



ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL

MOLE RATS AND THEIR MECHANISMS OF CANCER AND AGING RESISTANCE

LAS RATAS TOPO Y SUS MECANISMOS DE RESISTENCIA AL CÁNCER Y ENVEJECIMIENTO

Luis Fernando Tume Farfán

Laboratorio de Biología celular y Molecular. Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú.
Correo electrónico: luisferscr@gmail.com

The Biologist (Lima), 2014, 12 (1), jan-jun: 117-132.

ABSTRACT

The mole rats, subterranean rodents native to East Africa, exhibit high longevity of about 10-30 years compared to other rodents. Compared to humans and other mammals in which age-related diseases are apparent, this rodent shows little or no indications of these conditions because of evolved mechanisms allowing advanced age with high activity, bone health, unaffected reproductive capacity, and a constant brain capacity during its lifetime. Exploring the molecular mechanisms that allow mole rats to survive in "extreme" environments (dark, low oxygen concentration, etc.), cancer avoidance as well as the ability to kill cancer cells may be the key to understanding the molecular nature and identifying new anticancer strategies. In this review we describe the mechanisms of mole rats (*Heterocephalus* and *Spalax*) in the evasion of cancer, highlighting the importance of hyaluronic acid of high molecular weight secreted by fibroblasts of these species, which accumulates due to reduced activity of enzymes that degrade hyaluronan. We also consider some molecular pathways that regulate uncontrolled cell proliferation, aging, where there are marked differences between the rats and our species.

Keywords: Mole rats, aging, cancer, hyaluronic acid.

RESUMEN

Las ratas topo, son roedores subterráneos nativos de África del Este, y muestran una alta longevidad de aproximadamente 10 a 30 años, en comparación a otros roedores. En contraste con el ser humano y otros mamíferos, en donde las enfermedades relacionadas con la edad son evidentes, en este roedor se muestra poca o ninguna inclinación hacia estos padecimientos debido a mecanismos que ha adoptado en el transcurso de la evolución permitiéndole que ahora se mantenga en edad avanzada con una alta actividad, buena salud ósea, capacidad de reproducción sin verse afectada, y una capacidad cerebral constante durante su tiempo de vida. La exploración de los mecanismos moleculares que permiten a esta rata sobrevivir en ambientes "extremos" (oscuridad, bajas concentraciones de oxígeno, etc), para evadir el cáncer, así como para eliminar células cancerosas puede ser la clave para la comprensión de la naturaleza molecular e identificar nuevas estrategias contra el cáncer. En esta revisión se describirán los mecanismos que poseen las ratas topo (*Heterocephalus* y *Spalax*), para la evasión al cáncer, resaltando la importancia del ácido hialurónico de alto peso molecular secretado por los fibroblastos de estas especies, que se acumula debido a la disminución de la actividad de las enzimas que degradan el hialuronano. Además se toman en cuenta algunas vías moleculares que regulan la proliferación descontrolada, el envejecimiento en donde hay diferencias notorias con los ratones y nuestra especie.

Palabras clave: Ácido hialurónico, cáncer, envejecimiento, ratas topo.

INTRODUCCIÓN

Los ratones se han convertido en el modelo más adecuado para la investigación del cáncer por la presencia de mecanismos moleculares similares al nuestro, tiempo de generación corto, variedad de líneas y la propensión de estos animales a las diferentes neoplasias que afectan a los seres humanos (Tian *et al.* 2013). Un objetivo importante en la investigación del cáncer es entender los cambios genéticos y moleculares que subyacen a la transformación y qué mecanismos de defensa fallan en las personas cuando envejecen o se exponen a otros factores que originan el cáncer (Gorbunova *et al.* 2012). Debido a la extrema propensión al cáncer en los ratones, la investigación se centra exclusivamente en esta especie con la desventaja de que puede pasar por alto algunos mecanismos de supresión tumoral importantes utilizados por los animales de vida larga como nuestra especie (Buffenstein 2005, Azpurua & Seluanov 2013). Se han establecido ya diferencias importantes a nivel molecular entre las células de ratón y de humanos (Rodríguez *et al.* 2012). El perfil de supresión tumoral de los ratones es también diferente, los ratones, por ejemplo, expresan la telomerasa en tejidos somáticos, y las células de ratón son inmortales cuando se cultivan a una determinada concentración de oxígeno fisiológica. Hay estudios que indican que la actividad de la telomerasa ha coevolucionado con la masa corporal, pero no con el tiempo de vida. Los grandes roedores reprimen la actividad de telomerasa, mientras que los pequeños roedores mantienen niveles altos de actividad de la telomerasa en las células somáticas (Gorbunova & Seluanov 2009).

El hábitat natural de la rata topo, así como su comportamiento eusocial y la historia filogenética puede ser una de las razones por las que las ratas topo desnudas han desarrollado una longevidad tan extrema en

comparación con otros roedores (Yu *et al.* 2011). Muchos de los roedores histricognatos son de larga duración (por ejemplo, el puerco espín, cuyes y otras ratas topo) en comparación con otros subtipos de roedores (Keller & Jemielity 2006). Estos mecanismos mejoran la eficacia biológica inclusiva por parentesco, la atención cooperativa de jóvenes y transferencia intergeneracional de información (Buffenstein 2005). Las ratas topo viven bajo tierra y es bien evidenciado que los animales subterráneos están protegidos por ambos extremos climáticos y la depredación, lo que reduce su tasa de mortalidad extrínseca y favorece la evolución de una larga vida útil (Yu *et al.* 2011).

Aunque la mayoría de los roedores son pequeños y de vida corta, varios linajes han evolucionado independientemente para obtener una vida más larga sin un aumento concomitante en la masa corporal (Delaney *et al.* 2013). Los más notables son las dos especies subterráneas de rata topo desnuda *Heterocephalus glaber* (Rüppell, 1842) (HG) y la rata topo ciega *Spalax* (Guldenstaedt, 1770), que tienen una vida promedio de 32 y 21 años, respectivamente. La longevidad de estas especies ha despertado el interés en las estrategias de supresión tumoral que también han adquirido en el transcurso de la evolución, debido a que para muchas especies de roedores (incluyendo ratones, ratas, cobayas, jerbos y hámsteres), los tumores son comunes en edades avanzadas (Azpurua & Seluanov 2013).

Estas especies de rata topo son ahora un modelo único para la investigación en el envejecimiento debido a su fisiología, longevidad extrema cuando se compara con ratones y ratas, en donde está involucrado el sistema ubiquitina-proteasoma en la degradación regulada de proteínas, en donde supera seis veces al mecanismo de los ratones (Rodríguez *et al.* 2012). Además, estos individuos a pesar de estar afectados por otras

enfermedades en cautiverio, no desarrollan signos de neoplasia (Delaney *et al.* 2013).

El objetivo de esta revisión es describir los mecanismos que tiene la rata topo para evadir el cáncer y tener un gran tiempo de vida y lo importante que es el estudio de este animal en la investigación del cáncer de envejecimiento.

