

STRES A STÁRNUTÍ

Mikroimunoterapeutický přístup

MUDr. Lourdes Reig
Španělsko

I. Úvod

Stres má značný vliv na funkci imunitního systému. Současné studie naznačují, že stárnutí imunitního systému (neboli imunosenescence) je zčásti spojena s psychologickým stresovými faktory a stresovými hormony. Chronický stres vede k předčasnému stárnutí základních homeostatických systémů, které jsou klíčové pro adaptaci organismu na změny prostředí.¹

U mladých jedinců účinné imunitní odpovědi mohou kompenzovat účinky stresu. Nicméně během procesu stárnutí se funkce imunity zhoršuje, a to jak díky stárnutí rozličných složek imunitního systému, tak vznikem chronického prozánětlivého stavu známého jako „inflammaging“²

Mezi znaky imunosenescence (ať již přirozené, nebo vzniklé ze stresu) patří:

- vysoká hladina oxidativního stresu (reactive oxygen species, ROS);
- přetrvávající chronický zánět;
- krácení telomer a inaktivace telomerázy;
- dlouhodobé působení endogenních glukokortikoidů;
- snížení buněčné imunity.

Mikroimunoterapie **MISEN** je díky svému složení a sekvenční přirozenosti vysoce vhodná pro regulaci a stabilizaci parametrů změněných stresem a procesem stárnutí.

Mechanismus působení:

MISEN mění sekvence pro stimulaci regenerace, proliferace a účinnou funkci různých buněčných linií; tyto sekvence jsou navrženy pro optimalizaci procesů buněčného cyklu a expresi tumor supresorových genů.

Cílem je podpora buněčného omlazení bez zvýšeného rizika neoplastické proliferace.

MISEN tímto směřuje k vyrovnání faktorů vedoucích k buněčnému stárnutí, jako je dlouhodobé působení endogenních glukokortikoidů, a tím ke kompenzaci poruch, které jsou výsledkem procesu senescence.

II. Mechanismus působení přípravku MISEN

1. Složení

- **Specifická nukleová kyselina SNA®-HLA II**
- **Interleukin 2 (IL-2)**
- **Ribonukleová kyselina (RNA)**
- **Specifická nukleová kyselina SNA®-MISEN**
- **Epidermální růstový faktor (EGF, Epidermal growth factor)**
- **Dimethylsulfoxid (DMSO)**
- **Specifická nukleová kyselina SNA®-HLA I**
- **Dehydroepiandrosteron (DHEA)**

Působení v přípravku: Stimulační - Modulační - Inhibiční

2. Popis složek přípravku, cíle a sekvenční kaskáda léčby (viz obr. na str. 21)

2.1 Specifická nukleová kyselina SNA®-HLA II

Senescence je proces, který všeobecně nastává jako reakce na stres a poškození DNA. Tato přirozená reakce na poškození DNA chrání organismus před vznikem onkologických nemocí³, ale vede k velkému zvýšení hladiny ROS a dalších prozánětlivých faktorů, spojených s apoptózou (buněčnou smrtí), která přispívá ke stárnutí tkání. Během senescence lze pozorovat rozvoj zánětlivých procesů, vznikajících následkem sekrece prozánětlivých faktorů souvisejících s vyšším věkem (sekreční fenotypy vázané na senescenci, SASP, senescence-associated secretory phenotype), které tuto nerovnováhu dále zhoršují. Tento stav ústí v přetrvávající chronický zánět různého stupně závažnosti.⁴

Spuštění, šíření a modulace adaptivní imunitní odpovědi závisí na přesné regulaci molekul MHC třídy II. Na rozdíl od molekul MHC třídy I, které jsou široce vytvářeny v různých typech buněk, exprese molekul MHC třídy II, jako je HLA-DR, je za normálních podmínek omezena na buňky prezentující antigen (professional antigen-presenting cells, APCs) včetně makrofágů, dendritických buněk a B-lymfocytů. Naproti tomu v zánětlivých podmínkách⁵, například takových, jaké nastávají během imunosenescence, exprese HLA-DR mohou být spuštěny v buňkách, které původně neprezentovaly antigeny (non-professional APCs), jako jsou epitelální buňky a keratinocyty.^{6,7,8}

„Opakující“ se prezentace antigenů T-lymfocytům neprofesionálními APCs je jedna z příčin, které se projevují jako ztráty efektorové funkce T-buněk; mezi projevy tohoto stavu patří ztráta exprese receptoru CD28 těmito buňkami, zvláště v kontextu chronického zánětu.^{9,10} CD28 je nezbytný kostimulační receptor zodpovědný za aktivaci, proliferaci a přežití T-buněk.¹¹ Kostimulace CD28 je také nutná pro účinnou aktivaci T-lymfocytů CD4+, neboť hraje klíčovou roli v nastavení efektorové funkce v těchto buňkách.¹²

