροής του δέρματος στα αγγεία είναι ανεξάρτητη της ηλικίας.(27) Ανισορροπία ανάμεσα στο αναστολές της αγγειογένεσης θρομβοσπονδίνη-1(TSP-1) και τον ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα(VEGF) είναι εξέχουσας σημασίας στις UV-επαγόμενες αγγειακές αλλαγές. Οξεία έκθεση σε UVB-ακτινοβολία οδηγεί στη γένεση ανώριμων αγγείων που πιθανώς οφείλεται στη μειωμένη δραστηριότητα του TSP-1 και την αυξημένη δραστηριότητα του VEGF. Αλλαγές στον εξωκυττάριο κυτταροσκελετό στο φωτογηρασμένο δέρμα υποτίθεται ότι επιτρέπουν την υποτροπή των δερματικών αγγείων.(15)

6)Οξείδωση πρωτεϊνών

Τα γηρασμένα κύτταρα παρουσιάζουν προσθήκη οξειδωμένων πρωτεϊνών και συνεπώς φθίνουσες πρωτεασωμικές δραστηριότητες. Δραστηριοποίηση του πρωτεασώματος(το οποίο αποτελεί πολυκαταλυτική πρωτεΐνη) το οποίο αποδομεί τις οξειδωμένες πρωτεΐνες μειώνεται με την ηλικία. Η οξείδωση των πρωτεϊνών προκύπτει από UV-επαγόμενη εξάντληση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Η επιδερμίδα του φωτογηρασμένου δέρματος παρουσιάζει αρκετά χαμηλότερα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων σε σχέση με το φωτοπροστατευμένο δέρμα. Καθώς τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων είναι χαμηλότερα στο χόριο σε σχέση με αυτά της επιδερμίδας, το φωτογηρασμένο δέρμα παρουσιάζει συσσώρευση οξειδωμένων πρωτεϊνών στο ανώτερο τμήμα του χορίου. Σε συνδυασμό με τη μειωμένη πολλαπλασιαστική δραστηριότητα των ινοβλαστών σε σχέση με τα κερατινοκύτταρα τα μειωμένα επίπεδα των ενζύμων εξηγούν πιθανότατα τη διαταραχή των οξειδωμένων πρωτεϊνών. Συσσώρευση οξειδωμένων πρωτεϊνών και απευθείας συνδεδεμένων πρωτεϊνών οδηγεί στην ενεργοποίηση των πρωτεϊνών και της λιποφουσκίνης και στη μετέπειτα προοδευτική αναχαίτιση των λειτουργιών του πρωτεασώματος. Η ποσότητα των οξειδωμένων πρωτεϊνών του δέρματος σχετίζεται σημαντικά με τη δριμύτητα των κλινικών χαρακτηριστικών της φωτογήρανσης(15,28)

2.5. Παράγοντες κινδύνου εσωτερικής γήρανσης

Εθνικότητα

Η σημαντικότερη επίδραση της εθνικότητας στη γήρανση αφορά κυρίως τις κηλίδες. Στους Αφρο-αμερικανούς παρατηρούνται διαφορές μεταξύ των εκτεθειμένων και των μη εκτεθειμένων περιοχών στον ήλιο. Επιπλέον, το δέρμα των Αφρο-αμερικανών εμφανίζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ενδοκυττάριο λίπος σε σχέση με αυτό των καυκάσιων γεγονός που συνεισφέρει στη γήρανση. Οι ρυτίδες στους ασιάτες έχει δείχθει ότι παρουσιάζονται σε μεγαλύτερη ηλικία και σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τους καυκάσιους αλλά ακόμη δεν γνωρίζουμε την ακριβή αιτία για την οποία συμβαίνει. (29, 30)

Ανατομικές παραλλαγές

Μεγάλη ποικιλία παρατηρείται σε διάφορες παραμέτρους στο δέρμα. Η σύνθεση λίπους στην κερατίνη στιβάδα ποικίλλει ανάλογα με την περιοχή προέλευσης και ως προς το περιεχόμενο και ως προς τον τρόπο σύνθεσης της. Το δέρμα εμφανίζει μεγαλύτερη ακαμψία στο πρόσθιο μέρος της κεφαλής σε σχέση με τα μάγουλα στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες. Σε περιοχές του σώματος με αυξημένη αιματική ροή, η ροή του αίματος μειώνεται με την ηλικία σε σχέση με περιοχές με σταθερά χαμηλή ροή όπου δεν παρατηρούνται διαφορές. Με τη γήρανση η αντίληψη των ερεθισμάτων μειώνεται και είναι πιο εμφανής

στη ρινοχειλική αύλακα και το μάγουλο σε σχέση με το πηγούνι και το μέτωπο. Το γηρασμένο δέρμα είναι λιγότερο ελαστικό και ενυδατωμένο και πιο διαπερατό και ευπαθές. Αυτό οφείλεται στο ότι η λειτουργία του σαν φραγμός δεν είναι απόλυτη σαν φραγμός σε σχέση με τον πήχη στον οποίο παρατηρείται μεγαλύτερη διαδερμική απώλεια νερού. Δεν έχουν παρατηρηθεί αυξημένη ευαισθησία στην ακτινοβολία και τη διαπερατότητα.(29,31)

Ορμονικές αλλαγές στο δερματικό ιστό

Μετα την εμμηνόπαυση συμβαίνουν οι επακόλουθες διάφορες αλλαγές όπως μείωση της περιεκτικότητας σε κολλαγόνο και νερό, τα μαλλιά ασπρίζουν και αραιώνουν κ.α.

Το συνολικό αποτέλεσμα της μείωσης των οιστρογόνων συνεισφέρει στη μειωμένη ικανότητα επούλωσης τραύματος. Η περιεκτικότητα σε κολλαγόνο του δέρματος και το πάχος του μειώνονται με τη μείωση του επιπέδου των ορμονών. Επίσης, οι δραματικές αλλαγές ιδίως στις ορμόνες του θυρεοειδή, της τεστοστερόνης και των οιστρογόνων αλλάζουν την επιδερμική σύνθεση των λιπιδίων. Η ατροφία του γεννητικού ιστού και η μειωμένη κινητικότητα αυτού μπορεί να το καθιστούν πιο ευαίσθητο στις αλλαγές του pH και στη λειτουργία των ενζύμων. Η αμμωνία των ούρων αυξάνει το pH τοπικά που αλλάζει το λειτουργικό φραγμό που προφυλλάσει την ακεραιότητα του δέρματος και στη συνέχεια αυξάνεται η πιθανότητα λοίμωξης του δέρματος (32). Σημαντική μείωση παρατηρείται στο μέγεθος και τον αριθμό των ελεύθερων νευρικών απολήξεων στο γηρασμένο δέρμα που συνοδεύεται και από μείωση του αριθμού των αισθητήρων.(29)

2.6. Παράγοντες κινδύνου εξωτερικής γήρανσης

Κάπνισμα

Εκτός από την έκθεση στη UV ακτινοβολία, την κατανάλωση αλκοόλ, τον τύπο δέρματος και το είδος, η έκθεση στο κάπνισμα είναι ένας εξέχων παράγοντας που συνεισφέρει στη γήρανση. Έχει δειχτεί ότι το κάπνισμα εντείνει το σχηματισμό ρυτίδων. Ανάλυση στην επιφάνεια της δομής του δέρματος έδειξε ότι άνθρωποι που κάπνιζαν για τουλάχιστον 35 χρόνια εμφάνισαν σημαντικά βαθύτερες ρυτίδες σε σχέση με τους μη καπνιστές.(29,33) Όπως και η UV ακτινοβολία, η κατανάλωση νικοτίνης προάγει την έκφραση των MMPs που αποδομούν των εξωκυττάριο κυτταροσκελετό στο ανθρώπινο δέρμα.

Το κάπνισμα εμφανίζει ισχυρή συσχέτιση με την ελαστικότητα και στα δυο φύλα και την εμφάνιση τηλαγγειεκτασιών (εβρυαγγείες στο δέρμα) στους άνδρες (34,35). Αυτό προκαλεί κατά κύριο λόγο την καταστροφή του δέρματος με τη μείωση της ροής του αίματος των τριχοειδών στην επιδερμίδα το οποίο στη συνέχεια στερεί την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών από τον δερματικό ιστό. Έχει

δειχτεί ότι οι καπνιστές έχουν λιγότερο κολλαγόνο και ελαστικές ίνες στο χόριο τους, γεγονός που προκαλεί χαλάρωση στο δέρμα, σκλήρυνση και λιγότερη ελαστικότητα. Το κάπνισμα προκαλεί καταστροφή των κολλαγόνων ινών και των ελαστικών του πνεύμονα και πιθανότατα κάνουν το ίδιο και στο δέρμα. Επιπλέον, στένωση των αγγείων από τη νικοτίνη ενδεχομένως συνεισφέρει στη ρυτίδωση. Το κάπνισμα αυξάνει τη δυσπλασία των κερατινοκυττάρων και την τραχύτητα του δέρματος [1]. Μια ξεκάθαρη σχέση ανάμεσα στο κάπνισμα και την εμφάνιση ρυτίδων έχει ταυτοποιηθεί καθώς το κάπνισμα συνεισφέρει σημαντικά στην εμφάνιση ρυτίδων στο πρόσωπο όσο και η έκθεση στον ήλιο(34,35). Το κάπνισμα αποτελεί αφ εαυτού έναν ισχυρό παράγοντα για την πρόωρη εμφάνιση ρυτίδων ασχέτως ηλικίας, έκθεσης στον ήλιο και χρώματος δέρματος.(35) Επιπρόσθετα, παρόλο που η θεραπεία υποκατάστασης των ορμονών έδειξε ότι υπάρχει αντιστρεπτός ρόλος στην εμφάνιση ρυτίδων, η επιδερμίδα των επί ετών καπνιστών δεν επανήλθε. Ο σχετικός κίνδυνος για μετρίου έως σοβαρού βαθμού ρυτίδωση των καπνιστών ο κίνδυνος εμφάνισης ρυτίδων ήταν τρεις φορές μεγαλύτερος σε σχέση με τους μη καπνίζοντες., με πολύ μεγάλη αύξηση του κινδύνου μετά από δέκα συνεχόμενα χρόνια καπνίσματος.(29)

Exposure to UV light (photoageing)

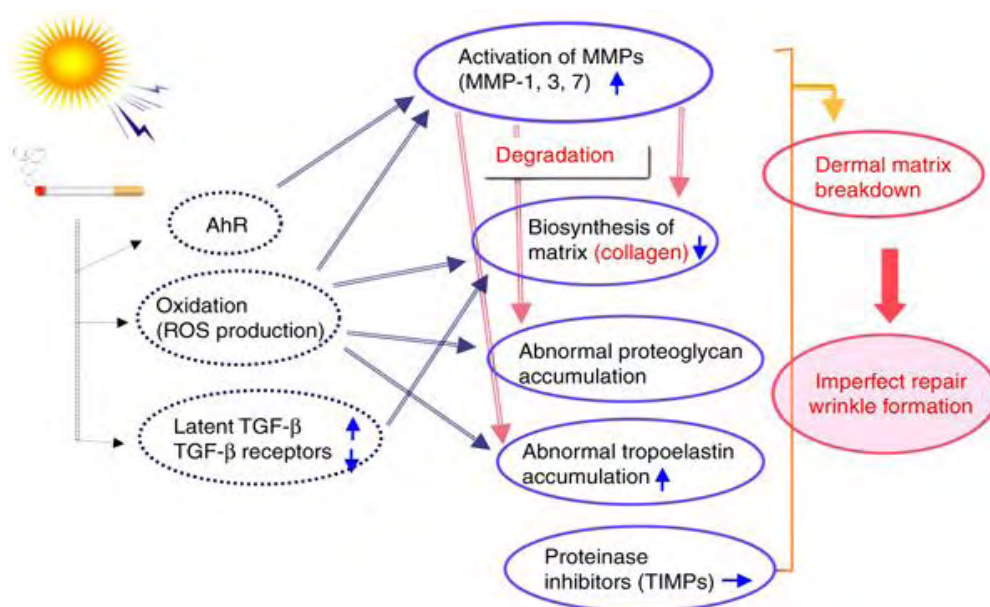
Οι εσωτερικές αλλαγές συμβαίνουν σε όλο το δέρμα καθώς οι άνθρωποι μεγαλώνουν συμπεριλαμβανομένου της θερμορύθμισης, της ηλικίας, της μηχανικής των πρωτεϊνών, την παραγωγή ιδρώτα και σμήγματος και της δραστηριότητας των αγγείων κ.α. (29,36). Αυτές οι αλλαγές συνεισφέρουν σε γενικευμένη ατροφία με αρκετές αλλαγές να συμβαίνουν μέχρι την ηλικία των 50, και να ακολουθούνται από μικρή επιδείνωση.(33). Σε αντίθεση, η ηλιακή έκθεση στη UV ακτινοβολία επάγει μοριακές και κυτταρικές απαντήσεις που καταλήγουν σε αιφνίδια διαταραχή της δυναμικότητας.(33) Τα αποτελέσματα του ήλιου στο δέρμα είναι εμφανή και εκτιμάται ότι ανέρχονται στο 90% της ορατής γήρανσης του δέρματος. (36) κυρίως σε αυτούς χωρίς τη φυσική προστασία που παρέχεται από τα υψηλά επίπεδα κερατινοκυττάρων στο δέρμα. Η ηλιακή ακτινοβολία δημιουργείται από τρεις διαφορετικούς τύπους ακτινοβολίας: UVC, UVB και UVA. Η UVC (100–290 nm) μπλοκάρεται κυρίως από το στρώμα του όζοντος και έχει μικρή επίδραση στο δέρμα. Η UVB (290–320 nm) διεισδύει μόνο στην επιδερμίδα και είναι υπεύθυνη για το ερύθημα που σχετίζεται με το έγκαυμα.. Η UVA απαιτεί πάνω από 1000 φορές υψηλότερα επίπεδα ακτινοβολίας για να προκαλέσει μαύρισμα, γι αυτό και για αρκετά χρόνια θεωρούνταν ότι δεν μετέχει στην καταστροφή του δέρματος. Σήμερα είναι ότι γνωστό ότι επειδή διεισδύει στο χόριο η UVA ίσως να ευθύνεται για το μεγαλύτερο ποσοστό της χρόνια καταστροφή του δέρματος που σχετίζεται με τη φωτογήρανση.

Η ηλιακή ακτινοβολία καταστρέφει το δέρμα μέσω μιας φυσιολογικής διαδικασίας. Η UV ακτινοβολία στο χόριο προκαλεί μοριακές αλλαγές που καταλήγουν στην αυξημένη έκφραση, τόσο στο χόριο όσο και

στην επιδερμίδα, των μεταλλοπρωτεΐνών του κυτταροσκελετού. Αυτές καθορίζουν την παραγωγή κολλαγενάσης, ζελατινάσης και στρομελυσίνης-1 τόσο στους ινοβλάστες όσο και στα κερατινοκύτταρα.. το αποτέλεσμα είναι η διαταραχή τόσο του κολλαγόνου όσο και της ελαστίνης και διαφόρων άλλων συστατικών του εξωκυττάρου κυτταροσκελετού. Η επαναλαμβανόμενη έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία αποφέρει επαναλαμβανόμενες και ολοένα και πιο ελαττωματικές προσπάθειες για επιδιόρθωση της δομής του σκελετού, με επιρροή στη δομή και την οργάνωση του κολλαγόνου. Το αποτέλεσμα είναι διαταραχή τόσο του κολλαγόνου όσο και της ελαστίνης όπως και άλλων εξαρτημάτων του κυτταροσκελετού. Αόρατες αλλαγές στον επιδιορθωμένο σκελετό του δέρματος, μετά από επαναλαμβανόμενη έκθεση στον ήλιο τελικά γίνονται ορατές με γυμνό μάτι με το σχηματισμό ρυτίδων και χαλάρωσης. Η υπεριώδης ακτινοβολία προκαλεί βλάβες στο γονιδίωμα. Η UVB δρα κυρίως δημιουργώντας διμερή πυριμιδίνης που τελικά καταλήγουν σε μεταλλάξεις μέσω λαθών στην αντιγραφή του DNA. Η UVA ακτινοβολία κυρίως προκαλεί καταστροφή του γενετικού υλικού λόγω της δημιουργίας ROS από τις ελεύθερες ρίζες. Παράλληλα, η UV ακτινοβολία προκαλεί έμμεση καταστροφή του δέρματος μέσω της επαγωγής ένζυμων σημαντικών για την επιδιόρθωση του DNA και μέσω της παρέμβασης με συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η UV ακτινοβολία ενδεχομένως να προλαμβάνει την απόπτωση στα εκτεθειμένα στον ήλιο κύτταρα. Η φωτογήρανση είναι το αποτέλεσμα της καταστροφής των κυττάρων από τον ήλιο στα φυσιολογικά γηρασμένα κύτταρα. Η UV ακτινοβολία επάγει φωτοχημικές αλλαγές που μπορούν να οδηγήσουν σε οξεία ή χρόνια αποτελέσματα. Οι κλινικές ενδείξεις της φωτογήρανσης του δέρματος περιλαμβάνουν αλλαγές στο χρώμα, την επιφάνεια του δέρματος και περιλαμβάνουν την πρόωμη έναρξη δυσχρωμίας, εφελκίδων, απουσία του ροδαλού χρώματος, εμφάνιση τηλαγγειεκτασιών. (29,36). Όσον αφορά την υφή οι αλλαγές που παρατηρούμε περιλαμβάνουν τραχύτητα, κεράτωση και εμφάνιση λεπτών ρυτίδων με την τάση να γίνουν βαθύτερες. Η UV ακτινοβολία επηρεάζει και την ανοσολογική λειτουργία του δέρματος. (36,37). Το πάχος της επιδερμίδας αυξάνεται, μετα μειώνεται και αυξάνονται τα άτυπα κερατινοκύτταρα. (36,37). Η UVA διεισδύει πιο βαθιά. Παρότι δεν προκαλεί ερύθημα ίσως να καταστρέφει το χόριο περισσότερο από τη UVB. Οι αλλαγές που παρατηρούμε στο χόριο περιλαμβάνουν την αποδόμηση του κολλαγόνου και την αναδιοργάνωση του ελαστικού ιστού δημιουργώντας ρυτίδες, αυλακώσεις και αποκτώντας πιο κίτρινο χρώμα το δέρμα. Σε σοβαρή καταστροφή από τον ήλιο το χόριο γίνεται πιο παχύ και οι ελαστικές ίνες υποδομούνται.. τα κολλαγόνα ινίδια που είναι σφιχτά τοποθετημένα αντικαθιστούν τις ελαστικές ίνες που τελικά μετατρέπονται σε μια άμορφη μάζα. (36,37). Ο κατεστραμμένος ιστός του δέρματος παρέχει λιγότερη υποστήριξη στα αγγεία και κάνει τα αγγεία να διευρύνονται και να γίνονται πιο ορατά στην επιφάνεια του δέρματος με τη μορφή τηλαγγειεκτασιών. (33) Έχει αναφερθεί ότι ενδεχομένως η UVA ενδέχεται να είναι η υπεύθυνη για το μεγαλύτερο βαθμό της καταστροφής του δέρματος της επιδερμίδας. Παρότι το κύριο αποτέλεσμα της φωτογήρανσης είναι η πάχυνση του ιστού η

σοβαρή καταστροφή οδηγεί σε ραγδαία λέπτυνση αυτού (36, 37). Η έκθεση στον ήλιο δημιουργεί μια κατάσταση χρόνιας φλεγμονής με συνεχώς αυξανόμενα πρωτεολυτικά ενζυμα από φλεγμονώδη κύτταρα που διασπούν το σκελετό του δέρματος. Το δέρμα το οποίο έχει προσβληθεί από τον ήλιο μειώνει την ικανότητα φλεγμονώδους απάντησης. Παρόλο που η συγκέντρωση των ρετινοειδών στο πλάσμα αυξάνεται με την ηλικία, στην επιδερμίδα η βιταμίνη Α καταστρέφεται από την έκθεση στον ήλιο (38). Σε οξεία έκθεση στον ήλιο τα γονίδια με αναπλαστική, προστατευτική ή αποπτωτική λειτουργία ενεργοποιούνται ταχύτατα.(39) Η γήρανση αυξάνει ραγδαία την έκφραση σχετικών γονιδίων μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία. Η έκθεση στη UV ακτινοβολία ρυθμίζει την έκφραση του κολλαγόνου τύπου I,III και VI και επηρεάζει τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την MMP-1 συνεισφέροντας στη γενικότερη αποδιοργάνωση της δομής του δέρματος. Το κολλαγόνο τύπου I εξαρτάται από την ηλικία και το χρόνο για αυτό και μειώνεται μετά από έκθεση στη UV ακτινοβολία. Η φωτογήρανση σχετίζεται με αυξημένη έκφραση των MMP-1 και 9.

