

Ujarzmianie starzenia: sirtuiny, NFκB, mTOR, GH/IGF1 i ograniczenie kaloryczne

Aging subjugation: sirtuins, NFκB, mTOR, GH/IGF1 and caloric restriction

Wojciech Sawicki, Jacek Malejczyk, Martyna Wróblewska

Zakład Histologii i Embriologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Ostatnie lata przyniosły znaczący postęp w dziedzinie wyjaśniania przyczyn starzenia i jego ujarzmiania. Tak jak to przedstawiono w skondensowanej formie, starzenie związane jest z modyfikacją epigenomu, mutacjami i uszkodzeniem DNA, skracaniem telomerów, uszkodzeniami makrocząsteczek przez wolne rodniki/glikację oraz przewlekłym zapaleniem (zapaleniem starczym). Następnie przedyskutowano sposoby i mechanizmy spowalniania starzenia przez leki epigenetyczne (głównie sirtuiny) modulujące aktywność enzymów kształtujących epigenom. Przedstawiono także rolę inhibitorów NFκB i mTOR w powstrzymywaniu rozwoju przewlekłego starzenia starczego. Podkreślono rolę ograniczenia kalorycznego oraz rolę hormonów, szczególnie GH i IGF1 w opóźnianiu starzenia i potencjalnego przedłużania życia. (*Gerontol Pol* 2015, 4, 143-58)

Słowa kluczowe: leki epigenetyczne, NFκB, mTOR, GH/IGF1, ograniczenie kaloryczne

Abstract

Recent years have seen remarkable advance in the field of aging and its subjugation. That was concisely presented in the review as: epigenetic drift, DNA mutation and damage, telomeric/epigenomic modifications, molecule damage by free radicals/glycation and chronic inflammation (inflammaging). Then the slowing down of senescence by epigenetic drugs, particularly sirtuins, as well as by the inhibitors of NFκB/mTOR is critically discussed. Special attention is paid to caloric restriction as an anti-aging and lifespan-extending process. The role of hormones, especially GH and IGF1, in induction/slowing down of cellular growth and senescence is discussed. (*Gerontol Pol* 2015, 4, 143-58)

Key words: epigenomic drugs, NFκB, mTOR, GH/IGF1, caloric restriction

Wstęp

Ostatnie dekady przyniosły lawinę publikacji naukowych wyjaśniających biologiczne przyczyny starzenia. W ślad za tymi publikacjami podążyło zainteresowanie procesami powstrzymywania i odwracania procesu starzenia, czyli odmładzania organizmu i przedłużania życia. Zainteresowaniom tym towarzyszył wzrost badań nad przedłużaniem życia robaków, owadów, ssaków, w tym także naczelnych. Nie ma jednoznacznych dowodów na przedłużanie życia ludzi poprzez stosowanie środków zwalniających/cofających proces starzenia. Jednak spowalnianie procesu rozwoju chorób towarzyszących starzeniu (choroby Alzheimera, Huntingtona i wielu nowotworów) z pomocą terapii godzących w przyczynę starzenia jest pośrednim dowodem istnienia zależności – umiejętność hamowanie starzenia → przedłużanie życia. Ponadto, liczne badania przepro-

wadzone na zwierzętach doświadczalnych dowodzą, że poprzez manipulację pojedynczymi genami, tzw. genami długiego życia, można wydłużać życie robaków nawet 6-10-krotnie, a owadów, myszy, szczurów i psów o 20-50%. Podobne efekty uzyskuje się z pomocą stosowania ograniczenia kalorycznego. Wywołany doświadczalnie brak aktywności telomerazy symuluje ciężkie objawy starzenia, a genetycznie manipulowane przywrócenie tej aktywności nie tylko hamuje, ale także cofa proces starzenia. Podobnych efektów można się spodziewać w wyniku stosowania alternatywnego wydłużania telomerów. Można przypuszczać, że ulepszenie techniki manipulacji genami przez szersze stosowanie nowej metodologii CRISP/Cas przyspieszy postęp w dziedzinie spowalniania starzenia [1].

