

Participación del fenotipo secretor de las células senescentes en el desarrollo del cáncer, el envejecimiento y las enfermedades asociadas a la edad

Viridiana Yazmín González-Puertos¹, Luis Ángel Maciel-Barón², Bertha Alicia Barajas-Gómez²,
Norma Edith López-Díazguerrero¹ y Mina Königsberg^{1*}

¹Departamento de Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud; ²Posgrado en Biología Experimental. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México, D.F., México

Resumen

La senescencia celular es la etapa en donde las células llegan al máximo de su capacidad proliferativa; en mamíferos es un importante mecanismo supresor de tumores, ya que limita la proliferación de células con riesgo de transformación neoplásica, aunque también contribuye al deterioro asociado con el envejecimiento y al establecimiento de diversas enfermedades. Ello se explica debido a que las células senescentes secretan moléculas que comprometen el microambiente celular y tisular, que en conjunto se denominan fenotipo secretor asociado a la senescencia (senescence-associated secretory phenotype [SASP]). El SASP está compuesto por citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, proteasas, etc., que tienen como función principal perpetuar el estado antiproliferativo y fomentar la eliminación de las células senescentes por el sistema inmune. Sin embargo, a lo largo del tiempo, y en particular en organismos viejos, el SASP puede contener factores que estimulan la proliferación y transformación de células premalignas. El SASP tiene un papel multifuncional que depende del tipo celular que lo reciba y del estado en el que se encuentre, por lo que, dependiendo del contexto biológico, el SASP puede ser benéfico, al participar en procesos de reparación y regeneración, o perjudicial, por promover enfermedades degenerativas e hiperplásicas.

PALABRAS CLAVE: Senescencia. Fenotipo secretor asociado a la senescencia. Inflamación. Citocinas. Envejecimiento. Cáncer.

Abstract

Cellular senescence is defined as the physiological program of terminal growth arrest; in mammals it is an important tumor-suppressor mechanism since it stops premalignant cell proliferation. However, senescence also contributes to the decline associated to aging and the development of several diseases. This is explained by the fact that senescent cells secrete diverse molecules, which compromise the cellular microenvironment, and altogether are referred as senescent-associated secretory phenotype (SASP). The SASP is composed by cytokines, chemokines, growth factors, proteases, etc., whose function is to maintain the antiproliferative state and promote senescent cell clearance by the immune system. Nevertheless, over time, and particularly during old age, SASP might stimulate proliferation and premalignant cell transformation. The multifunctional roles

Correspondencia:

*Mina Königsberg
Departamento de Ciencias de la Salud
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa
A.P. 55-535, C.P. 09340, México, D.F., México
E-mail: mkf@xanum.uam.mx

Fecha de recepción en versión modificada: 27-06-2014

Fecha de aceptación: 30-12-2014

of SASP would depend on the cell type and their physiological nature. Therefore, relying on the biological context, SASP could be beneficial and participate in the repair and regeneration processes, or detrimental and induce degenerative pathologies and cancer. (Gac Med Mex. 2015;151:491-500)

Corresponding author: Mina Königsberg, mkf@xanum.uam.mx

KEY WORDS: Senescence. SASP. Inflammation. Cytokine. Aging. Cancer.

Antecedentes históricos

Hace aproximadamente un siglo uno de los paradigmas de la biología celular era que las células cultivadas *in vitro* podían vivir y duplicarse de manera ilimitada, siempre y cuando se suplementaran con los medios y nutrientes adecuados. Este hecho tenía una notable implicación en el estudio del envejecimiento, ya que aparentemente las células en cultivo podían vivir más años que el organismo del cual provenían.

Sin embargo, en la década de 1960, Hayflick y Moorhead demostraron que las células en cultivo primario sólo tenían un número limitado de duplicaciones y no podían proliferar indefinidamente, hecho que generó un nuevo paradigma que rompía con el anterior. Ahora, cuando un cultivo primario cesa su proliferación celular, se dice que ha alcanzado el límite de Hayflick^{1,2}, y este fenómeno es conocido como senescencia celular. Sin embargo, al ser un proceso relacionado con el número de duplicaciones celulares (edad del cultivo), durante muchos años sólo se asoció con el fenómeno del envejecimiento.

En 1995 el grupo de Campisi demostró la presencia de células senescentes *in vivo*, lo que reveló que no era un fenómeno que se manifestara únicamente *in vitro*, y se comprobó que la senescencia no sólo sucede durante el envejecimiento, sino que ocurre de manera natural y durante toda la vida de los organismos^{3,4}.

Características de la senescencia celular

La senescencia celular se define como la etapa en la cual las células han llegado al máximo de su capacidad proliferativa y no pueden duplicarse más². Está caracterizada por la detención irreversible del ciclo celular en la fase G0/G1⁵. Las células senescentes muestran alteraciones morfológicas, como un aumento del tamaño con aspecto aplanado y una gran cantidad de vacuolas. A nivel fisiológico, se ha demostrado que son metabólicamente activas, pero presentan una expresión génica perturbada, lo cual conlleva una alteración en la expresión de proteínas, asociada a los cambios morfológicos antes descritos, junto con la

carencia de respuesta a estímulos mitogénicos y/o apoptóticos⁶. Asimismo, este tipo de células presentan modificaciones particulares a nivel de la heterocromatina denominadas *senescent associated heterochromatin foci*⁷. Otra característica peculiar de las células senescentes es que aumentan la expresión de la enzima β -galactosidasa, y, aunque aún no se sabe a ciencia cierta la razón por la cual ocurre este evento, la actividad de dicha enzima se utiliza como marcador del estado senescente³.

Tradicionalmente se ha asumido que la señal para que las células detengan su proliferación es el acortamiento de los telómeros. Es bien sabido que con cada duplicación celular ocurre una pérdida gradual de ADN en los extremos cromosómicos, fenómeno conocido como erosión de telómeros⁸. Esto ocurre durante la fase S del ciclo celular, ya que las ADN polimerasas son unidireccionales y no pueden sintetizar la porción de ADN que funciona como *primer* o cebador. La erosión de los telómeros genera una respuesta persistente de daño al ADN (*DNA damage response* [DDR])^{5,9,10}, que es una señal importante para evitar la progresión del ciclo celular, ya que induce la expresión de moléculas inhibitoras del ciclo celular, como p16 y p21¹⁰. La senescencia inducida por este mecanismo es conocida como senescencia replicativa (SR).

En mamíferos, la DDR puede ser iniciada por las proteínas cinasas *ataxia telangiectasia mutated* (ATM) y *ataxia telangiectasia and Rad3-related protein* (ATR). La ATM es reclutada y activada por proteínas que se unen a sitios del ADN donde se ha roto la doble cadena, mientras que la ATR es reclutada y activada por la proteína de replicación A. Una vez activas, la ATM y la ATR activan sus blancos, CHK2 y CHK1, respectivamente, cuya función es la activación del factor de transcripción p53¹¹.