Όπως μπορούμε να συμπεράνουμε η γήρανση του δέρματος είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο. προκαλείται τόσο από εσωτερικούς όσο και από εξωτερικούς παράγοντες και καθένας συνεισφέρει σε κάποιο βαθμό μικρότερο η μεγαλύτερο στους διαφόρους μηχανισμούς της είτε προκαλώντας την είτε επιταχύνοντάς την. Εξίσου σημαντική όμως κ πολλά υποσχόμενη λόγω των συνεχών ανακαλύψεων είναι κ η συμβολή της γενετικής στη γήρανση του δέρματος.



Καταρράκτης σηματοδότησης γήρανσης. Εξωτερικά ερεθίσματα ενεργοποιούν τις μεταλλοπρωτεϊνάσες οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν στην αποδόμηση του κολλαγόνου, στη διάσπαση του σκελετού και στο σχηματισμό ρυτίδων

3. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Η γήρανση του δέρματος είναι μια πολύπλοκη διαδικασία και υπόκειται σε πολλαπλές επιρροές υπό την επίδραση κληρονομούμενων και πολλών άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων. Καθώς η κοινωνία μας γίνεται γηραιότερη, οι συνέπειες από τη γήρανση έχουν αρχίσει να λαμβάνουν μεγαλύτερης προσοχής. Βελτίωση της ποιότητας ζωής και πρόληψη των ασθενειών των σχετιζόμενων με την ηλικία έχει ξεκινήσει να λαμβάνει σημαντικής προσοχής στο πεδίο έρευνας της γήρανσης.

Η γήρανση του δέρματος κερδίζει ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον όχι μόνο διότι αντιπροσωπεύει ένα παράθυρο της υγείας του ανθρώπου αλλά κυρίως διότι προβλέπει συστηματικές παθήσεις και το αποτέλεσμα αυτών όπως χρόνιες μεταβολικές παθήσεις συμπεριλαμβανόμενου οστεοπόρωσης, παχυσαρκίας ή την εξέλιξη νευροεκφυλιστικών ασθενειών.(40)

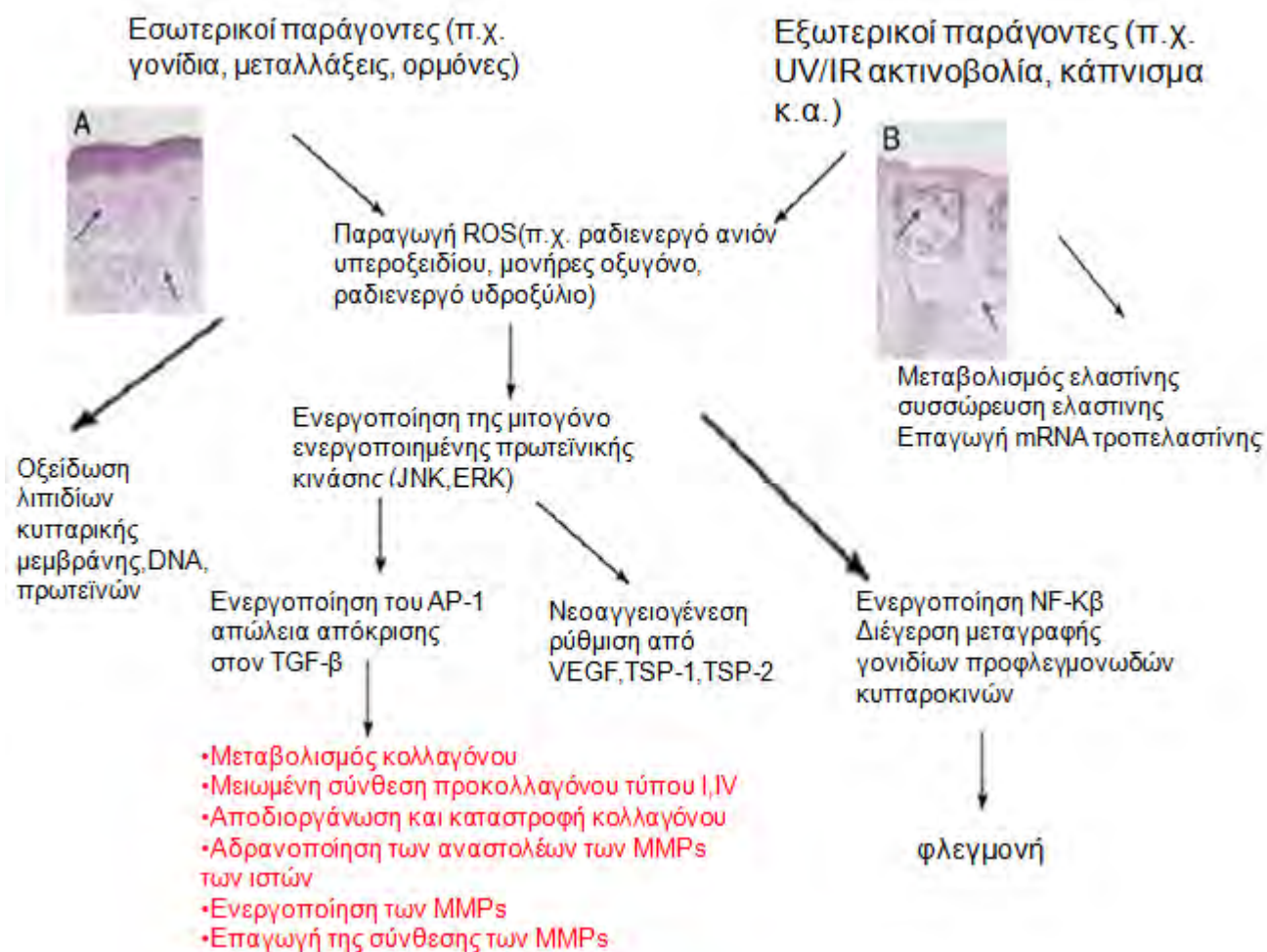
Επιπλέον το δέρμα είναι ένα αισθητήριο όργανο, ένα βιολογικό εργοστάσιο για τη σύνθεση, την προσέγγιση και το μεταβολισμό μεγάλης ποικιλίας δομικών πρωτεϊνών, γλυκανών, λιπιδίων και εκπληρώνει τις ανάγκες ενός κλασσικού ενδοκρινούς οργάνου. Με την πρόοδο της ηλικίας το δέρμα χάνει τα δομικά ή μορφολογικά του χαρακτηριστικά και ως συνέπεια όλες οι λειτουργίες του επιδεινώνονται. Αυτή η επιδείνωση δρα σωρευτικά από ποικίλα περιβαλλοντικά, φυσικά, χημικά ή μηχανικά ερεθίσματα. Σαφή δεδομένα για τη γενετική στη γήρανση του δέρματος δεν υπάρχουν. Τα περισσότερα προέρχονται από μελέτες σε δείγματα ατόμων από φωτο-προστατευμένες ή εκτεθειμένες στο φως περιοχές.(41) Αυτές οι διαδικασίες επαυξάνονται από μεταλλάξεις μιτοχονδριακού DNA , οξειδωση πρωτεϊνών, διαταραγμένη άμυνα έναντι μακρομοριακών αλλαγών από καταστροφή πρωτεϊνών και επαγωγή απόπτωσης. Τόσο η χρονολογική όσο και η φωτογήρανση σχετίζονται με αρνητική ρύθμιση στη βιολογική διαδικασία της σύνθεσης λιπιδίων. Επιπλέον, αναφέρεται μειωμένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση του δέρματος(νήματα κερατίνης και εξαρτήματα της κερατίνης στιβάδας). Η έκφραση των γονιδίων της ελαστίνης ήταν αυξημένη με τη γήρανση μόνο στο φωτογηρασμένο δέρμα και ανεπηρέαστη στο προστατευμένο από το φως. Μερικοί από τους μηχανισμούς που έχουν προταθεί ότι επάγουν τη γήρανση περιλαμβάνουν το διαταγμένο μεταβολισμό των λιπιδίων, τις διακυμάνσεις της ινσουλίνης και την τροποποιημένη σηματοδότηση του STAT3.(42) Άλλοι μηχανισμοί που έχουν αναφερθεί είναι η αυξημένη έκφραση των αποπτωτικών γονιδίων κυρίως λόγω απορρύθμισης του FOXO1 , μειωμένη έκφραση μελών της οικογένειας πρωτεϊνών fos και jun, διαφοροποιημένη έκφραση πρωτεϊνών του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού και πρωτεϊνών που περιλαμβάνονται στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου. Πιθανότατα, ρόλο παίζει και η φυσιολογική μείωση των ορμονών που παρατηρείται με την πρόοδο της ηλικίας. Διαφορετική έκφραση των λιποκυττάρων SZ95 μεταξύ των ηλικιών 20 και 60 αποκάλυψε διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια που

περιλαμβάνονται στις βιολογικές διαδικασίες όπως στην επιδιόρθωση και σταθεροποίηση του DNA, στη μιτοχονδριακή λειτουργία, στον κυτταρικό κύκλο, την απόπτωση και την πρωτεόλυση που προκαλείται από την ουβικιτινοποίηση. Το μονοπάτι που παρουσιάζεται να είναι περισσότερο μεταλλαγμένο στη γήρανση είναι το TGFβ. Επιπρόσθετα, έχουν ταυτοποιηθεί γονίδια τα οποία εκφράζονται σε σηματοδοτικά μονοπάτια που έχουν συσχετίσει με ασθένειες που εμφανίζονται σε ηλικιωμένα άτομα και τα οποία ενδεχομένως να σχετίζονται και με τη γήρανση. Πιθανός προσδιορισμός των επιπέδων mRNA των ινοβλαστών που απομονώθηκαν από νέα, μέσης ηλικίας και ηλικιωμένα άτομα με σύνδρομο προγηρίας έχουν δείξει ότι η παθολογία των χρωμοσωμάτων μπορεί να καταλήξει σε απορρύθμιση των δομικών, σηματοδοτικών και μεταβολικών γονιδίων τα οποία σχετίζονται με τη γήρανση. Ακόμη, ανεπάρκεια ορμονών κατέδειξε σημάδια πρόωρης γήρανσης όπως ξηρό, λεπτό και ρυτιδωμένο δέρμα κ.α. Τα δεδομένα αυτά προκύπτουν από μελέτες που καταδεικνύουν τη σπουδαιότητα των ορμονών στη διαδικασία της γήρανσης.(41,42)

Διαφορές παρατηρούνται στη διαδικασία της γήρανσης του δέρματος ανάμεσα στο άρρεν και το θήλυ. Τα ανδρογόνα παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση της μορφολογίας του δέρματος. Έχουν βρεθεί χαρακτηριστικά του φύλου για τη δομή του δέρματος. Ανάλυση της ρύθμισης των βιολογικών διαδικασιών, κυτταρικών συστατικών, μοριακών λειτουργιών και μονοπατιών κατέδειξε ομοιότητες μόνο σε κάποιες περιπτώσεις. Αυτό το γεγονός σηματοδοτεί ότι η εσωτερική γήρανση και στα δυο φύλα μπορεί να διαφέρει σημαντικά.

Αύξηση του οξειδωτικού μηχανισμού παρατηρείται μόνο στα άρρενα άτομα κ/ή διαφορές στην ορμονο-σχετιζόμενη αντιοξειδωτική ικανότητα. Με στόχο να διαπιστωθεί πιθανή συσχέτιση ανάμεσα στο αυξημένο οξειδωτικό στρες, την καταστροφή του DNA και την ADP-ριβοζυλίωση της δραστηριότητας του NAD-εξαρθώμενου DNA επιδιορθωτικού ενζύμου PARP έχουν μελετηθεί οι αλλαγές που παρατηρούνται στη γήρανση του δέρματος και εδείχθη σημαντική συσχέτιση για τα άρρενα άτομα. Το γεγονός αυτό κατέδειξε ότι η γήρανση μπορεί να προκαλείται από διαφορετικά μονοπάτια και μηχανισμούς μεταξύ των δυο φύλων.(43)

Διαφορετικά χαρακτηριστικά γήρανσης παρατηρούνται και ανάλογα με την εθνικότητα όπως η απολέπιση, οι κηλίδες, οι ρυτίδες, η χαλάρωση, και η σμηγματοτορροϊκή έκκριση διαφέρουν σε κάθε πληθυσμό.(44)



Παρά τις εξελίξεις στη διεκρίνιση της γενετικής βάσης της μακροζωίας και της γήρανσης στα ποντίκια, στον άνθρωπο δεν υπάρχουν ακόμη πιστοποιημένα δεδομένα. Η μοναδική εξαίρεση ήταν μια υποψήφια περιοχή η οποία πρόεκυψε από μια μελέτη ανάλυσης του γονιδιώματος που υποδείκνυε μια υποψήφια περιοχή με πιθανή συσχέτιση για μακροζωία που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4. Η υποψήφια περιοχή είναι η 4q25 η οποία πρόσφατα ταυτοποιήθηκε και βρέθηκε ένας απλότυπος που κωδικοποιεί μια μεταφορική πρωτεΐνη την MTP, σύμφωνα με τη μελέτη των *Makrantonaki et al, Molecular Mechanisms of Skin Aging State of the Art* (10). Παρολ' αυτά, τα αποτελέσματα δεν μπόρεσαν να επιβεβαιωθούν και η λειτουργική σχέση της MTP με το φαινότυπο μακροζωίας δεν αποδείχτηκε. Πρόσφατα, παρατηρήθηκε ότι γονίδια που αποκρίνονται στο στρες ιδιαιτέρως η πρωτεΐνη HSP70 που βρίσκεται στην περιοχή του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας στο μικρό σκέλος του χρωμοσώματος 6 έχει λάβει ιδιαίτερης προσοχής καθώς παρουσιάζει ιδιαίτερη σημαντική συσχέτιση με τη μακροζωία και την επιβίωση.(10,45) Στη μελέτη των *Lener et al. 2006* αναφέρεται ότι απορρύθμιση του FOXO1 και μειωμένη ρύθμιση μελών

της οικογένειας των *fos* και *jun*, η διαφοροποιημένη έκφραση των πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού, των συστατικών του ECM και των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, η διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων και η σηματοδότηση του STAT3 ενέχονται στο πιθανούς μηχανισμούς. Το μονοπάτι TGF- β φαίνεται να ήταν το μονοπάτι με τις μεγαλύτερες τροποποιήσεις. Διάφορες θεωρίες έχουν προταθεί για τη διαδικασία της γήρανσης. Σ αυτές περιλαμβάνονται:

1. Η κυτταρική γήρανση
2. Μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA
3. Απώλεια τελομερών
4. Σημειακές μεταλλάξεις του εξωπυρηνικού μιτοχονδριακού DNA
5. Οξειδωτικό στρες
6. Αυξημένη συχνότητα χρωμοσωμικών δυσμορφιών
7. Μόνο-γονιδιακές μεταλλάξεις
8. Ορμόνες (10,46-48)

Makrantonaki et al, Molecular Mechanisms of Skin Aging State of the Art, (10)

Η εξέλιξη στις ερευνητικές μεθόδους της γενετικής, η ανάπτυξη τεχνικών σάρωσης του γονιδιώματος (GWAS) και μελέτες NGS έφεραν στην επιφάνεια περισσότερα δεδομένα για τα γονίδια τα οποία πιθανότατα συμβάλλουν στην ανάπτυξη διαφόρων χαρακτηριστικών που σχετίζονται με τη γήρανση του δέρματος.

Λίγα χρόνια αργότερα μια μελέτη ανάλυσης γονιδιώματος διενεργήθηκε σε 50 γαλλίδες για να ταυτοποιήσει γενετικούς παράγοντες που πιθανόν επηρεάζουν τη δριμύτητα της γήρανσης. Η εσωτερική γήρανση είναι μια αναπόφευκτη διαδικασία. Το ίδιο αναπόφευκτη όμως είναι και η εξωτερική γήρανση σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό καθώς ζούμε σε ένα περιβάλλον στο οποίο εκτιθέμεθα συνεχώς στη UV-ακτινοβολία η οποία αποτελεί το κύριο ερέθισμα της εξωτερικής γήρανσης. Μέχρι τώρα η ανίχνευση γονιδίων που επηρεάζουν τη γήρανση του δέρματος δεν ήταν ιδιαίτερα ανεπτυγμένη και περιορίζεται κυρίως στο γονίδιο MC1R ή σε γονίδια τα οποία που εμπεριέχονταν σε παθολογικές καταστάσεις στη γήρανση του δέρματος. Στη μελέτη ανάλυσης του γονιδιώματος που αναφέραμε συμμετείχαν 502 γαλλίδες καυκάσιες μέσης ηλικίας. Από την ανάλυση του γονιδιώματος αυτών απομονώθηκαν 795.063 μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP) που μελετήθηκαν. Ακολούθησε συσχέτιση μεταξύ

γονότυπων και 4 δεικτών γήρανσης δέρματος (καθολική γήρανση, ρυτίδες ,χαλάρωση ,εφελκίδες) σχετικά με την ηλικία ,το κάπνισμα ,το χρόνο έκθεσης στον ήλιο, το ορμονικό προφίλ. *Clerc S et al at JID 2013(49)*

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά του δείγματος των γυναικών που συμμετείχαν σε σχέση με τη δριμύτητα της γήρανσης. Βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα σε όλες τις μεταβλητές σε σχέση με την ηλικία και το ορμονικό προφίλ των γυναικών.(πίνακας 1)

Μάλιστα όσον αφορά την ηλικία βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της ηλικίας με όλες τις μεταβλητές: ρυτίδες, χαλάρωση, κηλίδες, καθολική φωτογήρανση(πίνακας 2)