Znane obecnie główne i udokumentowane naukowo sposoby spowalniania/cofania procesu starzenia u ludzi zasadzają się na postępie w dziedzinie modyfikacji epi-

genomu i genomu poprzez stosowanie tzw. leków epigenetycznych i inhibitorów NFκB i mTOR, a także na praktykowaniu ograniczenia kalorycznego i poznawaniu roli hormonów, a szczególnie GH i IGF1. Można przypuszczać, że w niedalekiej przyszłości te sposoby hamowania starzenia przyczynią się co najmniej do przedłużenia maksymalnego życia ludzkiego

Starzenie, jego spowalnianie i przedłużanie życia

Postęp nauki ostatnich kilku dekad radykalnie rozszerzył i pogłębił wiedzę o mechanizmach starzenia, których przyczyny wyjaśnia wiele teorii opisanych ostatnio w licznych opracowaniach przeglądowych [2-6]. Wśród tych teorii-przyczyn starzenia znajdują się najważniejsze: ● zmiany genomu (mutacje DNA i skracanie telomerów [7,8] ● modyfikacje epigenomu (metylacja cytozyny DNA, kod histonowy oraz mikroRNA i długie, niekodujące RNA [9-11] ● uszkodzenia makrocząsteczek, w tym DNA, przez wolne rodniki i glikację [12,13] ● zaburzenia kontaktów między komórkami [14] ● zapalenie starcza [15].

Strategie powstrzymywania starzenia oraz potencjalnego przedłużania życia opierają się na celowanym modyfikowaniu zjawisk wynikających z poszczególnych teorii-przyczyn starzenia [16,17], a szczególnie modyfikowaniu epigenomu.

Wiele wyników badań w tej dziedzinie przeprowadzono na robakach, owadach i gryzoniach doświadczalnych. Wynika z nich, że mutacje nawet pojedynczych genów, nazywanych genami długowieczności (np. *azot*, *klotho*, *ag1* oraz genów kodujących enzymy antyoksydacyjne) mogą skracać lub wydłużać życie całego organizmu [18-21].

Leki epigenetyczne

Postęp, jaki dokonał się w ostatniej dekadzie, w poznawaniu mechanizmów funkcjonowania epigenomu i jego roli w starzeniu zaowocował wprowadzeniem do badań laboratoryjnych, przedklinicznych i klinicznych leków modulujących epigenom, czyli tzw. leków epigenetycznych. Hamują one lub aktywują enzymy kształtujące stan epigenetyczny komórek i w ten sposób powstrzymują, lub niekiedy wręcz odwracają proces starzenia [16,22].

Szczególą uwagę w tej dziedzinie poświęcono deacetylazom histonów (HDAC), a wśród nich – ludzkim sirtuinom (SIRT1-7) [23,24,25]. SIRT deacetyluje histony, zmieniając czynność metylotransferaz, tj. enzymów

metylujących cytozynę DNA oraz współpracują z nimi, a także współdziałają z enzymami szlaku NAD⁺. W ten sposób, działając wielokierunkowo modyfikują ekspresję genów.

Stosowanie modulatorów SIRT w spowalnianiu procesu starzenia i leczeniu chorób mu towarzyszących wynika głównie z faktu, że proces starzenia zaburza funkcje mitochondriów, co przejawia się w skali narządów i całego organizmu, względnym wzrostem stężenia utlenionego dinukleotydu nikotynoamido-adeninowego, NAD⁺ i obniżeniem stężenia zredukowanego dinukleotydu, NADH, który jest kompetycyjnym inhibitorem HDAC [26,27].

Innym inhibitorem HDAC jest β-hydroksymaślan (βOHB) – główne źródło energii w czasie wysiłków fizycznych i postu [28]. βOHB blokuje deacetylazy histonów (SIRT), co pośrednio redukuje wytwarzanie wolnych rodników i stres oksydacyjny zmniejszając stopień uszkodzeń DNA, karbonylacji białek i utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych. Dzięki temu reperacja DNA jest sprawniejsza, a błony komórek stają się bardziej płynne. Spowalnia to procesy starzenia entropowego prowadząc do przedłużenia życia.

Inhibitory HDAC – vorinostat i romidepsynę dopuszczono ostatnio do leczenia chłoniaków T-komórkowych [29]. Obiecująco rysuje się perspektywa leczenia z ich pomocą choroby Huntingtona, Alzheimerera i Parkinsona [30] oraz ich roli jako immunomodulatorów i środków przeciwzapalnych. Zachęcające są także próby użycia polifenolu – resweratrolu, aktywującego SIRT1 [27], dla skutecznego spowalniania rozwoju różnych objawów starzenia entropowego. Do tego celu używa się coraz częściej, poza HDAC, pobudzania/hamowania metylotransferaz DNA [31] oraz mikroRNA [32].

