

**“REVISIÓN NARRATIVA SOBRE LA RELACIÓN ENTRE LAS
ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y LA VÍA DE
SEÑALIZACIÓN cGAS/STING EN EL *INFLAMMAGING*”**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias, mención Radicales
Libres en Biomedicina

Bárbara Paola Andrade Benavente

Directora de tesis

Ph.D. Paola Patricia Murgas Alcaíno

Co-director de tesis

Ph.D. Carlos Esteban Jara Gutiérrez

Año 2020

Valparaíso – Chile

AGRADECIMIENTOS

Agradezco cada vez que el camino se puso difícil porque me dio la oportunidad de aprender y hoy ser mejor que ayer. Terminé este largo proceso enriquecida de conocimientos en todos los ámbitos y no solo en lo académico. Fui marcada por la huella de diversas personas que se cruzaron conmigo en este viaje y que aportaron de alguna u otra forma un granito de arena de lo que es hoy este trabajo. Estaré siempre agradecida de los profesores del magister (principalmente a Marilyn y Juan Cristian), compañeros del magister (como Javier), profesores, encargados y asistentes del laboratorio (sobre todo a Joan, Mario, Camila, Karina, Mario Jr.), otros profesores externos al programa (Manuel Ahumada, Claudio Córdova) y tantos más que conocí durante estos años. Gracias por brindarme una mano amable cuando lo necesité, uds. me ayudaron de alguna u otra forma y fueron luz para mí sin saberlo. Por supuesto, muy agradecida de la paciencia, disposición y preocupación de mis guías Paola y Carlos, quienes me acompañaron siempre y fueron muy importantes en el proceso de creación de esta tesis (y de la fallida también), me apoyaron con su experiencia académica y motivación para seguir y construir la mejor versión posible de este trabajo en tiempos difíciles. En este sentido quiero mencionar a Marilyn que gracias a su comprensión y apoyo se hizo posible generar este trabajo durante la pandemia y poder darle término a lo que fue un largo proceso.

Finalmente estoy agradecida de cada una de las personitas que llevo en mi corazón, familiares y amigos que estuvieron conmigo a lo largo de estos años, en los momentos en que me sentía contenta y más aún cuando me sentía cansada, abrumada y colapsada por lo complejo que fue este desafío muchas de las veces. Agradezco infinitamente cada palabra de aliento, sonrisa, compañía y ayuda. Uds. saben quienes son y estarán siempre conmigo y en este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	4
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ABREVIATURAS Y SIGLAS	8
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA	18
1. Objetivo General.	18
2. Objetivos Específicos.	18
1. Criterios de búsqueda y elegibilidad.	18
2. Búsqueda digital de los estudios:	19
CAPÍTULO III: DESARROLLO	20
1. Envejecimiento y estadística	20
1.1. Mecanismos celulares asociados al envejecimiento	23
1.1.1 Inestabilidad Genómica	24
1.1.2. Senescencia	25
1.1.3. Disfunción mitocondrial	25
1.1.4. Alteración de la comunicación intercelular	26
2. Sistema Inmune (SI)	27
2.1 Funciones del macrófago	29
2.3 El proceso inflamatorio	32
3. <i>Inflammaging</i>	35
3.1 Macrófagos: células protagonistas del <i>Inflammaging</i>	39

4. Especies Reactivas de Oxígeno (ROS)	41
4.1 Especies Reactivas de Oxígeno y mitocondrias	46
4.2 ROS y su función en el sistema inmunológico	49
4.3 ROS en el envejecimiento.....	52
4.3.1 ROS e <i>Inflammaging</i>	54
4.3.2 El factor NFκB, ROS e <i>Inflammaging</i>	55
5. Mecanismos de reparación al daño del DNA y respuesta al daño del DNA (DDR) en el envejecimiento.....	57
6. Activación de mecanismos de muerte celular frente al daño por oxidación del DNA.....	60
6.1 Senescencia Celular.....	61
6.1.1 Vías Moleculares de la Senescencia mediadas por ROS	67
6.2 Senescencia del Sistema Inmune: Inmunosenescencia	69
7. Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRRs) y DNA dañado	71
8. Vía de señalización cGAS/STING	73
8.1 Mecanismos de regulación de la vía de señalización cGAS/STING	80
8.2 Relación de la vía cGAS/STING en la activación de la senescencia e inflamación	82
9. Activación de la vía de señalización cGAS/STING por el reconocimiento de DNA oxidado en células senescentes	84
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS FUTURAS.....	88
CAPÍTULO V: ANEXOS.....	96
ANEXO I: INMUNIDAD INNATA	96
ANEXO II: INMUNIDAD ADAPTATIVA.....	97
ANEXO III: MUERTE CELULAR REGULADA (MCR) Y ENVEJECIMIENTO	99
ANEXO IV: MODIFICACIONES EN LA FUNCION CELULAR DEL SISTEMA INMUNE DURANTE LA INMUNOSENESCENCIA.....	106
ANEXO V: MUERTE CELULAR REGULADA (MCR) Y ACTIVACIÓN DE LA VÍA cGAS/STING	107

ANEXO VI: VÍA cGAS /STING Y ENFOQUE TERAPÉUTICO	109
CAPÍTULO VI: BIBLIOGRAFÍA.....	110

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Principales mecanismos del <i>Inflammaging</i>	37
Figura 2: Generación de ROS en la Cadena Transportadora de Electrones (CTE) y defensas antioxidantes mitocondriales.	48
Figura 3: Formación de ROS durante el burst oxidativo en células fagocíticas.....	511
Figura 4: Vías de detención del ciclo celular activadas durante la senescencia.....	65
Figura 5: Vía de señalización en respuesta al daño del DNA y activación de la senescencia mediada por ROS.	68
Figura 6: Mecanismos de activación y regulación de vía de señalización cGAS-cGAMP-STING.....	79
Figura 7: Relación de SASPs, cGAS/STING y ROS durante la senescencia.....	86
Figura 8: Daño oxidativo del DNA y la vía cGAS-STING en la regulación de los fenotipos secretores asociados a la senescencia (SASPs).	87
Figura 9: Relación propuesta entre la vía de señalización cGAS/STING y las ROS durante el <i>Inflammaging</i> del macrófago senescente.	91
Figura 10: Vías de señalización de la apoptosis celular	102

ABREVIATURAS Y SIGLAS

AMP: adenosín monofosfato

ATM: ataxia telangiectasia mutada

ATP: adenosín trifosfato

BAX: proteína reguladora BCL2 asociada a X

BAK: proteína antagonista o asesino de BCL-2

BER: reparación por escisión de bases

Cat: catalasa

CDRs: receptores citosólicos de DNA

CDKIs: kinasas inhibidoras dependientes de ciclinas

cGAS: GMP-AMP sintasa cíclica

cGAMP: GMP-AMP cíclico

CMH: complejo mayor de histocompatibilidad

CPA: células presentadoras de antígeno

CTE: cadena transportadora de electrones

DAMPs: *damage-associated molecular patterns*

DDR: respuesta al daño del DNA

DNA: ácido desoxirribonucleico

dsDNA: DNA de doble hebra

DC: célula dendrítica

E2F: factor de transcripción E2

HLA: sistema del antígeno leucocitario humano

H₂O₂: peróxido de hidrógeno

OH[•]: radical hidroxilo

GDP: guanosín difosfato

GPx: glutatión peroxidasa

GR: glutatión reductasa

GTP: guanosín trifosfato

IFN I: interferón de tipo I

IκB: kinasa inhibidora de NFκB

IKK: kinasa del inhibidor de NFκB

IL: interleuquina

INE: instituto nacional de estadísticas

IRF3: factor de regulación interferones 3

JAK: janus quinasa

MAMPs: *microbial-associated molecular patterns*

MCR: muerte celular regulada

mtDNA: ácido desoxirribonucleico mitocondrial

MOMP: permeabilización de la membrana externa mitocondrial

MPO: enzima mieloperoxidasa

nDNA: ácido desoxirribonucleico nuclear

NER: reparación por excisión de nucleótidos

NHEJ: unión final no homóloga

NFκB: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células b activadas

NO: óxido nítrico

NOX: NADPH oxidasa

NETs: trampas extracelulares de neutrófilos

O₂^{•-}: radical superóxido

ONOO⁻: peroxinitrito

PAMPs: *pathogen-associated molecular patterns*

PRRs: *patterns recognition receptors*

p38MAPK: proteína kinasa mitógeno activado p38

PUMA: modulador de apoptosis regulado por p53

RB: proteína retinoblastoma

REDOX: reducción-oxidación

RH: recombinación homóloga

ROS: especies reactivas de oxígeno

RNS: especies reactivas derivadas del nitrógeno

SASPs: *senescence-associated secretory phenotypes*

SENAMA: servicio nacional del adulto mayor

STAT: *signal transducer and activator of transcription*

SI: sistema inmune

SOD: superóxido dismutasa

SODMn: superóxido dismutasa manganeso

SODCu/Zn: superóxido dismutasa cobre/zinc

STING: *stimulator of interferon genes*

TBK1: *TANK-binding kinase 1*

TCR: receptor de células T

TNF: tumor necrosis factor

TREX1: *three prime repair exonuclease* o DNAsa III

WHO: *world health organization*

8-OH-dG: 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina

RESUMEN

Durante la etapa de envejecimiento se produce un estado de inflamación crónica sistémica de bajo grado llamado *Inflammaging*, que está asociado a la senescencia de las células inmunes y al aumento en la liberación de citoquinas y de especies reactivas de oxígeno (ROS) en los tejidos. Las ROS contribuyen a la inflamación crónica y al daño oxidativo del DNA, el cual se ubica en el citoplasma celular y es reconocido por el sensor GMP-AMP Sintasa cíclica (cGAS), que posteriormente activa a la proteína Estimuladora de Genes de Interferones (STING), activándose la vía de señalización cGAS/STING, la que genera el aumento de factores transcripcionales implicados en el aumento de citoquinas inflamatorias que inducen ROS en las células senescentes. Sin embargo, la relación entre la vía cGAS/STING y el incremento de las ROS durante el *Inflammaging* no ha sido esclarecida. Debido a lo anterior, en esta revisión se busca describir la probable relación entre ellos, en base a la literatura actual. Se sugiere el DNA nuclear y mitocondrial oxidado activa a la vía cGAS/STING, la que incrementa los niveles de ROS inducidos por las citoquinas inflamatorias, y estas ROS adicionales incrementan el daño oxidativo del DNA, generándose un *loop* durante el *Inflammaging*. Mayores estudios experimentales se requieren para investigar la relación entre la vía de señalización cGAS/STING y las ROS en el envejecimiento.

Palabras claves: *Inflammaging*, ROS, vía cGAS/STING, cGAS, STING, inmunosenescencia, envejecimiento, daño en el DNA, senescencia, SASPs.

ABSTRACT

During the aging stage, a low-grade systemic chronic inflammation state called Inflammaging occurs, which is associated with the senescence of immune cells and the increase in the release of cytokines and reactive oxygen species (ROS) in the tissues. ROS contribute for chronic inflammation and oxidative DNA damage, which is located in the cell cytoplasm and is recognized by the cyclic GMP-AMP Synthase (cGAS) sensor, which subsequently activates the Interferon Gene Stimulator protein (STING), activating the cGAS/STING signaling pathway, which generates the augmentation of transcriptional factors involved in the increase of inflammatory cytokines that induce ROS in senescent cells. However, the relationship between the cGAS/STING pathway and the increase in ROS during Inflammaging has not been clarified. Due to the above, this review seeks to describe the probable relationship between them, based on the current literature. It is suggested that oxidized nuclear and mitochondrial DNA activates the cGAS/STING pathway, which increases ROS levels induced by inflammatory cytokines, and these additional ROS increase oxidative DNA damage, generating a loop during Inflammaging. Further experimental studies are required to investigate the relationship between the cGAS/STING signaling pathway and ROS in aging.

Keywords: Inflammaging, ROS, cGAS/STING pathway, cGAS, STING, immunosenescence, aging, DNA damage, DDR, senescence, SASPs.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

La disminución de la mortalidad en edades avanzadas, así como los avances en el ámbito de la salud, han permitido que los seres humanos envejezcan hasta edades muy avanzadas e incluso prolongar la vida hasta superar los 100 años (WHO, 2011). Como consecuencia, el número de adultos mayores, que según el Servicio Nacional del Adulto Mayor (SENAMA) corresponden a las personas de más de 60 años, ha incrementado a nivel mundial y en el tiempo (SENAMA, 2020). Actualmente, se estima que los adultos mayores superan los 962 millones, lo que representa el 13% de la población mundial, cifra que se espera se duplique para el año 2050 (Naciones Unidas, 2017). En otras palabras, el 22% de los habitantes del planeta tendrá sobre 60 años para el 2050, y 400 millones de personas tendrán más de 80 años (WHO, 2011). En nuestro país, se repite esta tendencia (Villalobos, 2018). Según los datos del Censo realizado el año 2017, la población chilena enfrenta un envejecimiento demográfico acelerado (Instituto Nacional de Estadísticas, 2018). Se proyecta que para el año 2035, los adultos mayores se incrementarán de 11,4% del total de la población censada el año 2017, a un 18,9% (INE, 2019). Específicamente, la población de 65 años y más, representará el 25% de la población para el 2050 (INE, 2018).

Sin embargo, junto al incremento en la esperanza de vida de los adultos mayores, también aumentarán las enfermedades relacionadas a la edad, lo que impactará negativamente en su estado de salud y la calidad de vida (INE, 2018;

MINSAL, 2017; Pontificia Universidad Católica de Chile y Caja de Compensación Los Andes, 2016). Por lo tanto, es esencial generar políticas públicas nacionales relacionadas al tratamiento de éstas y, para ello, potenciar el estudio o comprensión del proceso de envejecimiento de nuestro organismo (Arguelles y cols., 2018; WHO, 2011).

Los cambios relacionados con la edad afectan a todas las células del organismo especialmente, a las de los sistemas reguladores homeostáticos como el sistema inmune (De la Fuente y Miquel, 2009). Las células del sistema inmune, durante el envejecimiento, se desregulan en términos de función y se vuelven senescentes. Este proceso contribuye a un estado de inflamación sistémica crónica de bajo grado, denominado *Inflammaging*, que es característico del envejecimiento y el cual se relaciona con un aumento del estrés oxidativo, que conduce a la generación de daño en los componentes celulares, como proteínas, lípidos y el DNA (Bauer y Fuente, 2016). La producción de oxidantes ocurre de forma normal en las células inmunitarias debido a que tienen como función la protección del organismo y para ello, producen moléculas oxidantes que eliminan agentes extraños e inducen inflamación. Sin embargo, a lo largo de los años se generan lesiones oxidativas como resultado de una inflamación crónica natural, que induce una pérdida de función celular progresiva, junto a una reducción en la capacidad de regular el propio equilibrio redox e inflamatorio (Bauer y Fuente, 2016). Como consecuencia, durante el envejecimiento se genera un aumento en las especies reactivas de oxígeno (ROS: *reactive oxygen species*), y también en

la disfunción mitocondrial, dado el incremento paulatino de la actividad oxidativa de los macrófagos y otros tipos celulares del sistema inmune innato (Agarwal y Busse, 2010; Harman y cols., 1983; López-Otín y cols., 2013). Este tipo de eventos genera un círculo vicioso que contribuye al daño celular oxidativo en el DNA mitocondrial y DNA nuclear, lo que conlleva a una pérdida de la regulación de la función celular del sistema inmune durante el envejecimiento y la activación de la inmunosenescencia (Campisi et al., 2019; Cannizzo y cols., 2011; De la Fuente y Miquel, 2009; Fulop et al., 2018; Harman, 1956; Harman, 1983; Ponnappan & Ponnappan, 2011). Además, el DNA dañado por las ROS se desplaza desde sus compartimentos celulares normales (núcleo y mitocondrias) y se ubica en el citoplasma, donde es sensado por receptores que reconocen ácidos nucleicos como señales de peligro con potencial infeccioso en las células del sistema inmune innato (Rongvaux, 2018). Luego de este reconocimiento, se generan señales intracelulares para montar respuestas inflamatorias y así proteger al organismo frente a la agresión (Franceschi y cols., 2018a; 2018b). Dentro de los sensores de ácidos nucleicos, se destaca a la proteína cGAS, receptor universal de DNA citoplasmático que activa una señalización que involucra a la proteína STING. Este último, induce río abajo a factores transcripcionales involucrados en la transcripción de genes que permiten la liberación de citoquinas, factores y proteínas asociadas a la inflamación, potenciando así una respuesta inmune inflamatoria (Dunphy y cols., 2018; Franceschi y Campisi 2014; Li y Chen, 2018; Wan y cols., 2020). La vía de

señalización cGAS/STING, también regula la activación del proceso de senescencia, tras el reconocimiento de DNA nuclear y/o mitocondrial dañado en el citoplasma, lo que gatilla la liberación de moléculas inflamatorias involucradas en la generación y mantención de la senescencia en el tejido, así como en la inducción de ROS en las células senescentes (Dou y cols., 2017; Glück y cols., 2017; Yang y cols., 2017).

A pesar de que es bastante conocido que durante el envejecimiento del sistema inmune se genera la activación de la senescencia celular y el aumento del estrés oxidativo, ambos procesos que contribuyen al *Inflammaging*, no existe información que describa el papel que desempeña la vía cGAS/STING durante el proceso de envejecimiento y sobre su relación con el aumento de las ROS. Por ello, en este trabajo se pretende dilucidar la relación entre la vía de señalización cGAS/STING y el aumento de las ROS durante el *Inflammaging*, en base a la literatura disponible. El propósito de esto es establecer bases para futuras investigaciones experimentales orientadas a obtener nuevas estrategias terapéuticas, que permitan intervenir en el proceso de envejecimiento y patologías asociadas, como el envejecimiento prematuro, enfermedades inflamatorias, autoinmunes y cáncer. Todo ello con el fin último de mejorar la salud y la calidad de vida del adulto mayor.

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA

En torno a la problemática planteada, se proponen los siguientes objetivos:

1. Objetivo General.

Describir la relación de las Especies Reactivas de Oxígeno y la vía de señalización cGAS/STING durante el *Inflammaging*.

2. Objetivos Específicos.

- a) Describir la participación de los ROS durante el *Inflammaging*.
- b) Describir la participación de la vía de señalización cGAS/STING durante el *Inflammaging*.
- c) Identificar los mecanismos celulares de la relación entre las ROS y la vía cGAS/STING durante el *Inflammaging*.

1. Criterios de búsqueda y elegibilidad.

Para el cumplimiento de estos objetivos, se generan los siguientes criterios de búsqueda y selección de artículos:

a) Criterios Temáticos:

-Estudios que contengan información sobre las especies reactivas de oxígeno, envejecimiento, sistema inmune, vía de señalización cGAS/STING, *Inflammaging* y daño celular, muerte celular y senescencia o bien estudios que contengan información o data de al menos dos de las ocho temáticas mencionadas.

-Diseño del estudio: estudios primarios, experimentales o cuasiexperimentales, transversales, longitudinales, de cohorte, casos y

controles, ensayos clínicos controlados aleatorizados. También se incluyen *reviews*, revisiones sistemáticas y libros.

- Investigaciones realizadas en especie humana con o sin patología y en especie animal.

- Artículos científicos indexados en base de datos.

- Investigaciones en idiomas inglés y español.

b) Criterios Metodológicos:

- Investigaciones de revistas científicas con *Impact Factor* > 3 o investigaciones de revistas científicas pertenecientes al primer cuartil (Q1) de su temática.

2. Búsqueda digital de los estudios:

Se consultaron las siguientes fuentes de búsqueda electrónica: Pubmed/medline, Science Direct y Google Scholar. Además se utilizaron las siguientes palabras clave se seleccionaron de acuerdo con la base de datos "Medical Subject Headings" (MeSH): "*aging*", "*aged*", "*elderly*", "*celular senescence*", "*senescence*", "*immune system*", "*immune system phenomena*", "*immunosenescence*", "*immunity*", "*inflammation*", "*cytokines*", "*free radicals*", "*reactive oxygen species*", "*free radicals*", "*oxygen radicals*", "*oxidative stress*", "*redox*", "*redox stress*", "*cGAS/STING pathway*", "*cGAS-STING pathway*", "*regulated cell death*", "*DNA damage*".

CAPÍTULO III: DESARROLLO

1. Envejecimiento y estadística

La disminución de la mortalidad en edades avanzadas, así como los avances en el ámbito de la salud, han permitido que los seres humanos envejezcan hasta edades muy avanzadas e incluso hasta superar los 100 años (*World Health Organization*, 2011). Como consecuencia, el número de adultos mayores, personas de más de 60 años según el Servicio Nacional del Adulto Mayor (SENAMA) (2020), ha incrementado a nivel mundial y en el tiempo (Rebelos y cols., 2018; SENAMA, 2020). Actualmente, se estima que los adultos mayores superan los 962 millones, lo que representa el 13% de la población mundial, cifra que se espera se duplique para el año 2050 (Naciones Unidas, 2017). En otras palabras, para el 2050 el 22% de los habitantes del planeta tendrá sobre 60 años y 400 millones de personas tendrán sobre los 80 años (WHO, 2011). En nuestro país, se repite esta tendencia (Villalobos, 2018). Se proyecta que para el año 2035, los adultos mayores se incrementarán de 11,4% del total de la población censada el año 2017, a un 18,9% (Instituto Nacional de Estadísticas, 2018). Específicamente, la población de 65 años y más, representará el 25% de la población para el 2050 (INE, 2018). Además, según los datos proporcionados por el Instituto Nacional de Estadísticas (INE) (2019), el índice de adultos mayores (correspondiente al número de personas de 65 o

más años por cada 100 menores de 14 años) será para el año 2031, de 102 adultos mayores por cada 100 menores de 15 años y esta proporción se estima que aumentará a 177 para el año 2050 (INE, 2018). Según los datos del Censo realizado el año 2017, la población chilena enfrenta un envejecimiento demográfico producto del descenso de la fecundidad y el aumento en la esperanza de vida. Esta última es de 81,8 años en mujeres y 76,7 años en hombres, inclusive se prevé que para el año 2050, la esperanza de vida en Chile aumentará para ambos sexos, a 87,8 años para las mujeres y 83,2 años para los hombres (INE, 2018). Además, este Censo arrojó que el 16,5% de la población mayor corresponde a personas que superan los 80 años, y se proyecta que aumentará de un 2,5% a un 6% del total de la población chilena para el 2050 (Comisión Económica para América Latina y el Caribe, 2017; Pontificia Universidad Católica de Chile y Caja de Compensación Los Andes, 2016).

El envejecimiento, se define como el declive funcional dependiente del tiempo que afecta a la mayoría de los organismos vivos (Lopez-Otín y cols., 2013), y se asocia con la acumulación gradual de diversos daños moleculares y celulares (Gil y Withers, 2016). Estos eventos generan un deterioro de las funciones en los tejidos y órganos, aumento de la vulnerabilidad para sufrir enfermedades y eventualmente la muerte. Además, es el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad, tales como cáncer, diabetes, alteraciones cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas (Franceschi y cols., 2018b; López-Otín y cols., 2013). Las

patologías asociadas al envejecimiento se traducen en altos costos para el país, generándose mayor gasto en salud debido a mayores costos por altas demandas y requerimientos de servicios más complejos, dada la mayor carga de enfermedad, discapacidad y dependencia (SENAMA, 2017). Por lo tanto, es fundamental potenciar el estudio o comprensión del proceso de envejecimiento del organismo, identificar los principales desafíos en esta materia y generar políticas públicas nacionales en salud, que permitan el manejo adecuado del adulto mayor, con el fin de prevenir su deterioro y promover un envejecimiento saludable (Arguelles y cols., 2018; WHO, 2011).

Los mecanismos responsables de un envejecimiento saludable están estrechamente relacionados con el mantenimiento efectivo de las funciones fisiológicas, bioquímicas e inmunológicas del organismo, así como factores psicológicos y sociales que influyen en el bienestar humano (Arguelles y cols., 2018; Galdona y cols., 2018). Sin embargo, los mecanismos específicos asociados a un envejecimiento saludable y/o a la pérdida de éstos, junto con la adaptación al ambiente durante el transcurso de la vida, siguen siendo materia extensa de estudio para su completo entendimiento (Gu y cols., 2018). No obstante, existen mecanismos celulares que están involucrados en el envejecimiento, que han sido ampliamente descritos.

1.1. Mecanismos celulares asociados al envejecimiento

Según la gerociencia, disciplina que busca entender la relación entre la biología del envejecimiento con la biología de la generación de enfermedades, se genera una compleja relación entre factores que están intrínsecamente relacionados y que son los causantes del envejecimiento (Franceschi y Campisi, 2014; Kennedy y cols., 2014). Estos, además, comparten mecanismos moleculares básicos con las enfermedades crónicas que aparecen con la edad (Franceschi y Campisi, 2014; Kennedy y cols., 2014). El *National Institute of Health* (NIH) de Estados Unidos, establece como procesos pilares del envejecimiento, a la inflamación, al estrés y al daño macromolecular (Kennedy y cols., 2014). Todos estos tópicos, serán abordados en mayor detalle más adelante en este escrito.

Dentro de los mecanismos moleculares que se alteran y potencian en el envejecimiento, se encuentran la inestabilidad genómica tanto del DNA nuclear como mitocondrial, el acortamiento de los telómeros, la disfunción mitocondrial, el incremento progresivo de la senescencia celular, las alteraciones epigenéticas, la pérdida de la proteostasis, la desregulación de los nutrientes, la alteración en la comunicación intercelular y la disminución de células madres o progenitoras (Barzilai et al., 2012; Campisi y di Fagagna, 2007; Chomyn y Attardi, 2003; Fraga y Esteller, 2007; Harman, 1965; Hoeijmakers, 2009; Powers y cols., 2009;

Salminen, Kaarniranta y Kauppinen, 2012; Lopez-Otín y cols., 2013; Shekhidem y cols., 2019; Vijg y Suh, 2013; Zhu y cols., 2019).

Para efectos de este trabajo nos referiremos a algunos de los mecanismos celulares recientemente mencionados que están implicados en el proceso de envejecimiento.

1.1.1 Inestabilidad Genómica

La inestabilidad genómica, se entiende como la acumulación de daño en el genoma a lo largo de la vida, ya que la estabilidad del DNA está siendo continuamente desafiada por agentes exógenos (químicos, físicos y biológicos), así como por agentes endógenos (por ejemplo, errores en la replicación del DNA y el efecto de las especies reactivas de oxígeno) (Hoeijmakers, 2009; Moskalev y cols., 2013). Sin embargo, las células tienen mecanismos para disminuir las lesiones al DNA nuclear como mitocondrial, a través de sistemas de reparación del DNA, y el control del ciclo celular, los cuales permiten mantener la integridad de la célula (Caldecott, 2006; Ceccaldi y cols., 2016; Hoeijmakers, 2009). Durante el envejecimiento estos mecanismos se ven alterados, por ejemplo, las enzimas implicadas en la reparación del DNA disminuyen su expresión, lo que genera la acumulación del daño en el DNA (Bohr, 2015; Kaneko y cols., 2001; Li y Vijg, 2012; Niedernhofer y cols., 2018; Rodier y cols., 2010).

1.1.2. Senescencia

La senescencia es un proceso fisiológico que permite la detención del ciclo celular, acompañado de cambios fenotípicos en las células senescentes. Se produce, con el fin de evitar la proliferación de células dañadas, fenómeno que se ve incrementado en el envejecimiento en respuesta al daño del DNA (Campisi y di Fagagna, 2007). Estas células senescentes, se acumulan en la mayoría de los tejidos durante el envejecimiento, lo que genera una pérdida de función progresiva en los órganos y tejidos (He y Sharpless, 2017). Además, durante este proceso las células senescentes liberan mediadores proinflamatorios que promueven un microambiente inflamatorio en el tejido (Franceschi et al., 2018a; 2018b). Este tópico en particular será retomado en extenso más adelante en el texto.