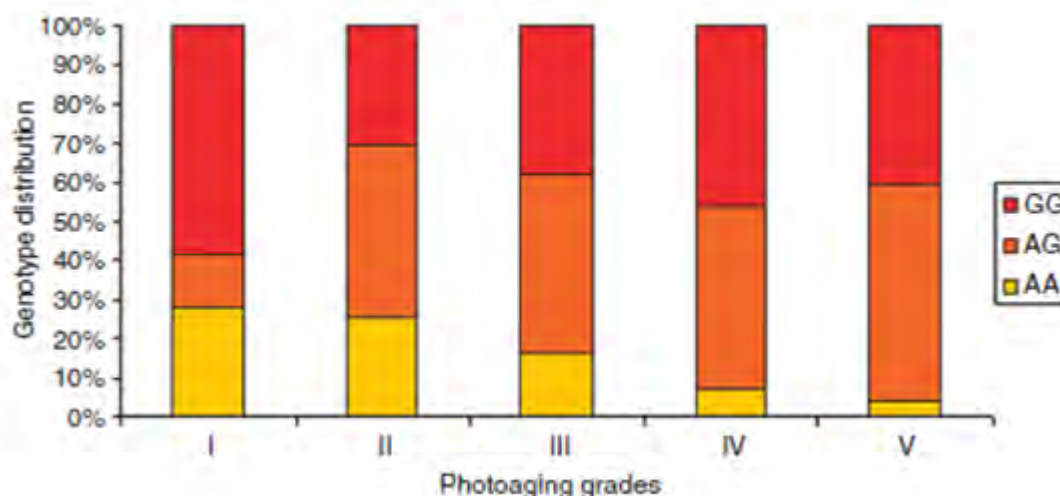
Πίνακας 1

	Photoaging severity					Total, N= 502	P-value of test
	Grade 1 N=43	Grade 2 N=86	Grade 3 N=174	Grade 4 N=150	Grade 5/6 ¹ N=49		
Age (years)	50.1 ± 4.2 ²	54.1 ± 5.0	56.8 ± 5.5	60.9 ± 5.6	62.6 ± 5.2	57.6 ± 6.4	<0.0001 ³
Lifetime sun exposure (score)	5.3 ± 3.4	5.1 ± 3.5	5.2 ± 3.6	5.5 ± 3.5	5.5 ± 3.5	5.3 ± 3.5	0.84 ³
BMI classification							0.49 ⁴
Normal	28 (8.4) ⁵	57 (17.0)	121 (36.1)	94 (28.1)	35 (10.4)	335 (66.7)	
Overweight	9 (7.4)	19 (15.6)	37 (30.3)	45 (36.9)	12 (9.8)	122 (24.3)	
Obese	6 (13.3)	10 (22.2)	16 (35.6)	11 (24.5)	2 (4.4)	45 (9.0)	
Hormonal status							<0.0001 ⁴
Nonmenopausal	27 (28.7)	24 (25.5)	32 (34.0)	9 (9.6)	2 (2.2)	94 (18.7)	
Menopausal with HRT	9 (3.4)	40 (15.3)	98 (37.4)	92 (35.1)	23 (8.8)	262 (52.2)	
Menopausal without HRT	7 (4.8)	22 (15.1)	44 (30.1)	49 (33.6)	24 (16.4)	146 (29.1)	
Smoking habits							0.61 ⁴
Never	23 (8.0)	45 (15.7)	100 (35.0)	86 (30.1)	32 (11.2)	286 (57.0)	
Former smoker	15 (9.3)	34 (21.3)	50 (31.2)	47 (29.5)	14 (8.7)	160 (31.9)	
Current smoker	5 (8.9)	7 (12.5)	24 (42.8)	17 (30.4)	3 (5.4)	56 (11.1)	
Eye color							0.21 ⁴
Blue/gray	14 (10.3)	18 (13.2)	50 (36.8)	36 (26.5)	18 (13.2)	136 (27.2)	
Green/hazel/brown/black	28 (7.8)	68 (18.7)	122 (33.6)	114 (31.4)	31 (8.5)	363 (72.8)	
Hair color at 20 years							0.08 ⁴
Blond/red	4 (3.7)	20 (18.6)	40 (37.0)	28 (25.9)	16 (14.8)	108 (21.6)	
Light and dark brown/black	38 (9.7)	66 (16.9)	132 (33.8)	122 (31.2)	33 (8.4)	391 (78.4)	
Skin color without tanning							0.78 ²
Fair	35 (9.0)	65 (16.0)	136 (35.0)	113 (29.2)	39 (10.0)	388 (77.0)	
Dark	7 (6.3)	21 (10.9)	36 (32.4)	37 (33.3)	10 (9.0)	111 (22.2)	
History of facial freckles							0.40 ⁴
No	25 (8.5)	55 (18.7)	104 (35.4)	87 (29.6)	23 (7.0)	294 (58.9)	
Yes	17 (8.3)	31 (15.1)	68 (33.2)	63 (30.7)	26 (12.7)	205 (41.1)	
Suntan intensity							0.71 ⁴
None/slight/light	23 (7.7)	49 (16.3)	101 (33.7)	96 (32.0)	31 (10.3)	300 (60.1)	
Dark/very dark	19 (9.5)	37 (18.6)	71 (35.7)	54 (27.2)	18 (9.0)	199 (39.9)	
Sunburn event frequency							0.74 ⁴
None/rare	28 (7.8)	61 (17.0)	123 (34.4)	113 (31.6)	33 (9.2)	358 (71.7)	
Frequent/constant	14 (9.9)	25 (17.7)	49 (34.0)	37 (26.2)	16 (11.4)	141 (28.3)	

Πίνακας 2

	Age	Score of wrinkling	Score of sagging	Score of lentigines	Grade of photoaging
Age	1	0.61	0.61	0.27	0.56
Score of wrinkling		1	0.71	0.31	0.78
Score of sagging			1	0.26	0.66
Score of lentigines				1	0.31
Grade of photoaging					1

Ένα SNP το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3 (στην περιοχή 3q13.33), το rs322458 του γονιδίου STXBP5L, βρισκόταν σε ανισορροπία σύνδεσης με πέντε SNP στην ιντρονική περιοχή του γονιδίου STXBP5L (rs470647, rs612545, rs617332, rs645045, and rs1795413), και με δυο διαγονιδιακά SNP (rs377374 και rs450614). Όταν έγινε νέα ομαδοποίηση των ατόμων συμφωνά με το βαθμό γήρανσης βρέθηκε ότι τα άτομα που είχαν τον ομόγυζο γονότυπο rs3224587-AA παρουσίαζαν αντιστρόφως ανάλογη βαρύτητα για το βαθμό της φωτογήρανσης όπως φαίνεται και στο διάγραμμα που ακολουθεί.



Ο γονότυπος rs470647-AA του STXBP5L βρέθηκε ότι αυξάνει την έκφραση ενός γειτονικού γονιδίου του FBXO40 με το οποίο βρίσκεται σε κοντινή απόσταση. Στη συνέχεια ακολούθησε συσχέτιση του SNP με την εμφάνιση ρυτίδων, χαλάρωσης και εφελκίδων και βρέθηκε συσχέτιση με τη χαλάρωση και τις ρυτίδες που είναι χαρακτηριστικά ανεξαρτήτως του βαθμού της φωτογήρανσης αλλά δεν βρέθηκε συσχέτιση με τις εφελκίδες αποδεικνύοντας ότι ο ρόλος του στη φωτογήρανση δεν επηρεάζει τη χροιά του δέρματος. Παράλληλα, αποδείχτηκε ότι η χαλάρωση και οι ρυτίδες μπορεί να μοιράζονται κοινούς μοριακούς μηχανισμούς.

Δεδομένα που πρόεκυψαν από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης κατέδειξαν σημαντικό ρόλο του SNP rs322458 στην έκφραση του δέρματος ενός γειτονικού γονιδίου FBXO40.(50) Ανάλυση απλοτύπων από περιοχές των γονιδίων STXBP5L και FBXO40 κατέδειξαν θετική συσχέτιση αποδεικνύοντας ότι παρουσία του επικρατούς αλληλίου G συνδέεται ισχυρά με άλλα αλληλία τα οποία συμμετέχουν στο φαινότυπο του δέρματος.

Συνεπώς, ισχυρή συσχέτιση βρέθηκε για τη χαλάρωση και τις ρυτίδες με το γονίδιο STXBP5L(3q13.33). Μόνο ένα SNP το rs322458 του γονιδίου STXBP5L στο χρωμόσωμα 3 συσχετίστηκε με την καθολική γήρανση, τις ρυτίδες και τη χαλάρωση αλλά όχι με τις εφελκίδες. Ο γονότυπος rs322458-AA του γονιδίου STXBP5L είναι αντιστρόφως ανάλογος της βαρύτητας της γήρανσης. Τέλος, αναφέρεται πιθανή συσχέτιση του SNP rs470647-AA του STXBP5L με το γονίδιο FBXO40 το οποίο ενδεχομένως να εμπλέκεται στη γήρανση(ρυτίδωση και χαλάρωση).(49)

Σε σύντομο χρονικό διάστημα μια νέα μελέτη των *Naval J. et al at Dove Press 2014* (51) φέρνει στην επιφάνεια ενδείξεις ότι έως 60% της ποικιλομορφίας που παρατηρείται στη γήρανση του δέρματος καθορίζεται από γενετικούς παράγοντες ενώ το υπόλοιπο 40% οφείλεται σε μη-γενετικούς παράγοντες. Οι εξελίξεις στον τομέα της γενωμικής και της βιοπληροφορικής οδήγησαν στη συσχέτιση των SNP με τις ιδιότητες του δέρματος. Ταυτοποιήθηκαν ορισμένες πρωτεΐνες κλειδιά και SNP γονιδίων που σχετίστηκαν με σημαντικές ιδιότητες που συμβάλλουν στη γήρανση του δέρματος. Απομονώθηκαν 13 SNP από γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συνδέονται δυναμικά με τη γήρανση του δέρματος. 120 γυναίκες εθελόντριες ομαδοποιήθηκαν σε 10 ομάδες σύμφωνα με το γονότυπο τους. Πρόκειται για μια επιδημιολογική cross-sectional μελέτη ανάλογα με τις ιδιότητες του δέρματος τους: ενυδάτωση, ελαστικότητα, αντιοξειδωτική ικανότητα για την αντιληπτή ηλικία. Ακολούθησε μελέτη με την πλατφόρμα Affymetrix και έγινε μελέτη των SNP των οποίων οι πρωτεΐνες συνεισφέρουν στην αντιληπτή ηλικία και κατηγοριοποιήθηκαν οι εθελοντές ανάλογα με τη συχνότητα των SNP.

Ταυτοποιήσαμε τα γονίδια τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες που περιλαμβάνονται στην ενυδάτωση του δέρματος, στην ελαστικότητα και στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Από την ανάλυση του γονιδιώματος συνολικά ταυτοποιήθηκαν 72 πρωτεΐνες. Από αυτές οι 39 σχετίστηκαν με την ελαστικότητα του

δέρματος, οι 6 με την ενυδάτωση και οι 27 με την αντιοξειδωτική ικανότητα. Έγινε ταυτοποίηση των πρωτεϊνών που έχουν SNP τα οποία σχετίζονται με τη γήρανση. Ταυτοποιήθηκαν συνολικά 13 SNP σε 10 πρωτεΐνες οι: NAD(P)H αφυδρογονάση-1, μεταλλοπρωτεϊνάση σκελετού-1, δισμουτάση του υπεροξειδίου II, ερυθροειδικός παράγοντας-2, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης - 1, καταλάση, μεταλλοπρωτεϊνάση σκελετού-3, ιντερλευκίνη-6, μεταλλοπρωτεϊνάση σκελετού-9 και ακουαπορίνη-3. Ακολουθεί ο πίνακας με τα SNP τα οποία απομονώθηκαν και η συχνότητα των SNP στον πληθυσμό

Έγινε συλλογή του DNA σε κατάλληλους σωλήνες συλλογής DNA και γονοτυπική ανάλυση των επιλεγμένων SNP με τη μέθοδο Affymetrix και στη συνέχεια ανάλυση των αλληλίων με φθορισμό με ποσοτική real-time πολυμεράση. Οι γενετικοί πολυμορφισμοί ομαδοποιήθηκαν με βάση τα παρακάτω κριτήρια: 1) προσδιορίστηκε ένας συνολικός αριθμός ομάδων μεταξύ δυο και είκοσι 2) ταυτοποιήθηκαν γενετικές ομάδες που εξηγούν τις διαφορές στις επιδράσεις των πολυμορφισμών των SNP σε μεταβολικό και βιοχημικό επίπεδο για τις ιδιότητες του δέρματος. Στη συνέχεια ακολούθησε ανάλυση κατά το πόσο κάθε SNP συνεισφέρει σε κάθε ομάδα και παρουσιάζεται παρακάτω

SNP (rs number)	Protein name	UniProt code	Skin property	SNP variant	SNP effect		Reference list number
					Expression	Activity	
rs1800566	NAD(P)H dehydrogenase [quinone] I	P15559	Skin antioxidant capacity	C:C T:T		+1 -1	20
rs1799750	Matrix metalloproteinase-1	P03956	Skin elasticity	∅		-1	21
rs4880	Superoxide dismutase II	P04179	Skin antioxidant capacity	T:T C:C		-1 +1	22
rs1141718	Superoxide dismutase II	P04179	Skin antioxidant capacity	T:T C:C		+1 -1	23
rs35652124	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	Q16236	Skin antioxidant capacity	T:T C:C		-1 +1	24
rs6706649	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	Q16236	Skin antioxidant capacity	C:C T:T		+1 -1	25
rs6721961	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	Q16236	Skin antioxidant capacity	G:G T:T		+1 -1	26
rs1050450	Glutathione peroxidase I	P07203	Skin antioxidant capacity	C:C T:T		-1 +1	27
rs1001179	Catalase	P04040	Skin antioxidant capacity	A:A G:G		+1 -1	28
rs3025058	Matrix metalloproteinase-3	P08254	Skin elasticity	T:T ∅		+1 -1	29
rs1800795	Interleukin-6	P05231	Skin elasticity	G:G C:C		+1 -1	30
rs3918242	Matrix metalloproteinase-9	P14780	Skin elasticity	C:C T:T		-1 +1	31
rs17553719	Aquaporin-3	Q92482	Skin hydration	A:A G:G		+1 -1	32

Βρέθηκαν 13 γονίδια και συγκεκριμένα οι πολυμορφισμοί αυτών και υπολογίστηκε η συχνότητα των πιθανών γονοτύπων καθενός SNP στον πληθυσμό και προσδιορίστηκε έναν επηρεάζουν το φαινότυπο για το χαρακτηριστικό το οποίο ελέγχουν. Με +1 ορίζεται ο επηρεασμός του κάθε γονοτύπου του SNP στο φαινότυπο και με -1 δεν επηρεάζει ο γονότυπος του SNP το φαινότυπο.

rs1800566 (NADPH)		rs1001179 (ΚΑΤΑΛΑΣΗ)		rs35652124 (ΕΡΥΘΡΟΕΙΔΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ 2)		rs3918242 (MMP-9)	
C:C	62%	A:A	12%	C:C	8%	C:C	71%
T:C	31%	G:A	27%	T:C	39%	C:T	24%
T:T	8%	G:G	61%	T:T	53%	T:T	4%
rs1799750 (MMP-1)		rs3025058 (MMP-3)		rs6706649 (ΕΡΥΘΡΟΕΙΔΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ 2)		rs6721961 (ΕΡΥΘΡΟΕΙΔΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ 2)	
÷	26%	÷	29%	C:C	78%	G:G	72%
G:-	49%	T:-	44%	T:C	17%	T:G	27%
G:G (ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ 2)	26%	T:T	27%	T:T	5%	T:T	1%
rs4880		rs1800795 (IL-6)		rs1050450 (ΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ I)			
C:C	26%	C:C	9%	C:C	52%		
C:T	49%	C:G	52%	T:C	39%		
T:T	25%	G:G	39%	T:T	9%		
rs1141718 (ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ 2)		rs17553719 (AQU-3)					
T:T	100%	A:A	49%				
C:T	0%	G:A	42%				
C:C	0%	G:G	9%				

Κάθε SNP παρουσίαζε 3 γονοτύπους και κάθε ένας είχε διαφορετική συχνότητα εμφάνισης στον πληθυσμό. Μικρότερος πολυμορφισμός βρέθηκε στο γονότυπο των snp rs3918242(MMP-9), rs1141718(δισμουτάση υπεροξειδίου 2) και rs6721961(ερυθροειδικός παράγοντας2) όσον αφορά τον επηρεασμό τους στο φαινότυπο και συγκεκριμένα ο γονότυπος των rs1141718(δισμουτάση υπεροξειδίου 2) T:T και rs6721961G:G(ερυθροειδικός παραγοντας2) είχαν επίδραση στο φαινότυπο και επηρέαζαν την αντιοξειδωτική ικανότητα του δέρματος ενώ ο γονότυπος C:C του snp rs3918242(MMP-9) δεν επηρέαζε την ελαστικότητα του δέρματος παρά μόνον στα άτομα τα οποία είχαν γονότυπο T:T

Οι εθελοντές κατανεμήθηκαν σε 10 ομάδες ανάλογα με τους πολυμορφισμούς που διέθεταν για τα διάφορα χαρακτηριστικά του δέρματος: ενυδάτωση, ελαστικότητα και αντιοξειδωτική ικανότητα για την ηλικία που αντιλαμβανόμαστε.

rs1800566		rs1001179		rs35652124		rs3918242	
C:C	62%	A:A	12%	C:C	8%	C:C	71%
T:C	31%	G:A	27%	T:C	39%	C:T	24%
T:T	8%	G:G	61%	T:T	53%	T:T	4%
rs1799750		rs3025058		rs6706649		rs6721961	
-:-	26%	-:-	29%	C:C	78%	G:G	72%
G:-	49%	T:-	44%	T:C	17%	T:G	27%
G:G	26%	T:T	27%	T:T	5%	T:T	1%
rs4880		rs1800795		rs1050450			
C:C	26%	C:C	9%	C:C	52%		
C:T	49%	C:G	52%	T:C	39%		
T:T	25%	G:G	39%	T:T	9%		
rs1141718		rs17553719					
T:T	100%	A:A	49%				
C:T	0%	G:A	42%				
C:C	0%	G:G	9%				

Ομάδα 1: άτομα με γενετική προδιάθεση για την ελαστικότητα του δέρματος

Ομάδα 2: άτομα με γενετική προδιάθεση που αφορά στην οξειδωτική καταστροφή

Ομάδα 3: άτομα με γενετική προδιάθεση για διατήρηση της ενυδάτωσης του δέρματος.

Ομάδα 4: άτομα με γενετική προδιάθεση οξειδωτικής καταστροφής με συνυπάρχοντα SNP για την ελαστικότητα του δέρματος

Ομάδα 5: γενετική προδιάθεση έναντι της καταστροφής του οξειδωτικού στρες

Ομάδα 6: γενετική προδιάθεση για απώλεια ελαστικότητας του δέρματος

Ομάδα 7: γενετική ικανότητα για κατάλληλη ελαστικότητα του δέρματος και αντιοξειδωτική ικανότητα

Ομάδα 8: γενετική προδιάθεση για οξειδωτική καταστροφή του δέρματος

Ομάδα 9: γενετική προδιάθεση για ελαστικότητα του δέρματος

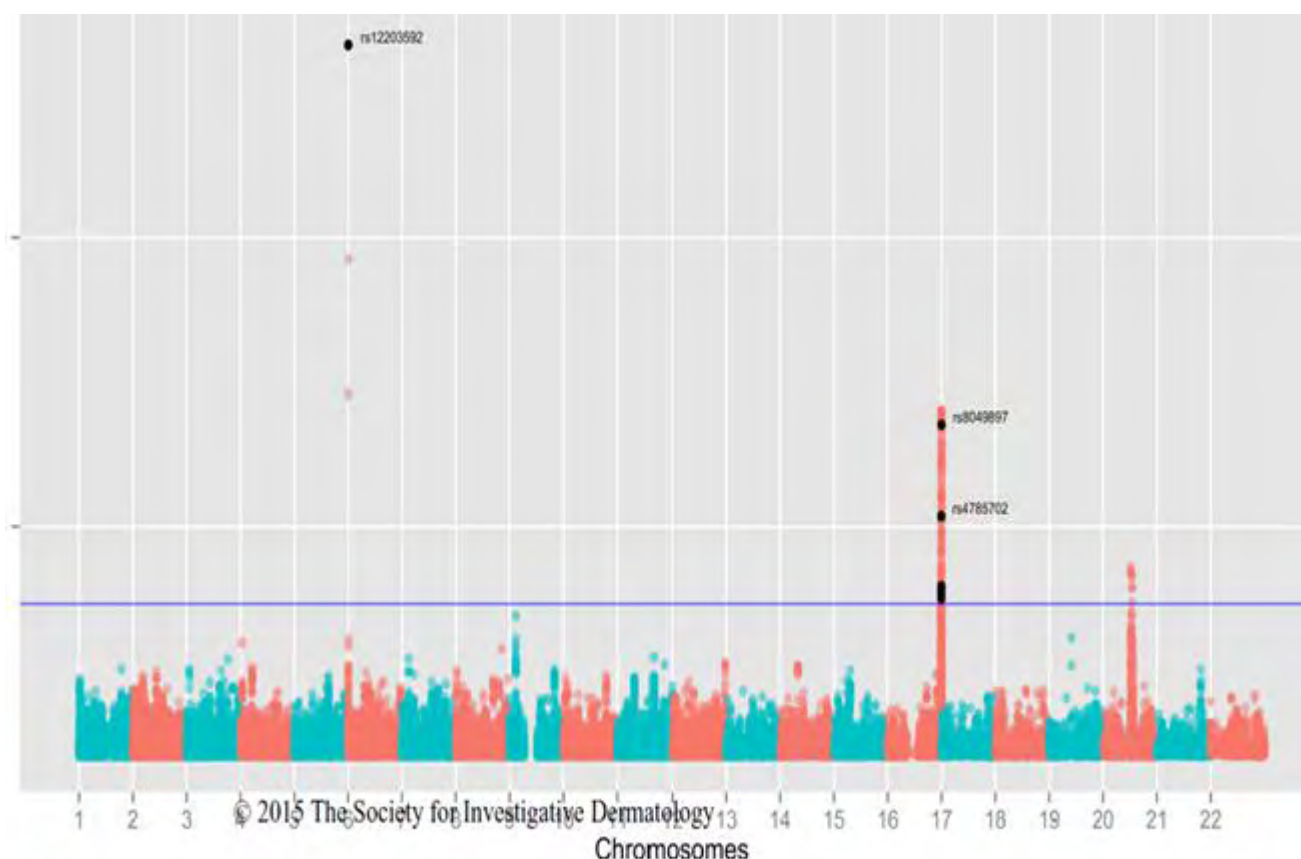
Ομάδα 10: άτομα με γενετική ικανότητα ενάντια στην οξειδωτική καταστροφή και με γενετική προδιάθεση για την απώλεια ελαστικότητας και ενυδάτωσης

Κάθε ομάδα έχει διαφορετικές ανάγκες ανάλογα με τα snp τα οποία διαθέτει και διαφορετικό γενετικό προφίλ και γι αυτό θα πρέπει η θεραπεία να είναι εξατομικευμένη κ σύμφωνα με την ομάδα που ανήκει.

