

# Mechanizmy starzenia: uszkodzanie cząsteczek i zapalenie starcze

## Mechanisms of aging: molecule damage and inflammaging

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 rolę wolnych rodników, które w subtoksycznym stężeniu regulują wiele funkcji komórek, a w stężeniu toksycznym uszkodzają cząsteczki epigenomu, genomu, lipidomu i glikomu prowadząc do pogorszenia funkcji komórek i starzenia. Omówiono także rolę antyoksydantów w rozwoju zmian starczych oraz udział mitochondriów w tym procesie. Oddzielnie przedyskutowano mechanizmy glikacji i jej udział w uszkodzaniu cząsteczek i starzeniu. Następnie krytycznie przedyskutowano udział zapalenia starczego w narastaniu starzenia i powstawania chorób mu towarzyszących oraz udział w tym procesie NFκB, mTOR i inflammasomów. Podano przykłady spowalniania starzenia przez inhibitory NFκB i mTOR. (*Gerontol Pol* 2015, 1, 143-58)

**Słowa kluczowe:** wolne rodniki, glikacja, NFκB, mTOR

### Abstract

Recently acknowledged molecular/cellular hallmarks-causes of senescence are particularized. Special attention is paid to the role of free radicals that in subtoxic concentration control cellular functions while in toxic concentration they compromise the molecules of genome, epigenome, lipidome and glycome leading to cell function deterioration and thereby to senescence. The role of antioxidants as well as that of mitochondria in progression of senescence is discussed as well. The external and internal glycation is described and its contribution to senescence progression discussed. Then the involvement of evolutionary established inflammaging in senescence progression and aging-related diseases is critically discussed. The key role of NFκB, mTOR and their inhibitors is emphasized. (*Gerontol Pol* 2015, 1, 143-58)

**Key words:** free radicals, glycation, NFκB, mTOR

### Wstęp

Organizmy wielokomórkowe, a szczególnie kręgowce, w tym także ludzie, podlegają w czasie swojego życia procesowi zmian struktury i pogarszania funkcji komórek, czyli starzeniu, które kończy się nieodwołalnie śmiercią. Ostatnie dekady przyniosły lawinę publikacji naukowych wyjaśniających molekularne i komórkowe mechanizmy starzenia. Wśród nich znajdują się zmiany wzorców epigenomu oraz modyfikacje genomu. Pierwsze pojawiają się w życiu postnatalnym człowieka i polegają na postępującej hipometylacji cytozyny w DNA oraz na hipermetylacji wysp cytozyna-guanina, a drugie na modyfikacjach genomu w postaci mutacji DNA, skraca-

nia telomerów oraz zmian elementów transpozonowych w DNA. Takie modyfikacje epigenomu i genomu prowadzą do zmian ekspresji ważnych genów, nieprawidłowej transkrypcji i translacji oraz zaburzeń stanu telomerów. Przekłada się to na pogorszenie wielu funkcji komórek i na narastanie zmian starczych. Wśród przyczyn starzenia kładzie się także szczególny nacisk na występujące stochastycznie uszkodzenia cząsteczek genomu, epigenomu, lipidomu i glikomu wywoływane głównie przez wolne rodniki i glikację. Narastająca z wiekiem organizmu produkcja wolnych rodników ma swoje źródła m.in. w zaburzeniach funkcji mitochondriów. Te cechy starzenia przyczyniły się do sformułowania dwóch popularnych teorii starzenia: mitochondrialnej i stresu

oksydacyjnego. Najnowsze dane doświadczalne wskazują jednak, że udział wolnych rodników i zaburzeń mitochondriów w wywoływaniu zmian starczych nie jest typu *propter hoc*, a może być raczej typu *post hoc*. Dlatego ciągle poszukuje się pierwotnej przyczyny zmian starczych. Inna teoria przyczyn starzenia doszukuje się ich w pelzającym rozwoju przewlekłego stanu zapalnego (inflammaging) o niewielkim nasileniu. Taki, rozwijający się z wiekiem stan zapalny jest, jak się sądzi, ugruntowany ewolucyjnie i odgrywa rolę w patogenezie postępujących zmian starczych, a także chorób związanych ze starzeniem. Mimo niedoskonałości, teoria zapalenia starczego wyjaśnia wiele problemów z dziedziny teorii i klinicznej terapii.

