

YAŞLANMA SÜRECİNDE MİTOKONDRİNİN ROLÜ

Enver CIRACI

Biruni Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Zeytinburnu, İstanbul,
Türkiye

ORCID ID: 0000-0001-9222-8464

Saadet Busra AKSOYER SEZGIN

Biruni Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Diyaliz Programı, Zeytinburnu, İstanbul, Türkiye
İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı,
Şehremini, İstanbul, 34093, Türkiye

ORCID ID: 000-0002-8338-9546

ÖZET

Mitokondri, hücrel fonksiyonlarda kullanılan ATP'yi üreten hücrenin güç merkezleri olarak tanımlanmaktadır. Mitokondriyal disfonksiyon yaşlanma sürecinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Hücreler yaşlandıkça solunum zincirinin etkinliği azalmakta, elektron kaçağı artarak ve ATP oluşumunu azalmasına neden olmaktadır. Farklı hücre tipleri farklı sayıda mitokondriye sahiptir ve kendi DNA'larına sahip oldukları için, içinde buldukları hücreden bağımsız olarak bölünebilmektedirler. Diğer bir ifadeyle, mitokondriyal replikasyon hücre bölünmesine bağlı değildir. Üreme sırasında, bir çocuğun DNA'sının yarısı babalarından, yarısı da annelerinden gelmektedir. Bununla birlikte, çocuk her zaman Mitokondriyal DNA'larını (mtDNA) annelerinden almaktadır. Mitokondriyal hastalıkların çoğunluğu, mitokondriye neden olan ürünleri etkileyen nükleer DNA'daki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu mutasyonlar kalıtsal veya kendiliğinden olabilmektedir. Mitokondri çalışmayı bıraktığında, içinde buldukları hücre enerjiden yoksun kalır. Bu nedenle, hücrenin tipine bağlı olarak semptomlar büyük ölçüde değişebilmektedir. Kalp kası hücreleri ve sinirler gibi en çok miktarda enerjiye ihtiyaç duyan hücreler, en çok hatalı mitokondrilerden etkilenmektedir. 62 yıl önce Harman, yaşlanmaya reaktif oksijen türleri (ROS) ile oluşan makromolekül hasarının aracılık ettiğini ileri sürmüştür. ROS mitokondride enerji üretiminin bir yan ürünü olarak üretilir ve bu yapılar DNA'ya, yağlara ve proteinlere zarar vermektedir. Artık yaşlanmada hedef mitokondriye odaklanmıştır. Yapılan çalışmalar, oksidatif stresin, mitokondriyal DNA mutasyonlarının, mitokondri turnover'ındaki azalmanın hücrel yaşlanmaya aracılık ettiğini ortaya koymaktadır. Bu derlemede, mitokondrinin insan yaşlanma sürecindeki rolü, elde edilen son bulgular temelinde gözden geçirilmesi hedeflenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mitokondriyal DNA; mitokondri; yaşlanma; serbest radikaller; oksidatif stres