1.1.3. Disfunción mitocondrial

La mitocondria es el organelo encargado de producir la energía para el funcionamiento celular, a través de la fosforilación oxidativa y síntesis de Adenosin Trifosfato (ATP) (Balaban y cols., 2005). Durante el envejecimiento se reduce su funcionalidad, disminuyendo la disponibilidad energética, esto, debido a diversos estresores que generan daño celular, como las ROS (Harman y cols., 1983). Además, con la edad se genera el aumento de mutaciones en el DNA mitocondrial y deficiencias en los sistemas de eliminación de mitocondrias dañadas, lo que genera un incremento de las ROS liberadas desde las

mitocondrias (Chomyn y Attardi, 2003; Wang y Klionsky, 2011). Todo lo anterior, conlleva a la alteración de la dinámica mitocondrial y contribuye a la disfunción de las células durante el envejecimiento, acelerando la senescencia celular y la muerte celular (Finkel & Holbrook, 2000; De la Fuente & Miquel, 2009; Harman, 1983; Miquel et al., 1980; Lopez, 2013; Shigenaga et al., 1994).

1.1.4. Alteración de la comunicación intercelular

El envejecimiento también involucra cambios importantes en la comunicación intercelular los cuales están asociados a un fenotipo proinflamatorio crónico, dado por la acumulación de daño proinflamatorio en el tejido, declive de las funciones del sistema inmune y aumento en la liberación de moléculas proinflamatorias desde células senescentes, entre otras causas (Salminen y cols., 2012). De esta forma el incremento en las respuestas inflamatorias y disminución de la vigilancia inmune contra patógenos y células premalignas, así como modificaciones en la composición del ambiente extracelular, afecta la funcionalidad de todos los tejidos (Lopez-Otín y cols., 2013).

Los mecanismos celulares que se alteran en el proceso de envejecimiento tienen como consecuencia la pérdida general y progresiva de las funciones fisiológicas, lo que conlleva a una disminución en la capacidad para responder y adaptarse a los cambios, así como para preservar la homeostasis del organismo (De la Fuente y Miquel, 2009). Este deterioro de la homeostasis durante el

envejecimiento, es especialmente importante en las células pertenecientes a los sistemas defensores y reguladores homeostáticos, dentro de los cuales se destaca al sistema inmune (De la Fuente y Miquel, 2009; Ponnappan y Ponnappan, 2011).

2. Sistema Inmune (SI)

El sistema inmune (SI), está encargado de la defensa del organismo contra invasores externos o internos (Fulop y cols., 2018). Es un sistema complejo, compuesto por distintos tipos celulares que circulan en el organismo e interaccionan entre sí y con las demás células del organismo, de forma directa o por medio de una variedad de mediadores solubles, para llevar a cabo su función principal de protección (Castelo-Branco y Soveral, 2014).

Para estudiar al SI, se ha dividido en dos grandes componentes según el tipo de respuesta: sistema inmune innato y adaptativo (Abbas y cols., 2012). El primero, es de respuesta temprana, y el segundo, de respuesta tardía (Abbas y cols., 2012). La inmunidad innata (también llamada natural o nativa) produce respuestas inespecíficas y rápidas contra microorganismos (Abbas y cols., 2012). Sus principales componentes son: barreras físicas y químicas (tales como el epitelio de la piel y sustancias químicas antimicrobianas), células fagocíticas (tales como neutrófilos, macrófagos y células dendríticas), linfocitos citolíticos naturales (*Natural Killer*), moléculas solubles y proteínas sanguíneas (principalmente el sistema del complemento y otros mediadores de la

inflamación, como citoquinas y quimioquinas) (Abbas y cols., 2012). Estas células en conjunto con sus productos, son la primera línea de defensa del organismo contra agentes patógenos, los cuales, al ser detectados, son eliminados gracias a una respuesta inflamatoria (Abbas y cols., 2012; Fulop y cols., 2016) (para mayor información sobre funciones de las células del sistema inmune innato remitirse al Anexo I).

Por otro lado, la inmunidad adaptativa, también llamada específica o adquirida, se estimula luego de la exposición a agentes infecciosos y esta respuesta aumenta en magnitud y capacidad defensiva tras cada exposición sucesiva al agente extraño en particular (Abbas y cols., 2012). El sistema adaptativo tiene capacidad de “recordar” las moléculas de los patógenos, para responder a una segunda infección, de una forma más rápida y efectiva, lo que se conoce como memoria adaptativa (Abbas y cols., 2012; Nicholson, 2016). Esta respuesta, es mediada principalmente por linfocitos y sus productos secretados (Abbas y cols., 2012; Nicholson, 2016). Se distinguen dos tipos de respuesta inmunitaria adaptativa, la inmunidad humoral (producción de anticuerpos) y la inmunidad celular (realizada principalmente por linfocitos T) (Abbas y cols., 2012) (para mayor información respecto a las células del sistema inmune adaptativo remitirse al Anexo II).

La inmunidad funciona de manera coordinada para responder a numerosas amenazas del medio ambiente (Nicholson, 2016). La respuesta inicial ante los agentes extraños es iniciada las células del sistema inmune innato (Iwasaki y

Medzhitov, 2015). Las células del sistema inmune innato se distribuyen y circulan en el organismo en busca de agentes (externos e internos) con daño potencial (Iwasaki y Medzhitov, 2015). Un tipo celular que desempeña un importante papel realizando esta función durante infección o daño son los macrófagos (Iwasaki y Medzhitov, 2015).

2.1. Funciones del Macrófago

Los macrófagos se encuentran como monocitos circulantes en sangre, o como macrófagos tisulares residentes del tejido (Abbas y cols., 2012). Los macrófagos son reclutados al sitio de infección dentro de aproximadamente las 24 horas siguientes y posterior a la llegada de los neutrófilos (Movita y cols., 2015; Rea y cols., 2018). Son multifuncionales, se encuentran en variados tejidos en el organismo y adquieren diferentes características y nombres de acuerdo con su localización tisular (Langerhans en piel, Kupffer en hígado, Osteoclastos en hueso, entre otros) (Vega, 2008). Los macrófagos exhiben una alta diversidad y fenotipo plástico que depende del tipo de tejido, ya que los cambios en su microambiente influyen en su función (Oishi y Manabe, 2016). Su principal función es el reconocimiento de los microorganismos y su destrucción mediante la liberación de sustancias tóxicas (como las ROS) durante la fagocitosis (Abbas y cols., 2012). En esta última, se produce lisis bacteriana y degradación en vesículas intracelulares o fagolisosomas compuestas por enzimas degradadoras (Abbas y cols., 2012). Además, los macrófagos pueden presentar antígenos, los

que son péptidos derivados de los microorganismos. Estos antígenos son presentados a células del sistema inmune adaptativo, como los linfocitos T, en un mecanismo denominado presentación antigénica (Abbas y cols., 2012). También, los macrófagos pueden fagocitar células muertas del organismo huésped, contribuyendo a la eliminación de éstas tras la infección o lesión celular (Abbas y cols., 2012).

Las células del SI innato para llevar a cabo el reconocimiento de los microorganismos expresan tanto en superficie como intracelularmente, receptores de reconocimiento de patrones (PRRs, por sus siglas en inglés). Estos PRRs detectan *patrones moleculares asociados a los patógenos o microbios* (PAMPs o MAMPs, respectivamente) los que corresponden a moléculas y estructuras presentes en una amplia gama de patógenos o microbios, como, por ejemplo: lipopolisacáridos de bacterias gram-negativas, peptidoglicanos de bacterias gram-positivas, β -glicanos en hongos y ácidos nucleicos virales y bacterianos (Conrath, 2011; Fleshner, 2013). Por otro lado, estos receptores también reconocen *patrones moleculares asociados a daño* (DAMPs, por sus siglas en inglés), también conocidos como alarminas, correspondientes a moléculas y componentes celulares provenientes de células propias del huésped que se acumulan tras algún daño celular (por ejemplo, daño en el DNA) (Ergun y Li, 2020; Gong, Liu, Jiang y cols., 2020; Rongvaux, 2018; Xia y cols., 2016). Tanto los PAMPs, MAMPs y DAMPs, promueven respuestas inflamatorias tras la unión con los PRRs y la activación de señales intracelulares, en las células del sistema

inmune innato (Ergun y Li, 2020; Fleshner, 2013; Rongvaux, 2018; Xia y cols., 2016).

Luego del reconocimiento de PAMPs y DAMPs se realiza la presentación antigénica que permite la activación de los Linfocitos T (Iwasaki y Medzhitov, 2015). Cuando ocurre este evento entre células presentadoras de antígenos (por ejemplo macrófagos) y linfocitos T, se secretan desde las células presentadoras de antígenos citoquinas (Abbas y cols., 2012).

2.2 Citoquinas

Las citoquinas, son un grupo heterogéneo de proteínas solubles que median y regulan todos los aspectos de la inmunidad innata y adaptativa, y regulan las funciones de muchos tipos celulares de nuestro organismo, permitiendo la respuesta inmune, así como también la reparación celular posterior a un daño o infección (Dinarello, 2007; Kumanogoh y Masato, 2010; Abbas y cols., 2012). Además, estas moléculas son producidas también, por los linfocitos T CD4⁺ para reclutar y activar al sitio de infección a diversos leucocitos, entre esos macrófagos, para que efectúen la eliminación del patógeno, así como también para amplificar la respuesta de los linfocitos T (Abbas y cols., 2012). Por otro lado, los macrófagos activados producen citoquinas inflamatorias para reclutar a linfocitos T (Otsuka y Seino, 2020).

Cuando las citoquinas se producen en grandes cantidades, viajan por el torrente sanguíneo y pueden unirse a sus receptores expresados en diferentes

tipos de células del sistema inmune como neutrófilos, linfocitos B, monocitos, entre otros (Abbas y cols., 2012). Las citoquinas poseen la característica de ser pleiotrópicas, es decir, que pueden actuar sobre diversos tipos de células (inmunes y no inmunes) y tener múltiples efectos biológicos, como actuar de forma autocrina y/o paracrina (Abbas y cols., 2012; Feghali y Wright, 1997). Además, las citoquinas activan diversas vías de señalización y pueden generar efectos sinérgicos y efectos regulatorios positivos (amplificadores) (Feghali y Wright, 1997). Las citoquinas frecuentemente generan *loops* que incrementan la producción de mediadores inflamatorios (incluyendo más citoquinas), generando una respuesta inmune local del tejido y sistémica (Anderton, Wicks & Silke; 2020).

Dentro de las citoquinas más importantes que intervienen en los procesos de infección y daño, encontramos a la Interleucina 1 α y β (IL-1 α y β), Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), Interleucina 8 (IL-8), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 12 (IL-12) e Interferones (IFNs) (entre otros), los cuales median y regulan la respuesta inflamatoria de forma específica, tanto en su fase aguda como crónica (Feghali y Wright, 1997).

2.3 El proceso inflamatorio

La inflamación es un proceso biológico normal, que ocurre en respuesta a una infección por patógenos, por agentes tóxicos o por daños del tejido (Medzhitov, 2008; Rea y cols., 2018). Este proceso se caracteriza por una fase aguda, que se inicia con el incremento del flujo sanguíneo y la permeabilidad

vascular, además de la acumulación de fluido, neutrófilos y citoquinas en el sitio de infección (Feghali y Wright, 1997). Durante este proceso inflamatorio agudo, se involucra el reclutamiento de leucocitos hacia la zona afectada, en una serie de eventos que son cuidadosamente organizados y mediados por citoquinas, quimioquinas (citoquinas específicas con alto nivel de atracción para los distintos leucocitos) y proteínas de fase aguda (Germolec y cols., 2018). Luego de la fase aguda, se continúa con la llegada de macrófagos y células fagocíticas hacia el sitio infectado, para eliminar al estímulo inflamatorio (agente infeccioso o material extraño) o células dañadas, para iniciar el proceso de reparación (Abbas y cols., 2012; Germolec y cols., 2018). Una vez activados los macrófagos en el sitio de daño, liberan factores de crecimiento y citoquinas que afectan a las células del microambiente local y modulan la respuesta inflamatoria (Germolec y cols., 2018). El periodo que toma la eliminación de los microorganismos y/o células infectadas, puede tomar horas e incluso días (Abbas y cols., 2012). Si la respuesta innata inicial no es suficiente para contrarestar al agente dañino, se activa una respuesta más potente y especializada a cargo de la inmunidad adaptativa (Abbas y cols., 2012). En esta respuesta los linfocitos T se dirigen al sitio de inflamación para eliminar al antígeno dar muerte a la célula infectada, además, fomentan la actividad bactericida de los macrófagos y liberan citoquinas. Por otro lado, los linfocitos B expresan anticuerpos específicos contra el antígeno (Abbas y cols., 2012, Nicholson, 2016). Aproximadamente luego de 14 días, el

proceso finaliza con la eliminación total del agente dañino y el inicio de la reparación tisular (Abbas y cols., 2012; Medzhitov, 2008; Nicholson, 2016).

La inflamación es un proceso de adaptación sumamente regulado, necesario y beneficioso para el huésped cuando el daño es transitorio, ya que permite el retorno de la homeostasis del tejido (Medzhitov, 2008). En la mayoría de los casos, el término de la respuesta inflamatoria se relaciona a la acción de citoquinas antiinflamatorias y otros factores de regulación negativa, además de la remoción de las células inflamatorias en los tiempos adecuados para permitir la regeneración (Hanada y Yoshimura, 2002; Germolec y cols., 2018). Lo anterior sucede cuando el agente infeccioso o causante del daño es o son transitorias, lo que genera una respuesta inflamatoria exitosa que normaliza la homeostasis tisular (Medzhitov, 2008; Germolec y cols., 2018). Por el contrario, cuando la infección o daño se vuelven permanentes y las células inflamatorias no son capaces de revertir esta situación, se puede desarrollar una inflamación crónica que puede durar semanas o meses, y en algunos casos prolongarse por años (Feghali y Wright, 1997). Durante esta fase de inflamación crónica no resuelta se mantiene la liberación de citoquinas proinflamatorias debido a la acumulación de leucocitos en el sitio de inflamación, por lo que podría tornarse dañina para el organismo y dificultar el retorno a la homeostasis (Feghali y Wright, 1997; Germolec y cols., 2018; Hanada y Yoshimura, 2002; Korniluk y cols., 2017; Medzhitov, 2008; Rea y cols., 2018).

Durante el envejecimiento ocurre un tipo de inflamación crónica de bajo grado y persistente, que resulta en daño y degeneración del tejido, denominado *Inflammaging* (Franceschi y Campisi, 2014; Franceschi y cols., 2018b).

3. *Inflammaging*

El término *Inflammaging* fue propuesto por Franceschi y colaboradores en el año 2000, y describe el proceso de inflamación crónica de bajo grado (en ausencia de infección) y sistémico, característico del envejecimiento y asociado a la estimulación fisiológica crónica del sistema inmune. El *Inflammaging* ocurre por la mayor exposición a antígenos (infecciosos y no infecciosos) a lo largo de los años lo que se vuelve dañino durante este periodo de la vida (Franceschi y cols., 2000; Franceschi y cols., 2018b). Lo anterior debido a que diversos estresores generan la inducción de constante estrés en el microambiente celular que mantienen el estado de inflamación persistente en el organismo (Xia y cols., 2016). Además, el *Inflammaging* se produce como consecuencia de la pérdida del balance entre los mecanismos pro y antiinflamatorios, con un incremento en los mediadores inflamatorios y una reducción de los antiinflamatorios, lo que impide la regulación de la respuesta inflamatoria del sistema inmune (Franceschi y cols., 2007; Franceschi y cols., 2018b; Rea y cols., 2018).

Por otro lado, una causa del *Inflammaging* está relacionada con los cambios que experimenta la respuesta inmune y que afecta la regulación de la homeostasis de los demás tejidos del organismo (Franceschi y Campisi, 2014;

Fulop y cols., 2016). En otras palabras, el *Inflammaging* es una consecuencia de cambios o adaptaciones en las funciones del sistema inmunitario innato y adaptativo lo largo de los años (Franceschi y Campisi, 2014; Fulop y cols., 2016). La respuesta inmune innata desregulada se traduce en la producción de citoquinas inflamatorias de forma crónica, las que contribuyen al desarrollo de patologías y declive funcional del organismo (Franceschi y cols., 2018b; Baylis y cols., 2013). Durante el *Inflammaging*, se instaura un *loop* positivo que promueve la inflamación crónica, en donde la producción incrementada de mediadores inflamatorios contribuye a la disminución de la respuesta inmune adaptativa e innata. Esto conlleva a daño celular y molecular permanente, el que se acumula durante los años y por consecuencia se traduce en la activación de la senescencia en el sistema inmune o inmunosenescencia (Figura 1) (Fulop y cols., 2018; Baylis y cols., 2013). Los principales mecanismos que se relacionan a la aparición del *Inflammaging* se muestran en la Figura 1.

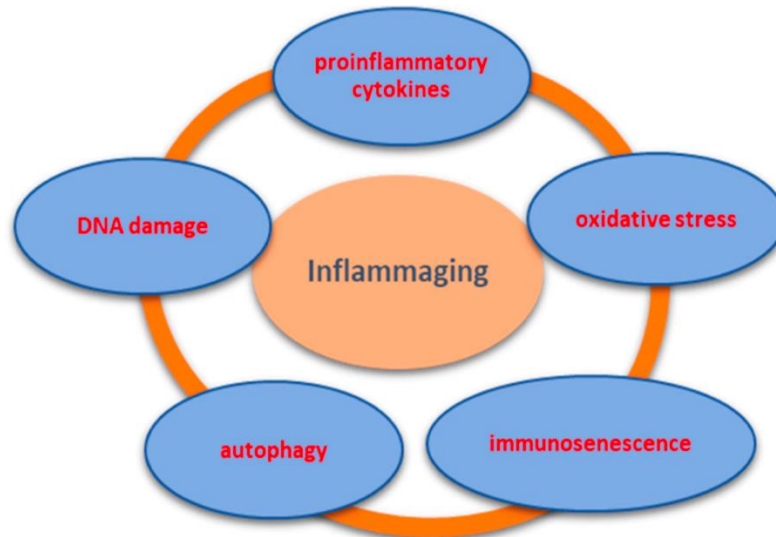


Figura 1: Principales mecanismos del *Inflammaging*. Dentro de los mecanismos que generan un aumento progresivo del estado inflamatorio en el organismo encontramos el aumento en la liberación de citoquinas proinflamatorias, la acumulación de productos de oxidación por incremento de las ROS y por defectos en la autofagia, la cual se ve disminuida. También se genera por aumento en el daño del DNA, lo que genera respuestas celulares relacionadas a la inducción de la senescencia en varios tejidos, entre esos en las células del sistema inmune (modificada de Rezus y cols., 2019).

Las consecuencias fisiológicas del *Inflammaging* en el organismo son principalmente la mayor vulnerabilidad a las infecciones y susceptibilidad al desarrollo de enfermedades asociadas a la edad, las que incluyen artritis, asma, diabetes, aterosclerosis, enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas y cáncer (Germolec y cols., 2018; Medzhitov, 2008; Franceschi y Campisi, 2014). El *Inflammaging* destaca como el principal factor de riesgo para la morbilidad crónica, el deterioro funcional y la mortalidad durante el envejecimiento (Baylis y cols., 2013; Franceschi y cols., 2018b; López-Otín y cols., 2013). De esta manera, el *Inflammaging* posee un rol central dentro del proceso de envejecimiento y la evidencia científica sugiere que las alteraciones

de los demás factores involucrados en el desarrollo del envejecimiento convergen en el *Inflammaging* (Franceschi y cols., 2018a; Franceschi y Campisi, 2014). Lo anterior, debido a que la inflamación crónica implica la participación de diversas citoquinas, vías moleculares, células efectoras y respuestas del tejido que son comunes en múltiples patologías relacionadas con el envejecimiento (Franceschi y cols., 2018a; Franceschi y Campisi, 2014).

La inflamación se produce debido a inductores endógenos dados por tejidos estresados, dañados o en mal funcionamiento (Medzhitov, 2008; Schiffrin y cols., 2010). La inflamación crónica se gatilla principalmente por DAMPs tales como son proteínas y ácidos nucleicos, los cuales pueden encontrarse alterados o dañados o localizados fuera de su compartimento celular normal y que se acumulan en el tiempo (Franceschi y cols., 2018b; Franceschi y cols., 2016). Las células y macromoléculas, de forma fisiológica están siendo continuamente dañadas y reparadas, a consecuencia de esto, se forman productos de “desecho celular” o debris celular (Franceschi y cols., 2016). Sin embargo, con la edad, los mecanismos de eliminación disminuyen progresivamente, y generan la acumulación de estas moléculas (Franceschi y cols., 2016; Franceschi y Campisi, 2014). También, moléculas de la microbiota intestinal y generadas por infecciones persistentes (como por citomegalovirus), generan una respuesta inmune inflamatoria continua en el tiempo y conducen a daño del tejido (Franceschi y cols., 2018; Franceschi y cols., 2016; Franceschi y Campisi, 2014). No obstante, dentro de las moléculas endógenas recién mencionadas, se sugiere

que el DNA dañado y/o localizado en el citoplasma, es el mayor potenciador del *Inflammaging* y de la activación crónica del sistema inmune innato (Franceschi y cols., 2016). En células eucariotas la localización del DNA propio está restringido al núcleo o a la mitocondria (MacKenzie y cols., 2017; Roers, Hiller y Hornung y cols., 2016). Cuando el DNA se localiza fuera de la mitocondria y núcleo y se encuentra en el citoplasma, induce una respuesta celular al daño y un aumento de la liberación de citoquinas inflamatorias por ejemplo, desde los macrófagos activados (Franceschi y cols., 2016; Storci y cols., 2012).

Los macrófagos son células centinelas de los tejidos y circulación y son los principales detectores de moléculas solubles como exosomas (vesículas extracelulares), restos celulares, debris, desechos, etc. Los macrófagos se movilizan por todos los tejidos y dentro de sus secreciones, liberan citoquinas proinflamatorias, las cuales activan señales proinflamatorias en otras células del organismo tanto a nivel local como sistémico, contribuyendo de forma importante a la propagación por el organismo de la respuesta inflamatoria (Bonafè, y cols., 2012; Abbas y cols., 2012).

3.1 Macrófagos: células protagonistas del *Inflammaging*

Durante el *Inflammaging* se genera el declive en la eliminación efectiva de los patógenos por parte del sistema inmune innato, debido a una reducción de la capacidad para reconocer y eliminar patógenos (Fuente y Miquel, 2009). El SI entonces, compensa esta insuficiencia incrementando el número de leucocitos

que conducen a la producción citoquinas proinflamatorias para responder frente a los microorganismos, las que amplifican la respuesta inflamatoria e inducen un proceso inflamatorio generalizado en el organismo (Bonafè y cols., 2012; Abbas y cols., 2012). Esta activación crónica del sistema inmune innato tiene como protagonista al macrófago (Abbas y cols., 2012; Bonafè, Storci y Franceschi, 2012; Fulop y cols., 2016; Franceschi y cols., 2000). El macrófago normalmente monitorea el estado de las células del tejido donde reside, a través de la unión de los PAMPs o DAMPs a los PRRs, lo que da origen a señales intracelulares que generan la liberación de citoquinas inflamatorias en respuesta a la alteración de la homeostasis tisular en el sitio del daño (Gong y cols., 2020; Rongvaux, 2018; Xia y cols., 2016; Ergun y Li, 2020; Fleshner, 2013). Otra de las funciones de los macrófagos, es la fagocitosis del agente inflamatorio para eliminarlo, lo que se logra mediante la producción de ROS, en un proceso denominado “*burst oxidativo*” y, que contempla una serie de reacciones de oxidación sumamente tóxicas que destruyen al agente nocivo (Abbas y cols., 2012; Medzhitov, 2008; Rodier y Campisi, 2011). La generación de ROS es uno de los principales mecanismos celulares que ocurren en el envejecimiento producto de la exposición continua o crónica a agentes estresantes, y a la excesiva estimulación de los macrófagos (Lee y Yang, 2012). De esta forma, en el *Inflammaging* la producción de ROS se ve exacerbada, al igual que la generación de citoquinas, las cuales alteran los fenotipos de las células cercanas al macrófago y generan el detrimento de la función normal del tejido (Rodier y Campisi, 2011). De esta

manera, durante el envejecimiento, los macrófagos promueven el proceso proinflamatorio, haciéndolo extensivo y crónico (Franceschi y Campisi, 2014).

Además, durante el *Inflammaging* se produce el incremento de las ROS lo que genera aumento del daño de células inmunes y no inmunes (Labunskyy y Gladyshev, 2013; Campisi y cols., 2019).

4. Especies Reactivas de Oxígeno (ROS)

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) corresponden al conjunto de radicales libres del oxígeno y a otras moléculas no radicalarias (que contienen grupos funcionales con oxígeno químicamente reactivos, pero que no necesariamente generan reacciones radicalarias). Los radicales libres son especies químicas que contienen uno o más electrones desapareados en su último orbital atómico, lo que las hace altamente reactivas e inestables, por lo que poseen una vida media muy corta y tienden rápidamente a captar un electrón de moléculas estables no radicalarias y cercanas, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Santo y cols., 2016; Alfadda y Sallam, 2012; Kehrer y Klotz, 2015). Cuando la molécula estable cede su electrón a una ROS (el cual gana estabilidad reduciéndose), la molécula estable se oxida y se convierte a su vez en un radical libre inestable, iniciándose así una serie de reacciones de reducción-oxidación (redox) en cadena (Pisoschi y Pop, 2015; Phaniendra y cols., 2015; Khan y cols., 2018). Estas reacciones se propagan en las células, generando nuevas ROS y finalizan cuando los productos de las reacciones no

presentan especies reactivas (Kehrer y Klotz, 2015). Las principales ROS generadas en sistemas biológicos son: anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxilo ($OH^{\cdot}$), peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$), oxígeno singlete (1O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Alfadda y Sallam, 2012; Cooke y cols., 2006; Santo y cols., 2016).

Las ROS se producen de forma fisiológica, por la activación de variadas vías metabólicas y regulan funciones celulares esenciales (Kehrer y Klotz, 2015). Son sustancias necesarias para el correcto funcionamiento celular normal y cumplen un papel importante en la señalización celular, induciendo mecanismos de supervivencia y manteniendo la homeostasis (Alfadda y Sallam, 2012; Santo y cols., 2016; Lushchak, 2014). Por ejemplo, desempeñan un importante rol en la defensa inmune, tono vascular y transducción de señales (Alfadda y Sallam, 2012). No obstante, cuando las ROS son producidas en exceso, constituyen un riesgo para la célula. De esta forma las ROS presentan un rol dual en la salud y en la enfermedad, ya que también contribuyen a la fisiopatología de variadas enfermedades crónicas inflamatorias, cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer, entre otras (Bolli y cols., 1995; Pisoschi y Pop, 2015). Es por esto que para la mantención de la homeostasis celular, la producción de ROS se debe mantener regulada (Alfadda y Sallam, 2012). Este control se logra en condiciones fisiológicas, donde existe un equilibrio entre la generación de las ROS y su eliminación por parte de las defensas antioxidantes (De la Fuente y Miquel, 2009).

