

MAGDALENA DĄBROWSKA^{1,A}

^A [HTTPS://ORCID.ORG/0000-0001-7487-8930](https://orcid.org/0000-0001-7487-8930)
e-mail: m.dabrowska@nencki.edu.pl

1

Pracownia Molekularnych Podstaw Starzenia,
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, Polska Akademia Nauk
Laboratory of Molecular Bases of Aging, Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences
3 Pasteur St., 02-093 Warsaw, Poland

Rola stresu oksydacyjnego w starzeniu komórkowym

The role of oxidative stress in cellular senescence

https://doi.org/10.36921/kos.2023_2972

Abstrakt

Starzenie komórkowe jest to trwale zahamowanie podziałów komórek spowodowane przez czynniki stresogenne, które prowadzą do indukcji odpowiedzi na uszkodzenia DNA. W zależności od rodzaju stresu wyróżnia się trzy główne typy starzenia komórkowego: (i) starzenie replikacyjne spowodowane przez skracanie się telomerów, (ii) starzenie wywołane aktywnością onkogenów, (iii) starzenie przyspieszone indukowane przez inne czynniki. Starzeniu ulegają zarówno komórki prawidłowe, jak i nowotworowe. W przypadku komórek prawidłowych jest to główny mechanizm leżący u podstaw starzenia się organizmu i chorób wieku podeszłego. W przypadku komórek nowotworowych jest to często występujący typ odpowiedzi na terapię, który stanowi przede wszystkim formę uśpienia nowotworu. Zwiększone wytwarzanie reaktywnych form tlenu towarzyszy wszystkim typom starzenia. Stresowi oksydacyjnemu przypisuje się zasadniczą rolę zarówno w indukcji, jak i utrzymywaniu stanu starzenia. Wolne rodniki tlenowe pełnią dwojaką funkcję w starzeniu komórkowym: przekaźnika sygnałów oraz czynnika uszkadzającego makrocząsteczki. Niniejszy artykuł opisuje źródła i rolę wolnych rodników tlenowych w różnych typach starzenia komórkowego.

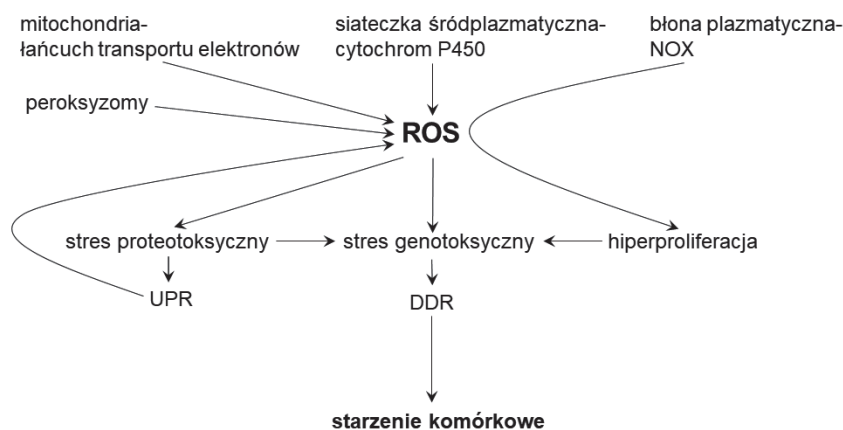
Słowa kluczowe: starzenie komórkowe, wolne rodniki tlenowe, stres oksydacyjny, starzenie się organizmu

Abstract

Cellular senescence is the permanent inhibition of cell division caused by stressors that lead to the induction of a DNA damage response. Depending on the type of stress, three main types of cellular senescence are distinguished: (i) replicative senescence triggered by telomere shortening, (ii) senescence caused by oncogene activity, (iii) accelerated senescence induced by other factors. Cellular senescence occurs in normal and cancer cells. Senescence of normal cells is the main mechanism underlying aging and age-related diseases. Cancer cell senescence is often a response

to therapy, and primarily it constitutes a form of tumor dormancy. Increased production of reactive oxygen species accompanies all types of cellular senescence. Oxidative stress is considered to play an essential role in both the induction and maintenance of the senescent state. Oxygen free radicals perform a dual function in cellular senescence: a signal transmitter and an agent that damages macromolecules. This article describes the sources and role of oxygen free radicals in various types of cellular senescence.

Keywords: cellular senescence, reactive oxygen species, oxidative stress, aging



Wyjaśnienia skrótów: cytochrom P450: monooksygenaza cytochromu P450; DDR: odpowiedź na uszkodzenia DNA; NOX: oksydaza NADPH; ROS: reaktywne formy tlenu; UPR: odpowiedź na źle złożone białka.

WPROWADZENIE

Starzenie komórkowe jest to trwale zahamowanie wzrostu (prolifracji/podziałów) ssaczych komórek zachodzące w odpowiedzi na stres (Herranz i Gil 2018). Czynniki stresogenne indukujące starzenie komórkowe można podzielić na cztery główne kategorie: (i) czynniki wywołujące uszkodzenia DNA, (ii) czynniki metaboliczne, (iii) stan zapalny, (iv) endogenne struktury molekularne związane z uszkodzeniem komórek, do których należą nukleotydy, fragmenty chromatyny, jak również źle złożone białka i agregaty białkowe (Langhi Prata i współaut. 2018). Wyróżnia się trzy główne typy starzenia komórkowego: (i) starzenie replikacyjne, które zachodzi w normalnych komórkach wówczas, gdy skrócone telomery (końce chromosomów) spowodują indukcję odpowiedzi na uszkodzenia DNA i wyznaczą osiągnięcie limitu podziałów, (ii) starzenie spowodowane aktywnością onkogenów (ang. Oncogene- Induced Senescence, OIS), która prowadzi do transformacji nowotworowej, oraz (iii) starzenie przyspieszone (przedwczesne), określane też jako indukowane przez stres zarówno w komórkach prawidłowych, jak i nowotworowych (ang. Stress-Induced Premature Senescence, SIPS), (Campisi

i d'Adda di Fagagna 2007; Braig i Schmitt 2006; de Magalhaes i Passos 2018). W komórkach nowotworowych przyspieszone starzenie występuje często w odpowiedzi na radio- i chemio-terapię. Określa się je jako starzenie indukowane terapią (ang. Therapy-Induced Senescence, TIS), (Sun i współaut. 2008). Pomimo tego, że starzenie komórkowe zostało pierwotnie zidentyfikowane jako odpowiedź na stres, to wykazano także jego udział w regulacji normalnych procesów fizjologicznych, do których należą rozwój narządów podczas embriogenezy i gojenie ran (Calcinotto i współaut. 2019). Starzenie komórkowe spełniające istotną rolę w prawidłowym przebiegu rozwoju zarodkowego określa się jako starzenie programowane. Uważa się, że jest to ewolucyjnie pierwotna forma starzenia, z której rozwinęły się następnie formy starzenia stanowiące odpowiedź na czynniki stresogenne uszkadzające komórki (Munoz-Espin i współaut. 2013). Komórki będące w stanie starzenia programowanego, a także komórki stare, spełniające pozytywną rolę w reorganizacji struktury tkanek podczas gojenia ran, występują w tkankach tylko przejściowo w ściśle określonej fazie danego procesu (Calcinotto i współaut. 2019). Starzenie komórkowe charakteryzuje zespół cech morfotycznych i molekularnych. Wyznaczniki sta-