Inną grupą leków modulujących epigenom są czynniki pobudzające produkcję acetylokoenzymu A, np. statyny (inhibitory reduktazy HMG acetylokoenzymu A) [33,34] oraz metformina, które wzmagają acetylację histonów aktywując transkrypcję i dopełniając manipulację z HDAC.

Wyniki stosowania inhibitorów HDAC u owadów (*Drosophila melanogaster*) [35] i robaków (*Caenorhabditis elegans*) pokazują spektakularnie bezpośredni wpływ HDAC na długowieczność. Inhibitory HDAC – fenylomaślan (PBA) i trichostatyna (TSA) prowadzą u tych gatunków do ekspresji genów długowieczności, np. dysmutazy nadtlenkowej, transferazy glutationu, cytochromu P450 i innych. Powoduje to przedłużenie życia owadów i robaków nawet o 50%. Ponieważ w komórkach ludzkich istnieją homologii takich genów długowieczności, można przypuszczać, że manipulowanie nimi będzie przedłużać również ludzkie życie.

Modulacja epigenomu przez leki nieepigenetyczne. Jednak ok. 5% stosowanych leków może modulować w swoim ubocznym działaniu epigenom. Do leków takich zalicza się opioidy, kanabinoidy, kwas walproinowy i cytostatyki. Leki te zmieniając aktywność enzymów epigenomu lub wpływając na reperację DNA modyfikują metylom i kod histonowy [36].

Inhibitory NFκB i mTOR

NFκB (*nuclear factor kappa-light chain-enhancer of activated B cells*) jest czynnikiem transkrypcji – plejotropowym regulatorem, którego aktywacja wykazuje zarówno dobre, jak i szkodliwe skutki. Jego główną funkcją jest rozwijanie reakcji obronnych, tj. zapalenia i hamowania programowej śmierci komórek. Ponadto NFκB polepsza przeżywalność tkanek zwiększając produkcję energii z glikolizy w warunkach chorobowych, np. w niedotlenieniu. Jest permanentnie aktywowany w czasie starzenia, a prawie wszystkie przyczyny tego procesu, np. uszkodzenia/mutacje DNA, stres oksydacyjny, UVB i in., łączą się z aktywacją NFκB. Dlatego jest on uważany za główny czynnik prowadzący do ugruntowanego ewolucyjnie zapalenia starczego (inflammaging) [37]. Istnieje także odwrotna zależność – wiele czynników przedłużających życie hamuje NFκB.

Aktywacja NFκB wzbudza mechanizmy włączające zapalenie starcze/odporność wrodzoną działając poprzez prozapalne cytokiny, w tym IL-6 i TNF-α, chemokiny, cyklooksygenazy, eikosanoidy i inne [38]. Dlatego stosowanie inhibitorów NFκB dla tłumienia starzenia i chorób mu towarzyszących, oraz przedłużania w ten sposób życia, ma wielu zwolenników [39]. Znanych jest prawie 800 inhibitorów NFκB, które osłabiają reakcje zapalne oraz spowalniają proces starzenia [40]. Znajdują się wśród nich: • kwas acetylosalicylowy • niesteroidowe leki przeciwzapalne • glukokortykoidy • antyoksydanty • inhibitory proteasomów rozkładających inhibitor NFκB – IκB • inhibitory reduktazy HMG acetylokoenzymu A • suplementy diety – polifenole roślinne • resweratrol • również wysiłek fizyczny spowalnia proces starzenia działając głównie przeciwzapalnie poprzez mięśniową IL6, która działa hamująco na TNF-α i CRP • statyny – inhibitory reduktazy HMG acetylokoenzymu A stosowane masowo w celu obniżenia stężenia LDL w krwi wywierają również dobry efekt hamowania rozwoju zapalenia starczego.

mTOR (mammalian target of rapamycin) są ważnymi kinazami fosforylującymi białka oraz integrującymi sygnały o dostępności cytokin, substancji odżywczych (np. aminokwasów, kwasów tłuszczowych itp.) oraz energii (ATP). Regulują także syntezę białka i autofagię. Włą-

czają podziały komórek jeśli warunki są sprzyjające, a jeśli nie są (np. w stresie) uruchamiają katabolizm i nie włączają podziałów [41-43].

