

MAGDALENA DUDKOWSKA^{1,A}

^A [HTTPS://ORCID.ORG/0000-0002-3114-0597](https://orcid.org/0000-0002-3114-0597)
e-mail: m.dudkowska@nencki.edu.pl

1

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN
Nencki Institute of Experimental Biology, PAS
3 Pasteur St., 02-093 Warsaw, Poland

Związki pochodzenia naturalnego w przeciwdziałaniu starzenia

Natural compounds with anti-aging activity

https://doi.org/10.36921/kos.2023_2970

Abstrakt

Starzenie związane jest ze wzrostem dysfunkcji organizmu i ryzyka zachorowania na liczne choroby. Za główną przyczynę starzenia uważa się przewlekły stan zapalny (tzw. inflammaging), starzenie się układu odpornościowego (immunosenescence) oraz gromadzenia się z wiekiem starych komórek w organizmie. Eliminacja komórek starych lub ograniczenie wydzielania przez nie czynników prozapalnych stało się celem wielu badań. Wykazano, że przeciwdziałanie starzeniu zmniejsza ryzyko zachorowania na choroby związane z wiekiem, a także łagodzi i spowalnia ich przebieg. Wśród związków o działaniu przeciwstarzeniowym wyróżniamy senolityki, powodujące śmierć starych komórek i senomorfiki prowadzące do zmniejszenia sekrecji przez stare komórki różnych substancji czynnych. Zidentyfikowano szereg związków o działaniu przeciwstarzeniowym. Wśród nich znalazły się związki pochodzenia naturalnego takie jak np.: kurkumina, kwercetyna, fisetyna czy rapamycyna. Zarówno badania na zwierzętach jak i badania przedkliniczne związków pochodzenia naturalnego wykazały ich dużą skuteczność. Obecnie prowadzone są liczne badania kliniczne dotyczące przeciwstarzeniowego działania różnego rodzaju związków, w tym wielu pochodzenia naturalnego.

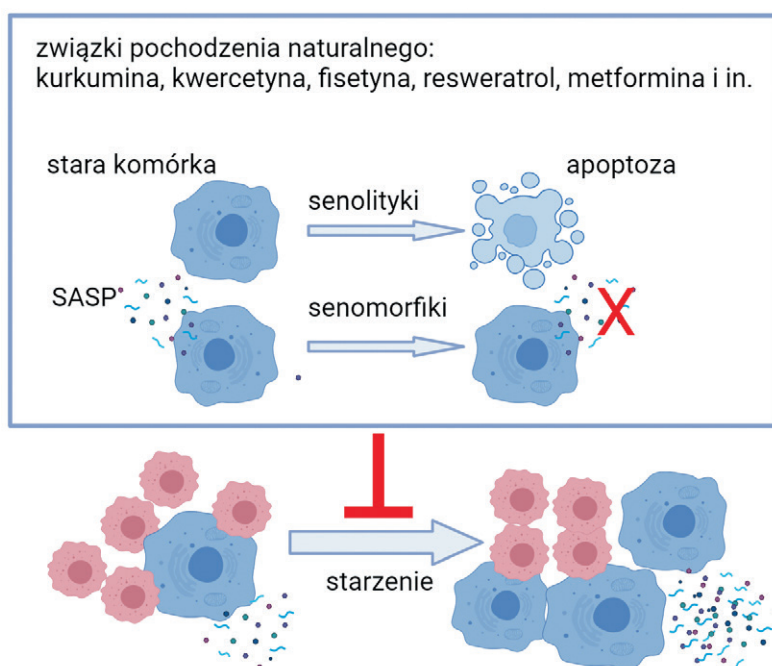
Słowa kluczowe: działanie przeciwstarzeniowe, senolityki, senomorfiki, kwercetyna, kurkumina, fisetyna

Abstract

Aging is associated with increased bodily dysfunction and risk of age-related diseases. The cause of aging is considered to be inflammaging and immunosenescence resulting from the accumulation of senescent cells in the body with age. Eliminating senescent cells or limiting their secretory phenotype has become the goal of many studies. It has been shown that anti-aging treatment reduces the risk of developing age-related diseases and alleviates and slows

down their development. Among the anti-aging compounds, we distinguish senolytics, which cause death of senescent cells, and senomorphics leading to reduced secretion of various types of active substances from senescent cells. A number of compounds with anti-aging properties have been identified. These include natural compounds such as curcumin, quercetin, fisetin and rapamycin. Both animal and preclinical studies of natural compounds have shown their high anti-aging effectiveness. Currently, numerous clinical trials are being conducted on the anti-aging effects of various compounds including many natural ones.

Keywords: anti-aging activity, senolytics, senomorphics, quercetin, curcumin, fisetin



WSTĘP

Starzenie kojarzy się z negatywnymi zmianami w organizmie pojawiającymi się wraz z wiekiem. Dotyczą one zarówno wyglądu jak i sprawności ruchowej czy umysłowej. Zmiany te są powszechnie znane i zauważalne, ale kolejność ich pojawienia się i intensywność są trudne do przewidzenia. Nie da się bowiem określić, który z objawów starzenia pojawi się wcześniej a który później. Niektóre osoby dość szybko zmieniają się fizycznie; może temu towarzyszyć spadek sprawności ruchowej, ale nadal zachowują, czasami wręcz niezwykle, sprawność umysłową. Inne wręcz odwrotnie. Dlaczego tak się dzieje, że nawet wśród bardzo blisko spokrewnionych osób kolejność następujących z wiekiem zmian jest nie do przewidzenia? Czy za wszystko odpowiadają geny odziedziczone po rodzicach? Czy w związku z tym jesteśmy skazani na to co „wylowaliśmy” w genomie, czy możemy przeciwdziałać starzeniu opóźniając pojawienie się jego objawów? Czy proces starzenia jest nieuchronny? Czy można

go w jakiś sposób cofnąć lub opóźnić? W ostatnich latach prowadzonych jest wiele badań poszukujących odpowiedzi na te pytania. Jest to szczególnie istotne biorąc pod uwagę tempo starzenia się społeczeństw wielu krajów oraz koszty jakie muszą być ponoszone na opiekę i leczenie ludzi starszych.

Wiadomo, że za starzenie odpowiadają zarówno czynniki genetyczne (10%) jak i środowiskowe (90%) (Deelen i współaut. 2013), czyli szeroko pojęte warunki życia. Składa się na to m.in. dieta, tryb życia, jak i różnego rodzaju stresy. Są to czynniki bardzo zróżnicowane, ale też modyfikowalne. Sugeruje to, że przynajmniej działając poprzez zmianę czynników środowiskowych moglibyśmy wpływać na proces starzenia. Co ciekawe, prace badawcze wskazują również na to, że zmiana np. trybu życia, w tym diety, może zmieniać ekspresję genów (Webster 2012), a co za tym idzie istnieje możliwość wpływu na genom poprzez czynniki środowiskowe.

Oprócz spadku wydolności organizmu, wraz z wiekiem wzrasta ryzyko zachorowania m.in. na choroby układu sercowo-naczyniowego, cukrzycę

typu II, czy choroby neurodegeneracyjne. Wpływają one na skrócenie życia i pogarszają jego jakość. Zarówno choroby wieku podeszłego jak i różnego typu dysfunkcje, w tym ogólne osłabienie organizmu, sarkopenia i zaburzenia poznawcze, przyczyniają się do pojawienia się z wiekiem wielochorobowości. Ryzyko zachorowania na trzy i więcej chorób wzrasta drastycznie po 65 roku życia, choć jest zróżnicowane zarówno w zależności od płci, jak i pochodzenia etnicznego (St Sauver i współaut. 2015). Możliwe jest opóźnienie starzenia co zmniejsza ryzyko zachorowania na choroby związane z wiekiem, a jak wykazano u zwierząt doświadczalnych np.: myszy, spowolnienie starzenia wydłuża życie. W przypadku rebusów opóźnienie starzenia raczej nie wpływało na wydłużenie ich życia, za to znacznie poprawiało stan i kondycję zwierząt (Colman i współaut. 2009). Choć wyniki badań na zwierzętach doświadczalnych niejednokrotnie są bardzo obiecujące, to wiadomo, że nie zawsze mają one przełożenie na człowieka. Badania na ludziach, z oczywistych względów, mają liczne ograniczenia. Ponadto raczej trudno jest przeprowadzić badania przeciwdziałania starzeniu z udziałem ludzi względnie zdrowych, stosując w tym celu nowoodkryte związki przebadane na zwierzętach. W badaniach przedklinicznych i klinicznych grupę badaną stanowią przeważnie osoby w zaawansowanym stadium choroby, dla których dostępne środki leczenia nie działają, a zatem związek nowy, choć jeszcze niezbadany, może przynieść im wymierną korzyść. Wprowadzenie nowego związku jako leku na jakąkolwiek chorobę wymaga wielu badań i jest długotrwałe. Coraz częściej starzenie jest uznawane za chorobę, więc leczenie starzenia staje się wielce prawdopodobne. Dlatego w poszukiwaniu związków przeciwstarzeniowych przyjęto założenie, że w pierwszej kolejności powinno się poszukiwać ich pośród takich substancji, których działanie na organizm człowieka jest już znane i zbadane. Stąd zwrócono uwagę na już stosowane u ludzi leki, jak i różnego rodzaju substancje pochodzenia naturalnego, które są składnikami naszej diety. Dzięki intensywnym badaniom udało się zidentyfikować szereg takich związków, a kilka z nich weszło już do badań klinicznych.