Ένα ακόμη βασικό χαρακτηριστικό της γήρανσης του δέρματος είναι οι κηλίδες. Μια μεγάλη μελέτη ανάλυσης γονιδιώματος (GWAS) των *Jacobs et al, at JID 2015* (52) που έγινε σε 2844 δανούς ευρωπαίους επιδίωξε να συσχετίσει την εμφάνιση κηλίδων με τρεις γενετικούς τόπους τους: **IRF4** (rs12203592, $P=1.8 \times 10^{-27}$), **MC1R**, **RALY/ASIP** (rs6059655 $P=1.9 \times 10^{-9}$), **BNC2**(rs62543565, $P=2.3 \times 10^{-8}$) που βασίζονταν σε γενετικά μονοπάτια ανεξάρτητα από την παραγωγή μελανίνης στη βασική στιβάδα. Στη συνέχεια ακολούθησε ανάλυση των αποτελεσμάτων και προσαρμογή των συσχετίσεων με ταυτοποιημένες συσχετίσεις ως προς το χρώμα δέρματος για να αποσαφηνιστεί η ανεξαρτησία τους ως προς αυτό ή όχι, όπου τελικά αποδείχτηκε ότι ήταν μερικώς μόνον ανεξάρτητα από

το χρώμα του δέρματος. Από τη μελέτη ανάλυσης του γονιδιώματος πρόεκυψαν 167 SNP από 3 απομακρυσμένους γενετικούς τόπους έδειξαν σημαντική συσχέτιση ως προς την εμφάνιση κηλίδων. Ο γενετικός τόπος *IRF4* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6p25 και πιο ισχυρή συσχέτιση εμφανίζει το SNP *rs12203592(T)* στο τέταρτο ιντρόνιο του *IRF4*. Ο γενετικός τόπος *MC1R* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 16q24 και πιο ισχυρή συσχέτιση παρουσιάζει το SNP *rs35063026(T)* το οποίο βρίσκεται στο εξόνιο 3 του γονιδίου *c16orf55/SPATA33* περίπου 250 kb ανοδικά του γονιδίου *MC1R*. Ο γενετικός τόπος *ASIP* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 20q11 και εμφανίζει πιο ισχυρή συσχέτιση το SNP *rs6059655(A)* που βρίσκεται στο ιντρόνιο 8 του γονιδίου *RALY* (το *RALY* βρίσκεται λιγότερο από 200 kb ανοδικά του γονιδίου *ASIP*) και έχει σημαντική ανισορροπία σύνδεσης στα σημαντικότερα συσχετιζόμενα SNP του *ASIP* (*rs1205312(A)*, και *rs6059655*). Στη συνέχεια διενεργήθηκε μια δεύτερη μελέτη ανάλυσης γονιδιώματος των τριών σημαντικότερων SNP (*rs12203592 (IRF4)*, *rs35063026(MC1R)*, και *rs6059655 (RALY/ASIP)*). Σ αυτήν τα SNP των γενετικών τόπων *IRF4* και *RALY* δεν σχετίστηκαν σημαντικά για εμφάνιση κηλίδων. Σε αντίθεση, μεγάλος αριθμός SNP για το γενετικό τόπο *MC1R* έδειξαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Ένα ακόμη SNP στο χρωμόσωμα 9p22 το *rs62543565(C)* έδειξε σημαντική συσχέτιση για την εμφάνιση κηλίδων στο δέρμα. Αυτό το SNP βρίσκεται 30kb ανοδικά του γονιδίου *BCN2* το οποίο συμπεριλαμβάνεται στο χρωματισμό του δέρματος. Η συσχέτιση του γενετικού τόπου *MC1R* ήταν σύμφωνη με ευρήματα από προηγούμενες GWAS μελέτες για το χρώμα του δέρματος όπου πολλαπλά SNP σε μια ευρύτερη περιοχή γύρω από το *MC1R* δεν έδειξαν συσχέτιση. Υπάρχουν 6 SNP στο *MC1R* τα οποία είναι συχνά στους ευρωπαίους και τα οποία μπορεί να συνδυάζονται μεταξύ τους με έναν ετερόζυγο τρόπο. Συνδυασμός της ετεροζυγωτίας υποδηλώνει ότι εάν και τα δυο ομόλογα χρωμοσώματα φέρουν από ένα διαφορετικό SNP το οποίο ενέχεται στο σχηματισμό κηλίδων είναι σαν να προκύπτει ομοζυγωτία των αλληλίων. Προκύπτει ένα σκορ ετεροζυγωτίας από τους 6 απλότυπους που μπορούν να προκύψουν από τα SNP του *MC1R*. Αυτό το σκορ ετεροζυγωτίας κατέδειξε μεγαλύτερη στατιστική συσχέτιση για την εμφάνιση κηλίδων σε σχέση με τα SNP γεγονός που αποδεικνύει ότι το γονίδιο *MC1R* το οποίο ευθύνεται για το χρώμα εμφανίζει ισχυρή συσχέτιση για την εμφάνιση κηλίδων στο δέρμα. Παρότι ήταν γνωστό ότι και οι τέσσερις γενετικοί τόποι συνεισέφεραν στο χρώμα του δέρματος προσπάθησε να γίνει συσχέτιση ανάλογα με το χρώμα του δέρματος και την εμφάνιση των κηλίδων. Η ποικιλία που παρατηρείται στο φαινότυπο των κηλίδων ήταν πολύ μεγάλη και εξηγείται από τον συνδυασμό της ηλικίας, του φύλου, από το χρώμα του δέρματος και από τα γονίδια των κηλίδων. Η ηλικία και το φύλο είναι οι ισχυρότεροι προγνωστικοί δείκτες. Το SNP *IRF4 rs12203592* κατείχε την κυρίαρχη θέση στην ποικιλία του φαινοτύπου. Οι τέσσερις γενετικοί τόποι που εμφάνισαν συσχέτιση με την εμφάνιση κηλίδων, είχαν προηγουμένως συσχετιστεί με την ηλικία που αντιλαμβανόμαστε σύμφωνα με την RS (Jacobs et al., 2013). (53)

Τα δεδομένα τα οποία πρόεκυψαν από τη μελέτη κατέδειξαν ότι τα γονίδια *IRF4*, *MC1R*, *ASIP* και *BNC2* τα οποία σχετίζονταν με την εμφάνιση των κηλίδων ήταν μερικώς ανεξάρτητα από το χρώμα του δέρματος. Τα γονίδια τα οποία σχετίζονται με το χρώμα του δέρματος παίζουν ρόλο στον καθορισμό ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του δέρματος. Ιδίως το SNP rs12203592 στο *IRF4* εμφάνισε την μεγαλύτερη στατιστικά σημαντική συσχέτιση εξηγώντας πάνω από το 2% της ποικιλίας στο φαινότυπο. Ανάλογα ήταν τα αποτελέσματα και για το γονίδιο *MC1R*. Το SNP του *RALY* μπορούσε να επηρεάσει την έκφραση του *ASIP* καθώς βρισκόταν σε ανισορροπία σύνδεσης. Το SNP rs62543565 που βρισκόταν πλησίον του *BNC2* συσχετίστηκε με την εμφάνιση κηλίδων και φακίδων. Ένα ακόμη συμπέρασμα που πρόεκυψε ήταν ότι οι ανοιχτόχρωμες επιδερμίδες εμφάνιζαν συχνότερα κηλίδες. Παράλληλα, οι γυναίκες εμφανίζουν συχνότερα κηλίδες απ ότι οι άνδρες πιθανότατα λόγω των αυξημένων επιπέδων οιστρογόνων και προγεστερόνης. Οι πολυμορφισμοί DNA των γονιδίων *IRF4*, *MC1R*, *ASIP* and *BNC2*, συσχετίζονται με την εμφάνιση κηλίδων στο πρόσωπο και είναι ανεξάρτητες ως ένα βαθμό από την ηλικία, το φύλο και το χρώμα του δέρματος.



Manhattan plot-τα σημαντικότερα SNP που επηρεάζουν την εμφάνιση κηλίδων στο δέρμα

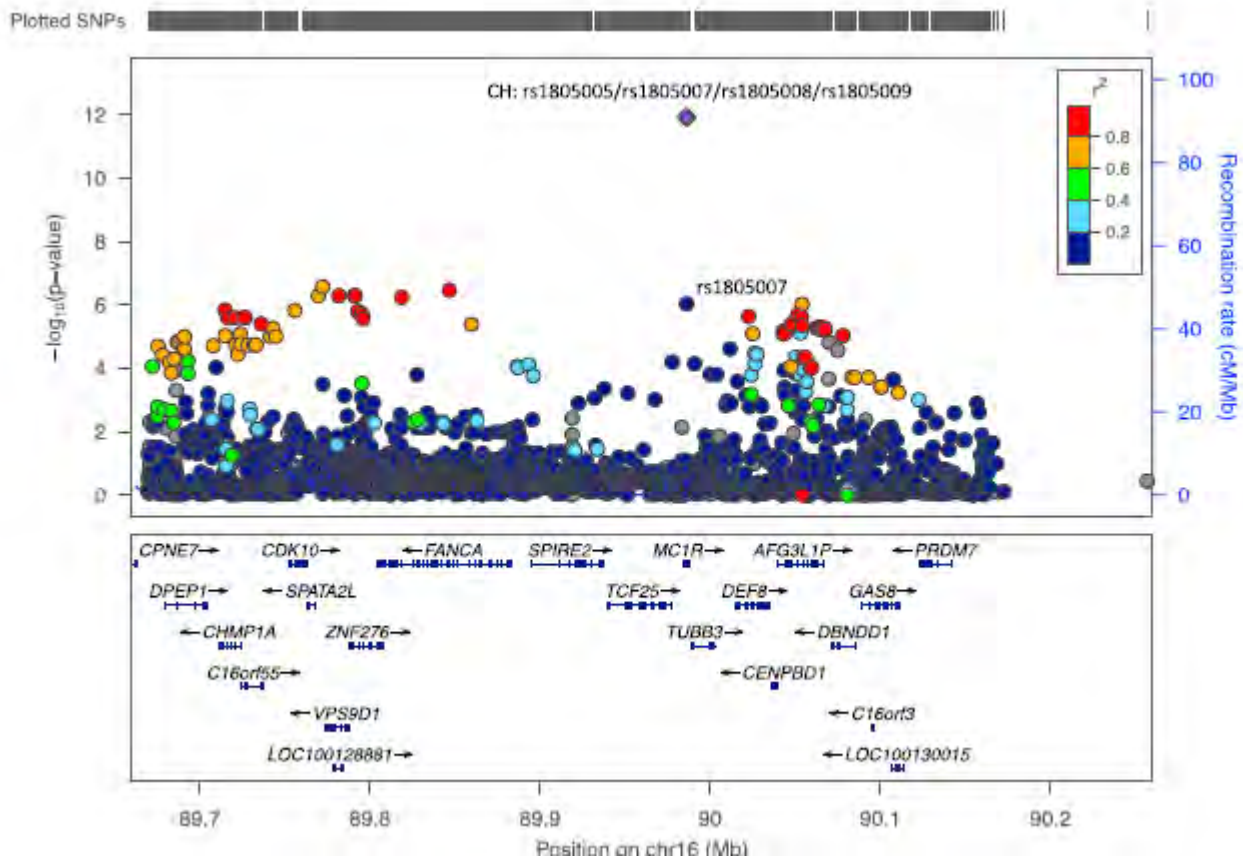
Όπως έχουμε προαναφέρει το γονίδιο MC1R παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση κηλίδων στο δέρμα.(54) Πρόσφατα, όμως ανακαλύφθηκε ότι το γονίδιο MC1R σχετίζεται και με την εμφάνιση χαρακτηριστικών νεανικών φαινοτύπων. Πρόκειται για μια μελέτη ανάλυσης γονιδιώματος 2693 Ευρωπαίων Δανών από την Rotterdam Study. Είναι μια ανάλυση 8 εκατομμυρίων SNP για συσχέτιση με την ηλικία που αντιλαμβανόμαστε. Το γονίδιο MC1R κωδικοποιεί τον υποδοχέα της μελανοκορτίνης 1 που είναι ρυθμιστής της μελανογένεσης και ελέγχει το ποσοστό σύνθεσης της μελανίνης σε ευμελανίνη, στο χρωμόσωμα 16. Από την ανάλυση των SNP 4 πολυμορφισμοί rs1805005, rs1805007, rs1805008 και rs1805009 του γονιδίου MC1R σχετίστηκαν με φαινοτύπους γήρανσης όπως αντιληπτή ηλικία μετά από προσαρμογή με την ηλικία, το φύλο και την εμφάνιση ρυτίδων δημιουργήθηκαν 3 απλότυποι: οι WT/WT, WT/R, R/R(όπου R είναι το επιβαρυντικό αλληλόμορφο που περιέχει τουλάχιστον ένα αλλήλιο από τους 4 πολυμορφισμούς DNA :rs1805005, rs1805007, rs1805008, και rs1805009 του γονιδίου MC1R που σχετίζονται με φαινοτύπους γήρανσης). Οι ομοζυγώτες για τον απλότυπο της γήρανσης(R/R) φαίνονταν τουλάχιστον 2 χρόνια μεγαλύτεροι σε σχέση με τους ετεροζυγώτες που φαίνονταν ένα χρόνο μεγαλύτεροι και σε σχέση με αυτούς που δεν είχαν κανένα απλότυπο κίνδυνου. Τα αποτελέσματα αυτά κατέδειξαν μεγαλύτερο βαθμό επίδρασης στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες.

Πίνακας που δείχνει τα SNP που έχουν συσχετιστεί με την αντιληπτή ηλικία σε κάθε ανάλυση

Gene	CHR	MBP	SNP	EA	Discovery Cohort (n = 2,693)				First Replication Cohort (n = 599)				Meta-analysis (n = 3,292)		
					EAF	β	SE	p Value	EAF	β	SE	p Value	β	SE	p Value
CALN1	7	71.4	rs10259553	C	0.26	-0.64	0.13	9.36E-07	0.25	-0.06	0.22	0.796	-0.49	0.11	1.18E-05
CORO2A	9	100.9	rs35480968	G	0.33	-0.61	0.12	3.87E-07	0.33	0.09	0.22	0.668	-0.44	0.10	2.24E-05
MC1R	16	89.8	rs34265416	A	0.09	0.98	0.19	5.11E-07	0.10	0.43	0.35	0.214	0.85	0.17	5.52E-07
MC1R	16	89.8	rs4785704	G	0.10	1.00	0.19	2.64E-07	0.10	0.46	0.36	0.200	0.88	0.17	2.55E-07
MC1R	16	89.8	rs34714188	A	0.07	1.10	0.22	5.10E-07	0.08	0.63	0.38	0.098	0.98	0.19	2.02E-07
MC1R	16	89.8	rs12924124	T	0.07	1.10	0.22	5.10E-07	0.07	0.66	0.38	0.084	0.99	0.19	1.66E-07
MC1R	16	89.8	rs35026726	T	0.07	1.10	0.22	5.10E-07	0.07	0.66	0.38	0.084	0.99	0.19	1.66E-07
MC1R	16	89.8	rs12931267	G	0.07	1.09	0.22	5.74E-07	0.07	0.66	0.38	0.084	0.98	0.19	1.96E-07
MC1R	16	89.8	rs75570604	C	0.07	1.11	0.22	3.46E-07	0.07	0.68	0.39	0.079	1.01	0.19	1.05E-07
MC1R	16	89.9	MERGED_DEL_2_86235	D	0.07	1.14	0.22	1.92E-07	0.07	0.69	0.39	0.077	1.03	0.19	5.82E-08
MC1R	16	89.9	16:89913406.D	D	0.07	1.15	0.23	3.78E-07	0.06	0.96	0.46	0.036	1.11	0.20	3.85E-08
MC1R	16	90.0	Compound	R	0.26	0.93	0.13	2.69E-12	0.28	0.61	0.30	0.042	0.88	0.12	1.68E-13
MC1R	16	90.0	rs1805007	T	0.07	1.09	0.22	9.23E-07	0.07	0.80	0.40	0.046	1.02	0.19	1.33E-07
MC1R	16	90.1	rs112556896	G	0.06	1.18	0.24	9.49E-07	0.05	0.55	0.56	0.321	1.08	0.22	9.14E-07

Μια παραλλαγή του MC1R έδειξε σημαντική συσχέτιση μετα από συνδυασμό μελέτης κορτής και μετα-ανάλυση.

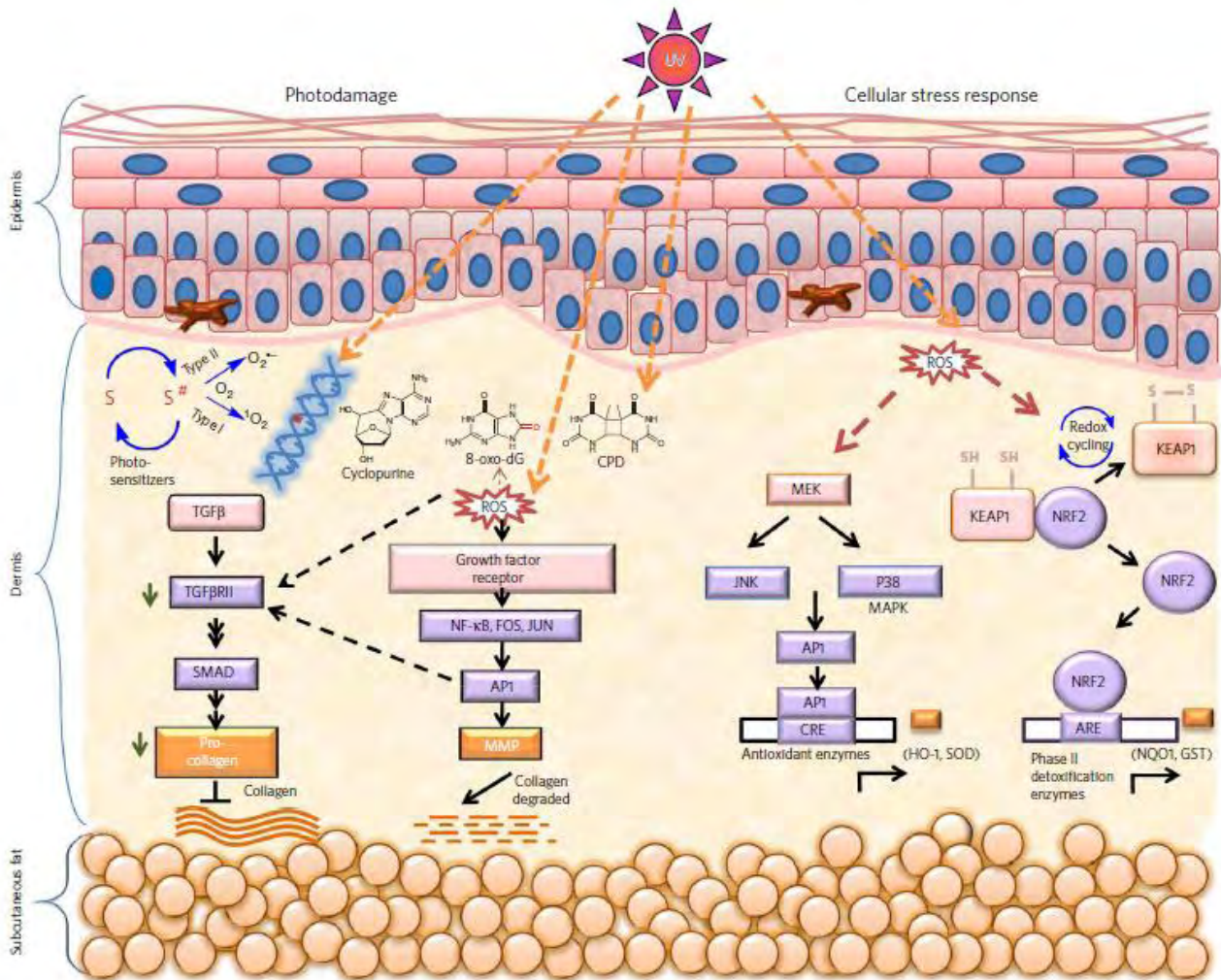
Ακολουθεί Manhattan plot όπου διακρίνονται οι γενετικοί τόποι του γονιδίου MC1R και η συσχέτιση των σημαντικότερων SNP σε σχέση με την αντιληπτή ηλικία μετά από προσαρμογή με την ηλικία, το φύλο και την εμφάνιση ρυτίδων



Εμφανίστηκε σημαντική συσχέτιση του MC1R με τα γονίδια *IRF4*, *RALY/ASIP*, *SLC45A2*, και *TYR* και την εμφάνιση κηλίδων και συγκεκριμένα με τους πολυμορφισμούς *SLC45A2 rs183671* και *TYR rs1393350* και την ηλικία. Συμπερασματικά από την ανωτέρω μελέτη προέκυψε ότι το γονίδιο MC1R κωδικοποιεί τον υποδοχέα της μελανοκορτίνης 1 που είναι ρυθμιστής της μελανογένεσης και ελέγχει το ποσοστό σύνθεσης της μελανίνης σε ευμελανίνη. Οι ομοζυγώτες για τον απλότυπο κινδύνου του γονιδίου MC1R φαίνονταν 2 χρόνια μεγαλύτεροι από αυτούς που δεν φέρουν τον απλότυπο ανεξαρτήτως ηλικίας, φύλου, χρώματος δέρματος και προσβολής από τον ήλιο. Η απώλεια λειτουργικότητας των πολυμορφισμών του MC1R σχετίζονται με γεροντικές κηλίδες, ακτινική κεράτωση και καρκίνο δέρματος. Οι παραλλαγές του γονιδίου MC1R εμφανίζουν υπολογίσιμο αντίκτυπο στην εμφάνιση του προσώπου ανάλογα με την ηλικία.

