

# Starzenie: mechanizmy epigenetyczne i genetyczne

## Aging: epigenetic and genetic mechanisms

Wojciech Sawicki, Jacek Malejczyk, Martyna Wróblewska

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

### Streszczenie

Przedstawiono uznawane współcześnie molekularne i komórkowe cechy-przyczyny starzenia. Szczególnie zwrócono uwagę na modyfikacje epigenomu w czasie ludzkiego życia, które są wywoływane zmianami metylacji cytozyny DNA i histonów i prowadzą do zmian ekspresji genów, a w konsekwencji do starzenia. Te zmiany epigenomu rozpoczynają się w trakcie zapłodnienia i trwają poprzez przedimplantacyjny rozwój zarodkowy, kiedy zapis epigenetyczny jest resetowany. Począwszy od stadium moruli/blastocysty zapis epigenetyczny jest odbudowywany, co przejawia się różnicowaniem i plejomorfizmem komórkowym. Zmiany (dryft) epigenomu w życiu postnatalnym prowadzą do włączania/wyłączania licznych genów, co przejawia się zmianami struktury i pogorszenia funkcji komórek, czyli starzeniem entropowym. Charakterystyczną cechą starzenia jest ogólnogenomowa hipometylacja oraz hipermetylacja wysp CpG DNA. Przedstawiono także rolę mutacji DNA, skracania telomerów i modyfikacji elementów transpozonowych w powstawaniu zmian starczych. (*Gerontol Pol* 2015, 1, 143-58)

**Słowa kluczowe:** starzenie, epigenom, metylacja DNA, genom, mutacje DNA, telomery

### Abstract

The review attends to the molecular and cellular hallmarks of aging. Particularly, the modifications of epigenome in the course of human lifespan are critically discussed. The epigenome modifications are evoked by methylation of DNA cytosine or histones and cease/activate gene expression leading to entropic senescence. Those epigenetic modifications start at fertilization and proceed throughout preimplantation embryo development and result in resetting of epigenetic pattern. Then at morula/blastocyst/organogenesis stage of development the epigenetic pattern is reconstructed mirroring cellular differentiation and pleiomorphism. Epigenetic modifications (drift) in postnatal-life switch on/off many vital genes yielding progression of aging. The general hypomethylation of a genome and hypermethylation of CpG islands is a distinct hallmark of senescence. Then the role of genome (DNA mutations, modifications of telomeres and transposable elements) in generation/progression of human senescence is discussed. (*Gerontol Pol* 2015, 1, 143-58)

**Key words:** aging, epigenome, DNA methylation, genome, transposons, telomeres

### Wstęp

Postęp cywilizacyjny wraz z towarzyszącym mu polepszeniem warunków życia przedłużyły średnie życie ludzkie z 20-30 lat na początku naszej ery do prawie 70 lat (w krajach rozwiniętych nawet do 80 lat) w roku 2010. To przedłużenie życia zmienia, przede wszystkim w krajach rozwiniętych, proporcje - ludzie produktywni/ludzie nieproduktywni na korzyść tych ostatnich. Rodzi to wiele problemów natury demograficznej, ekonomicznej i medycznej. W roku 2013 liczba osób pracujących w krajach Unii Europejskiej wynosiła 308 milionów. Prognozowana liczba pracujących w 2060 roku spadnie

do 265 milionów kosztem zwiększenia liczby osób starych, powyżej 65 roku życia [1].

Zwiększenie liczby osób starych rodzi wiele problemów z dziedziny ochrony zdrowia, medycyny praktycznej i teoretycznej. Próby ich rozwiązywania są już obecnie podejmowane. Zainteresowanie biologią starzenia i praktyczną gerontologią odzwierciedla lawinowy wzrost liczby naukowych publikacji w ostatnich dwóch dekadach. Szczególnie bujnie rozwijają się badania molekularnych i komórkowych mechanizmów starzenia, a także coraz śmielsze próby odmładzania komórek, tkanek i całych organizmów. Badania te wykazują, że u podstaw procesu starzenia znajduje się głównie zmien-

ność epigenomu, modyfikacje genomu oraz dysfunkcje makrocząsteczek powodowane przez stres oksydacyjny i glikację.

## Przyczyny i teorie starzenia

Przyczyny starzenia wyjaśnia wiele teorii opisanych w licznych opracowaniach przeglądowych [2-5]. Wśród tych teorii-przyczyn starzenia znajdują się najważniejsze: • modyfikacje epigenomu (metylacja cytozyny DNA, kod histonowy oraz mikroRNA i długie, niekodujące RNA [6-8], • zmiany genomu (mutacje i uszkodzenia DNA [13-15], skracanie telomerów oraz modyfikacje ruchomych elementów DNA [9-12].