## Rola wolnych rodników. Stres oksydacyjny

**Regulacyjna rola wolnych rodników.** Wolne rodniki w stężeniu subtoksycznym pełnią dobrotliwe funkcje informatorów wewnątrzkomórkowych [1,2]. Kontrolują wówczas czynniki transkrypcji i transkrypcję oraz regulują aktywność kinaz i fosfataz. Działają także na białka bogate w cysteinę, np. na kinazę MAP, wytwarzając wiązania S-S, zmieniają jej konformację i aktywność. Regulują również metylację cytozyny w DNA modyfikując epigenom. Wzrost stężenia wolnych rodników z wiekiem zaburza ich regulacyjną rolę prowadząc dodatkowo, według wielu autorów do narastania starzenia entropowego.

**Uszkodzanie cząsteczek.** Jednak wolne rodniki w wysokim stężeniu są przyczyną uszkodzeń cząsteczek, w tym DNA. Jest to szczególnie widoczne w stanach patologicznych i występuje także z wiekiem (stres oksydacyjny) przyczyniając się do narastania procesu starzenia. Dało to asumpt do sformułowania teorii stresu oksydacyjnego, jako jednej z przyczyn starzenia, która obecnie jest krytykowana [3-6].

Tlen jest potencjalnie toksyczny i chociaż jest niezbędny do życia komórek organizmów tlenowych, ujawnia także swoje szkodliwe działanie. Ok. 2% tlenu zużywanego przez komórki ulega niepełnej redukcji poprzez dodawanie elektronów. Prowadzi to do powstawania reaktywnych form tlenu: wolnych rodników (np. anionu nadtlenkowego,  $O_2^{\ominus}$ ), a także nadtlenku wodoru. Wolne rodniki, które mają niesparowane elektrony wchodzą łatwo w reakcje z białkami, lipidami i kwasami nukleinowymi. Wynikiem tych reakcji jest karbonylacja białek (powstawanie grup C = O) i utlenianie ich grup SH, początkowanie peroksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych błon oraz zmiany w cząsteczkach DNA – przerywanie pojedynczych nici i podwójnej helisy, za-

miany par zasad, wymiany fragmentów chromatyd oraz wytwarzanie krzyżowych wiązań DNA-białka.

Dziennie do 200 tys. wolnych rodników oddziałuje na DNA jednej komórki powodując jego uszkodzenia. Poza tym szczególne znaczenie ma karbonylacja białek enzymatycznych wywoływana przez wolne rodniki, co prowadzi do nieodwracalnego unieczynniania enzymów. Ma to tym większe znaczenie, że codziennie ok. 10% białek komórki jest karbonylowanych przez wolne rodniki.

Stężenie wolnych rodników w tkankach oraz natężenie czynionych przez nie uszkodzeń zwiększa się z wiekiem i jest 2-3 razy większe w komórkach osób w zaawansowanym wieku niż u osób młodych [7-9].

**Antyoksydanty.** u ludzi młodych wolne rodniki oraz nadtlenek wodoru są sprawnie degradowane przez antyoksydanty, do których należą enzymy: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza, peroksydaza glutationowa, peroksyredoksyny (PRX), a także wiele związków chemicznych:  $\beta$ -karoten, foliany, kwas moczowy, witaminy A, C, E i inne [10]. Z wiekiem zmniejsza się ilość antyoksydantów, co obok zwiększenia produkcji wolnych rodników, prowadzi do nadmiaru tych ostatnich w tkankach, czyli stresu oksydacyjnego. Jest on powodem uszkodzeń komórek i istoty międzykomórkowej, postępującego starzenia oraz chorób mu towarzyszących.