Como respuesta a la DDR, p53 puede regular procesos tales como la reparación del ADN, la detención del ciclo celular, la senescencia y la apoptosis¹². Uno de los genes blanco de p53 es el inhibidor del ciclo celular p21¹³, que inhibe los complejos CDK2/ciclina E y CDK4/6/ciclina D, importantes para la progresión del ciclo celular^{14,15}, induciendo así la detención de la proliferación característica de las células senescentes.

Ahora se acepta que existen otras vías por las cuales las células pueden entrar en senescencia y dejar de proliferar, independientemente del número de duplicaciones y, por lo tanto, del acortamiento de los telómeros. Los estímulos o estresores capaces de inducir la senescencia celular son muy diversos: exposición a estrés oxidante¹⁶, exposición a radiación ultravioleta y γ ¹⁷, hiperoxia¹⁸, sobreexpresión de oncogenes (por ejemplo, Ras)^{19,20}, deterioro de algunos mecanismos celulares de degradación de proteínas o «limpieza celular» como la autofagia²¹ o la inhibición del proteosoma²². La senescencia inducida por alguno de estos estímulos se conoce como senescencia prematura inducida por estrés y presenta un fenotipo similar al observado en la SR^{18,23,24}.

Senescencia celular: antagonismo pleiotrópico, un arma de doble filo

Se ha comentado que durante muchos años el término *senescencia* sólo definía una serie de cambios asociados al envejecimiento; no obstante, ahora se refiere a un programa de transducciones de señales que conllevan la detención irreversible del ciclo celular y que van acompañadas de un fenotipo característico²⁵. Actualmente se piensa que la senescencia *in vivo* muy probablemente no se induce por el acortamiento de los telómeros, ya que existen otros factores (como los mencionados antes) que pueden provocar la senescencia mucho antes de que la célula llegue al límite de Hayflick²⁶.

En mamíferos, la senescencia juega un papel de gran importancia en el mantenimiento de la funcionalidad de los tejidos, especialmente como supresora de tumores, ya que limita la proliferación de células dañadas que tienen un riesgo potencial de transformación neoplásica^{5,27,28}, aunque también puede contribuir al fenotipo envejecido. Esta aparente contradicción puede ser explicada mediante el antagonismo pleiotrópico, una de las principales teorías evolutivas sobre el envejecimiento, que establece que ciertos procesos que se han seleccionado por sus efectos benéficos en edades tempranas presentan efectos dañinos en edades avanzadas. Esto se advierte pocas veces en poblaciones silvestres debido al bajo índice de individuos que llegan a edad avanzada, pero es común observarlo en los humanos²⁹. En el caso de la senescencia celular, a edades tempranas tiene un efecto benéfico al suprimir células malignas que potencialmente generan tumores; sin embargo, a edades avanzadas, la acumulación de células senescentes contribuye al deterioro del tejido asociado al envejecimiento³⁰.

La alteración funcional que ocurre en los tejidos por la acumulación de células senescentes se ha explicado por los componentes proinflamatorios que secretan dichas células y que comprometen el microambiente celular. Al conjunto de moléculas secretadas se le ha denominado SASP.

Se ha sugerido que las funciones primordiales del SASP tienen que ver con perpetuar el estado antiproliferativo, además de generar señales que fomenten la eliminación de las células senescentes por el sistema inmune³⁰. Sin embargo, a lo largo del tiempo, y en particular en organismos viejos, que presentan una respuesta inmune disminuida, el SASP puede favorecer el cáncer y otras enfermedades al secretar factores que enrarecen el microambiente celular estimulando la proliferación y transformación de células premalignas, de manera que la senescencia, paradójicamente, es un arma de doble filo (antagonismo pleiotrópico), ya que suprime la aparición del cáncer en etapas tempranas de la vida, pero a la larga fomenta la aparición de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, entre ellas irónicamente el mismo cáncer o bien diversas enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer³¹ (Fig. 1).

SASP

El SASP se caracteriza por un incremento en la secreción de aproximadamente 40-80 factores involucrados en diferentes vías de señalización intracelular^{32,33}. El SASP incluye algunas familias de factores solubles e insolubles que modulan las células circundantes, ya que activan receptores de superficie de membrana y su correspondiente vía de transducción de señales, y pueden conducir a múltiples enfermedades (Fig. 2). Los factores pueden dividirse en dos categorías principales: factores de señalización solubles o proteínicos (interleucinas, quimiocinas, factores de crecimiento y proteasas) y componentes insolubles o no proteínicos (especies reactivas de oxígeno [ERO])³⁴.

Factores solubles

Es importante mencionar que la composición de las citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento presentes en el SASP puede variar dependiendo del tejido y del tipo celular de que se trate. Más aún, resultados recientes de nuestro laboratorio³⁵ han mostrado diferencias dependiendo de la vía de inducción por la cual las células llegan a la etapa de senescencia. En este

