

## ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ Nrf2 ОСНОВНЫМ РЕГУЛЯТОРОМ СТАРЕНИЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ?

### Обзор

© 2022 Р.А. Зиновкин<sup>1,2\*</sup>, Н.Д. Кондратенко<sup>1,2,3</sup>, Л.А. Зиновкина<sup>3</sup>

<sup>1</sup> НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,  
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
119991 Москва, Россия; электронная почта: roman.zinovkin@gmail.com

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России,  
Российский геронтологический научно-клинический центр, 129226 Москва, Россия

<sup>3</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 13.09.2022

После доработки 05.11.2022

Принята к публикации 07.11.2022

Транскрипционный фактор Nrf2 давно находится в центре внимания исследователей феномена старения. В многочисленных работах были обнаружены его эффекты как на старение целых организмов, так и на процессы клеточного старения. Транскрипционному фактору Nrf2 зачастую приписывают центральную роль в процессах старения, хотя этот тезис нуждается в доказательствах. Следует отметить, что большинство работ проводили не на млекопитающих, а на беспозвоночных модельных животных, таких как нематоды и дрозофилы. В данном обзоре кратко рассматриваются основные механизмы старения млекопитающих, роль воспалительных реакций и окислительного стресса в процессах старения. Также рассматриваются основные механизмы регуляции активности транскрипционного фактора Nrf2, участие Nrf2 в клеточном старении и появлении секреторного фенотипа, ассоциированного со старением. Основная часть обзора посвящена критическому анализу экспериментальных данных по изучению роли Nrf2 в старении млекопитающих.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** транскрипционный фактор Nrf2, старение, воспаление, окислительный стресс, теории старения, возрастные изменения.

**DOI:** 10.31857/S0320972522120053, **EDN:** NGCFVI

### ВВЕДЕНИЕ

К настоящему моменту опубликовано более полутора тысяч экспериментальных и обзорных работ, посвящённых транскрипционному фактору Nrf2 и старению. Действительно, участие Nrf2 в процессах старения клеток и организма не вызывает сомнений. Зачастую Nrf2 называют «главным регулятором процесса старения» (master regulator of the aging process) [1]. Однако, если какой-либо белок является главным регулятором старения, то его активность должна регулировать работу тех генов, чья экспрессия

меняется с возрастом и напрямую влияет на процессы старения на клеточном и организменном уровнях. Но справедливо ли применять такой термин к Nrf2? Данный обзор не ставит своей целью подробный анализ влияния активации или ингибирования активности Nrf2 на процессы старения, что было сделано ранее [2]. Также настоящий обзор не рассматривает данные, полученные на беспозвоночных животных, поскольку у них механизмы старения могут отличаться от таковых у млекопитающих. Цель настоящего обзора – провести критический анализ роли Nrf2 в старении млекопитающих.

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; КС – клеточное старение; ARE – элемент антиоксидантного ответа; GSK3 $\beta$  – гликогенсинтаза 3 бета; KEAP1 – Kelch-подобный ECH(Nrf2)-ассоциированный белок-1; Nrf2 – родственник эритроидному фактору 2 ядерный фактор 2; p62/SQSTM1 – полиубиквитин-связывающий белок p62/секвестосома 1; SASP – секреторный фенотип, ассоциированный со старением;  $\beta$ -TgCP – белок, содержащий повторы бета-трансламина.

\* Адресат для корреспонденции.

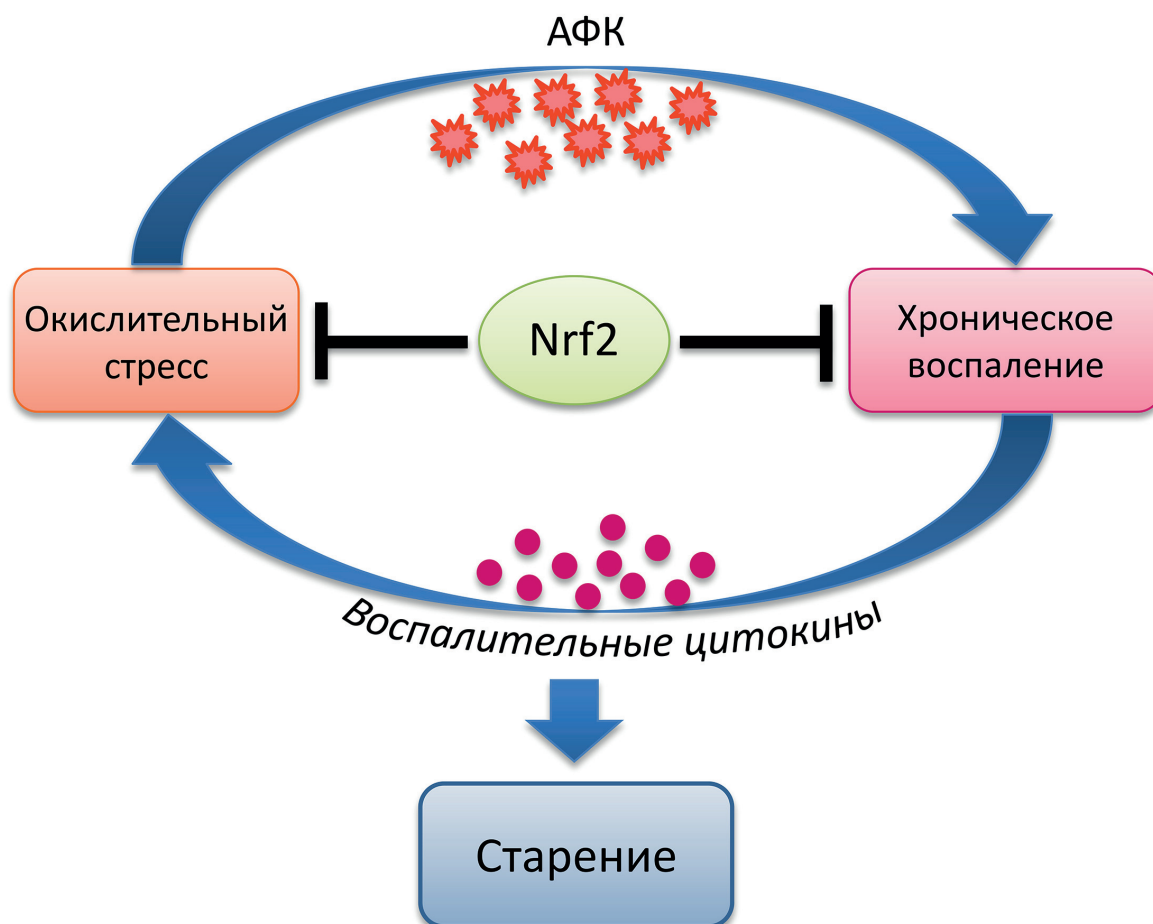
### ТЕОРИИ И МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ

Старение является сложным процессом, затрагивающим практически все клетки организма. В процессе старения развивается митохондриальная дисфункция, нарушается гомеостаз, развивается окислительный стресс, а также изменяется эпигеном, транскриптом и протеомом клеток [3]. Эти изменения происходят на всех уровнях организации живого: молекулярном, клеточном и тканевом. В результате с возрастом экспоненциально возрастает вероятность развития болезней и состояний, угрожающих жизни.

Известно много признаков старения, затрагивающих биохимические и физиологические параметры организма [4]. Одним из важнейших признаков старения является окислительный стресс, под которым подразумевается нарушение баланса между антиоксидантной системой и прооксидантной в пользу последней. Возникающие в результате этого стресса активные формы кислорода (АФК) и азота повреждают нуклеиновые кислоты, ли-

пиды и белки, что приводит к дисфункции клеток и тканей. Широко известная свободнорадикальная теория старения постулирует, что свободные радикалы – основная движущая сила старения [5], хотя эта теория и оспаривается рядом исследователей [6]. Поскольку митохондрии являются основными источниками АФК, воздействие на митохондрии является перспективным подходом в антивозрастной терапии [7]. Ещё один важный признак старения – состояние, называемое «inflammaging» – хроническое воспаление, сопутствующее процессу старения организма [8]. Важно отметить, что между окислительным стрессом и хроническим воспалением существует петля положительной обратной связи: АФК и свободные радикалы являются важными сигнальными молекулами, вызывающими воспалительные реакции, которые, в свою очередь, приводят к образованию АФК и иных радикалов (рис. 1).

Исследование причин и механизмов старения является чрезвычайно актуальной задачей. Существует множество теорий старения,



**Рис. 1.** Схема «порочного круга», состоящего из петли положительной связи между окислительным стрессом и хроническим воспалением. Активация Nrf2 как подход к противозрастной терапии. Подробности в тексте

которые в первом приближении можно классифицировать на теории программируемого старения, теории накопления повреждений, а также объединяющие их комбинированные теории [9].

Теории программируемого старения постулируют, что старение является онтогенетической программой, обеспечивающей организму эволюционное преимущество [10]. Согласно концепции фенотоза, гибель организма запрограммирована в его геноме [11]. Такой подход предполагает, что старение является излечимым состоянием, что открывает новые возможности к предотвращению развития возрастных заболеваний и продлению жизни [12].