STARZENIE KOMÓRKOWE A STARZENIE ORGANIZMU

Organizm starzeje się gdyż starzeją się jego komórki. Wiadomo z wielu prac, że z wiekiem przybywa starych komórek w organizmie. W badaniach na starych myszach udało się określić odsetek starych komórek w różnych narządach i tkankach (Biran

i współaut. 2017). Okazało się, że choć wzrasta on kilkakrotnie w stosunku do myszy młodych, to osiąga najwyżej kilka procent u starych zwierząt. Tylko w komórkach zrębowych pochodzących z podskórnej tkanki tłuszczowej starych myszy stanowiły one około 14%. Podobnie w badaniach pawianów w wieku 5–30 lat, w biopsji skóry zaobserwowano wraz z wiekiem wzrost odsetka starych fibroblastów sięgającego >15% u najstarszych osobników (Herbig i współaut. 2006). Co ciekawe u pawianów po 20 roku życia szybkość pojawiania się komórkowych markerów starzenia wzrasta, co może sugerować, że również wzrasta tempo nagromadzania się komórek starych. Jak wiadomo, stare komórki przestają się dzielić ale jednocześnie intensywnie wydzielają szereg substancji czynnych, w tym cytokin prozapalnych, chemokin, czynników wzrostu czy proteaz (tzw. SASP od ang. Senescence-Associated Secretory Phenotype) (Sikora i współaut. 2021). Za pośrednictwem SASP stare komórki mogą oddziaływać na inne komórki, np. zmieniając ich metabolizm i wpływając na ich los w tkance. Składniki SASP mogą przyczyniać się do rozwoju wielu chorób np. wpływając na przebudowę mikrośrodowiska tkanki prowadzącą do zaburzenia jej homeostazy, czy poprzez wpływ na układ immunologiczny (Birch i Gil 2020).

Starzenie komórkowe ma w organizmie nie tylko znaczenie negatywne. Pełni też ważną rolę fizjologiczną np. w embriogenezie i w procesie gojenia się ran (Muñoz-Espín i współaut. 2013, Demaria i współaut. 2014). Ma też duże znaczenie w przeciwdziałaniu rozwojowi nowotworów, gdyż indukcja starzenia komórkowego prowadzi do zahamowania proliferacji a więc hamuje wzrost komórek prenowotworowych. Ponadto dzięki SASP dochodzi również do rekrutacji w organizmie komórek układu odpornościowego, które usuwają stare komórki. Jednocześnie stare komórki, poprzez profil wydzielniczy, mogą przyspieszać rozwój nowotworów np. dzięki wydzielanym czynnikom wzrostu, przez tłumienie odpowiedzi immunologicznej, działanie na macierz zewnątrzkomórkową, ułatwiając migrację komórek nowotworowych, przez stymulację angiogenezy nowotworu (w guzach) czy też przez promowanie tranzycji epitelialno-mezenchymalnej (Kirkland i Tchonia 2020). SASP ma więc bardzo złożone działanie, które zależy m.in. od jego składu.

SASP może prowadzić również do rozprzestrzeniania się starzenia komórkowego przez indukcję tego procesu w innych komórkach (działanie parakryne). Sprzyja to gromadzeniu się w organizmie starych komórek. Liczba komórek starych zależy więc z jednej strony od tempa ich przybywania, a z drugiej od tego, jak szybko są one usuwane przez układ odpornościowy. Z wiekiem jednak komórek

starych jest coraz więcej a jednocześnie system ich usuwania staje się mniej wydolny. Wiele badań wskazuje na korelację pomiędzy gromadzeniem się starych komórek a zapadaniem na choroby wieku podeszłego. Nagromadzenie komórek starych zaobserwowano m.in. w tkance tłuszczowej osób chorych na cukrzycę i otyłych, w hipokampie i korze czołowej w chorobie Alzheimera (AD), istocie szarej w chorobie Parkinsona (PD), kościach i szpiku w osteoporozie związanej z wiekiem, płucach w idiopatycznym zwłóknieniu płuc, siatkówce oka w zwyrodnieniu plamki żółtej, nerkach w cukrzycowej chorobie nerek oraz sercu i głównych tętnicach w chorobach układu krążenia i wielu innych schorzeniach, na które ryzyko zachorowania wzrasta z wiekiem (Kirkland i Tchkonja 2020)

Takie nagromadzenie starych komórek prowadzi do zwiększonej sekrecji SASP, w tym cytokin prozapalnych. Uważa się, że konsekwencją tego jest przewlekły stan zapalny o niskim stopniu nasilenia (tzw. inflammaging). Charakteryzuje się on podwyższonym poziomem krążących cytokin i zwiększoną infiltracją układu odpornościowego (więcej na ten temat w artykule Witkowskiego i Bryl w tym zeszycie), co powoduje utratę odporności i zwiększone ryzyko chorób związanych z wiekiem (Birch i Gil 2020). Sugeruje to, że choć komórki stare są potrzebne w organizmie, to stają się przyczyną rozwoju chorób związanych z wiekiem gdy dochodzi do ich nagromadzenia. Są liczne dowody na to, że to właśnie wzrost liczby komórek starych odpowiada zarówno za proces starzenia organizmu jak i wzrost ryzyka zachorowania na choroby wieku podeszłego. Przykładem może być wykazanie, że starzenie jest odpowiedzialne za związany z wiekiem spadek funkcji regeneracyjnych komórek macierzystych mięśni (Birch i Gil 2020) czy badania, w których dowiedziano, że starzenie indukowane otyłością prowadzi do zaburzeń neurodegeneracyjnych u myszy (Ogrodnik i współaut. 2019). Z kolei Xu i współaut. pokazali, że przeszczepienie dorosłym myszom komórek, w których w różny sposób indukowano starzenie, powodowało w krótkim czasie istotny spadek siły mięśni i sprawności fizycznej w stosunku do myszy, którym podano taką samą liczbę komórek nie poddanych procesowi starzenia (Xu i współaut. 2018). Ponadto zaobserwowano też spadek przeżywalności i długości życia myszy z przeszczepionymi komórkami starymi. Jednocześnie zauważono, że istnieje minimalna liczba starych komórek jakie trzeba przeszczepić, żeby uzyskać zaobserwowany efekt (ang. Threshold Theory of Senescent Cell Burden) (Wissler Gerners i współaut. 2021). Istnienie takiej wartości krytycznej liczby starych komórek może tłumaczyć, dlaczego obserwuje się gwałtowny

wzrost ryzyka zachorowania i śmierci w późniejszym okresie życia. Z kolei badania na myszach modyfikowanych genetycznie wykazały, że usunięcie komórek starych istotnie zaburza proces gojenia ran u tych zwierząt (Demaria i współaut. 2014). Podobnie usuwanie starych komórek śródbłonna wątroby okazało się sprzyjać zwłóknieniu (Birch i Gil 2020). Powyższe wyniki wskazują na to, że całkowita eliminacja starych komórek jest niekorzystna dla organizmu a przeciwdziałanie starzeniu nie powinno zmierzać do usunięcia wszystkich komórek starych, gdyż pełnią one ważną rolę fizjologiczną.

Senoterapia jest działaniem skierowanym przeciwko starym komórkom, którego celem jest opóźnienie starzenia i dysfunkcji organizmu. W ostatnich latach w wielu ośrodkach badawczych trwają intensywne prace, których celem jest znalezienie i zbadanie potencjalnych związków senolitycznych tj. takich, które działają selektywnie prowadząc do śmierci tylko starych komórek. Senolitykiem może być związek, który nie tylko powoduje śmierć starych komórek, ale jednocześnie nie jest szkodliwy/toksyczny dla pozostałych komórek. Taki sposób działania jest utrudniony przez fakt, że stare komórki są bardziej odporne na apoptozę, czyli programowaną śmierć komórkową. Ponadto jednorazowe usunięcie starych komórek nie rozwiązuje problemu, gdyż kolejne komórki ulegają starzeniu i z biegiem czasu będzie dochodzić do ich ponownego nagromadzenia się w organizmie. Biorąc pod uwagę znaczenie fizjologiczne komórek starych, a z drugiej strony ich niekorzystny wpływ na organizm, zgodnie z teorią progową, powstał pomysł, że terapia senolitykami powinna mieć charakter okresowy i być stosowana wówczas, gdy nagromadzenie komórek starych jest zbyt duże (Kirkland i Tchkonja 2020). Takie podejście pozwoliłoby na odsuwanie w czasie pojawiania się symptomów starzenia i chorób związanych z wiekiem. Innym sposobem senoterapii jest przeciwdziałanie przewlekłemu stanowi zapalnemu uważanemu za przyczynę chorób wieku podeszłego, a którego źródłem są stare komórki. Związki, które działają w ten sposób nazywamy senomorfikami. Nie powodują one śmierci komórek starych za to ograniczają poziom wydzielania wszystkich składników SASP lub też działają bardziej selektywnie, powodując obniżenie poziomu konkretnego składnika SASP.

SPOSOBY CELOWANIA W KOMÓRKI STARE

Selektywność działania związków polega na tym, że muszą one działać tylko na komórki stare nie będąc toksycznymi dla pozostałych komórek. Znalezienie takich związków musi być oparte na dokład-

nym poznaniu różnic, np. w metabolizmie komórek starych, które mogłyby być wykorzystane jako cele molekularne. Jest to szczególnie trudne, gdyż komórki stare są odporne na apoptozę dzięki wysokiemu poziomowi białek antyapoptotycznych. Właśnie ta ich cecha została wykorzystana w pierwszych poszukiwaniach senolityków wśród inhibitorów białek antyapoptotycznych. Jednak większość inhibitorów tych białek działa wybiórczo tylko na niektóre typy komórek starych bądź w ogóle nie ma właściwości senolitycznych. Okazało się, że dzieje się tak dlatego, że w różnych typach komórek starych są aktywowane różne szlaki antyapoptotyczne. Stąd konieczność znalezienia związków o szerokim działaniu takich, których celem są kluczowe (węzłowe) białka szlaków antyapoptotycznych. Ponadto, naukowcy poszukujący senolityków starali się wytypować je zarówno spośród związków już znanych i wykorzystywanych w medycynie jak i wśród substancji pochodzenia naturalnego. Ma to olbrzymie znaczenie, gdyż może skrócić drogę konieczną do wprowadzenia potencjalnych senolityków do badań klinicznych (Kirkland i Tchkonja 2020). Innym sposobem selektywnego celowania w komórki stare jest zastosowanie „nanokapsulek”. Zawierają one substancje toksyczne opłaszczone galaktooligosacharydami. Galaktooligosacharydy są substratami dla enzymu SA β -galaktozydazy (SA, ang. senescence associated), którego zwiększoną aktywność obserwuje się w komórkach starych. Nanokapsułki pobierane są przez różne komórki, ale tylko w starych komórkach, dzięki aktywności SA β -galaktozydazy, mogą być „rozpakowane”. Ten właśnie mechanizm pozwala na wybiórcze działanie związków toksycznych i selektywne zabicie komórek starych. Inaczej działają senomorfiki. Ich celem są szlaki sygnałowe regulujące wydzielanie SASP. Przykładem mogą być inhibitory kinazy mTOR, biorącej udział w biogenezie cytokin prozapalnych.