En general un antioxidante es una sustancia que previene, inhibe o elimina la oxidación de otra sustancia estable con capacidad de ser oxidada por ROS y/o

sus intermediarios, esto con el fin proteger a las células del daño oxidativo (Zhu y cols., 2013). Para ello, existen antioxidantes que reaccionan con las ROS, cediéndole electrones, estabilizándolas y transformándose en radicales más estables que el iniciador de la cadena. Estos antioxidantes son de tipo no enzimáticos y provienen principalmente de la ingesta de alimentos (Santo y cols., 2016). Actúan en conjunto con las defensas antioxidantes enzimáticas, las que actúan neutralizando y limitando los niveles de ROS al generar productos no radicalarios durante las reacciones químicas (Kalyanaraman, 2013). Este sistema está formado por la enzima superóxido dismutasa (SOD), catalasa (Cat), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR), entre otras (Birben y cols., 2020; Hamanaka y Chandel, 2012; Valko y cols., 2007). La principal función de los antioxidantes, es mantener las concentraciones de las ROS dentro de los límites que son beneficiosas para el organismo y así mantener la homeostasis (Halliwell, 1995). Este proceso es correspondiente a un concepto denominado “eustrés”, donde se promueven respuestas celulares normales de proliferación, diferenciación, migración y angiogénesis (Niki, 2016; Sies, 2020). Los niveles de ROS ligeramente mayores a los de eustrés, generan respuestas de adaptación y estrés. Mientras que concentraciones de ROS por sobre este nivel, generan “distrés”, lo que tiene consecuencias negativas para las células, tales como: activación de la inflamación, daño oxidativo, detención del ciclo celular, desarrollo de tumores, muerte celular, entre otros (Sies, 2020; Sies y Jones, 2020).

El daño oxidativo, es entendido como una alteración en el equilibrio prooxidante-antioxidante a favor de las sustancias prooxidantes, que conduce a una interrupción de la señalización redox y su control y/o daño molecular (Sies y Jones, 2007). Este evento, conocido como estrés oxidativo, puede ocurrir a partir de un incremento de las ROS y/o por una disminución de las respuestas homeostáticas de defensa antioxidante (Kehrer y Klotz, 2015). El daño oxidativo entonces, ocurre por medio de una serie de reacciones bioquímicas iniciadas por las ROS, que alteran la estructura y función de las moléculas con las que reacciona, lo que genera daño celular y del tejido (Kehrer y Klotz, 2015; Pisoschi y Pop, 2015). Principalmente, las ROS reaccionan con macromoléculas tales como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, generando numerosos cambios que afectan la función celular y provocan lesiones con efectos acumulativos en las células y que podrían llevar a la muerte celular (Alfadda y Sallam, 2012; Kehrer y Klotz, 2015). El daño celular que generan las reacciones de oxidación está determinado por el tipo de biomoléculas afectadas, la naturaleza de las modificaciones de estas biomoléculas y la disposición celular de las biomoléculas alteradas (Kehrer y Klotz, 2015). Por ejemplo, los ácidos grasos poliinsaturados son susceptibles a las reacciones mediadas por las ROS y generan gran afectación de la membrana celular (Kehrer y Klotz, 2015). También por acción de las ROS se generan modificaciones en proteínas y residuos de aminoácidos, lo que puede resultar en alteración en la señalización y las actividades tanto funcionales como estructurales de las proteínas (Kehrer y Klotz, 2015). Por otro

lado, un objetivo molecular significativo del “ataque” de las ROS en las células es el DNA (Evans y cols., 2004). En esta interacción se pueden generar modificaciones directas de las bases del DNA (Evans y cols., 2004). Dentro de las ROS, el radical $\text{OH}^{\bullet}$ es el más potente y tiene la capacidad de reaccionar con el DNA, mediante la adición de doble enlaces en las bases del DNA (Santo y cols., 2016). Entre las bases nitrogenadas del DNA, la guanina es altamente susceptible al estrés oxidativo, lo que genera como producto 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OH-dG), obtenida por acción del $\text{OH}^{\bullet}$ sobre el carbono número 8 de la guanosina (guanina unida a anillo de ribosa), principal lesión del daño oxidativo del DNA (Cooke y cols. 2003; Evans y cols., 2004 Neeley y Essigmann, 2006; Santo y cols., 2016). Dentro de las biomoléculas afectadas por los ROS, el daño que sufre el DNA es el daño más importante que puede sufrir la célula, ya que puede afectar tanto la integridad como la regulación de los genes, por lo que debe ser reparado a través de mecanismos celulares para prevenir la mutagénesis, mantener la estabilidad genómica de la célula y proteger las funciones biológicas normales (Kehrer y Klotz, 2015; Evans y cols., 2004).

A pesar de los mecanismos de protección que poseen las células, los niveles de daño celular pueden incrementarse en condiciones de estrés oxidativo, como resultado del incremento de las ROS desde una variedad de fuentes exógenas y endógenas (Cooke y cols., 2006; Kalyanaraman, 2013). Sin embargo, la mayor fuente de ROS se genera en el interior de las células y ocurre de forma normal y continua, como consecuencia de reacciones enzimáticas y no

enzimáticas. Para mayor información sobre las fuentes generadoras de ROS remitirse a diversos reviews presentes en la literatura (Phaniendra et al., 2015; Sies y Jones, 2020; Snezhkina y cols., 2019).

De las fuentes endógenas de ROS, la principal corresponde a las mitocondrias (Cadenas y Davies, 2000; Figueira y cols., 2013).

4.1 Especies Reactivas de Oxígeno y mitocondrias

La mitocondria tiene la función de generar la energía que debe ser utilizada por la célula. Esto se realiza por medio de un proceso metabólico denominado fosforilación oxidativa, que utiliza la energía liberada por la oxidación de los nutrientes para producir energía en forma de ATP (Alberts y cols., 2015). La fosforilación oxidativa tiene lugar en la membrana interna de la mitocondria, donde se ubican los complejos de proteínas que forman la cadena transportadora de electrones (CTE) (Ma y cols., 2012). En la CTE se genera el movimiento de electrones, que permite un bombeo de protones desde la matriz de la mitocondria hacia el espacio intermembranal, lo que constituye una gradiente electroquímica (Alberts y cols., 2015). La fuerza protón-motriz que se genera de la acumulación de los protones, es posteriormente utilizada por la enzima ATP sintasa para la generación de ATP, ubicada al final de la CTE (Alberts y cols., 2015). El traspaso de electrones que se genera en la CTE se realiza por medio de sucesivas reacciones de óxido-reducción, desde el complejo I y II hasta llegar al complejo IV, donde se produce la reducción de una molécula O_2 a H_2O (Alberts y cols.,

2015). Bajo condiciones normales, se produce la salida de electrones desde los complejos I y III de la cadena transportadora de electrones de la mitocondria (Cannizzo y cols., 2011). Esta fuga de electrones reaccionan con O_2 y generan $O_2^{\cdot-}$, que puede ser convertido rápidamente por la enzima SODMn (superóxido dismutasa manganeso) en la matriz, o SODCu/Zn (superóxido dismutasa cobre/zinc) en el espacio intermembranoso, en H_2O_2 , un compuesto menos tóxico pero altamente difusible a través de distintos compartimentos celulares (Mordente y cols., 2012; Yang y cols., 2013). El H_2O_2 es neutralizado por la enzima Catalasa (Cat) o por la Glutación Peroxidasa (GPx) en O_2 y H_2O , moléculas no dañinas para la célula (Mordente y cols., 2012; Quan y cols., 2020; Cannizzo y cols., 2011). Por otro lado, cuando la tasa de generación de H_2O_2 excede su eliminación, la acumulación de H_2O_2 en presencia de metales como Fe y Cu, lo convierte en $\cdot OH$, compuesto altamente reactivo y con un potencial dañino para las biomoléculas como DNA, proteínas y lípidos (Figura 2) (Cannizzo y cols., 2011; Ma y cols., 2012; Quan y cols., 2020; Turrens, 2003). Esto es contrarrestado generalmente por las defensas antioxidantes, las que se encuentran en mayores niveles en mitocondrias y desempeñan un rol fundamental para la mantención del estatus celular redox (Dikalov, 2011).

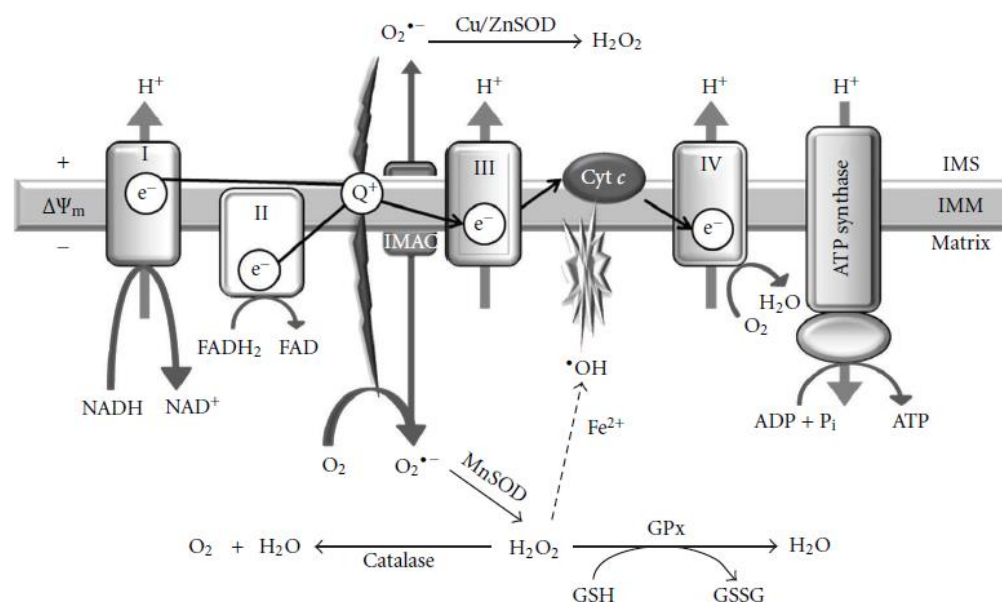


Figura 2: Generación de ROS en la Cadena Transportadora de Electrones (CTE) y defensas antioxidantes mitocondriales. Durante el metabolismo normal se produce la fuga de pequeñas cantidades de electrones desde los complejos I y III mitocondriales que generan la producción de $O_2^{\bullet-}$. Por otro lado, el H_2O_2 puede interactuar con iones metálicos, mediante reacción de Fenton (línea punteada) y generar un compuesto altamente reactivo, el $\bullet OH$, que puede ir a dañar al DNA, proteínas y lípidos. IMS: espacio intermembranal; IMM: Membrana mitocondrial interna; NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido reducida; NAD^+ : Nicotinamida adenina dinucleótido oxidada; $FADH_2$: Dinucleótido de flavina reducida; FAD: Dinucleótido de flavina oxidada; MnSOD: Superoxido dismutasa manganeso; Cu/ZnSOD: Superoxido dismutasa cobre/zinc; ADP: Adenosin difosfato; P_i : Fosfato inorgánico; ATP: Adenosin Trifosfato; Q^+ : coenzima Q o ubiquinona; IMAC: Canal iónico de la membrana interna; Cyt c: Citocromo c; GSH: Glutatión; GSSG: Glutatión oxidado; $\Delta\Psi_m$: potencial de membrana (Modificada de Ma y cols., 2012).

Por otro lado, otra importante reacción endógena en la que se genera ROS, ocurre gracias a la acción de las enzimas Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH) Oxidasa (NOX) (Bedard & Krause, 2007). Las NOXs pertenecen a una familia de complejos enzimáticos con diversas isoformas presentes en la membrana nuclear y celular, así como en organelos como el RE,

cuya principal función es catalizar la transferencia de electrones desde NADPH a O_2 produciendo $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 (Dikalov, 2011; Bedard & Krause, 2007). Se sugiere que las mitocondrias y las NOXs, en condiciones de estrés oxidativo, pueden estimularse mutuamente de forma que las ROS mitocondriales podrían activar a las NOXs y viceversa, generando un círculo vicioso (Dikalov, 2011).

Ambas fuentes, mitocondrias y NOXs, producen ROS en células del sistema inmune, las que cumplen funciones importantes para su respuesta (Sies y Jones, 2020; Yang y cols., 2013).

4.2 ROS y su función en el sistema inmunológico

Las ROS están involucradas en variados aspectos de la respuesta inmune, como en la defensa del hospedero, activación e interacción de células inmunes y la inmunosupresión (Yang y cols., 2013). Diversos review detallan la regulación de las ROS durante la respuesta inmune en aspectos como la activación, proliferación y muerte de linfocitos T, activación de células dendríticas, atracción de neutrófilos, entre otros (Yang y cols., 2013; Manda-Handzlik & Demkow, 2015; Nathan & Cunningham-Bussel, 2013; Reth, 2002; Rutault et al., 1999; Chen et al., 2016). Sin embargo, se destaca la utilización de ROS durante la defensa inmunitaria, ya que las células innatas son la primera línea frente a microorganismos patógenos y para combatirlos liberan ROS con el fin de dañarlos y eliminarlos (Abbas y cols., 2012). Estas células utilizan distintos mecanismos para llevar a cabo su función, por ejemplo, los macrófagos realizan

la fagocitosis. Este proceso inicia con la ingesta del microorganismo por medio de la endocitosis gracias a la membrana plasmática del fagocito. Este paso permite la formación de un fagosoma que luego se fusiona con lisosomas generando un fagolisosoma, donde se acumulan las ROS para dar muerte al patógeno al interior de las células inmunes (Figura 3) (Gordon, 2016).

En la defensa contra patógenos, se produce la activación de NOX lo que resulta en el rápido incremento del consumo de oxígeno, conocido como “*burst oxidativo*” o también llamado “*burst respiratorio*” (Yang y cols., 2013; Santo y cols., 2016). Durante este proceso, NOX es la encargada de iniciar la producción de grandes cantidades de ROS, al entrar en contacto directo cuando son liberadas al espacio extracelular o durante la fagocitosis, estas ROS matan al patógeno por oxidación de su membrana, proteínas, DNA y carbohidratos (Yang y cols., 2013). La enzima NOX genera $O_2^{\cdot -}$ el que es liberado y convertido rápidamente en H_2O_2 , por la enzima de SOD (Yang y cols., 2013). El H_2O_2 tras reaccionar con Cl^- , debido a la acción de la enzima mieloperoxidasa (MPO), genera HOCl, un compuesto ácido y con gran potencial bactericida (Figura 3) (Magder, 2006; Manda-Handzlik y Demkow, 2015; Santo y cols., 2016; Yang y cols., 2013). Además, en presencia de aniones metálicos, como Fe o Cu, el H_2O_2 es transformado en $OH^{\cdot}$. Al reaccionar con $OH^{\cdot}$ se generan compuestos altamente tóxicos y con gran capacidad bactericida (Santo y cols., 2016; Yang y cols., 2013).

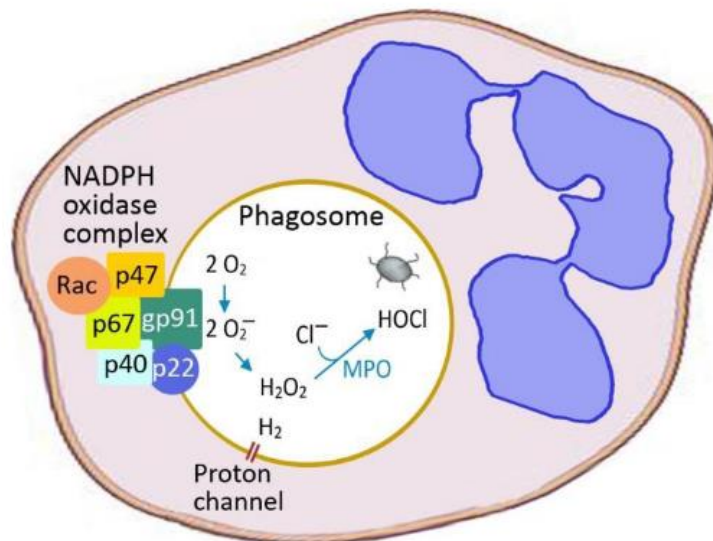


Figura 3: Formación de ROS durante el burst oxidativo en células fagocíticas.

Luego de la fagocitosis del microorganismo se genera la activación de la enzima NADPH Oxidasa (NOX) para la formación de ROS en el interior del fagosoma que darán muerte al patógeno. La enzima NOX está compuesta por seis subunidades que en reposo permanecen separadas, y que tras la ingesta del microorganismo, se activan y se ensamblan. Las subunidades gp91 y p22, son el centro catalítico que produce la conversión de O_2 en $O_2^{\bullet-}$, el cual es convertido a H_2O_2 . El H_2O_2 tras reaccionar con Cl^- , por la MPO, genera HOCl. (Modificada de Santo y cols., 2016). MPO: enzima mieloperoxidasa; HOCl: ácido hipocloroso; Cl^- anión cloro; H_2O_2 : peróxido de hidrógeno; H_2 : Hidrógeno molecular; $O_2^{\bullet-}$: anión superóxido; O_2 : oxígeno molecular; Complejo NADPH: subunidades Rac-p47-p67-gp91-p40-p22 (Modificada de Santo y cols., 2016).

A lo largo del tiempo, tanto en las células inmunes y como no inmunes se genera la alteración del balance redox, lo que conduce a daño, disfunción celular y contribuye a la aparición del envejecimiento (Dikalov, 2011).

4.3 ROS en el envejecimiento

Durante el envejecimiento se genera un aumento en la producción de las ROS, con una disminución de la eficiencia de las defensas antioxidantes enzimáticas, lo que genera como resultado la pérdida del equilibrio homeostático redox y la generación de daño oxidativo en las células del organismo (Alexeyev, 2009; Haigis, Marcia y Yankner, 2010; Perez-Campo y cols., 1998; Sarkar y Fisher, 2006). Por un lado, las ROS se generan en mayor cantidad producto de la exposición continua a agentes estresantes y a la constante estimulación por citoquinas proinflamatorias de NOX, durante el *Inflammaging* (Lee y Yang, 2012). Por otro lado, a lo descrito anteriormente se suma el aumento de las ROS liberadas desde las mitocondrias por la mayor inestabilidad genómica del DNA mitocondrial (Chomyn y Attardi, 2003; Vijg y Suh, 2013). La mitocondria no cuenta con un sistema de enzimas reparadoras propias del DNA, por lo tanto, estas deben viajar desde el núcleo hacia la mitocondria para reparar el mtDNA, lo que lo hace aún más susceptible durante el envejecimiento (Larsson, 1995; Saki y Prakash, 2017). El daño en el mtDNA se traduce en una desregulación de la función mitocondrial, con un incremento en la producción de las ROS, lo que conlleva a un círculo vicioso, de daño y mutaciones en el mtDNA que alteran la función de la cadena respiratoria, generando más ROS durante el envejecimiento (Ozawa, 1995; Miquel y cols., 1980; Miquel, 1992; Miquel, 1998; Shigenaga y cols., 1994). Este incremento constante de ROS a nivel mitocondrial induce la depleción de energía en la célula, y contribuye al daño celular y a la

activación de vías de estrés que inducirán la activación de la senescencia y/o la muerte celular regulada (Chomyn y Attardi, 2003; Harman y cols., 1983; Miquel y cols., 1980; Vitale y cols., 2013). Además, la sobreproducción de ROS también induce daño en el DNA nuclear, lo que provoca una desregulación progresiva en las funciones de la célula, acelerando la senescencia celular y por consecuencia, la muerte celular (Finkel y Holbrook, 2000; De la Fuente y Miquel, 2009; Harman, 1983; Miquel y cols., 1980; Shigenaga y cols., 1994).

“La teoría de los radicales libres del envejecimiento” postulada por Harman (1956), relaciona a la generación de ROS con la acumulación gradual de daño macromolecular y la consecuente pérdida de función celular, como principal mecanismo que subyace al envejecimiento (Haigis y cols., 2010; Evans y cols., 2004; Harman, 2003). Estos daños moleculares se acumulan y repercuten en varios tipos celulares y tejidos (De la Fuente y Miquel, 2009; Gil y Withers, 2016). Posterior a este teoría inicial, se evolucionó a la teoría del “estrés oxidativo mitocondrial” propuesta por Miquel (1980), la que sugiere que durante el envejecimiento el incremento de los productos oxidantes, así como la falla progresiva de los mecanismos antioxidantes, ocasionan daño a las macromoléculas, lo que se acumula con la edad y se relacionan de manera estrecha con el declive en la función celular (Fuente y Miquel, 2009; Chandrasekaran y cols., 2017). Esta última teoría plantea la existencia de un control/descontrol redox en el envejecimiento, en donde se producen cambios en la activación/desactivación de proteínas redox-sensibles, con la contribución de

las ROS a la activación de la senescencia celular, lo que se traduce en alteraciones en genes y membranas mitocondriales de células post mitóticas diferenciadas, con pérdida progresiva de la función inmune, y de otros tejidos y órganos (Chandrasekaran y cols., 2017; Fuente y Miquel, 2009).

El daño generado por las ROS en las células especializadas como las que conforman al SI, se ha visto que contribuye al desarrollo del *Inflammaging* (De la Fuente y Miquel, 2009; Ponnappan y Ponnappan, 2011).

4.3.1 ROS e Inflammaging

Durante el envejecimiento ocurre un incremento de células dañadas y su acumulación en los tejidos, lo que genera respuestas inmunes inflamatorias en el organismo (Franceschi y cols., 2019; Franceschi y cols., 2016). De esta forma el incremento de las ROS contribuyen de forma importante en la generación y en el mantenimiento del *Inflammaging*, al promover la acumulación de células con daño oxidativo, liberación de compuestos proinflamatorios y la desregulación de las funciones inmunes (Baylis y cols., 2013; Cannizzo y cols., 2011; Fuente y Miquel, 2009; Rodier y Campisi, 2011). Las células inmunes innatas y adaptativas sufren la pérdida progresiva de la capacidad de regular su propio equilibrio redox e inflamatorio durante el *Inflammaging* (Bauer y Fuente, 2016).

Las ROS están intrínsecamente relacionadas a la inflamación, debido a su participación en vías de señalización claves para el desarrollo de procesos inflamatorios (Vitale y cols., 2013). Específicamente, las ROS regulan la

activación de proteínas transcripcionales asociadas a genes proinflamatorios tales como el Factor Nuclear Potenciador de las cadenas ligeras Kappa de las células B activadas (NFkB) (Schreck y cols.,1992).

4.3.2 El factor NFkB, ROS e *Inflammaging*

Diversas moléculas provenientes de estrés celular, de daño en el DNA y de inflamación (específicamente citoquinas inflamatorias), interactúan con los receptores de la superficie celular de células inmunes. Esta interacción inicia cascadas de señalización intracelular que activan a factores de transcripción, que regulan/desregulan la inflamación crónica en diversos tejidos durante el envejecimiento, dentro de los cuales se encuentra NFkB (Bollrath y Greten, 2009; Franceschi y Campisi, 2014).

NFkB es considerado el factor transcripcional maestro que regula la transcripción de numerosos genes relacionados con el control del ciclo celular, la inflamación, respuesta inmune y estrés oxidativo (Celec, 2004; De la Fuente y Miquel, 2009; Tilstra y cols., 2012). Dentro de sus genes blanco se encuentran a las citoquinas (Celec, 2004).

NFkB pertenece a una familia de factores, compuestos por NFkB1 y sus subunidades heterodiméricas p50, NFkB2 (p52/p100), p65 (RelA), RelB y c-Rel (Ghosh y cols.,1998). No obstante, la forma activa más abundante es el heterodímero compuesto por p50 y p65 (Karin y Ben-neriah, 2000). NFkB está presente en prácticamente todas las células del organismo, pero es retenido en

el citoplasma en su forma inactiva unido a un inhibidor específico, denominado I κ B (Karin y Ben-neriah, 2000). NF κ B se activa gracias a vías canónicas y no canónicas (Gilmore, 2006). En la vía de señalización canónica, la unión del ligando a un receptor de la superficie celular (por ejemplo, receptores tipo Toll u otros) conduce al reclutamiento de proteínas adaptadoras al dominio citoplásmico del receptor. Estas proteínas adaptadoras, a su vez reclutan a la kinasa del inhibidor de NF κ B o (IKK), que conduce a la fosforilación y posterior degradación de I κ B. La vía canónica activa los dímeros NF κ B que comprenden a c-Rel, RelB, p65 y p50 (Gilmore, 2006). La vía no canónica se activa sólo por pequeño número de estímulos donde los complejos p100/RelB se activan (Gilmore, 2006).

Los DAMPs de las células dañadas son sensadas por receptores de reconocimiento de células del sistema inmune, los que a su vez gatillan la activación de NF κ B y que a su vez incrementa el *Inflammaging* (Franceschi y cols., 2019; Franceschi y cols., 2016). Además, NF κ B es un complejo sensible a redox; el incremento de ROS induce a IKK quien fosforila a I κ B, liberando al heterodímero p65/p50. I κ B es eliminado mediante el sistema ubiquitina-proteosoma, lo que permite que NF κ B trasloque al núcleo e inicie la transcripción de genes proinflamatorios (Janssens y Tschopp, 2006; Karin y Ben-neriah, 2000; Nathan y Cunningham-Bussel, 2013; Sies y Jones, 2020).

De la Fuente y Miquel, (2009) proponen la teoría de la “oxidación-inflamación” como el principal agente que afecta la comunicación entre las células del sistema inmune con el resto del organismo, lo que altera la

homeostasis general durante el envejecimiento. Esta teoría se basa en el incremento intracelular de NFκB en las células inmunes dado por las ROS, lo que genera el mayor incremento de mediadores inflamatorios y liberación de compuestos oxidantes lo que produce un estado de estrés oxidativo crónico (De la Fuente y Miquel, 2009).

El estrés oxidativo crónico e incremento del daño oxidativo que sufren las biomoléculas como el DNA en las células inmunes durante el *Inflammaging*, permite la activación de mecanismos de reparación al daño del DNA y vías de señalización intracelular en respuesta a este daño o DDR (Chen y cols., 1995; Imlay, 2008; Janssens y Tschopp, 2006;.Passos y cols., 2007; Passos y cols., 2009; Lu y Finkel, 2008; Rai y cols., 2009).

5. Mecanismos de reparación al daño del DNA y respuesta al daño del DNA (DDR) en el envejecimiento.

El daño al DNA conlleva a la generación de mutaciones y aberraciones del genoma, lo que compromete la viabilidad celular por lo que los mecanismos de reparación y las respuestas que generan las células ante el daño al DNA, son claves para contrarrestarlo y así mantener su estabilidad y la supervivencia celular en el tiempo (Campisi y Di Fagagna, 2007; Jackson y Bartek, 2010; Wu y Miyamoto, 2007). El DNA dañado, a diferencia de otras biomoléculas, no se puede reemplazar, por lo que de su reparación depende el correcto funcionamiento celular (Lee y Kang, 2019). Para ello, existen mecanismos de

reparación del DNA de doble hebra (dsDNA), los cuales son la Recombinación Homóloga (RH) y la Unión Final No Homóloga (NHEJ). Cuando el daño en el DNA se produce por las ROS y ocurre oxidación, se activan principalmente dos mecanismos de reparación, el primero llamado Reparación por Escisión De Bases (BER) y el segundo Reparación por Excisión de Nucleótidos (NER). Diversos reviews profundizan sobre los mecanismos de reparación del DNA que se producen de forma normal en las células (Ceccaldi y cols., 2016; Chapman y cols., 2012; Chang y cols., 2017; D'Errico y cols., 2008; Lee y Kang, 2019).

Frente a procesos de estrés genotóxico y daño excesivo del DNA (como en condiciones de estrés oxidativo), los mecanismos de reparación se ven alterados y se acelera la desestabilización del material genético, lo que genera la formación de micronúcleos (fragmentos de cromosomas separados del núcleo que provienen de la rotura y mal segregación de estos mismos cromosomas durante la mitosis) (Gekara, 2017; Jiang y cols., 2019; Hoeijmakers, 2009). Durante el envejecimiento, las enzimas de los mecanismos de reparación disminuyen gradualmente y la falta de una adecuada reparación del DNA oxidado, genera la acumulación de las lesiones oxidativas, transformando al DNA en inestable y mutagénico (Haigis y cols., 2010; Kaneko y cols., 2001; Vijg y Suh, 2013 Svilar y cols., 2011). Esto desencadena la generación adicional de ROS desde las mitocondrias y otros organelos, produciéndose un *loop* positivo de incremento de la inestabilidad del genoma, daño oxidativo y disfunción mitocondrial, que afecta todas las funciones de la célula y conlleva al envejecimiento (Delabaere y cols.,

2017; Harman y cols., 1983; Mandavilli y cols., 2002; Miquel y cols., 1980; Seluanov y cols., 2004; Svilar y cols., 2011; Vijg y Suh, 2013).