Znaczenie enzymów antyoksydacyjnych w procesie starzenia pokazują badania na robakach *C. elegans* [11]. Zwiększenie transkrypcji genów kodujących enzymy antyoksydacyjne opóźnia gromadzenie wolnych rodników i zmniejsza liczbę uszkodzeń DNA, obniża wytwarzanie  $H_2O_2$  przez mitochondria oraz zwiększa metabolizm komórkowy. Przejawia się to wydłużeniem życia o 30%. Również sztuczne wprowadzenie ludzkiego genu kodującego SOD do genomu muszki owocowej przedłuża jej życie o 40%. Prostej zależności między stężeniem wolnych rodników w komórce, a długością życia dowodzą również mutacje genu *age1* (koduje kinazę fosfatydyloinozytolu). Niezmutowany gen *age1* odpowiada za normalny rozwój i starzenie z towarzyszącą niewielką aktywnością SOD oraz znacznym stężeniem wolnych rodników. Zmutowany gen *age1* daje wysoką aktywność SOD, **stosunkowo** niskie stężenie wolnych rodników i trzykrotne wydłużenie życia.

## Glikacja a starzenie

Glikacja jest nieenzymatycznym, niekontrolowanym dodawaniem do cząsteczek białek, DNA i lipidów, cząsteczek cukru – glukozy, galaktozy, fruktozy i in., co początkuje zmiany struktury i funkcji glikacjonowanych

cząsteczek. Obok destrukcyjnej roli wolnych rodników przyczynia się to do uszkodzania makrocząsteczek i do starzenia entropowego [12,13].

Zjawisko glikacji zewnętrznej (poza organizmem człowieka) występuje w czasie przygotowania posiłków, kiedy cukry, białka, DNA i lipidy zawarte w pożywieniu są poddawane wysokiej temperaturze. Powoduje to brązowienie mięsa i glikację makrocząsteczek nazywaną reakcją Maillarda. Natomiast glikacja wewnętrzna zachodzi powoli i spontanicznie w organizmie człowieka: w komórkach i istocie międzykomórkowej. Cukry wiążą się z grupami aminowymi i tiolowymi argininy, lizyny i cysteiny białek, z deoksyguanozyną DNA lub fosfolipidami.

Proces glikacji przebiega w dwóch etapach: 1) wytwarzanie przejściowych produktów glikacji – zasady Schiffa i produktu Amadoriego; 2) wytwarzanie zaawansowanych, końcowych produktów glikacji, AGE (advanced glycation endproducts), które w większości są związkami  $\alpha,\beta$ -dikarbonyłowymi, jak np. metyloglioksal lub glioksal. AGE mogą występować w postaci dużych, połączonych wiązaniami krzyżowymi agregatów w różnych tkankach odpowiadając za zaburzenia ich funkcji, mogą także występować jako glikacjonowane AGE-peptydy i AGE-aminokwasy, które łatwo są wydalane z moczem.

Głównym źródłem AGE występujących w organizmie człowieka jest glikacja wewnętrzna, która nasila się w zaawansowanym wieku. Na powierzchni wielu komórek znajdują się receptory dla AGE – RAGE, których liczba wzrasta z wiekiem oraz w cukrzycy i chorobach degeneracyjnych. Wewnątrz komórek AGE znajdują się w cytosolu, organellach komórkowych i jądrze wywierając destrukcyjny wpływ, przede wszystkim w postaci nadprodukcji wolnych rodników. Ilość produkowanych wolnych rodników w obecności AGE zwiększa się 50-krotnie u osób starych i chorych na cukrzycę. Na glikację są głównie narażone białka długożyjące, np. kolagen, krystalina soczewki oka, czy białka błon podstawnych. AGE tkanki nerwowej mózgowia wytwarzają w chorobie Parkinsona ciałka Lewy'ego w neuronach istoty czarnej, lub biorą udział w skomplikowanym procesie wytwarzania płytek  $\beta$ -amyloidu, w chorobie Alzheimera.