ABSTRACT

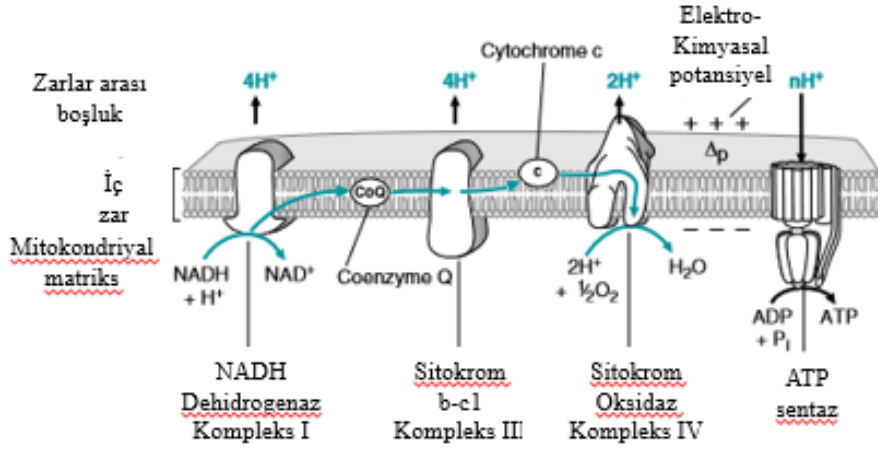
Mitochondria are defined as the power centers of the cell that produce ATP, which is used in cellular functions. Mitochondrial dysfunction is an important part of the aging process. As the cells age, the efficiency of the respiratory chain decreases, electron leakage increases and ATP formation decreases. Different cell types have different numbers of mitochondria, and since they have their own DNA, they can divide independently of the cell they are in. In other words, mitochondrial replication is not dependent on cell division. During reproduction, half of a child's DNA comes from their father and half from their mother. However, the child always receives their Mitochondrial DNA (mtDNA) from their mother. The majority of mitochondrial diseases are caused by mutations in nuclear DNA that affect products that cause mitochondria. These mutations can be hereditary or spontaneous. When the mitochondria stop working, the cell they are in is deprived of energy. Therefore, symptoms can vary greatly depending on the type of cell. Cells that need the greatest amount of energy, such as heart muscle cells and nerves, are most affected by faulty mitochondria. 62 years ago, Harman suggested that aging is mediated by macromolecular damage caused by reactive oxygen species (ROS). ROS is produced in mitochondria as a byproduct of energy production, and these structures damage DNA, fats, and proteins. It is now focused on the target mitochondria in aging. Studies reveal that oxidative stress, mitochondrial DNA mutations, and a decrease in mitochondrial turnover mediate cellular aging. In this review, it is aimed to review the role of mitochondria in the human aging process on the basis of recent findings.

Key Words: Mitochondrial DNA; mitochondrial; aging; free radicals; oxidative stress

GİRİŞ

Yaşlanmanın kesin nedenleri tam olarak anlaşılacak şekilde birlikte, hücresel işlev bozukluğuna, doku yetmezliğine ve ölüme yol açan birikmiş hasarın neden olduğu dejeneratif bir süreç olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda, bir dizi yaşlanma teorisi önerilmiştir ve bunlardan mitokondriyal serbest radikal yaşlanma teorisi (MFRTA) son yıllarda ön plana çıkmıştır (Harman, 1956; Hamilton, 1966; Smith ve ark., 2004). Bu teoriye göre, radikal oksijen türleri (ROS), yüksek kimyasal reaktiviteleri nedeniyle çeşitli hücresel makromoleküllere oksidatif hasara neden olan aerobik metabolizmanın istenmeyen toksik yan ürünleri olarak kabul edilmektedir. İç mitokondriyal membranda bulunan solunum zinciri (RC), elektron taşınması sırasında I ve III kompleksleri seviyesinde oluşan hücrede bol miktarda ROS olan süperoksitin ana üretim bölgesidir Süperoksit anyonu, SOD ile hidrojen perokside dönüştürülür. Hidrojen peroksitin kendisi serbest bir radikal olmasa da, Fenton reaksiyonu yoluyla geçiş metallerinin varlığında yüksek derecede reaktif hidroksil radikale dönüştürülebilir (Şekil1) Hidroksil radikali, yüksek derecede reaktif olduğu ve lipitler, proteinler ve nükleik asitler de dahil olmak

üzere hücredeki hemen hemen her molekül tipinde oksidatif hasara neden olduğu için ROS'un en zararlı formu olarak kabul edilir.



Şekil 1: Oksidatif fosforilasyon sisteminin şematik modeli

MFRTA teorisi çeşitli gözlemlere dayanmaktadır: mitokondriyal fonksiyondaki azalma nedeniyle mitokondriyal ROS üretimi yaşla birlikte artmaktadır. Diğer taraftan, ROS temizleyici enzimlerin aktivitesi yaşla birlikte azalmaktadır. mtDNA mutasyonları yaşlanma sırasında birikmekte ve somatik mtDNA mutasyonları RC fonksiyonunu bozduğu için kısır bir döngü oluşturarak ROS üretiminde daha fazla artışa ve proteinlere, lipitlere ve DNA'ya birikmiş oksidatif hasara yol açmaktadır (Fraga ve ark., 1990; Marnett ve ark., 1985; Balaban ve ark., 2005; Grünwald ve ark., 2010).