Теории накопления повреждений оспаривают постулаты теории программируемого старения, приводя доводы, что старение может объясняться отсутствием естественного отбора на пострепродуктивном этапе жизни и возникать за счёт накопления мутаций и побочных продуктов обмена веществ, которые вызывают повреждение клеток, органов и тканей [13]. Хотя накопление повреждений и является спонтанным энтропийным процессом, его кинетика может регулироваться как генетически, так и под влиянием окружающей среды, что и приводит к различной продолжительности жизни у разных генотипов [14].

Несмотря на различие в определении движущих сил и причин старения, все теории сходятся в том, что продолжительность жизни организма определяется динамическим взаимодействием двух факторов: (1) процесса накопления вредных изменений (за счёт действия программы старения либо накопления повреждений); и (2) противодействующих механизмов восстановления и поддержания гомеостаза (за счёт программы антистарения либо ответа на возникающие стрессы) [13, 15].

Таким образом, независимо от точки зрения на причины старения, в качестве противовосрастной терапии весьма перспективно воздействовать на сигнальные пути, снижающие воспаление и уровень АФК. Одним из таких подходов является активация транскрипционного фактора Nrf2 (рис. 1).

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР Nrf2 И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

Транскрипционный фактор Nrf2 (nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (*NFE2L2*) или NF-E2 related factor 2) является центральным звеном в обеспечении защиты организма от различных воздействий, в том числе от окис-

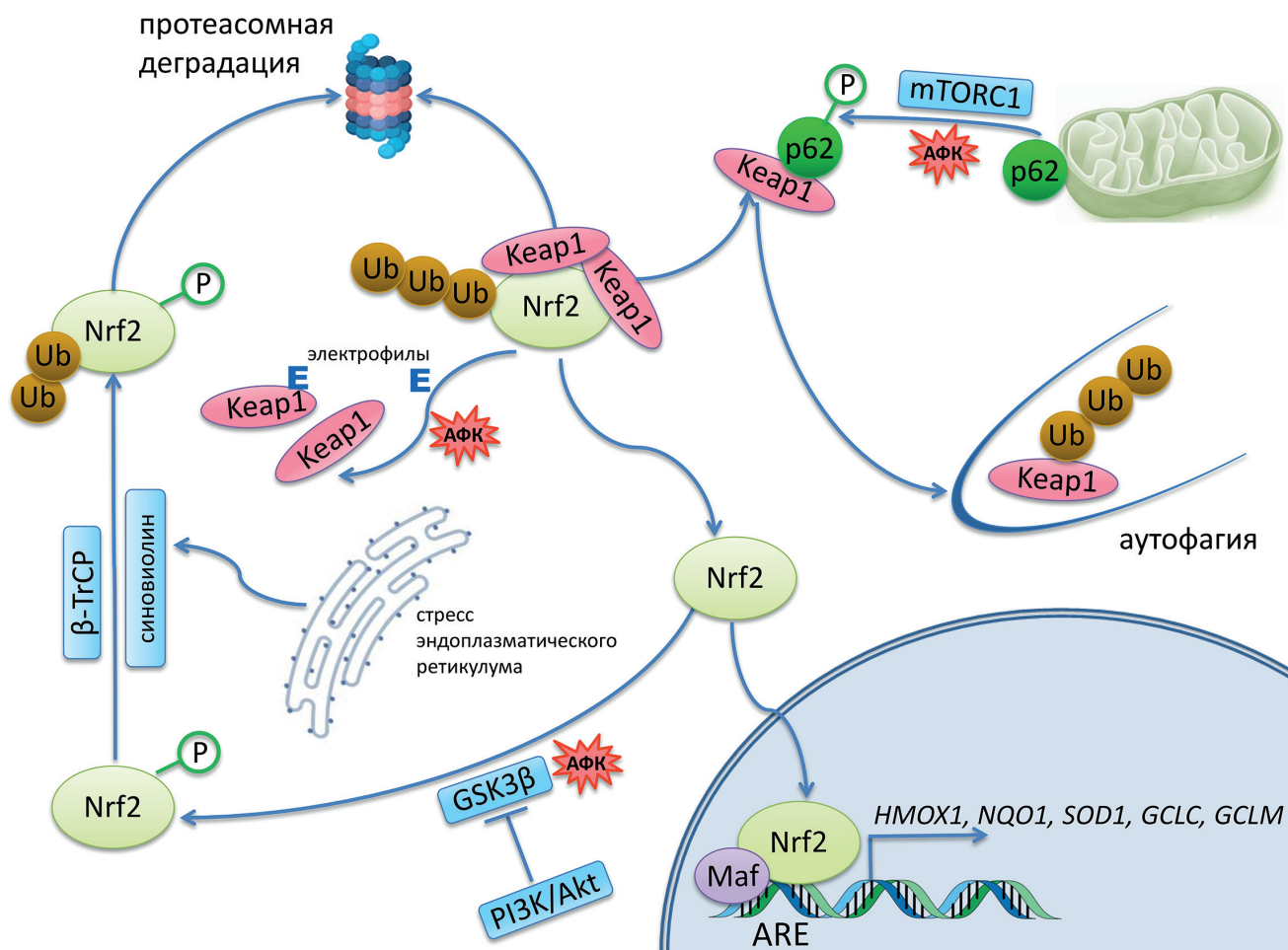
лительного и электрофильного стрессов. Этот транскрипционный фактор относится к семейству основных белков с лейциновой молнией. Nrf2 был открыт более четверти века назад [16] и с тех пор неизменно остаётся в центре внимания исследователей [17].

Nrf2 управляет экспрессией ~250 генов, продукты которых участвуют в антиоксидантном ответе, редокс-гомеостазе, детоксикации токсичных соединений, биогенезе митохондрий и многих других процессах (рис. 2). Активация этих генов защищает клетки от окислительного стресса и развития воспаления [18, 19]. При активации Nrf2 повышается экспрессия гена *HMOX1*, кодирующего гемоксигеназу-1 (HO-1), ответственную за деградацию провоспалительных свободных генов и образование противовоспалительных соединений, таких как угарный газ (CO) и билирубин; NAD(P)H:хинон оксидоредуктазы-1 (*NQO1*), обладающей антиоксидантными активностями; цитоплазматической формы антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы-1 (*SOD1*), а также ключевых ферментов биосинтеза глутатиона (тяжёлой каталитической субъединицы глутамат-цистеинлигазы, *GCLC*, и лёгкой регуляторной субъединицы глутамат-цистеинлигазы, *GCLM*), который является основным клеточным тиолом, необходимым для поддержания редокс-гомеостаза.

Индукция экспрессии Nrf2 также приводит к понижению уровня цитокинов воспаления за счёт эпигенетического сайленсинга соответствующих промоторов в иммунных клетках [20]. Через активацию Nrf2 осуществляет свои противовоспалительные функции и эндогенный метаболит итаконат [21]. Отсутствие Nrf2 у мышей вызывает неконтролируемый воспалительный ответ: активацию клеток врождённого иммунитета, высокую продукцию цитокинов, хемокинов и АФК – все эти факторы способствуют повреждению клеток и тканей [22]. Активация Nrf2 рассматривается как терапевтическая возможность снижения избыточного воспалительного ответа при стерильном воспалении и некоторых вирусных инфекциях [23].

Известно несколько способов регуляции активности Nrf2, который в обычных условиях является короткоживущим белком [24].

Первый (классический) вариант заключается в следующем: в нормальных условиях Nrf2 локализован в цитоплазме и связан со своим ингибитором – белком KEAP1 (Kelch-подобный ECH(Nrf2)-ассоциированный белок-1, Kelch-like ECH (Nrf2) associated protein-1), который стимулирует убиквитинилирование Nrf2



**Рис. 2.** Способы регуляции активности Nrf2. В нормальных условиях Nrf2 в цитоплазме связан со своим ингибитором KEAP1 (Kelch-подобный ECH(Nrf2)-ассоциированный белок-1), который стимулирует его убиквитинилирование и протеасомную деградацию. Окислители или электрофилы (Е) связываются с тиоловыми группами цистеиновых остатков белка KEAP1. В результате Nrf2 накапливается в ядре и связывается с элементами антиоксидантного ответа ARE (antioxidant response elements) – последовательностями в промоторах своих генов-мишеней (*HMOX1*, *NQO1*, *SOD1*, *GCLC*, *GCLM*), стимулируя таким образом их транскрипцию. При окислительном стрессе также происходит фосфорилирование полиубиквитин-связывающего белка p62/секвестосома 1 (p62/SQSTM1), что облегчает его связывание с KEAP1 и приводит к убиквитинилированию и протеасомной деградации последнего. К протеасомной деградации самого Nrf2 приводит связывание с E3 убиквитинлигазами синовиолином и β-TrCP (белок, содержащий повторы бета-транслуцина). Киназа GSK3β (гликогенсинтаза 3 бета) напрямую фосфорилирует Nrf2 и облегчает его взаимодействие с β-TrCP. При окислительном стрессе происходит активация киназ Akt и PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназы), которые ингибируют GSK3β и соответственно протеасомную деградацию Nrf2. Обозначения: Е – электрофил, АФК – активные формы кислорода

и его последующую протеасомную деградацию. Окислители или электрофилы связываются с KEAP1 через SH-группу, в результате чего Nrf2 освобождается от его влияния, избегая деградации, и накапливается в ядре. Там Nrf2 вместе с набором транскрипционных кофакторов, таких как белки Maf, взаимодействует со специфическими последовательностями (ARE) в промоторах генов, стимулируя таким образом их транскрипцию [25]. Важно отметить, что последовательность ARE находится и в промоторе самого *Nrf2*, что обеспечивает петлю положительной обратной связи [26]. Помимо окислителей и электрофилов, индукцию Nrf2 способны вызывать сероводород и некоторые

меркаптаны, восстанавливающие дисульфидные связи белка KEAP1 [27].