LA “RATA TOPO DESNUDA” HETEROCEPHALUS GLABER (NMR)

Los investigadores están interesados en la ecofisiología de esta rata topo, inicialmente se centraron en las respuestas de la NMR que permiten a los animales sobrevivir y prosperar en su entorno oscuro, frío y húmedo en las zonas áridas y semiáridas del noreste de África (De Waal *et al.* 2013). La evidencia fósil revela que la rata topo desnuda ha ocupado un nicho subterráneo desde la era del Mioceno temprano hace unos 24 mill de años, y no es de extrañar, que la NMR ha desarrollado un conjunto de respuestas de adaptación a este hábitat hostil, estos incluyen la tolerancia a la deficiencia de la vitamina D y eficiente metabolismo mineral en la ausencia de luz solar, la independencia de las fuentes de agua libres y digestión microbiana de los alimentos de baja calidad, con la dependencia concomitante en ácidos grasos volátiles como una fuente de energía y microbios como una fuente de proteínas (Edrey *et al.* 2011a).

La rata topo desnuda *H. glaber*, muestra una longevidad excepcional, con una vida máxima superior a 30 años, mucho mayor a la de otras especies de roedores, y es especialmente sorprendente teniendo en cuenta la pequeña masa corporal de la rata topo desnuda (Grimes *et al.* 2012). En comparación, un ratón doméstico de tamaño similar, que tiene una esperanza de vida de cuatro años. Se ha especulado que las ratas topo debido a que poseen menos especies moleculares en sus membranas celulares de fosfatidilcolinas y fosfatidiletanolaminas (2-6 %) que los ratones

(27-57%) y son más resistentes al envejecimiento (Mitchell *et al.* 2007). Además de su longevidad, las ratas topo desnudas muestran una resistencia inusual a cáncer (Azpurua *et al.* 2013). Las observaciones de varios años de grandes colonias de ratas topo desnudas no detectaron una incidencia de este padecimiento (Delaney *et al.* 2013). Esta resistencia se debe a que los fibroblastos de ratas topo secretan ácido hialurónico (HA) de alto peso molecular, que es más de cinco veces mayor que el HA humano o de ratón (Sun *et al.* 2005). Este HA de alto peso molecular de masa se acumula en abundancia en los tejidos de ratas topo desnudas debido a la disminución de la actividad de las enzimas que degradan al HA y una secuencia única de hialuronano sintasa 2 (HAS2), que da ventaja a este mecanismo (Edrey *et al.* 2011b). Además, las células de ratas topo desnudas son más sensibles a la señalización de HA, ya que tienen una mayor afinidad al HA en comparación con el ratón o células humanas (Tian *et al.* 2013).

La perturbación de las vías de señalización suficientes para la transformación maligna de fibroblastos de ratón no transforma las células de ratas topo desnudas. Sin embargo, en experimentos en donde una vez que el HA de alto peso molecular de masa se elimina, las células de ratas topo desnudas se vuelven susceptibles a la transformación maligna y forman fácilmente tumores en ratones (Liang *et al.* 2010). Se ha encontrado que las ratas topo desnudas han evolucionado con una mayor concentración de HA en la piel como una forma para proporcionar elasticidad de la piel necesaria para la vida en los túneles subterráneos. Este rasgo puede haber sido entonces co-optado por ofrecer resistencia al cáncer y la longevidad de esta especie (Tian *et al.* 2013).

Los mecanismos responsables de la resistencia al cáncer de ratas topo desnudas eran desconocidos, pero con experimentos *in vitro* se ha comprobado que los fibroblastos de ratas

topo muestran un fenómeno denominado "inhibición por contacto temprano", que es un mecanismo clave contra el cáncer que detiene la división celular cuando las células alcanzan una densidad elevada. En cultivos celulares, los fibroblastos de ratas topo llegan a una densidad mucho menor que los de un ratón. La inhibición por contacto temprano requiere la actividad de p53 y pRb que son vías supresoras tumorales. Es decir la inactivación tanto de p53 y pRb (proteína de retinoblastoma) atenúan la inhibición por contacto temprano. La inhibición por contacto temprano en humanos y de ratón se activa por la inducción de p27 (Kip1). Lo contrario ocurre en la rata topo, ya que esta inhibición por contacto se asocia con la inducción de p16 (Ink4a). Las funciones de p16 (Ink4a) y p27 (Kip1) en el control de la inhibición por contacto temprano son vías temporalmente separadas en esta especie: la inhibición por contacto temprano es controlada por p16 (Ink4a), y la inhibición de contacto regular es controlado por p27 (Kip1), este mecanismo adicional de protección aumenta la resistencia al cáncer (Seluanov *et al.* 2009). En este marco, p53 y Nrf2 (factor nuclear eritroide derivado 2), además de ambos proteger a las células de la proliferación descontrolada, también aumentan la eliminación de proteínas y orgánulos dañados y facilitan el mantenimiento de la integridad genómica y proteica. Estas vías regulan colectivamente una gran variedad de mecanismos que pueden contribuir al perfil de envejecimiento atenuado de la rata topo desnuda (Lewis *et al.* 2012).

En experimentos con fibroblastos de HG que fueron transducidas con un retrovirus que codifica el Antígeno T grande de SV40 y Ras oncogénico (G12V), no ocasionan lo que normalmente podría esperarse en las células humanas (adquieren propiedades neoplásicas en la ausencia de telomerasa) (Yuang *et al.* 2010), en este modelo de rata topo al expresarse estos genes las células de HG entran en crisis rápidamente cuando se trasplantan a

ratones inmunodeficientes, evidenciado por la presencia de puentes de anafase, células gigantes con núcleos grandes, células multinucleadas, y células con gran número de cromosomas o cromatina anormal. Por el contrario, de manera similar fibroblastos transducidos de ratón y de ratas forman tumores que crecen rápidamente y sin crisis. Después de la crisis con > 40 duplicaciones de la población de células de HG expresan SV40 Ras en el cultivo. La crisis en cultivo es impedida por la infección adicional de células con un retrovirus que codifica hTERT (transcriptasa inversa de la telomerasa). La crisis es una rápida respuesta de células de *Heterocephalus* que expresan el oncogén para el crecimiento en un entorno *in vivo*, este mecanismo evita la crisis y el crecimiento del tumor maligno. La reacción única de estas células de esta especie es la expresión de oncogenes que forman parte de la resistencia del cáncer de esta especie (Liang *et al.* 2010). Los fibroblastos de HG también son extremadamente tolerantes a las citotoxinas, calor, metales pesados, y xenobióticos (Lewis *et al.* 2012).

A pesar de la eficacia de este método en otros roedores, bovinos y humanos, que desarrollan cánceres agresivos capaces de metástasis y matar a sus anfitriones (Sun *et al.* 2005). En NMR, RasG12V y SV40 TAg hacen que las células entren en crisis rápidamente, evidenciado por numerosas anomalías nucleares. La crisis es comúnmente causada por daño en el ADN o disfunción de los telómeros y la insuficiencia concomitante de la citocinesis. La rapidez con la que las células de NMR entran en crisis o detienen el ciclo celular permanente puede reflejar su vigilancia del ciclo celular altamente eficaz, así mismo activando supresores de tumores cuando hay enfrentamientos con agentes mutagénicos. La resistencia a los factores estresantes químicos, agentes que dañan al ADN (por ejemplo, fármacos quimioterápicos) y toxinas pueden contribuir sustancialmente a la resistencia al

cáncer pronunciada de las ratas topo desnudas (Bindra *et al.* 2007; Liang *et al.* 2010).