Dünya nüfusunun 60 yaş üstü oranı 1990'da % 9,2 iken, 2013'te %11,7'ye yükselmiştir ve 2050'ye kadar % 21,1 veya 2 milyar kişi olacağı tahmin edilmektedir (Sander, 2015). Yaşlanma, organizmaların zamanla yavaş yavaş ilerleyen fonksiyonel düşüşü olarak tanımlanmakta ve muhtemelen birbirine bağlı çeşitli hücre fonksiyonlarının eşzamanlı olarak bozulmasından kaynaklanmaktadır. İnsan yaşlanmasının önemli bir belirtisi olan kas gücü kaybı, otuzlu yılların başlarında itibaren başlar ve miktardan çok kas kalitesinin kaybından kaynaklanır. Yaşlanmayla ilişkili bozulmaya yol açan moleküler mekanizmaları, bu değişikliklere karşı koyma veya yavaşlatma süreciyle ilgili birçok çalışma mevcuttur (Goodpaster ve ark., 2006; Tauchi ve ark., 1968).

“Serbest Radikal Yaşlanma Teorisi” ilk olarak 1950'lerde Harman tarafından öne sürülmüştür (Harman, 1956). MtDNA yaşam sırasında hem kendiliğinden hem de stresle oluşan mutasyonun, mitokondride oksidatif fosforilasyon gibi hücre metabolizmayı bozabileceğini ve sonuçta ROS'u artırabileceğini belirtmektedir. Bu da, değiştirilmiş metabolizma ve daha fazla hasar döngüsü yaratan proteinler, lipitler, DNA ve RNA dahil hücre bileşenlerinin oksidasyonu ile sonuçlanmaktadır. Bu durum, yaşlanma ve dejeneratif hastalıklarda görülen hücre fonksiyonunun azalmasına neden olmaktadır (Ray ve ark., 2000).

Serbest radikal yaşlanma teorisinin (Harman, 1956; Keogh,2015) ve daha sonraki versiyonu, mitokondriyal yaşlanma teorisi (Alexeyev,2009) mitokondri yaşlanma araştırmalarının dikkatini çekmiştir. Her iki teori de, artan yaşla birlikte görülen hücrel bozulmanın, mitokondriyal yaşlanma teorisinin ROS'un ana üreticisi olarak mitokondriye odaklandığı reaktif oksijen türlerinden (ROS) kaynaklandığını ileri sürmektedir. Yaşla birlikte oksidatif hasar birikimi meydana gelse de (Bokov,2004) yaşlanmanın arkasında yatan ROS veya mitokondriyal ROS'un kanıtları hala eksiktir.

MİTOKONDRIYAL FONKSİYON YAŞLA BİRLİKTE AZALIR

Mitokondri sadece ATP üreten bir organel olmayıp; aynı zamanda, apoptoz, yağ asitlerinin β -oksidasyonu ve demir-kükürt küme sentezi gibi hücrel süreçler için hayati öneme de sahip olan bir organeldir. Memelilerde bulunan mitokondriler, 13 protein, 22 tRNA ve 2 rRNA kodlayan genomları içermektedirler. Memelilerdeki mitokondriyal proteom, 1200 proteinden meydana gelmektedir. Bu proteinlerin büyük bir bölümü kodlanarak, sitozole çevrildikten sonra mitokondriye alınmaktadır. Mitokondriyal DNA, mitokondriyal proteomun sadece ~% 1'lik kısmını kodlamaktadır. Mitokondriye ait 13 proteinin tamamı oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) kompleksinin kritik bileşenleridir. MtDNA'da oluşabilecek mutasyonlar, pleiotropik semptomları olan çok sayıda mitokondriyal hastalığın tanımlanmasına neden olmakla birlikte, hücrel enerji dönüşümü ve doku işlev bozukluğunda da ciddi problemlere yol açabilmektedir (Chinnery,2015). Tüm bunlara ek olarak, mtDNA mutasyonları yaşa bağlı hastalıkların patofizyolojisinde ve yaşlanma sürecinin kendisinde de önemli rol oynamaktadır (Chinnery,2015; Payne,2015).