Второй вариант активации Nrf2 – деградация KEAP1 с помощью аппарата аутофагии. При этом происходит взаимодействие KEAP1 с убиквитин-связывающим белком p62/SQSTM1, что способствует его деградации в аутофагосоме и активации Nrf2 [28]. В промоторе гена, кодирующего белок p62/SQSTM1, присутствует последовательность ARE, его транскрипция повышается при активации Nrf2, что дополнительно способствует его активации. Окислительный стресс вызывает фосфорилирование Ser349 в мотиве STGE белка p62/SQSTM1 с помощью белка-сенсора mTORC1 (комплекс 1

мишени рапамицина млекопитающих, mammalian target of rapamycin C1). Такое фосфорилирование приводит к увеличению аффинности p62/SQSTM1 к KEAP1 и его эффективному элиминированию [29–32]. Важно отметить, что белок p62/SQSTM1 также обнаруживается на внешней мембране митохондрий и участвует в селективной аутофагии (митофагии) [33]. Взаимодействие KEAP1 с p62 зависит от белка сестрин-2 (SESN2) [34], который также локализован в митохондриях [35].

Третий путь регуляции Nrf2 осуществляется с помощью двух E3 убиквитинлигаз:  $\beta$ -TrCP и синовиолина (также известного как Hrd1). Синовиолин активируется при стрессе эндоплазматического ретикулула (ER-stress), что снижает количество белка Nrf2 [36]. Помимо этого, киназа GSK3 $\beta$  может напрямую фосфорилировать белок Nrf2, что приводит к его узнаванию убиквитинлигазой  $\beta$ -TrCP и последующей деградации [37]. Киназа GSK3 $\beta$  проявляет конститутивную активность и ингибируется киназами PI3K/Akt, которые активируются при окислительном стрессе [38]. Таким образом, при окислительном стрессе происходит ингибирование  $\beta$ -TrCP-зависимой деградации Nrf2.

Помимо этого, киназа GSK3 $\beta$  может фосфорилировать тирозинкиназу Fyn из семейства Src-киназ, что приводит к транслокации Fyn в ядро, где она фосфорилирует Nrf2, вызывая экспорт Nrf2 из ядра [39, 40].

На 5'-конце нетранслируемой области мРНК *Nrf2* находится внутренний сайт посадки рибосомы (IRES), который позволяет быстро производить трансляцию в условиях стресса. Окислительный стресс, вирусная инфекция, тепловой шок, депривация питательных веществ, алкилирующие агенты – все эти воздействия приводят к активации кэп-независимой трансляции через IRES и увеличению количества Nrf2 [41, 42].

### Nrf2 В КЛЕТОЧНОМ СТАРЕНИИ

На клеточном уровне процессы старения выражаются в изменении внеклеточного матрикса, клеточного состава, накоплении повреждения макромолекул, а также в появлении «состаренных клеток». Клеточное старение (КС, cell senescence) – это остановка деления клеток, которая происходит в нормально функционирующих тканях при достижении предела Хейфлика. КС может быть также инициировано целым рядом факторов: повреждением ДНК, окислительным стрес-

сом, дисфункцией митохондрий, активацией онкогенов [43]. С одной стороны, феномен КС является фундаментальным биологическим процессом, который полезен для организма, так как он обеспечивает защиту от онкогенной трансформации. С другой стороны, состаренные клетки синтезируют провоспалительные цитокины и матриксные металлопротеиназы, что вызывает воспаление и локальную дисфункцию тканей [44, 45]. Такое состояние называется секреторным фенотипом, ассоциированным со старением (SASP). Хотя SASP и вносит заметный вклад в хроническое воспаление, его действие этим не ограничивается, а носит сложный плеiotропный характер, который подробно изложен в недавнем обзоре Birch и Gil [46]. Уничтожение клеток с SASP приводит к восстановлению функций органов и тканей и является перспективным подходом в борьбе против старения [47].

Nrf2 широко известен как фактор, ингибирующий процессы КС. Nrf2 влияет на многочисленные сигнальные пути, включающие антиоксидантную систему, аутофагию, систему мониторинга целостности генома с помощью p53, AMP-активируемой протеинкиназы (AMPK), транскрипционного фактора «каппа-би» (NF- $\kappa$ B), и др. (см. обзор Yuan et al. [48]). Активность Nrf2 уменьшается при старении фибробластов человека, его сайленсинг индуцирует преждевременное старение, а фармакологическая активация Nrf2 увеличивает продолжительность жизни клеток [49]. В соответствии с этими данными, негативный регулятор Nrf2 кавеолин-1 (caveolin-1) также вызывал преждевременное старение фибробластов [50]. В состоянии покоя Nrf2 частично локализуется в кавеолах – инвагинациях плазматической мембраны, где он находится в комплексе со своим эндогенным ингибитором кавеолином-1. При окислительном стрессе кавеолин-1 ограничивает миграцию Nrf2 в ядро, тем самым предотвращая активацию генов-мишеней Nrf2. При сверхэкспрессии кавеолина на фоне окислительного стресса происходит ингибирование Nrf2-сигналинга и развитие преждевременного старения клеток [50]. Парадоксальным образом у мышей с делецией участка *Nrf2*, ответственного за связывание с KEAP1, перманентная активация Nrf2 приводит к преждевременному старению фибробластов и повышает вероятность развития раковых заболеваний [51]. При этом большинство исследователей полагают, что активация Nrf2 изначально мешает онкогенной трансформации клеток, но помогает выжить уже возникшим

раковым клеткам, предотвращая их гибель за счёт снижения окислительного стресса и элиминации химиопрепаратов. Более подробно неоднозначная роль Nrf2 в онкогенезе рассматривается в обзоре Wu et al. [52].

С одной стороны, имеется множество экспериментальных свидетельств, что активация Nrf2 снижает окислительный стресс, замедляет КС и уменьшает фенотип SASP [53–57]. Тем не менее имеются данные, что избыточная активация Nrf2 может вызывать окислительный стресс за счёт увеличения активности NADPH-оксидазы NOX4 [58], что может способствовать КС. Таким образом, продолжительность и амплитуда активации Nrf2 чрезвычайно важны для регуляции уровня АФК и КС.

### СТАРЕНИЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И АКТИВНОСТЬ Nrf2

В пионерской работе Suh et al. [59] было показано, что при старении у крыс снижается как количество Nrf2, так и его транскрипционная активность, что приводит к уменьшению экспрессии ферментов биосинтеза глутатиона, и, как следствие, понижению его количества, что способствует развитию окислительного стресса. Впоследствии ряд работ прямо или косвенно связали снижение активности Nrf2 со старением организма [60]. В скелетных мышцах пожилых людей, ведущих сидячий образ жизни, активность Nrf2 снижена [61]. В миокарде старых мышей транскрипционная активность Nrf2 снижалась, но её можно было восстановить умеренными физическими нагрузками [62].

Количество Nrf2 или его активность также снижались с возрастом в спинном мозге мышей [63], эндотелии сосудов [64], ткани языка крыс [65], печени крыс [66], а также в эпителиальных клетках бронхов человека [67]. Тем не менее до сих пор имеется лишь небольшое количество экспериментальных работ, в которых измеряли возрастное изменение активности Nrf2 в органах и тканях млекопитающих [2]. При этом в некоторых работах не было обнаружено возрастного снижения Nrf2 в артериях макаков [68]. А в других работах, напротив, детектировали увеличение активности Nrf2 в гладкомышечных клетках сосудов старых крыс [69]. Требуется дальнейшие усилия исследователей для заполнения этого пробела.