SNA®-HLA II

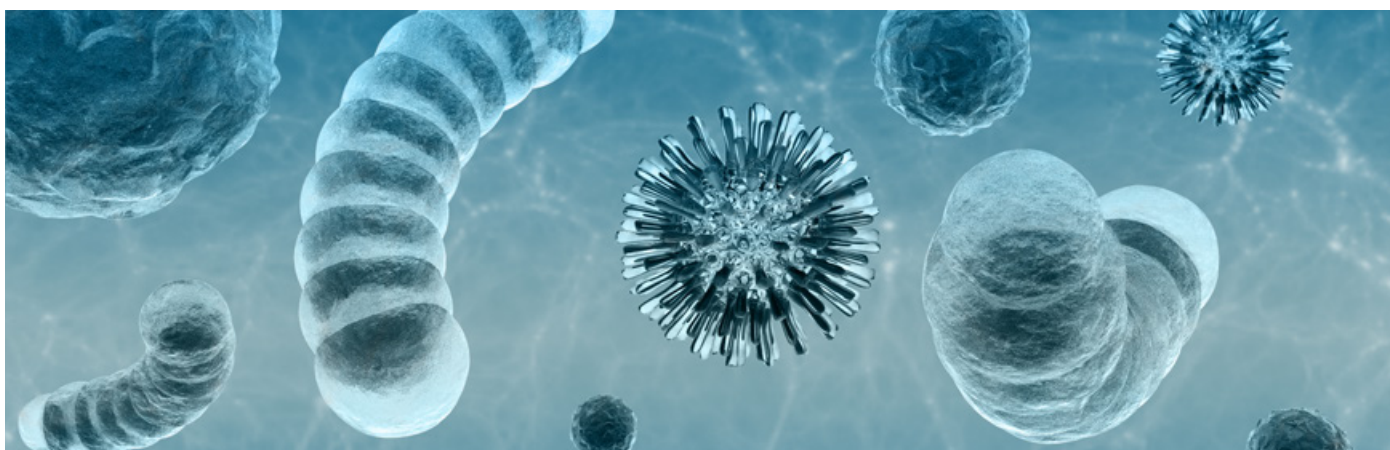
Funkce:

Inhibovat nadměrnou expresi molekul MHC třídy II v neprofesionálních APCs v zánětlivých prostředích za účelem snížení imunitního vyčerpání T lymfocytů CD8+ a jeho důsledků.

2.2 Interleukin 2 (IL-2)

Akumulace T-lymfocytů CD28-, zvláště v rámci subpopulace CD8+, je jedna z nejdůležitějších změn asociovaná se stárnutím. Kostimulace CD28 podporuje imunitní odpovědi T-lymfocytů a rozšíření populace T-buněk stimulací produkce a sekrece IL-2.^{13,14}

Imunosenescence je charakterizována specifickou remodelací imunitního systému, která je způsobena chronickým působením antigenů a oxidativního stresu. Jak imunitní systém stárne, adaptivní imunita se



zhoršuje díky postupnému snižování počtu nediferencovaných („naivních“) T a B-lymfocytů a absolutního počtu T a B-lymfocytů.¹⁵ Důležitou roli v tomto procesu hrají telomery.

Telomery jsou specializované struktury umístěné na konci chromozomů; postupně se zkracují během následných buněčných dělení, a toto zkracování je nepřímo úměrné ke stárnutí.¹⁶ Chrání konce chromozomů před degradací DNA a opravnými procesy. Telomeráza je nezbytná k opravě telomer.¹⁷

Nadbytečné krácení telomer vede k zastavení buněčného cyklu nebo k replikativní senescenci. Imunitní systém je velmi citlivý na krácení telomer, protože jeho účinnost je zcela závislá na buněčné obnově a rozšíření populací T a B-lymfocytů. Imunitní buňky (T-lymfocyty CD4+, T-lymfocyty CD8+, B-lymfocyty, granulocyty, monocyty a NK buňky) jsou jediné buňky schopné navýšení telomerázové aktivity, a tedy upřednostňující prodlužování telomer a omezování jejich degradace v aktivovaných buňkách.¹⁸

Interleukin 2 je nezbytný imunoregulační cytokin, neboť zvyšuje aktivitu telomerázy v imunitních buňkách, jako jsou například lymfocyty a NK buňky.^{19,20}

IL-2

Funkce:

Tlumit důsledky stálého snižování exprese CD28 T lymfocyty a stimulovat telomerázovou aktivitu v imunitních buňkách.

2.3 Ribonukleová kyselina (RNA)

Interferony typu I (IFN- α a IFN- β) jsou skupinou prozánětlivých cytokinů nezbytných pro antivirovou imunitu.²¹ Nicméně jejich nadprodukce je svázána s nejrůznějšími autoimunitními nemocemi.²² IFN- α je uvolňován jako reakce na přítomnost virové RNA během virových infekcí.