## Epigenetyczne przyczyny starzenia

Procesowi starzenia towarzyszą głębokie zmiany epigenomu [5,6], odpowiedzialnego za pozagenetyczną regulację ekspresji genów (bez ingerencji w sekwencję nukleotydów DNA), która odbywa się, poprzez tzw. cis-epigenetyczną kontrolę, tj.: • metylację/demetylację cytozyny DNA występującej w parach CpG lub poprzez tzw. trans-epigenetyczną kontrolę aktywności genów, tj.: • acetylację/deacetylację oraz metylację/demetylację histonów, a także ich ubikwitynację i fosforylację. Te zmiany struktury histonów przybierają postać tzw. kodu histonowego • mikroRNA, który hamuje translację poprzez blokowanie mRNA.

**Zasada działania epigenomu.** Jest w uproszczeniu następująca: metylacja cytozyny DNA par CpG gęsto upakowanych w promotorze genu unieczynnia go (wycisza), natomiast metylacja rzadkich par CpG aktywuje geny [16]. Demetylacja cytozyny DNA na ogół uczynnia geny i może być bierna wobec braku metylacji w czasie kilku cykli syntezy DNA, albo czynna – z udziałem enzymów, np. dioksygenazy wytwarzającej hydroksymetylocytozynę z metylocytozyny lub z użyciem mechanizmów reperacji DNA, tj. wycięcia zmetylowanej cytozyny i jej zastąpienie cytozyną niezmetylowaną. Metylacja histonów może uczynniać lub unieczynniać geny, deacetylacja histonów unieczynnia geny [6,7].

**Metylom i wyspy CpG.** Pary CpG znajdują się na całej długości DNA w liczbie kilkudziesięciu milionów/komórkę tworząc czynnościową strukturę – metylom. Wzorzec metylacji DNA jest swoisty dla rodzaju komórki i tkanki będąc odpowiednikiem odcisków palców. W komórkach ludzi starzejących się zmetylowana cytozyna par CpG szczególnie obficie występuje w kilkudziesięciu tysiącach krótkich odcinków DNA komórki

nazywanych wyspami CpG, w których jest skoncentrowana w promotorach ważnych genów [17-20].

Stan epigenetyczny trwa przez całe życie komórki i przenoszony jest wiernie poprzez mitozy, co nazywa się bookmarkingiem lub pamięcią komórkową [21].

## Zmiana epigenomu z wiekiem. Zegar epigenetyczny (metylacji DNA)

Epigenom jest modyfikowany począwszy od zapłodnienia poprzez rozwój zarodkowy, płodowy i pozamaciczny [22]. Wynikiem tych modyfikacji jest różnicowanie komórkowe i plejomorfizm komórek, a następnie zmiany starze komórek i starzenie entropowe. Zachodzące z wiekiem stochastyczne zmiany (dryft) epigenomu są jedną z głównych cech starzenia komórkowego. Zmiany metylacji DNA pozwalają określać wiek epigenetyczny komórek i tkanek i porównywać go z wiekiem kalendarzowym komórek i człowieka.

W czasie i po zapłodnieniu [16,23], aż do stadium moruli/blastocysty, trwa proces kasowania (resetownia) metylacji miejsc cytozynowych DNA. Komórki stają się całkowicie niezróżnicowane, czyli totipotentne (mogą z nich powstawać wszystkie rodzaje komórek) i teoretycznie mają zdolność nieskończonego dzielenia się, są zatem nieśmiertelne. Mogą także wytwarzać wszystkie rodzaje komórek organizmu oraz komórki błon płodowych. Ich nieśmiertelność, jest wynikiem działania wielu czynników, ale głównie jest efektem wydłużania końcowych fragmentów chromosomów - telomerów. Wydłużanie telomerów zachodzi mimo braku w komórkach zarodkowych aktywnej telomerazy (katalizującej wydłużanie telomerów) i jest skutkiem tzw. alternatywnego wydłużania telomerów (ALT, alternative lengthening of telomeres), m.in. wskutek zmian ich struktury i wymian między telomerami siostrzanych chromosomów. ALT jest także sposobem zachowania odpowiedniej długości telomerów w komórkach ok. 10% nowotworów [24,25].