Несмотря на имеющиеся экспериментальные несоответствия, можно сделать предположение, что возрастное уменьшение активности Nrf2 носит универсальный межвидовой

характер: грызуны с высокой активностью Nrf2 обладают большей продолжительностью жизни, чем грызуны с низкой активностью [70]. Подобная ситуация наблюдается и у птиц – животных с высокой метаболической активностью и продукцией АФК, но парадоксально большой продолжительностью жизни. У клады Neoaaves, представляющей до 95% всех видов птиц, система Nrf2 постоянно активирована, что, как предполагается, обеспечивает адаптацию птиц к высоким уровням АФК и, как следствие, высокую продолжительность жизни [71]. Активация этой системы произошла за счёт мутации гена *KEAP1* у предка Neavian, что нарушило репрессию Nrf2 с помощью KEAP1 в тканях и клетках диких Neoaaves [71]. Однако среди представителей клады Neoaaves доля видов с высокой продолжительностью жизни является не очень большой [72]. При этом другие виды птиц, которые не относятся к этой кладе, например лебеди, характеризуются высокой продолжительностью жизни [73]. Таким образом, повышенная активация Nrf2 у птиц не может служить единственным объяснением феномена высокой продолжительности жизни.

Генетический нокаут *Nrf2* обычно приводит к усилению старческого фенотипа в самых разных органах и тканях животных: гиппокампе [74], скелетных мышцах [75, 76], сетчатке [77], слуховой системе [78], а также уменьшает продолжительность жизни самок мышей [79]. Как правило, эти изменения сопровождаются воспалительными реакциями и повышением уровня АФК, в том числе митохондриальных. Тем не менее существуют и противоположные примеры влияния нокаута *Nrf2* на окислительный стресс и признаки старения. Так, например, нокаут *Nrf2* у стареющих мышей уменьшил отложение ионов железа в головном мозге, понизил уровень окислительного повреждения в полосатом теле, а также смягчил возрастную двигательную дисфункцию [80]. Авторы связывают этот эффект со снижением экспрессии в эндотелии головного мозга гена ферропонтинина 1, находящегося под контролем Nrf2: у нокаутных животных уменьшение ферропонтинина в мозге приводит к уменьшению отложения железа и, соответственно, снижается окислительный стресс. Следовательно, действие транскрипционного фактора Nrf2 на уровне организма было бы неверно рассматривать как исключительно антиоксидантное, противовоспалительное и в конечном счёте антивозрастное. Под контролем Nrf2 находится множество генов, продукты которых оказывают на организм сложное, плейотропное действие. Так, избыточная ак-

тивация Nrf2 в печени мышей приводит к развитию гепатомегалии за счёт активации сигнального пути Akt [81].

Активация Nrf2 химическим или генетическим путём может приводить к уменьшению признаков старения. К сожалению, до сих пор не было проведено экспериментов по использованию химических индукторов Nrf2 как противовозрастных препаратов. При этом активация Nrf2 с помощью электрофилов из экстрактов растений (протандимом (Protandim)) увеличила медианную продолжительность жизни мышей, правда, только самцов [82].

Рапамицин является одним из немногих соединений, чья способность продлевать жизнь модельным животным подтверждается многими независимыми исследованиями [83]. Хотя основной мишенью рапамицина является mTOR, рапамицин также способен активировать Nrf2 [84], но это свойство оказалось не обязательным для предотвращения процессов КС *in vitro*.

Ещё один известный кандидат на «лекарство против старения» – антидиабетический препарат метформин, чьё действие на продолжительность жизни было проверено во множестве экспериментов [85]. Интересно, что метформин также способен активировать Nrf2 у *Caenorhabditis elegans* [86], но, по-видимому, у мышей метформин обладает противоположным эффектом, ингибируя Nrf2 в мозге [87].

Перманентная активация Nrf2 путём генетического нокаута его негативного регулятора *KEAP1* крайне неблагоприятна для организма: новорождённые нокаутные мыши быстро умирают от голода, скорее всего, из-за повышения экспрессии  $\alpha$ -кератинов и последующего кератоза желудочно-кишечного тракта [88]. У мышей со сниженной экспрессией *KEAP1* уровень активации Nrf2 повышается не так сильно, как у нокаутных животных, что даёт возможность исследовать вклад Nrf2 в возрастные изменения. У таких мышей действительно замедлено развитие некоторых признаков старения: замедлено прогрессирование возрастной потери слуха [89], менее выражены старческие изменения в слюнных железах [90]. Можно было бы ожидать, что такие животные будут обладать большей продолжительностью жизни, но экспериментальных доказательств этого до сих пор нет. Напротив, по предварительным данным, снижение экспрессии *KEAP1* приводит к уменьшению выживаемости в когорте двухлетних мышей [91]. Дополнительной проблемой в трактовке действия Nrf2 на продолжительность жизни является факт, что *KEAP1* взаимодействует не

только с Nrf2, но и с другими клеточными субстратами [92, 93].

При этом есть косвенные указания, что повышение активности Nrf2 действительно может продлевать жизнь: так происходит у мышей, нокаутных по гену, кодирующему глутатион-трансферазу mGSTA4-4 (изоформа A4-4 глутатион-S-трансферазы млекопитающих) [94]. Поскольку этот фермент обеспечивает детоксикацию конечного продукта окисления липидов, 4-гидроксиноненаля (4-HNE), ожидалось, что делеция кодирующего его гена будет способствовать накоплению окислительных повреждений и сокращению жизни. Вероятно, компенсаторная активация Nrf2 у этих мышей не только способствовала детоксикации 4-HNE, но и замедлила процессы старения.

Важным модельным организмом для изучения старения и роли митохондрий в этом процессе являются так называемые быстро стареющие «мутаторные» мыши. Эти трансгенные животные экспрессируют митохондриальную ДНК-полимеразу гамма без корректирующей 3'-5'-экзонуклеазной активности, что приводит к накоплению мутаций в мтДНК, дисфункции дыхательной цепи, окислительному стрессу и преждевременному старению [95, 96]. Снижение митохондриального окислительного стресса с помощью митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 (пластохинолил-10(6'-децилтрифенил)фосфоний) продлевает жизнь животным [97]. Довольно неожиданное участие Nrf2 в старении мутаторных мышей было обнаружено в недавней работе Lei et al. [98]: оказалось, что мтДНК выходит из митохондрий в цитоплазму, активирует интерфероновый ответ, который ингибирует Nrf2, что ведёт к усилению окислительного стресса и ускоренному старению.

Голый землекоп широко известен как долгоживущее животное, устойчивое к раку и возрастным заболеваниям, а также обладающее признаками неотении, что может объяснять его феноменальную продолжительность жизни [99]. Относительно других грызунов у голых землекопов повышен базовый уровень Nrf2, в том числе имеется больше Nrf2 в ядре, повышена способность Nrf2 связываться с ARE и, соответственно, выше уровень экспрессии подконтрольных ему генов [70, 100]. Исследователи предполагают, что Nrf2 вносит значительный вклад в обеспечении высокой продолжительности жизни голого землекопа [101].

Одним из немногих надёжных способов продления жизни животных является ограничение питания. В работе Pearson et al. [102] было установлено, что ограничение калорий-

ности продлевает жизнь и нокаутным по *Nrf2* мышам, следовательно, *Nrf2* не принимает участия в обеспечении продления жизни, вызываемого ограничением питания.

Про роль *Nrf2* в старении человека известно немного. Предполагается, что у долгожителей может быть повышена активность *Nrf2* за счёт специфической диеты, содержащей его индукторы, и что именно *Nrf2* может играть ключевую роль в такой большой продолжительности жизни [103]. Тем не менее до сих пор нет экспериментальных свидетельств, что у долгожителей действительно повышена активность *Nrf2*.

### ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПРОФИЛЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И *Nrf2*

Логично предположить, что если *Nrf2* действительно является одним из центральных регуляторов старения, то профиль экспрессии регулируемых им генов в стареющих тканях должен изменяться соответствующим образом. К настоящему времени накоплены многочисленные омиксные данные по возрастным изменениям в различных тканях и органах. Некоторые из этих изменений действительно имеют признаки ослабления транскрипционной активности *Nrf2*. Так, например, транскриптомные данные указывают, что в мозгах нокаутных по *Nrf2* мышей наблюдаются такие изменения сигнальных путей, которые типичны для мозга пожилых людей [104].

Однако подавляющее большинство исследований, использующих непредвзятый подход к анализу паттернов старческих изменений, не обнаруживают признаков заметного изменения активности транскрипционного фактора *Nrf2*. Транскриптомный анализ образцов кожи человека (30–45 лет) демонстрирует центральную роль TNF (фактора некроза опухоли), p53 и NF-κB в возрастных изменениях [105]. Независимый метаанализ баз данных по 18 тканям людей различного возраста не обнаружил *Nrf2* среди транскрипционных факторов, контролирующих транскрипцию генов, экспрессия которых изменяется с возрастом [106], что соответствует более ранним работам (см. обзор Stegeman и Weake [107]). Полномасштабный эпигеномный и транскриптомный ландшафт четырёх тканей при старении мыши выявил индукцию воспалительного ответа, но не активацию *Nrf2* [108]. Системный анализ возрастных изменений в протеоме человека также не выявил изменения количества белков, являющихся продук-

тами мишеней *Nrf2* [109]. Обнаружение так называемых «эпигенетических часов», отражающих биологический возраст человека и животных [110], также, к сожалению, не позволило выявить транскрипционные факторы, чья активность меняется со старением [111].