Dasatynib i kwercetyna

Dzięki analizom porównawczym proteomu i transkryptomu komórek starych i nie posiadających takich cech, wytypowano jako cel molekularny dla działania senolityków szlaki antyapoptotyczne. Liczne badania *in vitro* i zastosowane metody bioinformatyczne pozwoliły na wskazanie różnych związków o potencjalnym działaniu senolitycznym. Zostały one przebadane *in vitro* na różnego rodzaju komórkach. Najbardziej obiecujące wykorzystano w badaniach na zwierzętach. Szczególne nadzieje związane są z dasatynibem i kwercetyną. Dasatynib, inhibitor kinaz tyrozynowych, jest lekiem przeciwnowotworowym stosowanym szczególnie

w różnego typu białaczkach. Natomiast kwercetyna jest flawonoidem naturalnie występującym w wielu owocach i warzywach. Kwercetyna ma właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, immunoprotekcyjne i przeciwnowotworowe (Wang i współaut. 2023). Co ciekawe, okazało się, że każdy z tych związków osobno działa tylko na niektóre typy starych komórek lub nie ma w ogóle działania senolitycznego. Dopiero zastosowanie obu związków razem wykazało bardzo dobre właściwości senolityczne. Skuteczność tej mieszaniny potwierdziły badania na myszach. W doświadczeniach używano zarówno mysich modeli różnych chorób związanych z wiekiem jak też starych zwierząt. Jednym z modeli chorób neurodegeneracyjnych, które związane są z nagromadzeniem białka Tau w mózgu, tak jak np. w chorobie Alzheimera, są myszy z ekspresją mutanta ludzkiego białka Tau. Podawanie tym myszom dasatynibu i kwercetyny (D+Q) co 2 tygodnie przez 3 miesiące spowodowało, pomimo zaawansowanego wieku zwierząt i postępu choroby, zmniejszenie zmian patologicznych w mózgu (Musi i współaut. 2018). W innych badaniach, również w mysim modelu AD, podanie D+Q prowadziło do selektywnego usunięcia starych komórek, zmniejszyło stan zapalny układu nerwowego i złagodziło deficyty poznawcze wywołane chorobą (Zhang i współaut. 2019). Podobnie u myszy z traumatycznym uszkodzeniem mózgu na skutek przewlekłego stanu zapalnego układu nerwowego, D+Q pozwoliły usunąć stare komórki, zmniejszyć ekspresję czynników prozapalnych SASP, zmiany neurodegeneracyjne i zaburzenia pamięci (Wang i współaut. 2023). Oprócz chorób neurodegeneracyjnych, D+Q okazało się skuteczne w przypadku zwłóknieniowej choroby płuc (Schafer i współaut. 2017), chorobach naczyniowo-sercowych (Dookun i współaut. 2022) czy cukrzycy (Murakami i współaut. 2022). Starzenie komórkowe jest jednym ze skutków ubocznych chemio- czy radioterapii i uważa się, że może być przyczyną przyspieszonego starzenia, różnego typu dysfunkcji oraz krótszego życia osób po leczeniu przeciwnowotworowym. W zastosowanym modelu mysim, Fiedler i współaut. pokazali, że nawet jednorazowa dawka D+Q łagodzi te objawy (Fiedler i współaut. 2022). Także w badaniach myszy, u których indukowano starzenie przeszczepem starych komórek, okazało się, że senolityki te poprawiają funkcjonowanie, zwiększają przeżywalność i prowadzą do wydłużenia życia zwierząt (Xu i współaut. 2018, Ogrodnik i współaut. 2019). Jednak działanie D+Q nie zawsze przynosi korzyść. Jak pokazały badania Durgan i współaut. podawanie D+Q miało inny skutek u myszy młodych i starych. Tylko u starych myszy przyspieszało regenerację mięśni po uszkodzeniu

(Durgan i współaut. 2021). Można to tłumaczyć tym, że w wyniku uszkodzenia mięśni u starych myszy zaobserwowano dużo większy wzrost liczby komórek starych niż u młodych zwierząt. Sugeruje to, po raz kolejny, że senolityki działają selektywnie na stare komórki. Z powyższych przykładów widać, że badania nad stosowaniem D+Q u myszy dały bardzo dobre wyniki. Nie zawsze jednak to, co się sprawdza u myszy, daje podobne efekty u innych zwierząt. W tym wypadku okazało się, że w badaniach z udziałem szczurów D+Q też miał silne działanie senolityczne. Szczególnie ciekawe wydają się wyniki uzyskane dla zwierząt naturalnie starzejących się. Jak wykazaliśmy, D+Q poprawia zdolności poznawcze starych szczurów, łagodzi stan zapalny i zmienia plastyczność synaptyczną hipokampu. U młodych zwierząt takiego efektu nie zaobserwowano (Krzystyniak i współaut. 2022, Budamagunta i współaut. 2023). Co interesujące, poprawa pamięci utrzymywała się przez dłuższy czas po zakończeniu podawania szczurom senolityków (Krzystyniak i współaut. 2022). Innym przykładem działania D+Q jest złagodzenie postmenopauzalnych zmian kości, wywołanych niedoborem estrogenów u samic szczurów. Wykazano, że D+Q, poprzez usuwanie starych komórek, prowadziło do zmniejszenia stanu zapalnego, złagodzenia osteoporozy i do odmładzającej regeneracji kości (Wang i współaut. 2023). Ostatnio pojawiły się doniesienia o korzystnym działaniu D+Q przy jego długotrwałym stosowaniu u makaków (Ruggiero i współaut. 2023). Zwierzęta dostawały D+Q przez 2 dni w miesiącu przez pół roku. Senolityki spowodowały spadek poziomu markerów starzenia w tkance tłuszczowej, poprawę funkcjonowania bariery jelitowej i układu odpornościowego. Ponadto wykazano, że długotrwałe stosowanie D+Q jest bezpieczne dla tych naczelnych, więc być może okaże się również bezpieczne dla człowieka. Pierwsze badania kliniczne były przeprowadzone już wcześniej, ale dotyczyły pacjentów chorych na idiopatyczne zwłóknienie płuc i trwały tylko 3 tygodnie. Mimo to zauważono istotną statystycznie poprawę badanych parametrów w testach wysiłkowych oraz spadek poziomu prozapalnych interleukin u tych chorych (Justice i współaut. 2019). Otworzyło to drogę do kolejnych badań klinicznych ludzi chorych nie tylko na idiopatyczne zwłóknienie płuc, ale też z cukrzycową chorobą nerek (Kirkland i Tchkonja 2020). Ostatnio ukazały się wyniki badań klinicznych przeprowadzonych na 5 pacjentach z wczesnymi oznakami AD, którzy przez 3 miesiące co ok. 2 tygodnie dostawali D+Q przez 2 dni z rzędu (Gonzales i współaut. 2023). Chociaż nie zaobserwowano u osób badanych zmian funkcji kognitywnych, to w ośrodkowym układzie nerwowym wzrósł

poziom IL6 (prozapalnej interleukiny 6) i GFAP (kwaśnego białka włóknienkowego) równoległe ze spadkiem poziomu kilku cytokin i chemokin związanych ze starzeniem. Nie odnotowano też żadnych istotnych skutków ubocznych stosowania D+Q co wydaje się obiecujące w dalszych badaniach. Obecnie prowadzone są kolejne badania kliniczne i choć nie wiadomo czy D+Q zyska miano leku przeciwstarzeniowego, to wskazuje na sens dalszych poszukiwań nowych senolityków.