W komórkach późniejszego rozwoju embrionalnego za wydłużanie telomerów odpowiada enzym - telomeraza, który w aktywnej formie występuje także po urodzeniu w komórkach macierzystych narządowych, w męskich komórkach płciowych i w komórkach ok. 90% nowotworów. Komórki somatyczne pozbawione są telomerazy, co prowadzi, obok wpływu innych czynników, do starzenia replikacyjnego i śmierci [26,27].

W komórkach moruli/blastocysty [28] rozpoczyna się odbudowa zapisu epigenetycznego w postaci metylacji cytozyny DNA i modyfikacji histonów, czyli różnicowanie komórkowe. Komórki stają się pluripotentne (mogą z nich powstawać wszystkie komórki z wyjątkiem komórek błon płodowych). Apogeum odbudowy zapisu

epigenetycznego przypada na okres okołoporodowy, kiedy 81% miejsc cytozynowych DNA jest zmetylowanych. W życiu po urodzeniu dochodzi do postępującej hipometylacji DNA - u ludzi 26-letnich 78% miejsc cytozynowych jest zmetylowanych, a u starców tylko 73% [20,23].

U ludzi starzejących się, jednocześnie ze spadkiem ogólnej metylacji cytozyny DNA, pojawiają się lokalnie miejsca hipermetylacji w wyspach CpG. W wyniku hipermetylacji wysp CpG komórki ludzi starzejących się tracą stopniowo zdolność ekspresji wielu genów [18]. Należą do nich głównie geny *INH4* (ich produkty białkowe hamują namnażanie komórek), dla białka p53 (hamuje wzrost nowotworów), dla PCG (czynniki transkrypcji regulujące biogenezę mitochondriów, wytwarzanie ATP i metabolizm), dla dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, jeden z antyoksydantów), dla syntazy NO, lipo-oxygenazy i wielu innych.

Stosując ilościowe mapy epigenetyczne stopnia metylacji DNA można określać wiek epigenetyczny komórek ludzkich, który jest różny dla komórek różnych narządów. Również wiek epigenetyczny komórek narządów zawierających komórki rakowe jest bardziej zaawansowany niż komórek narządów zdrowych. Na przykład, w przypadku gruczołu mlekowego ze zmianami nowotworowymi jego komórki są o 36 lat starsze epigenetycznie niż komórki innych narządów [29,30,31].

Co więcej, przeprowadzane są próby używania różnic między wiekiem epigenetycznym, a wiekiem kalendarzowym komórek do szacowania postępu starzenia i przewidywania statystycznego wystąpienia chorób mu towarzyszących. W ten sposób dąży się do przewidywania długości życia pozostałego człowiekowi [32].

Epigenom jest także modyfikowany przez czynniki zewnętrzne, np. środowiskowe (dieta, patogeny i in.) i wtedy otrzymuje piętna (signatures) inaktywujące/aktywujące geny. Prowadzi to do zmian struktury i funkcji komórek przejawiających się m.in. jako starzenie entropowe i powstawanie chorób towarzyszących starzeniu. Niektóre z tych zmian epigenomu mogą być dziedziczne międypokoleniowo [33].

## Deacetylacja histonów i starzenie

Deacetylacja histonów jest, poza metylacją DNA i histonów, innym, epigenetycznym mechanizmem regulacji aktywności genów. Deacetylację katalizują deacetylazy histonów (HDAC), które u ludzi występują w postaci 7 sirtuin (SIRT1-7) [34,35]. Pobudzają one lub hamują ekspresję genów. Czynniki, które modulują SIRT należą do tzw. leków epigenetycznych i stosowane są w celu spowalniania starzenia, w leczeniu towarzy-

szących starzeniu chorób degeneracyjnych i nowotworowych oraz otyłości.

Naturalnymi inhibitorami SIRT są  $\beta$ -hydroksymasłan ( $\beta$ OHB) [36] – główne źródło energii w czasie wysiłków fizycznych i postu oraz zredukowany dinukleotyd nikotynoamido-adeninowy, NADH. Natomiast  $\text{NAD}^+$  jest aktywatorem SIRT. Inhibitory SIRT prowadzą do hamowania stresu oksydacyjnego zmniejszając stopień uszkodzeń DNA, karbonylacji białek i utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych, reperując sprawność DNA. Spowalnia to procesy starzenia entropowego. Inhibitory HDAC – vorinostat [37] i romidepsynę dopuszczono ostatnio do leczenia chłoniaków T-komórkowych. Stosuje się je także w leczeniu choroby Huntingtona, Alzheimerera i Parkinsona oraz jako immunomodulatory i środki przeciwzapalne. Silnym aktywatorem SIRT1 i SIRT5 jest polifenol resweratrol znajdujący się w czerwonym winie. Resweratrolowi przypisuje się główną rolę w wywoływaniu tzw. francuskiego paradoksu: stosunkowo długie życie mimo tłustej i wysokokalorycznej diety z jednoczesnym spożywaniem dużej ilości czerwonego wina.