Los fibroblastos de la NMR que expresan oncogenes pueden, sin embargo, formar tumores si también expresa ectópicamente hTERT (transcriptasa inversa de la telomerasa humana; Liang *et al.* 2010). La resistencia al cáncer alterada facilitada por hTERT indica que, a diferencia de las ratas y ratones de laboratorio y a pesar de los informes publicados en sentido contrario (Seluanov *et al.* 2007), las NMR carecen de telomerasa en tejidos somáticos y fibroblastos de la piel o hTERT que tiene propiedades diferentes de las telomerasa de los roedores. No se sabe si la adición de hTERT simplemente facilita el mantenimiento de los telómeros, pero esto parece poco probable que la crisis es inducida con rapidez antes de que las células tengan la posibilidad de dividirse en numerosas ocasiones y así acortar los telómeros críticamente. Más bien, los efectos extrateloméricos de hTERT, independiente de mantenimiento de los telómeros, pueden ser responsables del crecimiento tumorigénico inducido. Cuando las células de NMR se encuentran normalmente con agentes potencialmente mutagénicos o modificaciones celulares dejan de dividirse rápidamente y entrar en crisis.

Las ratas topo desnudas plantean un desafío a las teorías que hay entre el envejecimiento y el cáncer y la homeostasis redox. Aunque se caracteriza por el estrés oxidativo significativo, el proteoma de la rata topo desnuda no muestra sensibilidad relacionada con la edad al daño oxidativo (Rodríguez *et al.* 2011) o aumento de ubiquitinación (Kim *et al.* 2011).

LA “RATA TOPO CIEGA” SPALAX

Las ratas topo ciegas Subterráneas (*Spalax*), poseen un tiempo de vida (> 20 años), no muestran signos claros de envejecimiento o trastornos relacionados con el envejecimiento.

En 50 años de investigación en *Spalax*, no se han registrado tumores espontáneos entre los miles de individuos observados (Tian *et al.* 2013). Hasta la fecha ya se han identificado especies de *Spalax*, con los números diploides que van desde $2n = 52$ a $2n = 60$ como por ejemplo *Spalax ehrenbergi* (Nevo 2001) (Arieli & Nevo 1991). Filogenéticamente, *Spalax* se ha sugerido que pertenece a la superfamilia Muroidea, y está estrechamente relacionado con las especies murinas (p. eg., ejemplo, ratones, ratas). Un ancestro común murino de *Spalax* se sugirió que vivió hace aproximadamente 39 mill años (Steppan *et al.* 2004), durante el cual *Spalax* adquirió mecanismos biológicos únicos para hacer frente a la hipoxia (3 % O₂ durante 4 horas en comparación a las ratas comunes), la oscuridad, y otras tensiones relacionadas subterráneas presentes en este medio. En experimentos aplicando los potentes carcinógenos 3-metilcolantreno (3MCA) y 7,12-dimetilbenceno (a) antraceno/ 12-O-tetradecanoilforbol-13-Acetato (DMBA / TPA), confirmaron la alta resistencia de *Spalax* a los cánceres inducidos químicamente, a diferencia de todos los ratones y las ratas comunes que desarrollan tumores esperados después del tratamiento, excepciones pueden darse como en el caso de que 2 individuos *Spalax* del grupo de edad avanzada desarrollado malignidad 18 meses después del tratamiento. Además experimentos in vitro muestran una extraordinaria capacidad de los fibroblastos de *Spalax* cultivados, que restringen el comportamiento maligno en un amplio espectro de líneas de células cancerosas recién aisladas (Manov *et al.* 2013).

Experimentos también con cultivos de fibroblastos también se han realizado en especies como *Spalax judaei* (Ivanitskaya 2001) y *Spalax golani* (Nevo 2001), en donde después de 7-20 divisiones celulares, las células comenzaron a secretar IFN- γ , con la subsecuente muerte masiva de células

necróticas dentro de los 3 días. El fenómeno de la muerte celular por necrosis es independiente de las condiciones de cultivo o de acortamiento de los telómeros, además este mecanismo es distinto en HG, la rata topo desnuda en el que las células muestran hipersensibilidad a la inhibición por contacto (Gorbunova *et al.* 2013).

Se han comparado los cambios macroscópicos y microscópicos de la piel en *Spalax* y ratones. Ante agentes carcinógenos observándose necrosis en la piel y el tejido adiposo subcutáneo en los ratones, a diferencia de *Spalax* en donde la lesión de la piel llega completamente a curarse en poco tiempo mostrando engrosamiento epidérmico con hiperqueratosis y fibrosis dérmica (Manov *et al.* 2013).

Se ha sugerido previamente que las vías moleculares asociados con la tolerancia a la hipoxia, comparten funciones antiapoptóticas con aquellas asociados con la adaptabilidad del tumor (Ashur-Fabian *et al.* 2004, Avivi *et al.* 2005). Además, los patrones de expresión de *Spalax* tales como el factor de crecimiento endotelial vascular (Vegf) son similares a los de los tumores (Avivi *et al.* 2005). En términos más generales, la asociación entre la hipoxia y las respuestas relacionadas con el cáncer se basan en la evidencia amplia de que la invasión del tumor requiere la adaptación celular a la hipoxia del microambiente (Lendahl *et al.* 2009, Malik *et al.* 2012). A diferencia de la respuesta celular de *Spalax*, las células cancerosas adquieren inestabilidad genómica (Bindra *et al.* 2007).

El estrés oxidativo es un contribuyente significativo al proceso de envejecimiento y un factor clave que afecta a la longevidad de las especies. La enorme variación natural en las especies de esperanza de vida máxima puede ser debido a las diferencias interespecíficas en la generación de especies reactivas del oxígeno, las defensas antioxidantes y / o

niveles de daño oxidativo acumulado a macromoléculas celulares (tales como ADN, lípidos y proteínas) (Andziak *et al.* 2006).

Es por eso que el estudio de los mecanismos de estrés oxidativo del envejecimiento es muy importante tener en cuenta en estos animales ya que esta teoría ha sido la más aceptada ya que ofrece respuestas del por qué envejecemos y morimos alrededor de la sexta década, a pesar de la creciente evidencia de una multitud de especies que evidencian que no existe una relación directa entre las especies reactivas del oxígeno (ROS) y la longevidad. Esta especie de roedor desafía la teoría predominante del envejecimiento ya que avances recientes: En el caso de la vida de muy larga de duración que posee, los niveles de producción de ROS son similares a la de los ratones, las defensas antioxidantes también no son algo excepcional. Claramente, las ratas topo desnudas pueden tolerar este nivel de estrés oxidativo y tienen mecanismos para prevenir las enfermedades potencialmente letales. Esta relación entre los niveles de antioxidantes y la incidencia de cáncer es muy notoria tanto en *Spalax* y *Heterocephalus* (Lewis *et al.* 2012).

Podría existir cierta relación además con el perfil del suero de estos individuos, ya que si bien es cierto poseen altos niveles de lipoproteínas HDL y bajos niveles de LDL. El contenido de antioxidante en suero de la rata topo es mayor que la de humanos y de ratón. Los niveles séricos de proteína C reactiva (CRP) son significativamente más bajos en *Spalax* en comparación con la de humano o de ratón, lo que refleja los bajos niveles de la inflamación. Estas diferencias entre *Spalax*, humanos y de ratón se deben a varios factores que incluyen la actividad intensiva de estilo de vida que sigue *Spalax*, componentes de la dieta subterránea, y las adaptaciones genéticas evolutivas. El despliegue de la base genética de estas diferencias probablemente resultará en tratamientos únicos para una variedad de enfermedades humanas tales como

anormalidades lipídicas, inflamación y cáncer (Nasser *et al.* 2009).