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, a przyczyną braku starzenia komórek – unieczynnienie wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnałów mTOR [44].

Hamowanie aktywności mTOR spowalnia proces starzenia, wydłuża życie i odmładza tkanki. Wewnątrzkomórkowe szlaki przekazywania sygnałów mTOR modulują przebieg licznych chorób powstających jako wynik starzenia – choroby Alzheimera, nowotworów, chorób serca i nerek oraz chorób autoimmunizacyjnych. Hamowanie mTOR powoduje wyraźne spowolnienie rozwoju tych chorób. Naturalnym inhibitorem mTOR jest rapamycyna. Znanych jest ponadto wiele jej syntetycznych odpowiedników nazywanych rapalogami. Mimo niezłych efektów terapeutycznych spowalniającego proces starzenia wykazują one znaczne działania uboczne.

Ograniczenie kaloryczne

Ograniczenie kaloryczne, tj. ograniczenie zużycia kalorii (zazwyczaj o 20-40%, bez stwarzania warunków niedożywienia) jest uważane od ok. 70 lat za ważny czynnik powstrzymujący starzenie i przedłużający życie zarówno u bezkręgowców, jak i kręgowców. Ograniczenie kaloryczne jest jednym z najskuteczniejszych, naturalnych strategii spowalniania starzenia wypracowanych przez ewolucję, chociaż jego mechanizmy są ostatnio poddawane krytyce [45]. Praktyczne wykorzystanie tego zjawiska widać w rytuałach religii monoteistycznych i innych, które stosują post trwający różnie długo.

Skutki ograniczenia kalorycznego w postaci przedłużania życia są poprzedzane pojawianiem się cech sprzyjających takiemu przedłużaniu: obniżenie stężenia glukozy, insuliny i trijodotyroniny we krwi, zwiększenie czułości komórek na insulinę, obniżenie temperatury, polepszenie reperacji DNA, zwiększenie częstości programowanej śmierci komórek oraz opóźnienie zmian starczych w układzie nerwowym i wewnątrzwydzielniczym. Przyczynia się do tego przestawienie metabolizmu na wytwarzanie ciał ketonowych, głównie β-hydroksymasłanu (βOHB), który jest źródłem energii w czasie wysiłków fizycznych i postu [28]. βOHB ma ważną właściwość blokowania deacetylaz histonów (SIRT), co pośrednio redukuje wytwarzanie wolnych rodników i stres oksydacyjny zmniejszając stopień uszkodzeń DNA, karbonylacji białek i utle-

niania nienasyconych kwasów tłuszczowych. Dzięki temu reperacja DNA jest sprawniejsza, a błony komórek stają się bardziej płynne. Spowalnia to procesy starzenia entropowego prowadząc do przedłużenia życia.

Ponadto, przedłużenie życia poprzez ograniczenie kaloryczne ma swoje przyczyny w modyfikacjach mikrobioty (bakterii jelita) [46]. Bowiernie stosowanie diety niskotłuszczowej, ograniczającej o 30% zapotrzebowanie kaloryczne, prowadzi do zmian w składzie mikrobioty, w której przeważają wtedy dobrotliwe bakterie, np. *Lactobacillus*, co uszczelnia barierę błony śluzowej jelita i zatrzymuje w nim endotoksyny. Natomiast proces starzenia rozszczelnia tę barierę, wskutek czego endotoksyny przenikają do krwi wywołując/przyspieszając przewlekły proces zapalny w różnych narządach nazywany zapaleniem starczym. Jest ono uważane za jeden z głównych czynników przyczyniających się do rozwoju starzenia i chorób mu towarzyszących.

Ograniczenie kaloryczne poprzez wpływ na epigenom modyfikuje także funkcje komórek macierzystych narządowych. Prowadzi zatem do usprawnienia ich proliferacji i różnicowania, a przez to do lepszego zastępowania zużytych komórek przez komórki odmłodzone.