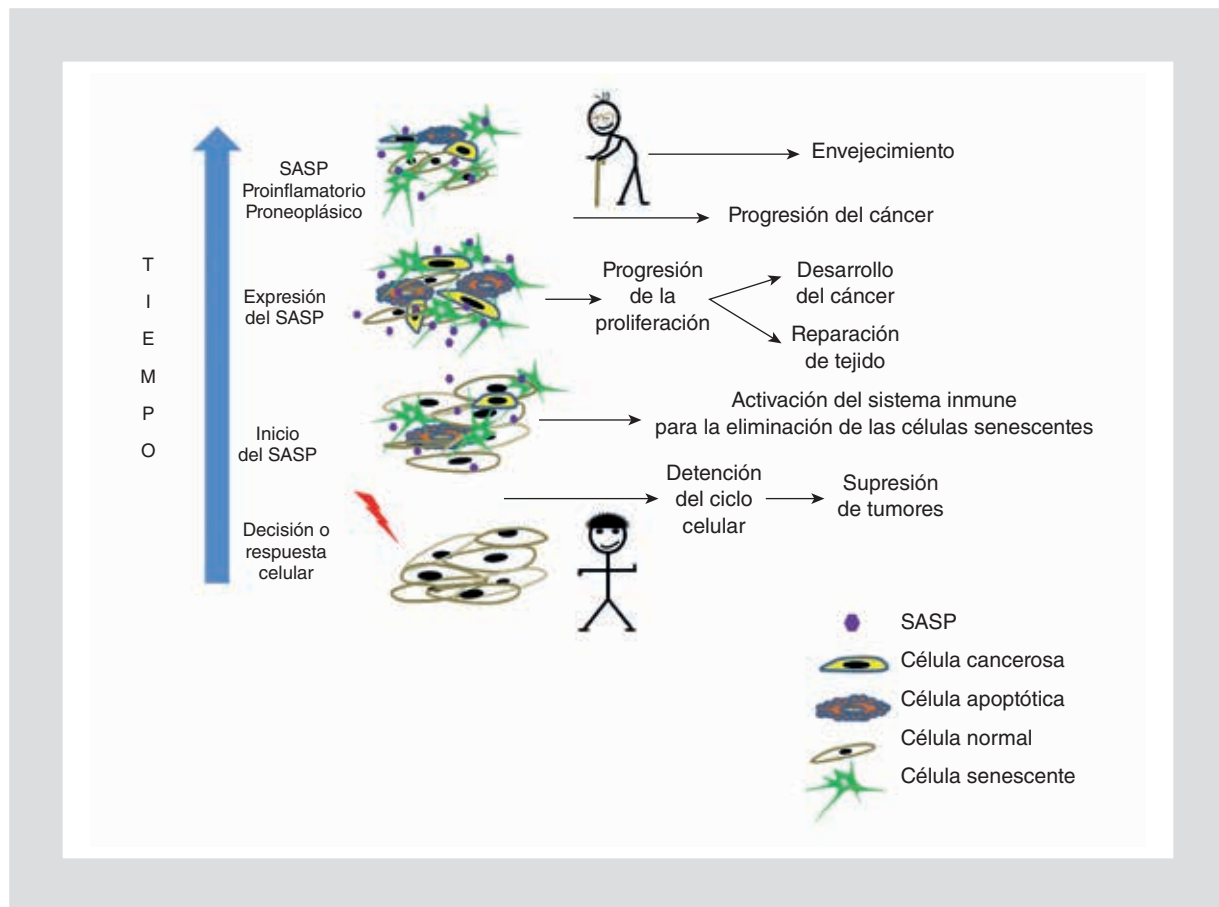


Figura 1. Transformación del SASP a través del tiempo. En una primera etapa las células dañadas o sometidas a ciertos tipos de estrés presentan una detención del ciclo celular que se refleja como un evento supresor de tumores, ya que impide la proliferación de las células dañadas. No obstante, las células senescentes secretan diversas moléculas, como citocinas, quimiocinas, metaloproteinasas, etc., que juntas se conocen como SASP. El SASP, además de ser un evento autocrino de perpetuación del fenotipo senescente, también atrae a células inmunitarias que destruyen las células senescentes. Sin embargo, si no se remueven dichas células, algunos componentes del SASP pueden promover la proliferación celular, ya sea para la reparación de tejidos o para el desarrollo de cáncer. Una manifestación tardía del SASP es la expresión de proteínas asociadas a la respuesta inflamatoria crónica, por lo que la acumulación de las células senescentes con niveles crónicos del SASP podría influir en la salud de los organismos generando un fenotipo de envejecimiento y fomentando diversas enfermedades.

apartado discutiremos algunos de los componentes proteínicos más importantes y generales que constituyen el SASP.

En primer lugar, en casi todos los estudios sobre el SASP, se ha encontrado aumentada la secreción de la interleucina 6 (IL-6), que también tiene una función pleiotrópica. Se ha demostrado, en queratinocitos, melanocitos, monocitos, fibroblastos y células epiteliales de ratón y de humano, que la secreción de esta interleucina aumenta de manera importante después del daño al ADN al inducir la senescencia por oncogenes³⁶⁻³⁸. Otra interleucina presente en el SASP es la interleucina 1 (IL-1); tanto la IL-1 α como la IL-1 β son sobreexpresadas y secretadas por los fibroblastos^{39,40}, las células endoteliales senescentes⁴¹ y las células epiteliales senescentes inducidas por quimioterapia⁴².

La expresión de interleucina 8 (IL-8) depende de la secreción de IL-1 α , lo cual indica que existe una regulación en los componentes del SASP. La IL-8 se sobreexpresa en muchos tipos de células senescentes junto con el oncogén relacionado al crecimiento (GRO) α y β .

Los miembros de la familia de quimiocinas que generalmente se sobreexpresan en las células senescentes son: proteína cofactor de membrana (MCP) 2, 4 y 1, HCC-4, eotaxina-3, MIP-3 α y 1 α (proteína inflamatoria de macrófagos); MCP-3 se sobreexpresa por las células estelares del hígado, la próstata y los fibroblastos de piel senescentes.

El factor de crecimiento parecido a insulina (IGF) unido a su receptor puede contribuir a los efectos que ejercen las células senescentes sobre su microambiente, ya que se ha determinado que las células endoteliales, epiteliales