Aktivita interferonů typu I v přítomnosti zánětu nízkého stupně nebo v prozánětlivém prostředí, spojená se senescencí², podporuje produkci buněk CD28-. Z tohoto důvodu během stárnutí, při přetrvávajících, reaktivovaných či recidivujících virových infekcích dochází ke kontinuální aktivaci TCR (T-cell antigen receptor, antigenní receptor T buněk) a zvýšení sekrece IFN- α , podporuje hromadění T-buněk se senescentním fenotypem CD8+ CD28-²³

IFN- α inhibuje telomerázovou aktivitu a tím akceleraci diferenciac

T lymfocytů CD8+.²³ Kromě tohoto působení na T-lymfocyty²⁴ tento cytokin také inhibuje rozličnými mechanismy telomerázovou aktivitu v buňkách dalších linií, jako jsou hepatopoietické buňky.^{25,26}

Stimulace Toll-like receptorů (TLR, receptor podobný genu Toll) a jejich signálních cest spouští sekreci interferonů typu I. Receptory TLR7, TLR8 a TLR9 v plazmacytoidních dendritických buňkách (pDCs, plasmacytoid dendritic cells) spouští produkci IFN- α v reakci na viry a navázání jejich ligandů.^{27,28,29,30}

Syntetické a virové jednovláknové molekuly RNA jsou ligandy receptorů TLR7 a TLR8.^{31,32,33}

RNA

Funkce:

Modulovat sekreci interferonů typu I a jejich negativních účinků na expresi CD28 a telomerázovou aktivitu, bez ztráty obranných kapacit poskytovanými těmito molekulami.

2.4 Specifická nukleová kyselina (specific nucleic acid) SNA[®]-MISEN

U zvířat jejich geny, prostředí a nahodilé faktory ovlivňují délku života.³⁴ Veškeré genetické mutace ovlivňující endokrinní signalizační dráhy, stresové odpovědi, metabolismus a délku telomer mohou ovlivňovat délku života organismů.³⁵

Různé faktory regulující expresi genů mohou ovlivnit proces stárnutí pomocí modulace poškození tkání nebo stárnutí buněk.³⁶

SNA[®]-MISEN

Funkce:

Inhibovat geny s expresemi charakteristickými pro stres nebo stárnutí.

2.5 Epidermální růstový faktor (EGF, epidermal growth factor)

Buněčná senescence je bezpečnostní odpověď, která chrání proti nádorové transformaci.³⁷ Senescence buňky nastává při „kritickém“ zkrá-

cení telomer díky replikačním mechanismům DNA. Postupné zkrácení telomer za nepřítomnosti telomerázy nemá žádný vliv na buněčný cyklus. Naproti tomu „kritické“ zkrácení telomer hraje klíčovou roli v senescenci.³⁸ Zkrácení telomer je jedním ze základních mechanismů stárnutí a limitace délky života.

Telomeráza je vysoce regulovaný enzym: jeho aktivita je blízce asociována s buněčnou proliferací. Pokud nedochází ke zkrácení telomer, jako je tomu například v nádorových buňkách, ve kterých je telomeráza aktivní, je stárnutí zpomaleno a transformované buňky neprochází senescencí.³⁹

Epidermální růstový faktor (EGF) aktivuje telomerázu přímou aktivací telomerázové reverzní transkriptázy (TERT, telomerase reverse transcriptase).^{40,41}

Během senescence byly pozorovány nízké hladiny EGF. Kromě aktivování telomerázy stimuluje EGF neurogenezi⁴² a hraje důležitou úlohu v hojení ran a regeneraci různých tkání, například tkání kůže, rohovky a gastrointestinálního traktu.⁴³

Souhrnem je možno říci, že aktivace receptoru EGF vede ke zvýšení maximální délky života, zatímco snížení aktivity na dráze EGF vede k zrychlenému stárnutí⁴⁴ a degeneraci.

EGF

Funkce:

Modulovat snížení telomerázové aktivity, předejít tak kritickému zkrácování telomer a tím podpořit omlazení.