## Zmiana powtarzających się, rezerwowych sekwencji DNA

W miarę upływu wieku organizmu wśród zmian genomu występują jakościowe zmiany rezerwowych, powtarzających się sekwencji identycznych odcinków DNA (tzw. śmieciowego DNA) oraz ich wzrost/zmniejszenie. Stopień nagromadzenia takich sekwencji jest swoisty gatunkowo i, jak się przypuszcza, przyczynia się do różnic długości życia między gatunkami.

Ten rodzaj DNA wiąże się z występowaniem ruchomych elementów DNA (transposonów, skaczących genów), które w ludzkich komórkach stanowią 50% całego DNA. Elementy ruchome DNA utrzymywane są w ryzach funkcjonalnych poprzez mechanizm epigenetyczny – metylację ich cytozyny. Liczne badania wskazują na rolę i transposonów i metylacji w rozwoju zmian starczych u ludzi, u naczelnych, a także u innych ssaków [12,38-40].

## Rola telomerów. Starzenie replikacyjne

Telomery są powtarzającymi się sekwencjami nukleotydów DNA końców ramion chromosomów tworzących rodzaj czapeczki. Chronią chromosomy zapobiegając ich enzymatycznemu rozkładowi i fuzji ich końców. Po każdym podziale komórki telomery się skracają, co w końcu doprowadza do ich zaniku i zahamowania po-

działów komórkowych, czyli starzenia replikacyjnego. Dlatego ludzkie i zwierzęce komórki mają ograniczoną zdolność dzielenia się. Na przykład, ludzkie fibroblasty embrionalne hodowane *in vitro* po ok. 50 podwojeniach populacji przestają się dzielić, chociaż mogą jeszcze latami pozostawać żywe i pełnić swoje funkcje.

Skracanie telomerów jest prawidłowością, która legła u podstaw sformułowania teorii zegara telomerowego. Na podstawie długości telomerów można bowiem określać wiek replikacyjny komórek, a zatem także stopień ich starzenia replikacyjnego [27,41,42].

Organizm ludzki stosuje dwie naturalne strategie zapobiegania starzeniu replikacyjnemu: • komórki przedimplantacyjnego rozwoju zarodkowego oraz komórki ok. 10% nowotworów zapobiegają starzeniu replikacyjnemu włączając alternatywny sposób wydłużania telomerów (ALT) poprzez ich rekombinację między homologicznymi chromosomami [24,25]. • narządowe komórki macierzyste powstające w późniejszym rozwoju embrionalnym, w wyniku organogenezy, męskie komórki płciowe oraz komórki ok. 90% nowotworów przeciwstawiają się starzeniu replikacyjnemu włączając i utrzymując ekspresję telomerazy katalizującej replikację telomerów [43].

## Rola mutacji i uszkodzeń DNA

Mutacje DNA są zmianami kolejności zasad DNA powstającymi wskutek błędów w syntezie tego związku lub pod wpływem działania toksyn, promieniowania jonizującego, UV i wolnych rodników. Ich gromadzenie uważane jest za jedną z przyczyn prowadzących do starzenia i chorób mu towarzyszących [10].

Średnio w ludzkim organizmie dzieli się 10 komórek/s, a w 1/3 spośród ich potomstwa powstają mutacje DNA. Na ogół zmutowane komórki są niszczone na dro-

dze ich samobójczej śmierci. Pozostałe mutacje kumulują się, szczególnie w komórkach rzadko się dzielących, upośledzają funkcje komórek i prowadzą do starzenia entropowego.

Szczególne znaczenie mają mutacje mitochondrialnego DNA (mitDNA) powstające obficie wskutek bliskości źródeł wolnych rodników oraz braku histonów mitDNA i ich ochronnej roli [44]. Kumulujące się mutacje mitDNA, szczególnie w komórkach rzadko się dzielących, uszkadzają mitochondria, co powoduje zwiększoną produkcję wolnych rodników i w konsekwencji narastanie procesu starzenia.