Además de la maquinaria de reparación del DNA, la estabilidad del genoma es reguardada por vías de señalización de respuesta al daño del DNA (DDR) (Hoeijmakers, 2009). De esta forma, durante el envejecimiento, las lesiones del DNA que no se reparan a tiempo, ya sea por un daño extenso o persistente, generan la DDR (Campisi y Di Fagagna, 2007; Passos y cols., 2007; Wu y Miyamoto, 2007). La DDR consiste en una serie de mecanismos moleculares meticulosamente coordinados por proteínas sensoras, transductoras y efectoras que detectan el daño, y que activan vías de señalización para la mantención de la célula (Passos et al., 2010; Wan et al., 2020). Dentro de las vías que se activan, se cuentan aquellas relacionadas con la detención del ciclo celular (Passos et al., 2010; Wan et al., 2020). Para esto se requiere de la activación de la proteína reguladora del ciclo celular p53 y de los inhibidores del ciclo celular, como lo son las proteínas p21 y la p16 (Campisi, 2001; Muñoz-Espín & Serrano, 2014). En este proceso, el componente clave y responsable final de la detención del ciclo celular, es la proteína Retinoblastoma (RB), que lleva a cabo el bloqueo del factor de transcripción E2 (E2F) (Campisi & Di Fagagna, 2007). Este factor al migrar al núcleo, genera la transcripción de los genes necesarios para dar continuidad al ciclo celular (Campisi & Di Fagagna, 2007).

La señalización de la DRR puede ser iniciada por lesiones del DNA producto de metabolitos endógenos como las ROS, y de esta manera inducir procesos

como la senescencia celular o la muerte celular regulada (MCR) (Campisi y D'Adda Di Fagagna, 2007; Hoeijmakers, 2009; Imlay y Linn, 1987; Janssens y Tschopp, 2006; Lee y Kang, 2019; Passos y cols., 2007; Wu y Miyamoto, 2007).

6. Activación de mecanismos de muerte celular frente al daño por oxidación del DNA

Tanto la senescencia celular como la MCR, son mecanismos que están presentes a lo largo de la vida y su acción es protectora ante la acumulación de células dañadas, potencialmente tumorales o malignas (Campisi y di Fagagna, 2007; Childs y cols., 2014; Muñoz-Espín y Serrano, 2014). Se postula que la apoptosis, un tipo de muerte celular regulada, se genera como una respuesta celular ante un estrés extensivo, mientras que la senescencia se activaría frente a daños de menor magnitud (Vousden y Lane, 2007). Sin embargo, los factores que influyen la “decisión” que toma la célula para activar uno u otro proceso, aún no están totalmente claros (Childs y cols., 2014; Campisi y Di Fagagna, 2007). No obstante, se ha demostrado que el tipo de célula, así como la intensidad, el tipo y la duración de la señal que gatilla el daño, son determinantes en el destino celular (Campisi y Di Fagagna, 2007; Childs y cols., 2014; Di Fagagna, 2008; Kuilman y cols., 2010; Rebbaa y cols., 2003; Seluanov y cols., 2001). Para mayor detalle sobre las principales MCR presentes en el envejecimiento revisar Anexo III.

En el envejecimiento estos mecanismos protectores se ven desregulados y

el incremento de células dañadas y oxidadas, gatillan en un inicio, la activación de la senescencia celular (Muñoz-Espín y Serrano, 2014).

6.1 Senescencia Celular

La senescencia es un proceso normal que ocurre en respuesta al estrés y al daño del DNA. Este daño es causado por diversos estresores genotóxicos y no genotóxicos, como la activación por estrés oxidativo (Campisi y Di Fagagna, 2007; He y Sharpless, 2017; Loo y cols., 2020; Van Deursen, 2014). A diferencia de las células quiescentes (detención del ciclo celular de forma reversible en fase G0), las células que sufren senescencia pierden la habilidad de dividirse de forma permanente, pero se mantienen metabólicamente activas (Di Leonardo, y cols.,1994; Herbig y cols., 2004; Serrano y cols.,1997). La mayoría de las células senescentes presentan un conjunto de cambios en su comportamiento, su estructura y su función celular, que se conoce como fenotipo senescente (Campisi y Di Fagagna, 2007). En la mayoría de las células senescentes, estos cambios comprenden cambios morfológicos, la detención del crecimiento, la resistencia a señales de muerte celular, la secreción de un perfil de moléculas solubles definido y alteraciones en la expresión génica (Campisi y Di Fagagna, 2007).

Las células senescentes se caracterizan por presentar una morfología aplanada, alargada y con un incremento celular que contempla un aumento del volumen, del tamaño de organelos como el Golgi, el RE, los lisosomas y el

núcleo, así como también, el incremento de vacuolas y de microfilamentos citoplasmáticos (Chandrasekaran y cols., 2017).

Además, las células senescentes presentan DNA dañado y cambios en la organización de la cromatina, conocidos como Focos de Heterocromatina Asociada a la Senescencia (SAHF). Sumado a lo anterior, las células senescentes presentan una disminución de la expresión de la proteína nuclear Lamin B1, la cual forma parte fundamental de la estructura del envoltorio nuclear, contribuyendo con su tamaño, forma y estabilidad mecánica (He y Sharpless, 2017; Kuilman y cols., 2010; Loo y cols., 2020; Shimi y cols., 2011). La desregulación de Lamin B1 en las células senescentes, conlleva a pérdidas en la estructura de la heterocromatina y en la función del genoma (Lukášová y cols., 2018).

Dentro de los cambios que sufren las células senescentes, la liberación de moléculas inflamatorias induce a que la senescencia progrese lentamente desde una etapa temprana hacia una senescencia completamente irreversible y fenotípicamente completa (Van Deursen, 2014). Para ello es necesaria la liberación de citoquinas proinflamatorias, quimioquinas, factores de crecimiento y otros moduladores inmunes secretados, los que se conocen como Fenotipos Secretores Asociados a la Senescencia (SASPs, por sus siglas en inglés) (Chien y cols., 2011; Coppe y cols. 2008; Kuilman y cols., 2010; Kuilman y Peeper, 2009; Passos y cols., 2010). Los SASPs liberados incluyen mayoritariamente a las citoquinas, Interleuquina-6 (IL-6) e Interleuquina-8 (IL-8), las que actúan de

manera autocrina y paracrina para reforzar la detención del ciclo celular en células lejanas y adyacentes, generando una amplificación de la senescencia en los tejidos (Acosta y cols. 2008; Kuilman y cols. 2008; Rodier y cols., 2009).

Dependiendo del contexto biológico, la senescencia puede ser beneficiosa o perjudicial para el organismo. Por ejemplo, durante la etapa embrionaria es fundamental para el proceso de morfogénesis y el adecuado desarrollo del embrión (Calcinotto y cols., 2019; Childs y cols., 2014). Durante la adultez, la senescencia es un potente mecanismo supresor de tumores y participa de la reparación y regeneración de heridas. Sin embargo, durante la adultez también la senescencia contribuye a promover el envejecimiento (He y Sharpless, 2017).

Durante el envejecimiento ocurre un incremento en la cantidad de células dañadas que se vuelven senescentes en todos los tejidos y órganos de nuestro sistema. Esta mayor activación de la senescencia se produce, por una parte, por el incremento del daño en el DNA, y por otra, por el insuficiente reemplazo celular, como consecuencia de una reducción de la población de células madre, así como una deficiencia en la eliminación de células dañadas por parte del sistema inmune (He y Sharpless, 2017; López-Otín y cols., 2013; Van Deursen, 2014). La acumulación de células senescentes genera una pérdida de función progresiva en los órganos y tejidos envejecidos, con consecuencias adversas para el organismo ya que contribuyen al desarrollo de enfermedades y a la morbilidad relacionada al envejecimiento (He y Sharpless, 2017).

Normalmente las IL-6 y IL-8 junto a otros factores, atraen a los macrófagos, las células *Natural Killer* y a los linfocitos T, para activar la eliminación de las células senescentes, proceso denominado “vigilancia de senescencia” (Loo y cols., 2020; Ovadya y cols., 2018; Van Deursen, 2014). En este sentido, las SASPs se generan en respuesta al daño genómico y son fundamentales para comunicarles a las demás células su estado de compromiso, y así estimular la reparación del tejido (si ha ocurrido daño), reclutando al sistema inmune e induciendo inflamación local (Chandrasekaran y cols., 2017). Sin embargo, durante el envejecimiento los mecanismos de senescencia se desregulan y la vigilancia de senescencia disminuye, dado por el declive funcional que experimentan las células inmunes, resultando en la acumulación de las células senescentes y el incremento de SASPs circulantes (Fulop y cols., 2016; Van Deursen, 2014). Este fenómeno promueve un ambiente proinflamatorio que contribuye a la generación del *Inflammaging* (Franceschi y cols., 2018a; 2018b; Franceschi y Campisi, 2014; Fulop y cols., 2016; Vitale y cols., 2013).

La activación de la senescencia se gatilla por la persistencia de la DDR o señales de estrés, que conllevan a la activación de las vías de señalización mediadas por p53 y/o p16, y por lo tanto, a la detención del ciclo celular de manera irreversible (Figura 4) (Campisi y Di Fagagna, 2007; Childs y cols., 2014; Muñoz-Espín y Serrano, 2014).

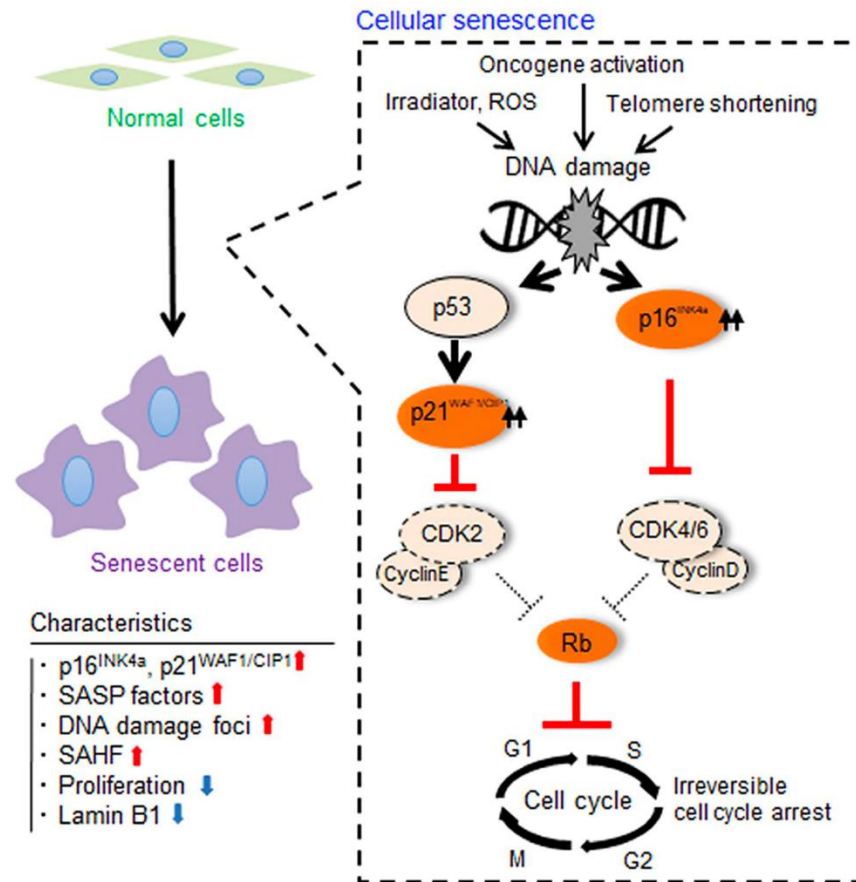


Figura 4: Vías de detención del ciclo celular activadas durante la senescencia. Diversos estresores como irradiación, acortamiento de los telómeros, activación de oncogenes y en incremento de ROS, generan daño en el DNA que induce a la DDR y activa a la vía de p53-p21 y p16, las que inhiben a determinadas proteínas ciclinas dependientes de quinasas inhibidoras de pRb. p53 una vez activada induce la activación de p21, que permite la detención del ciclo celular al inhibir a la ciclina CDK2. p16 también previene la progresión del ciclo celular por medio de la inhibición de las ciclinas CDK4-D y CDK-6. Ambos, p21 y p16, inhiben la inactivación de pRB, encargado de evitar la progresión del ciclo mediante la inhibición de EF2 (no mostrado en la imagen), lo que genera la detención irreversible del ciclo celular en las células senescentes. Además, las células senescentes presentan otras características como disminución de la proteína nuclear Lamin B1, formación de focos de heterocromatina asociada a la senescencia (SAHF), aumento de daño en el DNA e incremento de SASPs (Modificada de Loo y cols., 2020).

El daño en el DNA activa a la senescencia por medio de la señal de DDR, donde participa el factor NFκB, inducido por estrés y permite la generación y la

liberación de SASPs (Chien y cols., 2011; Loo y cols., 2020). El factor NFκB es el principal factor de transcripción que se acumula en la cromatina de las células senescentes y participa en la regulación positiva de los SASPs, promoviendo la liberación de mediadores inflamatorios asociados a senescencia, y por lo tanto, al proceso como tal (Chien y cols., 2011; Loo y cols., 2020). Diversas vías de señalización convergen para activar a NFκB en las células senescentes, entre ellas se cuenta la vía de señalización cGAS/STING (la cual será revisada en extenso más adelante), la vía de la Proteína Kinasa Mitógeno Activado p38 (p38MAPK), el incremento de las ROS, el DNA dañado y la presencia de DNA citoplasmático (Lopes-Paciencia y cols., 2019).

La senescencia celular tiene múltiples desencadenantes y vías de activación, con mecanismos que pueden variar según el tipo de célula y las circunstancias. Los principales mecanismos que se conocen son aquellos involucrados en la “senescencia inducida por daño” (Muñoz-Espín y Serrano, 2014). Los que incluyen subtipos como la “senescencia replicativa o por daño telomérico”, “senescencia inducida por daño en el DNA”, “senescencia inducida por estrés” y “senescencia inducida por oncogenes”, todos relacionados a las ROS (Moiseeva y cols., 2009; Muñoz-Espín y Serrano, 2014; Passos y cols., 2009; Passos y cols., 2007; Rai y cols., 2009). De esta forma, el incremento de las ROS genera daño oxidativo en el DNA lo que activa vías de señalización de la senescencia (Chandrasekaran y cols., 2017; He y Sharpless, 2017; Passos y cols., 2007).

6.1.1 Vías Moleculares de la Senescencia mediadas por ROS

Las ROS inducen a la DDR por medio de la vía de señalización de las Proteínas Kinasas Mitógeno Activado (MAPK) (Figura 5) (Muñoz-Espín y Serrano, 2014; Passos y cols., 2010). Las que inician cascadas de señalización de MAPKK3/MAPKK6 que activa a p38MAPK (Muñoz-Espín y Serrano, 2014; Passos y cols., 2010) (Figura 5). Cuando el daño en el DNA persiste se activa la proteína p16 mediante la vía p38-MAPK, producto de la disfunción mitocondrial y la producción de ROS (Figura 5) (Passos y cols. 2010; Van Deursen, 2014).

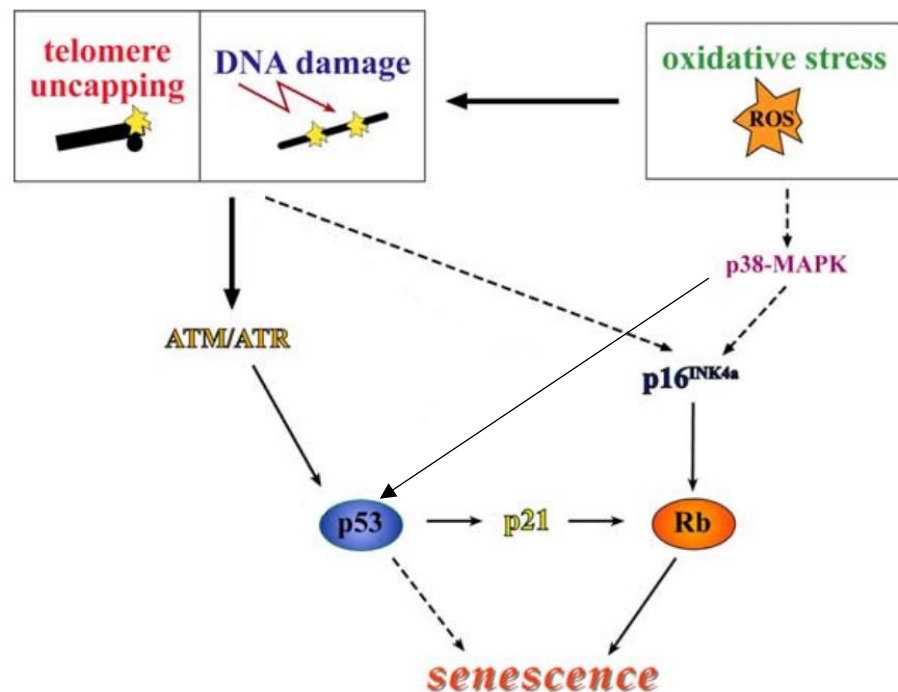


Figura 5: Vía de señalización en respuesta al daño del DNA y activación de la senescencia mediada por ROS. Las ROS generan daño en telómeros y oxidación del DNA, que activa la DDR por medio de la señalización p53 para la detención del ciclo celular. Lo anterior es reconocido por las proteínas sensoras ATM/ATR, las que orquestran una red de señalización al fosforilar proteínas mensajeras que generan la activación de p53. Posteriormente p53 induce la transcripción de p21, quien activa a Rb, y a su vez, Rb activa la senescencia al detener la transcripción de los genes E2F y finalmente la detención del ciclo celular. Las ROS además de activar la DDR por el daño oxidativo del DNA, generan la activación de p53 y p16 para la detención del ciclo celular mediante la vía de la proteína p38MAPK (Modificada de Ben-Porath y Weinberg, 2005).

Las ROS generan daño en el DNA nuclear y mitocondrial produciendo mayor daño a largo plazo, lo que mantiene la detención de la proliferación durante el establecimiento del fenotipo senescente de forma irreversible (Passos y cols., 2010). En este contexto, algunas de las SASPs, como IFN- β , IL-6 y IL-8 inducen a las ROS durante la senescencia, generando la liberación adicional de ROS (Loo y cols., 2020; Takahashi y cols., 2018).

Por último, el incremento de las ROS y el estrés oxidativo generan daño en las células del sistema inmune y producen la activación de la senescencia en estas células, proceso también llamado inmunosenescencia (Macip y cols. 2003; Peters y cols., 2009; Ponnappan y Ponnappan, 2011).

6.2 Senescencia del Sistema Inmune: Inmunosenescencia

El SI se vuelve senescente y su eficiencia para proteger al organismo de agentes internos y externos disminuye considerablemente durante el envejecimiento (Fulop y cols., 2018). La respuesta inmune desregulada y deficiente producto del aumento de la senescencia o detención del ciclo celular, se denomina “Inmunosenescencia” (Fulop y cols., 2018). Las principales características de la Inmunosenescencia comprenden una reducción en la capacidad para responder ante nuevos antígenos, junto con respuestas de memoria inmune alteradas y la activación del *Inflammaging* (Goronzy y Weyand, 2013).

Hoy se considera que la Inmunosenescencia, sería una de las causas de la generación del *Inflammaging* a lo largo de la vida (Franceschi y Campisi, 2014; Fulop y cols., 2018). Varios investigadores han mencionado que la Inmunosenescencia junto con el *Inflammaging* son los principales cambios que experimenta el sistema inmune en el envejecimiento (Campisi y cols., 2019; Fulop y cols., 2018). Estos cambios inducirían patologías como el aumento de infecciones, cáncer, enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas, todas

presentes en un alto porcentaje en la población adulta mayor (Fulop y cols., 2018; Stahl y Brown, 2015).

Dentro de los cambios que experimenta el SI senescente (ver Anexo IV), se destacan las modificaciones que ocurren en monocitos y macrófagos. Estas células disminuyen su capacidad para presentar antígenos, dada la reducción en la expresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II y también en su capacidad fagocítica (Ponnappan y Ponnappan, 2011). Además, los macrófagos aumentan en número en la circulación para suplir la deficiencia en el reconocimiento de patógenos; y su estado de diferenciación, es predominantemente hacia el fenotipo proinflamatorio o M1, donde se observa una mayor liberación de ROS y citoquinas proinflamatorias lo que los convierte en los principales protagonistas y contribuidores del *Inflammaging* durante el proceso de envejecimiento (Bailys y cols., 2013; Fulop y cols., 2015; Nie y cols., 2019). Los macrófagos senescentes liberan SASPs y la acumulación de daño por las ROS, genera una disminución de la autofagia, lo que agrava la inflamación durante este proceso (Nie y cols., 2019).

Durante el envejecimiento y en las células del sistema inmune, adquiere relevancia la activación de vías de señalización gatilladas por estímulos inflamatorios y de estrés, como el daño en el DNA, los que son captados por receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) (Agrawal y Kandimalla, 2019; Xia y cols., 2016).

7. Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRRs) y DNA dañado

Diversos tipos de familias de PRRs se encuentran localizados tanto en la membrana plasmática, como en las membranas de vesículas citoplasmáticas y de endolisosomas (Agrawal y Kandimalla, 2019; Ergun y Li, 2020; Gong y cols., 2020; Rongvaux, 2018; Xia y cols., 2016). Algunos de ellos son los Receptores Tipo Toll (TLRs), receptores de lectina tipo C (CLRs), los receptores tipo genes inducibles del ácido retinoico (RIG-I) (RLRs), receptores tipo dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD) (NLRs) y receptores citosólicos de DNA (CDRs) (Agrawal y Kandimalla, 2019; Ergun y Li, 2020; Rongvaux, 2018; Xia y cols., 2016).

Los PRRs expresados en las células del SI, al reconocer patrones moleculares en los microorganismos, activan cascadas de señalización intracelular para producir la respuesta inmune (Ergun y Li, 2020; Rongvaux, 2018; Xia y cols., 2016). Existe una amplia variedad PRRs, y muchos de ellos convergen en la activación de factores transcripcionales clásicos, como el ya mencionado NFκB y el factor de regulación de interferones 3 (IRF3). El factor IRF3, pertenece a la familia de reguladores de la transcripción de interferones (IRF) conformada por más de 10 tipos, cada uno participa en diversos procesos con efectos biológicos como la inducción de una respuesta frente a patógenos, la señalización de citoquinas, la regulación del ciclo celular y el desarrollo hematopoyético (Nguyen, Hiscott, y Pitha, 1997). Ambos factores NF-κB e IRF3, inducen la síntesis y secreción de moléculas inflamatorias como citoquinas,

quimioquinas e interferones (IFNs), todas moléculas que permiten el reclutamiento de células inmunes, el incremento de la inflamación en el sitio del daño y posteriormente, la regulación de la resolución de la agresión, para permitir la reparación del tejido (Balka y cols., 2020).

El DNA dañado citoplasmático es reconocido como PAMP/DAMP por los PRRs (Ishii y cols., 2006; Paludan y Bowie, 2013; Li y Chen, 2018). Diversas circunstancias de estrés pueden generar la movilización del DNA nuclear o mtDNA al citoplasma. Por ejemplo, durante la mitosis, cromosomas mal segregados pueden exponerse en el citosol, también debido a la ruptura nuclear por defectos en la lámina nuclear, lo que genera micronúcleos, y por último, durante la salida del DNA por alteraciones generadas por el estrés oxidativo que genera fragmentos de cromatina citoplasmática (CCF, por sus siglas en inglés) (Loo y cols., 2020; Takahashi y cols., 2018). Desde la mitocondria, el DNA también puede salir al citoplasma, ya sea por daños en la membrana mitocondrial y por daño en el DNA en condiciones de estrés oxidativo que genera aumento de la Permeabilización de la Membrana Mitocondrial Externa (MOMP) o cuando el proceso de mitofagia se encuentra alterado (Aguirre y cols.; 2017; Loo y cols., 2020; Rongvaux, 2018; Sliter y cols., 2018; West y cols., 2015).

Actualmente se conocen más de diez receptores citosólicos de reconocimiento de DNA, entre los cuales encontramos a la Proteína Ausente en Melanoma 2 (AIM2), a los Factores Reguladores de IFNs Activadores DNA Dependiente (DAI), a la proteína Inducible por Interferón γ 16 (IFI16), a la RNA

Polimerasa III y a la proteína GMP-AMP Sintasa cíclica (cGAS) (Barbalat y cols. 2011; Wu y Chen, 2014; Xia y cols., 2016). Esta última, participa de una vía de señalización llamada vía cGAS/STING, implicada en potenciar la respuesta inmune tras la detección del DNA citoplasmático (Motwani y cols., 2019).

8. Vía de señalización cGAS/STING

La proteína cGAS, se conoce como el sensor universal de reconocimiento de dsDNA citoplasmático (Tao, Zhou y Jiang, 2016; Ablasser y Hur, 2020). cGAS reconoce al DNA propio de la célula cuando se encuentra dañado y fuera de sus compartimientos normales celulares como el núcleo y mitocondria (Hopfner y Hornung, 2020; Motwani y cols., 2019; Wan y cols., 2020) (Figura 6C). cGAS también reconoce al DNA exógeno como dsDNA viral, dsDNA bacteriano, híbridos de DNA: RNA y a los DNA considerados como DAMPS como son el mtDNA, el DNA nuclear (nDNA), el DNA proveniente de tumores circulantes, DNA extracelular ingresado a la célula por exosomas, el DNA propio dañado y oxidado (Ablasser y Hur, 2020; Hopfner y Hornung, 2020; Motwani y cols., 2019; Tao y cols., 2016; Wan y cols., 2020) (Figura 6A). La proteína cGAS es expresada por un amplio espectro de células en el organismo, sin embargo, está presente principalmente en células del SI, como macrófagos y células dendríticas (Hopfner y Hornung, 2020; Wan y cols., 2020).

cGAS durante su estado de reposo se localiza en la membrana plasmática, interaccionando con el lípido 4,5- fosfatidilinositol bifosfato [PI (4,5) P2] (Barnett

y cols., 2019). También cGAS ha demostrado estar presente en el núcleo unido a cromatina (Hopfner y Hornung, 2020; Gentili y cols., 2019). Aquí actúa como regulador negativo de la reparación del DNA dada por Recombinación Homóloga, al interactuar con proteínas reparadoras, de forma de impedir la reparación del DNA, lo que acelera la desestabilización del genoma, la generación de micronúcleos y la muerte celular en condiciones de estrés genómico (Jiang y cols., 2019; Liu y cols., 2018a). cGAS tiene una estructura de cola N terminal, cuyas funciones aún no están esclarecidas del todo, y un dominio que posee actividad de nucleotidil-transferasa (NTasa), el que cataliza la síntesis de 2'3'-cGAMP (o GMP-AMP cíclico o cGAMP) (Civril y cols., 2013; Tao y cols., 2016). Una vez que cGAS se une al DNA, forma un complejo oligomérico para sintetizar a cGAMP (Figura 6C) (Li y cols., 2013).

cGAMP es el segundo mensajero de la vía cGAS/STING y es un dinucleótido cíclico cuya síntesis es dependiente de GTP y ATP (Cai, Chiu y Chen, 2014; Sun y cols., 2013; Tao y cols., 2016). La síntesis de 2',3'-cGAMP se produce de forma secuencial, i) cGAS forma enlaces fosfodiéster 2'-5' entre ATP y GTP para producir el producto intermediario pppG (2'-5')pA, ii) luego induce la formación de enlaces fosfodiéster entre 2'-OH de GMP y 5'-fosfato de AMP y otro entre 3'-OH de AMP y 5'-fosfato de GMP para producir 2',3'-cGAMP (Ablasser y cols., 2013a; Civril y cols., 2013; Tao y cols., 2016; Zhang y cols., 2013).

cGAMP recién sintetizado migra a través del citoplasma y se une a la proteína Estimuladora de Genes de Interferones (STING) (Paludan y Bowie,

2013) (Figura 7C). Además, cGAMP puede viajar entre células (Wan y cols., 2020). Esto ocurre gracias a la presencia de uniones GAP (*GAP junctions*), o uniones de tipo hendiduras, que conectan directamente los citoplasmas de células vecinas y que permiten el intercambio de moléculas pequeñas entre ellas (Figura 6B) (Hopfner y Hornung, 2020). cGAMP también puede ingresar al citoplasma de otra célula por medio del transportador de folato reducido, denominado SLC19A1, localizado en la membrana celular de una célula vecina (Figura 6B) (Ablasser y cols. 2013b; Ritchie y cols., 2019; Wan y cols., 2020). Se ha visto que células dañadas y necróticas pueden liberar cGAMP y de esta manera inducir una señalización paracrina (Hopfner y Hornung, 2020). La transmisión intercelular de cGAMP implica que esta molécula cumple un papel importante en el microambiente celular, de forma de que las células vecinas puedan activar la respuesta inmune mediante la activación de STING, ante una probable infección viral o bacteriana (Hopfner y Hornung, 2020; Ritchie y cols., 2019).