Следует отметить, что омиксные технологии, описывающие старение людей и животных, сталкиваются с рядом объективных трудностей. Во-первых, разный генетический бэкграунд и разный образ жизни вносит значительный вклад в детектируемые изменения. Во-вторых, неизбежные старческие болезни и патологии также изменяют профили экспрессии генов. В-третьих, клеточный состав тканей значительно меняется с возрастом, что безусловно, искажает картину происходящего. К сожалению, в большинстве исследований не проводилось предварительной сортировки клеток, что не позволяет сделать однозначные выводы. Наконец, активация *Nrf2* может носить транзистентный характер, т.е. быстро возрастать и так же быстро снижаться. На этот процесс могут влиять различные факторы, такие как диета и употребление лекарственных средств. Например, употребление побегов брокколи, содержащих сульфорафан (индуктор *Nrf2*), повышает его экспрессию в крови людей [112], а многие лекарственные средства являются известными активаторами *Nrf2* [113].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Старение организмов сопровождается: (1) накоплением окислительных повреждений и (2) повышением уровня воспаления. Активация транскрипционного фактора *Nrf2* может повлиять на оба эти фактора, замедлив развитие старческих изменений. Косвенным подтверждением этого предположения является тот факт, что долгоживущие животные, такие как голый землекоп, имеют повышенный уровень активации *Nrf2*. Важным направлением исследований должно стать получение независимых экспериментальных данных о возрастной динамике изменения активности *Nrf2* у животных и человека, так как имеется недостаток данных подобного рода.

Заманчиво предположить, что людям для успешной борьбы со старением, подобно голым землекопам, необходимо научиться должным образом активировать *Nrf2*. Однако следует учесть, что долгоживущие организмы эволюционно адаптировались к высокой активности *Nrf2* и произвели тонкую настройку сложной системы взаимодействий сигналь-



ных и метаболических путей. Поэтому простая фармакологическая активация Nrf2 с целью продления жизни представляется не самым перспективным подходом, несущим риски серьёзных побочных эффектов. Более того, в литературе отсутствуют надёжные данные, однозначно доказывающие, что активация Nrf2 действительно приводит к увеличению продолжительности жизни млекопитающих.

Старение сопровождается изменением профиля экспрессии генов, который является ткане- и видоспецифичным. Эти изменения лишь в небольшой степени соответствуют паттерну генов, контролируемых Nrf2. Таким образом, в настоящий момент нельзя сделать вывод, что Nrf2 является «главным регулятором процесса старения».

**Вклад авторов.** Р.А. Зиновкин – концепция обзора; Л.А. Зиновкина – подготовка рисунков; Р.А. Зиновкин, Л.А. Зиновкина и Н.Д. Кондратенко – написание и редактирование текста.

**Благодарности.** Авторы благодарны господину Е.С. Егорову за помощь в редактировании статьи. Работа осуществлена при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания выполненных автором исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lewis, K. N., Mele, J., Hayes, J. D., and Buffenstein, R. (2010) Nrf2, a guardian of healthspan and gatekeeper of species longevity, *Integr. Comp. Biol.*, **50**, 829-843, doi: 10.1093/icb/icq034.
- Shilovsky, G. A. (2022) Lability of the Nrf2/Keap/ARE cell defense system in different models of cell aging and age-related pathologies, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 70-85, doi: 10.1134/S0006297922010060.
- Van der Rijt, S., Molenaars, M., McIntyre, R. L., Janssens, G. E., and Houtkooper, R. H. (2020) Integrating the hallmarks of aging throughout the tree of life: a focus on mitochondrial dysfunction, *Front. Cell Dev. Biol.*, **8**, 594416, doi: 10.3389/fcell.2020.594416.
- Moskalev, A. (2019) *Biomarkers of Human Aging*, Springer International Publishing, doi: 10.1007/978-3-030-24970-0.
- Harman, D. (1955) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry, *J. Gerontol.*, **3**, 298-300, doi: 10.1093/geronj/11.3.298.
- Gladyshev, V. N. (2014) The free radical theory of aging is dead. Long live the damage theory! *Antioxid. Redox Signal.*, **20**, 727-731, doi: 10.1089/ars.2013.5228.
- Skulachev, V. P., Anisimov, V. N., Antonenko, Y. N., Bakeeva, L. E., Chernyak, B. V., Elichev, V. P., et al. (2009) An attempt to prevent senescence: a mitochondrial approach, *Biochim. Biophys. Acta*, **1787**, 437-461, doi: 10.1016/j.bbabi.2008.12.008.
- Franceschi, C., Capri, M., Monti, D., Giunta, S., Olivieri, F., Sevini, F., et al. (2007) Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans, *Mech. Ageing Dev.*, **128**, 92-105, doi: 10.1016/j.mad.2006.11.016.
- Da Costa, J. P., Vitorino, R., Silva, G. M., Vogel, C., Duarte, A. C., and Rocha-Santos, T. (2016) A synopsis on aging-theories, mechanisms and future prospects, *Ageing Res. Rev.*, **29**, 90-112, doi: 10.1016/j.arr.2016.06.005.
- Longo, V. D., Mitteldorf, J., and Skulachev, V. P. (2005) Programmed and altruistic ageing, *Nat. Rev. Genet.*, **6**, 866-872, doi: 10.1038/nrg1706.
- Skulachev, V. P. (1999) Phenoptosis: programmed death of an organism, *Biochemistry (Moscow)*, **64**, 1418-1426.
- Goldsmith, T. C. (2016) Evolution of aging theories: why modern programmed aging concepts are transforming medical research, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 1406-1412, doi: 10.1134/S0006297916120026.
- Johnson, F. B., Sinclair, D. A., and Guarente, L. (1999) Molecular biology of aging, *Cell*, **96**, 291-302, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80567-x.
- Carlos Aledo, J., and Maria Blanco, J. (2015) Aging is neither a failure nor an achievement of natural selection, *Curr. Aging Sci.*, **8**, 4-10, doi: 10.2174/1874609808666150421130033.
- Skulachev, M. V., and Skulachev, V. P. (2017) Programmed aging of mammals: proof of concept and prospects of biochemical approaches for anti-aging therapy, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 1403-1422, doi: 10.1134/S000629791712001X.
- Moi, P., Chan, K., Asunis, I., Cao, A., and Kan, Y. W. (1994) Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 9926-9930, doi: 10.1073/pnas.91.21.9926.
- Liu, T., Lv, Y.-F., Zhao, J.-L., You, Q.-D., and Jiang, Z.-Y. (2021) Regulation of Nrf2 by phosphorylation: Consequences for biological function and therapeutic