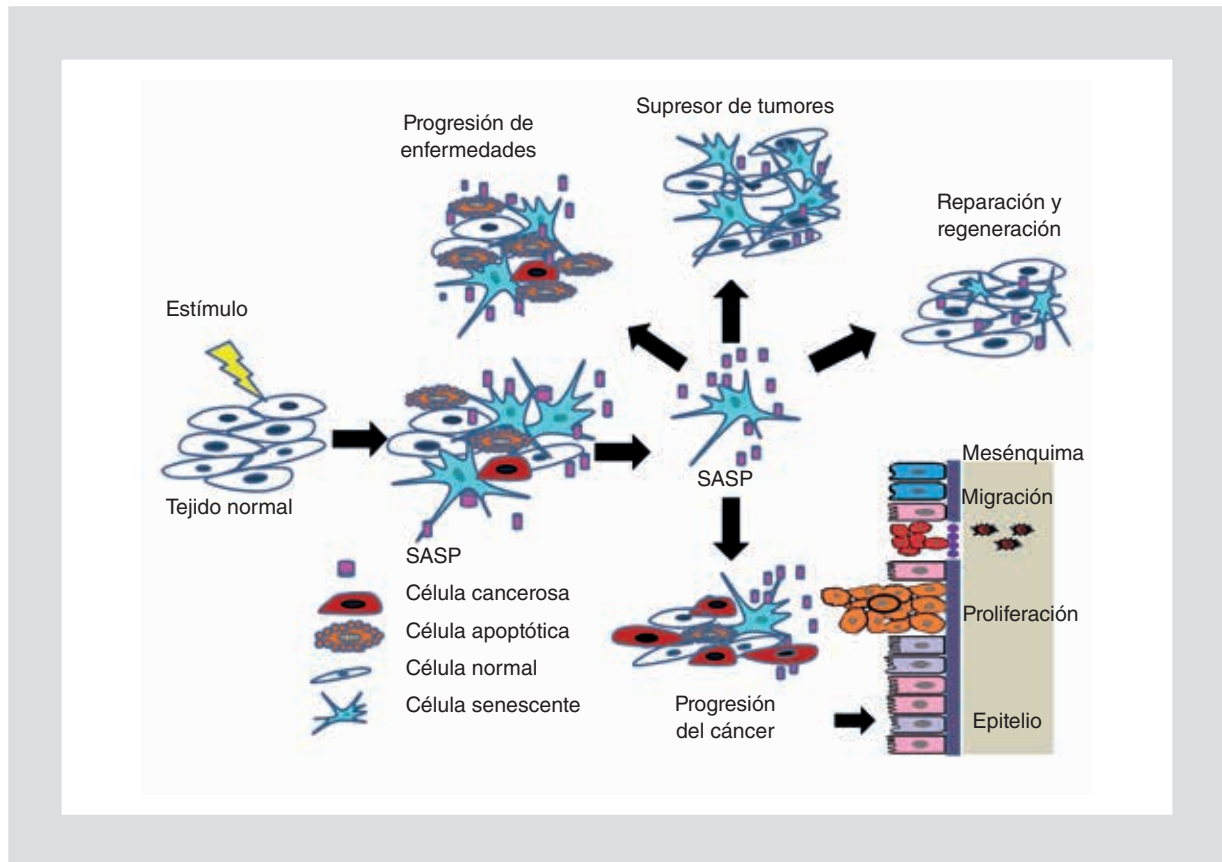


Figura 2. Actividad biológica de las células senescentes. Las moléculas que componen el SASP pueden ser distintas dependiendo del tipo celular, del tejido y de la forma de inducción de senescencia, y cambian en función del tiempo, por lo que pueden tener diversos efectos sobre las células adyacentes, como la inhibición de la proliferación celular (mecanismo supresor de tumores), la reparación y regeneración del tejido dañado, la progresión tumoral y la TEM; así mismo, el establecimiento de un ambiente proinflamatorio crónico promoverá la aparición de diversas enfermedades.

y fibroblastos senescentes expresan altas concentraciones de proteínas unidas a IGF (IGFBP), incluyendo IGFBP-2, 3, 4, 5 y 6^{43,44}. Existen otros factores solubles adicionales asociados con el SASP que son secretados en altas concentraciones por los fibroblastos senescentes, entre los que se encuentran algunos factores estimulantes de colonias (CSF), incluidos el de macrófagos (GM-CSF) y el de granulocitos (G-CSF), así como el factor de crecimiento epitelial, el factor de crecimiento de fibroblastos⁴⁵ y la molécula de adhesión intercelular 1.

Además de citocinas de señalización y factores de crecimiento, las células senescentes también secretan niveles elevados de algunas metaloproteinasas de matriz extracelular (MMP). En particular, los fibroblastos senescentes humanos y de ratón secretan estromeliasina 1 y 2 (MMP-3 y 10, respectivamente) y colagenasa 1 (MMP-1)^{46,47}. En algunos casos, la MMP-1 y 3 también puede regular la actividad de los factores solubles presentes en el SASP⁴⁸. Por ejemplo, estas MMP pueden disminuir MCP-1, 2 y 4 y la IL-8⁴⁹.

Otra familia de proteasas involucrada en la carcinogénesis y presente en el SASP es la familia de serina proteasas y reguladores de la vía activada por plasminógeno, activadores de tejido o urocinasas (uPA o tPA), el receptor de uPA (uPAR) e inhibidores de serina proteasas (inhibidor del activador del plasminógeno [PAI] 1 y 2)⁵⁰.

Las proteasas del SASP pueden tener tres efectos principales: disocian proteínas (por ejemplo, disocian receptores asociados a la membrana haciéndolos solubles), degradan moléculas de señalización y transforman la matriz extracelular. Estos efectos se consideran potentes mecanismos mediante los cuales las células senescentes pueden modificar el microambiente del tejido.

Componentes no proteínicos

Los principales componentes no proteínicos del SASP son las ERO, además de algunos iones y micro

ARNs. Se ha demostrado que las células senescentes liberan óxido nítrico y ERO, ya que se han detectado alteraciones en la actividad de la óxido nítrico sintasa endotelial y la superóxido dismutasa⁵¹⁻⁵⁵. Estas moléculas pueden aumentar la agresividad en las células cancerosas, así como promover el envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad^{56,57}.

Regulación de los componentes inflamatorios del SASP

En general, los perfiles de expresión génica (ARNm) de las células senescentes, determinados mediante análisis de transcripción, son similares a los de las proteínas secretadas, determinados por microarreglos de anticuerpos. Este hallazgo sugiere que el SASP es regulado a nivel transcripcional. Sin embargo, ya que los cambios en la expresión génica que se producen durante la senescencia son amplios, el control transcripcional también puede tener lugar a nivel epigenético, es decir, mediante modificaciones en la organización de la cromatina. De hecho, las mayores modificaciones de la cromatina se producen durante la senescencia^{7,28,58-60}.

La expresión de muchos componentes del SASP depende de los factores de transcripción NF- κ B y C/EBP β , los cuales incrementan su actividad en la senescencia⁶¹. Se ha reportado que los ratones mutantes que carecen de C/EBP β disminuyen la expresión de IL-6 e IL-8, las cuales están presentes de manera predominante en el SASP³⁸, en tanto que cuando se utilizan mutantes para NF- κ B el 75% de los factores del SASP disminuyen^{27,62}.

Se ha propuesto que la cascada de señalizaciones que se activa como respuesta de daño del ADN (DDR), y que se ha discutido antes, es indispensable para el aumento de la secreción de un subconjunto de factores del SASP, incluyendo la IL-6 y la IL-8^{10,63}. Esta respuesta persistente DDR es necesaria para que se presente el SASP. Por el contrario, la disminución de los componentes de la cascada de DDR, específicamente ATM, NBS1 o CHK2, evita el aumento de las proteínas secretadas, en particular de la IL-6, la IL-8 y la familia GRO. Sin embargo, la respuesta DDR no se considera como el único regulador del SASP, ya que se activa inmediatamente después de un daño, mientras que el SASP, al igual que otros aspectos del fenotipo senescente tales como la actividad de la β -galactosidasa, tarda varios días en evidenciarse¹⁰. Por lo tanto, la DDR es importante, pero no suficiente, y se sugiere que deben existir otros eventos que cooperen

con la DDR para inducir el SASP. Uno de estos eventos es la activación de p38MAPK, la cual aumenta después del daño al ADN.

En el SASP también se presentan componentes de retroalimentación positiva. La IL-1 α regula su propia síntesis, mediada por su receptor, de manera que representa una forma de retroalimentación positiva autocrina^{64,65}. Se ha observado que la disminución de IL-1 α por ARN interferente en células senescentes reduce notablemente la expresión y secreción de IL-6 e IL-8. Así mismo, se reportan resultados similares utilizando un antagonista de la IL-1 o un anticuerpo neutralizante para el receptor (IL-1R), lo cual demuestra que se requiere la estimulación sostenida del IL-1R unido a IL-1 α para mantener la senescencia asociada al incremento de la IL-6 y la IL-8 extracelulares^{66,67}.