Hormony

Starzeniu towarzyszy spadek stężenia wielu hormonów: hormonu wzrostu (GH), podobnego do insuliny czynnika wzrostu 1 (IGF1), testosteronu, estrogenów, hormonów tarczycy, insuliny i innych [48-51]. W badaniach przyczyn starzenia i w próbach przedłużania życia szczególne miejsce zajmują produkowany przez komórki przysadki mózgowej i innych narządów – GH oraz produkowany, pod wpływem GH, przez komórki wątroby i innych narządów – IGF1. Oba hormony działają nie tylko układowo, ale także parakrynowo (krótkotrwale na pobliskie komórki), wywołując różnorodne efekty komórkowe, które jednak są słabo poznane. GH i IGF1 występują w dużym stężeniu w dzieciństwie/młodości przyczyniając się do wzrostu ciała poprzez pobudzanie proliferacji komórek chrząstki, kości oraz innych tkanek.

Wpływ tych hormonów jest szczególnie spektakularny u robaków *C. elegans*. Unieczynnienie bowiem nawet jednego ich genu – *daf2* – zawiadującego szlakiem przekazywania sygnałów GH/IGF1 znacznie wydłuża życie. Produkt genu *daf2* jest receptorem IGF1 (wiążącym m.in. insulinę), który prowadzi do unieczynnienia czynnika transkrypcji *daf16*. Natomiast czynny *daf16* aktywuje ok. 100 genów, których produkty – białka szoku termicznego, czy antyoksydanty chronią komórki przed różnymi rodzajami stresu, w tym stresu termicznego i oksydacyjnego, a zatem także przed starzeniem i skracaniem ży-

cia [50]. Podobne szlaki jak szlak insulina/IGF1 istnieją w komórkach człowieka dając nadzieję na przedłużenie co najmniej maksymalnego życia ludzkiego poprzez manipulacje genami kodującymi białka tych szlaków.

Jednak u osób starzejących się liczne czynniki mogą aktywować szlaki przekazywania sygnałów GH/IGF1. Pobudza to NFκB i prowadzi do przyspieszenia procesów starzenia.

Parabioza heterochroniczna. Doświadczenia na myszach heterochronicznych w parabiozie (połączenie układów krwionośnych myszy młodej i starej) udowodniły, że komórki mięśni zwierząt starych nabywały zdolności do regeneracji i odmładzania pod wpływem czynnika humoralnego zawartego w krwi zwierząt młodych. Założono, że czynnikiem tym jest IGF1. Udowodniono następnie, że stare zmodyfikowane genetycznie myszy produkujące dużo IGF1 posiadały zadziwiającą cechę bezbliznowatej reperacji uszkodzonego mięśnia sercowego i regeneracji kardiomiocytów. IGF1 zaczęto zatem uważać za czynnik odmładzania i regeneracji komórek. W wyniku dalszych badań, do IGF1 jako humoralnego czynnika odmładzania dołączył czynnik wzrostu i różnicowania 11, GDF11 [52].

Karłowatość Larona. Analiza komórek pacjentów cierpiących na karłowatość Larona wykazała obecność mutacji genu dla receptora GH i w konsekwencji niskie stężenie IGF1, co wywoływało karłowatość. Kilkudziesięcioletnie obserwacje tych pacjentów wykazały, że wprawdzie niski poziom IGF1 hamował wzrost prowadząc do karłowatości, ale paradoksalnie wydłużał życie tych pacjentów do ok. 80 lat, tj. ponad przeciętną długość życia okolicznej ludności. Powodem tego, jak się przypuszcza, jest niewystępowanie u chorych na karłowatość nowotworów, cukrzycy typu 2 i chorób krążenia, głównych przyczyn śmiertelności związanej z wiekiem. Zatem obniżanie stężenia IGF1 i GH z wiekiem zmniejsza możliwości proliferacyjne i regeneracyjne tkanek, ale czyniąc to, zmniejsza także prawdopodobieństwo wystąpienia mutacji DNA, a zatem chroni przed nowotworami, miażdżycą naczyń i cukrzycą [53].

Obniżenie stężenia GH i IGF1 w miarę starzenia (znane jako somatopauza) spowalnia proliferację komórkową i prowadzi do redukcji liczby komórek i masy istoty międzykomórkowej w różnych narządach, a szczególnie w mięśniach i kościach. Daje to w rezultacie starczą sarko- i osteopenię, którą można ograniczać przez stosowanie, ciągle kontrowersyjnej, zastępczej terapii hormonalnej lub przez stosowanie, również kontrowersyjnych, czynników wpływających na wydzielanie GH i IGF1.