Yaşlanmayla birlikte, mitokondri morfolojisinde, sayılarında ve OXPHOS aktivitesinde değişiklikler görülmektedir (Shigenaga ve ark., 1994). Yapılan bir çalışmada, mtDNA kopya sayısındaki değişikliklerin yaşlanan organlarda meydana geldiği ileri sürülmüştür (Kazachkova ve ark. 2013). Mitokondriyal fonksiyon ve mtDNA değerlendirilirken olası bir diğer faktör ise; farklı hücre tiplerinin ve doku kompozisyonlarının oranının rejenerasyon, fibroz ve iltihaplanma nedeniyle yaşlanan organlarda sıklıkla değişkenlik göstermesidir. Bununla birlikte, memelilerde yaşlanmayla birlikte mtDNA mutasyonlarının birikiminde artış olduğunu görülmektedir. Bu durumun da OXPHOS'da işlev bozukluğuna yol açtığı ileri sürülmektedir (Larsson,2015).

Yaşlanma sırasında memelilerde, mitokondriyal morfolojik değişikliklerin ortaya çıkmasıyla birlikte mitokondriyal fonksiyonun da azaldığı bilinmektedir (Shigenaga,1994). Mitokondri sayısı, farelerin (Herbener,1976), sıçanların (Stocco ve ark., 1978) ve insanların (Yen,1989) karaciğer hücrelerinde yaşla birlikte azaldığı bildirilmiştir. Aynı zamanda mtDNA kopya sayısında ve mitokondriyal protein düzeylerinde de bir azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir. Buna ek olarak, 24 aylık sıçan gibi yaşlı hayvanların karaciğer mitokondrilerinde RC kapasitesi,

yavru hayvanlara (3-4 ay) kıyasla %40'a kadar azaldığı gösterilmiştir. Dalakta da benzer bir RC fonksiyonu düşüşü bildirilirken, beyindeki mitokondriyal fonksiyonun sıçanlarda yaşla değiştiği bildirilmemiştir (Stocco ve ark.,1976). Yapılan incelemelerde insan karaciğer, kalp ve iskelet kasındaki RC kapasitesinin yaşla birlikte azaldığı bildirilmiştir (Short ve ark., 2005). RC fonksiyonunun, örneğin hormonlara yanıt olarak indüklenebilir olması ve fiziksel aktiviteye bağlı olması nedeniyle, bu değişikliklerin bazıları ikincil olarak değerlendirilebilmektedir (Brierley ve ark., 1997). Genel mitokondriyal kütle ve genel fonksiyon düşüşüne ek olarak, spesifik RC komplekslerinin ve asilkarnitin transferaz ve adenin nükleotit translokaz dahil olmak üzere belirli nükleer kodlanmış mitokondriyal proteinlerin aktivitesinin de yaşla birlikte memelilerde azaldığı bildirilmiştir (Yan ve ark., 1998; Manczak ve ark., 2005).

Fare ve sıçanların (Benzi ve ark.,1998; Manczak ve ark., 2005) karaciğer, beyin, kalp ve böbreğinde I ve IV kompleks aktivitelerinin yaşla birlikte azaldığı, ancak; II, III ve V kompleks aktivitesinin ise çoğunlukla değişmeden kaldığı bildirilmiştir (Navarro,2007). RC fonksiyonunda yaşa bağlı düşüşteki çelişkili farklılıkların nedenleri henüz bilinmemektedir ve mtDNA mutasyonlarının azalmasının potansiyel nedeninin de bununla ilgili olabileceği öngörülmektedir (Manczak ve ark., 2005). Bunun yanısıra, yaşlanmayla birlikte fibroz veya vaskülarizasyonda görülen değişikliklerin hücre kompozisyonunu değiştirebileceği ve bu nedenle de genç ve yaşlı bireylerden elde edilen doku homojenatlarındaki mitokondriyal fonksiyonda görülen farklılıkların yorumlanmasının zorlaşabileceği belirtilmektedir. Uygulanan metodolojideki bu farklılıklar (Picard ve ark., 2010) ile yaşlı hasta gruplarına (Brierley ve ark., 1997) uygun kontroller bulmadaki güçlükler gibi ek faktörler, bu tür karşılaştırmaları daha da karmaşık hale getirmektedir.