nu starzenia to przede wszystkim (i) zwiększona aktywność lizosomalnej β -galaktozydazy (ang. Senescence-Associated β -galactosidase, SA- β -gal), (ii) zwiększony poziom inhibitorów kinaz zależnych od cyklin (ang. Cyclin-Dependent Kinase inhibitors, CDK inhibitors), głównie p16-INK4a i p21^{Waf1/Cip1}, oraz (iii) wysoka aktywność wydzielnicza, obejmująca czynniki wzrostu, cytokiny, składniki macierzy zewnątrzkomórkowej i proteazy, ogólnie określane jako SASP (ang. Senescence-Associated Secretory Phenotype), (Gorgoulis i współaut. 2019). Stres oksydacyjny, czyli wytwarzanie krótko żyjących i wysoce reaktywnych form tlenu (ang. Reactive Oxygen Species, ROS), na poziomie przekraczającym zdolności komórek do ich neutralizacji, nie jest traktowany jako obligatoryjny wyznacznik starzenia (Hernandez-Segura i współaut. 2018). Jest on zaliczany do czynników metabolicznych indukujących starzenie na podstawie badań, w których wykazano, że nadtlenek wodoru indukuje SIPS w komórkach prawidłowych: fibroblastach i melanocytach (Toussaint i współaut. 2000). Stres oksydacyjny jest jednak związany nie tylko z SIPS. Występuje także w starzeniu replikacyjnym, jak i w OIS, głównie na skutek akumulacji dysfunkcyjnych mitochondriów (Deschenes-Simard i współaut. 2014; Hernandez-Segura i współaut. 2018). ROS wywołują w komórkach uszkodzenia makrocząsteczek: kwasów nukleinowych, białek i lipidów, co prowadzi do indukcji programowanej śmierci komórek (apoptozy) lub starzenia. Obydwa procesy wykluczają się wzajemnie, ponieważ starzeniu komórkowemu towarzyszy zwiększona ekspresja białek antyapoptotycznych (Chaib i współaut. 2022). Starzenie komórek uważane było początkowo za stan nieodwracalnego zahamowania wzrostu. Późniejsze badania wykazały, że starzenie komórkowe jest odwracalne w obecności następujących czynników towarzyszących: (i) obniżonej ekspresji inhibitora CDK p16-INK4a, (ii) indukcji poliploidii (czyli zwiększenia ilości DNA w jądrach o krotność diploidalnej liczby chromosomów), (iii) zwiększonej aktywności β -kateniny- czynnika transkrypcyjnego odpowiedzialnego za zdolność komórek macierzystych do podziałów i przekształcania się w różne typy komórek organizmu (pluripotencja), jak również odpowiedzialnego za wzrost nowotworów (Beausejour i współaut. 2003; Milanovic i współaut. 2018; Sikora i współaut. 2022). Odwracalność starzenia, określana także jako ucieczka ze stanu starzenia, jest szczególnie istotna w przypadku komórek nowotworowych, ponieważ prowadzi do nawrotu nowotworu (Schmitt i współaut. 2022). Stare komórki mogą być eliminowane z organizmu przez komórki wrodzonej odpowiedzi immunologicznej: NK (ang. Natural Killer

i makrofagi, jak i w sposób zależny od przeciwciał i limfocytów T aktywowanych w toku nabytej odpowiedzi immunologicznej (Langi Prata i współaut. 2018; Ovadya i Krizhanovsky 2018). Akumulacja w tkankach starych komórek postępuje z wiekiem i stanowi podstawę starzenia się organizmu oraz wielu chorób przewlekłych wieku podeszłego: miażdżycy, osteoporozy, chorób neurodegeneracyjnych, zaćmy i cukrzycy typu II, jak również nowotworów (Calcinotto i współaut. 2019). Określone strategie terapeutyczne, ukierunkowane na selektywną eliminację z organizmu starych komórek, są aktualnie poddawane próbom klinicznym (Chaib i współaut. 2022). Oczekuje się, że skutkiem stosowania takich strategii będzie poprawa kondycji zdrowotnej osób w podeszłym wieku. Postęp tego typu terapii zależy od dokładnego wyjaśnienia różnych aspektów molekularnego mechanizmu indukcji i utrzymywania stanu starzenia komórkowego, oraz odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko komórkom starym. Niniejszy artykuł opisuje znaczenie stresu oksydacyjnego w indukcji i utrzymywaniu różnych typów starzenia komórek ssaczych.

Należy zaznaczyć, że w badaniach starzenia komórkowego wykorzystywane są głównie systemy ssacze. Starzenie komórkowe występuje także zarówno u innych kręgowców, jak i bezkręgowców. Wykazano jego istotną rolę w rozwoju zarodkowym i regeneracji kończyn płazów oraz w regulacji wzrostu i migracji komórek *Drosophila melanogaster* (Davaapil i współaut. 2017; Ito i Igaki 2016; Yu i współaut. 2023). Sugeruje się zatem, że starzenie komórkowe może stanowić ewolucyjnie zachowany program aktywacji funkcji wydzielniczych komórek, który zapewnia utrzymanie tkanek w stanie równowagi (homeostazy), (Neves i współaut. 2015).

REAKTYWNE FORMY TLENU I OKSYDACYJNE USZKODZENIA KOMÓREK

W procesie oddychania komórkowego tlen cząsteczkowy jest akceptorem elektronów przenoszonych przez mitochondrialny łańcuch oddechowy. Końcowym produktem czteroelektronowej redukcji O_2 i przyłączenia jonów wodoru są dwie cząsteczki wody. Produktem ubocznym transportu elektronów przez łańcuch oddechowy są reaktywne formy tlenu, które powstają na skutek częściowej redukcji O_2 . Do ROS należą: anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$) powstający w wyniku jednoelektronowej redukcji O_2 , rodnik nadhydroksylowy (HO_2^{\cdot}) będący sprotonowaną formą $O_2^{\cdot-}$, nadtlenek wodoru (H_2O_2), oraz rodnik hydroksylowy (OH^{\cdot}). W wysokich stężeniach ROS są toksyczne dla komórek. W komórkach wy-

stępują systemy enzymatyczne oraz związki o właściwościach antyoksydantów skutecznie neutralizujące ROS, jeśli te wytwarzane są w niewielkich ilościach. Jeśli jednak produkcja ROS przewyższa zdolności obrony antyoksydacyjnej komórki, wówczas dochodzi do zakłócenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i do indukcji stresu oksydacyjnego. ROS, zarówno wolne rodniki tlenowe, czyli formy ROS zawierające niesparowane elektrony, jak i H_2O_2 , wykazują wysoką reaktywność i wywołują uszkodzenia makrocząsteczek (Bergamini i współaut. 2004). Mitochondrialne ROS nie są jednak wyłącznie czynnikami potencjalnie toksycznymi dla komórek. Wytwarzane w stężeniach niskich (nanomolowych) spełniają także istotną pozytywną funkcję fizjologicznego regulatora proliferacji. Poprzez stabilizację czynnika transkrypcyjnego HIF (ang. Hypoxia- Inducible Factor), mitochondrialne ROS odpowiedzialne są za adaptację do warunków niskiego stężenia tlenu (hipoksji). Adaptacja ta obejmuje aktywację angiogenezy (wytwarzanie naczyń krwionośnych) poprzez stymulację podziałów komórek śródbłonka i mięśniówki gładkiej naczyń, oraz erytropoezę poprzez stymulację proliferacji komórek prekursorowych erytrocytów. Ponadto, mitochondrialne ROS warunkują odpowiedź immunologiczną limfocytów T stymulując ich aktywację i proliferację. W przypadku nowotworów mitochondrialne ROS pełnią funkcję negatywną, ponieważ powodują wzrost nowotworów poprzez stymulację angiogenezy i proliferacji komórek nowotworowych (Diebold i Chandel 2016).