Ya se han abordado los cambios relacionados con la edad en la función endotelial y la producción de especies reactivas del oxígeno en las arterias, corazón, en donde la expresión de la NO sintasa endotelial, enzimas antioxidantes (Cu, Zn -SOD, Mn -SOD, catalasa y peroxidasa de glutatión), NAD(P)H oxidasa subunidad gp91 (phox), y las proteínas mitocondriales (COX-IV, ATP sintasa, y porina, un indicador de la masa mitocondrial) no cambiaron significativamente con la edad. Por lo tanto estos individuos pueden mantener la función vascular juvenil y fenotipo celular oxidante-antioxidante relativamente mayor y están mejor protegidos contra el estrés oxidativo inducido por el envejecimiento que las ratas de más corta vida (Csiszar *et al.* 2007).

Con el uso de la RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa), ya se han analizado en varios tejidos de *Spalax* los niveles de expresión de ARNm de siete genes de defensa antioxidantes (catalasa, glutatión peroxidasa 1, Glutatión S-transferasa P1-1, hemo oxigenasa 1, superóxido dismutasa 1 y 2) y un regulador maestro de esta vía (el factor nuclear eritroide derivado 2 (Nrf2)), que al igual que en *Heterocephalus* juega un papel muy importante (Seifert *et al.* 2010, Schülke *et al.* 2012).

Los animales que han desarrollado las capacidades excepcionales, como la extraordinaria longevidad puede revelar puntos de vista pertinentes y potencialmente importantes en la investigación biomédica que no son evidentes en los animales de laboratorio estándar (Edrey *et al.* 2011).

El envejecimiento se refiere a un deterioro gradual de la función que, con el tiempo, conduce a un mayor riesgo de mortalidad, y disminución de la fertilidad. Este proceso

generalizado se produce en casi todos los organismos, aunque algunos organismos de larga vida, habitantes de agua fría al parecer muestran un envejecimiento insignificante. La senescencia se caracteriza por el cambio relacionada con la edad atenuada en las funciones reproductivas y fisiológicas. Sorprendentemente hembras reproductoras no muestran ninguna disminución de la fecundidad, incluso en su tercera década de vida. Es evidente que los procesos fisiológicos y bioquímicos en esta especie han evolucionado para ampliar drásticamente la vida saludable. El desafío que tenemos por delante es comprender estos mecanismos claramente (Buffenstein 2008).

Estos roedores muestran una serie de adaptaciones morfológicas y fisiológicas, incluyendo especializaciones del cerebro, a este ambiente subterráneo que han habitado desde el Mioceno temprano. Algunas de estas especializaciones cerebrales pueden ser potencialmente importantes para su longevidad excepcional. Para servir como base para futuros estudios del cerebro (Xiao *et al.* 2006).

En HG varios datos indican la modulación de la traducción de las proteínas implicadas en la longevidad, las células de estos animales producen menos proteínas aberrantes, apoyando la hipótesis de que el proteoma más estable de la rata topo desnuda contribuye a su longevidad (Azpurua *et al.* 2013).

Existe una imperiosa necesidad de explorar e implementar intervenciones mitocondrias rejuvenecedoras que pueden cerrar la brecha actual hacia la evasión de la senectud. Se ha descubierto recientemente en los mamíferos, poseedoras de un mecanismo natural, denominado mitoptosis ("suicidio" selectivo de las mitocondrias), que facilitan la purificación continua del pool mitocondrial en un organismo con especies reactivas de oxígeno (ROS). Esto va en concordancia que la

regulación de la longevidad es un proceso complejo mediante el cual los mecanismos de dependientes e independiente de ROS interactúan para determinar la vida útil máxima de las especies (Scialo *et al.* 2012). La mitoptosis, que está considerada como la primera etapa de la apoptosis inducida por ROS, subyace en la atresia folicular (un mecanismo de "control de calidad" en las células germinales femeninas que elimina la mayoría de los folículos germinales en embriones femeninos). La mitoptosis también puede activarse en las células somáticas adultas postmitóticas por las adaptaciones fenotípicas conservadas a la restricción de oxígeno intermitente (IOR) y actúa sinérgicamente con la restricción calórica intermitente (ICR). Tanto IOR e ICR son comunes en los mamíferos, pero parecen ser la base extraordinaria longevidad y la resistencia al cáncer aumentada en las ballenas de Groenlandia *Balena mysticetus* (Linnaeus, 1758) y ratas topo desnudas HG. Un análisis comparativo de los mecanismos de ROS e ICR en ambos mamíferos, junto con la experiencia de décadas de investigación biomédica y clínica podría ayudar al refinamiento del estudios de ambos mecanismos para el rejuvenecimiento humano (Prokopov 2007).

Es conocido que el péptido beta amiloide (A β) está implicado en la enfermedad de Alzheimer (EA) como un componente integral de la toxicidad neuronal y la formación de placas. Los cerebros de los roedores más longevos, las ratas topo (NMR) de aproximadamente 32 años de edad tienen niveles de A β similares a los del ratón modelo 3xTg. Curiosamente, no se ha encontrado evidencia de placas extracelulares, ni hubo un aumento relacionado con la edad en los niveles de en los individuos examinados (de 2 a más de 20 años). El péptido A β de la NMR muestra una mayor homología con la secuencia humana que a la secuencia de ratón, que difieren en sólo en un aminoácido del modelo. Esta sutil diferencia entre especies lleva a establecer

desemejanzas en la propensión de agregación pero no de neurotoxicidad; el A β de NMR es menos propenso a la agregación que el A β de los humanos. Sin embargo, tanto A β de NMR y humanos son igualmente tóxicos para las neuronas del hipocampo del ratón, lo que sugiere que la neurotoxicidad A β y las propiedades de agregación no correlacionan en las ratas topo. La comprensión de cómo las NMR adquiere y tolera altos niveles de A β sin formación de placas, podría además proporcionar información útil sobre la enfermedad de Alzheimer (AD), y puede dilucidar los mecanismos de protección que retardan la aparición de AD (Edrey *et al.* 2013).

La teoría del estrés oxidativo del envejecimiento predice que el envejecimiento está regulado principalmente por la acumulación progresiva de macromoléculas que causan efectos nocivos a la homeostasis celular e inducen a una disminución de la función fisiológica. Sin embargo, la detección de un mayor nivel de carbonilos de proteínas oxidadas en las fracciones solubles celulares de roedores y ratas topo desnudas de larga vida (~30 años) en comparación con los ratones de corta vida (~3,5 años) aparentemente contradicen un principio clave de la teoría oxidativa anteriormente tratada. Como la oxidación menudo inactiva la función enzimática e induce oligómeros solubles de orden superior, los estudios que han medido el nivel global de proteínas carbonilo en diferentes tejidos de NMR y ratones agrupados por edad determinan el concepto tradicional de la oxidación mediada por alteraciones de la función y la inducción de estructuras de orden superior de las proteínas que se mantienen en las NMR. Hay tres observaciones intrigantes con las proteínas de NMR: (1) Las proteínas carbonilo se elevan de manera significativa a través de diferentes tejidos a pesar de su excepcional longevidad, (2) la función enzimática se restaura a pesar de que experimentan un mayor nivel de carbonilación de proteínas, y (3) las enzimas muestran menor

sensibilidad para formar oligómeros de orden superior no reducibles en comparación con las proteínas de vida corta de ratón en respuesta al estrés oxidativo. Estas observaciones se han hecho basándose en el análisis global de las proteínas carbonilo y la identificación de dos proteínas fuertemente carboniladas en el riñón, triosafosfato isomerasa (TPI) y peroxiredoxina citosólica (Prdx1). Estas observaciones intrigantes inesperadas sugieren que la modificación oxidativa puede no ser el único criterio para la alteración de las proteínas y la función de las enzimas, y es probable que el microambiente celular sea el factor fundamental más probable subyacente en la longevidad excepcional de NMR (De Waal *et al.* 2013).