SASP y cáncer

Resulta claro hasta el momento que los factores que componen el SASP confieren a las células senescentes una poderosa facultad para modificar el microambiente extracelular, ya que puede desencadenar vías de señalización que modificarán las respuestas en las células adyacentes^{68,69} (Fig. 2). Analizar y especificar la actividad biológica del SASP es muy complejo debido a que algunos factores favorecen el efecto de deterioro y daño, mientras que otros incluso pueden tener efectos benéficos.

Como se ha mencionado en el apartado anterior, el SASP es principalmente un rasgo de las células senescentes que se asocia a la DDR, pues se ha visto que las células que entran en senescencia debido únicamente a la sobreexpresión exógena de las proteínas p21^{Cip} o p16^{INK4a} no expresan un SASP como tal, a pesar de presentar características de células senescentes y de requerir a p53 para detener su proliferación, pero parece que estas condiciones no son suficientes para la secreción del SASP²⁷. Al contrario, se ha reportado que las células que carecen de p53 funcional secretan de manera marcada niveles elevados de muchos componentes del SASP⁷⁰. En cambio, sí desarrollan un SASP las células que senescen debido al daño del ADN y presentan telómeros disfuncionales, alteraciones epigenéticas, señales mitogénicas, estrés oxidante y otros estímulos que inducen la senescencia. Esto sugiere que el SASP podría estar cumpliendo la función de garantizar que las células dañadas comuniquen su estado comprometido a las células vecinas preparando al tejido para la reparación o regeneración. Otra función importante del SASP es

la estimulación del sistema inmune para la eliminación de las células senescentes evitando así su acumulación.

Sin embargo, una gran cantidad de componentes del SASP, directa o indirectamente, promueven la inflamación crónica⁷¹, y ésta es una causa asociada a prácticamente todas las enfermedades relacionadas con la edad, tanto degenerativas como hiperplásicas⁵. En particular, se ha reportado que la inflamación crónica juega un papel importante en las etapas tempranas del cáncer³⁴. El SASP puede estimular la proliferación y la diferenciación celular⁷², así como la angiogénesis, ya que estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos y la transición epitelio-mesénquima (TEM), por lo que favorecerá la metástasis en las células premalignas^{30,73}.

Por ejemplo, los fibroblastos senescentes secretan anfirregulina y GRO α , que inducen la proliferación de células epiteliales premalignas, junto con IL-6 e IL-8, que las estimula para invadir una membrana basal⁶⁸. Además, se ha reportado que las células mesoteliales y los fibroblastos senescentes secretan Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF), que estimula la angiogénesis favoreciendo la invasión y migración de las células endoteliales⁷⁴. Cuando los fibroblastos residen en un microambiente de tumor, se convierten en miofibroblastos contráctiles denominados CAF. Tanto los CAF como las células senescentes presentan alteraciones en el proceso de autofagia, lo que conduce a la progresión de los tumores⁷⁵. En otros estudios, se ha reportado que las células epiteliales premalignas de mama son inducidas a proliferar por células senescentes de estroma, mientras que en la cavidad oral se ha observado que esas mismas células senescentes de estroma estimulan el crecimiento de las células epiteliales, disminuyendo su integridad y alterando la diferenciación. En la próstata, los fibroblastos senescentes estimulan la hiperproliferación de las células epiteliales e inducen la TEM en los epitelios de los alrededores⁷⁶.

Sin embargo, y aparentemente de manera contradictoria, el SASP también puede evitar el desarrollo de cáncer, ya que se ha reportado que los queratinocitos senescentes secretan el factor antiangiogénico maspina⁷⁷. Además, se sabe que los melanocitos senescentes de los humanos secretan IGFBP-7, que induce senescencia en melanocitos no senescentes y apoptosis en algunas líneas celulares de melanoma⁷⁸, evitando así la proliferación de células dañadas. En cuanto a la IL-6 y la IL-8, que ya habían sido discutidas como inductores de malignización, se ha reportado que, en conjunto con el inhibidor del PAI-1, pueden promover la supresión de tumores induciendo senescencia por

oncogenes o por estrés oxidante³⁷. Todo ello deja claro el papel multifuncional y pleiotrópico del SASP, que en gran medida depende del tipo celular que lo recibe y del estado en el que se encuentra.

El SASP en el envejecimiento y las enfermedades asociadas

El envejecimiento puede entenderse como el deterioro progresivo de las capacidades bioquímicas, funcionales y estructurales de los organismos. Recientemente se ha incorporado la inflamación crónica como un factor predominante y recurrente que se relaciona con el proceso del envejecimiento. Tanto es así que en inglés se ha acuñado el término *inflamm-aging* para describir el papel que juega la inflamación en el deterioro y las enfermedades asociadas a la vejez, lo cual se correlaciona con el síndrome de fragilidad⁷⁹. De manera interesante, entre los principales marcadores de inflamación asociados con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer⁸⁰, la depresión⁸¹, la aterosclerosis⁸², el cáncer²⁷, la diabetes⁸³, la artritis, la osteoporosis y la falla renal⁷⁸, entre otras, se encuentran varios de los componentes del SASP, entre los que destacan los niveles elevados de IL-6 y factor de necrosis tumoral α (TNF- α), así como otras quimiocinas y citocinas aquí descritas.

Existe una gran cantidad de evidencia que apoya fuertemente que la senescencia celular tiene un papel fundamental en el envejecimiento y las enfermedades relacionadas, pues se ha observado que la acumulación de células senescentes en los tejidos a lo largo de la vida y la secreción de los componentes del SASP dañan los tejidos provocando una disfunción a nivel local y de todo el organismo.

Como se ha mencionado antes, una de las funciones del SASP es la activación del sistema inmune para fomentar la eliminación de las células senescentes e impedir de esta manera su acumulación en los tejidos. Sin embargo, durante el envejecimiento, el aumento y la permanencia de las células senescentes en el organismo parecen deberse, entre otras causas, a que la respuesta de los macrófagos del tejido se encuentra disminuida durante el envejecimiento⁷¹. Al parecer, la presencia de quimiocinas reclutadoras de macrófagos como la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), que es parte del SASP, no es suficiente para eliminar las células senescentes. Por otra parte, también se ha reportado que la exposición crónica a IL-6 inhibe la función de los macrófagos⁸⁴. En estudios recientes se ha encontrado que algunos componentes

del SASP, como TNF- α , IL-6, MMP, MCP-1 e IGFBP, se incrementan en múltiples tejidos durante el envejecimiento⁷¹; por ejemplo, en el tejido adiposo la expresión de IL-6, IGFBP-2 y PAI-1 se encuentra incrementada en las células senescentes⁸⁵.