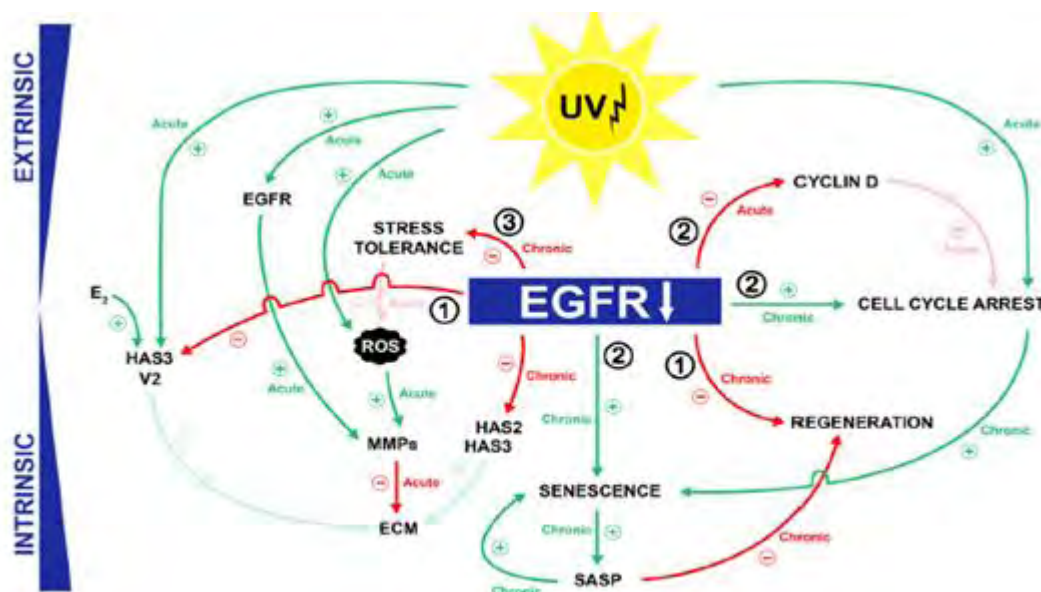
3.1 Γενετική στη γήρανση του δέρματος-σηματοδοτικά μονοπάτια

Διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια έχουν ενοχοποιηθεί για τη γήρανση του δέρματος. Για αρκετά ακόμη υπάρχουν δεδομένα ότι ενδεχομένως σχετίζονται με αυτή. Στο παρακάτω σχηματικό μοντέλο φαίνονται όλα τα σηματοδοτικά μονοπάτια που πιθανότατα συντελούν στη γήρανση του δέρματος.



Η αλληλεπίδραση της UV ακτινοβολίας με φωτο-ευαισθητοποιητές (S), όπως οι φωτοπορφυρίνες, η μελανίνη, η νικοτιναμίδη, οι φλαβίνες κ.α. οδηγούν στην παραγωγή των ROS. Τα ROS στη συνέχεια οδηγούν στην ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών που καταλήγουν στη μειωμένη σύνθεση του κολλαγόνου και την αποδόμηση του νέου κολλαγόνου(φωτο-καταστροφή). Στην απάντηση του κυττάρου στο στρες τα ROS που αναπτύσσονται μετά από την επίδραση UV ακτινοβολίας μπορούν να ενεργοποιήσουν τις p38 και JNK που αποτελούν τμήμα της σηματοδότησης MAPK και στη συνέχεια ενεργοποιούν αντιοξειδωτικά ενζύμα. Τα ROS μέσα από τον αντιοξειδωτικό κύκλο διαταράσσουν την αλληλεπίδραση ανάμεσα στον παράγοντα NRF2 και KEAP1 οξειδώνοντας τον KEAP1, επιτρέποντας στον NRF2 να μετατοπιστεί στον πυρήνα και να ενεργοποιηθεί η μεταγραφή των αντιοξειδωτικών ενζύμων φάσης II. **Ευαισθητοποιητές: ροζ, ενδιάμεσα: μοβ, αποτελέσματα: πορτοκαλί**

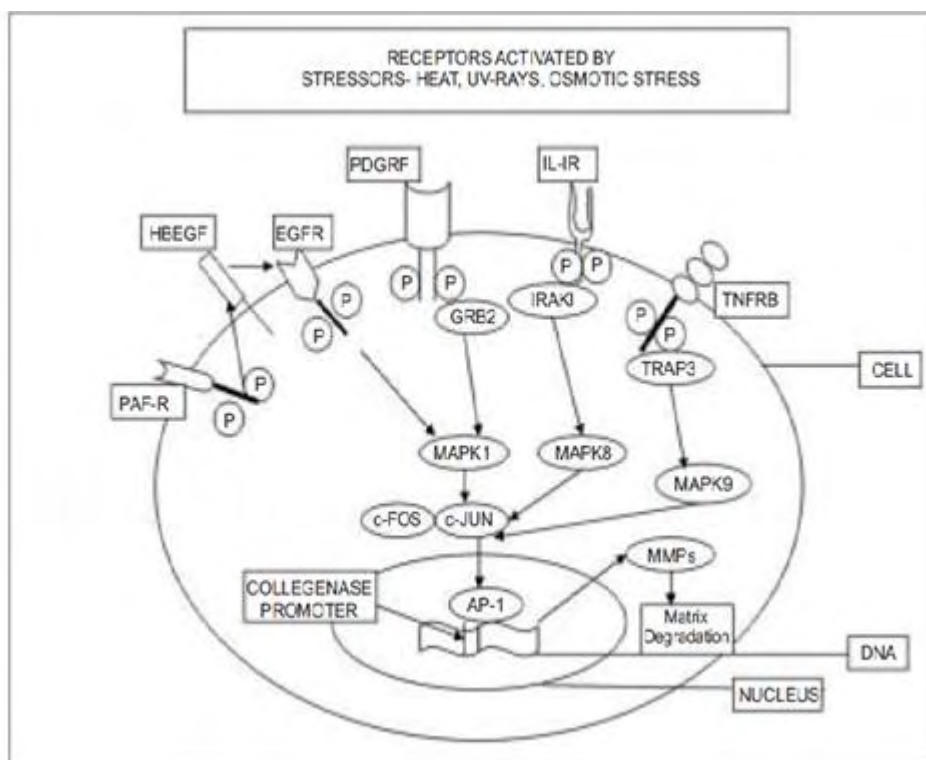
Όπως προκύπτει από την ερευνητική προσπάθεια των Gerber et al, at Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2016 ανεπιβεβαίωτα στοιχεία προτείνουν ότι η αναχαίτιση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα(EGFR) σχετίζεται με αλλαγές στο δέρμα που παρατηρούνται στη γήρανση. Η χρόνια έκθεση σε UV ακτινοβολία επάγει τον αναστολέα του EGFR(EGFRI) και αυτός τη γήρανση του δέρματος. Η επαγωγή του EGFRI μπορεί να χειροτερεύσει η ακόμη και να προκληθεί από την έκθεση σε UV ακτινοβολία. Η αναχαίτιση του EGFR που προωθεί τη γήρανση αναφέρεται στο πιθανό υποθετικό μοντέλο που φαίνεται παρακάτω(55)



Διαταραχή σηματοδότησης του μονοπατιού EGFR προωθεί τη γήρανση του δέρματος τροποποιώντας πληθώρα μηχανισμών

1. Απουσία αυξητικού παράγοντα οδηγεί σε διαταραχή της αναπλαστικής ικανότητας και της σύνθεσης έξω- κυττάριου κτταροσκελετού
2. Αναχαίτιση του EGFR προκαλεί πρόωρη κυτταρική γήρανση και έναν εκκριτικό φαινότυπο σχετιζόμενο με τη γήρανση που επηρεάζει τα γειτονικά κύτταρα
3. Αναχαίτιση του EGFR μειώνει την ανοχή του κύτταρου στο στρες και προωθεί έναν UV-επαγόμενο κύκλο καταστροφής του κύτταρου

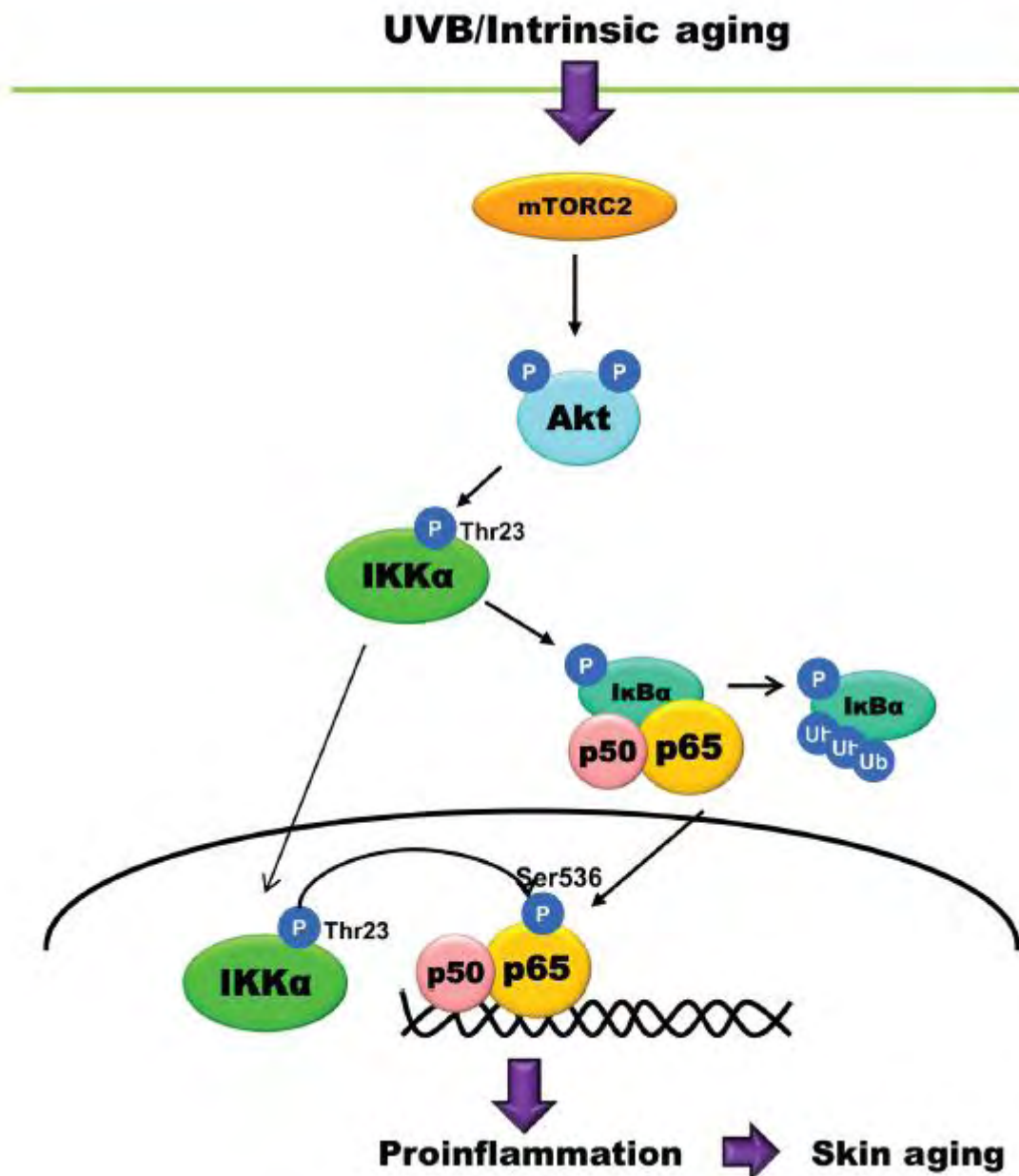
Όπως έχει αποδείχθει από τους Chauhan P et al, at *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2009,(56) ερεθίσματα όπως η UV ακτινοβολία, το θερμικό σοκ και το οσμωτικό στρες έχει βρεθεί ότι ενεργοποιούν τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα(EGFR), τον υποδοχέα της ιντερλευκίνης-1(IL-1R), τον υποδοχέα του παράγοντα νέκρωσης όγκων(TNFR), τον υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα προέλευσης των αιμοπεταλίων(PDGFR), τον υποδοχέα του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAFR). Οδηγούν στην παράγωγη μεταλλοπρωτεϊνών και στη συνέχεια στην αποδόμηση του κολλαγόνου και το σχηματισμό ρυτίδων. Η πρωτεΐνη c- jun (μέρος του μεταγραφικού παράγοντα AP-1) αποτελεί κοινή ενδιάμεση πρωτεΐνη σε όλους τους σηματοδοτικούς καταρράκτες.



Μοντέλο του σηματοδοτικού καταρράκτη που καταλήγει στην αποδόμηση του κολλαγόνου

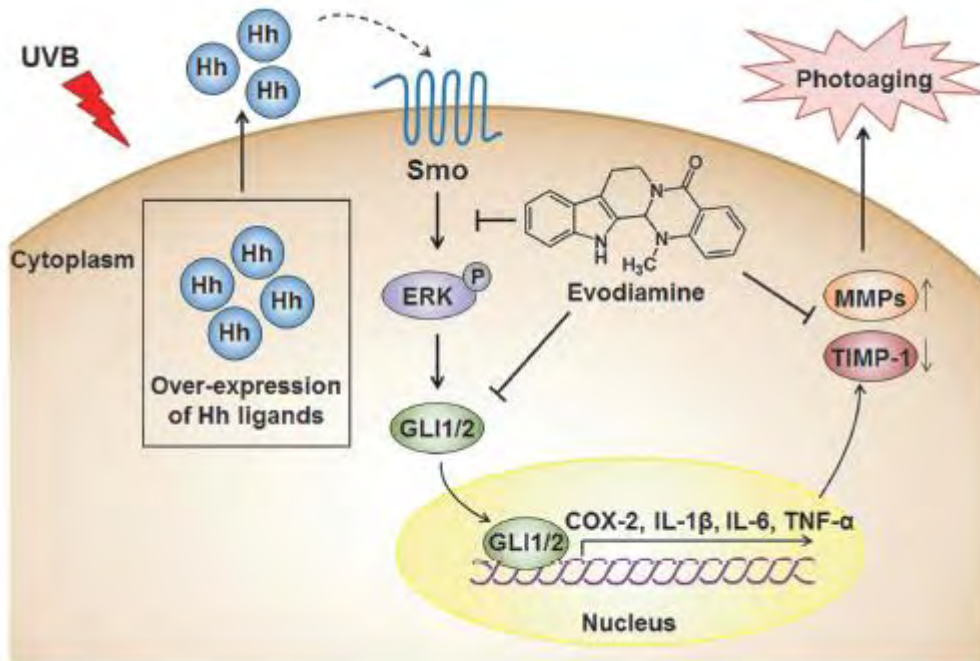
Εκτός όμως από το μονοπάτι του EGFR και ένα άλλο μονοπάτι έχει σχετιστεί με τη γήρανση. Πρόκειται για το σηματοδοτικό μονοπάτι **mTOR** έχει βρεθεί να έχει σημαντική σημασία στην γήρανση καθώς αναχαιτίση του έχει συσχετιστεί με μακροζωία UVB ακτινοβολία και εσωτερική γήρανση ενεργοποιούν την mTORC2 που είναι υπεύθυνη για τη φωσφορυλίωση της Akt στη θέση Ser473 και στη συνέχεια την ενεργοποίησή της. Η Akt φωσφορυλιώνει την κινάση IκB α (IKKα) στη θέση Thr23 και την ενεργοποιεί γεγονός που οδηγεί στην αποδόμηση της IκB. Αυτή η φωσφορυλίωση οδηγεί στη μετατόπιση στον πυρήνα και τη μέτα-μεταφραστική τροποποίηση του p65, υπομονάδα του NF-κB. Η UVB ακτινοβολία προάγει το σηματοδοτικό μονοπάτι mTORC2/Akt/IKKα στα φυσιολογικά κερατινοκύτταρα. Η αυξημένη

σηματοδότηση του μονοπατιού mTORC2 κατά τη γήρανση σχετίζεται με την ενεργοποίηση του NF-κB. Καταστολή του mTORC2 με θεραπεία ενός αναστολέα του mTOR ή μέσω μερικής απενεργοποίησης του RICTOR απέτρεψε την UVB επαγόμενη ενεργοποίηση του NF-κB μέσω αρνητικής ρύθμισης του ενεργοποιημένου Akt/IKKα.(57)



Ένα άλλο μονοπάτι που έχει βρεθεί από κλινικές μελέτες σε ποντίκια ότι ενέχεται στη φωτο-γήρανση είναι το μονοπάτι του γονιδίου hedgehog. Η UV επαγόμενη φωτο-γήρανση μπορεί να εξασθενήσει με την

αναστολή της σηματοδότησης του γονιδίου hedgehog. Η UV B ακτινοβολία έχει βρεθεί ότι αυξάνει την έκφραση των hedgehog συνδετών και ενδιάμεσων μεταγραφικών παραγόντων, GLI1 and GLI2. Το γεγονός αυτό ενεργοποιεί τη MAPK και φλεγμονώδεις απαντήσεις που συνοδεύονται από τροποποιήσεις στην έκφραση των MMP και των TIMP1 και οδηγεί στην πρόωρη γήρανση και τη φωτο-γήρανση.(58)