STING (también conocida como ERIS, MITA, MPYS and TMEM173) es una proteína de transmembrana ubicada en el RE que se une a segundos mensajeros como cGAMP y otros dinucleótidos cíclicos (CDNs) de origen bacteriano, como GMP dicíclico (CFG) y AMP dicíclico (CDA) (Burdette y cols., 2011; Dey y cols., 2015; Jin y cols., 2008; Jin y cols., 2011; Sun y cols., 2009; Shu y cols., 2012). En el estado de reposo STING se encuentra anclado a la membrana del RE (Srikanth. y cols., 2019). Una vez activado, migra al Golgi donde se asocia a la

proteína quinasa de unión a TANK 1 (TBK 1), la cual fosforila a STING y permite el reclutamiento del Factor Regulador de Interferones 3 (IRF3) y de la Kinasa Inhibidora de I κ B (IKK) (Figura 6C) (Abe y Barber, 2014; Ablasser y Hur., 2020; Cai y cols., 2014; Li y Chen, 2018; Montwani y cols., 2019; Wan y cols., 2020). STING en su estado inactivo, se mantiene autoinhibido en su cola C-terminal (CCT, por sus siglas en inglés), la cual se libera al unirse con el ligando para interactuar con TBK1 e IRF3 (Ergun y Li, 2020; Hopfner y Hornung, 2020; Zhang y cols., 2019). Además, posee un dominio de unión a ligando (LBD, por sus siglas en inglés) que permite la formación de dímeros unidos por puentes disulfuros en forma de V, es decir, presenta una configuración de dímeros “abiertos” con un sitio de unión para CDNs localizado en el fondo de la interface de los dímeros, el que se cierra tras unirse a cGAMP (Shu y cols., 2012; Hopfner y Hornung, 2020). Para la activación de STING es necesario que experimente palmitoilación, es decir, la adición de ácido palmítico en sus residuos de cisteína cercanos a los dominios de transmembrana, lo que facilita su oligomerización en el Golgi, para producir una transducción de señales máxima (Figura 6C) (Mukai y cols., 2016; Wan y cols., 2020; Hopfner y Hornung, 2020).

IRF3 una vez fosforilado forma un homodímero que transloca al núcleo y activa genes que codifican para IFN I, entre los que se destacan a IFN- α e IFN- β (Figura 6C) (Wan y cols., 2020). IFN α y IFN β , son parte de la familia de IFNs I y son citoquinas efectoras de la respuesta inmune del hospedero contra infecciones virales, además de presentar propiedades inmunomoduladoras

(González-Navajas y cols., 2012). Los IFN α y β al unirse y activar al receptor de IFN 1 y 2 (IFNAR 1-2), generan una señalización de tipo autocrina y paracrina (Gao y cols., 1998). Este complejo IFNR 1-2 activa a la proteína Janus quinasa (JAK) y el activador de la transcripción (STAT). Cuando JAK/STAT se activan, río abajo se induce la transcripción de los genes estimulados por los IFNs (ISGs). Los ISGs, una vez sintetizados tienen como función evitar la replicación, el ensamblaje y la liberación viral desde el interior de las células infectadas, además, de potenciar la respuesta inmune innata y adaptativa antiviral (Crosse y cols., 2018; Schneider, Chevillotte y Rice, 2014; Schoggins, 2019).

Por otro lado, TBK1 también fosforila a la kinasa de I κ B, para que I κ B, que mantiene secuestrado a NF κ B, sea degradado mediante proteosoma (Figura 6C). Así, NF κ B queda libre para viajar al núcleo e inducir la transcripción de una amplia variedad de genes asociados al proceso inflamatorio como son las citoquinas proinflamatorias TNF- α , IFN I, IL-1 β e IL-6, entre otras (Figura 6C) (Abe y Barber, 2014; Ablasser y Hur, 2020; Cai y cols., 2014; 2017; Hopfner y Hornung, 2020; Li y Chen, 2018; Wan y cols., 2020).

Ambos IRF3 y NF κ B, son necesarios para generar la expresión INF I (Dunphy y cols., 2018). Cuando cGAS reconoce DNA exógeno y activa río abajo a STING, se considera una activación de tipo canónica, lo que resulta en una respuesta inmune antiviral preferente mediada por IRF3 (Dunphy y cols., 2018). Por otro lado, cuando se produce daño en el DNA nuclear, específicamente el quiebre del dsDNA, STING forma un complejo con la p53 y la proteína inducible

de interferón gamma 16 (IFI16), en el núcleo. Esta activación representa una vía independiente de cGAS considerada vía no canónica de activación de STING (Dunphy y cols., 2018). Esta activación no canónica induce la activación rápida de NFκB (en cuestión de horas), lo que conlleva a una respuesta inflamatoria con la expresión de una gran variedad de citoquinas y quimioquinas (Dunphy y cols., 2018).

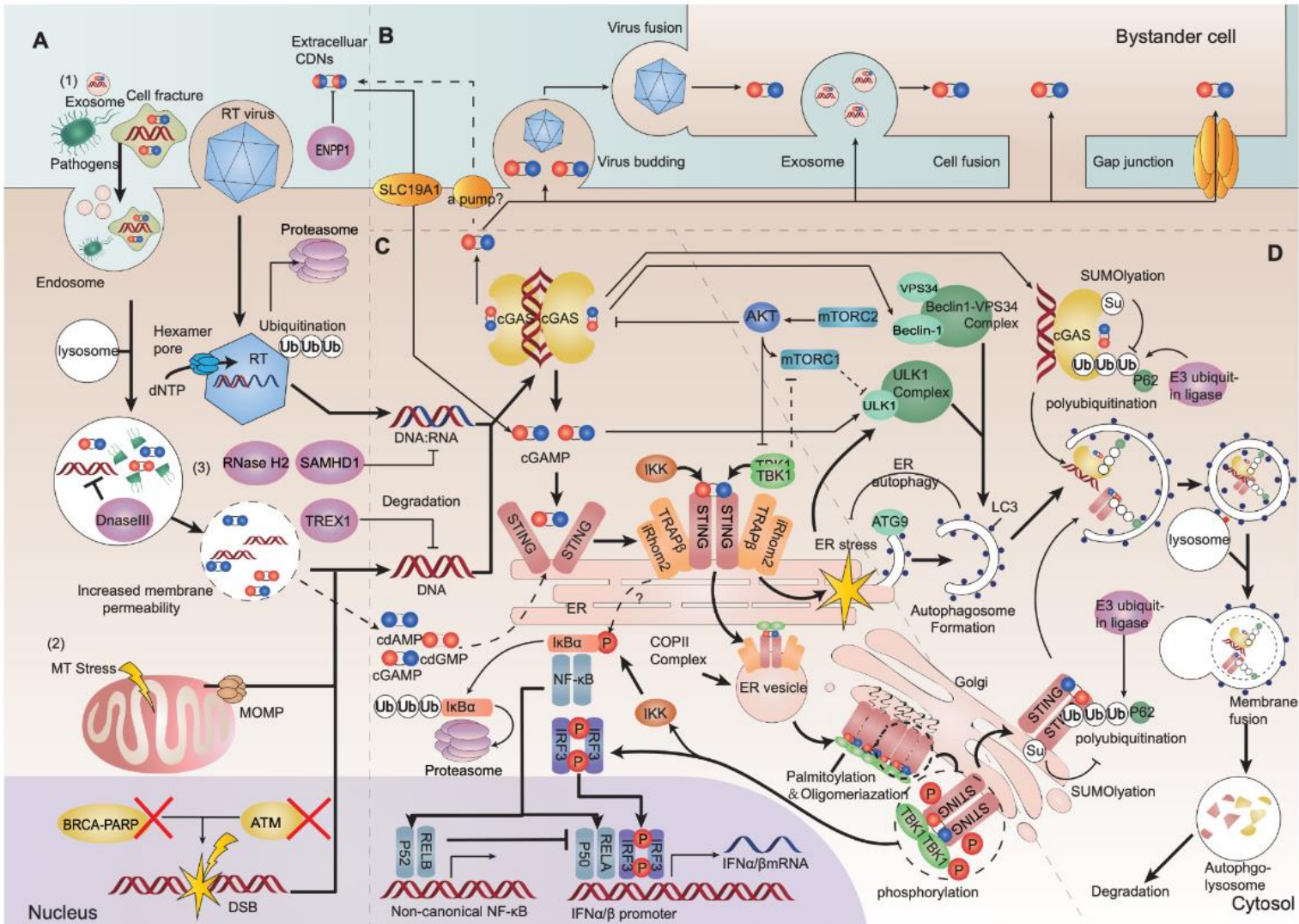


Figura 6: Mecanismos de activación y regulación de vía de señalización cGAS-cGAMP-STING. (A) Fuente de DNA citoplasmático: (1) El DNA puede provenir desde fuentes externas como DNA patógeno y viriones (y ser ingeridas para su digestión en endolisosomas, los que pueden liberarlo al citosol) (2) Por otro lado, el DNA puede provenir desde fuentes intrínsecas como el DNA propio dañado, que es liberado al citoplasma tras daño del DNA nuclear y/o DNA mitocondrial. Este último se desplaza al citoplasma tras la permeabilización de la membrana externa mitocondrial durante el estrés mitocondrial, lo que puede liberar DNA oxidado (3) Las DNAsas como TREX1, DNasa II, DNasa III y SAMHD1 degradan DNA y limitan su reconocimiento por los sensores de DNA citoplasmáticos. (B) cGAMP puede ser transferido entre células vecinas por diversos mecanismos, entre ellos, vesículas extracelulares y por uniones GAP intercelulares. Además, diversos CDNs (incluidos cGAMP) pueden ser exportados por el transportador de folato reducido o SLC19A1. cGAMP puede ser hidrolizado por el

ectonucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa miembro de la familia 1 (ENPP1). (C) La vía de señalización cGAS/STING, se activa con el reconocimiento del DNA citoplasmático dado por cGAS, el que produce al segundo mensajero cGAMP. Posteriormente, cGAMP se une a STING quien se dimeriza y sale del RE hacia el Golgi. STING experimenta una oligomerización y palmitoilación y luego se une a TBK1 para formar un complejo. Luego TBK1 fosforila de forma paralela a IRF3 y a I κ B kinasa (IKK). IKK fosforila al inhibidor de NF κ B (I κ B), para generar la liberación de NF κ B. Posteriormente, ambos factores de transcripción, IRF3 y NF κ B traslocan al núcleo y generan la transcripción de IFN I y citoquinas inflamatorias, respectivamente (D) La degradación de cGAS y STING se genera tras la formación de un autofagosoma mediado por proteínas Beclin-1 y ULK1: cGAS tras ser activada es inhibida por proteínas como AKT y Beclin-1. Por otro lado, STING tras ser activado, induce estrés del RE y la activación de ULK1. ULK1 junto a Beclin-1 inician la formación del autofagosoma donde serán degradados cGAS y STING, los que sufren sumoilación y poliubiquitinización previamente (las flechas en negrita representan las principales vías de señalización, las flechas más delgadas representan las vías de señalización reguladoras y las flechas discontinuas representan vías de señalización alternativas o no confirmadas) (Modificada de Wan y cols., 2020).

8.1 Mecanismos de regulación de la vía de señalización cGAS/STING

Normalmente la vía de señalización cGAS-cGAMP-STING es regulada por disponibilidad del ligando, interacciones de proteína-proteína, modificaciones transcripcionales y degradación de cGAS y STING (Motwani y cols., 2019).

Para regular la disponibilidad del DNA, la compartimentalización del DNA en el núcleo o en la mitocondria, es esencial para prevenir la activación de cGAS frente al DNA propio y evitar la posibilidad de desarrollar autoinmunidad (MacKenzie y cols., 2017; Roers, Hiller y Hornung y cols., 2016). La disponibilidad del DNA también es regulada por la presencia de DNAsas, que se localizan en distintos compartimentos subcelulares. Por ejemplo, la DNAsa I se ubica de forma extracelular, la DNAsa II, dentro del fagolisosoma y la DNAsa III (también conocida como TREX1) se localiza en el citoplasma (Takahashi y cols., 2018; Motwani y cols., 2019) (Figura 6A). Cuando se genera una deficiencia en

estas DNAsas, el DNA dañado se acumula en el citoplasma y se activa la vía cGAS/STING (Lan y cols., 2014; Motwani y cols., 2019; Stetson y cols., 2008; Takahashi y cols., 2018). Por otro lado, la ausencia de DNAsas junto a la activación aberrante de la vía cGAS/STING se ha relacionado con diversas enfermedades autoinmunes o autoinflamatorias, tales como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, vasculopatía inflamatoria (*STING-associated vasculopathy with onset in infancy* o SAVI) y diversas interferonopatías (Yan, 2017) (para mayor detalle de estas patologías revisar review de Motwani y cols., 2019). Las enfermedades autoinmunes o autoinflamatorias mencionadas cursan con incremento en el reconocimiento del DNA citoplasmático, aumento de inflamación crónica y/o inmunosenescencia, lo que implica una contribución del *inflammaging* durante su patogenia (Bauer M. 2020; Benmerzoug y cols, 2019; Rezus y cols, 2018; Tsai y cols., 2019; Yan, 2017).

La activación/desactivación de la señal de la vía cGAS/STING se genera mediante interacciones proteína-proteína y modificaciones postranscripcionales, que regulan la actividad, la estabilidad y/o la localización de cGAS y STING (Motwani y cols., 2019). Dentro de los reguladores positivos de la vía, encontramos por ejemplo, a la palmitoilación de STING y también su interacción con IFI16, ambas potenciando su activación (Motwani y cols., 2019). Dentro de los reguladores negativos de la vía, se encuentra por ejemplo, la acetilación de cGAS (incorporación de un grupo acetilo) y la interacción con caspasas proapoptóticas 3, 7 y 9, lo que genera su corte e inactivación (Dai y cols., 2019;

Ning y cols., 2019; Rongvaux y cols., 2014). Por otro lado, cGAMP también es regulado negativamente por la fosfodiesterasa ENPP1, la que genera la ruptura de enlaces fosfodiester y disminuye los niveles de cGAMP (Motwani y cols., 2019).

La degradación de cGAS y STING se realiza por medio de la autofagia, (Figura 6.D) (Wan y cols., 2020). Ambos son ubiquitinizados y empaquetados en autofagosomas para ser digeridos en autofagolisosomas luego de que son activados (Motwani y cols., 2019). La autofagia funciona como un circuito de retroalimentación negativa que asegura la señalización transitoria de cGAS-STING y evita la sobreractivación de la vía (Motwani y cols., 2019).

Por otro lado, el papel de la vía cGAS/STING es fundamental para la supervivencia de la célula en condiciones de daño en el DNA, debido a que participa regulando en procesos como la senescencia y MCR (ver anexo V) (Li & Bakhoun, 2019; Wan et al., 2020). Además, potencia la respuesta inmune inflamatoria desde estas células.

8.2 Relación de la vía cGAS/STING en la activación de la senescencia e inflamación

cGAS/STING es un eje importante en las respuestas de senescencia celular e inflamación tras el reconocimiento del DNA propio que ha sido dañado (Hopfner y Hornung, 2020; Dou, y cols., 2017; Loo y cols., 2020; Rodier y cols., 2009; Takahashi y cols., 2018). La activación de la vía cGAS/STING genera el enlace

molecular entre el daño del DNA nuclear o mitocondrial, la activación de la senescencia y el incremento de la respuesta inflamatoria en estas células (Benmerzoug y cols., 2019; Li y Chen, 2018). Los SASPs liberados desde las células senescentes inducen de forma autocrina y paracrina la detención del ciclo celular por la señalización p53-p21, en respuesta a la activación de la vía cGAS/STING que genera incremento de la expresión de NFκB (Dou y cols., 2017; Glück y cols., 2017; Li y Bakhoum, 2019; Yang y cols., 2017). El incremento de las SASPs por la vía la activación de la vía cGAS/STING se ha visto que es necesaria para el desarrollo del fenotipo senescente (Nazmi y cols., 2019; Loo y cols., 2020; Glück y cols., 2017; Dou, y cols., 2017; Yang y cols., 2017). Según los hallazgos de Glück y cols. (2017), la activación de la vía cGAS/STING es un mecanismo necesario para la inmunosenescencia, ya que la senescencia desencadenada por las ROS no se produce cuando hay deficiencia de la vía cGAS/STING, por lo que se requiere de la activación de esta vía para la activación de la senescencia.

Por otro lado, las ROS además de participar de vías que activan a la senescencia, generan daño oxidativo que activa a la vía cGAS/STING.

9. Activación de la vía de señalización cGAS/STING por el reconocimiento de DNA oxidado en células senescentes

La acumulación de daño irreparable del dsDNA nuclear y mitocondrial en las células senescentes se relaciona al daño oxidativo (Loo y cols., 2020; Muñoz-Espín y Serrano, 2014; Passos y cols., 2010; Rai y cols., 2009; Sedelnikova, y cols. 2004). Se ha demostrado la presencia incrementada de 8-hidroxiguanosina (8-OH-dG), principal lesión oxidativa del DNA, en células senescentes (Rai y cols., 2009; Chen y cols., 1995; Kaneko y cols., 2001; Sedelnikova, y cols. 2004). El DNA dañado y oxidado tiende a localizarse en el citoplasma de las células senescentes debido a que existe una disminución de Lamin B1, lo que facilita la salida del DNA nuclear hacia el citoplasma (Kuilman y cols., 2010; Loo y cols., 2020). Además, en éstas células senescentes se facilita la acumulación del DNA oxidado en el citoplasma debido a alteraciones en las funciones de nucleasas degradadoras de DNA y debido a que el DNA oxidado es más resistente a la degradación por las nucleasas (Gehrke y cols., 2013; Takahashi y cols., 2018). De esta forma, el DNA oxidado funciona como DAMP y es reconocido por la vía cGAS/STING (Chen, Zhou y Min, 2018; Gehrke y cols., 2013; Lei, Guerra y West, 2018; (Loo y cols., 2020; Takahashi y cols., 2018). Se ha observado que 8-OH-dG es un potente activador de la vía cGAS/STING (Gehrke y cols., 2013).

La vía cGAS/STING desempeña un papel indispensable en la activación de la senescencia celular en respuesta al estrés oxidativo (Li y Chen, 2018; Glück

S. y cols., 2017). Lo anterior, ya que en células senescentes la señalización de la vía cGAS/STING genera el incremento de la expresión de genes inflamatorios por NFκB y IRF3, ambos inductores de SASPs como IL-6, IL-8 e IFN I, que inducen y mantienen el fenotipo senescente (Dou, y cols., 2017; Loo y cols., 2020; Rodier y cols., 2009; Takahashi y cols., 2018). Además, los SASPs inducen el incremento de ROS intracelulares en estas células (Brauer y cols., 2010; Li y Chen, 2018; Loo y cols., 2020; Takahashi y cols., 2018; Yang y cols., 2017). Los mayores niveles intracelulares de las ROS generan daño oxidativo en el DNA y producen un *feedback* positivo sobre la activación de la vía cGAS/STING y sobre la DDR, lo que genera la detención del ciclo celular y la activación de la senescencia (Figura 7) (Brauer y cols., 2010; Moiseeva y cols., 2006; Li y Chen, 2018; Loo y cols., 2020; Takahashi y cols., 2018).

cols., 2007). Estos CCF generan la activación de la vía cGAS/STING y la liberación de SASPs, los que nuevamente inducen al incremento de ROS y generan un *loop* que potencia la activación de la senescencia (Figura 8) (Lei, Guerra y West, 2018; Gehrke y cols., 2013; Chen, Zhou y Min, 2018).

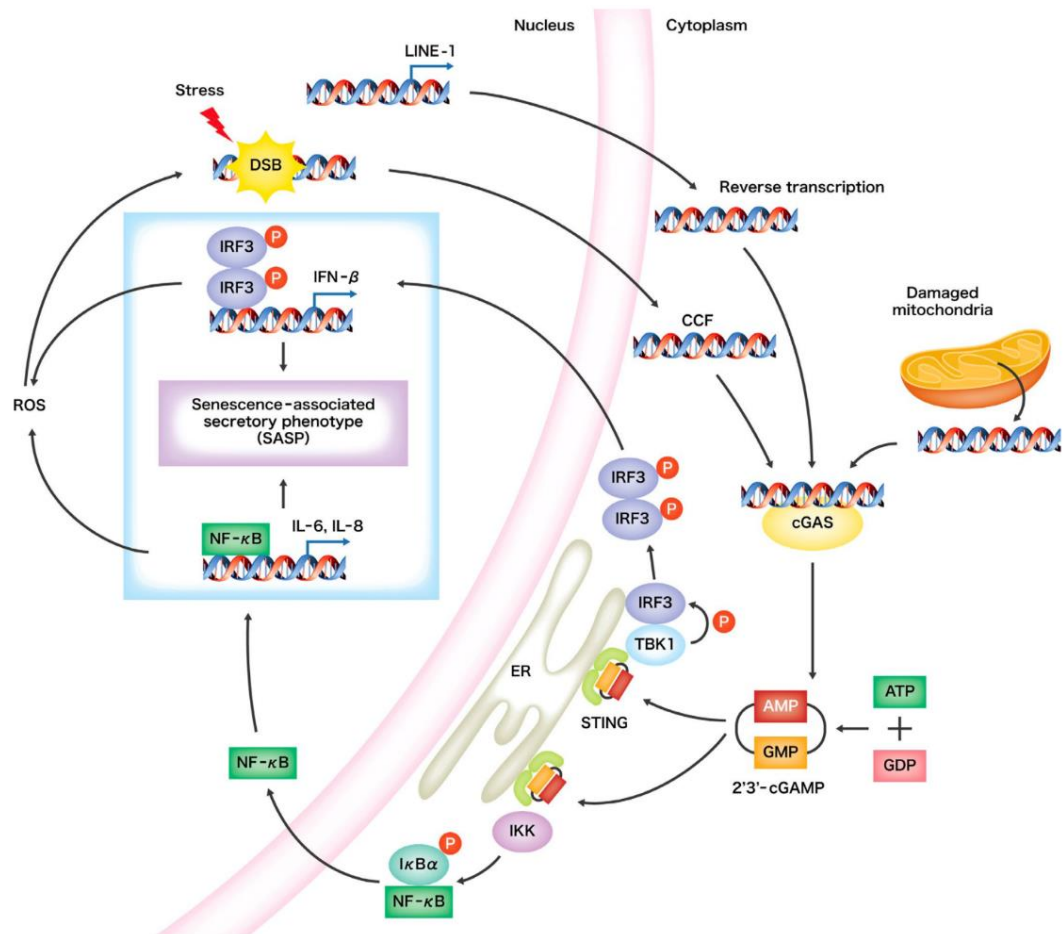


Figura 8: Daño oxidativo del DNA nuclear y mitocondrial y la vía cGAS-STING en la regulación de los fenotipos secretorios asociados a la senescencia (SASPs). Las ROS producen la ruptura del dsDNA y generan la acumulación de CCF en las células senescentes, las que son reconocidas por cGAS para generar al segundo mensajero GMP-AMP cíclico o 2'3'- cGAMP, desde ATP y GTP. 2'3'- cGAMP se une a STING y lo activa para la traslocación al núcleo de los factores de transcripción IRF3 y NF-κB, los

que inducen la expresión de SASPs (IFN- β , IL-6 e IL-8, entre otros), que aumentan las ROS y generan un *loop* de retroalimentación positiva que perpetúa el daño oxidativo, la secreción de los SASPs y la activación de la senescencia en el tiempo. Además, el DNA oxidado puede provenir desde mitocondrias dañadas, que permiten la fuga del mtDNA hacia el citoplasma y activar a la vía cGAS/STING con el mismo efecto descrito anteriormente (Modificada de Loo y cols., 2020).

A pesar de lo expuesto, los mecanismos moleculares que describen la relación entre los ROS y la vía de señalización cGAS/STING y cómo se regulan en el *Inflammaging*, no están aún esclarecidos.

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS FUTURAS

La tendencia mundial al envejecimiento genera la necesidad de comprender este proceso para desarrollar estrategias que mejoren los tratamientos de las enfermedades relacionadas a la edad (WHO, 2011). En este sentido es fundamental estudiar el envejecimiento de los sistemas reguladores de la homeostasis del organismo, entre los cuales se encuentra el sistema inmune (De la Fuente y Miquel, 2009). El sistema inmune desregulado contribuye a la generación del *Inflammaging*, estado en que produce una respuesta inflamatoria crónica y el aumento de moléculas oxidativas, que incrementa el daño al DNA y la acumulación de células dañadas en los tejidos (Bauer y Fuente, 2016). En este proceso adquieren un importante papel los macrófagos, los que son los principales productores de citoquinas proinflamatorias y de ROS en el

Inflammaging, tras el reconocimiento de DAMPs como el DNA dañado (Franceschi y cols., 2000).

Durante el envejecimiento se genera el aumento de células dañadas por el incremento de las ROS desde fuentes intracelulares como mitocondrias y *burst oxidativo*, lo que se traduce en un desbalance del equilibrio redox, que conlleva a daño oxidativo del DNA (Evans y cols., 2004; Sies y Jones, 2020). El DNA que no se ha podido reparar genera una respuesta al daño en el DNA, donde se gatillan vías de señalización para la detención del ciclo celular y la activación de la senescencia (Figura 9.14) (Loo y cols., 2020). En las células senescentes se genera la liberación de SASPs, los que promueven un microambiente inflamatorio e inducen mayor generación de ROS en las células vecinas, amplificando la senescencia, daño oxidativo y la inflamación crónica en el tejido (Figura 9.11-13) (Chien y cols., 2011; Loo y cols., 2020; Takahashi y cols., 2018). Dentro de los reguladores positivos de los SASPs se encuentra la vía de señalización cGAS/STING, la cual se activa tras el reconocimiento del DNA oxidado en el citoplasma (Dou y cols., 2017; Glück y cols., 2017; Loo y cols., 2020; Yang y cols., 2017). La vía cGAS/STING se expresa particularmente en células presentadoras de antígenos, como macrófagos, donde es activada en respuesta al DNA citoplasmático para aumentar la inmunidad innata y adaptativa de forma transitoria (Hopfner y Hornung, 2020).