Kurkumina

Kurkumina jest naturalnym polifenolem, składnikiem przyprawy curry. Jej źródłem jest kłącze ostrożu długiego (*Curcuma longa*), w którym stanowi ok 3–4% suchej masy. Kurkumina ma działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwrheumatyczne i hipoglikemiczne. Działa hepato- i nefroprotekcyjnie, hamuje zakrzepicę i chroni przed zawałem mięśnia sercowego (Anand i współaut. 2007). Znane jest również jej działanie przeciwstarzeniowe i wydłużające życie zwierząt takich jak muszki owocowe (*Drosophila melanogaster*), nicienie *Caenorhabditis elegans* czy myszy (Bielak-Żmijewska i współaut. 2019, Li i współaut. 2019). Kurkumina jest hormetyną czyli związkami, który w niskich stężeniach działa stymulująco (pozytywnie), a przy wysokich hamująco (negatywnie). Ma właściwości hydrofobowe, jest słabo rozpuszczalna w wodzie i równie słabo wchłaniana. Za to szybko jest metabolizowana do produktów nieaktywnych i usuwana z organizmu. Przy podawaniu jej doustnie szczurom, okazało się, że około 75% było wydalane z kałem a tylko nieznaczne jej ilości wykryto w moczu. U myszy po podaniu doustnym (1g/ kg) maksimum jej stężenia 0.22µg/ml, wykrywano w surowicy po 1 godz., a po 6 godz. była już poniżej detekcji. Podobnie u ludzi po podawaniu 4–10 g kurkuminy jej maksymalne stężenie w surowicy osiągało 0.41–1.75 µM po 1 godz. (Anand i współaut. 2007). Wyniki te pokazują jak niska jest jej biodostępność i jak szybko jest degradowana i usuwana z organizmu. Obecnie jest znanych wiele metod zwiększenia biodostępności kurkuminy. Jedną z nich jest podawanie jej razem z piperyną, co powoduje wzrost biodostępności kurkuminy nawet o 2000%. Innym sposobem jest np. tworzenie biokoniugatów, które poprawiają biodostępność kurkuminy nawet o 700%. Stosuje się też różnego rodzaju formy podawania tego związku, które zabezpieczają kurkuminę przed zbyt szybką biodegradacją np.: różnego rodzaju liposomy, czy egzosomy (Benamer i współaut. 2021). Jednak mimo słabej przyswajalności, kurkumina ma szereg bardzo ko-

rzystnych właściwości, dzięki którym została wykorzystana w ogromnej liczbie badań klinicznych jako lek lub adiuwant w leczeniu różnych chorób (Bielak-Żmijewska i współaut. 2019).

Doniesienia o senolitycznym działaniu kurkuminy są jak dotąd nieliczne i dotyczą raczej jej pochodnych. Nadzieje wiązane są zwłaszcza z pochodną EF24, która wykazuje najszerze spektrum działania na komórki stare różnego typu, powodując ich śmierć przez apoptozę (Li i współaut. 2019). Jest to apoptoza niezwiązana ze wzrostem poziomu reaktywnych form tlenu, a z degradacją w proteasomie białek antyapoptotycznych z rodziny Bcl-2. Działanie na białka antyapoptotyczne jest jednym z głównych celów senolityków. Jednak wydaje się, że główne działanie kurkuminy na opóźnianie starzenia oraz zapobieganie i leczenie chorób związanych z wiekiem wynika z jej właściwości przeciwzapalnych, antyoksydacyjnych czy przeciwnowotworowych.

Jak już wspomniano, stare komórki wydzielają cytokiny prozapalne (m.in. IL6 czy IL8), które uważane są za główną przyczynę przewlekłego stanu zapalnego i chorób pojawiających się z wiekiem. Wykazano, że kurkumina działa hamująco na NF κ B, czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję cytokin prozapalnych oraz obniżając poziom TNF α – aktywatora NF κ B (Bielak-Żmijewska i współaut. 2019). Podawana przez 6 miesięcy rocznym szczurom doprowadziła do istotnego spadku poziomu białka ostrej fazy CRP i wzrostu poziomu tlenu azotu (NO), wpływającego na funkcjonowanie tętnic. Sugeruje to korzystny wpływ kurkuminy na spowolnienie procesu starzenia poprzez supresję związanych z wiekiem zmian wskaźników stanu zapalnego (Benameur i współaut. 2021). Szereg badań klinicznych przeprowadzono z udziałem pacjentów z chorobami, które ściśle związane są z przewlekłym stanem zapalnym. Do chorób tych zaliczyć można chorobę zwyrodnieniową stawów (OA) i reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Kurkumina znacząco poprawiała działanie diklofenaku u pacjentów z RZS, a w przypadku OA istotnie zmniejszała ból i poprawiała zdolności motoryczne pacjentów. Ponadto, stosowanie kurkuminy spowodowało istotny spadek poziomu markerów stanu zapalnego w tym IL1 i IL6, co potwierdziło przeciwzapalne działanie kurkuminy (Salehi i współaut. 2019).

Inne działanie kurkuminy wiąże się z jej właściwościami antyoksydacyjnymi. Stres oksydacyjny prowadzi m.in. do dysfunkcji wielu białek, peroksydacji lipidów i uszkodzeń DNA. Uszkodzenia spowodowane stresem oksydacyjnym są ważną cechą starzenia i są uważane za istotny element szlaków

patogenezy wielu chorób związanych z wiekiem. Stres oksydacyjny jest skutkiem zaburzonej równowagi pomiędzy produkcją i degradacją reaktywnych form tlenu (RFT). W obronie organizmu przed wytwarzanymi RFT kluczową rolę pełnią enzymy – dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) i katalaza. Kurkumina stymuluje aktywność obu tych enzymów (Benameur i współaut. 2021). Ponadto, dzięki swojej strukturze chemicznej okazała się też skutecznym zmiataczem wolnych rodników i reaktywnych form azotu. W badaniach z udziałem psów, 30 dniowa suplementacja diety kurkuminą spowodowała wzrost aktywności szeregu enzymów antyoksydacyjnych, w tym SOD, czego skutkiem był spadek poziomu RFT w surowicy. Poprawie uległy też różne parametry krwi, co w sumie miało wpływ na lepszy stan zdrowia zwierząt (Campigotto i współaut. 2020). Co ciekawe, za przedłużenie życia muszek owocowych w wyniku działania kurkuminy, uważany jest wzrost aktywności SOD. Innym przykładem są badania osób w średnim wieku, którym kurkumina podawana przez 12 tygodni (2000 mg dziennie) poprawiała funkcję śródbłonna tętnic, zwiększając biodostępność NO w naczyniach i zmniejszając stres oksydacyjny. Sugeruje to, że kurkumina korzystnie działa na utrzymanie zdrowego śródbłonna naczyniowego, co stanowi podstawowy element zapobiegania miażdżycy i chorobom tętnic (Santos-Parker i współaut. 2017).

Kurkumina ma też właściwości przeciwnowotworowe. Indukuje śmierć różnego typu komórek nowotworowych, nawet opornych na powszechnie stosowane leki przeciwnowotworowe np. przez indukowanie apoptozy lub katastrofy mitotycznej. Jako przeciwutleniacz może przeciwdziałać uszkodzeniom DNA. Stosowana w niskich, nietoksycznych stężeniach, może indukować starzenie komórek nowotworowych. Wiąże się to z zahamowaniem proliferacji, a więc przeciwdziała rozwojowi nowotworu. Niestety, zahamowanie proliferacji w starych komórkach nowotworowych, może być przejściowe. Komórki takie poliploidyzują, a następnie przechodzą przez amitotyczne podziały, które prowadzą do wznowienia proliferacji i mogą być przyczyną wznowy nowotworu (Sikora i współaut. 2016, Sikora i współaut. 2022). Tym niemniej stosowanie doustne kurkuminy w badaniach klinicznych pacjentów z różnymi rodzajami nowotworów, przynosiło obniżenie poziomu markerów tych nowotworów oraz parametrów stanu zapalnego w surowicy jak i poprawę jakości życia pacjentów. Przykładem mogą być badania kliniczne chorych z rakiem jelicita grubego, u których kurkumina spowodowała spadek poziomu TNF α w surowicy, zmniejszenie liczby i rozmiarów polipów i innych zmian nowo-

tworowych oraz wzrost: liczby komórek apoptotycznych w obszarze guza, ekspresji p53 i Bax (Salehi i współaut. 2019). Powyższe przykłady wskazują na olbrzymi potencjał kurkuminy we wspieraniu terapii przeciwnowotworowej.

Kurkumina jest związkiem o działaniu plejotropowym. Jej właściwości nie ograniczają się tylko do już opisanych. Dobrze udokumentowany jest jej wpływ na autofagię czyli system degradacji i recyklingu wewnątrzkomórkowego. Zahamowanie autofagii jest jednym z markerów starzenia komórkowego a indukcja autofagii pełni ważną rolę w przedłużaniu życia organizmów modelowych od *C. elegans* do myszy (Lapierre i współaut. 2015). W chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Huntingtona i Alzheimer, dochodzi do akumulacji zmutowanych białek, odpowiednio huntingtyny czy β amyloidu. Ich nagromadzenie związane jest z progresją choroby. W tym wypadku aktywacja autofagii mogłaby prowadzić do usuwania złogów białkowych a także uszkodzonych organelli komórkowych. A wiadomo, że kurkumina może indukować biogenezę lizosomów (Zhang i współaut. 2016), organelli niezbędnych w prawidłowym działaniu autofagii. W badaniach klinicznych kurkumina nie dała jednak spodziewanego efektu u chorych na chorobę Alzheimer. Jednak zastosowanie formy kurkuminy o zwiększonej biodostępności i w mniejszej dawce, spowodowało u chorych wyraźną poprawę zdolności koncentracji uwagi i pamięci już po pojedynczej dawce. Natomiast po 4 tygodniach podawania kurkuminy odnotowano poprawę pamięci i nastroju (Salehi i współaut. 2019). Nie ma jednak pewności jaki mechanizm działania kurkuminy był w tym wypadku odpowiedzialny za ten efekt.

Kurkumina może więc przyczyniać się do łagodzenia objawów i spowalniania rozwoju wielu chorób związanych z wiekiem, w tym chorób układu naczyniowo-sercowego, nowotworowych czy neurodegeneracyjnych. Jej korzystne właściwości wykazano także w przypadku otyłości i cukrzycy. Liczne dowody pochodzące z badań zarówno *in vitro*, *in vivo* jak i badań klinicznych potwierdzają przeciwstarzeniowe działanie kurkuminy. Wydaje się więc, że suplementacja kurkuminą może działać pozytywnie na nasz organizm.

Fisetyna

Fisetyna jest flawonolem, a więc przedstawicielem jednej z grup wchodzących w skład flawonoidów, które należą do polifenoli. Występuje w różnych owocach i warzywach. Z rosnących w Polsce bogatym źródłem fisetyny są truskawki. Natomiast jabłka są ponad 5 razy mniej zasobne w fisetynę.