2.6 Dimethylsulfoxid (DMSO)

Expres TERT⁴⁶ vede k aktivitě telomer a tím i k prodloužení života běžných lidských buněk pomocí snížení jejich senescence.^{47,48} Jak již bylo vysvětleno výše, telomeráza může zvrátit degeneraci tkání vyvolanou stárnutím v různých orgánech, včetně nervového systému.⁴⁹

Nicméně nesmí být zapomenuto, že dysfunkce telomer a telomerázové aktivity jsou dávány do souvislosti s onkogenezi.⁵⁰ Na jedné straně postupné zkrácování telomer omezuje životaschopnost buněk upřednostňováním senescence⁵¹, ale na druhé straně genomická nestabilita spuštěná dysfunkcí telomer je svázána s vysokým rizikem mutace upřednostňující onkogenezi.⁵² Podobně telomerázová aktivita zpomaluje buněčné stárnutí upřednostněním regenerace tkání, ale též přispívá k imortalizaci transformovaných buněk.^{53,54}

Takže aby byla intervence zaměřená proti stárnutí účinná, je nezbytné nutné dosažení rovnováhy mezi těmito dvěma prvky, které jsou vztažené k věku: stárnutím a onkogenezi. Různé studie upozornily na terapeutickou hodnotu kombinace zvýšené exprese TERT a tumor supresorových genů, zvláště p53 a p16 ke stimulaci anti-aging aktivity a zároveň k potlačení onkogeneze.^{55,56}

Tumor supresorový gen p53, který je označován jako „strážce genomu“⁴⁵ kóduje transkripční faktor, zapojený do kontroly buněčného cyklu, opravy DNA, apoptózy a odpovědi buňky na stres. Může spustit zablokování růstu buňky pomocí přímé aktivace inhibitoru buněčného cyklu p21 (inhibitor cyklin-dependentní kinázy, CDK).⁵⁸ Převaha mutací tumor supresorového genu p53 u většiny lidských tumorů ukazuje důležitost tohoto genu v prevenci onkogeneze.⁵⁹ Nicméně p53 aktivuje buněčnou senescenci a stárnutí organismu spuštěním zablokování růstu buněk a apoptózou.^{60,61}

NF-kappa B je přímým antagonistou p53, který spouští přežití buněk, proliferaci, migraci a invazi.⁶² Během stárnutí je zvýšení hladiny NF-kap-

pa B63 spojeno s kardiovaskulárními onemocněními⁶⁴ a může vyústit v oxidativní stres⁶⁵ nebo v přetrvávající zánětlivý stav, protože zánětlivé podněty mohou vyvolat produkci NF-kappa B.^{66,67}

Dimethylsulfoxid (DMSO) má antioxidační⁶⁸, cytoprotektivní⁶⁹ a protizánětlivé vlastnosti.⁷⁰ DMSO má i protinádorový účinek: spouští expresi tumor supresorového genu p53^{71,72}. Také snižuje hladiny protoonkogenu c-myc⁷³, který není regulován u většiny lidských nádorů a přispívá k maligní transformaci spuštěním nekontrolovatelné proliferace buněk a genomické nestabilitě.⁷⁴

DMSO

Funkce:

Aktivace tumor supresorových genů, jako je p53, a snížení exprese protoonkogenu, jako je c-myc.

2.7 Specifická nukleová kyselina (specific nucleic acid) SNA[®]-HLA I

NK buňky mají schopnost rozlišit mezi normálními buňkami a buňkami, které ztratily expresi molekuly MHC třídy I po virové infekci nebo nádorovou transformací.⁷⁵ Tumor supresorový gen p53 aktivuje buněčnou senescenci a předchází onkogenezi. Nicméně NK buňky musí eliminovat senescentní nádorové buňky. p53 vyvolává sekreci chemokinů nádorovými buňkami; tyto molekuly slouží jako signální pro přivolání NK buněk do prostředí nádoru.⁷⁶ Nicméně znovuoobnovení p53 nezvyšuje citlivost nádorových buněk k lýze zprostředkované NK buňkami.⁷⁷ Buněčná lýza zprostředkovaná NK buňkami je účinnější v nepřítomnosti antigenů MHC třídy I. Antigeny HLA-I „komplikuji“ rozpoznání přeměněných buněk pro NK buňky a jimi způsobenou lýzu a zasahují do činnosti rozličných molekul, jež jsou zapojeny do lýzy, která je těmito buňkami zprostředkována.⁷⁸

Ve stresových podmínkách je aktivita NK buněk downregulována glukokortikoidy. Jak samotná lýza, tak spojení s buňkami citlivými k lýze jsou ovlivněny glukokortikoidy.⁷⁹

SNA[®]-HLA I

Funkce:

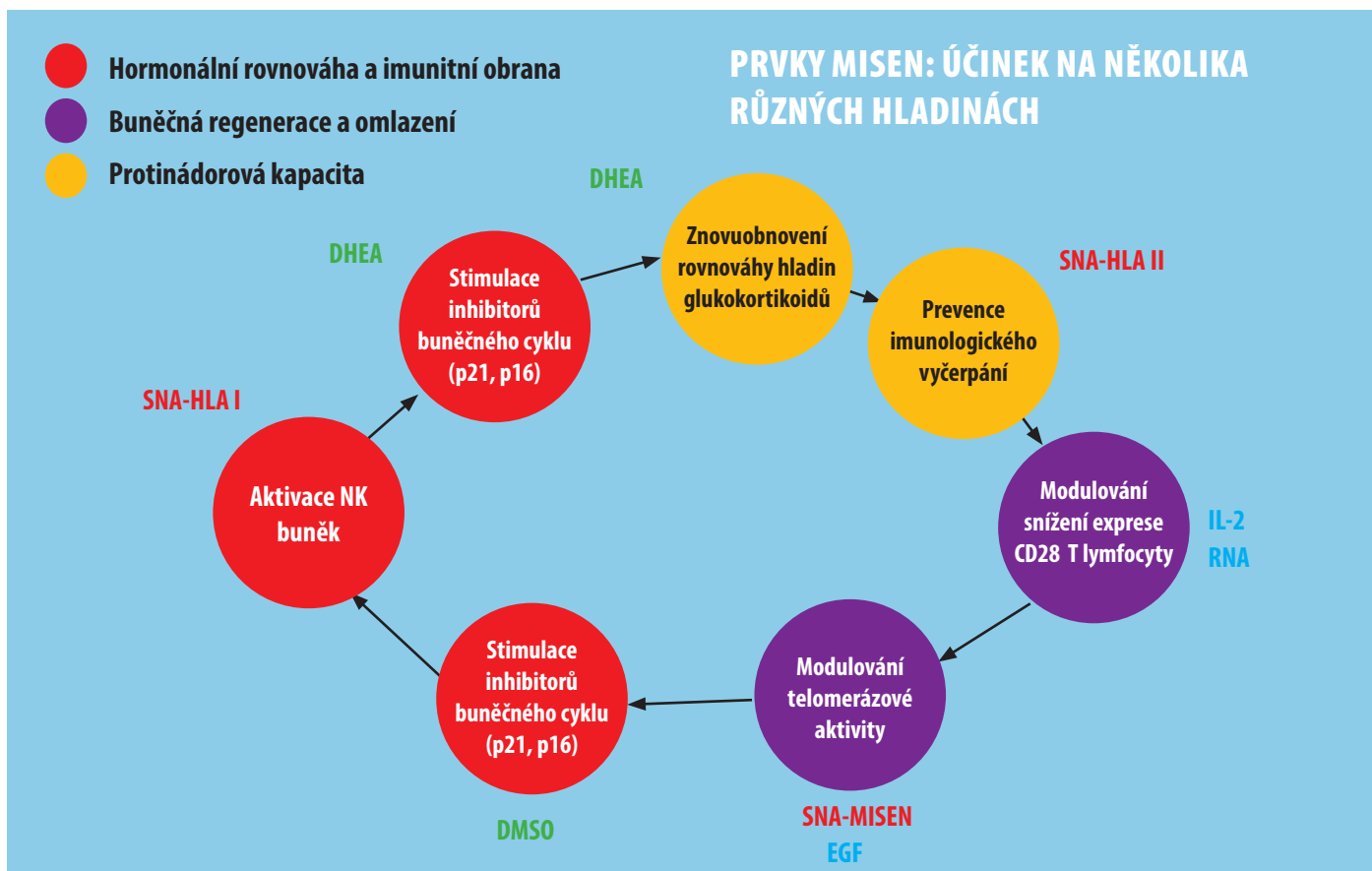
Blokování tvorby molekul HLA-I a upřednostnění lytické odpovědi NK buňkami.

2.8 Dehydroepiandrosteron (DHEA)

Dehydroepiandrosteron, který je vylučován nadledvinami, je jedním z nejhodnějších steroidů, jež cirkulují v lidském organismu. Hladiny DHEA se postupně snižují s věkem, což naznačuje jejich možnou úlohu v procesu stárnutí. Podle neuroendokrinní hypotézy imunosenescence, stárnutí a stres způsobují nerovnováhu v poměru kortizol/DHEA, což je rozhodující činitel v imunologických změnách, které jsou pozorovány u starších lidí.⁸⁰ Snížení sekrece DHEA spolu se zvýšenou sekrecí kortizolu ústí k větší expozici lymfoidních buněk ke škodlivým účinkům glukokortikoidů.¹

DHEA má imunostimulační potenciál a přispívá ke zvýšení hustoty kostních minerálů a ochraně kardiovaskulárního a nervového systému.⁸¹

DHEA také hraje důležitou roli v kontrole buněčného cyklu. Působí proti onkogenezi spuštěním buněčné senescence, omezením buněčné



proliferace a podporou apoptózy. Účinky DHEA na buňky jsou spojovány se zvýšenou expresí genů p16 a p21, které inhibují buněčný cyklus.⁸² Protein p21 (inhibitor cyklin-dependentní kinázy - CDK, též označovaný jako p21WAF1/Cip1) upřednostňuje zastavení buněčného cyklu v reakci na nejrůznější podněty.⁸³ Gen p16 je také důležitým tumor supresorovým genem. Vysoká četnost vymizení p16 v primárních liniích nádorových buněk naznačuje důležitou roli p16 v onkogenezi; ztráta p16 je často uváděna jako brzká a často kritická událost v progresi nádoru.⁸⁴

DHEA

Funkce:

Znovuobnovení rovnováhy hladin glukokortikoidů (změna poměru kortizol/DHEA) a stimulace exprese inhibičních genů buněčného cyklu (jako jsou geny p21 a p16) za účelem prevence tumorigenní proliferace buněk.