Yaşlanma, mitokondriyal fonksiyondaki düşüşle ilişkili olsa da, tek başına bu gözlem bir anlam ifade etmemektedir. Genetik modellemeler, mtDNA mutasyonlarının yaşlanan fenotipleri desteklediğini ve RC disfonksiyonu oluşturduğunu belirtmektedir. Bununla birlikte, mitokondriyal disfonksiyonun yaşlanmaya katkısı göz önüne alındığında, mitokondriyal biyogenezin aynı anda birçok farklı seviyede kontrol edildiğini belirtmek önemlidir. Örneğin, tiroid hormonları, östrojenler ve glukokortikoidler gibi hormonlar sadece hücre büyümesi ve farklılaşmasında önemli roller oynamakla kalmaz, aynı zamanda mitokondriyal biyogenezin önemli düzenleyicileridir (Evans,2004; Fernández-Vizarra ve ark., 2008; Knuever ve ark., 2012; Bu nedenle, RC fonksiyonunda yaşa bağlı olarak görülen azalma periferik insülin direncinden veya hormonal seviyelerdeki düşüşten kaynaklanabilmektedir. Bununla uyumlu olarak, fiziksel aktivite ve kalori kısıtlaması (CR) oksidatif hasarı azaltarak mitokondriyal fonksiyonu iyileştirebilmektedir (Nisoli, 2005;Radak ve ark., 2013).

MTDNA MUTASYONLARI VE YAŞLANMA

MtDNA mutasyonlarının beyin, kalp, kolon ve iskelet kası gibi pek çok yapıda yaşla birlikte artış gösterdiği bilinmektedir (Cortopassi ve ark.,1990; Bua ve ark., 2006; Greaves ve

Received 26 October 2020; Received in revised form 1 December 2020; Accepted 5 December 2020;

Available online 17 December 2020

doi: 10.46291/ICONTECHvol4iss3pp1-10

ark.,2014). Bu mutasyonların sadece yaşlanma ile ilişkili olup olmadığı henüz kesin olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda, düzeltme okuma eksikliği olan bir mtDNA polimeraz (Poly) taşıyan mtDNA mutator fareleri, mtDNA'da yüksek miktarda mutasyon biriktirdiği ve yaşam süresinin kısalması, doğurganlığın azalması, anemi, osteoporoz, saç grileşmesi ve saç dökülmesi gibi semptomlarla erken yaşlanma belirtilerini tekrar gösterdiği bildirilmiştir (Trifunovic ve ark., 2004; Kujoth ve ark., 2005). Mutasyon alleli için heterozigot olan, annelerinden mtDNA mutasyonlarını alan fareler, ortalama olarak, mtDNA molekülü başına iki mutasyon taşımaktadır (Grey, 1997; Ross ve ark., 2013) ve erken yaşlanma belirtileri gösterdiği ileri sürülmüştür. Bunlar; saç dökülmesi, omurganın eğriliği, ve erken ölüm gibi bulgular taşıdığı bildirilmiştir (Ross, 2014). Ayrıca HIV hastaları ve kardiyovasküler sistemde dejeneratif hastalıklar gibi erken yaşlanan fenotipler olduğu ileri sürülmüştür (Desquilbet,2007; Guaraldi, 2009). POLY'nin bazı anti-retroviral ilaçlar tarafından inhibe edilebileceği bildirilmiştir (Sohl, 2015). Anti-retroviral ilaçlarla tedavi edilen HIV hastalarında klonal olarak genişletilmiş mitokondriyal mutasyonlar ve OXPHOS disfonksiyonu olduğu gösterilmiştir (Payne ve ark., 2011). Bununla birlikte, HIV hastalarında erken yaşlanma ve mitokondriyal disfonksiyon arasındaki olası bağlantı henüz bilinmemektedir.