Mediante imágenes de tejidos obtenidas por

rayos X, microscopía de fluorescencia y análisis directos de elementos traza revela bajos niveles de selenio en el hígado y el riñón de las ratas topo. Además sus cerebros en comparación con los de ratones tienen niveles de selenio similares. Este efecto no explica por qué la deficiencia de selenio es uniforme debido a las actividades de metionina sulfóxido reductasa son similares en ratones y NMR. Sin embargo, la actividad de la glutatión peroxidasa es inferior en el hígado y el riñón de la rata topo que en tejidos de ratón. Además, el etiquetado metabólico de las células de ratas topo con ^{75}Se revela una pérdida de la banda de peroxidasa de glutatión 1 (GPx1), mientras que se conservan otras selenoproteínas, mostrando que la reducción de la utilización de selenio es debido a un defecto específico en la expresión de GPx1 (Kasaikina *et al.* 2011).



Figura 1. (A) Rata topo ciega *Spalax sp.* (B) Rata topo desnuda *Heterocephalus glaber*. Modificado de Azpurua & Seluanov (2013).

LOS MODELOS TRADICIONALES DE ENVEJECIMIENTO: FORTALEZAS Y DEBILIDADES

Los modelos animales más utilizados en biogerontología son *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900), *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830), *Mus musculus* (Linnaeus, 1758) (en particular la cepa consanguínea C57Bl/6) y *Rattus norvegicus* (Terkenhout, 1769). Gracias a estos modelos animales

tradicionales que exhiben rasgos comunes de rápido envejecimiento, como la inestabilidad genómica y el daño a macromoléculas con la edad, se han producido importantes conocimientos sobre la genética y la biología molecular del envejecimiento en todo el reino animal. Además, puesto que sus genomas han sido bien caracterizados, las manipulaciones experimentales que implican la sobreexpresión y / o supresión de genes particulares son posibles, facilitan los estudios

que pueden abordar preguntas acerca de prolongación de la vida y de los mecanismos biológicos que intervienen en el proceso de envejecimiento (Buffenstein *et al.* 2008).

Avances significativos en el campo del envejecimiento se han traducido del estudio de estas especies modelo, incluyendo la alteración de la expectativa de vida a través de medios genéticos. Por ejemplo, mediante la manipulación del gen de "Methuselah" identificado en *D. melanogaster*, los investigadores han extendido la vida útil del organismo en un 35% (Lin *et al.* 1998) con la resistencia concomitante al estrés (calor, hambre, y el estrés oxidativo), revisado por Paaby & Schmidt (2008). Mutaciones de un único gen que influyen en la máxima expectativa de vida (MLS) también han sido descubiertas en una amplia gama de modelos animales clásicos, incluyendo a las ratas topo (Aigaki *et al.* 2002). Colectivamente, estos estudios llevaron a plantear la hipótesis de que

un programa genético conservado evolutivamente puede vincular la utilización de nutrientes y la partición de la energía con la vida útil (Longo *et al.* 2005).

ESTABILIDAD CELULAR TISULAR

La eficacia del mantenimiento de su nivel de proteínas de manera constante, es un buen indicador de que este tipo de recambio proteico eficiente es uno de los responsables de la resistencia al cáncer y envejecimiento (Pérez *et al.* 2009). Las proteínas son esenciales para todos los procesos fisiológicos, por lo que el mantenimiento de su estructura y función es crítica para la existencia de un organismo. La expresión de proteínas alteradas producto de mutaciones da lugar a problemas de la función y muerte celular (Naidoo 2009). Los cambios relacionados con la edad son evidentes en ratones, pero ausentes en NMR durante más de 2 décadas (Pérez *et al.* 2009).

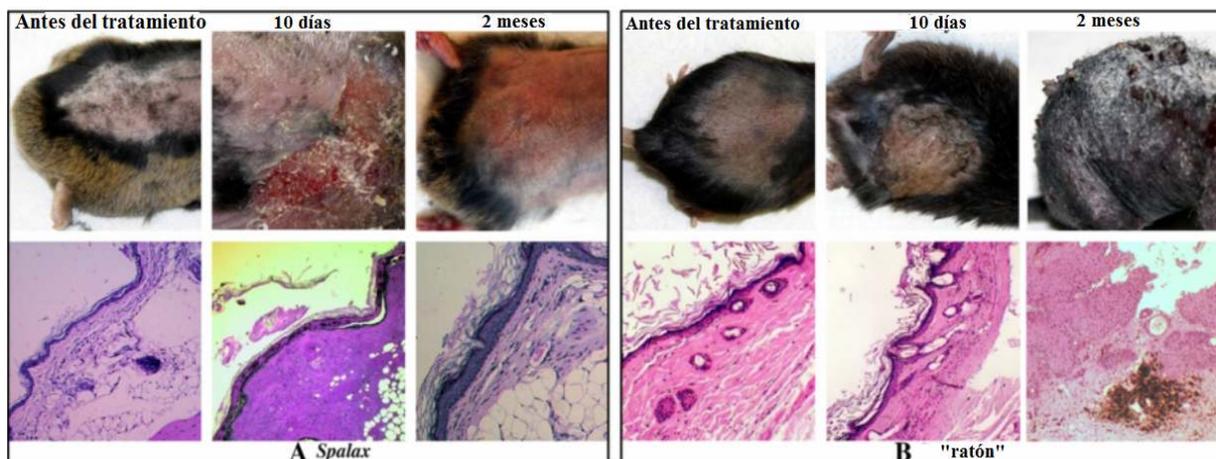


Figura 2. Efecto de aplicaciones de los cancerígenos 7,12-dimetilbenz (a) antraceno / 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato, en piel de *Spalax* y ratones. Cambios macroscópicos y microscópicos de la piel en *Spalax* (A) y ratones (B). (A) los tejidos normales (imagen izquierda). La necrosis de la piel y el tejido adiposo subcutáneo (imágenes intermedias). Lesión de la piel completamente curada mostrando engrosamiento epidérmico con hiperqueratosis y fibrosis dérmica (imágenes de la derecha). (B) los tejidos normales (imagen izquierda). Ampollas intraepidérmicas, parcialmente se rompen con la formación de costras, erosión, y la congestión con infiltrado de células inflamatorias en la dermis indican la inflamación continua (imágenes medias). Excrecencias papilares de la piel con engrosamientos, epidermis displásica, numerosas mitosis y los cambios en el color son indicativas de carcinoma de células escamosas (imagen derecha). Modificado de Manov *et al.* (2013).