Los efectos locales del SASP en los tejidos o los componentes específicos del SASP están implicados en una amplia variedad de enfermedades relacionadas con la edad *in vivo*. Por ejemplo, el SASP de las células endoteliales senescentes representa un factor de riesgo importante para la calcificación vascular asociada a la edad y la enfermedad cardiovascular mediante el desarrollo de lesiones ateroscleróticas⁸⁶. También se ha encontrado que los osteoblastos senescentes, además de generar mayor estrés oxidante, secretan componentes del SASP, que alteran el microambiente conduciendo al desarrollo de osteoporosis y artritis en la vejez⁸⁷.

Otro ejemplo es el efecto de la expresión del SASP por los astrocitos, tanto *in vitro* como en células aisladas a partir de cerebro envejecido, que inician o contribuyen a la neuroinflamación⁸⁸, característica fundamental de muchas enfermedades neurodegenerativas que conduce al deterioro cognitivo y motor durante el envejecimiento⁸⁹. En el caso de la diabetes, la pérdida de la capacidad regenerativa de las células β está presente en el envejecimiento en roedores y humanos debido a la disminución de células funcionales y la presencia de células senescentes. En los islotes pancreáticos, la proteína p16^{INK4a} juega un papel importante y determinante, pues se ha encontrado que los mutantes que carecen de p16^{INK4a} incrementan la proliferación de células β ⁹⁰.

A pesar de los efectos dañinos del SASP que contribuyen a las enfermedades durante el envejecimiento, nuevos hallazgos sugieren que el envejecimiento es un factor de riesgo modificable, y que es viable retrasar las enfermedades relacionadas con la edad mediante la modulación de los mecanismos fundamentales de este proceso. Hasta ahora se han generado modelos de ratones modificados genéticamente que permiten diseccionar la relación causal entre la senescencia celular, el SASP y las enfermedades relacionadas con la edad, como las cardiovasculares y la diabetes. Por ejemplo, en estudios realizados con ratones modificados genéticamente se diseñó una estrategia para eliminar específicamente las células senescentes positivas a p16^{INK4a}, y se encontró que al eliminar las células senescentes del tejido adiposo, musculoesquelético y del ojo se retrasaba el fenotipo de las enfermedades relacionadas con la edad⁸⁵. De

manera similar, se encontró que la inducción de la subunidad catalítica de la telomerasa, hTERT, revertía el deterioro funcional del envejecimiento en la tercera generación de un ratón mutante⁹¹⁻⁹³ y que la utilización de hTERT como terapia génica en un ratón viejo retrasaba el envejecimiento y prolongaba el tiempo de vida⁹⁴.

Conclusiones

La senescencia celular es un evento de suma importancia para la vida de los mamíferos, ya que en una etapa temprana les permite mantener el buen funcionamiento de los tejidos deteniendo la proliferación de las potenciales células malignas (efecto supresor de tumores), pero en una etapa tardía la acumulación de células senescentes contribuye al deterioro durante el envejecimiento e incluso puede promover una gran cantidad de enfermedades, entre las que destaca el cáncer. Este papel dual de la senescencia puede explicarse mediante el antagonismo pleiotrópico, que establece que algunos procesos que se han distinguido por sus efectos benéficos en edades tempranas presentan efectos dañinos en edades avanzadas^{29,95}.

Resulta claro entonces el papel multifuncional y pleiotrópico del SASP, que en gran medida dependerá del tipo celular que lo reciba y del estado en el que se encuentre, de modo que, dependiendo del contexto biológico, el SASP puede ser benéfico, al participar en procesos de reparación y regeneración, o perjudicial, por promover enfermedades degenerativas e hiperplásicas.

Actualmente, gran parte de la población mundial ha logrado prolongar el tiempo de vida, pero muchos de estos individuos también se enfrentan a años de discapacidad marcados por múltiples enfermedades crónicas y degenerativas, fragilidad y pérdida de la independencia. Estas condiciones alteran seriamente la estabilidad social y aumentan los costos de salud⁹⁶. La mayoría de estas alteraciones se han asociado con la inflamación y la alteración del microambiente celular propiciado por el SASP, por lo que la modulación de la senescencia celular se podría convertir en una estrategia potencial pro longevidad. Las estrategias para lograrlo podrían incluir la eliminación de las células senescentes seleccionadas y la reprogramación epigenética de las células senescentes para lograr así modificar la secreción del SASP.

Claramente, la práctica clínica se transformaría si los tratamientos basados en el conocimiento de los mecanismos de senescencia celular y del SASP pudieran transformar la relación entre los procesos de

envejecimiento fundamentales y las enfermedades crónicas, convirtiendo el envejecimiento en un factor modificable⁷³, lo cual redundaría en el beneficio de la población, ya que se podría llegar a vivir hasta edades avanzadas pero disminuyendo las enfermedades y complicaciones asociadas a la edad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido apoyado por el CONACYT CB-2012-178349, por la Red Temática de Investigación en Salud y Desarrollo Social del CONACYT y el INGER DI-P1001/2012. Luis A. Maciel Barón y Bertha A. Barrajas-Gómez son apoyados por el CONACYT para estudios de doctorado.