SONUÇ

Yaşlıların yaşam kalitesini artırmak için hücresel yaşlanma mekanizmasını anlamak ve yaşlanma sırasında ortaya çıkan patolojilere karşı savaşmak için stratejiler geliştirilmelidir. İnsan yaşlanmasının biyolojik temeli, cevaplanmamış en büyük bilimsel sorulardan biri olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan çalışmaların sonuçları, yaşlanma sürecinin potansiyel bir merkezi düzenleyicisi olarak mitokondriyal fonksiyondaki değişikliklerin rolüne işaret etmektedir. Mitokondriyal biyoenerjetik işlev bozukluğu ve zarar verici ROS oluşumu yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıklar ile yakından ilişkili olduğu ileri sürülmekte ve araştırmalar bu yöne odaklanmıştır.

Mitokondri, hayvan ve insan hücrelerinde aerobik metabolizmanın yan ürünleri olarak sürekli olarak üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) başlıca hücre içi kaynağıdır. Mitokondriyal solunum fonksiyonunun çeşitli insan dokularında yaşla birlikte azaldığı ve kusurlu bir solunum zincirinin artmış ROS üretimi ve mitokondride serbest radikallerle sonuçlandığı gösterilmiştir. Öte yandan, yapılan çalışmalar artık lipid peroksidasyonu, protein modifikasyonu ve mitokondriyal DNA (mtDNA) mutasyonunun yaşlanma sırasında eş zamanlı olarak arttığını göstermektedir. Yaşlanma sırasında ortaya çıkan bu sonuçlar, mitokondrinin yapısında ve fonksiyonunda yaşa bağlı değişiklikleri ve yaşlanma sürecinde mtDNA metabolizmasının düzensizliğini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır. İnsanlarda yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıkları daha iyi yönetmek ve yaşlanma doku hücrelerinde çekirdek ve mitokondri arasındaki sinyalleşme yollarındaki değişikliklerin çözülmesinin de önemli olduğu görülmektedir.

Received 26 October 2020; Received in revised form 1 December 2020; Accepted 5 December 2020;

Available online 17 December 2020

doi: 10.46291/ICONTECHvol4iss3pp1-10

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın bu araştırma el yazmasıyla ilişkili herhangi bir potansiyel finansal veya ticari çıkar çatışması bulunmamaktadır (inceleme makalesi).

KAYNAKLAR

Alexeyev M.F. Is there more to aging than mitochondrial DNA and reactive oxygen species? *FEBS J.* 2009;276:5768-5787

Balaban RS, Nemoto S, Finkel T Review Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell.* 2005 Feb 25; 120(4):483-95.

Benzi G, Pastoris O, Marzatico F, Villa RF, Dagani F, Curti D. The mitochondrial electron transfer alteration as a factor involved in the brain aging. *Neurobiol Aging.* 1992;13(3):361-8

Bokov A, Chaudhuri A., Richardson A. The role of oxidative damage and stress in aging *Mech. Ageing Dev.* 2004;125:811-826

Brierley EJ, Johnson MA, James OF, Turnbull DM. Mitochondrial involvement in the ageing process. Facts and controversies. *Mol Cell Biochem.* 1997;174(1-2):325-8.

Bua E, Johnson J., Herbst A., Delong B., McKenzie D., Salamat S, Aiken J.M. Mitochondrial DNA-deletion mutations accumulate intracellularly to detrimental levels in aged human skeletal muscle fibers *Am. J. Hum. Genet.* 2006;79:469-480

Chinnery P.F. Mitochondrial disease in adults: what's old and what's new? *EMBO Mol. Med.*, 7 (2015), pp. 1503-1512 , 18.