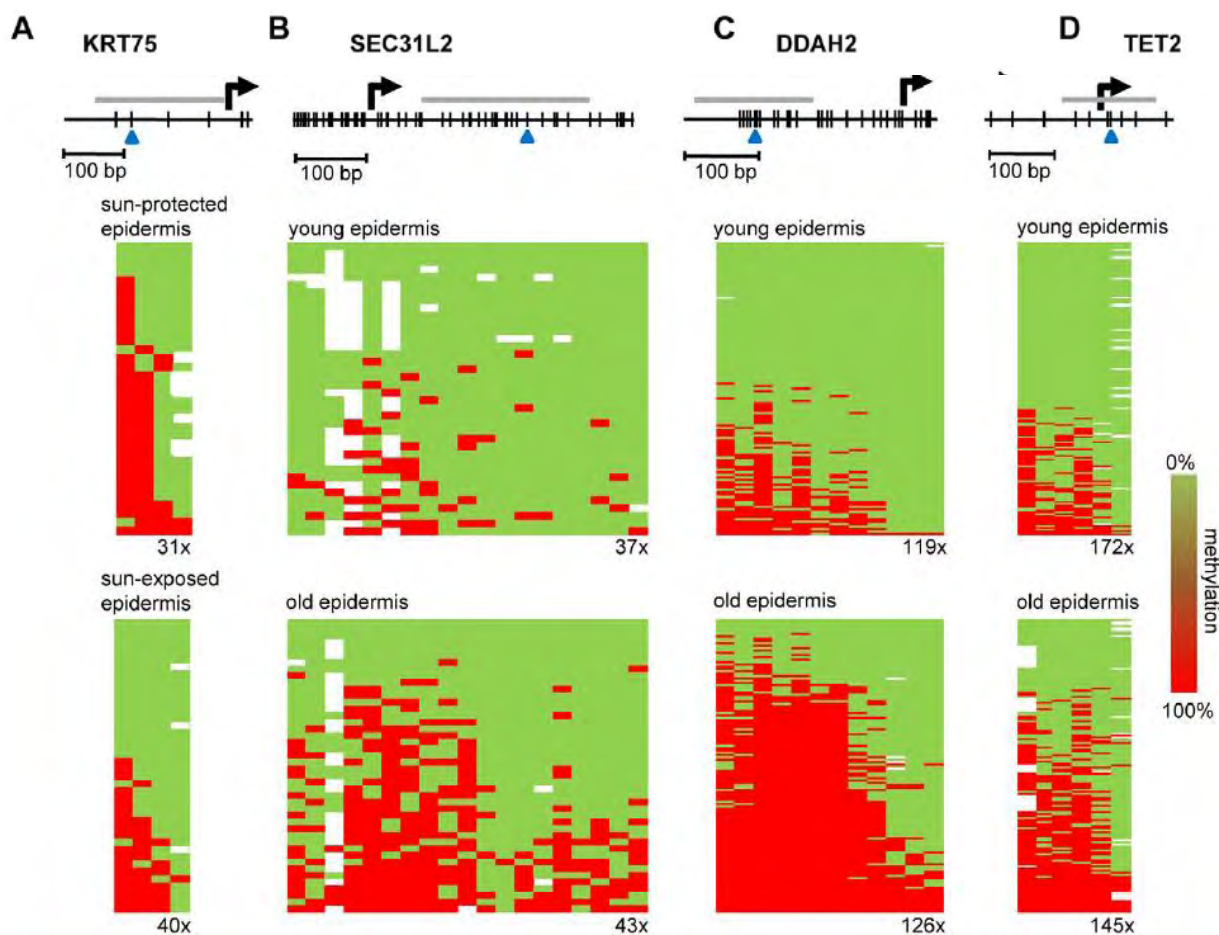
4.ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

4.1. Μεθυλίωση DNA και τροποποίηση ιστονών

Η γήρανση χαρακτηρίζεται από χαρακτηριστικές φαινοτυπικές διαφορές, ενώ δεν υπάρχουν αντίστοιχες αλλαγές στο γονότυπο και επομένως αντιπροσωπεύει ένα θεμελιώδες επιγενετικό φαινόμενο. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί έχουν τη δυνατότητα να ρυθμίζουν την ερμηνεία της γενετικής πληροφορίας και για αυτό έχουν τη δυνατότητα να παράγουν διαφορετικούς φαινοτύπους από ένα μόνο γονότυπο. Αυτοί οι επιγενετικοί μηχανισμοί βασίζονται σε δυο ανεξάρτητους μηχανισμούς τροποποίησης: 1)την ομοιοπολική τροποποίηση των ιστονών και 2)τη μεθυλίωση καταλοίπων κυτοσίνης στο DNA. Ομοίως, η κατάσταση μεθυλίωσης των υποκινητών των γονιδίων μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στην ενεργοποίηση των αντίστοιχων γονιδίων. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί θεωρείται ότι αντιπροσωπεύουν μια σύνδεση ανάμεσα στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα και το γονιδίωμα. Πιο ειδικά, λέγεται ότι οι επιγενετικές αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία ίσως περιορίζουν την πλαστικότητα του φαινοτύπου για να υιοθετούν πιο εύκολα τις περιβαλλοντικές αλλαγές. Το ανθρώπινο δέρμα αντιπροσωπεύει έναν ιστό με σημαντικά πλεονεκτήματα για μελέτη των επιγενετικών αλλαγών που επάγονται από την ηλικία και το περιβάλλον διότι τα δείγματα δέρματος χαρακτηρίζονται από πολύ υψηλό βαθμό κυτταρικής ομοιογένειας. Η γήρανση και η έκθεση στον ήλιο σχετίζονται με μικρές αλλά σημαντικές αλλαγές στο προφίλ μεθυλίωσης της ανθρώπινης επιδερμίδας και δερμίδας. Η γήρανση σχετίστηκε με υπερμεθυλίωση του DNA. Αποτελέσματα από ανάλυση δεδομένων με δείκτες υπερμεθυλίωσης έδειξαν υπερμεθυλίωση σε δείγματα της επιδερμίδας και του χορίου σε γηραιότερα άτομα.

Σε ένα πρώτο πείραμα σε μελέτη των *Groenniger et al*, αποδείχτηκε σε ανάλυση του γονιδιώματος ότι ο υποκινητής του γονιδίου KRT75 είναι υπομεθυλιωμένος σε δείγματα από περιοχές εκτεθειμένες στον ήλιο. Το γονίδιο KRT75 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη κερατίνη η οποία δεν εκφράζεται στην επιδερμίδα αλλά μπορεί να επηρεάσει τον ενδιάμεσο λεπτό ιστό των επιθηλιακών κυττάρων. Ένας ακόμη υποκινητής γονιδίου ο οποίος παρουσίασε διαφορές μεθυλίωσης ανάμεσα σε νέα και ηλικιωμένα άτομα ήταν το SEC31L2 . Ανάλυση του γονιδιώματος κατέδειξε ότι το γονίδιο ήταν κυρίως μη μεθυλιωμένο στα δείγματα νέων αλλά με την εξέλιξη της ηλικίας τα δείγματα μεγαλύτερης ηλικίας ατόμων ήταν μεθυλιωμένα. Υπερμεθυλιωμένα ακόμη ήταν τα γονίδια DDAH2 και TET2 στην επιδερμίδα των ηλικιωμένων.(59)

Σχηματική απεικόνιση της μεθυλίωσης των υποκινητών (A) KRT75 (B) SEC31L2, (C) DDAH2, και (D) TET2 όπου: με λευκό παρουσιάζονται τα κενά στην αλληλούχιση, με πράσινο τα μη μεθυλιωμένα δινοκλεοτίδια CpG και με κόκκινο τα μεθυλιωμένα



Οι αλλαγές στο μοτίβο μεθυλίωσης του DNA αντιπροσωπεύουν έναν αρκετά ελκυστικό μηχανισμό για την κατανόηση των φαινοτυπικών αλλαγών που σχετίζονται με τη γήρανση. Μια έρευνα των *Raddatz et al, 2013* βοήθησε να ταυτοποιηθούν αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA που σχετίζονται με την ηλικία με τη βοήθεια ανάλυσης του μεταγραφώματος. Δεν αποκαλύφθηκαν καθολικές παρεκκλίσεις από τη μεθυλίωση του DNA αλλά αλλαγές μεθυλίωσης στον υποκινητή και τον ενισχυτή διαφόρων γονιδίων που οδηγούν σε αποσταθεροποίηση του επιγενώματος.

Το **μεταγράφομα** της επιδερμίδας χαρακτηριζόταν από αυξημένα επίπεδα έκφρασης ορισμένων επιδερμίδα-ειδικών γονιδίων, όπως για παράδειγμα οι "φιλαγκρίνες" και οι "λορικρίνες". Γονίδια τα οποία εκφράζονταν κυρίως σε κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης ανιχνεύονταν μόνο σε μικρά επίπεδα. Το προφίλ έκφρασης αυτών των γονιδίων εμφάνιζε σημαντική σταθερότητα γεγονός που αντικατοπτρίζει τη σταθερότητα του επιγενετικού προγράμματος των διαφοροποιημένων ανθρώπινων

ιστών. Η έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη μεθυλίωση του DNA όπως της DNMTs και της TETs και των συμπαραγόντων τους εμφανίζεται αρκετά όμοια στους νέους και τους ηλικιωμένους όπως φαίνεται κ στον πίνακα παρακάτω.

Επίπεδα έκφρασης γονιδίων της επιδερμίδας και παραγόντων μεθυλίωσης

Gene group	Gene	Expression (young)	Expression (old)	q value
Epidermis keratins	<i>KRT1</i>	14719.2	14954.2	1.0
	<i>KRT2</i>	7291.7	6154.7	1.0
	<i>KRT5</i>	5860.6	5247.7	1.0
	<i>KRT10</i>	26232.1	23374.7	1.0
	<i>KRT14</i>	5665.0	4430.4	1.0
	<i>KRT15</i>	382.1	400.1	1.0
Epidermis structural factors	<i>LOR</i>	613.4	427.3	1.0
	<i>FLG</i>	558.1	501.3	1.0
	<i>FLG2</i>	322.5	336.5	1.0
Fibroblast markers (dermis)	<i>VIM</i>	41.0	54.0	1.0
	<i>DES</i>	<0.1	<0.1	1.0
DNA methylation factors	<i>DNMT1</i>	9.5	7.3	1.0
	<i>DNMT3A</i>	1.5	1.2	1.0
	<i>DNMT3B</i>	1.4	1.5	1.0
	<i>DNMT3L</i>	<0.1	<0.1	1.0
	<i>UHRF1</i>	1.3	1.2	1.0
	<i>TET1</i>	0.1	0.1	1.0
	<i>TET2</i>	8.4	6.9	1.0
	<i>TET3</i>	18.8	14	1.0

Από τη συστηματική ταυτοποίηση των γονιδίων προέκυψαν 75 γονίδια τα οποία εμφανίζουν παρόμοιο μεταγράφομα στη γερασμένη και τη νεανική επιδερμίδα. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι η γήρανση της ανθρώπινης επιδερμίδας επηρεάζει την έκφραση ειδικών γονιδίων. Σε συμφωνία με αυτά τα ευρήματα έρχεται να προστεθεί και το γεγονός ότι τα επίπεδα έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων ήταν τροποποιημένα στα δείγματα ηλικιωμένων. Επομένως, η απορρύθμιση μικρού αριθμού γονιδίων μπορούσε να συνεισφέρει στις φαινοτυπικές αλλαγές που σχετίζονταν με τη γήρανση του δέρματος. Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα από την ανάλυση του μεταγραφώματος και οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στην απορρύθμιση τη σχετιζόμενη με την ηλικία παρατηρείται σε σημαντικό βαθμό ομοιογένεια στον πληθυσμό.

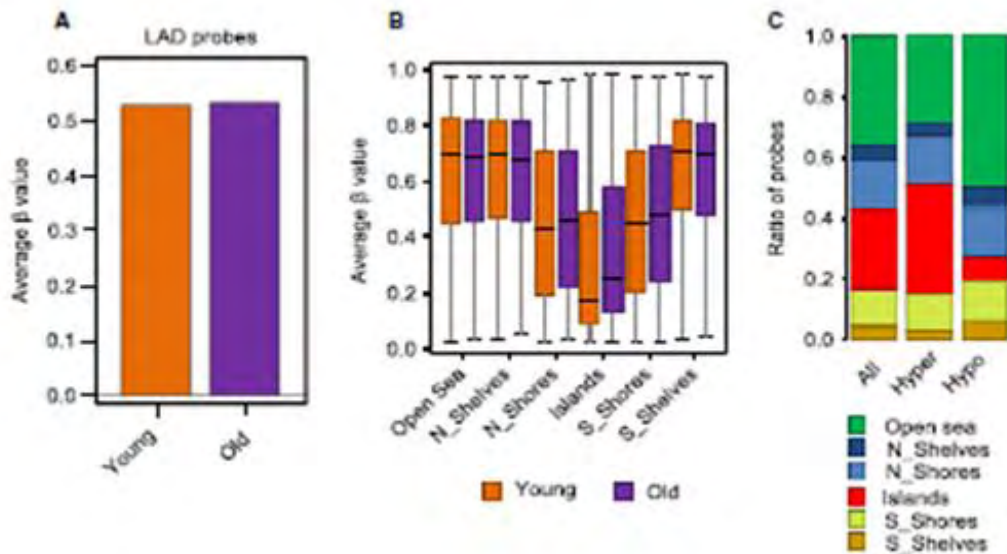
Από το **μεθυλίωμα** του DNA προέκυψε ότι 10% των CpG νησιδίων ήταν πλήρως μη μεθυλιωμένα και 40% παρουσίαζαν μερική μεθυλίωση. Το ποσοστό των μεθυλιωμένων υποκινητών των CpG ήταν αρκετά χαμηλότερο κατά μέσο όρο σε σχέση με το μέσο όρο του γονιδιώματος ενώ τα γονίδια και οι διαγονιδιακές περιοχές παρουσίαζαν αρκετά υψηλά ποσοστά μεθυλίωσης. Γενικά το προφίλ μεθυλίωσης νέων και ηλικιωμένων φαινόταν αρκετά όμοιο. Συμπερασματικά, από τη μελέτη προέκυψαν 75 γονίδια

τα οποία ήταν διαφορετικά εκφρασμένα και τα οποία συμμετείχαν στην ομοιόσταση του δέρματος. Η ανάλυση των δεδομένων δεν αποκάλυψε καθολική εκτροπή στο προφίλ μεθυλίωσης αλλά αλλαγές κυρίως στην περιοχή των υποκινητών και των ενισχυτών.(60)

Οι εξελίξεις στον τομέα της επιγενετικής αναπτύσσονται με ταχύτατους ρυθμούς και η δυνατότητα ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος σε συνδυασμό με την αλληλούχιση επόμενης γενιάς υπόσχεται να φέρει επανάσταση στη γήρανση του δέρματος. Το 2016 μια μελέτη των *Bormann et al, at aging cell 2016* (61) αποκάλυψε από μια ανάλυση 450000 δεικτών μεθυλίωσης ότι οι αλλαγές μεθυλίωσης περιορίζονται τοπικά. Παράλληλα, ταυτοποιήθηκαν ασυνεχείς αλλαγές μεθυλίωσης ως ένα νέο χαρακτηριστικό στο μεθυλίωμα της γήρανσης. Τελικά, η ανάλυση μας αποκάλυψε μια αλλαγή στο προφίλ μεθυλίωσης του DNA το οποίο χαρακτηρίζεται από αυξημένη ετερογένεια στην καθολική μεθυλίωση και μειωμένο δυναμικό εύρος.

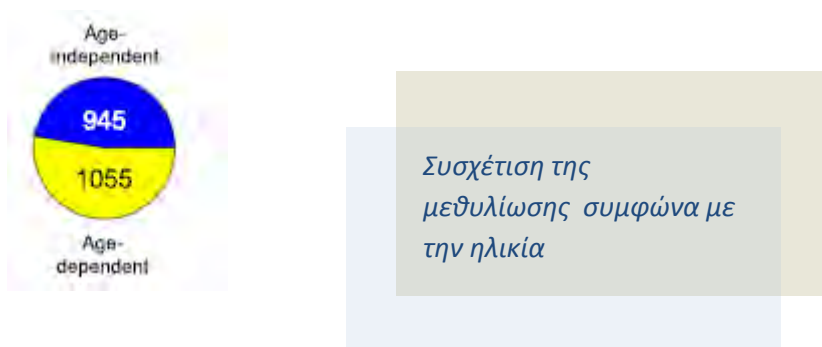
Η μεθυλίωση του DNA αποτελεί μια καλά διατηρημένη και υψηλά δυναμική επιγενετική τροποποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Η μεθυλίωση CpG νησιδίων ρυθμιστικών στοιχείων όπως των υποκινητών και των ενισχυτών γενικά θεωρείται ασυμβίβαστη με την ενεργοποιημένη έκφραση των γονιδίων. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί της γήρανσης δεν θεωρούνται πλήρως κατανοητοί, παρ'όλα αυτά οι αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA και η αναδιαμόρφωση της χρωματίνης αποτελούν ρυθμιστικό "κλειδί" στη γήρανση του δέρματος. Η επιδερμίδα εκτίθεται απευθείας στο περιβάλλον και γι αυτό αποτελεί το αποτύπωμα της στο επιγένομα.

Η ηλικία συνιστά τη μεγαλύτερη πηγή για την ποικιλία στα δεδομένα της έρευνάς μας. Στη μεγαλύτερη τους πλειοψηφία οι ανιχνευτές που ήταν διαφορετικά μεθυλιωμένοι παρουσίασαν μικρή μόνο ποσοτική διαφορά στη μεθυλίωση τους. Η μεθυλίωση των μη-CpG μεθυλιωμένων περιοχών ήταν μικρή αλλά σημαντική. Ανάλυση των διαφορών ανάμεσα σε δείγματα νέων και ηλικιωμένων κατέδειξε μόνο τρεις ανιχνευτές με στατιστική σημαντικότητα. Αυτά τα αποτελέσματα συνιστούν τοπικά περιορισμένες διαφορές στο προφίλ μεθυλίωσης το οποίο παρέχει μια γενική σταθερότητα στη μεθυλίωση του γονιδιώματος της ανθρώπινης επιδερμίδας. Τόσο η υπομεθυλίωση όσο και η υπερμεθυλίωση συνιστούν χαρακτηριστικά της γήρανσης καθώς συνυπάρχουν υπερτερώντας άλλοτε η μια και άλλοτε η άλλη. Από την έρευνα των *Bormann et al, at aging cell 2016* (61) και την ανάλυση των LAD-σχετιζόμενων ανιχνευτών πρόεκυψε ότι μια υπομεθυλιωμένη συστάδα νουκλεοτιδίων δεν είναι βασικό χαρακτηριστικό της εσωτερικής γήρανσης. Τα δεδομένα της έρευνας των *Bormann et al, at aging cell 2016* σχετίστηκαν με δεδομένα από την έρευνα των *Irizarry et al., 2009* (62), *Sandoval et al., 2011*(63) και τα αποτελέσματα έδειξαν και πάλι μόνον μικρές διαφορές ανάμεσα σε δείγματα νέων και ηλικιωμένων. Διαπιστώθηκε υπερμεθυλίωση CpG νησιδίων σε δείγματα ηλικιωμένων. Οι αλλαγές που παρατηρούμε στη μεθυλίωση του DNA και συμβαίνουν με την πρόοδο της ηλικίας είναι βαθμιαίες.

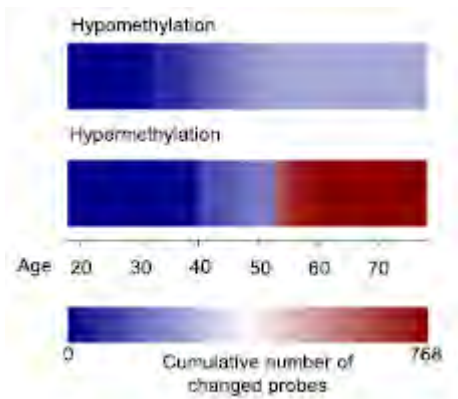


Όπως παρατηρούμε και από τα διαγράμματα όπου φαίνονται δείγματα νέων με δείγματα ηλικιωμένων οι σχετιζόμενες με την ηλικία αλλαγές μεθυλίωσης είναι τοπικά περιορισμένες, μάλιστα στο διάγραμμα B. φαίνεται η σημαντική υπερμεθυλίωση των CpG νησιδίων στα δείγματα ατόμων μεγάλης ηλικίας

Έγινε προσπάθεια ταυτοποίησης των δειγμάτων από νέα και ηλικιωμένα άτομα. Ιεράρχηση των ομάδων έδειξε δυο διαφορετικά μοτίβα διακύμανσης μεταξύ των 2000 ανιχνευτών. Ενώ το 47% των ανιχνευτών παρουσίασε διακύμανση κατ άτομο ανεξάρτητη της ηλικίας, το 53% εμφάνισε σταθερές αλλαγές εξαρτώμενες από την ηλικία που επιβεβαιώνουν ότι οι αλλαγές μεθυλίωσης σχετίζονται με την ηλικία.