LA PARTICIPACIÓN DE LOS LÍPIDOS EN EL ENVEJECIMIENTO DE LAS RATAS TOPO

Los lípidos también pueden ser críticos para afectar las tasas de envejecimiento a través de la estabilidad celular (Hulbert *et al.* 2007). Entre otras funciones, estas componen la bicapa de la membrana celular; un daño a los fosfolípidos de membrana compromete la estabilidad de la célula y, por tanto deteriora la capacidad para regular el contenido de la célula. Los lípidos que son más susceptibles al estrés oxidativo tienen múltiples dobles enlaces y un alto índice de peroxidación (PI). El daño oxidativo a estos lípidos poliinsaturados produce un efecto negativo, ya que los productos de la peroxidación de lípidos son en sí mismos potentes ROS, lo que trae como consecuencia un mayor daño oxidativo. Colectivamente, estos ejemplos sugieren que la duplicación de la máxima esperanza de vida (MLS) se acompaña de una reducción del 19% en el PI de los ácidos grasos en el caso del músculo esquelético (Hulbert *et al.* 2007). Esta relación entre la susceptibilidad a la peroxidación lipídica y la longevidad es también evidente dentro de especies tales como: las abejas reinas que tienen los más bajos IPs que las abejas obreras (Haddad *et al.* 2007), las cepas salvajes de ratones que muestran los IP proporcionales a su longevidad (Hulbert *et al.* 2006) y en el caso de los humanos también hay esta susceptibilidad (Puca *et al.* 2008).

EL ROL DEL SISTEMA DE MARCAJE UBIQUITINA

Estos roedores mantienen buena salud durante al menos el 75 % de sus 32 años de vida, lo que sugiere que la disminución de la integridad genómica o la homeostasis de proteínas habitualmente observada durante el envejecimiento es bien atenuada.

El sistema ubiquitina proteasoma (UPS)

desempeña un papel fundamental en la homeostasis de proteínas por la degradación de proteínas oxidadas dañadas y mal plegadas, para lo que es estrictamente necesario que una proteína que va ser degradada debe ser marcada mínimamente con 4 monómeros de ubiquitina en forma de cadena para que sea reconocida por el sistema ubiquitino proteosómico. Se ha examinado la actividad del proteasoma en ratas topo desnudas y ratones, en hígados enteros lisados así como fracciones subcelulares para investigar los mecanismos detrás del aparente aumento de la eficacia de UPS, encontrándose que, en comparación con las muestras de ratón, las ratas topo desnudas tienen significativamente mayor actividad tipo quimotripsina (CHT- L) con un aumento de dos veces en la tripsina (TL) en ambos lisados enteros, así como fracciones citosólicas. La electroforesis de la totalidad de los lisados de tejidos ha mostrado que el proteasoma 20S es más activo en las especies de vida más larga y que proteosoma 26S es tanto más activo y más numeroso. El análisis de "Western blot" revela que ambas subunidades 19S y subunidades catalíticas inmunoproteasómicas están presentes en mayores cantidades en la rata topo desnuda lo que sugiere que la observación de la mayor actividad específica puede ser debido a la mayor proporción de inmunoproteasomas en los hígados de los adultos jóvenes sanos. Por tanto, parece que los proteasomas en esta especie están preparados para la eliminación eficaz de las proteínas de estrés dañados. Además de la caracterización del proteasoma de la rata topo desnuda y su regulación podría llevarnos a obtener importantes conocimientos sobre cómo las células de estos animales manejan el aumento del estrés y el daño de las proteínas para mantener una salud por muchos años en sus tejidos y en última instancia, una vida de duración prolongada (Rodríguez *et al.* 2012).

Este mecanismo es responsable de la degradación regulada de proteínas. Como tal,

el proteasoma es generalmente considerado como un componente integral en el mantenimiento del control de calidad de las proteínas. Esto a su vez juega un papel complejo muy crítico en el mantenimiento de la salud y longevidad. El complejo UPS es altamente específico y estrechamente regulado en donde involucra la participación de varios cientos de proteínas específicas. Los proteasomas reconocen sustratos ubiquitinilados y escinden el sustrato polipeptídico en péptidos más pequeños con el propósito general de mantener la homeostasis celular. Los sustratos degradados son de dos clases : a) proteínas de vida corta normalmente implicadas en el control del ciclo celular, el crecimiento o la transcripción que se encuentra principalmente en el citosol y en el núcleo y b) proteínas mal plegadas o dañadas. La eliminación proteínas dañadas se produce en el citosol, mientras que el control de calidad de las proteínas recién sintetizadas tiene lugar cerca del retículo endoplásmico. La distribución subcelular de proteasoma varía dependiendo del tejido y el estadio del ciclo celular, pero en general el 60 a 90 % de proteasomas intactos activos residen en el citosol. Esta fracción subcelular incluye más o menos el 50 % de proteasomas que interactúan con el lado citosólico del retículo endoplasmático y se copurifican con los microsomas durante la centrifugación diferencial. El restante 10 % a 40 % se localiza en el núcleo donde los proteasomas son responsables del recambio de factores de transcripción, proteínas implicadas en la reparación del ADN, intercambio de las cromáticas hermanas, y el control de punto de control de daño de ADN (Rodríguez *et al.* 2010).

CONSIDERACIONES GENERALES

Es importante tener en cuenta que los fibroblastos de NMR, como las de otras

especies de larga vida, son muy resistentes a una amplia gama de toxinas peligrosas, fármacos quimioterapéuticos, calor y baja glucosa del medio (Salmón *et al.* 2008). Sorprendentemente, las células de NMR al parecer son más sensibles que las células de ratón a ciertas formas de estrés, tales como H₂O₂, la luz ultravioleta (UV) y la rotenona (Salmón *et al.* 2008). Estas excepciones a su enorme capacidad de recuperación pueden proporcionar información útil sobre los mecanismos de supervivencia de los animales frente a toxinas o situaciones estresantes. La falta de resistencia al H₂O₂ y luz UV refleja rasgos asociados a las condiciones ambientales bajo tierra. La evolución de tal nicho puede haber determinado los niveles óptimos de antioxidantes celulares clave en las NMR por la disminución considerable de 70 veces el nivel de glutatión peroxidasa citosólica y susceptibilidad específica de la especie a la peroxidación de lípidos de membrana (Hulbert *et al.* 2006).

Otro punto importante es el aumento de la susceptibilidad a ciertas toxinas que no puede ser perjudicial ya que reflejan la regulación diferencial de las vías que regulan la sensibilidad y respuestas a daño en el ADN, tales como ATR y p53 (marcadores comunes de la respuesta al estrés celular), y la senescencia celular mejorada y las vías de apoptosis que podría eliminar o evitar que las células dañadas de contribuir a la disminución fisiológica del organismo. Por último, las secciones de cerebro de NMR son tolerantes a la privación de nutrientes (Nathaniel *et al.* 2009), y tal vez lo más impresionante, es que los cerebros de NMR son extremadamente tolerantes de una amplia gama de disponibilidad de oxígeno, sobreviviendo a la hipoxia y anoxia (Larson & Parque 2009, Nathaniel *et al.* 2009). En efecto, aunque estos animales han evolucionado para vivir bajo atmósferas relativamente hipóxicas, parecen prosperar cuando están alojados sobre el suelo en atmósferas gaseosas que son

comparativamente hiperóxicas (Edrey *et al.* 2013).