Nawet mutacje pojedynczych genów mogą skracać życie całego organizmu. Dowodzą tego badania genu *azot* i białek *flower* i *sparc* u muszki owocowej *D. melanogaster*. Konfiguracja tych białek na powierzchni komórek włącza gen *azot*, który eliminuje defektywne, ale ciągle funkcjonujące komórki polepszając funkcjonowanie całych narządów i przedłużając życie muszki [45].

Przyczynami uszkodzeń DNA (np. pęknięcia jednej lub obu nici DNA) są najczęściej wolne rodniki [11]. Ze względu na częstość występowania uszkodzeń (średnio 2,5 tys. uszkodzeń DNA/komórkę/godz.) i ich konsekwencje są one związane z rozwojem zmian starczych i chorób im towarzyszących – degeneracyjnych i nowotworów [46-48].

Ostatnio jednak, opierając się na badaniach przeprowadzonych głównie na komórkach robaków *C. elegans* i gryzoni wysuwa się hipotezę, że wolne rodniki nie są pierwotną przyczyną zmian starczych. Przypuszcza się, że współistnieją one z tymi zmianami, a ich rola polega na przekazywaniu tkankom sygnałów (oraz ich uszkodzenia) od nieznanego czynnika wywołującego starzenie [49,50].

## Konflikt interesów

Brak

## Piśmiennictwo

1. Working age shift. *The Economist*, 26 czerwca 2013.
2. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. Hallmarks of aging. *Cell* 2013; 153: 1194-1217.
3. Issa J-P. Aging and epigenetics drift: a vicious cycle. *J Clin Invest*. 2014; 124: 24-29.
4. Wu L, Gomes AP, Sinclair DA. Geroncogenesis: metabolic changes during aging as driver of tumorigenesis. *Cancer Cell* 2014; 25: 12-19.
5. Rando TA, Chang HY. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock. *Cell* 2012; 148: 46-57.



6. Korkmaz A, Manchester LC, Topal T, Ma S, Tan DX, Reiter RJ. Epigenetic mechanisms in human physiology and diseases. *J Exp Integr Med.* 2011; 1: 139-147.
7. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res.* 2011; 21: 381-395.
8. Fatica A, Bozzani I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nature Rev Genet.* 2014; 15: 7- 21.
9. Aubert G, Lansdorp P. Telomeres and aging. *Physiol Rev.* 2008; 88: 557-579.
10. Kennedy SR, Loeb LA, Herr AJ. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. *Mech Ageing Dev.* 2012; 133: 107-214.
11. Best PB. Nuclear DNA damage as direct cause of aging. *Rejuvenation Res.* 2009; 12: 199-208.
12. De Cecco M, Criscione SW, Peterson AL, Neretti N, Sedivy JM, Kreiling JA. Transposable elements become active and mobile in genome of aging mammalian somatic tissues. *Aging* 2013; 5: 867-889.
13. Dizdaroglu M, Jaruga P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res.* 2012; 46: 382-419.
14. Grillo MA, Colombatto S. Advanced glycation end-products (AGEs): involvement in aging and neurodegenerative diseases. *Amino Acids* 2008; 35: 29-36.
15. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014; 69 (Supl. 1): S4-S9.
16. Messerschmidt D, Knowles BB, Solter D. DNA methylation dynamics during epigenetic reprogramming in the germline and preimplantation embryos. *Genes Dev.* 2014; 28: 812-828.
17. Lokk K, Modhukur V, Rajashekar B, Märtens K, Mägi R, Kolde R, et al. DNA methylome profiling of human tissues identifies global and tissue-specific methylation patterns. *Genome Biol.* 2014; 15: r54.
18. Deaton AM, Bird A. CpG islands and regulation of transcription. *Genes Dev.* 2011; 25: 1010-1022.
19. Heyn H, Li N, Ferreira HJ, Moran S, Pisano DG, Gomez A, et al. Distinct DNA methylomes of newborn and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109: 10522-10527.
20. Guo H, Zhu P, Yan L, Li R, Hu B, Lian Y, et al. The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature* 2014; 511: 606-610.
21. Halley-Stott RP, Gurdon JB. Epigenetic memory in the context of nuclear reprogramming and cancer. *Brief Funct Genomics* 2013; 12: 164-173.
22. Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell* 2007; 128: 635-638.
23. Lee HJ, Hore TA, Reik W. Reprogramming the methylome: erasing memory and creating diversity. *Cell Stem Cell* 2014; 14: 710-719.
24. Cesare AJ, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nat Rev Genet.* 2010; 11: 319-330.
25. Neumann AA, Watson CM, Noble JR, Pickett HA, Tam PPL, Redder RR, et al. Alternative lengthening of telomeres: in normal mammalian somatic cells. *Genes Dev.* 2013; 27: 18-23.
26. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiol Rev.* 2008; 88: 557-579.
27. Kalmbach K, Robinson LG, Wang F, Liu L, Keefe D. Telomere length reprogramming in embryos and stem cells. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 925121.
28. Sawicki W, Kujawa M, Jankowska-Steifer E, Mystkowska ET, Hyc A, Kowalewski C. Temporal/spatial expression and efflux activity of ABC transporter, P-glycoprotein/Abcb1 isoforms and Bcrp/Abcg2 during early murine development. *Gene Expr Patterns* 2006; 6: 738-746.
29. Jung M, Pfeifer GP. Aging and DNA methylation. *BMC Biol.* 2015; 13: 7.
30. Teschendorff AE, West J, Beck S. Age-associated epigenetic drift: implications, and a case of epigenetic thrift? *Hum Mol Genet.* 2013; 22(R1): R7-R15.
31. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol.* 2013; 14: R115.
32. Marioni RE, Shah S, McRae AF, Chen BH, Colicino E, Harris SE, et al. DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. *Genome Biol.* 2015; 16: 25.
33. Choi S-W, Friso S. Epigenetics: a new bridge between nutrition and health. *Adv Nutr.* 2010; 1: 8-16.
34. Hall JA, Dominy JE, Lee Y, Puigserver P. The sirtuin family's role in aging and age-associated pathologies. *J Clin Invest.* 2013; 123: 973-979.
35. Guarante L. Sirtuins, aging, and medicine. *N Engl J Med.* 2011; 364: 2235-2244.