Podobnie jak wiele innych polifenoli, fisetyna ma działanie plejotropowe. Wykazuje właściwości: senolityczne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i antyoksydacyjne. W badaniach *in vitro* pokazano, że zastosowanie fisetyny w stężeniu nietoksycznym dla komórek dzielących się, prowadzi do selektywnego usunięcia komórek starych. Spadek markerów starzenia korelował ze wzrostem apoptozy (Beltzig i współaut. 2022). Uważa się, że senolityczne działanie flawonoidów związane jest częściowo z hamowaniem białek z rodziny BCL-2, takich jak BCL-xL oraz czynnika transkrypcyjnego HIF-1 α (Kirkland i Tchkonja 2020). Senolityczne działanie fisetyny pokazano również *in vivo* w mysim modelu progerii, choroby związanej z przyspieszonym starzeniem, ale i u myszy starzejących się w sposób naturalny (Yousefzadeh i współaut. 2018). Myszy dostawały fisetynę w diecie w dwóch cyklach w życiu. Każdy z cykli trwał 2 tyg. podczas których myszy dostawały fisetynę codziennie. Pokazano, że powoduje to zmniejszenie ekspresji markerów starzenia w wielu narządach, co skutkuje poprawą homeostazy tkanek i redukcją wielu patologii związanych z wiekiem. Fisetyna była podawana zwierzętom okresowo. Dlatego stwierdzono, że efekt jej działania musi być związany z trwałym usuwaniem komórek starych, a co za tym idzie ze zmniejszeniem ich odsetka w organizmie. Ponadto zauważono, że fisetyna mimo szerokiego spektrum, nie działa na wszystkie typy starzejących się komórek. Jednakże podawanie fisetyny przyczyniło się nie tylko do poprawy zdrowia zwierząt, ale i znacząco wydłużyło im życie, nawet wówczas, gdy fisetynę podano myszom w podeszłym wieku. Podobny efekt przedłużenia życia pod wpływem fisetyny zaobserwowano wcześniej u *C. elegans* (o 55%) i u muszek owocowych (o 23%) (Yousefzadeh i współaut. 2018). Wyniki działania fisetyny u zwierząt niekoniecznie muszą znaleźć swoje potwierdzenie u ludzi. W tym kontekście ciekawe wyniki przedstawił Takaya i współaut. Przeszczepiano myszom z upośledzoną odpornością (ang. nude mice) fragmenty skóry pobranej od mężczyzn w wieku 86–91 lat (Takaya i współaut. 2023). Fragment od każdego dawcy dzielono między myszy kontrolne i poddawane działaniu fisetyny. Pod wpływem fisetyny wzrosła gęstość włókien kolagenowych i obniżył się odsetek komórek starych w przeszczepionym fragmencie skóry. Wykazano, że stare komórki zostały usunięte na drodze apoptozy niezależnej od kaspaz, a skutkiem usunięcia starych komórek było zahamowanie SASP, w tym poziomu IL6. Daje to jasny dowód na działanie przeciwstarzeniowe fisetyny w tkankach ludzkich. Interesujące są wyniki kolejnych badań pokazujące działanie przeciwstarzeniowe fisetyny

w oocytach myszy. Powodowała ona wzrost odsetka zapłodnionych oocytów i poprawiała rozwój starych oocytów po zapłodnieniu (Xing i współaut. 2023). Jej działanie przeciwstarzeniowe, jak wykazano, było związane przede wszystkim z podniesieniem aktywności SIRT1, zaliczanej do tzw. białek młodości. Fisetyna również hamowała akumulację RFT w starych oocytach, co jak wykazano, było związane m.in. ze zwiększeniem poziomu ekspresji dymutazy podtlenkowej, *Sod2*.

Działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne fisetyny zaobserwowano w mysich modelach różnych chorób. Zmiany patologiczne towarzyszące tym chorobom często pojawiają się też z wiekiem. W progerii, chorobie związanej z przyspieszonym starzeniem, występują liczne zaburzenia układu mięśniowo-szkieletowego, w tym osteoporoza. A osteoporoza jest jedną z częstych chorób wieku podeszłego. W mysim modelu progerii fisetyna zmniejszała utratę gęstości kości (Hambright i współaut. 2023). Towarzyszył temu spadek poziomu markerów starzenia i cytokin prozapalnych w nerkach. Natomiast u myszy z jednostronną niedrożnością moczowodu, modelu przewlekłej choroby nerek, fisetyna przeciwdziałała zwłóknieniu nerek (Ju i współaut. 2023). Działanie przeciwzapalne fisetyny, któremu towarzyszyła poprawa parametrów funkcjonowania wątroby, stwierdzono również w mysim modelu ischemicznego uszkodzenia wątroby (Pu i współaut. 2021).

Podobnie, jak omawiana wcześniej kurkumina, fisetyna ma również działanie przeciwnowotworowe. Jej skuteczność pokazano zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo*. Jednym z przykładów może być działanie fisetyny na komórki nowotworu trzustki. Fisetyna hamowała proliferację, migrację i inwazję nowotworu trzustki *in vitro*, ale też powodowała zmniejszenia objętości guza u myszy z upośledzonym układem immunologicznym (Xiao i współaut. 2021). Często fisetyna działa przeciwnowotworowo w dawkach, które są trudne do osiągnięcia *in vivo*, ale wydaje się, że mogłaby być lekiem wspierającym terapię przeciwnowotworową (Malavolta i współaut. 2018).

Korzystne działanie fisetyny stwierdzono również w badaniach dotyczących chorób neurodegeneracyjnych. Przez podanie D-galaktozy indukowano u myszy stres oksydacyjny, zapalenie układu nerwowego, dysfunkcje synaptyczne i zaburzenia poznawcze. Fisetyna przeciwdziała obserwowanym zmianom (Ahmad i współaut. 2021). Hamowała akumulację RFT indukowaną D-galaktozą dzięki uruchamianiu mechanizmów antyoksydacyjnych. Polegały one na regulacji szlaku przekazywania sygnału zależnego od SIRT1/Nrf2 prowadząc do su-

presji NF- κ B, co w konsekwencji doprowadziło do spadku poziomu cytokin prozapalnych. Zauważono również poprawę na poziomie synaptycznym oraz zmniejszone zaburzenia pamięci. Podobnie w mysim modelu choroby Alzheimera fisetyna podawana od 3 do 12 miesiąca życia zapobiegała problemom związanym z nauką i deficytami pamięci (Currais i współaut. 2014). Korelowało to zarówno z działaniem przeciwzapalnym jak i poprawą markerów funkcji synaptycznych u tych zwierząt. Wyniki licznych badań przedklinicznych na modelach zwierzęcych dobrze opisano w pracy przeglądowej (Maher i współaut. 2021). Wykazano w nich skuteczność działania fisetyny w zapobieganiu rozwojowi i/lub postępowi wielu zaburzeń neurologicznych, w tym chorób Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, stwardnienia zanikowego bocznego, udaru (zarówno niedokrwiennego, jak i krwotocznego) oraz urazowego uszkodzenia mózgu, a także w celu ograniczenia zmian w mózgu związanych z wiekiem.

Zarówno właściwości senolityczne fisetyny jak i jej działanie w łagodzeniu lub przeciwdziałaniu rozwojowi różnych chorób związanych z wiekiem, wskazują jasno na jej właściwości przeciwstarzeniowe. Ponadto fisetyna jest składnikiem naszego pożywienia, co pozwala sądzić że nie powinna dawać istotnych skutków ubocznych, zwłaszcza podawana okresowo. Dane te poparte wynikami licznych prac badawczych wpłynęły niewątpliwie na podjęcie próby badań klinicznych. Badania te dotyczą kobiet w wieku >70 roku życia i mają się zakończyć 2024 r. („Alleviation by Fisetin of Frailty, Inflammation, and Related Measures in Older Women” – NCT03430037).

Inne (resweratrol, metformina, rapamycyna)

Resweratrol jest przedstawicielem stylbenów, jednej z grup należących do polifenoli. Jego źródłem są m.in. ciemne winogrona, czarne porzeczki i morwy. Szczególnie bogata w resweratrol jest skórka tych owoców. Resweratrol może występować w formie dwóch izomerów *cis* i *trans*, z czego tylko forma *trans* wykazuje aktywność biologiczną. Przekształcenie z *trans* do formy *cis* może zajść pod wpływem światła UV, podwyższonego pH, czy temperatury. Resweratrol jest słabo rozpuszczalny w wodzie, natomiast jest wydajnie wchłaniany w jelitach. Niestety jest on szybko metabolizowany w wątrobie, co ogranicza znacznie jego biodostępność (Przysławski i Dzieciol 2012). Resweratrol podobnie jak wiele innych polifenoli ma działanie plejotropowe. Posiada m.in. właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, kardioprotekcyjne i przeciwstarzeniowe. Wpływa też na przedłużenie

życia u drożdży, muszek owocowych, nicieni *C. elegans* i myszy (Pyo i współaut. 2020). W przeciwieństwie do kurkuminy czy fisetyny, resweratrol nie wydaje się być senolitykiem. Molekularny mechanizm jego działania został poznany tylko częściowo. Wiadomo, że bezpośrednio wiąże się i aktywuje deacetylazę SIRT1, która hamuje aktywność czynnika transkrypcyjnego NF κ B, regulującego ekspresję cyklin prozapalnych. Resweratrol działa też aktywująco na kinazę AMPK, negatywnego regulatora kinazy mTOR. Zahamowanie mTOR prowadzi m.in. do aktywacji autofagii. Szlak AMPK nie tylko aktywuje autofagię, ale także zwiększa poziom NAD⁺, co prowadzi do wzrostu aktywności SIRT1. Ponadto resweratrol wpływa także na wzrost ekspresji Nrf2, czynnika transkrypcyjnego, który reguluje ekspresję genów kodujących enzymy antyoksydacyjne (Pyo i współaut. 2020). Wszystkie te mechanizmy mają istotne znaczenie w przeciwdziałaniu starzeniu.