## Rola mitochondriów

Zaburzenia funkcji mitochondriów były podstawą sformułowania mitochondrialnej teorii starzenia, w której obecnie krytykuje się sprawczą rolę wolnych rodników w wywoływaniu komórkowych/tkankowych zmian starczych [14]. Najczęstszą przyczyną uszkodzeń mito-

chondriów, jak się na ogół przypuszcza, są kumulujące się mutacje i uszkodzenia mitochondrialnego DNA prowadzące do spadku syntezy enzymów oksydoredukcyjnych oraz obniżenia stężenia dinukleotydu nikotynoamido-adeninowego,  $NAD^+$ . W skali całego organizmu daje to wzrost stosunku  $NAD^+/NADH$  i hamowanie aktywności deacetylaz (HDAC), a w konsekwencji modyfikację epigenomu i narastanie zmian starczych. Zaburzenie stężenia  $NAD^+/NADH$  prowadzi również do zmian w sygnalizacji jądro  $\rightarrow$  mitochondria i w konsekwencji do dysfunkcji mitochondriów. To z kolei modyfikuje epigenom zmieniając metylację/demetylację cytozyny wysp CpG, co zmienia aktywność genów jądrowych i powoduje rozwój zmian starczych i nowotworów, które im towarzyszą [15].

Mitochondrialny DNA jest przekazywany potomstwu (dziedziczony) tylko przez komórki jajowe. Jego mutacje lub uszkodzenia zachodzące w organizmie matki skracają życie potomstwa nawet o 1/3 [16].

## Zapalenie starcze a starzenie

Zapalenie (inflammatio) jest obronną reakcją na czynniki szkodliwe, szczególnie patogeny. Proces zapalny usuwa jego przyczyny oraz reperuje uszkodzenia będące ich skutkiem. Natomiast zapalenie starcze (inflammaging) jest ukształtowanym ewolucyjnie, przewlekłym zapaleniem o słabym nasileniu występującym u ludzi starzejących się [17-20]. Wobec utrzymujących się przyczyn zapalenia i niesprawności mechanizmów obronnych, zapalenie starcze charakteryzuje przewaga procesów uszkodzających nad procesami reparacyjnymi.

Dzięki sprawnym mechanizmom zapalenia/odporności wrodzonej ludzie pierwotni mieli szansę dożyć do okresu pokwitania i reprodukować się. Należy przypuszczać, że wydłużenie życia ludzkiego sprawiło, że dobruśliwe skutki zapalenia przekształcają się z wiekiem człowieka w skutki uszkodzające komórki i istotę międzykomórkową prowadząc do starzenia entropowego.

Na powierzchni i w cytoplazmie komórek tucznych, dendrytycznych i nabłonkowych, makrofagów i neutrofilów, a także innych komórek znajdują się czujniki – receptory PRR (pattern recognition receptors). PRR są białkami transbłonowymi lub białkami rozpuszczalnymi. Rozpoznają one budowę cząsteczek patogenów (PAMP, pathogen-associated molecular pattern) wirusów, bakterii, grzybów i innych drobnoustrojów oraz własnych cząsteczek zmienionych przez stres (SAMP, stress-associated molecular pattern lub DAMP, damage-associated molecular pattern) i potrafią odróżnić je od normalnych cząsteczek organizmu gospodarza. Najlepiej poznanymi PRR są białka transbłonowe – TLR (Toll-like receptor)