Konflikt interesów/Conflict of interest

Brak/None

Piśmiennictwo

1. Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and application of CRISP/Cas9 for genome engineer. *Cell*. 2014; 157: 1262-78.
2. Sawicki W, Malejczyk J, Wróblewska M. Ujarzmiianie starzenia: różnicowanie komórkowe i komórki macierzyste. *Gerontol Pol*. 2015; 3: 131-6.
3. Wu LE, Gomes AP, Sinclair DA. Geroncogenesis: metabolic changes during aging as driver of tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2014; 25: 12-9.
4. Rando TA, Chang HY. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock. *Cell*. 2012; 148: 46-57.
5. Sawicki W, Malejczyk J, Wróblewska M. Starzenie: mechanizmy epigenetyczne i genetyczne. *Gerontol Pol*. 2015; 2: 68-73.
6. Sawicki W, Malejczyk J, Wróblewska M. Mechanizmy starzenia: uszkodzanie cząsteczek i zapalenie starcze. *Gerontol Pol*. 2015; 2: 74-9.
7. Aubert G, Lansdorp P. Telomeres and aging. *Physiol Rev*. 2008; 88: 557-79.
8. Kennedy SR, Loeb LA, Herr AJ. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. *Mech Ageing Dev*. 2012; 133: 118-26.
9. 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: 139-47.
10. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res*. 2011; 21: 381-95.
11. Fatica A, Bozzani I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nature Rev Genet*. 2014; 15: 7-21.
12. Best PB. Nuclear DNA damage as direct cause of aging. *Rejuvenation Res*. 2009; 12: 199-208.
13. Grillo MA, Colombatto S. Advanced glycation end-products (AGEs): involvment in aging and neurodegenerative diseases. *Amino Acids*. 2008; 35: 29.
14. Dizdaroglu M, Jaruga P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res*. 2012; 46: 382-419.
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: S4-S9.
16. Tosato M, Zamboni V, Ferrini A, Cesari M. The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Clin Interv Aging*. 2007; 2: 401-12.
17. Daly T. Life-extension in transhumanist and christian perspectives: consonance and conflict. *J Evol Technol*. 2005; 14: 57-75.
18. Merino MM, Rhiner C, Lopez-Gay JM, Buechel D, Hauert BH, Moreno E. Elimination of unfit cells maintains tissue health and prolongs lifespan. *Cell*. 2015; 160: 461-76.
19. Greer EL, Brunet A. Signaling networks in aging. *J Cell Sci*. 2008; 121: 407-12.
20. Antebi A. Genetics of aging in *Caenorhabditis elegans*. *PLOS Genet*. 2007; 3: 1565-71.
21. Tazearslan C, Cho M, Suh Y. Discovery of functional gene variants associated with human longevity: opportunities and challanges. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012; 67A: 376-83.
22. Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaerberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related diseases. *Nature*. 2013; 493: 338-45.
23. Oliveira RM, Sarkander J, Kazantsev AG, Quteiro TF. SIRT2 as a therapeutic target for age-related disorders. *Front Pharmacol*. 2012; 3: 82.
24. Satoh A, Stein L, Imai S. The role of mammalian sirtuins in the regulation of metabolism, aging and longevity. *Handb Exp Pharmacol*. 2011; 206: 125-62.
25. Carafa V, Nebbioso A, Altucci L. Sirtuins and disease: the road ahead. *Front Parmacol*. 2012; 3: 4.
26. Kaerberlein M. Longevity and aging. *F1000Prime Rep*. 2013; 5: 5.
27. Ghosh S, Liu B, Zhou Z. Resveratrol activates SIRT1 in a Lamin A-dependent manner. *Cell Cycle* 2013; 15: 872-6.
28. Shimazu T, Hirschey MD, Newman J, He W, Shirakawa K, Le Moan N i wsp. Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science*. 2013; 339: 211-4.