Τόσο η υπομεθυλίωση όσο και η υπερμεθυλίωση φαίνεται να συνυπάρχουν στο φωτο-γηρασμένο δέρμα. Όμως, η υπομεθυλίωση φαινόταν να επικρατεί κυρίως στις ηλικίες 30 των και 50, ενώ η υπερμεθυλίωση επικρατούσε κυρίως μεταξύ των 40 με 45 όπως φαίνεται και στο σχήμα που ακολουθεί

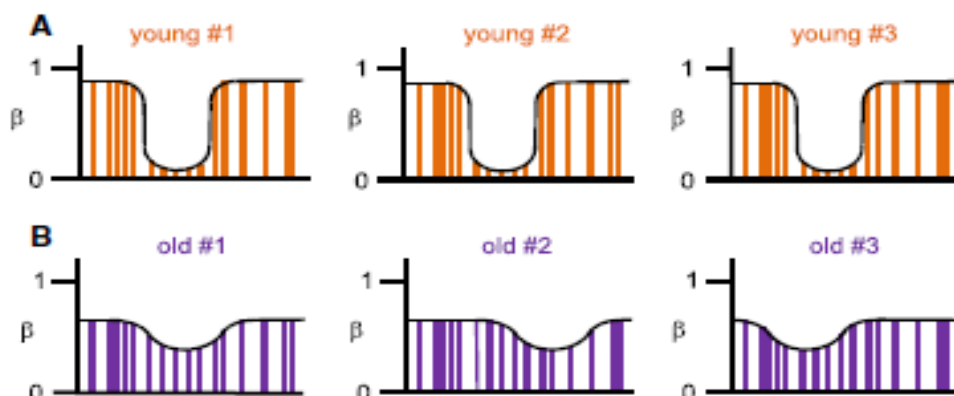


Διαγραμματική απεικόνιση όπου με μπλε εμφανίζεται το ποσοστό των αλλαγών στο μοτίβο μεθυλίωσης που εξαρτώνται από την ηλικία και με κίτρινο των μη εξαρτώμενων από την ηλικία.

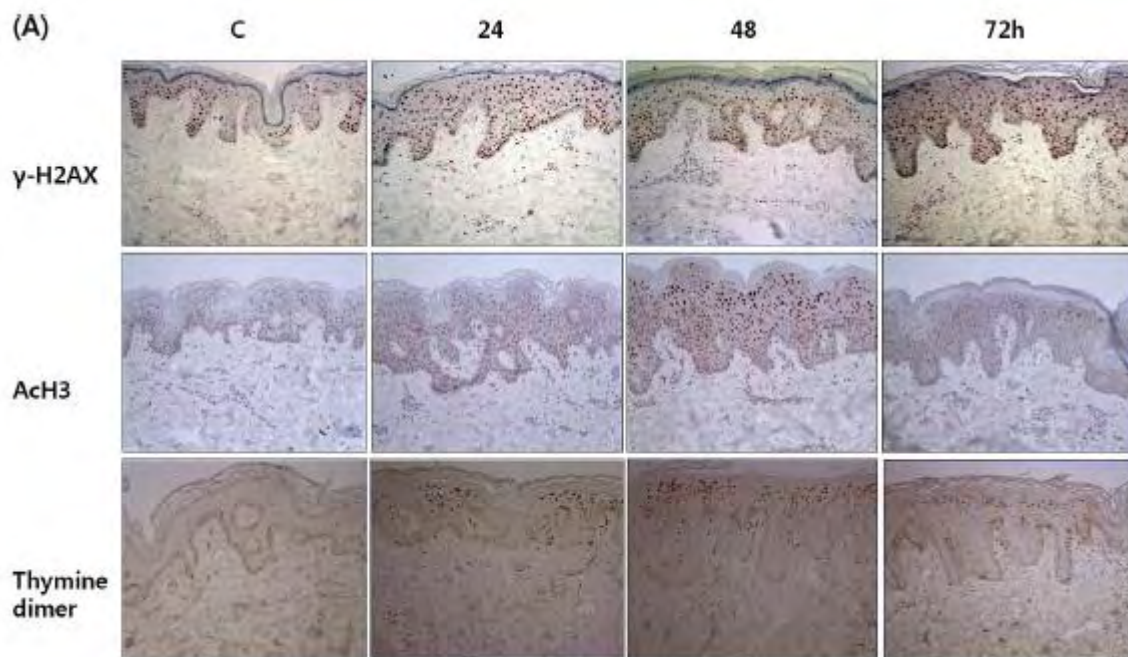
Ακόμη στην παρούσα μελέτη ελέγχθηκε εάν αυτές οι ασυνεχείς αλλαγές μεθυλίωσης είναι συχνά παρούσες στο γονιδίωμα. Πράγματι από τους 768 ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν για την ασυνεχή μεθυλίωση, το 52% των υπερμεθυλιωμένων περιοχών βρίσκονταν στα CpG νησίδια ενώ από τις υπομεθυλιωμένες περιοχές μόνο το 13% βρισκόταν στα CpG νησίδια.

Από την παρούσα έρευνα δυο είναι τα σημαντικότερα συμπεράσματα για τις αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA. Παρατηρούνται αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA που χαρακτηρίζονται από δυο διακριτά χαρακτηριστικά:

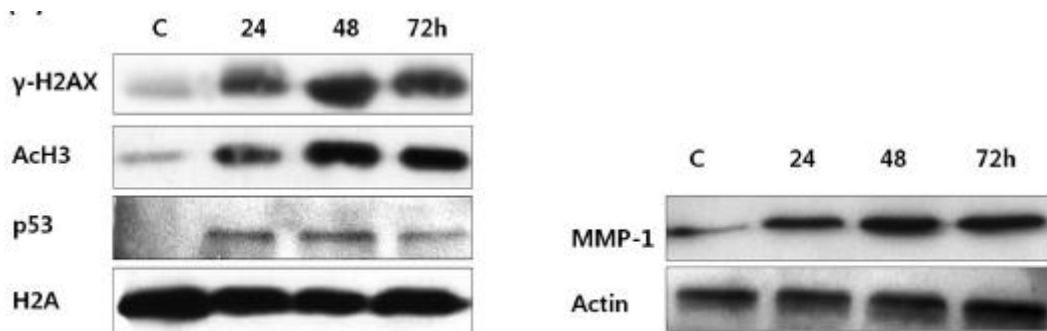
1. Το μεθυλίωμα νέων ανθρώπων χαρακτηρίζεται από αυστηρά οριοθετημένες περιοχές πλήρως μεθυλιωμένες ή πλήρους απουσίας μεθυλίωσης. Αυτές οι σχετιζόμενες με την ηλικία αλλαγές μεθυλίωσης λειτουργούν για να σταθεροποιήσουν προϋπάρχοντα μοτίβα γονιδίων
2. Ενώ το μεθυλίωμα μεταξύ των νέων είναι παρόμοιο, των ηλικιωμένων παρουσιάζει περισσότερη ετερογένεια. Έτσι το μοτίβο μεθυλίωσης με την πρόοδο ηλικίας γίνεται πιο ομοιογενές ενώ αυξάνονται οι διαφορές κατ άτομο



Όπως έχουμε προαναφέρει, κλινικά η χρονολογική γήρανση χαρακτηρίζεται από ρυτίδες και επιδεικνύει δυσχρωματισμούς και τηλεαγγειεκτασίες. Στο φωτο-γηρασμένο δέρμα, το κολλαγόνο του δέρματος είναι σε αρκετά χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με το κολλαγόνο των προστατευμένων από τον ήλιο περιοχών. Αυτό προκύπτει κυρίως λόγω της εκσεσημασμένης καταστροφής αυτού από τις μεταλλοπρωτεϊνάσες όπως επίσης και από τη μειωμένη σύνθεση του προκολλαγόνου. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ανήκουν σε μια μεγάλη οικογένεια από πρωτεΐνες που ομοιάζουν δομικά με πρωτεΐνες που καταστρέφουν το σκελετό. Από μελέτες γνωρίζουμε ότι η ακετυλοτρανσφεράση της ιστόνης p300(p300HAT) διαδραματίζει ενεργό ρόλο στη μεταγραφική ενεργότητα της MMP-1 που επάγεται από τον ήλιο. Στόχος της παρούσας μελέτης των *Min- Kyoung K et al, at j dermsci,2013 (64)* είναι να ελέγξουμε εάν έχουμε καταστροφή του DNA και τροποποίηση των ιστονών από την έκφραση MMP-1 στους δερματικούς ινοβλάστες μετά από επίδραση UV-ακτινοβολίας σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα.(65) Ανοσοϊστοχημική χρώση αποκάλυψε ότι οξεία έκθεση σε UV ακτινοβολία δείχνει αύξηση της γ -H2AX και της ακετυλ-H3 στην επιδερμίδα. Επίσης, ο σχηματισμός UV-επαγόμενων διμερών θυμίνης αυξάνονταν μετά από 24 με 48 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.



Συνεπώς, από την ανάλυση Western blot που ακολουθεί μπορούμε να δούμε ότι τα επίπεδα της γ -H2AX, της ακετυλ-H3 και του p53 αυξάνονται μετά από 24-48 ώρες έκθεση σε ακτινοβολία και παρέμειναν σε υψηλά ποσοστά έως τις 72 ώρες μετά την έκθεση οπότε και παρουσίαζαν σταδιακή μείωση. Αύξηση παρατηρούνταν παράλληλα και στην MMP-1 η οποία οδηγούσε στην καταστροφή του DNA και την τροποποίηση των ιστονών.



Από την ανάλυση των υποκινητών της MMP-1 με τις μεθόδους TESS και Motif αποκαλύφθηκαν τρεις πιθανές θέσεις σύνδεσης της p300.

Εφαρμογή ChIP assays με αντισώματα ειδικά για το p300 και την ακετυλ-H3 αποκάλυψε τρεις πιθανές θέσεις σύνδεσης της p300. Η περιοχή (-2067/-1768) κοντά στην περιοχή σύνδεσης της p300 στον υποκινητή της MMP-1 είναι σημαντική για τη μεταγραφή της MMP-1 που προκαλείται από την επίδραση UV ακτινοβολίας στην ανθρώπινη επιδερμίδα. Παρατηρείται αύξηση της p300 και της acH3 σ αυτή την περιοχή.(66) Ταυτοποιήθηκαν βασικοί μηχανισμοί έκφρασης της MMP-1 που επάγεται από τη UV-ακτινοβολία. Το κολλαγόνο αποτελεί τη βασική δομική πρωτεΐνη του δέρματος. Ως εκ τούτου, η μείωση αυτού είναι η βασική αιτία για τη γήρανση του δέρματος τόσο του εσωτερικά όσο και του εξωτερικά. Από την παρούσα μελέτη προκύπτει ότι η έκφραση της MMP-1 που επάγεται από τη UVακτινοβολία εμπλέκεται στην τροποποίηση των ιστονών και στη δραστηριότητα της p300. Με αυτό τον τρόπο η p300 και η τροποποίηση των ιστονών προσφέρουν επιγενετική υπόθεση στην παθογένεση της φωτογήρανσης.

4.2.miRNAs και γήρανση του δέρματος

Το ανθρώπινο δέρμα το οποίο είναι διαρκώς εκτεθειμένο στη UV ακτινοβολία, ιδιαίτερα στη UVA και τη UVB, είναι ευπαθές στα επιβλαβή αποτελέσματα αυτών δηλαδή στο ερύθημα, τη φωτογήρανση, την ανοσοκαταστολή και τον καρκίνο. Για να εξουδετερώσουν αυτές τις συνέπειες και να διατηρήσουν τη σταθερότητα τους τα κύτταρα έχουν αναπτύξει σημαντικούς προστατευτικούς μηχανισμούς που περιλαμβάνουν την επιδιόρθωση του DNA, την αναχαίτιση του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση. Τα miRNAs, αποτελούν μια ομάδα από μικρά μη-κώδικα μόρια RNA τα οποία δρουν σαν μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές μέσω της σύνδεσης τους με συμπληρωματικές αλληλουχίες 3' στην αμετάφραστη περιοχή των γονιδίων που στοχεύουν, και καταλήγουν είτε στην μεταγραφική καταστολή τους είτε στην αποδόμηση του στόχου τους.

Ειδικά , η UV επαγόμενη καταστροφή του DNA εμπεριέχει τον σχηματισμό πυριμιδινικών διμερών κυκλοβουτανίου (CPDs), φωτο- προϊόντων (6-4PPs) και διμερή. Επιπλέον, μέσω της παραγωγής ελευθέρων ριζών στα διάφορα είδη μπορεί να δημιουργηθούν οξειδωτικές βάσεις όπως η 8-υδροξυδεοξυγουανοσίνη(8-OHdG) (67)ή ακόμη και να προκληθούν θραύσματα του DNA στη μια ή και στις δυο έλικες.

Για να ανταποκριθούν στις επιβλαβείς επιδράσεις της UV ακτινοβολίας, ο κυτταρικός μηχανισμός απάντα με οξεία, παροδική αντίδραση που ονομάζεται ‘UV επαγόμενη αντίδραση’. Αποτυχία αυτής μπορεί να οδηγήσει σε ανοσοκαταστολή, φλεγμονή, φωτογήρανση και καρκίνο του δέρματος. Για τα διάφορα είδη βλαβών που μπορεί να συμβούν, διάφοροι μηχανισμοί άμυνας περιλαμβάνονται όπως η αντικατάσταση μιας βάσης(BER), η αντικατάσταση νουκλεοτιδίου (NER), αντικατάσταση σε αναντιστοιχία (MMR), αντικατάσταση βάσεων από θραύσμα και στις δυο έλικες του DNA.

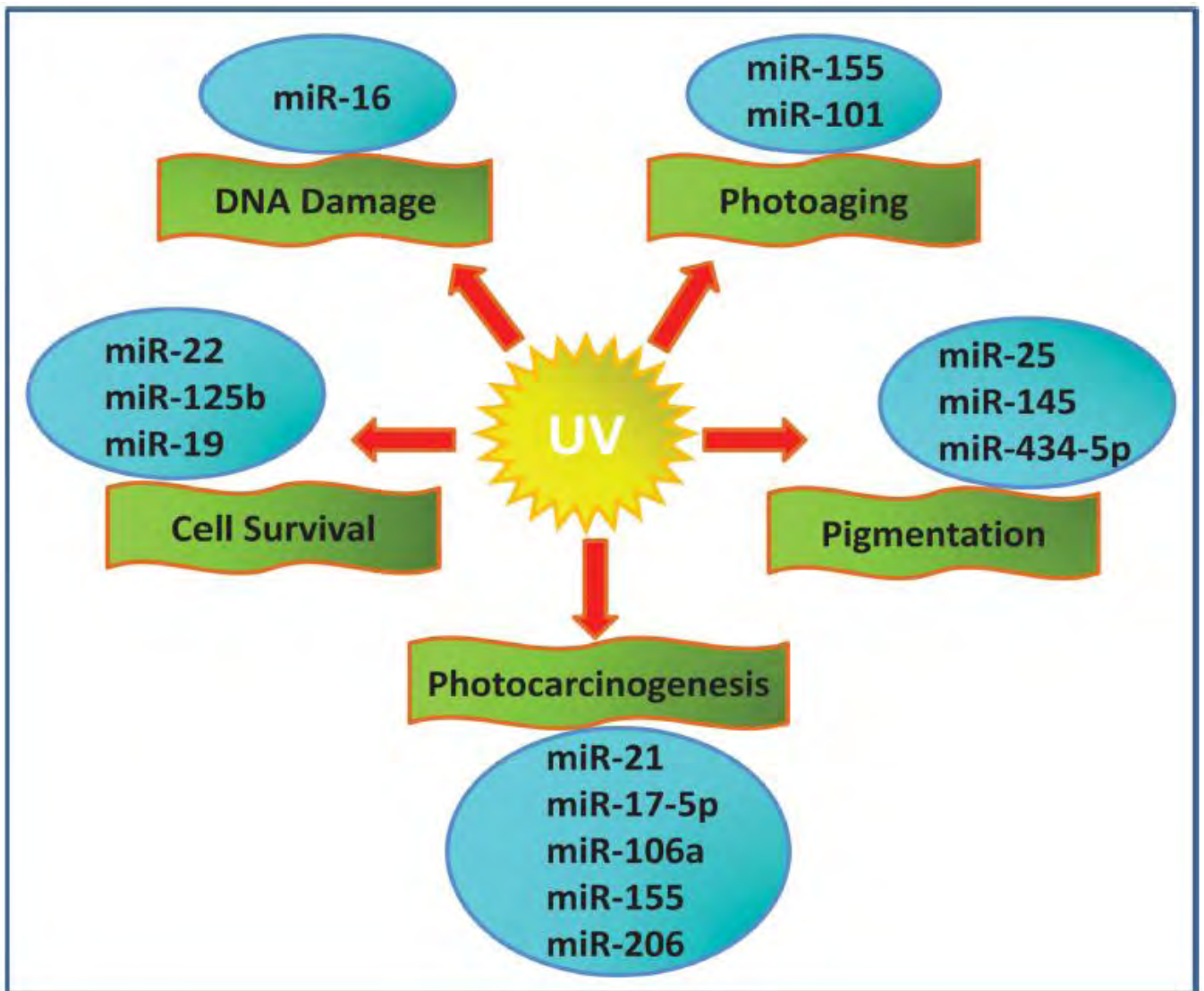
Τα (miRNAs) είναι μια ομάδα ενδογενών μικρών μη κωδικών RNAs (~23 νουκλεοτίδια) τα οποία εμπλέκονται αρνητικά στη ρύθμιση των γονιδίων στο μετα-μεταγραφικό επίπεδο κυρίως μέσω της σύνδεσης τους στην 3’ αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου στόχου. Η σύνδεση του miRNA με το mRNA στόχο μπορεί να οδηγήσει στη διακοπή της μετάφρασης της πρωτεΐνης όπως επίσης και στην αποσταθεροποίηση του mRNA. Ωστόσο, το τελευταίο φαίνεται να είναι ο κύριος μηχανισμός στην miRNA- εξαρτώμενη καταστολή του γονιδίου. Κάθε γονίδιο μπορεί να ελέγχεται από πολλά miRNAs. Ένα miRNA μπορεί να έχει διάφορες λειτουργίες σε κάθε τύπο κυττάρου με κάθε γονίδιο που συνδέεται στη συμπληρωματική 3’ αμεταφραστη περιοχή. Αυτό μπορεί να είναι αληθές για γονίδια με μακρά 3’ αμετάφραστη περιοχή. Για αυτό το λόγο ο μηχανισμός δράσης των miRNAs έχει συγκριθεί με αρκετούς μεταγραφικούς παράγοντες με ποικιλοτρόπα αποτελέσματα παρότι το αποτέλεσμα καθενός περιορίζεται στη γενετική πληροφορία.

Λίγες πληροφορίες έχουμε για τους μηχανισμούς μέσω των οποίων τα miRNAs ρυθμίζουν την απάντηση στα φυσιολογικά κύτταρα της επιδερμίδας μετά από έκθεση στη UV ακτινοβολία. Στην παρούσα μελέτη των *Deeba Syed et al, at Curr Drug Targets. 2013 September* (68) δίνονται κάποιες πληροφορίες για να κατανοήσουμε τη ρύθμιση μέσω των miRNA ως απάντηση του κυττάρου στη UV ακτινοβολία.