Cortopassi G.A., Arnheim N. Detection of a specific mitochondrial DNA deletion in tissues of older humans *Nucleic Acids Res.* 1990;18:6927-6933

Desquilbet L, Jacobson L.P., Fried L.P., Phair J.P., Jamieson B.D., Holloway M., Margolick J.B. Multicenter AIDS Cohort Study HIV-1 infection is associated with an earlier occurrence of a phenotype related to frailty *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2007;62:1279-1286

Evans WJ. Protein nutrition, exercise and aging. *J Am Coll Nutr.* 2004;23(6 Suppl):601S-609S.

Fernández-Vizarra E, Enriquez JA, Pérez-Martos A, Montoya J, Fernández-Silva P. Mitochondrial gene expression is regulated at multiple levels and differentially in the heart and liver by thyroid hormones. *Curr Genet.* 2008;54(1):13-22.

Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 Jun; 87(12):4533-7.

Goodpaster B.H., Park S.W., Harris T.B., Kritchevsky S.B., Nevitt M., Schwartz A.V., Simonsick E.M., Tylavsky F.A., Visser M., Newman A.B. . The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci., 61 2006;61:1059-1064.

Greaves L.C., Nooteboom M., Elson J.L., Tuppen H.A.L., Taylor G.A., Commane D.M., Arasaradnam R.P., Khrapko K., Taylor R.W., Kirkwood T.B.L. Clonal expansion of early to mid-life mitochondrial DNA point mutations drives mitochondrial dysfunction during human ageing PLoS Genet. 2014;10: e1004620

Grey AD de. A proposed refinement of the mitochondrial free radical theory of aging. Bioassays 1997;19(2):161-6.

Grünewald A, Voges L, Rakovic A, Kasten M, Vandebona H, Hemmelmann C, Lohmann K, Orolicki S, Ramirez A, Schapira AH, Pramstaller PP, Sue CM, Klein C. Mutant Parkin impairs mitochondrial function and morphology in human fibroblasts. PLoS One. 2010 Sep 27; 5(9):e12962.

Guaraldi G., Zona S, Alexopoulos N., Orlando G., Carli F., Ligabue G., Fiocchi F., Lattanzi A., Rossi R, Modena M.G., et al. Coronary aging in HIV-infected patients Clin. Infect. Dis. 2009;49: 1756-1762

Hamilton WD. The moulding of senescence by natural selection J Theor Biol. 1966 Sep; 12(1):12-45.

Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol. 1956 Jul; 11(3):298-300.

Harman D. The biologic clock: the mitochondria? J. Am. Geriatr. Soc. 1972;20:145-147

Herbener GH. A morphometric study of age-dependent changes in mitochondrial population of mouse liver and heart. J Gerontol. 1976;31(1):8-12

Kazachkova N, Ramos A., Santos C, Lima M. Mitochondrial DNA damage patterns and aging: revising the evidences for humans and mice Aging Dis.2013;4:337-350

Knuever J, Poeggeler B, Gáspár E, Klinger M, Hellwig-Burgel T, Hardenbicker C, Tóth BI, Bíró T, Paus R. Thyrotropin-releasing hormone controls mitochondrial biology in human epidermis. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(3):978-86.

Kujoth G.C., Hiona A., Pugh T.D., Someya S., Panzer K., Wohlgemuth S.E., Hofer T., Seo A.Y., Sullivan R., Jobling W.A., et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging Science. 2005;309:481-484.

Larsson N.G. Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging Annu. Rev. Biochem. 2010;79:683-706