Bibliografía

- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1961;25:585-621.
- Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1965;37:614-36.
- Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92(20):9363-7.
- Cosme-Blanco W, Shen MF, Lazar AJ, et al. Telomere dysfunction suppresses spontaneous tumorigenesis in vivo by initiating p53-dependent cellular senescence. *EMBO Rep*. 2007;8(5):497-503.
- Rodier F, Campisi J. Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol*. 2011;192(4):547-56.
- Muller M. Cellular senescence: molecular mechanisms, in vivo significance, and redox considerations. *Antioxid Redox Signal*. 2009;11(1):59-98.
- Narita M. Cellular senescence and chromatin organisation. *Br J Cancer*. 2007;96(5):686-91.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*. 1990;345(6274):458-60.
- Cristofalo VJ, Lorenzini A, Allen RG, Torres C, Tresini M. Replicative senescence: a critical review. *Mech Ageing Dev*. 2004;125(10-11):827-48.
- Rodier F, Coppe JP, Patil CK, et al. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol*. 2009;11(8):973-9.
- Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009;461(7267):1071-8.
- Riley T, Sontag E, Chen P, Levine A. Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(5):402-12.
- Itahana K, Dimri G, Campisi J. Regulation of cellular senescence by p53. *Eur J Biochem*. 2001;268(10):2784-91.
- Coqueret O. New roles for p21 and p27 cell-cycle inhibitors: a function for each cell compartment? *Trends Cell Biol*. 2003;13(2):65-70.
- Chiu J, Dawes IW. Redox control of cell proliferation. *Trends Cell Biol*. 2012;22(11):592-601.
- Lopez-Diazguerrero NE, Luna-Lopez A, Gutierrez-Ruiz MC, Zentella A, Konigsberg M. Susceptibility of DNA to oxidative stressors in young and aging mice. *Life Sci*. 2005;77(22):2840-54.
- Lee JJ, Kim BC, Park MJ, et al. PTEN status switches cell fate between premature senescence and apoptosis in glioma exposed to ionizing radiation. *Cell Death Differ*. 2011;18(4):666-77.
- Toussaint O, Medrano EE, von Zglinicki T. Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes. *Exp Gerontol*. 2000;35(8):927-45.
- Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW. Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell*. 1997;88(5):593-602.
- Fridman AL, Tainsky MA. Critical pathways in cellular senescence and immortalization revealed by gene expression profiling. *Oncogene*. 2008;27(46):5975-87.
- Kang HT, Lee KB, Kim SY, Choi HR, Park SC. Autophagy impairment induces premature senescence in primary human fibroblasts. *PLoS One*. 2011;6(8):e23367.
- Torres C, Lewis L, Cristofalo VJ. Proteasome inhibitors shorten replicative life span and induce a senescent-like phenotype of human fibroblasts. *J Cell Physiol*. 2006;207(3):845-53.
- Sikora E, Arendt T, Bennett M, Narita M. Impact of cellular senescence signature on ageing research. *Ageing Res Rev*. 2011;10(1):146-52.
- Chen Q, Fischer A, Reagan JD, Yan LJ, Ames BN. Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(10):4337-41.
- Shay JW, Roninson IB. Hallmarks of senescence in carcinogenesis and cancer therapy. *Oncogene*. 2004;23(16):2919-33.
- von Zglinicki T, Petrie J, Kirkwood TB. Telomere-driven replicative senescence is a stress response. *Nat Biotechnol*. 2003;21(3):229-30.
- Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu Rev Physiol*. 2013;75:685-705.
- Funayama R, Ishikawa F. Cellular senescence and chromatin structure. *Chromosoma*. 2007;116(5):431-40.
- Kirkwood TB, Austad SN. Why do we age? *Nature*. 2000;408(6809):233-8.
- Davalos AR, Coppe JP, Campisi J, Desprez PY. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. *Cancer Metastasis Rev*. 2010;29(2):273-83.
- Bhat R, Crowe EP, Bitto A, et al. Astrocyte senescence as a component of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2012;7(9):e45069.
- Young AR, Narita M. SASP reflects senescence. *EMBO Rep*. 2009;10(3):228-30.
- Coppe JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol*. 2010;5:99-118.
- Goruppi S, Dotto GP. Mesenchymal stroma: primary determinant and therapeutic target for epithelial cancer. *Trends Cell Biol*. 2013;23(12):593-602.
- Maciel-Barón LA, Morales-Rosales SL, Aquino-Cruz AA, Triana-Martínez F, Galván-Arzate S, Luna-López A, González-Puertos VY, López-Díazguerrero NE, Torres C, Königsberg M. 2015. Senescence Associated Secretory Phenotype profile from primary lung mice fibroblasts depends on the senescence induction stimuli. Sometido a AGE.
- Sarkar D, Lebedeva IV, Emdad L, Kang DC, Baldwin AS Jr, Fisher PB. Human polynucleotide phosphorylase (hPNPaseold-35): a potential link between aging and inflammation. *Cancer Res*. 2004;64(20):7473-8.
- Kuilman T, Michaloglou C, Vredevelde LC, et al. Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell*. 2008;133(6):1019-31.
- Garfinkel S, Brown S, Wessendorf JH, Maciag T. Post-transcriptional regulation of interleukin 1 alpha in various strains of young and senescent human umbilical vein endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(4):1559-63.
- Kumar S, Millis AJ, Baglioni C. Expression of interleukin 1-inducible genes and production of interleukin 1 by aging human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89(10):4683-7.
- Palmieri D, Watson JM, Rinehart CA. Age-related expression of PEDF/EPC-1 in human endometrial stromal fibroblasts: implications for inter-active senescence. *Exp Cell Res*. 1999;247(1):142-7.
- Maier JA, Voulalas P, Roeder D, Maciag T. Extension of the life-span of human endothelial cells by an interleukin-1 alpha antisense oligomer. *Science*. 1990;249(4976):1570-4.
- Chang BD, Swift ME, Shen M, Fang J, Broude EV, Roninson IB. Molecular determinants of terminal growth arrest induced in tumor cells by a chemotherapeutic agent. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(1):389-94.
- Wang S, Moerman EJ, Jones RA, Thweatt R, Goldstein S. Characterization of IGFBP-3, PAI-1 and SPARC mRNA expression in senescent fibroblasts. *Mech Ageing Dev*. 1996;92(2-3):121-32.
- Grillari J, Hohenwarter O, Grabherr RM, Katinger H. Subtractive hybridization of mRNA from early passage and senescent endothelial cells. *Exp Gerontol*. 2000;35(2):187-97.
- Kim KH, Park GT, Lim YB, et al. Expression of connective tissue growth factor, a biomarker in senescence of human diploid fibroblasts, is up-regulated by a transforming growth factor-beta-mediated signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;318(4):819-25.
- Millis AJT, Hoyle M, McCue HM, Martini H. Differential expression of metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase genes in aged human fibroblasts. *Exp Cell Res*. 1992;201(2):373-9.
- Zeng G, Millis AJ. Differential regulation of collagenase and stromelysin mRNA in late passage cultures of human fibroblasts. *Exp Cell Res*. 1996;222(1):150-6.
- Hornebeck W, Maquart FX. Proteolyzed matrix as a template for the regulation of tumor progression. *Biomed Pharmacother*. 2003;57(5-6):223-30.
- McQuibban GA, Gong JH, Wong JP, Wallace JL, Clark-Lewis I, Overall CM. Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties in vivo. *Blood*. 2002;100(4):1160-7.
- Blasi F, Carmeliet P. uPAR: a versatile signalling orchestrator. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3(12):932-43.
- Sato I, Morita I, Kaji K, Ikeda M, Nagao M, Murota S. Reduction of nitric oxide producing activity associated with in vitro aging in cultured human umbilical vein endothelial cell. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;195(2):1070-6.
- Lee AC, Fenster BE, Ito H, et al. Ras Proteins Induce Senescence by Altering the Intracellular Levels of Reactive Oxygen Species. *J Biol Chem*. 1999;274(12):7936-40.