Badania zarówno na organizmach modelowych jak i badania kliniczne pokazały, że resweratrol przeciwdziała rozwojowi wielu chorób związanych z wiekiem. Kilkumiesięczne podawanie myszom w diecie resweratrolu przedłużyło życie nie tylko zwierzętom kontrolnym, ale i myszom SAMP8 będących modelem AD (Porquet i współaut. 2013). Resweratrol zmniejszał zaburzenia poznawcze i poprawiał pamięć. Ponadto myszy suplementowane resweratrolem miały mniejszą zawartość złożeń β amyloidu w mózgu i zmniejszony poziom hiperfosforylacji białka tau (hiperfosforylacja tau jest skorelowana z rozwojem AD). Towarzyszyła temu aktywacja przyżyciowych szlaków sygnałowych zależnych od AMPK i SIRT1. Powyższe wyniki świadczą o neuroprotekcynym działaniu resweratrolu. Potwierdza to szereg innych badań przeprowadzonych z udziałem myszy i szczurów. Niestety badania kliniczne dały sprzeczne wyniki. Farzaei i współ. przeprowadzili metaanalizę wyników uzyskanych dla 225 pacjentów, która pokazała, że resweratrol nie ma znaczącego wpływu na pamięć i funkcje poznawcze (Farzaei i współaut. 2018). Z drugiej strony, wyniki uzyskane dla pacjentów ze średnio zaawansowaną AD, którym podawano codziennie resweratrol przez 52 tygodnie, pokazały mniejsze zmiany funkcji kognitywnych niż obserwowane u osób nie otrzymujących resweratrolu (Moussa i współaut. 2017). Towarzyszył temu wzrost objętości mózgu oraz spadek parametrów stanu zapalnego układu nerwowego. Ponadto autorzy stwierdzili, że resweratrol sprzyja utrzymaniu integralności bariery krew-mózg i może indukować adaptacyjną odpowiedź immunologiczną, która może wpływać na większą odporność mózgu na odkładanie się β amyloidu.

Dużym problemem jest często pojawiająca się z wiekiem otyłość, która sprzyja rozwojowi cukrzycy, chorób naczyniowo-sercowych i atrofii mięśni. Otyłości towarzyszy wzrost stresu oksydacyjnego, który sprzyja rozwojowi chorób związanych z wiekiem. W badaniach z udziałem szczurów z otyłością wywołaną dietą wysokotłuszczową, resweratrol spowodował zmniejszenie atrofii mięśni dzięki przeciwdziałaniu dysfunkcji mitochondriów i stresowi oksydacyjnemu (Huang i współaut. 2019). Co ciekawe, resweratrol podawany w wysokich dawkach sprzyja utracie masy ciała u ludzi (Moussa i współaut. 2017). W badaniach klinicznych obejmujących kobiety po menopauzie, w wieku 45–85 lat, resweratrol przyjmowany przez rok spowodował istotny wzrost gęstości kości. Efekt ten był jeszcze silniejszy, gdy oprócz resweratrolu stosowano suplementację witaminą D3 i wapniem (Wong i współaut. 2020). Powyższe przykłady pokazują, że resweratrol może w istotny sposób przeciwdziałać starzeniu m.in. spowalniając przebieg chorób związanych z wiekiem.

Innym związkiem, który może przeciwdziałać starzeniu jest **metformina**. Jest to dimetylowa pochodna biguanidu. Biguanidy występują w rutwicy lekarskiej (*Galega officinalis*), która była stosowana w medycynie ludowej przeciwko cukrzycy. Metformina została odkryta w latach 50. i przez kolejne 20 lat była używana jako lek przeciw cukrzycy. Jej stosowanie zostało ograniczone ze względu na skutki uboczne, a szczególnie na zagrożenie rozwoju kwasicy mleczanowej. Jednak badania długofalowe i ich metaanaliza wykazały, że metformina nie zwiększa ryzyka kwasicy mleczanowej. To spowodowało, że metformina została ponownie dopuszczona jako lek w terapii cukrzycy, choć z przeciwwskazaniem u osób m.in. z niewydolnością nerek, wątroby czy krążenia. Szczególne zainteresowanie tym lekiem nastąpiło po opublikowaniu wyników badań dotyczących długofalowego efektu działania metforminy u osób chorych na cukrzycę, u których zauważono istotny spadek masy ciała i zmniejszoną zapadalność na choroby m.in. układu krążenia czy nowotwory (Li i współaut. 2021). Świadczy to o tym, że metformina nie tylko działa przeciw cukrzycowo, ale również przeciwdziała chorobom związanym z wiekiem. Niektóre badania pokazały około 30% spadek zachorowań na nowotwory u diabetyków leczonych metforminą. Ponadto stosowanie metforminy prowadziło do wydłużenia życia chorych na cukrzycę. Szereg doniesień wskazuje również na to, że metformina wydłużała życie zwierząt doświadczalnych. Jednak Glossmann i Lutz w swojej pracy przeglądowej pokazują szereg sprzeczności w opublikowanych danych. Dowodzą, że efekt przedłużenia życia

myszki ogranicza się do modeli chorób takich jak otyłość, AD czy cukrzyca, natomiast nie obserwuje się go u myszy typu dzikiego (Glossmann i Lutz 2019). O ile pozytywny efekt działania metforminy u ludzi z cukrzycą nie budzi wątpliwości, to nie wiadomo czy stosowanie metforminy u osób starszych, nie diabetyków, przyniesie podobną korzyść. Kluczowe będą wyniki długofalowych badań dotyczących osób starszych bez rozpoznanej cukrzycy i określenie ewentualnych skutków ubocznych poza już poznanymi, do których zalicza się spadek poziomu witaminy B12. Niezwykle ważne jest też dokładne poznanie mechanizmów działania metforminy. Dotychczas wiadomo, że metformina zmniejszając poziom insuliny działa na szlak zależny od IGF-1. Aktywuje kinazę AMPK, co prowadzi do hamowania mTOR i aktywacji SIRT1. Może również obniżać poziom RFT poprzez hamowanie kompleksu I mitochondrialnego łańcucha oddechowego. Wykorzystując powyższe mechanizmy, metformina może wpływać na stan zapalny, stres komórkowy i regulację autofagii, czyli procesy, które związane są ze starzeniem (Li i współaut. 2021). Obecnie prowadzone są badania kliniczne, których celem jest określenie wpływu metforminy u osób, które nie mają cukrzycy. Badanie VA-IMPACT ma objąć osoby ze stanem przedcukrzycowym i stwierdzoną chorobą miażdżycową, natomiast badanie TAME (Targeting Aging with Metformin) ma dotyczyć osób starszych (65–79 lat) bez cukrzycy, ale obejmie osoby już „obciążone chorobą przewlekłą” i najprawdopodobniej tylko osoby z upośledzoną tolerancją glukozy/hiperглиkemią na czczo (Glossmann i Lutz 2019). Wydaje się, że wyniki tych badań powinny dać odpowiedź na pytanie, czy metformina może być korzystnym środkiem przeciwstarzeniowym zwłaszcza u osób, które nie chorują na cukrzycę.

Rapamycyna i jej analogi są kolejnymi związkami, z którymi wiąże się nadzieje na zastosowanie w senoterapii. Rapamycyna jest antybiotykiem makrolidowym. Po raz pierwszy została wyizolowana z bakterii *Streptomyces hygroscopicus* pochodzących z próbki ziemi pobranej na Wyspie Wielkanocnej. Nazwa jej pochodzi od nazwy wyspy, która w językach polinezyjskich znana jest jako Rapa Nui. Rapamycyna początkowo została odkryta jako środek przeciwgrzybiczy, jednak stosowana jest obecnie głównie jako lek immunosupresyjny w transplantologii (Li i współaut. 2021). Jest ona inhibitorem mTOR, kinazy aktywowanej przez wiele szlaków przekazywania sygnałów, w tym aktywowanych m.in. przez czynniki wzrostu czy hormony. mTOR jest komórkowym sensorem składników odżywczych (aminokwasów) i jednym z dwóch głównych regulatorów autofagii. Kinaza mTOR wpływa

na ścieżki sygnałowe kontrolujące wzrost, proliferację czy metabolizm komórki. Zaburzenia szlaku kinazy mTOR może być czynnikiem patogenezы różnych chorób. Zwiększona aktywacja mTOR sprzyja rozwojowi nowotworów, chorób metabolicznych (np. cukrzyca typu 2), a także starzeniu. Natomiast zahamowanie jej aktywności rapamycyną przedłużyło życie *C. elegans*, muszkom owocowym i myszom (Li i współaut. 2021). Rapamycyna hamuje powstawanie nowotworów u myszy (Sun i współaut. 2022), a także ma działanie neuroprotektcyjne. Podawana doustnie może skutecznie poprawić funkcje poznawcze u starszych myszy (Li i współaut. 2021). Również efekty działania rapamycyny w mysich modelach AD są bardzo obiecujące. Jednak w przypadku ludzi pojawiło się sporo kontrowersji (Carosi i Sargeant 2019). Rapamycyna może zmniejszyć patologiczne cechy AD i utrzymać integralność bariery krew-mózg, zapobiegając utracie neuronów i poprawiając funkcje poznawcze, ale wydaje się, że pozytywne działanie może mieć tylko w początkowej fazie AD. Natomiast w późniejszej może prowadzić do gromadzenia się uszkodzonych lizosomów i zamiast stymulować usuwanie złogów β amyloidu promować ich gromadzenie się. Ponadto przy długotrwałym stosowaniu doustnym rapamycyny trzeba uwzględnić ryzyko wystąpienia skutków ubocznych tego leku. W tym kontekście ciekawe wyniki opublikował Chung i współaut. dotyczące przeciwstarzeniowego działania rapamycyny na skórę u ludzi. Badania dotyczyły osób > 40 roku życia, które nie chorowały na cukrzycę ani hipercholesterolemię. Przez 8 miesięcy stosowały krem z rapamycyną lub placebo na skórę rąk. Rapamycyna spowodowała redukcję ekspresji markera komórek starych, p16INK4A, a jednocześnie zaobserwowano wzrost poziomu kolagenu VII, który ma kluczowe znaczenie dla integralności błony podstawnej. Jest to dowodem na przeciwstarzeniowe działanie rapamycyny (Chung i współaut. 2019).