Oprócz mitochondriów, drugim istotnym źródłem ROS w komórkach są oksydazy NADPH, określane jako NOX (ang. NADPH Oxidase), (Vermot i współaut. 2021). Rodzina białek NOX składa się 7 izoform (NOX1-5, DUOX1-2). Prototypową izoformą NOX jest NOX2 (gp91^{phox}), która jest odpowiedzialna za wybuch tlenowy podczas fagocytozy bakterii w wyspecjalizowanych komórkach fagocytarnych wrodzonej odpowiedzi immunologicznej (neutrofilach, monocytach, makrofagach, komórkach dendrytycznych i tucznych), (Canton i współaut. 2021). Izoforny NOX występują także w niefagocytarnych komórkach różnych tkanek oraz w komórkach nowotworowych. Enzymatyczne kompleksy NOX zlokalizowane są głównie w błonie plazmatycznej, ale także w błonach siateczki śródplazmatycznej, jądra i mitochondriów. NOX wytwarzają O_2^- w wyniku transbłonowego przeniesienia elektronu na cząsteczkę tlenu (Vermot i współaut. 2021). Oprócz funkcji obronnych NOX pełnią także rolę w przekazywaniu sygnałów wewnątrzkomórkowych. Jest to związane z dwójakiego rodzaju funkcją ROS w komórkach. ROS generują uszkodzenia makrocząsteczek pod-

czas stresu oksydacyjnego, ale wzrost ich poziomu w określonych przedziałach komórki, regulowany przez aktywność enzymów obrony antyoksydacyjnej, leży u podstaw modyfikacji białek uczestniczących w przekazywaniu wewnątrzkomórkowych sygnałów regulujących losy komórki (wzrost, różnicowanie, apoptozę, migrację i metabolizm), a także odpowiedź immunologiczną (Finkel 2011; Droge 2002). O_2^- uwalniany przez oksydazy NADPH na zewnątrz komórki ulega spontanicznej lub enzymatycznej dysmutacji do H_2O_2 , który następnie dyfunduje przez błonę plazmatyczną i spełnia wewnątrz komórki funkcję drugorzędowego przekaźnika sygnału (Finkel 2011). Wywołując utlenienie określonych reszt cysteinowych fosfatyz tyrozynowych i fosfatyz o podwójnej specyficzności, tj. fosfatyz defosforylujących zarówno reszty tyrozynowe jak i serynowe/treoninowe w białkach docelowych, H_2O_2 warunkuje przekazywanie sygnału do proliferacji od receptorów o aktywności kinaz tyrozynowych. Do receptorów tych należą między innymi receptory czynników wzrostu: nabłonkowego (ang. Epidermal Growth Factor, EGF), płytkowego (ang. Platelet-Derived Growth Factor, PDGF), śródbłonka naczyniowego (ang. Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), insulinopodobnego (ang. Insulin-like Growth Factor, IGF) i fibroblastów (ang. Fibroblast Growth Factor, FGF), (Brown i Griendling 2009). Sygnalizacja wewnątrzkomórkowa czynnika martwicy nowotworu $TNF-\alpha$ również zachodzi za pośrednictwem ROS wytwarzanych przez oksydazy NADPH. Indukcja apoptozy przez $TNF-\alpha$ wymaga aktywacji kinazy regulującej sygnał apoptotyczny, ASK1, poprzez utlenienie określonych grup tiolowych białka. Aktywna ASK1 prowadzi następnie do aktywacji MAP kinaz (ang. Mitogen- Activated Protein kinases), JNK (ang. c-JUN N-terminal Kinase) i p38, i ostatecznie do indukcji apoptozy (Finkel 2011).

Trzecim źródłem ROS w komórkach są monooksygenazy cytochromu P450 zlokalizowane głównie w zewnętrznej błonie siateczki śródplazmatycznej. Enzymy te uczestniczą w przemianach naturalnych metabolitów (cholesterolu, hormonów steroidowych i witamin) oraz są odpowiedzialne za utlenianie substancji obcych (ksenobiotyków) w tym leków, także niektórych leków przeciwnowotworowych (Kivisto i współaut. 1995; Zangar i współaut. 2004). Monooksygenazy cytochromu P450 cechuje wysoka częstość rozprzęgania reakcji, czego efektem jest wytwarzanie ROS (O_2^- i H_2O_2), jako produktów ubocznych zamiast wprowadzenia atomu tlenu do właściwych substratów. Wysoka zawartość P450 występuje w hepatocytach, które odpowiedzialne są za detoksykację organizmu. Zawartość mono-

oksygenazy w komórkach innych tkanek jest porównywalna do ilości przekaźników elektronów w łańcuchu oddechowym. Dlatego kompleksy monooksygenazy cytochromu P450 uważa się za istotne źródło ROS w komórkach (Zangar i współaut. 2004).

Oprócz łańcucha oddechowego, NOX i cytochromu P450, w komórkach istnieją także dodatkowe źródła ROS: cytoplazmatyczna oksydaza ksantynowa, mitochondrialne oksydazy monoamin i enzymy metabolizmu kwasu arachidonowego: lipooksygenazy i cyklooksygenazy (Canton i współaut. 2021; Finkel 2011). Peroksyzomy, organelle wyspecjalizowane w metabolizmie lipidów, są źródłem H₂O₂ powstającego w wyniku degradacji przez β-oksydację kwasów tłuszczowych o bardzo długich i rozgałęzionych łańcuchach (Cipolla i Lodhi 2017). Ponadto, w komórkach wyrażających syntazy tlenu azotu (komórkach śródbłonna naczyń, makrofagach, neutrofilach i neuronach), wytwarzany jest tlenek azotu (NO[•]). W wyniku reakcji NO[•] z O₂⁻ powstaje jon nadtlenoazotynowy (OONO[•]), który wykazuje silne właściwości utleniające. NO[•] i OONO[•] określane są jako RNS (ang. Reactive Nitrogen Species), (Bergamini i współaut. 2004). Pomędzy poszczególnymi systemami wytwarzania ROS w komórkach mogą występować także inne krzyżowe oddziaływania, które powodują intensyfikację stresu oksydacyjnego. Metabolity kwasu arachidonowego mogą aktywować wytwarzanie ROS przez oksydazy NADPH, kwas arachidonowy może być także utleniany przez monooksygenazy cytochromu P450 (Capdevila i współaut. 2016; Cho i współaut. 2011; Wang i współaut. 2021).

Uszkodzenia DNA wywołane przez ROS to między innymi utlenienie zasad, głównie guanozyny do 8-oksyo-2'-deoksyguanozyny (ang. 8-oxo-dG), akumulacja miejsc apurynowych/apirymidynowych, oraz pęknięcia pojedynczej i podwójnej nici. Znacznikiem pęknięć podwójnej nici jest ufosforylowana forma histonu H2A.X, określana jako γ-H2A.X, oraz 53BP1 (ang. p53 Binding Protein 1), białko zaangażowane w naprawę pęknięć podwójnej nici DNA. Obydwa czynniki uczestniczą w indukcji szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA (Di Micco i współaut. 2006). Uszkodzenia DNA są podłożem stresu genotoksycznego; nienaprawione powodują mutacje, aberracje chromosomowe, niestabilność genomową, i w konsekwencji – śmierć komórki lub zahamowanie wzrostu typu starzenia (Poetsch 2020). Oksydacyjne uszkodzenia białek wynikają z modyfikacji potranslacyjnych wprowadzanych przez ROS/RNS: nieodwracalnych, zwłaszcza karbonylacji i nitrowania tyrozyny do 3-nitrotyrozyny, oraz odwracalnych, polegających na utlenianiu grup tiolowych cysteiny

do kwasu sulfenowego. Dalsze stadia utleniania cysteiny do kwasów sulfinowego i sulfonowego stanowią jednak również modyfikacje nieodwracalne. Akumulacja uszkodzonych, źle złożonych niefunkcjonalnych białek oraz agregatów białkowych prowadzi do stresu proteotoksycznego (Cai i Yan 2013). Oksydacyjne uszkodzenia lipidów polegają na peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i prowadzą do powstania wielu produktów końcowych, spośród których 4-hydroksynonenal i dialdehyd malonowy stanowią główne znaczniki tego procesu. Peroksydacja kwasów tłuszczowych prowadzi do zmian w strukturze i płynności błon, co z kolei wpływa na aktywność enzymów błonowych i transport przez błony (Spickett 2020). Jednocześnie aldehydy powstałe w wyniku peroksydacji kwasów tłuszczowych mogą oddziaływać z DNA dodatkowo zwiększając poziom uszkodzeń DNA w warunkach stresu oksydacyjnego (Gentile i współaut. 2017).