53. van der Loo B, Labugger R, Skepper JN, et al. Enhanced peroxynitrite formation is associated with vascular aging. *J Exp Med*. 2000;192(12):1731-44.
54. Macip S, Igarashi M, Fang L, et al. Inhibition of p21-mediated ROS accumulation can rescue p21-induced senescence. *EMBO J*. 2002;21(9):2180-8.
55. Xin MG, Zhang J, Block ER, Patel JM. Senescence-enhanced oxidative stress is associated with deficiency of mitochondrial cytochrome c oxidase in vascular endothelial cells. *Mech Ageing Dev*. 2003;124(8-9):911-9.
56. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408:239-47.
57. Finkel T, Serrano M, Blasco MA. The common biology of cancer and ageing. *Nature*. 2007;448(7155):767-74.
58. Mehta IS, Figgitt M, Clements CS, Kill IR, Bridger JM. Alterations to nuclear architecture and genome behavior in senescent cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1100:250-63.
59. Adams PD. Remodeling of chromatin structure in senescent cells and its potential impact on tumor suppression and aging. *Gene*. 2007;397(1-2):84-93.
60. Adams PD. Remodeling chromatin for senescence. *Aging Cell*. 2007;6(4):425-7.
61. Acosta JC, O'Loughlin A, Banito A, et al. Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell*. 2008;133(6):1006-18.
62. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(33):12481-6.
63. Fagagna FdAd. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(7):512-22.
64. Hiscott J, Marois J, Garoufalos J, et al. Characterization of a functional NF-kappa B site in the human interleukin 1 beta promoter: evidence for a positive autoregulatory loop. *Mol Cell Biol*. 1993;13(10):6231-40.
65. Niu J, Li Z, Peng B, Chiao PJ. Identification of an autoregulatory feedback pathway involving interleukin-1alpha in induction of constitutive NF-kappaB activation in pancreatic cancer cells. *J Biol Chem*. 2004;279(16):16452-62.
66. Orjalo AV, Bhaumik D, Gengler BK, Scott GK, Campisi J. Cell surface-bound IL-1alpha is an upstream regulator of the senescence-associated IL-6/IL-8 cytokine network. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(40):17031-6.
67. Bhaumik D, Scott GK, Schokrpur S, et al. MicroRNAs miR-146a/b negatively modulate the senescence-associated inflammatory mediators IL-6 and IL-8. *Aging*. 2009;1(4):402-11.
68. Coppe JP, Patil CK, Rodier F, et al. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol*. 2008;6(12):2853-68.
69. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-217.
70. Courtis-Cox S, Jones SL, Cichowski K. Many roads lead to oncogene-induced senescence. *Oncogene*. 2008;27(20):2801-9.
71. Freund A, Orjalo AV, Desprez PY, Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends Mol Med*. 2010;16(5):238-46.
72. Krtolica A, Larocque N, Genbacev O, et al. GROalpha regulates human embryonic stem cell self-renewal or adoption of a neuronal fate. *Differentiation*. 2011;81(4):222-32.
73. Tchkonja T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest*. 2013;123(3):966-72.
74. Coppe JP, Kauser K, Campisi J, Beausejour CM. Secretion of vascular endothelial growth factor by primary human fibroblasts at senescence. *J Biol Chem*. 2006;281(40):29568-74.
75. Capparelli C, Chiavarina B, Whitaker-Menezes D, et al. CDK inhibitors (p16/p19/p21) induce senescence and autophagy in cancer-associated fibroblasts, "fueling" tumor growth via paracrine interactions, without an increase in neo-angiogenesis. *Cell Cycle*. 2012;11(19):3599-610.
76. Bavik C, Coleman I, Dean JP, Knudsen B, Plymate S, Nelson PS. The gene expression program of prostate fibroblast senescence modulates neoplastic epithelial cell proliferation through paracrine mechanisms. *Cancer Res*. 2006;66(2):794-802.
77. Nickoloff BJ, Lingen MW, Chang BD, et al. Tumor suppressor maspin is up-regulated during keratinocyte senescence, exerting a paracrine anti-angiogenic activity. *Cancer Res*. 2004;64(9):2956-61.
78. Wajapeyee N, Serra RW, Zhu X, Mahalingam M, Green MR. Oncogenic BRAF induces senescence and apoptosis through pathways mediated by the secreted protein IGFBP7. *Cell*. 2008;132(3):363-74.
79. Chung HY, Cesari M, Anton S, et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev*. 2009;8(1):18-30.
80. Michaud M, Balardy L, Moulis G, et al. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J Am Med Dir Assoc*. 2013;14(12):877-82.
81. Penninx BW, Kritchewsky SB, Yaffe K, et al. Inflammatory markers and depressed mood in older persons: results from the Health, Aging and Body Composition study. *Biol Psychiatry*. 2003;54(5):566-72.
82. Wang M, Monticone RE, Lakatta EG. Arterial aging: a journey into subclinical arterial disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010;19(2):201-7.
83. Figaro MK, Kritchewsky SB, Resnick HE, et al. Diabetes, inflammation, and functional decline in older adults: findings from the Health, Aging and Body Composition (ABC) study. *Diabetes Care*. 2006;29(9):2039-45.
84. Guerrero AR, Uchida K, Nakajima H, et al. Blockade of interleukin-6 signaling inhibits the classic pathway and promotes an alternative pathway of macrophage activation after spinal cord injury in mice. *J Neuroinflammation*. 2012;9:40.
85. Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, et al. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*. 2011;479(7372):232-6.
86. Goren I, Muller E, Pfeilschifter J, Frank S. Severely impaired insulin signaling in chronic wounds of diabetic ob/ob mice: a potential role of tumor necrosis factor-alpha. *Am J Pathol*. 2006;168(3):765-77.
87. Kassem M, Marie PJ. Senescence-associated intrinsic mechanisms of osteoblast dysfunctions. *Aging Cell*. 2011;10(2):191-7.
88. Salminen A, Ojala J, Kaarniranta K, Haapasalo A, Hiltunen M, Soininen H. Astrocytes in the aging brain express characteristics of senescence-associated secretory phenotype. *Eur J Neurosci*. 2011;34(1):3-11.
89. Bitto A, Sell C, Crowe E, et al. Stress-induced senescence in human and rodent astrocytes. *Exp Cell Res*. 2010;316(17):2961-8.
90. Krishnamurthy J, Ramsey MR, Ligon KL, et al. p16INK4a induces an age-dependent decline in islet regenerative potential. *Nature*. 2006;443(7110):453-7.
91. Jaskelioff M, Muller FL, Paik JH, et al. Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Nature*. 2011;469(7328):102-6.
92. Ding Z, Wu CJ, Jaskelioff M, Ivanova E, et al. Telomerase reactivation following telomere dysfunction yields murine prostate tumors with bone metastases. *Cell*. 2012;148(5):896-907.
93. Sahin E, Colla S, Liesa M, et al. Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature*. 2011;470(7334):359-65.
94. Bernardes de Jesus B, Vera E, Schneeberger K, et al. Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer. *EMBO Mol Med*. 2012;4(8):691-704.
95. Rauser CL, Mueller LD, Rose MR. The evolution of late life. *Ageing Res Rev*. 2006;5(1):14-32.
96. Rockwood K, Mitnitski A, Song X, Steen B, Skoog I. Long-term risks of death and institutionalization of elderly people in relation to deficit accumulation at age 70. *J Am Geriatr Soc*. 2006;54(6):975-9.