36. Shimazu T, Hirschey MD, Newman J, He W, Shirakawa K, Le Moan N, et al. Suppression of oxidative stress by  $\beta$ -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science* 2013; 339: 211-214.
37. Sato A. Vorinostat approved in Japan for treatment of cutaneous T-cell lymphomas: status and prospects. *Onco Targets Ther.* 2012; 5: 67-76.
38. Muotri AR, Marchetto MCN, Coufal NG, Gage FH. The necessary junk: New functions of transposable elements. *Hum Mol Genet.* 2007; 16(R2): R159-R167.
39. Treangen TJ, Saltzberg SL. Repetitive DNA and next-generation sequencing: computational challenges and solutions. *Nat Rev Genet.* 2012; 13: 36-46.
40. Wnuk M, Lewinska A, Gurgul A, Zabek T, Potocki L, Oklejewicz B, et al. Changes in methylation patterns and repetitive sequences in blood lymphocytes of aged horses. *Age* 2014; 36: 31-48.
41. Mather KA, Jorm AF, Parslow RA, Christiansen H. Is telomere length a biomarker of aging? A review. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2011; 66: 202-213.
42. Jaskelioff M, Muller FL, Paik J-H, Thomas E, Jiang S, Adams A, et al. Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Nature* 2011; 469: 102-106.
43. Shay JW, Wright WE. Telomeres and telomerase in normal and cancer stem cells. *FEBS Lett.* 2010; 584: 3819-3825.
44. Ross JM, Stewart JB, Hagstrom E, Brene S, Mourier A, Coppotelli G, et al. Germline mitochondrial DNA mutations aggravate aging and can impair brain development. *Nature* 2013; 501: 412-415.
45. Merino MM, Rhiner C, Lopez-Gay JM, Buechel D, Hauert B, Moreno E. Elimination of unfit cells maintains tissue health and prolongs lifespan. *Cell* 2015; 160: 461-476.
46. Hipkiss AR. Energy metabolism, altered proteins, sirtuins and ageing: converging mechanisms? *Biogerontology* 2008; 9: 49-55.
47. Garinis GA, van der Horst GTJ, Vijg J, Hoeijmakers JHJ. DNA damage and ageing: new-age ideas for an age-old problem. *Nat Cell Biol.* 2008; 10: 1241-1247.
48. Semba RD, Nicklett EJ, Ferrucci L. Does accumulation of advanced glycation end products contribute to the aging phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2010; 65A: 963-975.
49. Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, Kaji Y, Yonei Y. Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-aging Med.* 2010; 7: 112-119.
50. Sanz A, Stefanatos RK. The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr Aging Sci.* 2008; 1: 10-21.