- Keogh M.J., Chinnery P.F. Mitochondrial DNA mutations in neurodegeneration *Biochim. Biophys. Acta.* 2015;1847:1401-1411
- Manczak M, Jung Y, Park BS, Partovi D, Reddy PH. Time-course of mitochondrial gene expressions in mice brains: implications for mitochondrial dysfunction, oxidative damage, and cytochrome c in aging *J Neurochem.* 2005;92(3):494-504.
- Marnett LJ, Hurd HK, Hollstein MC, Levin DE, Esterbauer H, Ames. Naturally occurring carbonyl compounds are mutagens in *Salmonella* tester strain TA104. *BN Mutat Res.* 1985 Jan-Feb; 148(1-2):25-34.
- Navarro A, Boveris A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;292(2):C670-86.
- Nisoli E, Tonello C, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, Falcone S, Valerio A, Cantoni O, Clementi E, Moncada S, Carruba MO. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *Science.* 2005;310(5746):314-7.
- Ojaimi J, Masters CL, Opeskin K, McKelvie P, Byrne E. Mitochondrial respiratory chain activity in the human brain as a function of age. *Mech Ageing Dev.* 1999;2; 111(1):39-47.
- Payne B.A.I., Wilson I.J., Hateley C.A., Horvath R., Santibanez-Koref, M. Samuels D.C., Price D.A., Chinnery P.F. Mitochondrial aging is accelerated by anti-retroviral therapy through the clonal expansion of mtDNA mutations *Nat. Genet.* 2011;41: 806-810
- Picard M, Ritchie D, Wright KJ, Romestaing C, Thomas MM, Rowan SL, Taivassalo T, Hepple RT. Mitochondrial functional impairment with aging is exaggerated in isolated mitochondria compared to permeabilized myofibers. *Aging Cell.* 2010;9(6):1032-46.
- Radak Z, Zhao Z, Koltai E, Ohno H, Atalay M. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(10):1208-46.
- Ray, A.J.; Turner, R.; Nikaido, O.; Rees, J.L.; Birch-Machin, M.A. The Spectrum of Mitochondrial DNA Deletions is a Ubiquitous Marker of Ultraviolet Radiation Exposure in Human Skin. *J. Investig. Dermatol.* 2000;115:674–679
- Ross J.M., Coppotelli G., Hoffer B.J., Olson L. Maternally transmitted mitochondrial DNA mutations can reduce lifespan *Sci. Rep.* 2014;4:6569.
- Ross J.M., Stewart J.B., Hagström E., Brené S., Mourier A., Coppotelli G., Freyer C., Lagouge M., Hoffer B.J., Olson L., Larsson N.G.. Germline mitochondrial DNA mutations aggravate ageing and can impair brain development. *Nature.* 2013:412-415.
- Sander M, Oxlund B, Jespersen A, et al. The challenges of human population ageing. *Age Ageing* 2015; 44: 185–187

Shigenaga M.K., Hagen T.M., B.N. Ames Oxidative damage and mitochondrial decay in aging Proc. Natl. Acad. Sci. 1994;91:10771-10778

Short KR, Bigelow ML, Kahl J, Singh R, Coenen-Schimke J, Raghavakaimal S, Nair KS. Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. Proc Natl Acad Sci. 2005;12; 102(15):5618-23.

Smith C, Marks AD, Lieberman M (2004). Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach. (Second Edition). Lippincott Williams & Wilkins

Sohl, M.R., Szymanski, A.C. Mislak, C.K, Shumate, S. Amiralaie, R.F. Schinazi, K.S. Anderson, Y.W. Yin Probing the structural and molecular basis of nucleotide selectivity by human mitochondrial DNA polymerase γ Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 112 (2015), pp. 8596-8601

Stocco DM, Cascarano J, Wilson MA. Quantitation of mitochondrial DNA, RNA, and protein in starved and starved-refed rat liver. J Cell Physiol. 1977;90(2):295-306.

Stocco DM, Hutson JC. Quantitation of mitochondrial DNA and protein in the liver of Fischer 344 rats during aging. J Gerontol. 1978;33(6):802-9.

Tauchi H, Sato T. Age changes in size and number of mitochondria of human hepatic cells.

Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink J.N., Rovio A.T., Bruder C.E., Bohlooly-Y M., Gidlöf S., Oldfors A., Wibom R, et al. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase Nature. 2004;429:417-423.

Yan LJ, Sohal RS. Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging.. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;27; 95(22):12896-901.

Yen TC, Chen YS, King KL, Yeh SH, Wei YH. Liver mitochondrial respiratory functions decline with age. Biochem Biophys Res Commun. 1989;29;165(3):944-1003.