CONCLUSIÓN

Dado que actualmente se investigan los múltiples factores que influyen en la biología de las neoplasias y el envejecimiento, las ratas topo son un modelo animal adecuado, debido a que los mecanismos que poseen para tener una longevidad mayor, resistencia a la hipoxia, al cáncer, podrían tomarse como referencia para los estudios en las neoplasias humanas y enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Las investigaciones en RMN han evidenciado datos que originan muchas teorías ampliamente aceptadas del envejecimiento, pero los estudios futuros apuntan a otras rutas que buscan modular el envejecimiento para poder proporcionarnos información más pertinente en este proceso muy complejo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aigaki, T. K.; Seong, X. & Matsuo, T. 2002. Longevity determination genes in *Drosophila melanogaster*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123:1531-1541.
- Andziak, B.; O'Connor, T. P.; Qi, W.; DeWaal, E. M.; Pierce, A.; Chaudhuri, A. R. & Buffenstein, R. 2006. High oxidative damage levels in the longest-living rodent, the naked mole-rat. *Aging Cell*, 5:463-471.
- Arieli, R. & Nevo, E. 1991. Hypoxic survival differs between two mole rat species (*Spalax ehrenbergi*) of humid and arid habitats. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100:543-545.
- Ashur-fabian, O.; Avivi, A.; Trakhtenbrot, L.; Adamsky, K.; Cohen, M., Kajakaro, G.; joel, A.; Amariglio, N.; Nevo, E. & Grechavi, G. 2004. Evolution of p53 in hypoxia-stressed *Spalax mimics* human tumor mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101:12236-12241.
- Avivi, A., Shams.; I.; Joel, A.; Lache, O.; Levy, A. P. & Nevo, E. 2005. Increased blood vessel density provides the mole rat physiological tolerance to its hypoxic subterranean habitat. *FASEB Journal*, 19:1314-1316.
- Azpurua, J.; Ke, Z.; Chen, I. X.; Zhang, Q., Ermolenko, D. N.; Zhang, Z. D.; Gorbunova, V. & Seluanov, A. 2013. Naked mole-rat has increased translational fidelity compared with the mouse, as well as a unique 28S ribosomal RNA cleavage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110:17350-17355.
- Azpurua, J. & Seluanov, A. 2013. Long-lived cancer-resistant rodents as new model species for cancer research. *Frontiers in Genetics*, 3:319-322.
- Bindra, R.; Crosby, M. & Glazer, M. 2007. Regulation of DNA repair in hypoxic cancer cells. *Cancer Metastasis Reviews*, 26:249-260.
- Buffenstein, R. 2005. The naked mole-rat: a new long-living model for human aging research. *Journal Gerontology*, 60:1369-1377.
- Buffenstein, R. 2008. Negligible senescence in the longest living rodent, the naked mole-rat: insights from a successfully aging species. *Journal of Comparative Physiology B*, 178:439-445.
- Csiszar, A.; Buffenstein, R. & Ungvari, Z. 2007. Vascular aging in the longest-living rodent, the naked mole rat. *American Journal of Physiology*, 293:919-927.
- De Waal, E M.; Liang, H.; Pierce, A.; Hamilton, R. T.; Buffenstein, R. & Chaudhuri, A. R. 2013. Elevated protein carbonylation and oxidative stress do not affect protein structure and function in the long-living naked-mole rat: a proteomic approach. *Biochemical and*

- Biophysical Research Communications, 434:815-819.
- Delaney, M. A.; Nagy, L.; Kinsel, M. J. & Treuting, P. M. 2013. Spontaneous histologic lesions of the adult naked mole rat (*Heterocephalus glaber*): a retrospective survey of lesions in a zoo population. *Veterinary Pathology*, 50:607-621.
- Edrey, Y. H.; Park, T. J.; Kang, H.; Biney, A.; Buffenstein, R. 2011a. Endocrine function and neurobiology of the longest-living rodent, the naked mole-rat. *Experimental Gerontology*, 46:116-23.
- Edrey, Y. H.; Hanes, M.; Pinto, M.; Mele, J. & Buffenstein, R. 2011b. Successful aging and sustained good health in the naked mole rat: a long-lived mammalian model for biogerontology and biomedical research. *The ILAR Journal*, 52:41-53.
- Edrey, Y. H.; Medina, D. X.; Gaczynska, M.; Osmulski, P. A.; Oddo, S.; Caccamo, A. & Buffenstein, R. 2013. Amyloid beta and the longest-lived rodent: the naked mole-rat as a model for natural protection from Alzheimer's disease. *Neurobiology Aging*, 34: 2352-2360.
- Gorbunova, V. & Seluanov, A. 2009. Coevolution of telomerase activity and body mass in mammals: from mice to beavers. *Mechanisms of Ageing and Development*, 130: 3-9.
- Gorbunova, V.; Hine, C.; Tian, X.; Ablueva, J.; Gudkov, A. V.; Nevo, E. & Seluanov, A. 2012. Cancer resistance in the blind mole rat is mediated by concerted necrotic cell death mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109:19392-19396.
- Grimes, K. M.; Lindsey, M. L.; Gelfond, J. A. & Buffenstein, R. 2012. Getting to the heart of the matter: age-related changes in diastolic heart function in the longest-lived rodent, the naked mole rat. *Journal Gerontology A Biological Sciences Medicine Science*, 67:384-394.
- Hulbert, A.; Faulkes, S. & Buffenstein, R. 2006. Oxidation-resistant membrane phospholipids can explain longevity differences among the longest living rodents and similarly-sized mice. *Journal Gerontology A Biological Sciences Medicine Science*, 61:1009-1018.
- Hulbert, A.; Pamplona, R.; Buffenstein, R. & Buttemer, W. 2007. Life and death: Metabolic rate, membrane composition, and life span of animals *Physiology Reviews*, 87:1175-1213.
- Kasaikina, M. V.; Lobanov, A. V.; Malinouski, M. Y.; Lee, B. C.; Seravalli, J.; Fomenko, D. E.; Turanov, A. A.; Finney, S.; Vogt, T. J.; Park, R. A.; Miller, D. L. & Gladyshev, V. N. 2011. Reduced utilization of selenium by naked mole rats due to a specific defect in GPx1 expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 286:17005-17014.
- Keller, L. & Jemielity, S. 2006. Social insects as a model to study the molecular basis of ageing. *Experimental Gerontology*, 41:553-556.
- Kim, E.; Fang, X.; Fushan, A. A. & Bronson, R. T. 2011. Genome sequencing reveals insights into physiology and longevity of the naked mole rat. *Nature*, 479: 223-227.
- Larson, J. & Park, T. 2009. Extreme hypoxia tolerance of naked mole rat brain. *Neuroreport*, 20:1634-1637.
- Lendahl, U.; Lee, K. L.; Yang, H. & Poellinger, L. 2009. Generating specificity and diversity in the transcriptional response to hypoxia. *Nature Reviews Genetics*, 10:821-832.
- Lewis, K. N.; Andziak, B.; Yang, T. & Buffenstein, R. 2013. The Naked Mole-Rat Response to Oxidative Stress: Just Deal with It. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19: 1388-1399.
- Lewis, K. N.; Mele, H.; Hornsby, P. H. & Buffenstein, R. 2012. Stress resistance in the naked mole-rat: the bare essentials - a