Στο φυσιολογικό δέρμα μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία παρατηρείται βραχυπρόθεσμα αυξημένη έκφραση των miRNAs. Πολύ λίγες μελέτες έχουν κάνει λόγο για την εμπλοκή του χρώματος με τα miRNAs. Έχει δείχτεί συσχέτιση μεταξύ του miR-25 και της ρύθμισης του χρώματος στα μελανοκύτταρα του δέρματος (Lama pacos) μέσω καταστολής του παράγοντα MITF. Πολλά miRNAs έχουν βρεθεί ότι ενέχονται στη ρύθμιση της μελανογένεσης. Η πλειοψηφία τους παρουσίαζαν μειωμένη έκφραση και σ αυτά περιλαμβάνονταν τα miR-125b, miR-139-5p, miR-145, miR-155, miR-193, miR-206, miR-218, miR-221, miR-222, miR-28, miR-335, miR-365, και miR-455. Σε αντίθεση το miR-130b, miR-182, και το miR-9 (69) εμφάνιζαν αυξημένη έκφραση. Η UV μέσω της ενεργοποίησης των καταρρακτών του

αυξητικού παράγοντα και της πρωτεϊνικής κινάσης αυξάνει την έκφραση του c-Jun και c-Fos, που αποτελούν αναπόσπαστα συστατικά του συμπλέγματος του μεταγραφικού παράγοντα AP-1. Ο AP-1 με τη σειρά του δεν καθορίζει μόνο τη μεταγραφή των μεταλλοπρωτεϊνών που επάγουν την αποδόμηση των πρωτεϊνών του εξωκυττάριου κυτταροσκελετού αλλά επίσης ρυθμίζει αρνητικά το μονοπάτι σύνθεσης του κολλαγόνου[2]. Στη μελέτη των Song *et al.* μελετούνται οι μηχανισμοί μέσω των οποίων η UV ακτινοβολία αυξάνει την έκφραση του c-Jun στο ανθρώπινο δέρμα.[33]. Απέδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης c-Jun και των επιπέδων του mRNA σχετίζονται με τη μειωμένη έκφραση του miR-155 στους δερματικούς ινοβλάστες. Η λουσιφεράση ταυτοποίησε ότι το c-Jun αποτελεί στόχο του miR-155. Το miR-155 ενδεχομένως να λειτουργεί σαν ένα προστατευτικό miRNA και μπορεί να χρησιμεύει ως ένας πιθανός στόχος για τη θεραπεία από τη φωτογήρανση. Χρησιμοποιώντας ανάλυση του μεταγραφώματος, ταυτοποιήθηκαν πέντε miRNAs, τα miR-15a, miR-20a, miR-20b, miR-93 και miR-101, τα οποία τροποποιήθηκαν κατά τη UV επαγόμενη κυτταρική γήρανση.(70)

Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζονται miRNAs τα οποία συμμετέχουν στην UV- επαγόμενη κυτταρική απάντηση



ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Γονίδια τα οποία κωδικοποιούν αντιοξειδωτικές πρωτεΐνες, γονίδια που επιδιορθώνουν το DNA, που κωδικοποιούν τις ελικάσες, που κωδικοποιούν ρυθμιστές ενεργητικών συστατικών είναι υπεύθυνα για τη γήρανση του δέρματος. Θεραπεία για τη γήρανση του δέρματος δεν υπάρχει προς το παρόν. Γι αυτό θα ήταν συνετό να στραφούμε περισσότερο σε τρόπους που θα βοηθούσαν στην πρόληψή της.

Η υπεριώδης ακτινοβολία είναι κοινός παράγων υπεύθυνος για τη διαδικασία της γήρανσης του δέρματος. Μέχρι στιγμής πολλές μελέτες που αφορούν τη γήρανση εστιάζουν στο σύνδρομο προγηρίας Hutchinson-Gilford, ένα σύνδρομο που κληρονομείται με τον επικρατητικό τρόπο. Προς την ίδια κατεύθυνση της πρόληψης της γήρανσης στρέφεται και η κατανόηση και η προσπάθεια για διακοπή του συνδρόμου αυτού. Σ αυτές τις μελέτες γίνεται σύγκριση του γονιδιώματος ατόμων που πάσχουν από σύνδρομο προγηρίας και φυσιολογικών ατόμων για να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές στο γονιδίωμα τους. Οι λαμινίνες A/C περιλαμβάνονται στη γήρανση. Ο μηχανισμός του συνδρόμου προγηρίας οφείλεται σε μια σημειακή μετάλλαξη κυτοσίνης σε θυμίνη στη θέση 1824 στο εξόνιο 11 στο γονίδιο το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα η πρωτεΐνη LMNA να είναι κατά 50 αμινοξέα μικρότερη στο καρβοξυτελικό της άκρο. Αυτή η πρωτεΐνη ονομάζεται προγηρίνη και σχετίζεται με την ηλικία. Αλλαγές που εμφανίζονται στον κυτταρικό πυρήνα ηλικιωμένων ανθρώπων είναι όμοιες με αυτές ατόμων με σύνδρομο προγηρίας. Η προγηρίνη επηρεάζει την οργάνωση των χρωμοσωμάτων αλλάζοντας τη δομή αυτών και το επίπεδο της ετεροχρωματίνης και προκαλώντας μείωση του μήκους των τελομερών. Αυτά τα κύτταρα είναι υπερ-διαφοροποιημένα και αυτό οδηγεί στην απόπτωσή τους. Καταστροφή των τελομερών στους ινοβλάστες υγιών ατόμων ενεργοποιεί την παράγωγή προγηρίνης. Η προγηρίνη επάγει την άμεση δυσλειτουργία των τελομερών και οδηγεί στην εμφάνιση σημαντικών αλλαγών του DNA στα κύτταρα. Η UVA επάγει την έκφραση προγηρίνης μέσω εναλλακτικού ματίσματος του γονιδίου LMNA. Η προγηρίνη είναι ένας βιοδείκτης ο οποίος χρησιμοποιείται στη φυσιολογική γήρανση που εκφράζεται σαν ένα μεταλλαγμένο προϊόν του γονιδίου LMNA. Ανακάλυψη ενός τρόπου αναστολής της έκφρασης της προγηρίνης θα μπορούσε να οδηγήσει στην αναστολή της γήρανσης. Άλλοι τρόποι πρόληψης της γήρανσης που έχουν αναφερθεί είναι η φωτο προστασία, η διατροφή και ορμονική θεραπεία υποκατάστασης. Όσον αφορά τα τη διατροφή ο περιορισμός των θερμίδων, τα αντιοξειδωτικά, η βιταμίνη E, η βιταμίνη C, τα αντιοξειδωτικά και αντιοξειδωτικά βότανα βοηθούν. Η βιταμίνη E είναι ένας αποδομητής των ελευθέρων ριζών και κυρίως του μονήρους οξυγόνου. Είναι μια λιποδιαλυτική πρωτεΐνη που σταθεροποιεί την κυτταρική μεμβράνη και αναστέλλει την οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Η βιταμίνη C επάγει τη σύνθεση του κολλαγόνου σε μοριακό επίπεδο. Τα καροτινοειδή όπως η β-καροτίνη ή το λυκοπένιο είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά και έχουν φωτο-προστατευτικές ιδιότητες. Οι πολυφαινόλες από το πράσινο τσάι έχουν βρεθεί στο επίκεντρο της προσοχής τα τελευταία

χρόνια λόγω της πιθανής αντιοξειδωτικής τους δράσης. Η επιγαλλοκατεχίνη-3γαλλική που αποτελεί συστατικό των πολυφαινόλων του πράσινου τσαγιού αναστέλλει την έκφραση των MMP-2, MMP9 και MMP-12. Τέλος, πρέπει να αναφέρουμε ότι η μείωση του επίπεδου των ορμονών σχετίζεται με μεγάλη ποικιλία αλλαγών που μπορούν να ανασταλούν ή να βελτιωθούν με ορμονική υποκατάσταση. Πολλά δεδομένα από θεραπεία υποκατάστασης σε γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακές αποδεικνύουν ότι μπορούν να αντιστραφούν τα σημάδια της γήρανσης για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η γήρανση του δέρματος αποτελεί φαινόμενο το οποίο τα τελευταία χρόνια κερδίζει ολοένα και περισσότερο το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας καθώς το δέρμα αποτελεί το κύριο μέσο επικοινωνίας με τους γύρω μας και είναι άμεσα συνυφασμένο με την έκφρασή μας. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών και μεθόδων, όπως η αλληλούχιση επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing- NGS) μας έδωσε τη δυνατότητα για έναν πιο ολοκληρωμένο έλεγχο μεταλλάξεων σε επίπεδο πολυγονιδιακών πάνελ, γονιδιώματος και μεταγραφώματος. Επίσης μελέτες GWAS (Genome- Wide Association Studies) ταυτοποίησαν περιοχές των γονιδίων που ρυθμίζουν την έκφρασή τους και ανακαλύφθηκαν διάφοροι πολυμορφισμοί που συμβάλλουν στην έκφραση χαρακτηριστικών της γήρανσης. Ακόμη μας δόθηκε η δυνατότητα να ταυτοποιήσουμε σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία είτε συμβάλλουν απευθείας στη γήρανση είτε εκτροπή αυτών οδηγεί στη γήρανση. Η γήρανση του δέρματος είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο του οποίου η γένεση και η εξέλιξη είναι αποτέλεσμα δυο διαδικασιών που αλληλεπικαλύπτονται της εσωτερικής(γενετικής) γήρανσης και της εξωτερικής(φωτογήρανσης). Οι ραγδαίες εξελίξεις στην τεχνολογία αλλά και στη μοριακή βιολογία και τη γενετική έχουν επιταχύνει την ταυτοποίηση πολλαπλών γενετικών τόπων, αλλά και γονιδίων που θεωρείται ότι μετέχουν στη διαδικασία της γήρανσης. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η επιγενετική κατέχει κυρίαρχη θέση στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA, της ρύθμισης της δομής της χρωματίνης, αλλά και των διαφόρων δραστηριοτήτων των μη κωδικών μορίων RNA (miRNAs) καθώς πολλοί φαινότυποι έχουν βρεθεί να διαφέρουν σε άτομα με κοινούς γονιδιακούς τύπους. Αν και κατά καιρούς έχει γίνει προσπάθεια για να ερμηνευτεί η παθογένεση της γήρανσης με τον ένα ή τον άλλο τρόπο καμιά θεωρία δεν ήταν δυνατό να ερμηνεύσει ολοκληρωτικά το μοντέλο της γήρανσης και αυτό διότι δεν γίνεται να απομονώσουμε την εσωτερική γήρανση από τη φωτογήρανση και το αντίστροφο. Θεραπεία για τη γήρανση του δέρματος δεν υπάρχει. Είναι όμως πολύ σημαντικό να επιχειρήσουμε την πρόληψή της όσο το δυνατόν γρηγορότερα καθώς η πρόληψη αυτής σε νεαρή ηλικία μπορεί να καθυστερήσει σε μεγάλο βαθμό την εμφάνιση σημαδιών γήρανσης. Στα επόμενα χρόνια οι εξελίξεις στον τομέα της έρευνας για τη γήρανση αναμένεται να είναι καταγιστικές και αυτό διότι η συνεχώς εξελισσόμενη ανάπτυξη στον τομέα της έρευνας και της τεχνολογίας μπορεί να βοηθήσει οι μελέτες να γίνουν σε μεγαλύτερη κλίμακα με αποτέλεσμα τα συμπεράσματα να είναι ακριβέστερα και πιο έγκυρα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Βασική ιστολογία ΙΙ, πρωτότυπη έκδοση Junqueira et al., Histologia Basica 8th. Edition
2. Tobin DJ, Introduction to skin aging, Journal of Tissue Viability (2016)
3. Oikarinen A. et al, The aging of skin: chronoaging versus photoaging. Photodermatol Photoimmunol Photomed 1990 Feb;7(1):3-4.
4. Montagna W, et al Kirchner S, Carlisle K. Histology of sun-damaged skin. J Am Acad Dermatol 1989; 21(1):907-18.
5. Landau M. et al, Exogenous factors in skin aging. Curr Probl Dermatol 2007; 35: 1-13.
6. Kosmadaki MG et al, Gilchrist BA. The role of telomeres in skin aging/photoaging. Micron 2004; 35: 155-9.
7. Nakamura KI, et al. Comparative analysis of telomere lengths and erosion with age in human epidermis and lingual epithelium. J Invest Dermatol 2002; 119: 1014-9.
8. Young AR. et al, Acute effects of UVR on human eyes and skin. Prog Biophys Mol Biol 2006;92 (1):80-5.
9. Leyden JJ. Et al, Clinical features of ageing skin. at Br J Dermatol 1990; 122:1-3.
10. Makrantonaki et al, Molecular Mechanisms of Skin Aging State of the Art, at N.Y.A.S. 2007;1119, 44-45.
11. Contet- Audonneau et al, A histological study of human wrinkle structures: comparison between sun-exposed areas of the face, with or without wrinkles, and sun-protected areas. Br. J. Dermatol. 1999; 140: 1038–1047.
12. Bernstein E.F. et al. Long-term sun exposure alters the collagen of the papillary dermis. Comparison of sun-protected and photoaged skin by northern analysis, immune-histochemical staining, and confocal laser scanning microscopy. J. Am. Acad. Dermatol. 1996; 34: 209–218.
13. Scarffetter- Kochanek K. et al. Photoaging of the skin from phenotype to mechanisms. Exp. Gerontol. 2000; 35: 307–316
14. Poljšak B et al, Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress, at Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat. 2012; 21(2):33-6.
15. Kohl, E., et al, Skin ageing. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology 2011, (25): 873–884
16. Pryor WA. Free radical reactions and their importance in biochemical systems. Fed Proc. 1973;32:1862-9.

17. Chung JH, et al., Decreased extracellular-signal-regulated kinase and increased stress-activated MAPkinase activities in aged human skin in vivo. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 177–182
18. Makrantonaki E, et al. Age-specific hormonal decline is accompanied by transcriptional changes in human sebocytes in vitro. *Aging Cell* 2006; 5: 331–344.
19. Brincat MP. Hormone replacement therapy and the skin. *Maturitas* 2000; 35: 107–117.
20. Klotz LO, et al., UVA and singlet oxygen as inducers of cutaneous signaling events. *Curr Probl Dermatol* 2001; 29: 95–113.
21. Berneburg M et al, Photoaging of human skin, at *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2000 Dec;16(6):239-44
22. Hayflick L. et al, The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1965; 37: 614–636.
23. Kronic D, Moshir S, Greulich-Bode KM et al. Tissue context-activated telomerase in human epidermis correlates with little age-dependent telomere loss. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792: 297–308.
24. Fisher GJ, Datta SC, Talwar HS et al. Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature* 1996; 379: 335–339.
25. Quan T, et al. Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. at *J Investig Dermatol Symp Proc* 2009; 14: 20–24.
26. Fisher GJ, et al. Collagen fragmentation promotes oxidative stress and elevates matrix metalloproteinase-1 in fibroblasts in aged human skin. at *Am J Pathol* 2009; 174: 101– 114.
27. Chung JH, et al. Angiogenesis in skin aging and photoaging. at *J Dermatol* 2007; 34: 593–600.
28. Sander CS, Chang H, Salzman S et al. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. at *J Invest Dermatol* 2002; 118: 618–625.
29. Farage, M. A. et al, Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 2008;30: 87–95.
30. Sudel, K.M., Venzke, K., Mielke, H. et al. Novel aspects of intrinsic and extrinsic aging of human skin: beneficial effects of soy extract. *Photochem. Photobiol.*,2005; 81, 581–587
31. Farage, M. et al, *The Vulva: Anatomy, Physiology and Pathology.* at Informa Healthcare, New York 2006, 27-42
32. Neerken, S., et al Characterization of age-related effects in human skin: a comparative study that applies confocal laser scanning microscopy and optical coherence tomography. *At J. Biomed. Opt.* 2004;9, 274–281
33. McCallion, R. et al. Dry and photo-aged skin: manifestations and management. at *J. Clin. Pharm. Ther.* 1993; 18, 15–32

34. Kennedy, C., Bastiaens, M.T., Bajdik, C.D. et al. Leiden Skin Cancer Study. Effect of smoking and sun on the aging skin at *J. Invest. Dermatol* 2003; 120, 548–554
35. Leow, Y.H. and Maibach, H.I. Cigarette smoking, cutaneous vasculature, and tissue oxygen. at *Clin. Dermatol.* 1998; 16, 579–584
36. Martini, F. et al, *Fundamentals of Anatomy and Physiology.* Benjamin-Cummings, San Francisco 2004.
37. Gilchrest, B.A. A review of skin aging and its medical therapy. *Br. J. Dermatol.* 1996;135, 867–875
38. Hanson, K.M et al., Epidermal trans-urocanic acid and the UV-A-induced photaging of the skin. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 1998;95, 10576–10578
39. Seite, S., et al. Histological evaluation of a topically applied retinol-vitamin C combination. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2005; 18, 81–87
40. Makrantonaki E, et al, Genetics and skin aging. at *Dermato-endocrinology.* 2012;4(3):280-28
41. Robinson MK, Binder RL, Griffiths CE. Genomic driven insights into changes in aging skin. at *J Drugs Dermatol* 2009; (8),8-11
42. Lener T, et al, Expression profiling of aging in the human skin. at *Exp Gerontol* 2006; 41:387-97
43. Massudi H, et al, Age-associated changes in oxidative stress and NAD⁺ metabolism in human tissue. At *PLoS One* 2012; 7
44. Rawlings AV. et al, Ethnic skin types: are there differences in skin structure and function? at *Int J Cosmet Sci* 2006; 28:79-93
45. Singh R et al, Genetics of human longevity with emphasis on the relevance of HSP70 as candidate genes. at *Front Biosci.* 2007; (12):4504–4513.
46. Kosmadaki M.G. et al, The role of telomeres in skin aging/ photoaging. at *Micron* 2004 (35): 155–159.
47. Bodnar A.G.. *et al.* Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. at *Science*(2009);279: 349–352.
48. Michikaya Y. *et al.* Aging-dependent large accumulation of point mutations in the human mtDNA control region for replication. at *Science*(1999); 286: 774–779.
49. Clerc S. et al, A Genome-Wide Association Study in Caucasian Women Points Out a Putative Role of the *STXBP5L* Gene in Facial Photoaging at *Journal of Investigative Dermatology*,(2013);133,4,929 - 935
50. Ye J, Zhang Y, Xu J et al. FBXO40, a gene encoding a novel muscle-specific F-box protein, is upregulated in denervation-related muscle atrophy. At *Gene*(2007); 404:53–6

51. Naval J, Alonso V, Herranz MA. Genetic polymorphisms and skin aging: the identification of population genotypic groups holds potential for personalized treatments. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2014;7:207-214
52. Jacobs, L.C. et al. A Genome-Wide Association Study Identifies the Skin Color Genes *IRF4*, *MC1R*, *ASIP*, and *BNC2* Influencing Facial Pigmented Spots, at *JID*, 2014;135,7:1735 - 1742
53. Jacobs LC, et al. Comprehensive candidate gene study highlights UGT1A and BNC2 as new genes determining continuous skin color variation in Europeans. at *Hum Genet* (2013);132:147-58.
54. Liu, Fan et al. The *MC1R* Gene and Youthful Looks at *Current Biology* 2016; 26,9,1213 – 1220
55. Gerber PA et al, Mechanisms of skin aging induced by EGFR inhibitors. at *Support Care Cancer*. 2016;24(10):4241-8
56. Chauhan P, et al. Modeling signaling pathways leading to wrinkle formation: Identification of the skin ageing target. at *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2009; 75:463-8.
57. Choi et al, The underlying mechanism of proinflammatory NF- κ B activation by the mTORC2/Akt/IKK α pathway during skin aging. at *Oncotarget*,2016(7),33
58. Kim W et al, Inhibition of hedgehog signalling attenuates UVB-induced skin photoageing at *Exp Dermatol*. 2015 Aug;24(8):611-7
59. Grönniger E, Weber B, Heil O, et al. Aging and Chronic Sun Exposure Cause Distinct Epigenetic Changes in Human Skin. Reik W, ed. *PLoS Genetics*. 2010;6(5)
60. Raddatz G, et al. Aging is associated with highly defined epigenetic changes in the human epidermis. *Epigenetics & Chromatin*. 2013;6:36
61. Bormann F, Rodríguez-Paredes M, Hagemann S, et al. Reduced DNA methylation patterning and transcriptional connectivity define human skin aging. *Aging Cell*. 2016;15(3):563-571.
62. Irizarry RA, et al The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. at *Nat. Genet*. 2009 41, 178–186.
63. Sandoval J, et al Validation of a DNA methylation microarray for 450,000 CpG sites in the human genome. At *Epigenetics* 2011 6, 692–702.
64. Kim MK et al, Topical application of anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid) reduces UV-induced histone modification, MMP-13, MMP-9, COX-2 and TNF- α expressions in hairless mice skin., at *J Dermatol Sci*.2013;70(1):64-7
65. Kim MK, et al. The role of p300 histone acetyltransferase in UV-induced histone modifications and MMP-1 gene transcription. At *PLoS One* 2009;4: 4864.
66. Liu L, Scolnick DM, et al. p53 sites acetylated in vitro by PCAF and p300 are acetylated in vivo in response to DNA damage. *Mol Cell Biol* 1999;19:1202–9.

67. Ikehata H, Ono T. The mechanisms of UV mutagenesis. *Journal of radiation research*. 2011; 52:115–125
68. Syed DN, et al MicroRNAs in Skin Response to UV Radiation. at *Current drug targets*. 2013;14(10):1128-1134.
69. Sand M, et al. Comparative microarray analysis of microRNA expression profiles in primary cutaneous malignant melanoma, cutaneous malignant melanoma metastases, and benign melanocytic nevi. at *Cell and tissue research*. 2013; 351:85–9
70. Song J, et al. MiR-155 negatively regulates c-Jun expression at the post- transcriptional level in human dermal fibroblasts in vitro implications in UVA irradiation-induced photoaging. at *Cellular physiology and biochemistry*. 2012; 29:331–340