oraz białka pływające w cytoplazmie – NLR (NOD-like receptor) i RLH (RIG-like helicase). W obecności PAMP i SAMP rodzaj białka NLR – NLRP1 (lub inne receptory PRR) tworzą kompleksy nazywane inflammasomami, które aktywują proteazę – kaspazę 1 prowadząc do aktywacji pozapalnych cytokin IL1 i IL18 oraz wydzielania interferonu  $\gamma$ , a następnie IL6 [21], TNF- $\alpha$  oraz chemokin. Inflammasomy aktywują także limfocyty NK. Cytokiny wywołują wiele prozapalnych reakcji komórek, a IL 6 wpływa na hepatocyty wątroby wydzielające wtedy cytokinę – białko C-reaktywne (CRP) – molekularny znacznik toczącego się procesu zapalnego. CRP jest ważnym czynnikiem ryzyka w zawale serca i cukrzycy typu 2 wskazującym na zapalną proveniencję obu tych chorób wiążących się ze starzeniem.

### Kluczowa rola NF $\kappa$ B w zapaleniu starym

Wiele czynników biorących udział w rozwijaniu zapalenia/odporności wrodzonej działa poprzez czynnik transkrypcji NF $\kappa$ B i jego szlaki transdukcji sygnałów [22,23]. NF $\kappa$ B jest heterodimerem składającym się z różnych kombinacji białek Rel i innych białek. W normalnych warunkach NF $\kappa$ B jest w cytoplazmie związany z białkiem I $\kappa$ B, które go inaktywuje. Aktywacja NF $\kappa$ B powoduje jego przejście (lub jego składowych białek) do jądra, gdzie wspólnie z koaktywatorami i polimerazą RNA wzbudza i przeprowadza transkrypcję. Ta aktywacja odbywa się na trzy sposoby: klasyczny, nietypowy i alternatywny, w których I $\kappa$ B jest aktywowany i uwalniany w różny sposób z przemieszczeniem białek Rel do jądra i włączeniem transkrypcji prozapalnych cytokin, chemokin, cząsteczek adhezyjnych, cyklooksygenaz (COX) eikosanoidów, metaloproteaz, syntazy NO i innych. Należą one do mechanizmów włączających zapalenie/odporność wrodzoną. Czynnikiem aktywującym NF $\kappa$ B są białka inflammasomu, cytokiny prozapalne, polisacharydy bakteryjne (LPS), uszkodzenia DNA i wolne rodniki. Szczególną rolę w tym procesie odgrywa LPS, które w młodości zatrzymywane są w jelicie. Proces starzenia rozszczelnia barierę błony śluzowej jelita powodując powolne przenikanie LPS do krwi i permanentną aktywację NF $\kappa$ B.

**Inhibitory NF $\kappa$ B.** Znanych jest prawie 800 inhibitorów NF $\kappa$ B [24], które osłabiają reakcje zapalne oraz spowalniają proces starzenia. Znajdują się wśród nich: • kwas acetylosalicylowy (aspiryna), który blokuje miejsce wiązania ATP w kinazie I $\kappa$ B (IKK) • niesteroidowe leki przeciwzapalne • glukokortykoidy zatrzymujące NF $\kappa$ B w cytoplazmie • antyoksydanty • inhibitory proteasomów rozkładających I $\kappa$ B • statyny (inhibitory reduktazy HMG acetylokoenzymu A) • polifenole roślin-

ne blokujące aktywność IKK • rekombinowane peptydy, blokujące interakcje białka-białka i zatrzymujące NF $\kappa$ B w cytoplazmie.

**Wysiłek fizyczny** spowalnia proces starzenia działając głównie przeciwzapalnie. Efektem skurczów mięśni szkieletowych jest wydzielanie przez nie dużych ilości IL6 (niezależnie od TNF- $\alpha$ ), która działa hamująco na TNF- $\alpha$  i CRP, osłabia zapalenie starcze i powstrzymuje rozwój starzenia.

W czasie **snu** obniża się wydzielanie TNF- $\alpha$  i nie-mięśniowej IL6, a podwyższenie stężenia tych cytokin daje uczucie senności, wyczerpania i zmęczenia. Dlatego w stanach starczych zaburzeń snu stosuje się sterydy płciowe pobudzające cytokiny prozapalne.