III. Závěr

MISEN je určen k ovlivnění několika patofyziologických mechanismů spojených s chronickým stresem a stárnutím, s následujícími funkcemi:

- **Prevence imunologického vyčerpání, které nastává během senescence (ať již přirozeného či vyvolaného chronickým stresem) a ke zvýšení imunologické obranné kapacity.**
- **Působení proti prozánětlivým účinkům rozličných faktorů.**
- **Upřednostnění buněčné regenerace a omlazení pomocí prevence snížení aktivity telomerázy a přidružených faktorů.**
- **Zároveň zvýšení protinádorové a antiproliferační kapacity organismu.**

PRVKY MISEN: ÚČINEK NA NĚKOLIKA RŮZNÝCH HLADINÁCH

Souhrnně lze konstatovat, že přípravek MISEN je zaměřen na zlepšení funkce imunitního systému a nastolení rovnováhy mezi procesy senescence a buněčné proliferace.

Literatura

1. Bauer ME, Jeckel CM, Luz C. The role of stress factors during aging of the immune system. *Ann NY Acad Sci.* 2009; 1153:139-52.
2. Butcher SK, Lord JM. Stress responses and innate immunity: aging as a contributory factor. *Aging Cell.* 2004; 3(4):151-60.
3. Correia-Melo C, Hewitt G, Passos JF. Telomeres, oxidative stress and inflammatory factors: partners in cellular senescence? *Longev Healthspan.* 2014; 3(1):1.
4. Freund A et al. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends Mol Med.* 2010; 16(5):238-46.
5. Muntasell A et al. HLA-DR4 molecules in neuroendocrine epithelial cells associate to a heterogeneous repertoire of cytoplasmic and surface self peptides. *J Immunol.* 2002; 169(9):5052-60.
6. Cresswell P. Assembly, transport, and function of MHC class II molecules. *Annu Rev Immunol.* 1994; 12:259-93.
7. Viret C, Janeway Jr CA. MHC and T cell development. *Rev Immunogenet.* 1999; 1:91-104.
8. Ting JP, Trowsdale J. Genetic control of MHC class II expression. *Cell.* 2002; 109:521-33.
9. Jin HT et al. Mechanism of T cell exhaustion in a chronic environment. *BMB Rep.* 2011; 44(4):217-31.
10. Parish ST, Wu JE, Effros RB. Sustained CD28 expression delays multiple features of replicative senescence in human CD8 T lymphocytes. *J Clin Immunol.* 2010; 30(6):798-805.
11. Weng NP, Akbar AN, Goronzy J. CD28(-) T cells: their role in the age-associated decline of immune function. *Trends Immunol.* 2009; 30(7):306-12.
12. Martínez-Llordella M et al. CD28-inducible transcription factor DEC1 is required for efficient autoreactive CD4+ T cell response. *J Exp Med.* 2013; 210(8):1603-19.
13. Appleman LJ et al. CD28 costimulation mediates T cell expansion via IL-2-independent and IL-2-dependent regulation of cell cycle progression. *J Immunol.* 2000; 164(1):144-51.
14. Thompson CB et al. CD28 activation pathway regulates the production of multiple T-cell-derived lymphokines/cytokines. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 1989; 86(4):1333-1337.
15. Nasir Salam et al. T cell ageing: Effects of age on development, survival & function. *Indian J Med Res.* Nov 2013; 138(5): 595-608.
16. Mariani E et al. Different rates of telomere shortening and telomerase activity reduction in CD8 T and CD16 NK lymphocytes with ageing. *Exp Gerontol.* 2003; 38(6):653-9.