El incremento de las ROS produce daño oxidativo del DNA lo que gatilla la activación de la senescencia celular, por medio de diversos mecanismos: daño

oxidativo que activa a la DDR (Figura 9.14), la vía de p38 MAPK (Figura 9.15), y la activación de la vía de señalización cGAS/STING (Figura 9.5) (Li y Chen, 2018; Glück y cols., 2017). Las ROS cumplen un papel importante en la activación de la vía cGAS/STING durante el envejecimiento, ya que aumentan la formación de productos de oxidación del DNA nuclear y mitocondrial, los cuales son reconocidos por cGAS, generando la activación río debajo de la vía (Chen y cols., 2018b; Gehrke y cols., 2013; Lei y cols., 2018).

En esta revisión proponemos que la vía de señalización cGAS/STING desempeña un papel fundamental en la regulación del *Inflammaging*, cuando se produce daño oxidativo en el DNA por incremento de las ROS (Figura 9). Creemos que el entendimiento de los mecanismos moleculares de la vía cGAS/STING y las ROS y como se coordinan, es fundamental para lograr esclarecer una parte importante del proceso de envejecimiento. Sugerimos la probable existencia de un *loop* positivo entre la activación de la vía cGAS/STING y el incremento de las ROS durante el *Inflammaging*: la vía cGAS/STING activa senescencia e incrementa la inflamación, por medio de la liberación de los SASPs (Figura 9.11), lo que induce a las ROS y aumenta el daño oxidativo en el DNA (Figura 9.2). Sin embargo, y a pesar de que tanto la senescencia como el aumento de estrés oxidativo, son característicos del *Inflammaging*, no existe información clara sobre el papel que desempeña la vía cGAS/STING durante el proceso de envejecimiento y su relación con el aumento de las ROS.

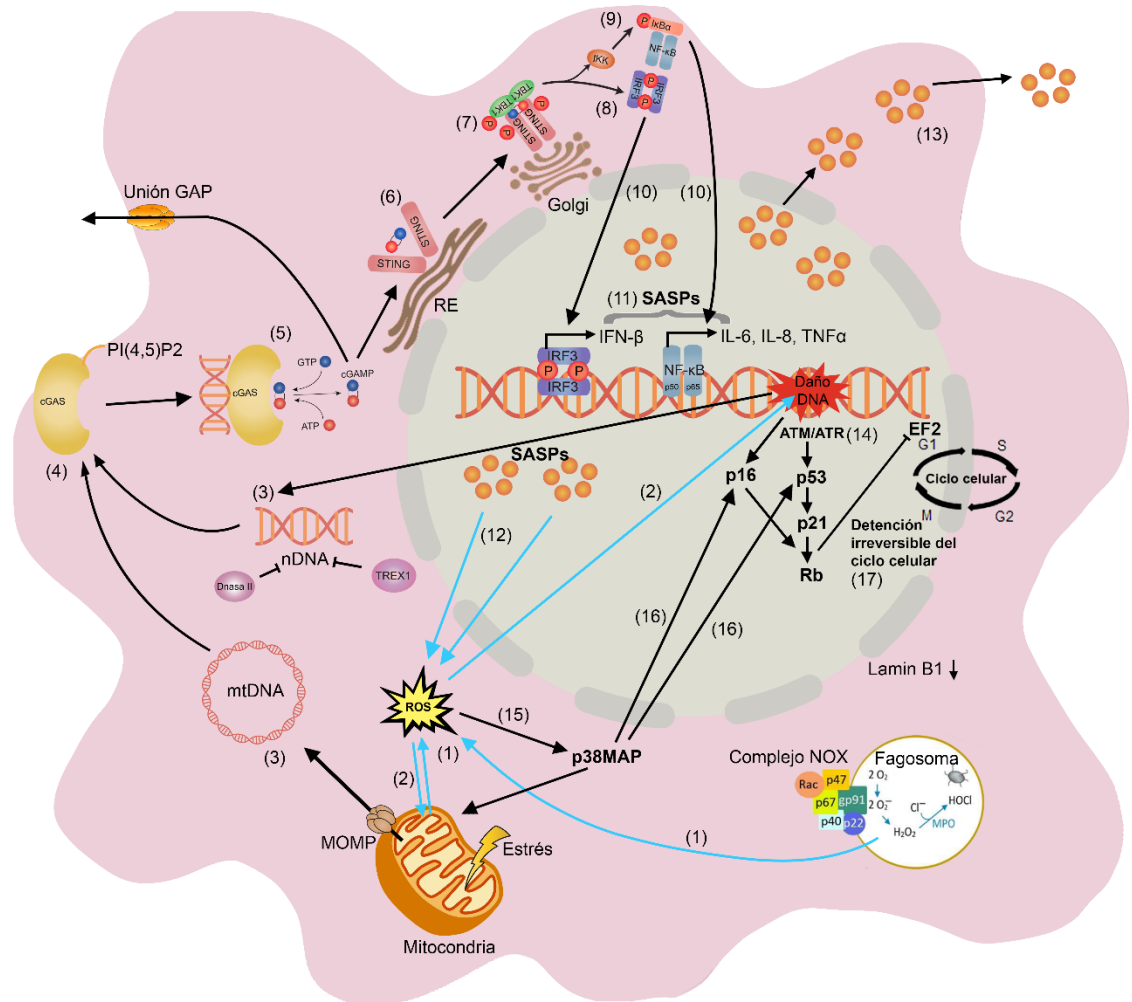


Figura 9: Relación propuesta entre la vía de señalización cGAS/STING y las ROS durante el Inflammaging en el macrófago senescente. (1) Se genera incremento en la producción de ROS desde mitocondrias y burst oxidativo (2) Las ROS inducen daño en el DNA mitocondrial y nuclear (3) El mtDNA dañado se localiza en el citoplasma celular, desplazándose desde el interior de mitocondrias debido al aumento en la Permeabilización de la Membrana Mitocondrial Externa (MOMP) y el DNA nuclear se desplaza desde el núcleo al citoplasma, debido a la disminución de la proteína estructural Lamin B1. Además, se genera la acumulación del DNA en el citoplasma por alteraciones en la función de las enzimas degradadoras, DNasa II y TREX1 (4) La proteína sensora cGAS reconoce al DNA nuclear y mitocondrial en el citoplasma (5) Tras la unión con el DNA, cGAS se activa y produce 2'3'cGAMP a partir de GTP y ATP. cGAMP tiene la capacidad de salir de la célula e ingresar a otra célula vecina por medio de uniones GAP para activar a la señalización de STING en el tejido (6) cGAMP se une a STING en el RE y STING se desplaza al Golgi (7) STING forma un complejo con TBK1 quien lo

fosforila (8) TBK1 genera la fosforilación paralela de IRF3 y de IKK (9) IKK fosforila a I κ B y NF κ B queda libre (10) IRF3 y NF κ B traslocan al núcleo (11) IRF3 y NF κ B inician la transcripción de IFN β y IL-6, IL-8 y TNF α , respectivamente, los que en conjunto forman parte de los SASPs (12) Los SASPs inducen el incremento de las ROS, quienes aumentan el daño oxidativo del DNA, generándose un *loop* de retroalimentación positiva sobre la activación de la vía cGAS/STING (13) Los SASPs liberados en la célula son capaces de llegar a células vecinas para inducir la senescencia, inflamación y las ROS en el tejido (14) El daño en el DNA induce la DDR, con activación de p53-21 y p16 para inducir a Rb (15) Las ROS inducen la vía de señalización de MKK3/MKK6 (no mostrada) para la activación de p38 MAPK (16) p38 MAPK activa a p53 y a p16 para la inducción de Rb (17) Rb genera la inhibición del factor EF2, lo que produce la detención irreversible del ciclo celular y activación de la senescencia.

Las ROS generan una regulación de la activación de la vía cGAS/STING durante la senescencia. En células senescentes sometidas a estrés oxidativo se genera un incremento en los niveles de IFN I, el que se produce por la activación de la vía de señalización cGAS/STING (Chen y cols., 2018b; Gehrke y cols., 2013; Lei, Guerra y West, 2018). En contraste a estos resultados, recientemente se ha encontrado que el incremento de ROS durante la infección viral por herpesvirus genera la oxidación de de STING en cisteína 187 de humano, lo que provoca la inhibición de la polimerización de STING y su activación (Tao y cols., 2020). De esta forma, se encontró que en este caso las ROS intervienen regulando negativamente a la vía cGAS/STING y la respuesta antiviral inducida por IFN I, lo que podría ser aprovechado por el virus para evadir la inmunidad (Tao y cols., 2020). En línea con estos hallazgos, una investigación reciente demostró que la disminución del estrés oxidativo por la acción de antioxidantes se relaciona con la mayor activación de la vía cGAS/STING, asociada al menor daño oxidativo en los lípidos de membrana celular (lipoperoxidación) (Jia y cols.,

2020). En este estudio se observó que para la activación de la vía cGAS/STING es necesaria la enzima antioxidante Glutathión Peroxidasa 4 (GPX4) (Jia y cols., 2020). GPX4 tiene como función proteger a la célula de la lipoperoxidación, y cuando se encuentra inactivada, se genera la formación de productos de la lipoperoxidación que llevan a la carbonilación de STING (modificación oxidativa de las proteínas) en C88, lo que inhibe la palmitoilación de STING e impide su activación y por lo tanto, los efectos río abajo de la vía (Jia y cols., 2020). La inhibición de STING y de la respuesta antiviral nuevamente es aprovechada por el virus del herpes simple 1 para su replicación (Jia y cols., 2020). Cabe mencionar que estos descubrimientos tienen relación con la respuesta inmune antiviral frente a infección por virus y no son realizados en células senescentes en condiciones de estrés oxidativo, no consideran la regulación de la vía en cuanto al incremento de la respuesta inflamatoria como lo que sucede en el envejecimiento, contexto en el cual sería beneficiosa la disminución de la vía cGAS/STING para prevenir el *loop* de inflamación, estrés oxidativo y senescencia celular. No obstante, lo anterior permite abrir una ventana no explorada respecto a la modulación de la vía cGAS/STING mediante la acción de las defensas antioxidantes, las cuales regulan la homeostasis redox. Por ejemplo, se ha demostrado que el Factor Nuclear derivado de Eritroide 2 (Nfr2), involucrado en la desintoxicación de las ROS a través de la transcripción de genes de enzimas antioxidantes, suprime la expresión de STING y regula negativamente la respuesta antiviral (Olagnier y cols., 2018). De acuerdo a lo anterior, la

potenciación de las defensas antioxidantes sería interesante como tratamiento complementario de enfermedades relacionadas a la sobreactivación de la vía, como enfermedades autoinmunes y autoinflamatorias. En el envejecimiento las defensas antioxidantes se encuentran disminuidas, el estrés oxidativo incrementado y la vía potencialmente sobre activada, según lo propuesto en esta revisión, por lo que adquiere mayor relevancia el estudio de la homeostasis redox y su control sobre la vía cGAS/STING para determinar nuevas estrategias terapéuticas durante el envejecimiento.

Estos hallazgos en conjunto comienzan a dilucidar el papel que desempeñan las ROS en la activación de la vía cGAS/STING y la respuesta antiviral dependiente del incremento de IFN I durante la senescencia y la infección por herpesvirus. No obstante y a pesar de que es conocido que la vía cGAS/STING regula la senescencia inducida por estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, actualmente no existen estudios que comprueben esta relación durante el *Inflammaging* o el envejecimiento. Durante los últimos años el entendimiento de los mecanismos moleculares de la vía cGAS/STING con fines terapéuticos ha sido gran motivo de interés (Hou y cols., 2020) (ver Anexo VI). Sin embargo no consideran la potencial contribución de la vía cGAS/STING en senescencia e inflamación durante el envejecimiento (Wan y cols., 2020). Es por esto que nuestro laboratorio está analizando la vía cGAS/STING para demostrar su importancia el *Inflammaging*. En este sentido, se espera encontrar que la vía cGAS/STING esté sobreexpresada, debido a la mayor exposición del DNA en el

citoplasma y acumulación de células senescentes con daño oxidativo incrementado, por lo cual la atenuación de la vía podría ser un blanco terapéutico importante para regular los SASPs y de esta forma disminuir la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo durante el envejecimiento en células senescentes del sistema inmune. Además, la modulación de la vía cGAS/STING podría contribuir en enfermedades inflamatorias crónicas relacionadas con la edad y en terapias contra el cáncer, complementando drogas senolíticas, las que inducen muerte celular específica en células senescentes y atenúan la producción de SASPs.

Finalmente, se requieren mayores investigaciones experimentales que determinen la relación de la vía cGAS/STING y el incremento de las ROS durante el *Inflammaging* con el fin último de establecer bases para futuras investigaciones experimentales orientadas a obtener nuevas estrategias terapéuticas, que permitan intervenir en el proceso de envejecimiento y patologías asociadas, como el envejecimiento prematuro, enfermedades inflamatorias, autoinmunes y cáncer. Todo ello con el fin último de mejorar la salud y la calidad de vida del adulto mayor.

CAPÍTULO V: ANEXOS

ANEXO I: INMUNIDAD INNATA

Dentro de las células de la inmunidad innata encontramos a las células fagocíticas o fagocitos tienen como principal función identificar, fagocitar y destruir a los microorganismos o agentes (Abbas y cols., 2012). Los neutrófilos son fagocitos que realizan el reconocimiento, fagocitosis y lisis de microorganismos en cosa de segundos. Frente a una infección liberan sustancias tóxicas como las ROS y se autodestruyen, en un proceso que contempla la liberación de todo su contenido intracelular como es el DNA, para formar inmensas redes, denominadas Trampas Extracelulares de Neutrófilos (o NETs), en un proceso denominado NETosis (Manda-Handzlik & Demkow, 2015). Las células dendríticas (DC, por sus siglas en inglés), son capaces de fagocitar patógenos y junto a los macrófagos, son el vínculo con la inmunidad adaptativa para generar respuestas específicas, mediante la presentación antigénica (Iwasaki & Medzhitov, 2015; Satthaporn & Eremin, 2001; Ventura et al., 2017). Por otro lado, otras células que pertenecen al SI innato son las células *Natural Killer* o (NK). Las NK corresponden a un tipo de linfocito citolíticos, que realizan la eliminación de las células infectadas o dañadas por virus y células tumorales, mediante la secreción de sustancias citotóxicas (como las ROS), durante la respuesta inicial innata (Abbas et al, 2012).

ANEXO II: INMUNIDAD ADAPTATIVA

Las células de la inmunidad adaptativa se dividen en dos según el tipo de respuesta: la inmunidad humoral e inmunidad celular. En la primera, los componentes principales que participan son los anticuerpos, producidos por las células plasmáticas y expresados por los linfocitos B (Abbas et al, 2012). Los anticuerpos reconocen específicamente al antígeno, sustancias no propias (proteínas, polisacáridos, glicoproteínas) provenientes del agente extraño, con el fin de marcar estas moléculas expresadas en el patógeno, para permitir la eliminación de éstos por parte de células efectoras (Abbas et al, 2012). En la segunda, se distinguen dos tipos de linfocitos: los linfocitos T cooperadores (o $CD4^+$) y linfocitos T citotóxicos (o $CD8^+$). Durante la respuesta inmune celular, los linfocitos T $CD4^+$ activan a los macrófagos y otras células de la respuesta innata para que reconozcan y fagociten a los patógenos y también, a los linfocitos T $CD8^+$, los que destruyen a las células infectadas (Abbas et al, 2012).

La inmunidad adaptativa se activa luego de la presentación antigénica o sinapsis inmunológica, proceso donde células denominadas presentadoras de antígeno o CPA (correspondientes a macrófagos o dendríticas) interactúan con linfocitos T $CD4^+$ y T $CD8^+$ para la detección de los antígenos microbianos o derivados de PAMPs y DAMPs por parte de los linfocitos (Iwasaki & Medzhitov, 2015; Abbas et al, 2012). Estos linfocitos expresan al receptor de las células T (TCR, por sus siglas en inglés), el cual reconoce a los antígenos unidos a glucoproteínas denominadas antígenos leucocitarios humanos (HLA, por sus

siglas en inglés), las que son codificadas por genes conocidos como complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) y son expresadas en la superficie de las CPA (Abbas et al, 2012; Kotsias, Cebrian & Alloatti, 2019). Existen dos tipos de MHC, el MHC clase I (MHC-I) y el MHC clase II (MHC-II). El MHC I presenta antígenos citoplasmáticos o endógenos (sintetizados intracelularmente) y se expresan en la mayoría de las células del organismo, y el MHC clase II (MHC-II) presenta antígenos intravesiculares o exógenos (sintetizados extracelularmente) y son expresados por las CPA, tales como células dendríticas, macrófagos y linfocitos B (Kotsias, Cebrian & Alloatti, 2019). Los linfocitos T CD4⁺, reconocen al antígeno sólo cuando es expuesto en unión con una molécula del MHC de clase II, y los linfocitos T CD8⁺, reconocen antígeno unido a una molécula MHC clase I (Janeway, Travers & Walport; 2001).

Cuando ocurre una infección o daño, los linfocitos T y B alojados en órganos linfáticos primarios como el timo y la médula ósea, respectivamente donde no han estado expuestos a un antígeno patógeno (denominados vírgenes), migran hacia órganos linfáticos secundarios como ganglios linfáticos y bazo, donde se activan durante la presentación antigénica (Abbas et al, 2012). Esta activación permite que los linfocitos T se transformen, en linfocitos T de memoria y efectores, los que posteriormente se dirigen a la zona de infección (Abbas et al, 2012). En el sitio de infección, los linfocitos T efectores vuelven a reconocer a los antígenos ahora expresados en los microorganismos o en células infectadas o dañadas, y de esta manera comienzan a estimular a otras células

del sistema inmune como los macrófagos (Abbas et al, 2012). Los linfocitos T de memoria, son células de larga vida, poseen una capacidad aumentada para reaccionar contra el antígeno y cuando se encuentran con éste por segunda vez y, responden con mayor rapidez y efectividad (Abbas et al, 2012).

ANEXO III: MUERTE CELULAR REGULADA (MCR) Y ENVEJECIMIENTO

Actualmente existen 14 tipos de MCR descritas, las cuales poseen mecanismos moleculares con algún grado de interconectividad (Galluzzi y cols., 2018). Sin embargo, para efectos de este escrito se hará referencia a los tipos de MCR principalmente presentes en el envejecimiento: apoptosis intrínseca y apoptosis extrínseca, y en menor medida a la necroptosis y eferocitosis, ya que también contribuyen a este proceso (Galluzzi et al., 2018).

La apoptosis es una muerte celular regulada que ocurre de forma fisiológica (Galluzzi y cols., 2018). En etapa embrionaria contribuye a eliminar a las células que se producen en exceso durante esta etapa del desarrollo, por ejemplo, del tejido mamario en hombres y surcos interdigitales, entre otros (Childs y cols., 2014; Lund y cols., 1996; Zou y Niswander; 1996). En etapa adulta es necesaria para generar el recambio celular normal, la eliminación de patógenos y la homeostasis de los tejidos (Tower, 2015; Elmore, 2007). Esto último permite resguardar la integridad del tejido, al eliminar las células dañadas sin provocar inflamación (Yatim y cols., 2017; Salminen y cols., 2011). Morfológicamente, las células que experimentan apoptosis se encogen y vacuolan violentamente,

experimentando condensación de la cromatina, fragmentación nuclear y escisión del DNA internucleosómico (Martelli y cols., 2001). Este cambio morfológico ocurre antes de que todos los componentes celulares se empaqueten en vesículas denominados como cuerpos apoptóticos (Martelli y cols., 2001). Una vez formados estos cuerpos, serán fagocitados por macrófagos para ser degradados y eliminados dentro de lisosomas, en un proceso denominado “eferocitosis” (Elliott et al., 2018).

La apoptosis se genera por medio de dos vías principales interconectadas, las que se denominan vía intrínseca y vía extrínseca (Figura 10) (Tait & Green., 2010). La vía intrínseca se activa ante señales de estrés celular, que incluyen daño en el DNA y producción de las ROS, y experimentando la permeabilización de la membrana externa mitocondrial (MOMP). La MOMP es regulada por factores pro y anti apoptóticos como los miembros de la familia de las proteínas BCL2 (Moldoveanu et al., 2014). En respuesta a los estímulos apoptóticos, la MOMP es mediada por el Regulador BCL2 Asociado a X (BAX), por el Regulador Antagonista 1 de BCL2 (BAK1, conocido como BAK), que forman poros en la membrana mitocondrial externa (Figura 6A). Por otro lado, los miembros de la familia anti-apoptótica BCL-2, inhiben a la activación de la MOMP (Figura 6A) (Moldoveanu et al., 2014). Dentro de las BCL-2, existe una subfamilia denominada proteínas “solo BH3” las cuales activan directamente a los efectores pro-apoptóticos, entre los que se encuentra, al Agonista de Muerte del Dominio que interactúa con BCL-2 (BID) y al Modulador de Apoptosis Regulado por p53

(PUMA) (Figura 6) (Moldoveanu et al., 2014). Las proteínas “solo BH3” también actúan bloqueando la actividad de las proteínas anti-apoptóticas, entre las cuales se incluyen a BCL-2 antagonista de la muerte celular (BAD) y a Noxa, entre otras (Moldoveanu et al., 2014). Los genes que codifican para Noxa y PUMA son regulados por la p53 frente a daño genotóxico (Cory & Adams, 2002; Green, 1998; Vousden & Lane, 2007;). p53 también regula positivamente la expresión de estos factores pro-apoptosis y además, viaja a la mitocondria para promover la permeabilidad y generar la liberación de factores pro-apoptóticos (Green & Kroemer, 2009).

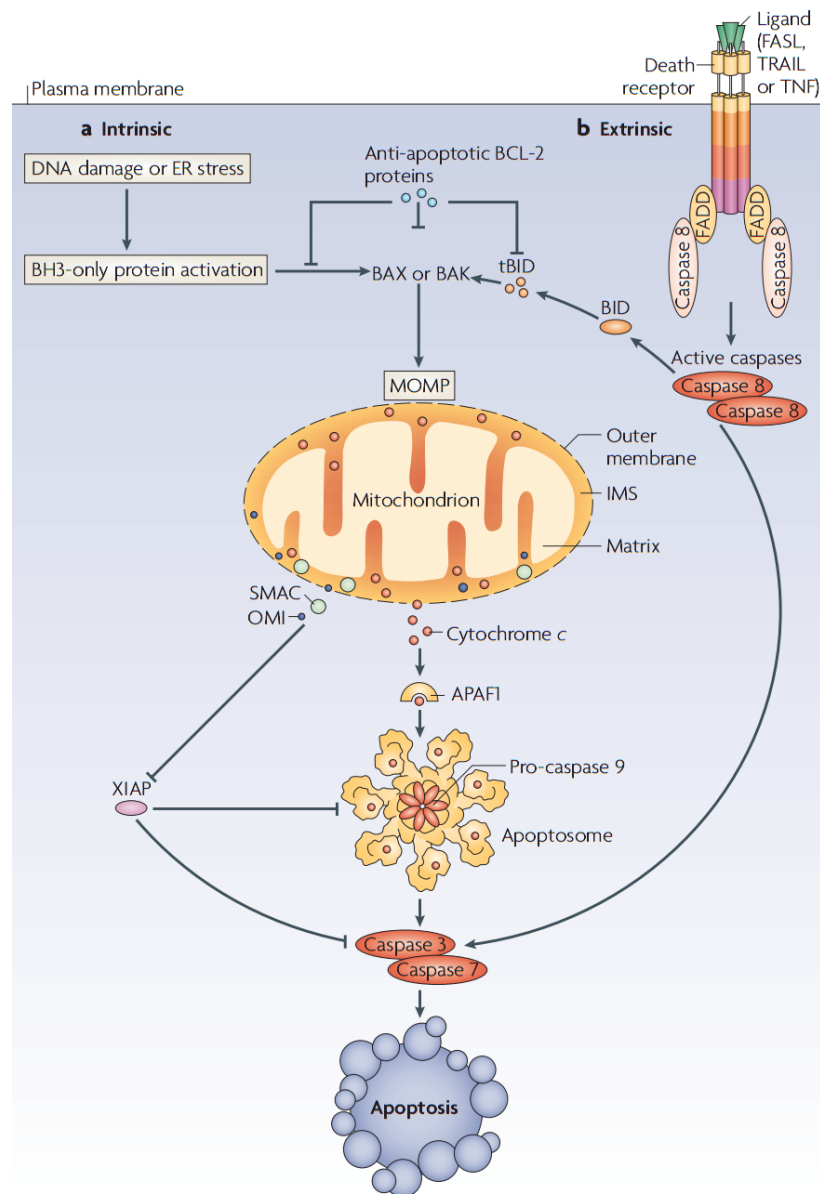


Figura 10: Vías de señalización de la apoptosis celular. La activación de la apoptosis se produce mediante dos vías: vía intrínseca y extrínseca. A) La vía intrínseca inicia por daño en el DNA o estrés del RE, que produce la activación de factores proapoptóticos Regulador BCL2 Asociado a X (BAX), por el regulador Antagonista 1 De BCL2 (BAK) inducidos por proteínas de la familia solo-BH3. Célula B linfoma 2 (BCL-2) homología 3 (BH3) -sólo proteínas que conducen a X asociado a BCL-2 proteína (BAX) y antagonista o asesino de BCL-2 (BAK) y activación externa mitocondrial permeabilización de la membrana (MOMP). La MOMP conduce a la liberación de proteínas mitocondriales hacia el citoplasma lo que genera la activación de la apoptosis intrínseca. Se genera la exposición de Citocromo C y su unión al Factor Apoptótico Activador de Proteasa 1 (APAF-1), lo que forma una estructura denominada

apoptosoma, que recluta y activa a la Caspasa 9. La Caspasa 9 genera el corte y activación de las Caspasas ejecutoras 3 y 7, que conducen a la apoptosis. Proteínas antiapoptóticas impiden la MOMP al unirse a BAX, BAK o a las proteínas solo BH3. La liberación mitocondrial del Segundo Activador de Caspasa Derivado de Mitocondrias (SMAC; también conocido como DIABLO) y OMI (también conocido como HTRA2), neutraliza la función inhibidora de Caspasa de La Proteína Inhibidora de La Apoptosis Ligada al Cromosoma X (XIAP). B) La vía extrínseca de la apoptosis inicia por la unión del ligando (FASL o ligando FAS; TNF o factor de necrosis tumoral; TRAIL o Ligando Inductor De Apoptosis relacionado con TNF) al receptor de muerte lo que produce el reclutamiento de proteínas adaptadoras como el dominio de muerte asociado a la proteína adaptadora FAS (FADD). Esto activa a la Caspasa 8, la cual corta y activa a la Caspasa ejecutora 3 y posteriormente a la 7, conduciendo a la apoptosis. La conexión de ambas vías ocurre cuando la Caspasa 8 genera el corte y activación del agonista de muerte del dominio que interactúa con BH3 (BID) y su producto, BID truncado (o tBID) se requiere en algunas células para la apoptosis extrínseca (Modificada de Tait & Green, 2010).

Ambas vías de apoptosis convergen en la activación río abajo de las Caspasas 3, 6 y 7, cuya actividad catalítica resulta en la muerte celular (Figura 6), siendo las responsables de los cambios morfológicos y bioquímicos, incluidos la fragmentación del ADN, la externalización de la fosfatidilserina y la formación de cuerpos apoptóticos (Coleman y cols., 2001; Nagata, 2005; Naito y cols., 1997; Tait & Green., 2010).

Por otro lado, la eliminación de las células apoptóticas se lleva a cabo por medio de la Caspasa 3, la que es responsable de reclutar macrófagos para el proceso de eferocitosis (Liu et al., 2018b; Nagata, 2018). Esta eliminación se realiza por los macrófagos gracias al reconocimiento de la fosfatidilserina expuesta en la membrana de células apoptóticas como señal para engullir a las células moribundas (Tower, 2015). El desarrollo de la eferocitosis permite limitar

la exposición del DNA de las células moribundas, evitando gatillar respuestas inmunes y la inflamación del tejido (Elliott et al., 2018).