**Statyny** – inhibitory reduktazy HMG acetylokoenzymu a stosowane masowo w celu obniżenia stężenia LDL w krwi wywierają również dobrodziejny i ciągle jeszcze nienależycie udokumentowany efekt hamowania rozwoju zapalenia starczego [25,26].

### mTOR a starzenie

Kinazy mTOR (mammalian target of rapamycin) integrują sygnały o dostępności cytokin, substancji odżywczych (aminokwasów, kwasów tłuszczowych itp.) oraz energii (ATP). Regulują także syntezę białka i autofagię. Włączają podziały komórek, jeśli warunki są sprzyjające, a jeśli nie są (np. w stresie) uruchamiają katabolizm i zatrzymują podziały.

Hamowanie aktywności mTOR spowalnia proces starzenia, wydłuża życie zwierząt doświadczalnych i odmładza tkanki. Szlak mTOR przekazywania sygnałów wewnątrz komórek moduluje przebieg licznych chorób powstających jako wynik starzenia – choroby Alzheimera, nowotworów, chorób serca i nerek oraz chorób autoimmunizacyjnych. Hamowanie mTOR, np. przez rapamycynę i jej syntetyczne odpowiedniki – rapalogi, powoduje spowolnienie rozwoju tych chorób oraz starzenia.

W obecności NF $\kappa$ B cytokina prozapalna TNF- $\alpha$  aktywuje kinazy mTOR, które wtedy hamują autofagię. Doprowadza to do gromadzenia uszkodzonych i zużytych cząsteczek, uszkodzenia mitochondriów i zaburzenia energetyki komórek oraz metabolizmu prowadząc do chorób degeneracyjnych towarzyszących starzeniu. Natomiast przy nieaktywnym NF $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  stymuluje ekspresję białka Beclin1, które aktywuje proces autofagii [27-30].

mTOR bierze udział w narastaniu procesu starzenia zależnego od kontaktów między komórkami. Znane od dawna zjawisko zahamowania kontaktowego komórek, tj. braku podziałów w ich dużym zagęszczeniu hamuje

także proces starzenia. Przyczyną zahamowania podziałów komórek jest ekspresja białka p27 – inhibitora podziałów, a przyczyną braku starzenia komórek – unieczynnienie wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnałów mTOR [31].

### Choroby towarzyszące zapaleniu starczemu

Narastająca w ciągu życia ekspozycja na patogeny chorób zakaźnych oraz na nieprawidłowe własne cząsteczki, a także właściwości komórek immunologicznie kompetentnych z lokalnych nisz tkankowych, w których komórki powstają i początkowo funkcjonują – wszystko

to przyspiesza starzenie układu odpornościowego, a później wszystkich układów. Niekiedy narastające starzenie entropowe niektórych narządów/układów przyjmuje postać chorób będących skutkiem starzenia – nowotworów, chorób sercowo-naczyniowych, przewlekłych chorób zapalnych, chorób neurologicznych, chorób metabolicznych, zapalenia stawów i kości, dystrofii mięśniowej, zespołu przewlekłego zmęczenia oraz zmian skórnych [20,31].