PODSUMOWANIE

Celem działania przeciwstarzeniowego powinna być redukcja liczby starych komórek bądź ograniczenie wydzielania przez te komórki czynników prozapalnych, a nie całkowita ich eliminacja. Wówczas może ono przynieść korzyści, takie jak przeciwdziałanie chorobom związanym z wiekiem jak i opóźnianie ich pojawienia się. Senoterapia może mieć wpływ nie tyle na wydłużenie życia ludzi, co raczej na poprawę jego jakości. Jest to szczególnie ważne w starzejących się społeczeństwach ze względów społecznych i ekonomicznych. Choć nie ma jeszcze opracowanych i dopuszczonych do stosowania tera-

pii, to dotychczasowe wyniki wskazują na celowość prowadzonych badań dotyczących związków o właściwościach przeciwstarzeniowych. W tym kontekście szczególnie interesujące wydają się związki pochodzenia naturalnego. Związki te, często spożywane w codziennej diecie, mają pozytywne efekty, m.in. ze względu na mniejsze prawdopodobieństwo skutków ubocznych. Jednak konieczne są długofalowe badania w celu określenia zarówno korzyści jak i ewentualnych zagrożeń stosowania badanych substancji.

LITERATURA

- Anand P., Kunnumakkara A. B., Newman R. A., Aggarwal B. B., 2007. *Bioavailability of curcumin: problems and promises*. Mol Pharm. Nov-Dec;4(6):807–18. doi: 10.1021/mp700113r. Epub 2007 Nov 14.
- Ahmad S., Khan A., Ali W., Jo M. H. Park J. i współaut., 2021. *Fisetin Rescues the Mice Brains Against D-Galactose-Induced Oxidative Stress, Neuroinflammation and Memory Impairment* Front Pharmacol. Feb 25;12:612078. doi: 10.3389/fphar.2021.612078.
- Beltzig L., Christmann M., Kaina B., 2022. *Abrogation of Cellular Senescence Induced by Temozolomide in Glioblastoma Cells: Search for Senolytics*. Cells. Aug 19;11(16):2588. doi: 10.3390/cells11162588.
- Benameur T., Soleti R., Panaro M. A., La Torre M. E., Monda V. i współaut., 2021. *Curcumin as Prospective Anti-Aging Natural Compound: Focus on Brain*. Molecules. Aug 7;26(16):4794. doi: 10.3390/molecules26164794.
- Bielak-Zmijewska A, Grabowska W., Ciołko A., Bojko A., Mosieniak G. i współaut., 2019. *The Role of Curcumin in the Modulation of Ageing* Int J Mol Sci. Mar 12;20(5):1239. doi: 10.3390/ijms20051239.
- Biran A., Zada L., Abou Karam P., Vadai E., Roitman L. i współaut., 2017. *Quantitative identification of senescent cells in aging and disease*. Aging Cell 16: 661–671. doi:10.1111/accel.12592
- Birch J., Gil J., 2020. *Senescence and the SASP: many therapeutic avenues* Gens and Dev Dec 1;34(23–24):1565–1576. doi: 10.1101/gad.343129.120.
- Budamagunta V., Kumar A., Rani A., Bean L., Manohar-Sindhu S. i współaut., 2023. *Effect of peripheral cellular senescence on brain aging and cognitive decline* Aging Cell. May;22(5):e13817. doi: 10.1111/accel.13817.
- Campigotto G., Alba D. F., Sulzbach M. M., Dos Santos D. S., Souza C. F. i współaut., 2020. *Dog food production using curcumin as antioxidant: effects of intake on animal growth, health and feed conservation*. Arch Anim Nutr Oct;74(5):397–413. doi: 10.1080/1745039X.2020.1769442.
- Carosi J.M., Sargeant T.J., 2019. *Rapamycin and Alzheimer disease: a hypothesis for the effective use of rapamycin for treatment of neurodegenerative*. Autophagy. Aug;19(8):2386–2390. doi: 10.1080/15548627.2023.2175569.
- Chung C. L., Lawrence I., Hoffman M., Elgindi D., Nadhan K. i współaut., 2019. *Topical rapamycin reduces markers of senescence and aging in human skin an exploratory, prospective, randomized trial*. Geroscience. Dec;41(6):861–869. doi: 10.1007/s11357-019-00113-y.
- Colman R. J., Anderson R. M., Johnson S. C., Kastman E. K., Kosmatka K. J. i współaut., 2009. *Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys*. Science. Jul 10;325(5937):201–4. doi: 10.1126/science.1173635.
- Currais A., Prior M., Dargusch R, Armando A., Ehren J. i współaut., 2014. *Modulation of p25 and inflammatory pathways by fisetin maintains cognitive function in Alzheimer's disease transgenic mice* Aging Cell. Apr;13(2):379–90. doi: 10.1111/accel.12185.
- Deelen J., Beekman M., Capri M., Franceschi C., Slagboom P. E., 2013. *Identifying the genomic determinants of aging and longevity in human population studies: progress and challenges* Bioessays. Apr;35(4):386–96. doi: 10.1002/bies.201200148.
- Demaria M., Ohtani N., Youssef S.A., Rodier F., Toussaint W. i współaut., 2014. *An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA*. Dev Cell; 31: 722–33. doi: 10.1016/j.devcel.2014.11.012.
- Dookun E., Passos J. F., Arthur H. M., Richardson G. D., 2022. *Therapeutic Potential of Senolytics in Cardiovascular Disease*. Cardiovasc. Drugs Ther. Feb;36(1):187–196. doi: 10.1007/s10557-020-07075-w.
- Durgan C. M., Murach K. A., Zdunek C. J., Jian Tang Z., Nolt G. L. i współaut., 2021. *Deletion of SA β -Gal+ cells using senolytics improves muscle regeneration in old mice* Aging Cell Jan;21(1):e13528. doi: 10.1111/accel.13528.
- Farzaei M.H., Rahimi R., Nikfar S., Abdollahi M., 2018. *Effect of resveratrol on cognitive and memory performance and mood: A meta-analysis of 225 patients*. Pharmacol Res. Feb;128:338–344. doi: 10.1016/j.phrs.2017.08.009.
- Fiedler E., Wan T., Alimohammadiha G., Ishaq A., Low E. i współaut., 2022. *Short senolytic or senostatic interventions rescue progression of radiation-induced frailty and premature ageing in mice*. Elife. May 4;11:e75492. doi: 10.7554/eLife.75492.