17. Hug N, Lingner J. Telomere length homeostasis. *Chromosoma*. 2006; 115(6):413-25.
18. Kaszubowska L. Telomere shortening and ageing of the immune system. *J Physiol Pharmacol*. 2008; 59 Suppl 9:169-86.
19. Xu W et al. Ref-1 protein enhances the IL-2-stimulated telomerase activity. *J Cell Biochem*. 2003; 88(6):1120-8.
20. Kawauchi K, Ihjima K, Yamada O. IL-2 increases human telomerase reverse transcriptase activity transcriptionally and posttranslationally through phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt, heat shock protein 90, and mammalian target of rapamycin in transformed NK cells. *J Immunol*. 2005; 174(9):5261-9.
21. Bazhan SI, Belova OE. Molecular genetic aspects of interferon induction and antiviral action. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 1998; (3):18-24.
22. Srivastava S, Koch LK, Campbell DJ. IFN α Signaling in Effector but Not Regulatory T Cells Is Required for Immune Dysregulation during Type I IFN-Dependent Inflammatory Disease. *J Immunol*. 2014; 193(6):2733-42.
23. Lanna A et al. IFN- α inhibits telomerase in human CD8 T cells by both hTERT downregulation and induction of p38 MAPK signaling. *J Immunol*. 2013; 191(7):3744-52.
24. Reed JR et al. Telomere erosion in memory T cells induced by telomerase inhibition at the site of antigenic challenge in vivo. *J Exp Med*. 2004; 199(10):1433-43.
25. Lindkvist A et al. Interferon-induced sensitization to apoptosis is associated with repressed transcriptional activity of the hTERT promoter in multiple myeloma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 341:1141-1148.
26. Xu D et al. Interferon alpha down-regulates telomerase reverse transcriptase and telomerase activity in human malignant and nonmalignant hematopoietic cells. *Blood*. 2000; 96:4313-4318.
27. Hornung V et al. Replication-dependent potent IFN- α induction in human plasmacytoid dendritic cells by a single-stranded RNA virus. *J Immunol*. 2004; 173(10):5935-43.
28. Lan T et al. Stabilized immune modulatory RNA compounds as agonists of Toll-like receptors 7 and 8. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104(34):13750-5.
29. Dai J et al. Regulation of IFN regulatory factor-7 and IFN- α production by enveloped virus and lipopolysaccharide in human plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol*. 2004; 173(3):1535-48.
30. Seya T, Shingai M, Matsumoto M. Toll-like receptors that sense viral infection. *Uirusu* 2004; 54(1):1-8.
31. Heil F et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*. 2004; 303(5663):1526-9.
32. Diebold SS et al. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*. 2004; 303(5663):1529-31.
33. Lund JM et al. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(15):5598-603.
34. Kenyon C. The plasticity of aging: insights from long-lived mutants. *Cell*. 2005; 120(4):449-60.
35. Antebi A. Genetics of aging in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*. 2007; 3(9):1565-71.
36. Smith-Vikos T, Slack FJ. MicroRNAs and their roles in aging. *J Cell Sci*. 2012; 125(Pt 1):7-17.
37. Campisi J. Cancer, aging and cellular senescence. *In Vivo* 2000; 14(1):183-8.
38. Buchkovich KJ. Telomeres, telomerase, and the cell cycle. *Prog Cell Cycle Res*. 1996; 2:187-95.
39. Mikhelson VM, Gamaley IA. Telomere shortening is a sole mechanism of aging in mammals. *Curr Aging Sci*. 2012; 5(3):203-8.
40. Maida Y et al. Direct activation of telomerase by EGF through Ets-mediated transactivation of TERT via MAP kinase signaling pathway. *Oncogene* 2002; 21(26):4071-9.
41. Salehinejad P et al. Effect of EGF and FGF on the expansion properties of human umbilical cord mesenchymal cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2013; 49(7):515-235.
42. Enwere E et al. Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *J Neurosci*. 2004; 24(38):8354-65.
43. Schultz G, Rotatori DS, Clark W. EGF and TGF- α in wound healing and repair. *J Cell Biochem*. 1991; 45(4):346-52.
44. Yu S, Driscoll M. EGF signaling comes of age: promotion of healthy aging in *C. elegans*. *Exp Gerontol*. 2011; 46(2-3):129-34.
45. Siddiqui S et al. Central role of the EGF receptor in neurometabolic aging. *Int J Endocrinol*. 2012; 2012:739428.
46. Zhou J et al. Telomerase reverse transcriptase in the regulation of gene expression. *BMB Rep*. 2014; 47(1):8-14.
47. Bodnar AG et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science*. 1998; 279:349-352.
48. Vaziri H, Benchimol S. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Curr Biol*. 1998; 8:279-282.
49. Jaskelioff M et al. Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Nature*. 2011; 469:102-106.
50. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011; 144:646-674.
51. Flores J, Benetti R, Blasco MA. Telomerase regulation and stem cell behaviour. *Curr Opin Cell Biol*. 2006; 18:254-260.
52. Feldser DM, Hackett JA, Greider CW. Telomere dysfunction and the initiation of genome instability. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3:623-627.
53. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer*. 1997; 33:787-791.
54. Belair CD et al. Telomerase activity: a biomarker of cell proliferation, not malignant transformation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94:13677-13682.
55. Hartwig FP et al. Up-regulating telomerase and tumor suppressors: focusing on anti-aging interventions at the population level. *Aging Dis*. 2013; 5(1):17-26.
56. Tomás-Loba A et al. Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice. *Cell* 2008; 135(4):609-22.
57. Sigal A, Rotter V. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer Res*. 2000; 60(24):6788-93.
58. Eckner R. p53-dependent growth arrest and induction of p21: a critical role for PCAF-mediated histone acetylation. *Cell Cycle*. 2012; 11(14):2591-2.
59. Mendrysa SM, Perry ME. Tumor suppression by p53 without accelerated aging: just enough of a good thing? *Cell Cycle* 2006; 5(7):714-7.
60. Rufini A et al. Senescence and aging: the critical roles of p53. *Oncogene* 2013; 32(43):5129-43.
61. Hastay P, Christy BA. p53 as an intervention target for cancer and aging. *Pathobiol Aging Age Relat Dis*. 2013; 3.
62. Pal S et al. Chronic inflammation and cancer: potential chemoprevention through nuclear factor kappa B and p53 mutual antagonism. *J Inflamm (Lond)*. 2014; 11:23.
63. Hajra L et al. The NF- κ B signal transduction pathway in aortic endothelial cells is primed for activation in regions predisposed to atherosclerotic lesion formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97:9052-9057.
64. Bouchier T, Sukhova G, Libby P. The nuclear factor kappa-B signaling pathway participates in dysregulation of vascular smooth muscle cells in vitro and in human atherosclerosis. *J Biol Chem*. 1997; 272: 15817-15824.
65. Donato AJ et al. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium-dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB. *Circ Res*. 2007; 100:1659-1666.
66. Liu H et al. Redox-dependent transcriptional regulation. *Circ Res*. 2005; 97:967-974.
67. Ungvari Z, Csiszar A, Kaley G. Vascular inflammation in aging. *Herz* 2004; 29:733-740.
68. Sanmartín-Suárez C et al. Antioxidant properties of dimethyl sulfoxide and its viability as a solvent in the evaluation of neuroprotective antioxidants. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2011; 63(2):209-15.
69. Man W et al. Dimethyl sulfoxide attenuates hydrogen peroxide-induced injury in cardiomyocytes via heme oxygenase-1. *J Cell Biochem*. 2014; 115(6):1159-65.
70. Jacob SW, Herschler R. Pharmacology of DMSO. *Cryobiology*. 1986; 23(1):14-27.
71. Koiri RK, Trigun SK. Dimethyl sulfoxide activates tumor necrosis factor- α -p53 mediated apoptosis and down regulates D-fructose-6-phosphate-2-kinase and lactate dehydrogenase-5 in Dalton's lymphoma in vivo. *Leuk Res*. 2011; 35(7):950-6.
72. Menendez D et al. Diverse stresses dramatically alter genome-wide p53 binding and transactivation landscape in human cancer cells. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41(15):7286-301.
73. Darling D et al. DMSO induced modulation of c-myc steady-state RNA levels in a variety of different cell lines. *Oncogene*. 1989; 4(2):175-9.
74. Wahlström T, Arsenian Henriksson M. Impact of MYC in regulation of tumor cell metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 2014; pii: S1874-9399(14)00192-8.
75. Le Maux Chansac B et al. NK cells infiltrating a MHC class I-deficient lung adenocarcinoma display impaired cytotoxic activity toward autologous tumor cells associated with altered NK cell-triggering receptors. *J Immunol*. 2005; 175(9):5790-8.
76. Iannello A et al. p53-dependent chemokine production by senescent tumor cells supports NKG2D-dependent tumor elimination by natural killer cells. *J Exp Med*. 2013; 210(10):2057-69.
77. Xue W et al. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature*. 2007; 445(7128):656-60.
78. Peña J, Solana R. Histocompatibility antigens and natural killer susceptibility. *Immunol Res*. 1992; 11(2):133-40.
79. Matera L et al. Effect of cortisol on the native and in vitro induced non-MHC restricted cytotoxicity of large granular lymphocytes. *J Clin Lab Immunol*. 1988; 27(2):77-81.
80. Bauer ME. Stress, glucocorticoids and ageing of the immune system. *Stress*. 2005; 8(1):69-83.
81. Barrou Z, Charru P, Lidy C. Actions of dehydroepiandrosterone: possible links with aging. *Presse Med*. 1996; 25(38):1885-9.
82. Shilkaitis A et al. Dehydroepiandrosterone inhibits the progression phase of mammary carcinogenesis by inducing cellular senescence via a p16-dependent but p53-independent mechanism. *Breast Cancer Res*. 2005; 7(6):R1132-40.
83. Abbas T, Dutta A. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer*. 2009; 9(6):400-14.
84. Rocco JW, Sidransky D. p16(MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. *Exp Cell Res*. 2001; 264(1):42-55.