### Konflikt interesów

Brak

### Piśmiennictwo

- Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev.* 2012; 70: 257-265.
- Sawicki W, Malejczyk J, Wróblewska M. Starzenie: mechanizmy epigenetyczne i genetyczne. *Gerontol Polska* 2015, 2: w druku
- Hipkiss AR. Energy metabolism, altered proteins, sirtuins and ageing: converging mechanisms? *Biogerontology* 2008; 9: 49-55.
- Garinis GA, van der Horst GTJ, Vijg J, Hoijmakers JHJ. DNA damage and ageing: new-age ideas for an age-old problem. *Nat Cell Biol.* 2008; 10: 1241-1247.
- Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging* 2007; 2: 219-236.
- Freitas AA, de Magalhaes JP. a review and appraisal of DNA damage theory of ageing. *Mutat Res.* 2011; 728: 12-22.
- Hekini S, Lapointe J, Wen Y. Taking a „good” look at free radicals in the aging process. *Trends Cell Biol.* 2011; 21: 569-576.
- Pitroda SP, Pashtan IM, Logan HL, Budke B, Darga TE, Weichselbaum RR, et al. DNA repair pathway gene expression score correlates with repair proficiency and tumor sensitivity to chemotherapy. *Sci Transl Med.* 2014; 6: 229-242.
- Harris JL, Khanna KK. BRCA1A-complex fine tunes repair functions of BRCA1. *Aging* 2011; 3: 461-463.
- Wójcik M, Burzyńska-Pędziwiatr I, Woźniak LA. a review of natural and synthetic antioxidants important for health and longevity. *Curr Med Chem.* 2010; 17: 3262-3288.
- Antebi A. Genetics of aging in *Caenorhabditis elegans*. *PLOS Genet.* 2007; 3: 1565-1571.
- 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.
- 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.
- Sanz A, Stefanatos RK. The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr Aging Sci.* 2008; 1: 10-21.
- Gomes AP, Price NL, Ling AJY, Moslehi JJ, Montgomery MK, Rajman L, et al. Declining NAD<sup>+</sup> induces a pseudohypoxic state disrupting nuclear-mitochondrial communication during aging. *Cell* 2013; 155: 1624-1638.
- Ross JM, Coppotelli G, Hoffer BJ, Olson L. Maternally transmitted mitochondrial DNA mutations can reduce lifespan. *Sci Rep.* 2014; 4: 6569.
- Baylis D, Bartlett DB, Patel HP, Roberts HC. Understanding how we age: insights into inflammaging. *Longev Healthspan* 2013; 2: 2-8.

18. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Inflammaging: disturbed interplay between autophagy and inflammasomes. *Aging* 2012; 4: 166-175.
19. Chung HY, Lee EK, Choi YZ, Kim JM, Kim DH, Zou Y, et al. Molecular inflammation as an underlying mechanism of the aging process and age-related diseases. *J Dent Res*. 2011; 90: 830-840.
20. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol a Biol Sci Med Sci*. 2014; 69: S4-S9.
21. Czepulis N, Wieczorowska-Tobis K. Interleukin 6 and longevity. *J M Sci*. 2013; 1: 97-100.
22. Vaughan S, Jat PS. Deciphering the role of nuclear factor- $\kappa$ B in cellular senescence. *Aging* 2011; 3: 913-919.
23. Tilstra JS, Robinson AR, Wang J, Gregg SQ, Clauson CL, Reay GP, et al. NF $\kappa$ B inhibitor delays DNA damage-induced senescence and aging in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122: 2601-2612.
24. Gilmore TD, Herscovitch M. Inhibitors of NF- $\kappa$ B signaling: 785 and counting. *Oncogene* 2006; 25: 6887-6899.
25. Conaghan PG. The effects of statins on osteoarthritis structural progression: another glimpse of the Holy Grail. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71: 633-634.
26. Quist-Paulsen P. Statins and inflammation: an update. *Curr Opin Cardiol*. 2010; 25: 399-405.
27. Lamming DW, Ye L, Sabatini DM, Baur JA. Rapalogs and mTOR inhibitors as anti-aging therapeutics. *J Clin Invest*. 2013; 123: 980-989.
28. Hands SL, Proud CG, Wyttenbach A. mTOR's role in ageing: protein synthesis or autophagy. *Aging* 2009; 1: 586-597.
29. Cornu M, Albert V, Hall MN. mTOR in aging, metabolism, and cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 2013; 23: 53-62.
30. Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaerberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature* 2013; 493: 338-345.
31. Leontieva OV, Demidenko ZN, Blagosklonny MV. Contact inhibition and high cell density deactivate the mammalian target of rapamycin pathway, thus suppressing the senescence program. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111: 8832-8837.