STRES OKSYDACYJNY W STARZENIU REPLIKACYJNYM

Starzenie komórkowe następuje w odpowiedzi na uszkodzenia DNA (d'Adda di Fagagna 2008; Fumagalli i współaut. 2014). W przypadku starzenia replikacyjnego sygnałem do indukcji odpowiedzi na uszkodzenia DNA są skrócone telomery, które wraz z osiągnięciem limitu długości zostają pozbawione ochrony w postaci białek normalnie związanych z telomerami (ang. Telomeric Repeat-Binding Factor 2, TRF2 i Protection Of Telomeres 1, POT1). Do odkrytych telomerów, jak i innych miejsc uszkodzeń DNA znajdujących się w pobliżu telomerów, wiążą się kinazy ATM/ATR (ang. Ataxia Telangiectasia-Mutated protein kinase/ATM- and Rad3-related protein kinase), które aktywują szlak sygnalizacyjny uszkodzeń DNA prowadzący do aktywacji białka supresorowego p53 (czyli czynnika przeciwdziałającego transformacji nowotworowej), i indukcji ekspresji inhibitora cyklu komórkowego p21^{Waf1/Cip1}. Jednocześnie, w miejscach uszkodzeń DNA powstają kompleksy naprawcze, w skład których wchodzi między innymi białko γ-H2A.X i 53BP1 (d'Adda di Fagagna 2008). Inicjacji starzenia replikacyjnego towarzyszy zwiększenie biogenezy mitochondriów oraz ich dysfunkcja przejawiająca się zwiększoną produkcją ROS i rozprężeniem oksydacyjnej fosforylacji (Passos i współaut. 2007; 2010). Długotrwałe utrzymywanie stanu nieodwracalnego starzenia replikacyjnego komórek jest związane z ciągłym wytwarzaniem ROS przez dysfunkcyjne mitochondria i ciągłej generacji uszkodzeń DNA, czego skutkiem jest ciągła aktywacja szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA. W zaproponowanym modelu sprzę-

żenia zwrotnego pomiędzy aktywacją p21^{Waf1/Cip1} i produkcją ROS przez mitochondria uczestniczą także inne czynniki: indukowane przez uszkodzenia DNA białko GADD45 (ang. Growth Arrest and DNA Damage- inducible protein 45), kinazy p38 MAP i transformujący czynnik wzrostu TGF- β (ang. Transforming Growth Factor β), (Passos i współaut. 2010). ROS wytwarzane przez dysfunkcyjne mitochondria są więc czynnikiem decydującym o utrzymaniu stanu starzenia replikacyjnego. Dokładny mechanizm indukcji dysfunkcji mitochondriów podczas starzenia replikacyjnego pozostaje jednak niewyjaśniony (Deschenes-Simard i współaut. 2014; Vasileiou i współaut. 2019). Nie można wykluczyć roli peroksyzomów w tym procesie. Podczas starzenia replikacyjnego zwiększa się bowiem ilość dysfunkcyjnych peroksyzomów, które wytwarzają zwiększone ilości ROS na skutek spadku poziomu peroksyzomalnej katalazy- enzymu rozkładającego H₂O₂ do wody i tlenu. Ponieważ ROS wytwarzane przez peroksyzomy prowadzą do dysfunkcji mitochondriów postawiono hipotezę, że dysfunkcja peroksyzomów w starzeniu replikacyjnym może być czynnikiem sprawczym dysfunkcji mitochondriów (Cipolla i Lodhi 2017).

Starzenie komórkowe leży u podstaw starzenia się organizmu (Chaib i współaut. 2022). Miażdżycza należy do chorób związanych z wiekiem. Zmiany naczyniowe skorelowane są ze starzeniem komórek mięśniówki gładkiej naczyń VSMC (ang. Vascular Smooth Muscle Cells). W ulegających starzeniu replikacyjnemu komórkach VSMC występuje stres oksydacyjny i uszkodzenia DNA. Oprócz dysfunkcyjnych mitochondriów także izoforma NOX4 oksydazy NADPH i oksydaza ksantynowa są istotnymi źródłami ROS w tych komórkach (Chi i współaut. 2019). W rozwoju miażdżycy, jak i innych chorób układu krążenia, uczestniczą także komórki śródbłonna naczyń (endotelium). W ulegających starzeniu replikacyjnemu komórkach endotelialnych występuje stres oksydacyjny i uszkodzenia DNA, a źródłem ROS, oprócz mitochondriów, jest także syntaza tlenu azotu eNOS (ang. endothelial Nitric Oxide Synthase), (El Assar i współaut. 2013; Foreman i Tang 2003). W warunkach homeostazy organizmu NO[•] wytwarzany przez eNOS wywołuje relaksację ścian naczyń krwionośnych, stymuluje angiogenezę i działa przeciwzakrzepowo. W warunkach stresu oksydacyjnego w starzejących się komórkach śródbłonna NO[•] reaguje z O₂^{-•} tworząc OONO[•] o silnych właściwościach utleniających. Jednocześnie, na skutek deficytu kofaktora eNOS, tetrahydrobiopteryny, następuje rozprężenie aktywności enzymu, czego efektem jest wytwarzanie O₂^{-•} zamiast NO[•] (Han i Kim 2023). eNOS jest zatem

dotodkowym źródłem ROS podczas starzenia replikacyjnego komórek śródbłonna naczyń.

STRES OKSYDACYJNY W STARZENIU INDUKOWANYM PRZEZ ONKOGENY

Starzenie komórkowe może być wywołane przez stres proliferacyjny. Nadmierna stymulacja podziałów jest równoważona przez ekspresję inhibitorów CDK, co prowadzi do zahamowania wzrostu typu starzenia. Stan starzenia cechuje wysoka aktywność metaboliczna (Childs i współaut. 2014). Hiperproliferaacja prowadząca do indukcji OIS jest efektem aktywacji onkogenów, głównie małych białek G nadrodziny RAS i kinazy B-RAF, które normalnie uczestniczą w przekazywaniu sygnału od receptorów czynników wzrostu o aktywności kinaz tyrozynowych (Collado i Serrano 2010; Schlessinger 2000). Podczas OIS występuje zwiększony poziom aktywnych replikonów (jednostek replikacji) i zmiany w strukturze widełek replikacyjnych, co stanowi przejawy stresu replikacyjnego (Di Micco i współaut. 2006). Jednocześnie, zwiększony poziom histonu γ -H2A.X oraz skupisk białka 53BP1 w jądrach komórek będących w stanie OIS, świadczą o indukcji szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA (Di Micco i współaut. 2006; Moiseeva i współaut. 2009; Weyemi i współaut. 2012). OIS stanowi zatem barierę dla transformacji nowotworowej komórek. Zaburzenia szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA w komórkach transformowanych prowadzą do rozwoju nowotworu (Di Micco i współaut. 2006; Schmitt 2007). Podczas OIS następuje także indukcja stresu oksydacyjnego. Źródłem ROS są dysfunkcyjne mitochondria. Ekspresja onkogenu *Ras* związana jest ze wzrostem masy mitochondriów, ilości mitochondrialnego DNA i produkcji ROS, po czym dochodzi do dysfunkcji mitochondriów przejawiającej się spadkiem poziomu ATP i aktywacją kinazy białkowej aktywowanej przez AMP, AMPK, która odpowiada za indukcję procesów katabolicznych w komórce, w tym autofagii i oksydacji kwasów tłuszczowych (Mihaylova i Shaw 2011). Dysfunkcja mitochondriów jest szlakiem efektorowym OIS umożliwiającym długotrwałe utrzymywanie stanu starzenia komórkowego. Molekularny mechanizm indukcji dysfunkcji mitochondriów w OIS pozostaje nieznany (Deschenes-Simard i współaut. 2014; Moiseeva i współaut. 2009; Vasileiou i współaut. 2019). Drugim źródłem ROS podczas OIS jest oksydaza NADPH. NOX4 pełni kluczową rolę sygnalizacyjną w przejściowej stymulacji proliferacji, a następnie, poprzez uszkodzenia DNA wywołane przez ROS zapewnia aktywację szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA, warunkującego utrzymywanie stanu