Cuando las células apoptóticas no son eliminadas de manera eficiente por los macrófagos, como sucede en el envejecimiento, éstas células sufren una necrosis secundaria y liberan material intracelular que representan DAMPs (Nagata, 2018). La necrosis genera una muerte celular caracterizada por un aumento del tamaño celular y disrupción de la membrana, con la salida del contenido hacia el espacio extracelular, lo que genera activación del sistema inmune e inflamación (Martin & Henry, 2013). La forma regulada de la necrosis se denomina necroptosis y es inducida por los receptores de muerte, por los interferones, la presencia de RNA intracelular y la activación de proteínas sensoras de DNA (Tower, 2015; Choi et al., 2019). La necroptosis involucra al *Receptor-Interacting serine/threonine-Protein Kinase 1-3* (RIPK1-3) y a la proteína *Mixed Lineage Kinase domain Like pseudokinase* (MLKL) (Tower, 2015; Choi et al., 2019). No obstante, los mecanismos de apoptosis y necrosis regulada, pueden superponerse dependiendo del tipo de célula y la naturaleza del estrés (Tower, 2015).

En la respuesta celular frente al daño del DNA, es fundamental el equilibrio entre las vías pro-senescentes y pro-apoptóticas para el destino celular (Childs et al., 2014). La proteína p53 es esencial, ya que determina la respuesta celular, mediante la activación de vías de señalización para la detención del ciclo celular o senescencia o la inducción de la apoptosis, en respuesta a vías de señalización

gatilladas por estrés (Childs et al., 2014). Para la apoptosis se requieren niveles altos de p53, a diferencia de las células senescentes, las que poseen niveles bajos de p53 (Childs et al., 2014). En las células senescentes se reprime la apoptosis, lo que conduce a la supervivencia de células post-mitóticas disfuncionales lo que induce el fenotipo senescente y proinflamatorio durante el envejecimiento (Salminen et al., 2011; Lu, Chen & Hong-Guang, 2012; He & Sharpless, 2017).

Durante el envejecimiento se genera la desregulación de la MCR (Salminen et al., 2011; Lu et al., 2012). La apoptosis inducida en células post mitóticas tiene un efecto pro-envejecimiento, debido a que las células eliminadas no pueden ser reemplazadas, lo que afecta la funcionalidad del tejido (Salvioli et al., 2013). Además, en el envejecimiento la tasa de renovación celular disminuye en tejidos altamente mitóticos, por lo que se producen alteraciones en la señalización sistémica e intercelular (Tower, 2015). Alteraciones en la señalización sistémica, como en la inflamación, pueden combinarse con cambios como el aumento del estrés oxidativo, el daño genómico y la disfunción mitocondrial, lo que se traduce en que ciertos tipos de células se vuelvan más sensibles a la MCR (Tower, 2015; Galluzzi et al., 2018). Lo que da como resultado un aumento de la apoptosis durante el envejecimiento en algunos tipos de células (Tower, 2015; Galluzzi et al., 2018). Por ejemplo, la apoptosis está involucrada con la inmunosenescencia, la involución tímica y la disminución de la capacidad de proliferación (Salminen et al., 2011). Por otro lado, se ha demostrado que durante la inmunosenescencia,

se genera resistencia a la apoptosis, lo que conlleva a alteraciones en la eliminación de las células senescentes, generando su acumulación y un microambiente proinflamatorio (Salvioli et al., 2013; Salminen et al., 2011).

ANEXO IV: MODIFICACIONES EN LA FUNCION CELULAR DEL SISTEMA INMUNE DURANTE LA INMUNOSENESCENCIA

El SI senescente experimenta diversas modificaciones durante el envejecimiento. Por ejemplo, células como las *Natural Killer* aumentan en número, pero se observa una disminución de su capacidad citotóxica (Gruver, Hudson y Sempowski, 2007). Las células dendríticas, por su parte, disminuyen su capacidad fagocítica y de presentación antigénica además de sufrir alteraciones para migrar a los sitios donde son requeridas (Fulop y cols., 2018). Por otro lado, los neutrófilos senescentes, presentan disminución en la producción de superóxido (Bailys y cols., 2013). Las células del SI adaptativo por su parte, cuando se vuelven senescentes y envejecidas también alteran sus funciones. Por ejemplo, los linfocitos T vírgenes disminuyen en número, debido a la progresiva involución del timo o atrofia (Baylis y cols. 2013; Ponnappan y Ponnappan, 2011). Se genera un incremento en el número de células T maduras CD8⁺ y CD4⁺, tanto de memoria como efectoras (Sansonni y cols., 2008). Además, en estos linfocitos T se produce el incremento en la producción y liberación de citoquinas inflamatorias y una alteración en la señalización intracelular, debido a

la disminución de la expresión de los receptores de linfocito T (TCR) (Baylis y cols. 2013; Zanni y cols., 2003). En el caso de los linfocitos B, si bien su número se mantiene durante el envejecimiento, disminuye su habilidad de secretar inmunoglobulinas y citoquinas, por lo tanto, el combate frente a nuevos agentes infecciosos se ve disminuido en cantidad y calidad (Fulop y cols., 2018).

ANEXO V: MUERTE CELULAR REGULADA (MCR) Y ACTIVACIÓN DE LA VÍA cGAS/STING

En el envejecimiento la eferocitosis es inefectiva y genera que en células apoptóticas se active la necrosis secundaria, resultando en la liberación de DAMPs que gatilla respuestas inflamatorias (Benmerzoug et al., 2019). La vía cGAS/STING participa en el reconocimiento y respuesta frente al DNA propio proveniente de células apoptóticas o necróticas (Chen et al., 2018a; Sze et al., 2013). Se ha demostrado que IRF3 puede unirse a BAX, y formar un complejo para inducir la apoptosis (Sze et al., 2013). Además, se ha visto que la activación de STING que se produce ante la liberación de DNA mitocondrial por activación del factor PUMA, el que permeabiliza la membrana mitocondrial y permite la liberación de DNA mitocondrial, media eventos intermedios de señalización para la autofosforilación de RIPK3/MLKL, en donde se inhiben las caspasas y se potencia la necroptosis (Chen et al., 2018a).

La sobreexpresión de STING en linfocitos T genera apoptosis, debido a que STING induce la transcripción de genes proapoptóticos dependientes de p53,

como Noxa y PUMA (entre otros) (Gulen et al., 2017). En contraste, en macrófagos y células dendríticas, STING no induce fácilmente a la apoptosis (Gulen et al., 2017). Por lo que la inducción de la apoptosis dada por la señalización de la vía cGAS/STING se ve influenciada por el tipo de célula (Gulen et al., 2017).

Normalmente cuando ocurre apoptosis celular, la vía de señalización cGAS/STING no se activa, ya que se genera la inhibición de cGAS y IRF3 por parte de las caspasas efectoras, como la caspasa 3, 7 y 9 (Ning et al., 2019; Rongvaux et al, 2014). Durante la MOMP, en el proceso de apoptosis intrínseca, se libera mtDNA, el que es reconocido por cGAS (Rongvaux et al., 2014). Este mtDNA puede estar oxidado, debido al estrés mitocondrial, lo que lo hace más resistente a la degradación por TREX1 y de esta manera se facilita su acumulación en el citoplasma, gatillando la señalización de STING con activación de NFκB (Gehrke et al., 2013).

ANEXO VI: VÍA cGAS /STING Y ENFOQUE TERAPÉUTICO

El conocimiento sobre esta vía ha sido dirigida para tratar principalmente enfermedades inflamatorias y para potenciales terapias inmunológicas contra el cáncer (Motwani y cols., 2019). Se ha generado un rápido avance para encontrar agonistas de STING, como el ácido 5,6-dimetilxantenona-4-acético (DMXAA) y el 10-carboximetil-9-acridanona (CMA), capaces de generar efectos inmunoestimuladores, antitumorales y antivirales (Conlon y cols., 2013; Hou y cols., 2020). No obstante, poseen baja permeabilidad para ingresar a las células y además han resultado ser específicos para murinos, por lo que no han sido exitosos en humanos (Conlon y cols., 2013; Hou y cols., 2020). Recientemente, se han probado análogos de acridona como nuevos agonistas del receptor STING para humanos, con buenos resultados y con funciones similares a 2'3'-cGAMP (Hou y cols., 2020). Sin embargo, la mayoría de las investigaciones sobre la vía cGAS/STING se han centrado en los IFN I y su participación en la respuesta antiviral y no consideran la potencial contribución de la vía cGAS/STING en senescencia e inflamación durante el envejecimiento (Wan y cols., 2020).

CAPÍTULO VI: BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas K., Litchman A., y Pillai S., (2012). *Inmunología Celular y Molecular*. Barcelona, España. Elsevier (séptima edición).
2. Abe T., y Barber G., (2014). Cytosolic-DNA-Mediated, STING-Dependent Proinflammatory Gene Induction Necessitates Canonical NF- κ B Activation through TBK1. *Journal of Virology* p. 5328–5341.
3. Ablasser A., y Hur S. (2020). Regulation of cGAS- and RLR-mediated immunity to nucleic acids. *Nature Immunology*, 21(1), 17–29. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0556-1>
4. Ablasser A., Goldeck M., Cavlari T., Deimling T., Witte G., Röhl I.,... Hornung, V (2013a). cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING. *Nature*. 498 (7454): 380–384.
5. Ablasser A., Schmid-Burgk J., Hemmerling I., Horvath G., Schmidt T., Latz E, Veit Hornung V. (2013b). Cell intrinsic immunity spreads to bystander cells via the intercellular transfer of cGAMP. *Nature* 503, 530–534.
6. Acosta J. y cols. (2008). Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell* 133: 1006–1018.
7. Agarwal S. y Busse P. (2010) Innate and adaptive immunosenescence. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 104(3):183–90.

8. Aguirre S. y cols. (2017). Dengue virus NS2B protein targets cGAS for degradation and prevents mitochondrial DNA sensing during infection. *Nat. Microbiol.* 2, 17037
9. Agrawal S. y Kandimalla E. (2019). Intratumoural immunotherapy: activation of nucleic acid sensing pattern recognition receptors. *Immuno Oncology Technology*, 3(October), 15–23.
10. Alberts B. y cols. (2015). The Cell. New York, US. Ed Garland Science (sixth edition).
11. Alexeyev M. (2009). Is there more to aging than mitochondrial DNA and reactive oxygen species?. *FEBS J.* 276(20):5768-5787. doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07269.x
12. Arguelles S. y cols. (2018) Advantages and disadvantages of apoptosis in the aging process. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*. Xxxx: 1–14. doi: 10.1111/nyas.14020
13. Alfadda A., y Sallam R. (2012). Reactive oxygen species in health and disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/936486>
14. Anderton H., Wicks I. y Silke J. (2020). Cell death in chronic inflammation: breaking the cycle to treat rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol* 16, 496–513 <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0455-8>
15. Balaban R., Nemoto S. y Finkel, T. (2005). Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*, 120(4), 483–495. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.001>

16. Balka K., Louis C., Saunders T., Smith, A., Calleja D., D'Silva D.,... Kagan J. (2019). Phosphoinositide Interactions Position cGAS at the Plasma Membrane to Ensure Efficient Distinction between Self- and Viral DNA. *Cell*, 176(6), 1432-1446.e11.
17. Bauer M. (2020). Accelerated immunosenescence in rheumatoid arthritis: impact on clinical progression. *Immun Ageing* <https://doi.org/10.1186/s12979-020-00178-w>
18. Bauer M. y Fuente M. (2016). The role of oxidative and inflammatory stress and persistent viral infections in immunosenescence. *Mechanisms of Ageing and Development*, 158: 27–37. doi:10.1016/j.mad.2016.01.001.
19. Barbalat R, Ewald S., Mouchess M. y Barton G. (2011). Nucleic acid recognition by the innate immune system. *Annu Rev Immunol*. 29:185-214.
20. Barzilai N., Huffman D., Muzumdar R., Bartke A. (2012). The critical role of metabolic pathways in aging. *Diabetes*.; 61:1315–1322.
21. Baylis D., Bartlett, D., Patel H., y Roberts H. (2013). *Understanding how we age : insights into inflammaging. Longevity & Healthspan*. 2:8.
22. Brauer R. y cols. (2010). Labeling of Oxidizable Proteins with a Photoactivatable Analog of the Antitumor Agent DMXAA: Evidence for Redox Signaling in Its Mode of Action. *Neoplasia* 12, 755–765.
23. Ben-Porath I. y Weinberg R. (2005). The signals and pathways activating cellular senescence. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 37: 961–976. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.10.013>

24. Bedard K. y Krause K. (2007). The NOX family of ROS- generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol. Rev.* 87, 245–313.
25. Benmerzoug S., Ryffel B., Togbe D. y Quesniaux V. (2019). *Self-DNA Sensing in Lung Inflammatory Diseases. Trends Immunol.* 40(8), 719–734.
26. Birben E. y cols. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 5(1):9–19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613v.
27. Bolli R., Zughaib M., Li X., Tang X., Sun J., Triana J., y cols. (1995). Recurrent ischemia in the canine heart causes recurrent bursts of free radical production that have a cumulative effect on contractile function: a pathophysiological basis for chronic myocardial "stunning". *J Clin Invest*; 96(2):1066–84. doi: 10.1172/JCI118093.
28. Bollrath J. y Greten F. (2009) IKK/NF-kappaB and STAT3 pathways: central signalling hubs in inflammation-mediated tumour promotion and metastasis. *EMBO Rep.*10:1314–1319. doi:10.1038/ embor.2009.243
29. Bohr V. (2015). *DNA Damage, DNA Repair, Aging, and Neurodegeneration. Cold Spring Harbor Perspective in Medicine.*1–18.
30. Bonafè M., Storci G. y Franceschi C. (2012). Inflamm-aging of the stem cell niche: breast cancer as a paradigmatic example: breakdown of the multi-shell cytokine network fuels cancer in aged people. *Bioessays.*;34(1):40-49. doi:10.1002/bies.201100104
31. Burdette D. y cols. (2011) STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP. *Nature* 478, 515–518.

32. Cai X., Chiu Y. y Chen Z. (2014) The cGAS-cGAMP-STING Pathway of Cytosolic DNA Sensing and Signaling. *Molecular Cell* 54 (2): P289-296.
33. Cabelof D. y cols. (2003) Caloric restriction promotes genomic stability by induction of base excision repair and reversal of its age-related decline. *DNA Repair* 2:295–307.
34. Cadenas E. y Davies K. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med*; 29(3–4):222–30
35. Calcinotto A, Kohli J, Zagato E, Pellegrini L, Demaria M y Alimonti A. (2019). Cellular Senescence: Aging, Cancer, and Injury. *Physiol Rev.*;99(2):1047-1078. doi:10.1152/physrev.00020.2018
36. Campisi J. (2001). Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. *Trends Cell Biol.* 11, 27–31
37. Campisi J. (2013). Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu. Rev. Physiol.* 75,685–705
38. Campisi J. y D'Adda Di Fagagna F. (2007). Cellular senescence: When bad things happen to good cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(9), 729–740. <https://doi.org/10.1038/nrm2233>
39. Campisi J., Kapah P., Lithgow, G., Melov S., Newman J. y Verdin E. (2019). From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing. *Nature*, 571(7764), 183–192. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1365-2>

40. Cannizzo E., Clement C., Sahu R., Follo C. y Santambrogio L. (2011). Oxidative stress, inflamm-aging and immunosenescence. *Journal of Proteomics*, 74(11), 2313–2323. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.06.005>
41. Caldecott K. (2006). *Mammalian single-strand break repair: Mechanisms and links with chromatin*. 6, 443–453. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2006.10.006>
42. Castelo-Branco C. y Soveral I. (2014). The immune system and aging: A review. *Gynecological Endocrinology*, 30(1), 16–22. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.852531>
43. Chapman J., Taylor M. y Boulton S. (2012). Playing the End Game: DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice. *Molecular Cell*, 47(4), 497–510. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.07.029>
44. Ceccaldi R., Rondinelli B., y D'Andrea A. (2016). Repair Pathway Choices and Consequences at the Double-Strand Break. *Trends in Cell Biology*, 26(1), 52–64. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.07.009>
45. Celec P. (2004). Nuclear factor kappa B - Molecular biomedicine: The next generation. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 58(6–7), 365–371. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2003.12.015>
46. Chandrasekaran A., Idelchik M. y Melendez J. (2017). Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biology*, 11(November 2016), 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.11.005>
47. Chang H., Pannunzio N., Adachi N. y Lieber M. (2017). Non-homologous DNA end joining and alternative pathways to double-strand break repair. *Nature*

Reviews Molecular Cell Biology, 18(8), 495–506.

48. Chanut R y Petrilli V. (2019). Cytosolic DNA sensing by the cGAS-STING pathway in cancer]. *Med Sci*. 35(6-7):527-534.

49. Chen X., Song M., Zhang, B., y Zhang Y. (2016). Reactive Oxygen Species Regulate T Cell Immune Response in the Tumor Microenvironment. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 11–16. <https://doi.org/10.1155/2016/1580967>

50. Chen, D., Tong, J., Yang, L., Wei, L., Stolz, D. B., Yu, J., Zhang, J., y Zhang, L. (2018a). PUMA amplifies necroptosis signaling by activating cytosolic DNA sensors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(15), 3930–3935. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717190115>

51. Chen Y., Zhou Z. y Min W. (2018b) Mitochondria, Oxidative Stress and Innate Immunity. *Front. Physiol.* 9:1487. doi: 10.3389/fphys.2018.01487

52. Chen, Qin, Fischer, A., Reagan, J., Yan, L., y Ames, B. (1995). Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(10), 4337–4341. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.10.4337>

53. Cheng W. y cols. (2018). The cGAS–sting signaling Pathway is required for the innate immune response against Ectromelia Virus. *Frontiers in Immunology* 9:1297

54. Chien Y. y cols. (2011). Control of the senescence-associated secretory phenotype by NF-kappaB promotes senescence and enhances chemosensitivity.

Genes Dev. 25, 2125–2136.

55. Childs B., Baker D., Kirkland J., Campisi, J., y Deursen J. (2014). Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Reports*, 15(11), 1139–1153. <https://doi.org/10.15252/embr.201439245>

56. Choi M., Price D., Ryter S., y Choi A. (2019). Necroptosis: A crucial pathogenic mediator of human disease. *JCI Insight*, 4(15), 1–16. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.128834>

57. Chomyn A., y Attardi G. (2003). MtDNA mutations in aging and apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 304(3), 519–529. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)00625-9](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)00625-9)

58. Civril F., Deimling T., De Oliveira Mann C., Ablasser A., Moldt M., Witte G., Hornung V., y Hopfner K. (2013). Structural mechanism of cytosolic DNA sensing by cGAS. *Nature*, 498(7454), 332–337. <https://doi.org/10.1038/nature12305>

59. Comisión Económica para América Latina. Estimaciones y proyecciones de población total, urbana y rural, y económicamente activa. América Latina - revisión 2017. Santiago: CEPAL; 2017. Disponible en: <https://www.cepal.org/es/temas/proyecciones-demograficas/estimaciones-proyecciones-poblacion-total-urbana-rural-economicamente-activa> Accedido el 19-05-2019

60. Cooke M, Evans M, Dizdaroglu M. y Lunec J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.*;17(10):1195-1214. doi:10.1096/fj.02-0752rev

61. Cooke, M., Olinski, R., y Evans, M. (2006). Does measurement of oxidative damage to DNA have clinical significance? *Clinica Chimica Acta*, 365(1–2), 30–49. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.09.009>
62. Coleman M. y cols. (2001). Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol.*;3:339–45.
63. Conlon J. y cols. (2013). Mouse, but not Human STING, Binds and Signals in Response to the Vascular Disrupting Agent 5,6-Dimethylxanthenone-4-Acetic Acid. *The Journal of Immunology*, 190(10):5216.
64. Conrath, U. (2011). Molecular aspects of defence priming. *Trends in Plant Science*, 16(10), 524–531. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.06.004>
65. Coppe J., Patil C., Rodier F, Sun Y, Munoz D., Goldstein J,...Campisi J. (2008). Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol* 6: 2853–2868.
66. Cory, S., y Adams, J. (2002). The BCL2 family: Regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer*, 2(9), 647–656. <https://doi.org/10.1038/nrc883>
67. Crosse, K., Monson, E., Beard, M. y Helbig, K. (2018). Interferon-Stimulated Genes as Enhancers of Antiviral Innate Immune Signaling. *Journal of Innate Immunity*, 10(2), 85–93. <https://doi.org/10.1159/000484258>
68. Dai J. y cols. (2019) Acetylation Blocks cGAS Activity and Inhibits Self-DNA-Induced Autoimmunity. *Cell*. 176(6):1447-1460.e14. [doi:10.1016/j.cell.2019.01.016](https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.016)

69. Di Fagagna D. (2008). Living on a break: Cellular senescence as a DNA-damage response. *Nature Reviews Cancer*, 8(7), 512–522. <https://doi.org/10.1038/nrc2440>
70. D’Errico, M., Parlanti, E., y Dogliotti, E. (2008). Mechanism of oxidative DNA damage repair and relevance to human pathology. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 659(1–2), 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.10.003>
71. De la Fuente M. y Miquel J. (2009) An update of the oxidation-inflammation theory of aging: the involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Curr Pharm Des.* 15(26):3003–26.
72. Delabaere, L., Ertl, H., Massey, D., Hofley, C., Sohail, F., Bienenstock, E.,... LaRocque, J. (2017). Aging impairs double-strand break repair by homologous recombination in *Drosophila* germ cells. *Aging Cell*, 16(2), 320–328. <https://doi.org/10.1111/accel.12556>
73. Dey B. y cols. (2015) A bacterial cyclic dinucleotide activates the cytosolic surveillance pathway and mediates innate resistance to tuberculosis. *Nat. Med.* 21, 401–408.
74. Dikalov S. (2011). Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(7), 1289–1301. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.033>
75. Dinarello C. (2007). Historical insights into cytokines. *European Journal of Immunology*, 37(S1), S34–S45. doi:10.1002/eji.200737772

76. Dou Z. y cols. (2015). Autophagy mediates degradation of nuclear lamina. *Nature* 527, 105–109
77. Dou, Z., Ghosh, K., Vizioli, M., Zhu, J., Sen, P., Wangenstein, K., S.,Berger, S. (2017). Cytoplasmic chromatin triggers inflammation in senescence and cancer. *Nature*, 550(7676). <https://doi.org/10.1038/nature24050>
78. Dunphy, G., Flannery, S., Almine, J. F., Connolly, D., Paulus, C., Jønsson, K. L., Jakobsen, M. R.,... Unterholzner L. (2018). Non-canonical Activation of the DNA Sensing Adaptor STING by ATM and IFI16 Mediates NFκB Signaling after Nuclear DNA Damage. *Molecular Cell*, 71(5), 745-760.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.07.034>
79. Eiserich J., Patel R., y O'Donnell V. (1998). Pathophysiology of nitric oxide and related species: Free radical reactions and modification of biomolecules. *Molecular Aspects of Medicine*. 19(4–5), 221–357.
80. Elliott M., Koster K. y Murphy P. (2018). Efferocytosis Signaling in the Regulation of Macrophage Inflammatory Responses *J Immunol February*. 198(4), 1387–1394.
81. Elmore, S., 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.* 35, 495–516.
82. Ergun, S., Fernandez, D., Weiss, T., y Li, L. (2019). STING Polymer Structure Reveals Mechanisms for Activation, Hyperactivation, and Inhibition. *Cell*. 11;178(2):290-301.

83. Ergun, S., y Li L. (2020). Structural Insights into STING Signaling. *Trends in Cell Biology*, 1–9.
84. Evans, M., Dizdaroglu, M., y Cooke, M. (2004). Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 567, Issue 1).
85. Feghali C., y Wright, T. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Frontiers in Bioscience : A Journal and Virtual Library, Front Biosci.* 2:d12-26. <https://doi.org/10.2741/a171>
86. Figueira T., Barros M., Camargo A., Castilho R., Ferreira J., Kowaltowski A., y cols (2013). Mitochondria as a source of reactive oxygen and nitrogen species: from molecular mechanisms to human health. *Antioxid Redox Signal* 18(16):2029–74. doi: 10.1089/ars.2012.4729.
87. Fleshner M. (2013). Stress-evoked sterile inflammation, danger associated molecular patterns (DAMPs), microbial associated molecular patterns (MAMPs) and the inflammasome. *Brain, Behavior, and Immunity*, 27(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.08.012>
88. Fraga M. y Esteller M. (2007). Epigenetics and aging: the targets and the marks. *Trends Genet.*; 23:413– 418.
89. Franceschi C., Bonafe M., Valensin S. y cols. (2000). Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann NY Acad Sci*, 908, 244–254.
90. Franceschi C. y cols. (2006). Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Annals New York Academy Of Sciences* 244-256.

91. Franceschi, C., Capri, M., Monti, D., Giunta, S., Olivieri, F., Sevini, F.,... Salvioli, S. (2007). Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mechanisms of Ageing and Development*, 128(1), 92–105. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.11.016>
92. Franceschi, C., y Campisi, J. (2014). Chronic inflammation (Inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 69, S4–S9. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu057>
93. Franceschi, C., Garagnani, P., Vitale, G., Capri, M., y Salvioli, S. (2016). *Inflammaging and 'Garb-aging'*. xx, 1–14.
94. Franceschi C., y cols. (2017) Immunobiography and the heterogeneity of immune responses in the elderly: a focus on inflammaging and trained immunity. *Front Immunol.* 8: 982. doi:10.3389/fimmu.2017.00982.
95. Franceschi, C., Garagnani, P., Parini, P., Giuliani, C., y Santoro, A. (2018a). Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(10), 576–590. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0059-4>.
96. Franceschi, C., Zaikin, A., Gordleeva, S., Ivanchenko, M., Bonifazi, F., Storci, G., y Bonafè, M. (2018b). Inflammaging 2018: An update and a model. *Seminars in Immunology*, 40(xxxx), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2018.10.008>
97. Franceschi C. y cols. (2019) Inflammaging. In: Fulop T., Franceschi C., Hirokawa K., Pawelec G. (eds) *Handbook of Immunosenescence*. Springer. España.

98. Finkel T. y Holbrook, N. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239–247. doi:10.1038/35041687
99. Fulop, T., Dupuis, G., Baehl, S., Le Page, A., Bourgade, K., Frost, E.,... Cunnane, S. (2016). From inflamm-aging to immune-paralysis: a slippery slope during aging for immune-adaptation. *Biogerontology*, 17(1), 147–157.
100. Fulop T., Larbi, A., Dupuis, G., Page, A. Le Frost, E., Cohen, A., Witkowski, J., y Franceschi, C. (2018). Immunosenescence and inflamm-aging as two sides of the same coin: Friends or Foes? *Frontiers in Immunology*, 8:1960.
101. Galluzzi, L., Bravo-San Pedro, J., Vitale, I. y cols. (2015). Essential *versus* accessory aspects of cell death: recommendations of the NCCD 2015. *Cell Death Differ.* **22**, 58–73 <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.137>
102. Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S., Abrams, J., Adam, D., Agostinis, P., ...Kroemer, G. (2018). Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death and Differentiation*, 25(3), 486–541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>.
103. Galdona N., Martínez-Taboada C., Etxeberria I., y cols. (2018). Positive aging: the relationship between emotional intelligence and psychological, social and physical wellbeing. *MOJ Gerontol Ger.* 3(1):9–11. DOI: 10.15406/mojgg.2018.03.00073
104. Gehrke, N., Mertens, C., Zillinger, T., Wenzel, J., Bald, T., Zahn, S.,... Barchet, W. (2013). Oxidative damage of dna confers resistance to cytosolic nuclease trex1 degradation and potentiates STING-dependent immune sensing.

Immunity, 39(3), 482–495. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.004>

105. Gekara N. (2017). DNA damage-induced immune response: Micronuclei provide key platform. *The Journal of Cell Biology*. 216(10): 2999-3001.