- implications, *Free Radic. Biol. Med.*, **168**, 129-141, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.03.034.
18. Ahmed, S. M. U., Luo, L., Namani, A., Wang, X. J., and Tang, X. (2017) Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation, *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Bas. Dis.*, **1863**, 585-597, doi: 10.1016/j.bbadis.2016.11.005.
19. Chen, Q. M. (2021) Nrf2 for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress, *Trends Pharmacol. Sci.*, **42**, 729-744, doi: 10.1016/j.tips.2021.06.005.
20. Kobayashi, E. H., Suzuki, T., Funayama, R., Nagashima, T., Hayashi, M., Sekine, H., et al. (2016) Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription, *Nat. Commun.*, **7**, 11624, doi: 10.1038/ncomms11624.
21. Mills, E. L., Ryan, D. G., Prag, H. A., Dikovskaya, D., Menon, D., Zaslona, Z., et al. (2018) Itaconate is an anti-inflammatory metabolite that activates Nrf2 via alkylation of KEAP1, *Nature*, **556**, 113-117, doi: 10.1038/nature25986.
22. Kensler, T. W., Wakabayashi, N., and Biswal, S. (2007) Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **47**, 89-116, doi: 10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141046.
23. Zinovkin, R. A., and Grebenchikov, O. A. (2020) Transcription factor Nrf2 as a potential therapeutic target for prevention of cytokine storm in COVID-19 patients, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 833-837, doi: 10.1134/S0006297920070111.
24. Katoh, Y., Iida, K., Kang, M.-I., Kobayashi, A., Mizukami, M., Tong, K. I., et al. (2005) Evolutionary conserved N-terminal domain of Nrf2 is essential for the Keap1-mediated degradation of the protein by proteasome, *Arch. Biochem. Biophys.*, **433**, 342-350, doi: 10.1016/j.abb.2004.10.012.
25. Motohashi, H., and Yamamoto, M. (2004) Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism, *Trends Mol. Med.*, **10**, 549-557, doi: 10.1016/j.molmed.2004.09.003.
26. Kwak, M.-K., Itoh, K., Yamamoto, M., and Kensler, T. W. (2002) Enhanced expression of the transcription factor Nrf2 by cancer chemopreventive agents: role of antioxidant response element-like sequences in the nrf2 promoter, *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 2883-2892, doi: 10.1128/mcb.22.9.2883-2892.2002.
27. Xie, L., Gu, Y., Wen, M., Zhao, S., Wang, W., Ma, Y., et al. (2016) Hydrogen sulfide induces Keap1 S-sulfhydration and suppresses diabetes-accelerated atherosclerosis via Nrf2 activation, *Diabetes*, **65**, 3171-3184, doi: 10.2337/db16-0020.
28. Jiang, T., Harder, B., Rojo de la Vega, M., Wong, P. K., Chapman, E., and Zhang, D. D. (2015) p62 links autophagy and Nrf2 signaling, *Free Radic. Biol. Med.*, **88**, 199-204, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.014.
29. Hay, N., and Sonenberg, N. (2004) Upstream and downstream of mTOR, *Genes Dev.*, **18**, 1926-1945, doi: 10.1101/gad.1212704.
30. Kim, D.-H., Sarbassov, D. D., Ali, S. M., King, J. E., Latek, R. R., Erdjument-Bromage, H., et al. (2002) mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery, *Cell*, **110**, 163-175, doi: 10.1016/s0092-8674(02)00808-5.
31. Ichimura, Y., Waguri, S., Sou, Y.-S., Kageyama, S., Hasegawa, J., Ishimura, R., et al. (2013) Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy, *Mol. Cell*, **51**, 618-631, doi: 10.1016/j.molcel.2013.08.003.
32. Saito, T., Ichimura, Y., Taguchi, K., Suzuki, T., Mizushima, T., Takagi, K., et al. (2016) p62/Sqstm1 promotes malignancy of HCV-positive hepatocellular carcinoma through Nrf2-dependent metabolic reprogramming, *Nat. Commun.*, **7**, 12030, doi: 10.1038/ncomms12030.
33. Ma, K., Chen, G., Li, W., Kepp, O., Zhu, Y., and Chen, Q. (2020) Mitophagy, mitochondrial homeostasis, and cell fate, *Front. Cell Dev. Biol.*, **8**, 467, doi: 10.3389/fcell.2020.00467.
34. Fan, Y., Xing, Y., Xiong, L., and Wang, J. (2020) Sestrin2 overexpression alleviates hydrogen peroxide-induced apoptosis and oxidative stress in retinal ganglion cells by enhancing Nrf2 activation via Keap1 downregulation, *Chem. Biol. Interact.*, **324**, 109086, doi: 10.1016/j.cbi.2020.109086.
35. Kovaleva, I. E., Tokarchuk, A. V., Zheltukhin, A. O., Dalina, A. A., Safronov, G. G., Evstafieva, A. G., et al. (2020) Mitochondrial localization of SESN2, *PLoS One*, **15**, e0226862, doi: 10.1371/journal.pone.0226862.
36. Wu, T., Zhao, F., Gao, B., Tan, C., Yagishita, N., Nakajima, T., et al. (2014) Hrd1 suppresses Nrf2-mediated cellular protection during liver cirrhosis, *Genes Dev.*, **28**, 708-722, doi: 10.1101/gad.238246.114.
37. Chowdhry, S., Zhang, Y., McMahon, M., Sutherland, C., Cuadrado, A., and Hayes, J. D. (2013) Nrf2 is controlled by two distinct  $\beta$ -TrCP recognition motifs in its Neh6 domain, one of which can be modulated by GSK-3 activity, *Oncogene*, **32**, 3765-3781, doi: 10.1038/onc.2012.388.
38. Purdom-Dickinson, S. E., Sheveleva, E. V., Sun, H., and Chen, Q. M. (2007) Translational control of nrf2 protein in activation of antioxidant response by oxidants, *Mol. Pharmacol.*, **72**, 1074-1081, doi: 10.1124/mol.107.035360.
39. Shang, G., Tang, X., Gao, P., Guo, F., Liu, H., Zhao, Z., et al. (2015) Sulforaphane attenuation of experimental diabetic nephropathy involves GSK-3 beta/Fyn/Nrf2 signaling pathway, *J. Nutr. Biochem.*, **26**, 596-606, doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.12.008.
40. Culbreth, M., Zhang, Z., and Aschner, M. (2017) Methylmercury augments Nrf2 activity by downregulation of the Src family kinase Fyn, *Neurotoxicology*, **62**, 200-206, doi: 10.1016/j.neuro.2017.07.028.

41. Li, W., Thakor, N., Xu, E. Y., Huang, Y., Chen, C., Yu, R., et al. (2010) An internal ribosomal entry site mediates redox-sensitive translation of Nrf2, *Nucleic Acids Res.*, **38**, 778-788, doi: 10.1093/nar/gkp1048.
42. Lee, S. C., Zhang, J., Strom, J., Yang, D., Dinh, T. N., Kappeler, K., et al. (2017) G-quadruplex in the NRF2 mRNA 5' untranslated region regulates *de novo* NRF2 protein translation under oxidative stress, *Mol. Cell. Biol.*, **37**, e00122-16, doi: 10.1128/MCB.00122-16.
43. Kumari, R., and Jat, P. (2021) Mechanisms of cellular senescence: cell cycle arrest and senescence associated secretory phenotype, *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 645593, doi: 10.3389/fcell.2021.645593.
44. Rodier, F., Coppé, J.-P., Patil, C. K., Hoeijmakers, W. A. M., Muñoz, D. P., Raza, S. R., et al. (2009) Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion, *Nat. Cell Biol.*, **11**, 973-979, doi: 10.1038/ncb1909.
45. Coppé, J.-P., Patil, C. K., Rodier, F., Sun, Y., Muñoz, D. P., Goldstein, J., et al. (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor, *PLoS Biol.*, **6**, 2853-2868, doi: 10.1371/journal.pbio.0060301.
46. Birch, J., and Gil, J. (2020) Senescence and the SASP: many therapeutic avenues, *Genes Dev.*, **34**, 1565-1576, doi: 10.1101/gad.343129.120.
47. Cai, Y., Zhou, H., Zhu, Y., Sun, Q., Ji, Y., Xue, A., et al. (2020) Elimination of senescent cells by  $\beta$ -galactosidase-targeted prodrug attenuates inflammation and restores physical function in aged mice, *Cell Res.*, **30**, 574-589, doi: 10.1038/s41422-020-0314-9.
48. Yuan, H., Xu, Y., Luo, Y., Wang, N.-X., and Xiao, J.-H. (2021) Role of Nrf2 in cell senescence regulation, *Mol. Cell. Biochem.*, **476**, 247-259, doi: 10.1007/s11010-020-03901-9.
49. Kapeta, S., Chondrogianni, N., and Gonos, E. S. (2010) Nuclear erythroid factor 2-mediated proteasome activation delays senescence in human fibroblasts, *J. Biol. Chem.*, **285**, 8171-8184, doi: 10.1074/jbc.M109.031575.
50. Volonte, D., Liu, Z., Musille, P. M., Stoppani, E., Wakabayashi, N., Di, Y.-P., et al. (2013) Inhibition of nuclear factor-erythroid 2-related factor (Nrf2) by caveolin-1 promotes stress-induced premature senescence, *Mol. Biol. Cell*, **24**, 1852-1862, doi: 10.1091/mbc.E12-09-0666.
51. Hiebert, P., Wietecha, M. S., Cangkrama, M., Haertel, E., Mavrogonatou, E., Stumpe, M., et al. (2018) Nrf2-mediated fibroblast reprogramming drives cellular senescence by targeting the matrisome, *Dev. Cell*, **46**, 145-161.e10, doi: 10.1016/j.devcel.2018.06.012
52. Wu, S., Lu, H., and Bai, Y. (2019) Nrf2 in cancers: a double-edged sword, *Cancer Med.*, **8**, 2252-2267, doi: 10.1002/cam4.2101.
53. Zhou, T., Zhang, M., Zhao, L., Li, A., and Qin, X. (2016) Activation of Nrf2 contributes to the protective effect of Exendin-4 against angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell senescence, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **311**, C572-C582, doi: 10.1152/ajpcell.00093.2016.
54. Romero, A., San Hipólito-Luengo, Á., Villalobos, L. A., Vallejo, S., Valencia, I., Michalska, P., et al. (2019) The angiotensin-(1-7)/Mas receptor axis protects from endothelial cell senescence via klotho and Nrf2 activation, *Aging Cell*, **18**, e12913, doi: 10.1111/ace1.12913.
55. Wang, Z., Chen, Z., Jiang, Z., Luo, P., Liu, L., Huang, Y., et al. (2019) Cordycepin prevents radiation ulcer by inhibiting cell senescence via NRF2 and AMPK in rodents, *Nat. Commun.*, **10**, 2538, doi: 10.1038/s41467-019-10386-8.
56. Chen, L., Yang, R., Qiao, W., Zhang, W., Chen, J., Mao, L., et al. (2019) 1,25-Dihydroxyvitamin D exerts an antiaging role by activation of Nrf2-antioxidant signaling and inactivation of p16/p53-senescence signaling, *Aging Cell*, **18**, e12951, doi: 10.1111/ace1.12951.
57. Lu, D., Le, Y., Ding, J., Dou, X., Mao, W., and Zhu, J. (2021) CLIC1 Inhibition protects against cellular senescence and endothelial dysfunction via the Nrf2/HO-1 pathway, *Cell Biochem. Biophys.*, **79**, 239-252, doi: 10.1007/s12013-020-00959-6.
58. Kovac, S., Angelova, P. R., Holmström, K. M., Zhang, Y., Dinkova-Kostova, A. T., and Abramov, A. Y. (2015) Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase, *Biochim. Biophys. Acta*, **1850**, 794-801, doi: 10.1016/j.bbagen.2014.11.021.
59. Suh, J. H., Shenvi, S. V., Dixon, B. M., Liu, H., Jaiswal, A. K., Liu, R.-M., et al. (2004) Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 3381-3386, doi: 10.1073/pnas.0400282101.
60. Matsumaru, D., and Motohashi, H. (2021) The KEAP1-NRF2 system in healthy aging and longevity, *Antioxidants (Basel)*, **10**, 1929, doi: 10.3390/antiox10121929.
61. Safdar, A., deBeer, J., and Tarnopolsky, M. A. (2010) Dysfunctional Nrf2-Keap1 redox signaling in skeletal muscle of the sedentary old, *Free Radic. Biol. Med.*, **49**, 1487-1493, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.08.010.
62. Gounder, S. S., Kannan, S., Devadoss, D., Miller, C. J., Whitehead, K. J., Odelberg, S. J., et al. (2012) Impaired transcriptional activity of Nrf2 in age-related myocardial oxidative stress is reversible by moderate exercise training, *PLoS One*, **7**, e45697, doi: 10.1371/journal.pone.0045697.
63. Duan, W., Zhang, R., Guo, Y., Jiang, Y., Huang, Y., Jiang, H., et al. (2009) Nrf2 activity is lost in the spinal cord and its astrocytes of aged mice, *In vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, **45**, 388-397, doi: 10.1007/s11626-009-9194-5.
64. Ungvari, Z., Bailey-Downs, L., Sosnowska, D., Gautam, T., Koncz, P., Losonczy, G., et al. (2011) Vascular oxidative stress in aging: a homeostatic failure