OIS (Ogrunc i współaut. 2014; Weyemi i współaut. 2012). W OIS przejawiają się zatem dwie funkcje ROS: mitogeniczna prowadząca do hiperprolifracji oraz cytostaticzna związana z aktywacją odpowiedzi na oksydacyjne uszkodzenia DNA (Reczek i Chandel 2017).

STRES OKSYDACYJNY W STARZENIU PRZYSPIESZONYM

Stres oksydacyjny stanowi główny mechanizm indukcji SIPS w komórkach prawidłowych. H₂O₂ i inne wodoronadtlenki, oraz wysokie stężenie tlenu (hiperoksja) i promieniowanie UV, wywołują SIPS poprzez generowanie ROS i oksydacyjne uszkodzenia DNA (de Jager i współaut. 2017; Toussaint i współaut. 2000). Ponieważ uszkodzenia DNA w SIPS występują w losowych miejscach genomu, to początkowo uważano, że SIPS zachodzi niezależnie od telomerów. Stwierdzono jednak, że telomery mogą także warunkować SIPS nie tyle z powodu skracania się, co ze względu na to, że uszkodzenia DNA w obrębie telomerów nie ulegają naprawie, przez co zapewniają stabilizację stanu SIPS. Uważa się, że telomery, akumulując oksydacyjne uszkodzenia DNA w postaci pęknięć pojedynczych nici DNA, pełnią rolę komórkowego czujnika ROS. Stres oksydacyjny może zatem prowadzić do SIPS poprzez indukcję uszkodzeń DNA zwłaszcza w obrębie telomerów (de Magalhaes i Passos 2018; Toussaint i współaut. 2000). Podobnie jak w przypadku starzenia replikacyjnego, ciągle wytwarzanie ROS przez dysfunkcyjne mitochondria prowadzi do uszkodzeń DNA i ciągłej aktywacji szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA, co stanowi podstawę utrzymywania stanu SIPS (Passos i współaut. 2010). SIPS może zachodzić w komórkach różnego typu: fibroblastach, melanocytach, keratynocytach, limfocytach, i komórkach nabłonkowych (Toussaint i współaut. 2000). Przyspieszone starzenie indukowane w komórkach mięśniówki gładkiej ścian naczyń przez angiotensynę II (hormon wywołujący zwężenie naczyń i podniesienie ciśnienia tętniczego krwi), przyczynia się do rozwoju miażdżycy (Kunieda i współaut. 2006). W komórkach mięśniówki gładkiej naczyń angiotensyna II indukuje wytwarzanie ROS przez oksydazę NADPH, oksydazę NADH (mało poznany enzym błony plazmatycznej) i cytochrom P450 (Fleming 2001; Griendling i współaut. 1994). Ponadto, w komórkach śródbłonna naczyń angiotensyna II indukuje także wytwarzanie ROS przez oksydazę ksantynową i eNOS w wyniku rozprężenia aktywności tego enzymu (Cai i Harrison 2002). Stres oksydacyjny warunkuje zatem przyspieszone starzenie komórek naczyń, które z kolei

jest przyczyną związanej z wiekiem dysfunkcji układu krążenia.

TIS jest formą przyspieszonego starzenia indukowanego przez radio- i chemio- terapię w komórkach nowotworowych (Ewald i współaut. 2010). Jest to powszechnie występujący rodzaj odpowiedzi na terapię przeciwnowotworową, wywołwany przez leki różnych klas: inhibitory topoizomerazy, do których należy powszechnie badana w kontekście starzenia doksorubicyna, związki alkilujące, antymetabolity, inhibitory antymikrotubulinowe, analogi hormonów, inhibitory kinaz tyrozynowych i CDK4/6, inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy), leki o charakterze przeciwciał monoklonalnych i inhibitor proteasomu bortezomib (Saleh i współaut. 2020). Leki wywołujące TIS charakteryzują się różnym mechanizmem działania. Wykazano, że TIS indukowanemu przez doksorubicynę towarzyszy zwiększony poziom ROS skorelowany ze wzrostem masy mitochondriów o obniżonym potencjale elektrochemicznym (Mosieniak i współaut. 2015). Z kolei etopozyd, inny lek będący również inhibitorem topoizomerazy, wywołuje TIS, któremu towarzyszy zwiększony poziom ROS i peroksydacja lipidów (Flor i współaut. 2016). Cisplatyna, lek należący do klasy związków alkilujących, który poprzez tworzenie krzyżowych wiązań pomiędzy niemi DNA uniemożliwia replikację, wywołuje zwiększenie produkcji ROS (Qu i współaut. 2014). Antymetabolity to leki będące analogami naturalnych metabolitów, których działanie polega na zahamowaniu syntezy DNA/RNA poprzez zahamowanie aktywności enzymów uczestniczących w syntezie nukleotydów. Hydroksymocznik- inhibitor reduktazy rybonukleotydów, którego działanie prowadzi do wyczerpania puli deoksyrybonukleotydów w komórce, indukuje TIS. Wzrost poziomu ROS w przypadku działania hydroksymocznika następuje na skutek zmniejszonej ekspresji enzymów obrony antyoksydacyjnej (Kapor i współaut. 2021). Metotreksat, analog kwasu foliowego będący silnym inhibitorem reduktazy dihydrofolianowej- enzymu uczestniczącego w syntezie nukleotydów purynowych i tymidylanu, wywołuje zwiększenie poziomu ROS, uszkodzenia DNA i TIS (Dabrowska i współaut. 2021). Różnorodność systemów TIS wynika z różnorodności typów nowotworów i leków przeciwnowotworowych. Badanie mechanizmów indukcji stresu oksydacyjnego w różnych systemach TIS może pozwolić na precyzyjne określenie źródeł ROS w tym typie starzenia komórkowego. Starzenie komórek nowotworowych w odpowiedzi na terapię stanowi przede wszystkim formę uśpienia nowotworu, w której istotną rolę odgrywa autofagia (głównie zależna od lizosomów makroautofagia), jako proces kataboliczny umożli-

wiający recykling makrocząsteczek w komórkach (Gewirtz 2009). Nowotwory powstałe po wyjściu komórek ze stanu TIS cechuje wysoka aktywność proliferacyjna i oporność na dalszą terapię. TIS stanowi zatem barierę dla skuteczności terapii przeciwnowotworowych. Strategie skierowane na eliminację komórek będących w stanie TIS uważane są za przeszłość w terapii nowotworów (Bousset i Gil 2022).