- Glossmann H.H., Lutz O.M.D., 2019. *Metformin and Ageing: Review*. Gerontology.;65(6):581–590. doi: 10.1159/000502257.
- Gonzales M.M., Garbarino V. R., Kautz T., Palavicini J. P., Lopez-Cruzan M. i współaut., 2023. *Senolytic therapy to modulate the progression of Alzheimer's Disease (SToMP-AD) – Outcomes from the first clinical trial of senolytic therapy for Alzheimer's disease* Res Sq. Apr 24;rs.3.rs-2809973. doi: 10.21203/rs.3.rs-2809973/v1. Preprint
- Hambricht W.S., Mu X., Gao X., Guo P., Kawakami Y. i współaut., 2023. *The Senolytic Drug Fisetin Attenuates Bone Degeneration in the Zmpste24^{-/-} Progeria Mouse Model*. J Osteoporos. Feb 22;2023:5572754. doi: 10.1155/2023/5572754.
- Herbig U., Ferreira M., Condel L., Carey D., Sedivy J.M., 2006. *Cellular senescence in aging primates* Science Mar 3;311(5765):1257. doi: 10.1126/science.1122446.
- Huang Y., Zhu X., Chen K., Lang H., Zhang Y. i współaut., 2019. *Resveratrol prevents sarcopenic obesity by reversing mitochondrial dysfunction and oxidative stress via the PKA/LKB1/AMPK pathway*. Aging (Albany NY). Apr 15;11(8):2217–2240. doi: 10.18632/aging.101910.
- Ju H. Y., Kim J., Han S.J., 2023. *The flavonoid fisetin ameliorates renal fibrosis by inhibiting SMAD3 phosphorylation, oxidative damage, and inflammation in ureteral obstructed kidney in mice*. Kidney Res and Clinical Practice May;42(3):325–339. doi: 10.23876/j.krcp.22.034.
- Justice J.N., Nambiar A.M., Tchkonina T., LeBrasseur N.K., Pascual R. i współaut., 2019. *Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study* EBioMedicine. Feb;40:554–563. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.12.052.
- Kirkland J.L., Tchkonina T., 2020. *Senolytic drugs: from discovery to translation*. J Intern Med. Nov;288(5):518–536. doi: 10.1111/joim.13141.
- Krzystyniak A., Węsierska M., Petrazzo G., Gadecka A., Dudkowska M. i współaut., 2022. *Combination of dasatinib and quercetin improves cognitive abilities in aged male Wistar rats, alleviates inflammation and changes hippocampal synaptic plasticity and histone H3 methylation profile*. Aging (Albany NY). Jan 18;14(2):572–595. doi: 10.18632/aging.203835.
- Lapierre L.R., Kumsta C., Sandri M., Ballabio A., Hansen M. i współaut., 2015. *Transcriptional and epigenetic regulation of autophagy in aging*. Autophagy. 11(6):867–80. doi: 10.1080/15548627.2015.1034410.
- Li W., He Y., Zhang R., Zheng G., Zhou D. i współaut., 2019. *Aging The curcumin analog EF24 is a novel senolytic agent* Aging (Albany NY). Jan 28;11(2):771–782. doi: 10.18632/aging.101787.
- Li Z., Zhang Z., Ren Y., Wang Y., Fang J. i współaut., 2021. *Aging and age-related diseases from mechanisms to therapeutic strategies* Biogerontology. Apr;22(2):165–187. doi: 10.1007/s10522-021-09910-5.
- Maher P., 2021. *Preventing and Treating Neurological Disorders with the Flavonol Fisetin*. Brain Plast. Feb 9;6(2):155–166. doi: 10.3233/BPL-200104
- Malavotla M., Bracci M., Santarelli L., Sayeed M.A., Pierpaoli E. i współaut., 2018. *Inducers of Senescence, Toxic Compounds, and Senolytics The Multiple Faces of Nrf2-Activating Phytochemicals in Cancer Adjuvant Therapy*. Mediators Inflamm. Feb 12;2018:4159013. doi: 10.1155/2018/4159013.
- Moussa C., Herbon M., Huang X., Ahn J., Rissman R. A. i współaut., 2017. *Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease*. J Neuroinflammation. Jan 3;14(1):1. doi: 10.1186/s12974-016-0779-0.
- Muñoz-Espín D., Cañamero M., Maraver A., Gómez-López G., Contreras J. i współaut., 2013. *Programmed cell senescence during mammalian embryonic development* Cell Nov 21;155(5):1104–18. doi: 10.1016/j.cell.2013.10.019.
- Murakami T., Inagaki N., Kondoh H., 2022. *Cellular Senescence in Diabetes Mellitus: Distinct Senotherapeutic Strategies for Adipose Tissue and Pancreatic β* Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Mar 31;13:869414. doi: 10.3389/fendo.2022.869414.
- Musi N., Valentine J. M., Sickora K. R., Baeuerle E., Thompson C. S. i współaut., 2018. *Tau protein aggregation is associated with cellular senescence in the brain* Aging Cell Dec;17(6):e12840. doi: 10.1111/ace1.12840.
- Ogrodnik M., Zhu Y., Langhi L. G. P., Tchkonina T., Patrick Krüger P. i współaut., 2019. *Obesity-induced cellular senescence drives anxiety and impairs neurogenesis*. Cell Metab. May 7;29(5):1061–1077.e8. doi: 10.1016/j.cmet.2018.
- Porquet D., Casadesús G., Bayod S., Vicente A., Canudas A.M. i współaut., 2013. *Dietary resveratrol prevents Alzheimer's markers and increases life span in SAMP8*. Age (Dordr). Oct;35(5):1851–65. doi: 10.1007/s11357-012-9489-4.
- Przysławski J., Dzieciół M., 2012. *Resweratrol – aktualny stan wiedzy* M BROMAT. CHEM. TOKSYKOL. XLV, 4, str. 1166–1174
- Pu J. L., Huang Z. T., Luo Y. H., Mou T., Li T. T. i współaut., 2021. *Fisetin mitigates hepatic ischemia-reperfusion injury by regulating GSK3 β /AMPK/NLRP3 inflammasome pathway* Hepatobiliary Pancreat Dis Int. Aug;20(4):352–360. doi: 10.1016/j.hbpd.2021.04.013.

- Pyo I.S., Yun S., Yoon Y.E., Choi J.W., Lee S.J., 2020. *Mechanisms of Aging and the Preventive Effects of Resveratrol on Age-Related Diseases*. *Molecules*. Oct 12;25(20):4649. doi: 10.3390/molecules25204649.
- Ruggiero A.D., Vemuri R., Blawas M., Long M., De-Stephanis D. i współaut., 2023. *Long-term dasatinib plus quercetin effects on aging outcomes and inflammation in nonhuman primates: implications for senolytic clinical trial design* *Geroscience*. Jun 1. doi: 10.1007/s11357-023-00830-5.
- Salehi B., Stojanović-Radić Z., Matejić J., Sharifi-Rad M., Anil Kumar N.V. i współaut., 2019. *The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials* *Eur J Med Chem*. Feb 1:163:527–545. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.12.016.
- Santos-Parker J.R., Strahler T.R., Bassett C.J., Bispham N.Z., Chonchol M.B. i współaut., 2017. *Curcumin supplementation improves vascular endothelial function in healthy middle aged and older adults by increasing nitric oxide bioavailability and reducing oxidative stress*. *Aging (Albany NY)* Jan 3;9(1):187–208. doi: 10.18632/aging.101149.
- Schafer M.J., White T.A., Iijima K., Haak A.J., Ligresti G. i współaut., 2017. *Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease*. *Nat Commun* 8: 14532. doi:10.1038/ncomms14532
- Sikora E., Mosieniak G., Śliwińska M.A., 2016. *Morphological and Functional Characteristic of Senescent Cancer Cells*. *Curr Drug Targets*. 17(4):377–87. doi: 10.2174/1389450116666151019094724.
- Sikora E., Bielak-Żmijewska A., Mosieniak G., 2021 *A common signature of cellular senescence; does it exist?* *Ageing Res Rev*. Nov;71:101458. doi: 10.1016/j.arr.2021.101458.
- Sikora E., Czarnecka-Herok J., Bojko A., Sunderland P., 2022. *Therapy-induced polyploidization and senescence: Coincidence or interconnection?* *Semin Cancer Biol*. Jun;81:83–95. doi: 10.1016/j.semcancer.2020.11.015.
- St Sauver J.L., Boyd C.M., Grossardt B.R., Bobo W.V., Finney Rutten L.J. i współaut., 2015. *Risk of developing multimorbidity across all ages in an historical cohort study: differences by sex and ethnicity*. *BMJ Open*. Feb 3;5(2):e006413. doi: 10.1136/bmjopen-2014-006413.
- Sun L., Yan Y., Lv H., Li J., Wang Z. i współaut., 2022. *Rapamycin targets STAT3 and impacts c-Myc to suppress tumor growth*. *Cell Chem Biol*. Mar 17;29(3):373–385.e6. doi: 10.1016/j.chembiol.2021.10.006.
- Takaya K., Asou T., Kishi K., 2023. *Fisetin, a potential skin rejuvenation drug that eliminates senescent cells in the dermis*. *Biogerontology*. Sep 22. doi: 10.1007/s10522-023-10064-9.
- Wang J., Lu Y., Carr C., Dhandapani K.M., Brann D.W., 2023. *Senolytic therapy is neuroprotective and improves functional outcome long-term after traumatic brain injury in mice* *Front Neurosci*. Jul 27;17:1227705. doi: 10.3389/fnins.2023.1227705.
- Wang Y., Che L., Chen X., He Z., Song D. i współaut., 2023. *Repurpose dasatinib and quercetin: Targeting senescent cells ameliorates postmenopausal osteoporosis and rejuvenates bone regeneration* *Bioact Mater*. Jan 20;25:13–28. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.01.009.
- Webster K.A., 2012. *A sirtuin link between metabolism and heart disease* *Nat Med*. Nov;18(11):1617–9. doi: 10.1038/nm.2983.
- Wissler Gerners E.O., Misra A., Espindola Netto J.M., Tchkonja T., Kirkland J.L., 2021. *Strategies for late phase preclinical and early clinical trials of senolytics* *Mech Ageing Dev*. Dec:200:111591. doi: 10.1016/j.mad.2021.111591.
- Wong R.H., Thaug Zaw J.J., Xian C.J., Howe P.R., 2020. *Regular Supplementation With Resveratrol Improves Bone Mineral Density in Postmenopausal Women Randomized, Placebo-Controlled Trial*. *J Bone Miner Res*. Nov;35(11):2121–2131. doi: 10.1002/jbmr.4115.
- Xiao Y., Liu Y., Gao Z., Li X., Weng M. i współaut., 2021. *Fisetin inhibits the proliferation, migration and invasion of pancreatic cancer by targeting PI3K/AKT/mTOR signaling*. *Aging (Albany NY)* Nov 25;13(22):24753–24767. doi: 10.18632/aging.203713.
- Xing X., Liang Y., Li Y., Zhao Y., Zhang Y. i współaut., 2023. *Fisetin Delays Postovulatory Oocyte Aging by Regulating Oxidative Stress and Mitochondrial Function through Sirt1 Pathway* *Molecules*. Jul 20;28(14):5533. doi: 10.3390/molecules28145533.
- Xu M., Pirtskhalava T., Farr J.N., Weigand B. M., Palmer, A. K. i współaut., 2018. *Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age*. *Nat Med*. Aug;24(8):1246–1256. doi: 10.1038/s41591-018-0092-9.
- Yousefzadeh M.J., Zhu Y., McGowan S.J., Angelini L., Fuhrmann-Stroissnigg H. i współaut., 2018. *Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan*. *EBioMedicine*. 36: 18–28. doi:10.1016/j.ebiom.2018.09.015.
- Zhang J., Wang J., Xu J., Lu Y., Jiang J. i współaut., 2016. *Curcumin targets the TFEB-lysosome pathway for induction of autophagy*. *Oncotarget*. Nov 15;7(46):75659–75671. doi: 10.18632/oncotarget.12318.
- Zhang P., Kishimoto Y., Grammatikakis I., Gottimukkala K., Cutler R. G. i współaut., 2019. *Senolytic therapy alleviates A β -associated oligodendrocyte progenitor cell senescence and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model*. *Nat Neurosci*. May;22(5):719–728. doi: 10.1038/s41593-019-0372-9.