- due to dysregulation of NRF2-mediated antioxidant response, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **301**, H363-H372, doi: 10.1152/ajpheart.01134.2010.
65. Baek, M.-K., Lee, H., Kim, K.-O., Kwon, H.-J., Chung, M.-H., Park, H.-M., et al. (2017) Age-related changes in nuclear factor erythroid 2-related factor 2 and reactive oxygen species and mitochondrial structure in the tongues of Fischer 344 rats, *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.*, **10**, 357-362, doi: 10.21053/ceo.2016.01095.
  66. Shih, P.-H., and Yen, G.-C. (2007) Differential expressions of antioxidant status in aging rats: the role of transcriptional factor Nrf2 and MAPK signaling pathway, *Biogerontology*, **8**, 71-80, doi: 10.1007/s10522-006-9033-y.
  67. Zhou, L., Zhang, H., Davies, K. J. A., and Forman, H. J. (2018) Aging-related decline in the induction of Nrf2-regulated antioxidant genes in human bronchial epithelial cells, *Redox Biol.*, **14**, 35-40, doi: 10.1016/j.redox.2017.08.014.
  68. Ungvari, Z., Bailey-Downs, L., Gautam, T., Sosnowska, D., Wang, M., Monticone, R. E., et al. (2011) Age-associated vascular oxidative stress, Nrf2 dysfunction, and NF- $\kappa$ B activation in the nonhuman primate *Macaca mulatta*, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **66**, 866-875, doi: 10.1093/gerona/glr092.
  69. Li, M., Liu, R.-M., Timblin, C. R., Meyer, S. G., Mossman, B. T., and Fukagawa, N. K. (2006) Age affects ERK1/2 and NRF2 signaling in the regulation of GCLC expression, *J. Cell Physiol.*, **206**, 518-525, doi: 10.1002/jcp.20496.
  70. Lewis, K. N., Wason, E., Edrey, Y. H., Kristan, D. M., Nevo, E., and Buffenstein, R. (2015) Regulation of Nrf2 signaling and longevity in naturally long-lived rodents, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 3722-3727, doi: 10.1073/pnas.1417566112.
  71. Castiglione, G. M., Xu, Z., Zhou, L., and Duh, E. J. (2020) Adaptation of the master antioxidant response connects metabolism, lifespan and feather development pathways in birds, *Nat. Commun.*, **11**, 2476, doi: 10.1038/s41467-020-16129-4.
  72. Jones, O. R., Scheuerlein, A., Salguero-Gómez, R., Camarda, C. G., Schaible, R., Casper, B. B., et al. (2014) Diversity of ageing across the tree of life, *Nature*, **505**, 169-173, doi: 10.1038/nature12789.
  73. Charmantier, A., Perrins, C., McCleery, R. H., and Sheldon, B. C. (2006) Quantitative genetics of age at reproduction in wild swans: support for antagonistic pleiotropy models of senescence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 6587-6592, doi: 10.1073/pnas.0511123103.
  74. Fulop, G. A., Kiss, T., Tarantini, S., Balasubramanian, P., Yabluchanskiy, A., Farkas, E., et al. (2018) Nrf2 deficiency in aged mice exacerbates cellular senescence promoting cerebrovascular inflammation, *Geroscience*, **40**, 513-521, doi: 10.1007/s11357-018-0047-6.
  75. Ahn, B., Pharaoh, G., Premkumar, P., Huseman, K., Ranjit, R., Kinter, M., et al. (2018) Nrf2 deficiency exacerbates age-related contractile dysfunction and loss of skeletal muscle mass, *Redox Biol.*, **17**, 47-58, doi: 10.1016/j.redox.2018.04.004.
  76. Kitaoka, Y., Tamura, Y., Takahashi, K., Takeda, K., Takemasa, T., and Hatta, H. (2019) Effects of Nrf2 deficiency on mitochondrial oxidative stress in aged skeletal muscle, *Physiol. Rep.*, **7**, e13998, doi: 10.14814/phy2.13998.
  77. Zhao, Z., Chen, Y., Wang, J., Sternberg, P., Freeman, M. L., Grossniklaus, H. E., et al. (2011) Age-related retinopathy in NRF2-deficient mice, *PLoS One*, **6**, e19456, doi: 10.1371/journal.pone.0019456.
  78. Hoshino, T., Tabuchi, K., Nishimura, B., Tanaka, S., Nakayama, M., Ishii, T., et al. (2011) Protective role of Nrf2 in age-related hearing loss and gentamicin ototoxicity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **415**, 94-98, doi: 10.1016/j.bbrc.2011.10.019.
  79. Yoh, K., Itoh, K., Enomoto, A., Hirayama, A., Yamaguchi, N., Kobayashi, M., et al. (2001) Nrf2-deficient female mice develop lupus-like autoimmune nephritis, *Kidney Int.*, **60**, 1343-1353, doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00939.x.
  80. Han, K., Jin, X., Guo, X., Cao, G., Tian, S., Song, Y., et al. (2021) Nrf2 knockout altered brain iron deposition and mitigated age-related motor dysfunction in aging mice, *Free Radic. Biol. Med.*, **162**, 592-602, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.11.019.
  81. He, F., Antonucci, L., Yamachika, S., Zhang, Z., Taniguchi, K., Umemura, A., et al. (2020) NRF2 activates growth factor genes and downstream AKT signaling to induce mouse and human hepatomegaly, *J. Hepatol.*, **72**, 1182-1195, doi: 10.1016/j.jhep.2020.01.023.
  82. Strong, R., Miller, R. A., Antebi, A., Astle, C. M., Bogue, M., Denzel, M. S., et al. (2016) Longer lifespan in male mice treated with a weakly estrogenic agonist, an antioxidant, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor or a Nrf2-inducer, *Aging Cell*, **15**, 872-884, doi: 10.1111/ace1.12496.
  83. Selvarani, R., Mohammed, S., and Richardson, A. (2021) Effect of rapamycin on aging and age-related diseases – past and future, *GeroScience*, **43**, 1135-1158, doi: 10.1007/s11357-020-00274-1.
  84. Wang, R., Yu, Z., Sunchu, B., Shoaf, J., Dang, I., Zhao, S., et al. (2017) Rapamycin inhibits the secretory phenotype of senescent cells by a Nrf2-independent mechanism, *Aging Cell*, **16**, 564-574, doi: 10.1111/ace1.12587.
  85. Mohammed, I., Hollenberg, M. D., Ding, H., and Triggler, C. R. (2021) A critical review of the evidence that metformin is a putative anti-aging drug that enhances healthspan and extends lifespan, *Front. Endocrinol.*, **12**, 718942, doi: 10.3389/fendo.2021.718942.
  86. Onken, B., and Driscoll, M. (2010) Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1, *PLoS One*, **5**, e8758, doi: 10.1371/journal.pone.0008758.