STRES PROTEOTOKSYCZNY W STARZENIU KOMÓRKOWYM

Stres genotoksyczny, którego następstwem jest aktywacja szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA jest podstawą indukcji wszystkich (z wyjątkiem programowanego), typów starzenia komórkowego. Stres genotoksyczny obejmuje, oprócz oksydacyjnych uszkodzeń DNA i pęknięć nici DNA, również obecność w cytoplazmie fragmentów chromatyny uwolnionych z jądra podczas degradacji błony jądrowej (Lee i Schmitt 2019). Starzeniu towarzyszy również stres proteotoksyczny spowodowany akumulacją uszkodzonych i źle złożonych białek w warunkach stresu oksydacyjnego. Ponadto, źródłem stresu proteotoksycznego jest także intensywne synteza składników SASP w ilości przekraczającej zdolności komórki do ich właściwego złożenia. Czynnikiem wpływającym na ograniczenie tych zdolności może być spadek ekspresji białek szoku cieplnego, HSP (ang. Heat-Shock Protein), a co za tym idzie, zahamowanie w komórkach starych autofagii zależnej od białek czaperonowych (ale nie makroautofagii). Degradacja uszkodzonych białek zachodzi po ich ubikwitylacji w proteasomach (ang. Ubiquitin-Proteasome Pathway, UPP), (Deschenes-Simard i współaut. 2014). Proteosomalna degradacja białek prowadzi do powstania peptydów, które następnie mogą być prezentowane jako antygeny w kompleksach z antygenami zgodności tkankowej MHC (ang. Major Histocompatibility Complex). Potencjalna możliwość prezentacji antygenów przez komórki będące w stanie starzenia stała się podstawą do twierdzenia, że starzenie komórkowe jest formą nabycia właściwości immunogennych, które umożliwiają eliminację starych komórek przez układ immunologiczny (Burton i Faragher 2015). Hipoteza o takiej funkcjonalności komórek starych wymaga doświadczalnej weryfikacji. Degradacja określonych białek w komórkach starych, w tym białek uczestniczących w procesach naprawy DNA, stanowić może ogniwo łączące stres proteotoksyczny ze stresem genotoksycznym, czyli ostatecznie z indukcją odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Miejscem składania, modyfikacji i oligome-

ryzacji białek, w tym także białek sekrecyjnych, jest siateczka śródplazmatyczna. Środowisko siateczki jest silnie oksydacyjne ze względu na H_2O_2 powstający jako produkt uboczny w reakcji tworzenia mostków dwusiarczkowych pomiędzy grupami tiolowymi białek (Cao i Kaufman 2014). W komórkach starych siateczka śródplazmatyczna jest rozbudowana ze względu na składanie komponentów SASP. Gromadzenie się uszkodzonych białek w siateczce śródplazmatycznej wywołuje stres i indukuje szlak odpowiedzi na uszkodzone białka (ang. Unfolded Protein Response, UPR), (Pluquet i współaut. 2015). Z kolei odpowiedź UPR skorelowana jest z indukcją wytwarzania ROS głównie w siateczce śródplazmatycznej, ale także w mitochondriach (Cao i Kaufman 2014). Odpowiedź UPR aktywowana jest w fibroblastach ulegających starzeniu replikacyjnemu, w melanocytach i keratynocytach ulegających OIS zależnemu od H-ras, oraz w komórkach nowotworowych ulegających TIS (Abadi i Pluquet 2020). Można zatem sądzić, że także ROS wytwarzane przez siateczkę śródplazmatyczną podczas odpowiedzi UPR mogą przyczyniać się do utrzymywania stresu oksydacyjnego w komórkach starych.

PODSUMOWANIE

Stres oksydacyjny jest głównym mechanizmem indukcji i utrzymywania stanu starzenia komórkowego, które z kolei stanowi podstawę starzenia się organizmu. Mitochondrialna wolnorodnikowa teoria starzenia (ang. Mitochondrial Free Radical Theory of Ageing, MFRTA) zakłada, że losowe oksydacyjne uszkodzenia mitochondrialnego DNA wywołują dysfunkcję mitochondriów przejawiającą się zwiększonym wytwarzaniem ROS, co z kolei powoduje uszkodzenia komórek prowadzące do rozwoju schorzeń związanych z wiekiem (Pole i współaut. 2016). Badania zależności długości życia modelowych organizmów, *Caenorhabditis elegans* i myszy, od odpowiednio, restrykcji kalorycznej i poziomu enzymów obrony antyoksydacyjnej, wydawały się nie potwierdzać mitochondrialnej teorii starzenia (Vina i współaut. 2013). Jednakże, wykazanie kluczowej roli mitochondrialnej polimerazy DNA γ w związanej z wiekiem akumulacji mutacji w mitochondrialnym DNA, w dalszym ciągu wskazuje na główną rolę dysfunkcji mitochondriów w starzeniu organizmu (Ziada i współaut. 2020). Na poziomie komórek zaburzona bioenergetyka prowadzi do aktywacji szlaków sygnałowych decydujących o utrzymywaniu stanu starzenia. Wyjaśnienie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy dysfunkcją mitochondriów i starzeniem pozostaje zatem w sferze teorii (Vasileiou i współaut. 2019). Oprócz teorii,

w tym także MFRTA, wskazujących na akumulację losowych uszkodzeń jako przyczynę starzenia, sformułowano także teorie zakładające, że starzenie organizmu jest zaprogramowane i stanowi kontynuację starzenia, które ujawnia się podczas rozwoju zarodkowego w formie starzenia programowanego (Jin 2010). Tak więc, identyfikacja kluczowego czynnika decydującego o starzeniu komórkowym wciąż pozostaje w sferze badań.