29. Sato A. Vorinostat approved in Japan for treatment of cutaneous T-cell lymphomas: status and prospects. *Onco Targets Ther.* 2012; 5: 67-75.
30. Jia H, Kast RJ, Steffan JS, Thomas EA. Selective histone deacetylase (HDAC) inhibition imparts beneficial effects in Huntington's disease mice: implications for the ubiquitin-proteasomal and autophagy systems. *Hum Mol Genet.* 2012; 21: 5280-93.
31. Daniel M, Tollefsbol TO. Epigenetic linkage of aging, cancer and nutrition. *J Exp Biol.* 2015; 218: 59-70.
32. Schroen B, Heymans S. Small but smart-microRNAs in the centre of inflammatory processes during cardiovascular diseases, the metabolic syndrome, and ageing. *Cardiovasc Res.* 2012; 11: 605-13.
33. Valdes AM, Zhang W, Muir K, Maciewicz RA, Doherty S, Doherty M. Use of statins is associated with lower prevalence of generalised osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2014; 73: 943-5.
34. Quist-Paulsen P. Statins and inflammation: an update. *Curr Opin Cardiol.* 2010; 25: 399-405.
35. Kang HL, Benzer S, Min KT. Life extension in *Drosophila* by feeding a drug. *PNAS.* 2002; 99: 838-43.
36. Lotsch J, Schneider G, Reker D, Parnham MJ, Schneider P, Geisslinger G i wsp. Common non-epigenetic drugs as epigenetic modulators. *Trends Mol Med.* 2013; 19: 742-53.
37. Vaughan S, Jat PS. Deciphering the role of nuclear factor- κ B in cellular senescence. *Aging.* 2011; 3: 913-9.
38. Castelo-Branco C, Soveral I. The immune system and aging: a review. *Gynecol Endocrinol.* 2014; 30: 16-22.
39. Tilstra JS, Robinson AR, Wang J, Gregg SQ, Caluson CL, Reay DP i wsp. NF κ B inhibition delays DNA damage-induced senescence and aging in mice. *J Clin Invest.* 2012; 122: 2601-12.
40. Gilmore T, Herscovitch M. Inhibitors of NF κ B signalling: 785 and counting. *Oncogene.* 2006; 25: 6887-99.
41. Kaeberlein M. mTOR inhibition: from aging to autism and beyond. *Scientifica* 2013; 2013: ID849186.
42. Lamming DW, Ye L, Sabatini DM, Baur JA. Rapalogs and mTOR inhibitors as anti-aging therapeutics. *J Clin Invest.* 2013; 123: 980-9.
43. Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaeberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature.* 2013; 493: 338-45.
44. Leontieva OV, Demidenko ZN, Blagosklonny MV. Contact inhibition and high cell density deactivate the mammalian target of rapamycin pathway, thus suppressing the senescence program. *PNAS.* 2014; 111: 8832-7.
45. Sohal RS, Forster MJ. Caloric restriction and the aging process: a critique. *Free Radical Biol Med.* 2014; 73: 366-82.
46. Zhang C, Li S, Yang L, Huang P, Li W, Wang S i wsp. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice. *Nature Commun.* 2013; 4: 2163-73.
47. Nystrom T, Yang J, Molin M. Peroxiredoxins, gerontogenes linking aging to genome instability and cancer. *Genes Dev.* 2012; 26: 2001-8.
48. Sonntag WE, Csiszar A, de Cabo R, Ferruci L, Ungvari Z. Diverse roles of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in mammalian aging: progress and controversies. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2012; 67A: 587-98.
49. Milman S, Atzmon G, Huffman DM, Wan J, Crandall J, Cohen P i wsp. Low insulin-like growth factor-1 level predicts survival in humans with exceptional longevity. *Aging Cell.* 2014; 13: 769-71.
50. Velarde M. Mitochondrial and sex steroid hormone crosstalk during aging. *Longev Healthspan.* 2014; 3: 2-10.
51. Samuelson AV, Carr CE, Ruvkun G. Gene activities that mediate increased life span of *C. elegans* insulin-like signaling mutants. *Genes Dev.* 2007; 21: 2976-91.
52. Loffredo FS, Steinhauser ML, Jay SM, Gannon J, Pancoast JR, Yalamanchi P i wsp. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy. *Cell.* 2013; 153: 828-39.
53. Laron Z. The GH-IGF1 axis and longevity. The paradigm of IGF1 deficiency. *Hormones.* 2008; 7: 24-7.
54. Junnila RK, List EO, Berryman DM, Murrey JM, Kopchick JJ. The GH/IGF-1 axis in aging and longevity. *Nat Rev Endocrinol.* 2013; 9: 366-76.