87. Allard, J. S., Perez, E. J., Fukui, K., Carpenter, P., Ingram, D. K., and de Cabo, R. (2016) Prolonged metformin treatment leads to reduced transcription of Nrf2 and neurotrophic factors without cognitive impairment in older C57BL/6J mice, *Behav. Brain Res.*, **301**, 1-9, doi: 10.1016/j.bbr.2015.12.012.
88. Wakabayashi, N., Itoh, K., Wakabayashi, J., Motohashi, H., Noda, S., Takahashi, S., et al. (2003) Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation, *Nat. Genet.*, **35**, 238-245, doi: 10.1038/ng1248.
89. Oishi, T., Matsumaru, D., Ota, N., Kitamura, H., Zhang, T., Honkura, Y., et al. (2020) Activation of the NRF2 pathway in Keap1-knockdown mice attenuates progression of age-related hearing loss, *NPJ Aging Mech. Dis.*, **6**, 14, doi: 10.1038/s41514-020-00053-4.
90. Wati, S. M., Matsumaru, D., and Motohashi, H. (2020) NRF2 pathway activation by KEAP1 inhibition attenuates the manifestation of aging phenotypes in salivary glands, *Redox Biol.*, **36**, 101603, doi: 10.1016/j.redox.2020.101603.
91. Taguchi, K., Maher, J. M., Suzuki, T., Kawatani, Y., Motohashi, H., and Yamamoto, M. (2010) Genetic analysis of cytoprotective functions supported by graded expression of Keap1, *Mol. Cell. Biol.*, **30**, 3016-3026, doi: 10.1128/MCB.01591-09.
92. Lee, D.-F., Kuo, H.-P., Liu, M., Chou, C.-K., Xia, W., Du, Y., et al. (2009) KEAP1 E3 ligase-mediated downregulation of NF- $\kappa$ B signaling by targeting IKK $\beta$ , *Mol. Cell*, **36**, 131-140, doi: 10.1016/j.molcel.2009.07.025.
93. Mulvaney, K. M., Matson, J. P., Siesser, P. F., Tamir, T. Y., Goldfarb, D., Jacobs, T. M., et al. (2016) Identification and characterization of MCM3 as a Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP1) substrate, *J. Biol. Chem.*, **291**, 23719-23733, doi: 10.1074/jbc.M116.729418.
94. Singh, S. P., Niemczyk, M., Saini, D., Sadvov, V., Zimniak, L., and Zimniak, P. (2010) Disruption of the mGsta4 gene increases life span of C57BL mice, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **65**, 14-23, doi: 10.1093/gerona/glp165.
95. Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A. T., Bruder, C. E., et al. (2004) Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase, *Nature*, **429**, 417-423, doi: 10.1038/nature02517.
96. Kujoth, G. C., Hiona, A., Pugh, T. D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S. E., et al. (2005) Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging, *Science*, **309**, 481-484, doi: 10.1126/science.1112125.
97. Shabalina, I. G., Vysokikh, M. Y., Gibanova, N., Csikas, R. I., Edgar, D., Hallden-Waldemarson, A., et al. (2017) Improved health-span and lifespan in mtDNA mutator mice treated with the mitochondrially targeted antioxidant SkQ1, *Aging*, **9**, 315-339, doi: 10.18632/aging.101174.
98. Lei, Y., Guerra Martinez, C., Torres-Odio, S., Bell, S. L., Birdwell, C. E., Bryant, J. D., et al. (2021) Elevated type I interferon responses potentiate metabolic dysfunction, inflammation, and accelerated aging in mtDNA mutator mice, *Sci. Adv.*, **7**, doi: 10.1126/sciadv.abe7548.
99. Skulachev, V. P., Holtze, S., Vysokikh, M. Y., Bakeeva, L. E., Skulachev, M. V., Markov, A. V., et al. (2017) Neoteny, prolongation of youth: from naked mole rats to "naked apes" (humans), *Physiol. Rev.*, **97**, 699-720, doi: 10.1152/physrev.00040.2015.
100. Lewis, K. N., Mele, J., Hornsby, P. J., and Buffenstein, R. (2012) Stress resistance in the naked mole-rat: the bare essentials – a mini-review, *Gerontology*, **58**, 453-462, doi: 10.1159/000335966.
101. Bruns, D. R., Drake, J. C., Biela, L. M., Peelor, F. F., Miller, B. F., and Hamilton, K. L. (2015) Nrf2 signaling and the slowed aging phenotype: evidence from long-lived models, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2015**, 732596, doi: 10.1155/2015/732596.
102. Pearson, K. J., Lewis, K. N., Price, N. L., Chang, J. W., Perez, E., Cascajo, M. V., et al. (2008) Nrf2 mediates cancer protection but not longevity induced by caloric restriction, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 2325-2330, doi: 10.1073/pnas.0712162105.
103. Davinelli, S., Willcox, D. C., and Scapagnini, G. (2012) Extending healthy ageing: nutrient sensitive pathway and centenarian population, *Immun. Ageing*, **9**, 9, doi: 10.1186/1742-4933-9-9.
104. Rojo, A. I., Pajares, M., Rada, P., Nuñez, A., Nevado-Holgado, A. J., Killik, R., et al. (2017) NRF2 deficiency replicates transcriptomic changes in Alzheimer's patients and worsens APP and TAU pathology, *Redox Biol.*, **13**, 444-451, doi: 10.1016/j.redox.2017.07.006.
105. Haustead, D. J., Stevenson, A., Saxena, V., Marriage, F., Firth, M., Silla, R., et al. (2016) Transcriptome analysis of human ageing in male skin shows mid-life period of variability and central role of NF- $\kappa$ B, *Sci. Rep.*, **6**, 26846, doi: 10.1038/srep26846.
106. Alfego, D., Rodeck, U., and Kriete, A. (2018) Global mapping of transcription factor motifs in human aging, *PLoS One*, **13**, e0190457, doi: 10.1371/journal.pone.0190457.
107. Stegeman, R., and Weake, V. M. (2017) Transcriptional signatures of aging, *J. Mol. Biol.*, **429**, 2427-2437, doi: 10.1016/j.jmb.2017.06.019.
108. Benayoun, B. A., Pollina, E. A., Singh, P. P., Mahmoudi, S., Harel, I., Casey, K. M., et al. (2019) Remodeling of epigenome and transcriptome landscapes with aging in mice reveals widespread induction of inflammatory responses, *Genome Res.*, **29**, 697-709, doi: 10.1101/gr.240093.118.
109. Johnson, A. A., Shokhirev, M. N., Wyss-Coray, T., and Lehallier, B. (2020) Systematic review and analysis

- of human proteomics aging studies unveils a novel proteomic aging clock and identifies key processes that change with age, *Ageing Res. Rev.*, **60**, 101070, doi: 10.1016/j.arr.2020.101070.
110. Horvath, S. (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types, *Genome Biol.*, **14**, 3156, doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115.
111. Bell, C. G., Lowe, R., Adams, P. D., Baccarelli, A. A., Beck, S., Bell, J. T., et al. (2019) DNA methylation aging clocks: challenges and recommendations, *Genome Biol.*, **20**, 249, doi: 10.1186/s13059-019-1824-y.
112. Dinkova-Kostova, A. T., Fahey, J. W., Kostov, R. V., and Kensler, T. W. (2017) KEAP1 and done? Targeting the NRF2 pathway with sulforaphane, *Trends Food Sci. Technol.*, **69**, 257-269, doi: 10.1016/j.tifs.2017.02.002.
113. Taguchi, K., and Kensler, T. W. (2020) Nrf2 in liver toxicology, *Arch. Pharm. Res.*, **43**, 337-349, doi: 10.1007/s12272-019-01192-3.

## DOES Nrf2 APPEAR TO BE A MASTER REGULATOR OF MAMMALIAN AGING?

### Review

R. A. Zinovkin<sup>1,2\*</sup>, N. D. Kondratenko<sup>1,2,3</sup>, and L. A. Zinovkina<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; E-mail: roman.zinovkin@gmail.com*

<sup>2</sup> *Russian Clinical Research Center for Gerontology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Pirogov Russian National Research Medical University, 129226, Moscow, Russia*

<sup>3</sup> *Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia*

For a long time Nrf2 transcription factor has been keeping close attention of aging phenomenon researchers. Numerous studies have investigated Nrf2 effects on the aging and cell senescence. Nrf2 is often ascribed to have a central role in aging processes, however this thesis needs to be proven. It should be noted, that most studies were carried out on invertebrate model organisms, such as nematodes and fruit flies, but not on mammals. This paper briefly overviews main mechanisms of mammalian aging and role of inflammation and oxidative stress in this process. The mechanisms of Nrf2 activity regulation, its involvement in aging and development of senescence-associated secretory phenotype (SASP) are also discussed. The main part of this review is devoted to critical analysis of experimental data on the role of Nrf2 in mammalian aging.

*Keywords:* transcription factor Nrf2, aging, inflammation, oxidative stress, aging theories, age-related changes