LITERATURA

- Abbadi C., Pluquet O., 2020. *Unfolded protein response (UPR) controls major senescence hallmarks*. TIBS 45, 371–374. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.02.005>.
- Bergamini C.M., Gambetti S., Dondi A., Cervellati C., 2004. *Oxygen, reactive oxygen species, and tissue damage*. Curr. Pharm. Des. 10, 1611–1626. <https://doi.org/10.2174/1381612043384664>.
- Beausejour C.M., Krtolica A., Galimi F., Narita M., Lowe S.W. i współaut., 2003. *Reversal of human cellular senescence: roles of the p53 and p16 pathways*. EMBO J. 22, 4212–4222. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg417>.
- Braig M., Schmitt C.A., 2006. *Oncogene-induced senescence: putting the brakes on tumor development*. Cancer Res. 66, 2881–2884. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4006>.
- Burton D.G.A., Faragher R.G.A., 2015. *Cellular senescence: from growth arrest to immunogenic conversion*. Age 37, 27. <https://doi.org/10.1007/s11357-015-9764-2>.
- Bousset L., Gil J., 2022. *Targeting senescence as an anticancer therapy*. Mol. Oncol. 16, 3855–3880. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13312>.
- Brown D.I., Griendling K.K., 2009. *Nox proteins in signal transduction*. Free Radic. Biol. Med. 47, 1239–1253. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.023>.
- Cai H., Harrison D.G., 2000. *Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. The role of oxidant stress*. Circ. Res. 87, 840–844. <https://doi.org/10.1161/01.res.87.10.840>.
- Cai Z., Yan L.-J., 2013. *Protein oxidative modifications: beneficial roles in disease and health*. J. Biochem. Pharmacol. Res. 1, 15–26. PMID: PMC3646577.
- Calcinotto A., Kohli J., Zagato E., Pellegrini L., Demaria M. i współaut., 2019. *Cellular senescence: aging, cancer, and injury*. Physiol. Rev. 99, 1047–1078. <https://doi.org/10.1152/physrev.00020.2018>.
- Campisi J., d'Adda di Fagagna F., 2007. *Cellular senescence: when bad things happen to good cells*. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 8, 729–740. <https://doi.org/doi:10.1038/nrm2233>.
- Canton M., Sanchez-Rodriguez R., Spera I., Venegas F.C., Favia M., i współaut., 2021. *Reactive oxygen species in macrophages: sources and targets*. Front. Immunol. 12, 734229. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.734229>.
- Cao S.S., Kaufman R.J., 2014. *Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in cell fate decision and human disease*. Antioxid. Redox Signal. 21, 396–413. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.5851>.
- Capdevila J.H., Wang W., Falck J.R., 2016. Wang W., Falck J.R., 2016. *Arachidonic acid monooxygenase: genetic and biochemical approaches to physiological/pathophysiological relevance*. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 120, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2015.05.004>.
- Chaib S., Tchkonja T., Kirkland J.L., 2022. *Cellular senescence and senolytics: the path to the clinic*. Nat. Med. 28, 1556–1568. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01923-y>.
- Chi C., Li D.-J., Jiang Y.-J., Tong J., Fu H., i współaut., 2019. *Vascular smooth muscle cell senescence and age-related diseases: state of the art*. Biochim. Biophys. Acta- Mol. Basis Dis. 1865, 1810–1821. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.08.015>.
- Childs B.G., Baker D.J., Kirkland J.L., Campisi J., van Deursen J.M., 2014. *Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates?* EMBO Rep. 15, 1139–1153. <https://doi.org/10.15252/embr.201439245>.
- Cho K.-J., Seo J.M., Kim J.-H., 2011. *Bioactive lipoxigenase metabolites stimulation of NADPH oxidases and reactive oxygen species*. Mol. Cells 32, 1–5. <https://doi.org/10.1007/s10059-011-1021-7>.
- Collado M., Serrano M., 2010. *Senescence in tumors: evidence from mice and humans*. Nat. Rev. Cancer 10, 51–57. <https://doi.org/10.1038/nrc2772>.
- Cipolla C.M., Lodhi I.J., 2017. *Peroxisomal dysfunction in age-related diseases*. Trends Endocrinol. Metab. 28, 297–308. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.12.003>.
- Dabrowska M., Uram L., Dabrowski M., Sikora E., 2021. *Antigen presentation capability and AP-1 activation accompany methotrexate-induced colon cancer cell senescence in the context of aberrant β -catenin signaling*. Mech. Ageing Dev. 197, 111517. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111517>.
- d'Adda di Fagagna F., 2008. *Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response*. Nat. Rev. Cancer 8, 512–522. <https://doi.org/10.1038/nrc2440>.
- Davaapil H., Brockes J.P., Yun M.H., 2017. *Conserved and novel functions of programmed cellular senescence during vertebrate development*.

- Development 144, 106–114. <https://doi.org/10.1242/dev.138222>.
- De Jager T.L., Cockrell A.E., Du Plessis S.S., 2017. *Ultraviolet light induced generation of reactive oxygen species*. Adv. Exp. Med. Biol. 996, 15–23. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5_2.
- de Magalhaes J.P., Passos J.F., 2018. *Stress, cell senescence and organismal ageing*. Mech. Ageing Dev. 170, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.07.001>.
- Deschenes-Simard X., Lessard F., Gaumont-Leclerc M.-F., Bardessy N., Febreyre G., 2014. *Cellular senescence and protein degradation*. Cell Cycle 13, 1840–1858. <https://doi.org/10.4161/cc.29335>.
- Diebold L., Chandel N.S., 2016. *Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells*. Free Radic. Biol. Med. 100, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.198>.
- Di Micco M., Fumagalli M., Cicalese A., Piccinin S., Gasparini P., i współaut., 2006. *Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication*. Nature 444, 638–642. <https://doi.org/10.1038/nature05327>.
- Droge W., 2002. *Free radicals in the physiological control of cell function*. Physiol. Rev. 82, 47–95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>.
- El Assar M., Angulo J., Rodriguez-Manas L., 2013. *Oxidative stress and vascular inflammation in aging*. Free Radic Biol. Med. 65, 380–401. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.003>.
- Ewald J.A., Desotelle J.A., Wilding G., Jarrard D.F., 2010. *Therapy-induced senescence in cancer*. J. Natl. Cancer Inst. 102, 1536–1546. <https://doi.org/10.1093/jnci/djq364>.
- Finkel T., 2011. *Signal transduction by reactive oxygen species*. J. Cell Biol. 194, 7–15. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102095>.
- Fleming I., 2001. *Cytochrome P450 enzymes in vascular homeostasis*. Circ. Res. 89, 753–762. <https://doi.org/10.1161/hh2101.099268>.
- Flor A.C., Doshi A.P., Kron S.J., 2016. *Modulation of therapy-induced senescence by reactive lipid aldehydes*. Cell Death Disc. 2, 16045. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2016.45>.
- Foreman K.E., Tang J., 2003. *Molecular mechanisms of replicative senescence in endothelial cells*. Exp. Gerontol. 38, 1251–1257. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2003.09.005>.
- Fumagalli M., Rossiello F., Mondello C., d'Adda di Fagagna F., 2014. *Stable cellular senescence is associated with persistent DDR activation*. PLoS One 9, e110969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110969>.
- Gentile F., Arcaro A., Pizzimenti S., Daga M., Ce-trangolo G.P. i współaut., 2017. *DNA damage by lipid peroxidation products: implications in cancer, inflammation and autoimmunity*. AIMS Genet. 4, 103–137. <https://doi.org/10.3934/genet.2017.2.103>.
- Gewirtz D.A., 2009. *Autophagy, senescence and tumor dormancy in cancer therapy*. Autophagy 5, 1232–1234. <https://doi.org/10.4161/auto.5.8.9896>.
- Gorgoulis V., Adams P.D., Alimonti A., Bennett D.C., Bischof O. i współaut., 2019. *Cellular senescence: defining a path forward*. Cell 179, 813–827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.005>.
- Griendling K.K., Minieri C.A., Ollerenshaw J.D., Alexander R.W., 1994. *Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells*. Cir. Res. 74, 1141–1148. <https://doi.org/10.1161/01.res.74.6.1141>.
- Han Y., Kim S.Y., 2023. *Endothelial senescence in vascular diseases: current understanding and future opportunities in senotherapeutics*. Exp. Mol. Med. 55, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00906-w>.
- Hernandez-Segura A., Nehme J., Demaria M., 2018. *Hallmarks of cellular senescence*. Trends Cell Biol. 28, 436–453. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.001>.
- Herranz N., Gil J., 2018. *Mechanisms and functions of cellular senescence*. J. Clin. Invest. 128, 1238–1246. <https://doi.org/10.1172/JCI95148>.
- Ito T., Igaki T., 2016. *Dissecting cellular senescence and SASP in Drosophila*. Inflamm. Regen. 36, 25. <https://doi.org/10.1186/s41232-016-0031-4>.
- Jin K., 2010. *Modern biological theories of aging*. Aging Dis. 1, 72074. PMID: 21132086.
- Kapor S., Cokic V., Santibanez J.F., 2021. *Mechanisms of hydroxyurea-induced cellular senescence: an oxidative stress connection?* Oxid. Med. Cell Longev. 2021, 7753857. <https://doi.org/10.1155/2021/7753857>.
- Kivisto K.T., Kroemer H.K., Eichelbaum M., 1995. *The role of human cytochrome P450 enzymes in the metabolism of anticancer agents: implications for drug interactions*. Br. J. Clin. Pharmacol. 40, 523–530. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1995.tb05796.x>.
- Kunieda T., Minamino T., Nishi J.-i., Tateno K., Oyama T., i współaut., 2006. *Angiotensin II induces premature senescence of vascular smooth muscle cells and accelerates the development of atherosclerosis via a p21-dependent pathway*. Circulation 114, 953–960. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.626606>.
- Langhi Prata L.G.P., Ovsyannikova I.G., Tchkonina T., Kirkland J.L., 2018. *Senescent cell clearance by the immune system: emerging therapeutic opportunities*. Semin. Immunol. 40, 101275. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.04.003>.