- mini-review. *Gerontology*, 58:453-462.
- Liang, S.; Mele, J.; Wu, Y.; Buffenstein, R. & Hornsby, P.J. 2010. Resistance to experimental tumorigenesis in cells of a long-lived mammal, the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*). *Aging Cell*, 9:626-35.
- Lin, Y.; Seroude, L. & Benzer, S. 1998. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant Methuselah. *Science*, 282:943-946.
- Malik, A.; Korol; Weber, M.; Hankeln, T.; Avivi, A. & M. Band. 2012. Transcriptome analysis of the *Spalax* hypoxia survival response includes suppression of apoptosis and tight control of angiogenesis. *BMC Genomics*, 13:615-622.
- Manov, I.; Hirsh, M.; Iancu, T. C.; Malik, A.; Sotnichenko, N.; Band, M.; Avivi, A. & Shams, I. 2013. Pronounced cancer resistance in a subterranean rodent, the blind mole-rat, *Spalax*: *in vivo* and *in vitro* evidence. *BMC Biology*, 11:91-105.
- Mitchell, T. W.; Buffenstein, R. & Hulbert, A. J. 2007. Membrane phospholipid composition may contribute to exceptional longevity of the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*): a comparative study using shotgun lipidomics. *Experimental Gerontology*. 42:1053-62.
- Naidoo, N. 2009. ER and aging: Protein folding and the ER stress response. *Aging Research Reviews*, 8:150-159.
- Nasser, N. J.; Kaplan, M.; Nevo, E. & Aviram, M. 2009. Lipid profile and serum characteristics of the blind subterranean mole rat, *Spalax*. *PLoS One*, 4:e4528.
- Nathaniel, T.; Saras, A.; Umesiri, F. & Olajuyigbe, F. 2009. Tolerance to oxygen nutrient deprivation in the hippocampal slices of the naked mole rats. *Journal of Integrative Neuroscience*, 8:123-136.
- Paaby, A & Schmidt, P. 2008. Functional significance of allelic variation at Methuselah, an aging gene in *Drosophila*. *PLoS One*, 3:e1987.
- Pérez, V.; Buffenstein, R.; Masamsetti, V.; Leonard, S.; Salmon, A.; Mele, J.; Andziak, B.; Yang, T.; Edrey, Y.; Friguet, B.; Ward, W.; Richardson, A. & Chaudhuri, A. 2009. Protein stability and resistance to oxidative stress are determinants of longevity in the longest-living rodent, the naked mole rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106:3059-3064.
- Prokopov, A. F. 2007. Theoretical paper: exploring overlooked natural mitochondria-rejuvenative intervention: the puzzle of bowhead whales and naked mole rats. *Rejuvenation Research*, 10:543-60.
- Puca, A. A.; Chatgialloglu, C. & Ferreri, C. 2008. Lipid metabolism and diet: Possible mechanisms of slow aging. *International Journal of Biochemistry. Cell Biology*, 40: 324- 333.
- Rodriguez, K. A.; Wywial, E., Perez, V. I.; Lambert, A. J.; Edrey, Y. H.; Lewis, K. N.; Grimes, K., Lindsey, M. L.; Brand, M. D. & Buffenstein, R. 2011. Walking the oxidative stress tightrope: a perspective from the naked mole-rat, the longest-living rodent. *Current Pharmacological Design*, 17:2290-307.
- Rodriguez, K. A.; Edrey, Y. H.; Osmulski, P.; Gaczynska, M. & Buffenstein, R. 2012. Altered composition of liver proteasome assemblies contributes to enhanced proteasome activity in the exceptionally long-lived naked mole-rat. *PLoS One*, 7:e35890.
- Rodriguez, K. A.; Edrey, Y. H.; Osmulski, P.; Gaczynska, M. & Buffenstein, R. 2012. Altered composition of liver proteasome assemblies contributes to enhanced proteasome activity in the exceptionally long-lived naked mole-rat. *PLoS One*, 7:e35890.
- Rodriguez, K. A.; Gaczynska, M. & Osmulski,

- P. A. 2010. Molecular mechanisms of proteasome plasticity in aging. *Mechanisms Ageing Development*, 131: 144-155.
- Salmon, A.; Sadighi, A.; Buffenstein, R. & Miller, R. 2008. Fibroblasts from naked mole rats are resistant to multiple forms of cell injury, but sensitive to peroxide, ultraviolet light, and endoplasmic reticulum stress. *The Journals of Gerontology: Series A*, 63:232-241.
- Schülke, S.; Dreidax, D.; Malik, A.; Burmester, T.; Nevo, E.; Band, M.; Avivi, A. & Hankeln, T. 2012. Living with stress: regulation of antioxidant defense genes in the subterranean, hypoxia-tolerant mole rat, *Spalax*. *Gene*, 500:199-206.
- Scialo, F.; Mallikarjun, V.; Stefanatos, R. & Sanz, A. 2012. Regulation of lifespan by the mitochondrial electron transport chain: reactive oxygen species-dependent and reactive oxygen species-independent mechanisms. *Antioxid Redox Signal*, 19:1953-69.
- Seifert, U.; Bialy, L. P.; Ebstein, F.; Bech-Otschir, D. & Voigt, A. 2010. Immunoproteasomes preserve protein homeostasis upon interferon-induced oxidative stress. *Cell*, 142:613-624.
- Seluanov, A.; Chen, Z.; Hine, C.; Sasahara, T.; Ribeiro, A.; Catania, K.; Presgraves, D. & Gorbunova, V. 2007. Telomerase activity coevolves with body mass not lifespan. *Aging Cell*, 6:45-52.
- Seluanov, A.; Hine, C.; Azpurua, J.; Feigensohn, M.; Bozzella M.; Mao, Z.; Catania, K. C. & Gorbunova, V. 2009. Hypersensitivity to contact inhibition provides a clue to cancer resistance of naked mole-rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106:19352-19357.
- Steppan, S.; Adkins, R. & Anderson, J. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *System Biology*, 53:533-553.
- Sun, B.; Chen, M.; Hawks, C. L.; Pereira-Smith, O. M. & Hornsby, P. J. 2005. The minimal set of genetic alterations required for conversion of primary human fibroblasts to cancer cells in the subrenal capsule assay. *Neoplasia*, 7:585-593.
- Tian, X.; Azpurua, J.; Hine, C.; Vaidya, A.; Myakishev-Rempel, M.; Ablueva, J.; Mao, Z.; Nevo, E.; Gorbunova, V. & Seluanov, A. 2013. High-molecular-mass hyaluronan mediates the cancer resistance of the naked mole rat. *Nature*, 499: 346-349.
- Xiao, J. B.; Levitt, B. & Buffenstein, R. 2006. A stereotaxic atlas of the brain of the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*). *Neuroscience*, 141:1415-1435.
- Yuan, F.; Chen, M. & Hornsby, P. J. 2010. Fibroblasts from Werner syndrome patients: cancer cells derived by experimental introduction of oncogenes maintain malignant properties despite entering crisis. *Oncology Report*, 23:377-386.
- Yu, C.; Li, Y.; Holmes, A.; Szafranski, K.; Faulkes, C. G.; Coen, C. W.; Buffenstein, R.; Platzer, M. & Church, G. M. 2011. RNA sequencing reveals differential expression of mitochondrial and oxidation reduction genes in the long-lived naked mole-rat when compared to mice. *PLoS One*, 6: e26729.

Received December 2, 2013.
Accepted February 2, 2014.