- Lee S., Schmitt C.A., 2019. *The dynamic nature of senescence in cancer*. Nat. Cell Biol. 21, 94–101. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0249-2>.
- Mihaylova M.M., Shaw R.J., 2011. *The AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway coordinates cell growth, autophagy, and metabolism*. Nat. Cell Biol. 13, 1016–1023. <https://doi.org/10.1038/ncb2329>.
- Milanovic M., Fan D.N.Y., Belenki D., Dabritz J.H.M., Zhao Z. i wspóla., 2018. *Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness*. Nature 553, 96–100. <https://doi.org/10.1038/nature25167>.
- Moiseeva O., Bourdeau V., Roux A., Deschenes-Simard X., Febreyre G., 2009. *Mitochondrial dysfunction contributes to oncogene-induced senescence*. Mol. Cell. Biol. 26, 4495–4507. <https://doi.org/10.1128/MCB.01868-08>.
- Mosieniak G., Sliwinska M., Alster O., Strzeszewska A., Sunderland P., i wspóla., 2015. *Polyploidy formation in doxorubicin-treated cancer cells can favor escape from senescence*. Neoplasia 17, 882–893. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2015.11.008>.
- Munoz-Espin D., Canamero M., Maraver A., Gomez-Lopez G., Contreras J., i wspóla., 2013. *Programmed cell senescence during mammalian embryonic development*. Cell 155, 1104–1118. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.019>.
- Neves J., Damaria M., Campisi J., Jasper H., 2015. *Of flies, mice, and men: evolutionarily conserved tissue damage responses and aging*. Dev. Cell 32, 9–17. <https://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.028>.
- Ogrunc M., Di Micco R., Liontos M., Bombardelli L., Mione M., i wspóla., 2014. *Oncogene-induced reactive oxygen species fuel hyperproliferation and DNA damage response activation*. Cell Death Differ. 21, 998–1012. <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.16>.
- Ovadya Y., Krizhanovsky V., 2018. *Strategies targeting cellular senescence*. J. Clin. Invest. 128, 1247–1254. <https://doi.org/10.1172/JCI95149>.
- Passos J.F., Nelson G., Wang C., Richter T., Simillion C., i wspóla., 2010. *Feedback between p21 and reactive oxygen production is necessary for cell senescence*. Mol. Syst. Biol. 6, 347. <https://doi.org/10.1038/msb.2010.5>.
- Passos J.F., Saretzki G., Ahmed S., Nelson G., Richter T., i wspóla., 2007. *Mitochondrial dysfunction accounts for the stochastic heterogeneity in telomere-dependent senescence*. PLoS Biol. 5, e110. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050110>.
- Pluquet O., Pourtier A., Abbadie C., 2015. *The unfolded protein response and cellular senescence. A review in the theme: cellular mechanisms of endoplasmic reticulum stress signaling in health and disease*. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 308, C415–C425. <https://doi.org/10.1152/ajp-cell.00334.2014>.
- Poetsch A.R., 2020. *The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis*. Comput. Struct. Biotechnol. J. 18, 207–219. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.12.013>.
- Pole A., Dimri M., Dimri G.P., 2016. *Oxidative stress, cellular senescence and ageing*. AIMS Mol. Sci. 3, 300–324. <https://doi.org/10.3934/molsci.2016.3.300>.
- Qu K., Lin T., Wang Z., Liu S., Chang H., i wspóla., 2014. *Reactive oxygen species generation is essential for cisplatin-induced accelerated senescence in hepatocellular carcinoma*. Front. Med. 8, 227–235. <https://doi.org/10.1007/s11684-014-0327-1>.
- Reczek C.R., Chandel N.S., 2017. *The two faces of reactive oxygen species in cancer*. Annu. Rev. Cancer Biol. 1, 79–98. <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-041916-065808>.
- Saleh T., Bloukh S., Carpenter V.J., Alwohoush E., Bakeer J., i wspóla., 2020. *Therapy-induced senescence: an “old” friend becomes the enemy*. Cancers 12, 822. <https://doi.org/10.3390/cancers12040822>.
- Schlessinger J., 2000. *Cell signaling by receptor tyrosine kinases*. Cell 103, 211–225. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.011>.
- Schmitt C.A., 2007. *Cellular senescence and cancer treatment*. Biochim. Biophys. Acta 1775: 5–20. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.08.005>.
- Schmitt C.A., Wang B., Demaria M., 2022. *Senescence and cancer- role and therapeutic opportunities*. Nat. Rev. Clin. Oncol. 19, 619–639. <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00668-4>.
- Sikora E., Czarnecka-Herok J., Bojko A., Sunderland P., 2022. *Therapy-induced polyploidization and senescence: coincidence or interconnection?* Sem. Cancer Biol. 81, 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.11.015>.
- Spickett C.M., 2020. *Formation of oxidatively modified lipids as the basis for a cellular epilipidome*. Front. Endocrinol. 11, 602771. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.602771>.
- Sun Y., Coppe J.-P., Lam E.W.-F., 2018. *Cellular senescence: the sought or the unwanted?* Trends Mol. Med. 10, 871–885. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.08.002>.
- Toussaint O., Medrano E.E., von Zglinicki T., 2000. *Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes*. Exp. Ge-

- rontol. 35, 927–945. [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(00\)00180-7](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(00)00180-7).
- Vina J., Borrás C., Abdelaziz K.M., Garcia-Valles R., Gomez-Cabrera M.C., 2013. *The free radical theory of aging revisited: the cell signaling disruption theory of aging*. *Antioxid. Redox Signal.* 19, 779–787. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5111>.
- Vasileiou P.V.S., Evangelou K., Vlasis K., Fildisis G., Panayiotidis M.I., i współaut., 2019. *Mitochondrial homeostasis and cellular senescence*. *Cells* 8, 686. <https://doi.org/10.3390/cells8070686>.
- Vermot A., Petit-Hartlein I., Smith S.M.E., Fieschi F., 2021. *NADPH oxidases (NOX): an overview from discovery, molecular mechanisms to physiology and pathology*. *Antioxid.* 10, 890. <https://doi.org/10.3390/antiox10060890>.
- Wang B., Wu L., Chen J., Dong L., Chen C., i współaut. 2021. *Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets*. *Signal Transduct. Target. Ther.* 6, 94. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00443-w>.
- Weyemi U., Lagente-Chevalier O., Boufraquech M., Prenois F., Courtin F., i współaut., 2012. *ROS-generating NADPH oxidase NOX4 is a critical mediator in oncogenic H-Ras-induced DNA damage and subsequent senescence*. *Oncogene* 31, 1117–1129. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.327>.
- Yu Q., Walters H.E., Pasquini G., Pal Singh S., Lachnit M. i współaut., 2023. *Cellular senescence promotes cell expansion during axolotl limb regeneration*. *Dev. Cell*, in press. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2023.09.009>.
- Zangar R.C., Davydov D.R., Verma S., 2004. *Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450*. *Tox. Appl. Pharmacol.* 199, 316–331. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.01.018>.
- Ziada A.S., Smith M.-S.R., Cote H.C.F., 2020. *Updating the free radical theory of aging*. *Front. Cell Dev. Biol.* 8, 575645. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.575645>