106. Germolec D., Shipkowski K., Frawley R, y Evans E. (2018). Markers of Inflammation. *Immunotoxicity Testing*, 57–79. doi:10.1007/978-1-4939-8549-4_5

107. Gentili, M., Lahaye, X., Nadalin, F., Nader, G., Lombardi P., Herve, S., ... Manel, N. (2019). The N-Terminal Domain of cGAS Determines Preferential Association with Centromeric DNA and Innate Immune Activation in the Nucleus. *Cell Reports*, 26(9), 2377-2393.e13. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.105>

108. Ghosh S., May M. y Kopp E. (1998). NF- κ B and Rel proteins: evolutionarily con- served mediators of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 16:225–60

109. Gentili, M., Lahaye, X., Nadalin, F., Nader, G., Puig Lombardi, E., Herve, S., ... Manel, N. (2019). The N-Terminal Domain of cGAS Determines Preferential Association with Centromeric DNA and Innate Immune Activation in the Nucleus. *Cell Reports*, 26(9), 2377-2393.e13. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.105>

110. Gil J. y Withers D. (2016). Out with the old. *Nature* 530: 164–165.

111. Gilmore T. (2006). Introduction to NF κ B: Players, pathways, perspectives. *Oncogene*, 25(51), 6680–6684. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209954>

112. Gong T., Liu L., Jiang W. y cols. (2020). DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol* 20, 95–112. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0215-7>

113. González-Navajas J., Lee J., David M. y Raz E. (2012). Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nat Rev Immunol.*;12(2):125-135. Published 2012 Jan 6. doi:10.1038/nri3133
114. Gordon, S. (2016). Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity*, 44(3), 463–475. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.026>
115. Goronzy J. y Weyand, C. (2013). Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nature Immunology* 14(5) 428–436. doi:10.1038/ni.2588
116. Ghosh S, May M. y Kopp E. (1998). NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol.*;16:225-260. doi:10.1146/annurev.immunol.16.1.225
117. Glück S. y cols. (2017). Innate immune sensing of cytosolic chromatin fragments through cGAS promotes senescence. *Nature Cell Biology*, 19(9), 1061–1070. doi:10.1038/ncb3586.
118. Green, D., Kroemer, G., (2009). Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. *Nature* 458, 1127–1130.
119. Green, D. (1998). Apoptotic Pathways. *Cell*, 94(6), 695–698.
120. Gruver A., Hudson L. y Sempowski G. (2007). Immunosenescence of ageing. *Pathol. January*; 211(2): 144–156.
121. Gu, Y. y cols. (2018). Healthy aging: A bibliometric analysis of the literature. *Experimental Gerontology*. doi:10.1016/j.exger.2018.11.014
122. Gulen, M., Koch, U., Haag, S. M., Schuler, F., Apetoh, L., Villunger, A.,

Radtke, F., y Ablasser, A. (2017). Signalling strength determines proapoptotic functions of STING. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00573-w>

123. Halliwell B. (1995). How to characterize an antioxidant- An update. *Biochem Soc Symp.* 61:73–101.

124. Hamanaka R., Chandel N. (2010) Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem Sci*;35(9):505–13.

125. Haigis, M. y Yankner, B. (2010). The Aging Response. *NIH Public Access*, 40(2), 333–344. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.10.002>.The

126. Hanada, T., y Yoshimura, A. (2002). Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 13(4–5), 413–421. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(02\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(02)00026-6)

127. Harman, D. (1956). Aging: A Theory on Free Radical Radiation Chemistry. *J. Gerontol.*, 11, 298–300.

128. Harman, D. (1983). Free radical theory of aging: Consequences of mitochondrial aging. *AGE*, 6(3), 86–94. doi:10.1007/bf0243250

129. Harman, D. (2003). Forum Mini Review. *Antioxidants y Redox Signaling*, 5(5), 557–561.

130. Hayflick, L. y Moorhead, P. (1961). The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research*, 25(3), 585–621. doi:10.1016/0014-4827(61)90192-6

131. He S., y Sharpless, N. (2017). Senescence in Health and Disease. *Cell*, 169(6), 1000–1011. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.015>
132. Herbig U., Jobling W., Chen B., Chen D. y Sedivy J. (2004). Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21(CIP1), but not p16(INK4a). *Mol. Cell* 14, 501–513.
133. Hoeijmakers, J. (2009). DNA Damage, Aging, and Cancer. *N Engl J Med*. 361(15):1475-1485. doi:10.1056/NEJMra0804615
134. Hou, S., Lan, X., Li, W., Yan, X. lin, Chang, J.,... Li, S. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of acridone analogues as novel STING receptor agonists. *Bioorganic Chemistry*, 95.
135. Hoare M. y Narita M. (2013). Transmitting senescence to the cell neighbourhood, *Nat. Cell Biol. Nat. Publ. Group* 15 (8) 887–889.
136. Hopfner K. y Hornung, 2020 Molecular mechanisms and cellular functions of cGAS–STING signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0244-x>
137. Instituto Nacional de Estadísticas (INE) (2018) Estimaciones y proyecciones de la población de Chile 1992-2050 Total país. Recuperado de <https://www.censo2017.cl/descargas/proyecciones/sintesis-estimaciones-y-proyecciones-de-la-poblacion-chile-1992-2050.pdf>
138. Instituto Nacional de Estadísticas (INE) (2019) Estimaciones y Proyecciones De La Población De Chile 2002-2035 Totales Regionales,Población Urbana Y Rural. Recuperado de: <https://www.ine.cl/docs/default->

source/proyecciones-de-poblacion/publicaciones-y-anuarios/base-
2017/ine_estimaciones-y-proyecciones-2002-2035_base-
2017_reg_%C3%A1rea_s%C3%ADntesis.pdf?sfvrsn=aaeb88e7_5

139. Imlay J. y Linn S. (1987). Mutagenesis and Stress Responses Induced in *Escherichia coli* by Hydrogen Peroxide. *Journal Of Bacteriology*. 169: 7.
140. Ishii, K. y cols. (2006). A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. *Nat. Immunol.* 7, 40–48.
141. Iwasaki, A., y Medzhitov, R. (2015). Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nature Immunology*, 16(4), 343–353.
<https://doi.org/10.1038/ni.3123>
142. Jackson S., y Bartek, J. (2010). Europe PMC Funders Group The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461(7267), 1071–1078.
<https://doi.org/10.1038/nature08467>
143. Janeway, C., Travers P. y Walport M. (2001). The major histocompatibility complex and its functions. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* (5 edición). New York: Garland Science.
144. Janssens, S., y Tschopp, J. (2006). Signals from within: The DNA-damage-induced NFκB response. *Cell Death and Differentiation*, 13(5), 773–784.
<https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401843>
145. Jia, M., Qin, D., Zhao, C., Chai, L., Yu, Z., Wang, W., ...Zhao, W. (2020). Redox homeostasis maintained by GPX4 facilitates STING activation. *Nature Immunology*, 21(JulY), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0699-0>

146. Jiang, H., Xue, X., Panda, S., Kawale, A., Hooy, R. M., Liang, F.,... Gekara, N. O. (2019). Chromatin-bound cGAS is an inhibitor of DNA repair and hence accelerates genome destabilization and cell death . *The EMBO Journal*, 38(21), 1–17. <https://doi.org/10.15252/embj.2019102718>
147. Jin L, Waterman P, Jonscher K, Short C., Reisdorph N., Cambier J. (2008). MPYS, a novel membrane tetraspanner, is associated with major histocompatibility complex class II and mediates transduction of apoptotic signals. *Mol. Cell. Biol.* 28(16):5014–26.
148. Jin L, Hill KK, Filak H, Mogan J, Knowles H, y cols. (2011). MPYS is required for IFN response factor 3 activation and type I IFNproduction in the response of cultured phagocytes to bacterial second messengers cyclic-di-AMP and cyclic-di-GMP. *J. Immunol.* 187(5):2595–60.
149. Kalyanaraman B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol.* Feb 8;1(1):244-57. doi: 10.1016/j.redox.2013.01.014.
150. Kaneko, T., Tahara, S., Taguchi, T., y Kondo, H. (2001). Accumulation of oxidative DNA damage, 8-oxo-2'-deoxyguanosine, and change of repair systems during in vitro cellular aging of cultured human skin fibroblasts. *Mutation Research - DNA Repair*, 487(1–2), 19–30. [https://doi.org/10.1016/S0921-8777\(01\)00100-8](https://doi.org/10.1016/S0921-8777(01)00100-8)
151. Karin, M., y Ben-neriah, Y. (2000). Phosphorylation meets u biquitination : The Control of NF- κ B Activity. *Annual Review of Immunology*, 621–663.
152. Kehrer, J. P., y Klotz, L. O. (2015). Free radicals and related reactive

species as mediators of tissue injury and disease: Implications for Health. *Critical Reviews in Toxicology*, 45(9), 765–798.
<https://doi.org/10.3109/10408444.2015.1074159>

153. Kennedy, B., Berger, S. L., Brunet, A., Campisi, J., Cuervo, A. M., Epel, E. S.,...Sierra, F. (2014). Geroscience: Linking aging to chronic disease. *Cell*, 159(4), 709–713. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.039>

154. Khan, F., Kumar Garg, V., Kumar Singh, A., y Tinku, T. (2018). Role of free radicals and certain antioxidants in the management of huntington's disease: a review. *Journal of Analytical y Pharmaceutical Research*, 7(4), 386–392.
<https://doi.org/10.15406/japlr.2018.07.00256>

155. Kotsias F., Cebrian I., y Alloatti A. (2019). Antigen processing and presentation. *International Review of Cell and Molecular Biology*. doi:10.1016/bs.ircmb.2019.07.005

156. Kuilman T. y Peeper D. (2009). Senescence-messaging secretome: SMS-ing cellular stress. *Nat Rev Cancer* 9: 81–94.

157. Kuilman T, Michaloglou C, Vredeveld L, Douma S, van Doorn R, Desmet C.,...Peeper D. (2008). Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell* 133: 1019–1031.

158. Kuilman, T., Michaloglou, C., Mooi, W. y Peeper, D. (2010). The essence of senescence. *Genes and Development*, 24(22), 2463–2479.
<https://doi.org/10.1101/gad.1971610>.

159. Kumanogoh A. y Masato O. (2010). The study of cytokines by Japanese

researchers: a historical perspective. *International Immunology*. 22: (5) 341–345
doi:10.1093/intimm/dxq022

160. Kurz D., Decary S., Hong Y. y Erusalimsky, J. (2000). Senescence-associated β -galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *J. Cell Sci.* 113, 3613–3622

161. Labunsky V. y Gladyshev V. (2013). Role of reactive oxygen species-mediated signaling in aging. *Antioxidants and Redox Signaling*, 19(12), 1362–1372.
<https://doi.org/10.1089/ars.2012.4891>

162. Lan, Y., Londoño, D., Bouley, R., Rooney, M., y Hachohen, N. (2014). Dnase2a deficiency uncovers lysosomal clearance of damaged nuclear DNA via autophagy. *Cell Reports*, 9(1), 180–192.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.074>

163. Larsson, N. (1995). Molecular Genetic Aspects of Human Mitochondrial Disorders. *Annual Review of Genetics*, 29(1), 151–178.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genet.29.1.151>

164. Lee B., Han J., Im J., Morrone A., Johung K., Goodwin E.,... Hwang E. (2006). Senescence-associated β -galactosidase is lysosomal β -galactosidase. *Aging Cell*, 5(2), 187–195. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00199>.

165. Lee M., Wang Y. y Vanhoutte P. (2010). Senescence of cultured porcine coronary arterial endothelial cells is associated with accelerated oxidative stress and activation of NF κ B. *J. Vasc. Res.*, 47, 287–298

166. Lee I. y Yang C. (2012). Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory

mediators-induced airway and pulmonary diseases. *Biochemical Pharmacology*, 84(5), 581–590. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.05.005>

167. Lee T., y Kang T. (2019). DNA oxidation and excision repair pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23). <https://doi.org/10.3390/ijms20236092>

168. Li T., y Chen Z. (2018). The cGAS-cGAMP-STING pathway connects DNA damage to inflammation, senescence, and cancer. In *Journal of Experimental Medicine*. 215(5): 1287–1299. <https://doi.org/10.1084/jem.20180139>

169. Li L. y cols. (2014). Hydrolysis of 2'3'-cGAMP by ENPP1 and design of nonhydrolyzable analogs. *Nat. Chem. Biol.* 10: 1043–1048

170. Li J., y Bakhoun S. (2019). Expanding the Role of STING in Cellular Homeostasis and Transformation. *Trends in Cancer*, 5(4), 195–197. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.02.001>

171. Li W., y Vijg J. (2012). Measuring genome instability in aging - A mini-review. *Gerontology*, 58(2), 129–138. <https://doi.org/10.1159/000334368>

172. Li X, Shu C, Yi G, Chaton CT, Shelton CL, y cols. (2013). Cyclic GMP–AMP synthase is activated by double-stranded DNA-induced oligomerization. *Immunity* 39(6):1019–31.

173. Liu, H., Zhang, H., Wu, X., Ma, D., Wu, J., Wang, L., ... Ge, B. (2018a). Nuclear cGAS suppresses DNA repair and promotes tumorigenesis. *Nature*, 563(7729), 131–136. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0629-6>

174. Liu, X., Yang, W., Guan, Z., Yu, W., Fan, B., Xu, N., y Liao, D. J. (2018b).

There are only four basic modes of cell death, although there are many ad-hoc variants adapted to different situations. *Cell and Bioscience*, 8(1), 1–12.

175. Loo T., Miyata K., Tanaka Y. y Takahashi A. (2020). Cellular senescence and senescence-associated secretory phenotype via the cGAS-STING signaling pathway in cancer. *Cancer Science*, 111(2), 304–311. <https://doi.org/10.1111/cas.14266>

176. Lopes-Paciencia S., Saint-Germain E., Rowell M., Ruiz A., Kalegari P., y Ferbeyre G. (2019). The senescence-associated secretory phenotype and its regulation. *Cytokine*, 117(February), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.01.013>

177. López-Otín C., Blasco M., Partridge L., Serrano M., y Kroemer G. (2013). The Hallmarks of Aging Longevity. *Cell*. 153(6): 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>.The

178. Lu B., Chen, H., y Hong-Guang, H. (2012). The relationship between apoptosis and aging. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 03(06), 705–711. <https://doi.org/10.4236/abb.2012.326091>

179. Lu T., y Finkel T. (2008). Free radicals and senescence. *Experimental Cell Research*, 314(9), 1918–1922. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.01.011>

180. Lund L., Romer J., Thomasset N., Solberg H., Pyke C., Bissel M., Dano K., Web Z. (1996) Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase independent and dependent pathways. *Development* 122: 181 – 193.

181. Lukášová, E., Kovařík, A., y Kozubek, S. (2018). Consequences of Lamin

B1 and Lamin B Receptor Downregulation in Senescence. *Cells*, 7(2), 11.
<https://doi.org/10.3390/cells7020011>

182. Lushchak V. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224(October), 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>

183. Ma Z., Zhao, Z., y Turk, J. (2012). Mitochondrial dysfunction and β -cell failure in type 2 diabetes mellitus. *Experimental Diabetes Research*, 2012(October 2014). <https://doi.org/10.1155/2012/703538>

184. Macip S., Igarashi, M., Berggren, P., Yu, J., Lee, S., y Aaronson, S. (2003). Influence of Induced Reactive Oxygen Species in p53-Mediated Cell Fate Decisions. *Molecular and Cellular Biology*, 23(23), 8576–8585. <https://doi.org/10.1128/mcb.23.23.8576-8585.2003>

185. MacKenzie, K., Carroll, P., Martin, C., Murina, O., Fluteau, A., Simpson, D... Jackson, A. (2017). CGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity. *Nature*, 548(7668), 461–465. <https://doi.org/10.1038/nature23449>

186. Manda-Handzlik A. y Demkow U. (2015). Neutrophils: The Role of Oxidative and Nitrosative Stress in Health and Disease. *Pulmonary Infection*, 51 60. doi:10.1007/5584_2015_117

187. Mandavilli B., Santos J., y Van Houten B. (2002). Mitochondrial DNA repair and aging. *Mutat Res* 509: 127–151, 2002

188. Magder S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Critical Care*, 10(1), 208. doi:10.1186/cc3992
189. Martin S. y Henry C. (2013). Distinguishing between apoptosis, necrosis, necroptosis and other cell death modalities. *Methods*, 61(2), 87–89.
190. Martelli A., Zweyer M., Ochs R., Tazzari P., Tabellini G., Narducci P. y Bortul R. (2001). *Journal of Cellular Biochemistry* 82:634-646
191. Medzhitov R. (2008) Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454(7203):428– 435. doi:10.1038/nature07201
192. Miquel, J., Economos, A., Fleming, J., y Johnson, J. (1980). Mitochondrial role in cell aging. *Experimental Gerontology*, 15(6), 575–591. [https://doi.org/10.1016/0531-5565\(80\)90010-8](https://doi.org/10.1016/0531-5565(80)90010-8)
193. Miquel J. (1992). An update on the mitochondrial-DNA mutation hypothesis of cell aging. *Mutation Research DNAAging*, 275(3–6), 209–216. [https://doi.org/10.1016/0921-8734\(92\)90024-J](https://doi.org/10.1016/0921-8734(92)90024-J)
194. Miquel J. (1998). An update on the oxygen stress-mitochondrial mutation theory of aging: Genetic and evolutionary implications. *Experimental Gerontology*. 33(1–2), 113–126. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(97\)00060-0](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(97)00060-0)
195. Moiseeva O, Mallette FA, Mukhopadhyay U., Moores A y Ferbeyre G. (2006). DNA damage signaling and p53-dependent senescence after prolonged beta-interferon stimulation. *Mol Biol Cell*;17(4):1583-1592. doi:10.1091/mbc.e05-09-0858
196. Moiseeva, O., Bourdeau, V., Roux, A., Deschênes-Simard, X., y Ferbeyre,

G. (2009). Mitochondrial Dysfunction Contributes to Oncogene-Induced Senescence. *Molecular and Cellular Biology*, 29(16), 4495–4507. <https://doi.org/10.1128/mcb.01868-08>

197. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J. y Altman D. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *BMJ* 339: b2535. doi: 10.1136/bmj.b2535

198. Moldoveanu T, Follis A., Kriwacki R., Green D. Many players in BCL-2 family affairs (2014). *Trends Biochem Sci.* 39(3):101-111. doi:10.1016/j.tibs.2013.12.006

199. Moskalev A., Shaposhnikov M., Plyusnina, E., Zhavoronkov, A., Budovsky A., Yanai H. y Fraifeld V. (2013). The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. *Ageing Research Reviews*, 12(2), 661–684. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.02.001>

200. Mordente, A., Meucci, E., Silvestrini, A., Martorana G. y Giardina, B. (2012). Chapter 18: Anthracyclines and mitochondria. In *Advances in Mitochondrial Medicine* (Vol. 942, Issue May 2019). <https://doi.org/10.1007/978-94-007-2869-1>.

201. Morgan M, y Liu Z. (2011). Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling Michael. *Cell Research* 21:103-115.

202. Motwani M., Pesiridis, S. y Fitzgerald, K. (2019). DNA sensing by the cGAS–STING pathway in health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 20(11), 657–674.

203. Movita D., van de Garde, M., Biesta, P., Kreefft, K., Haagmans, B., Zuniga, E., ...Vanwolleghem, T. (2015). Inflammatory Monocytes Recruited to the Liver within 24 Hours after Virus-Induced Inflammation Resemble Kupffer Cells but Are Functionally Distinct. *Journal of Virology*, 89(9), 4809–4817.
204. Muñoz-Espín D., y Serrano M. (2014). Cellular senescence: From physiology to pathology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(7), 482–496. <https://doi.org/10.1038/nrm3823>
- Mukai, K. y cols. (2016). Activation of STING requires palmitoylation at the Golgi. *Nat. Commun.* 7, 11932.
205. Naciones Unidas, Departamento de Asuntos Económicos y Sociales, División de Población, (2017). Envejecimiento de la población mundial 2017. Naciones Unidas, Nueva York.
206. Nathan C., y Cunningham-Bussel A. (2013). Beyond oxidative stress: An immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews Immunology*, 13(5), 349–361. <https://doi.org/10.1038/nri3423>
207. Nagata S. (2018). Apoptosis and Clearance of Apoptotic Cells. *Annual Review of Immunology*, 36(1), 489–517. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053010>
208. Nagata S. (2005). DNA degradation in development and programmed cell death. *Annu Rev Immunol.*;23:853–75.
209. Naito M. y cols. (1997). Phosphatidylserine externalization is a downstream event of interleukin-1 beta-converting enzyme family protease activation during apoptosis. *Blood*. 89: 2060–66

210. Nazmi, A., Field, R. H., Griffin, E. W., Haugh, O., Hennessy, E., Cox, D., ... Cunningham, C. (2019). Chronic neurodegeneration induces type I interferon synthesis via STING, shaping microglial phenotype and accelerating disease progression. *Glia*, 67(7), 1254–1276. <https://doi.org/10.1002/glia.23592>.
211. Neeley, W. y Essigmann, J. (2006). Mechanisms of formation, genotoxicity, and mutation of guanine oxidation products. *Chemical Research in Toxicology*, 19(4), 491–505.
212. Nicholson L. (2016). The immune system. *Essays in Biochemistry*, 60(3), 275–301. <https://doi.org/10.1042/EBC20160017>
213. Nie L., Zhang P., Wang Q., Zhou X. y Wang Q. (2019) lncRNA-Triggered Macrophage Inflammaging Deteriorates Age-Related Diseases. *Hindawi Mediators of Inflammation* Volume 2019, Article ID 4260309, 12 page.
214. Niedernhofer, L., Gurkar, A., Wang, Y., Vijg, J., Hoeijmakers, J., y Robbins, P. (2018). Nuclear Genomic Instability and Aging. *Annual Review of Biochemistry*, 87(1), 295–322. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-012239>
215. Niki E. (2016). Oxidative stress and antioxidants: distress or eustress?, *Arch. Biochem. Biophys.* 595 19–24.
216. Ning X, Wang Y, Jing M, Sha M, Lv M, Gao P, y cols. (2019). Apoptotic caspases suppress Type I interferon production via the cleavage of cGAS, MAVS, and IRF3. *Mol Cell*. 74:19–31.e7. doi: 10.1016/j.molcel.2019.02.013.
217. Nguyen H., Hiscott J., y Pitha P. (1997). *The growing family of interferon regulatory factors*. *Cytokine y Growth Factor Reviews*, 8(4), 293–

312. doi:10.1016/s1359-6101(97)00019-1

218. Olganier D. y cols. (2018). Nrf2 negatively regulates STING indicating a link between antiviral sensing and metabolic reprogramming. *Nat Commun* 9, 3506 <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05861-7>

219. Ovadya Y., Landsberger T., Leins H., Vadai E., Gal H., Biran A.,... Krizhanovsky V. (2018). Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07825-3>

220. Otsuka R. y Seino K. (2020). Macrophage activation syndrome and COVID-19. *Inflamm Regener*. 40, 19 <https://doi.org/10.1186/s41232-020-00131-w>

221. Ozawa T. (1995). Mechanism of somatic mitochondrial DNA mutations associated with age and diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1271(1), 177–189. doi:10.1016/0925-4439(95)00026-z

222. Paludan S., Reinert L., y Hornung V. (2019). DNA-stimulated cell death: implications for host defence, inflammatory diseases and cancer. *Nature Reviews Immunology*, 19(3), 141–153. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0117-0>

223. Paludan S. y Bowie A. (2013). Immune Sensing of DNA. *Immunity* 38 (23): 870-880.

224. Passos J., Saretzki G., y Von Zglinicki T. (2007). DNA damage in telomeres and mitochondria during cellular senescence: Is there a connection? *Nucleic Acids Research*, 35(22), 7505–7513. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm893>

225. Passos, J., Simillion, C., Hallinan, J., Wipat, A., y Von Zglinicki, T. (2009).

Cellular senescence: Unravelling complexity. *Age*, 31(4), 353–363.
<https://doi.org/10.1007/s11357-009-9108-1>

226. Passos J., Nelson, G., Wang C., Richter T., Simillion C.,... Von Zglinicki T. (2010). Feedback between p21 and reactive oxygen production is necessary for cell senescence. *Molecular Systems Biology*, 6(347), 1–14.
<https://doi.org/10.1038/msb.2010.5>

227. Phaniendra A., Jestadi, D., y Periyasamy L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>

228. Perez-Campo R, López-Otín-Torres M, Cadenas S, Rojas C, Barja G. (1998). The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach. *J Comp Physiol B*. 168(3):149-158.
[doi:10.1007/s003600050131](https://doi.org/10.1007/s003600050131)

229. Peters, T., Weiss, J., Sindrilaru, A., Wang, H., Oreshkova, T., Wlaschek, ... Scharffetter-Kochanek, K. (2009). Reactive oxygen intermediate-induced pathomechanisms contribute to immunosenescence, chronic inflammation and autoimmunity. *Mechanisms of Ageing and Development*, 130(9), 564–587.
<https://doi.org/10.1016/j.mad.2009.07.003>

230. Pisoschi A. y Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>

231. Ponnappan S., y Ponnappan U. (2011). Aging and immune function: Molecular mechanisms to interventions. *Antioxidants and Redox Signaling*, 14(8), 1551–1585. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3228>
232. Pontificia Universidad Católica de Chile y Caja de Compensación Los Andes. (2016). Encuesta Calidad de Vida en la Vejez.
233. Powers E., Morimoto R., Dillin A., Kelly J. y Balch W. (2009). Biological and chemical approaches to diseases of proteostasis deficiency. *Annu Rev Biochem.*; 78:959–991.
234. Quan Y., Xin Y., Tian G., Zhou J., y Liu X. (2020). Mitochondrial ROS-Modulated mtDNA: A Potential Target for Cardiac Aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9423593>
235. Rai P., Onder, T., Young, J., McFaline, J., Pang, B., Dedon, P., y Weinberg, R. (2009). Continuous elimination of oxidized nucleotides is necessary to prevent rapid onset of cellular senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(1), 169–174. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809834106>
236. Rea I., Gibson, D., McGilligan, V., McNerlan, S., Denis Alexander, H., y Ross O. (2018). Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines. *Frontiers in Immunology*, 9(APR), 1–28. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00586>
237. Rebbaa A., Zheng, X., Chou, P. y Mirkin, B. (2003). Caspase inhibition switches doxorubicin-induced apoptosis to senescence. *Oncogene* 22, 2805–2811

238. Rebelos A. y cols. (2018). Aging Hallmarks: The Benefits of Physical Exercise. *Frontiers in Endocrinology*, 9. doi:10.3389/fendo.2018.00258
239. Reth M. (2002). Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation. *Nat Immunol*;3(12):1129–1134.
240. Rezus E., Cardoneanu A., Burlui A., Luca A., Codreanu C., Tamba B. y Rezuş C. (2018). The Link Between Inflammaging and Degenerative Joint Diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 614.
241. Ritchie C. y cols. (2019) SLC19A1 is an importer of the immunotransmitter cGAMP. *Mol. Cell* 75 (2): 372-381 <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.05.006>
242. Roers A., Hiller B. y Hornung V. (2016). Recognition of Endogenous Nucleic Acids by the Innate Immune System. *Immunity*. 44(4):739-754.
243. Rodier F. y cols. (2009). Persistent DNA damage signalling triggers senescence associated inflammatory cytokine secretion. *Nat. Cell Biol.* 11, 973–979.
244. Rodier, F., Coppé, J., Patil, C., Wieteke, A., Muñoz, D., Raza, S., ... Campisi, J. (2010). *Associated Inflammatory Cytokine Secretion*. 11(8), 973–979. <https://doi.org/10.1038/ncb1909.Persistent>
245. Rodier F. y Campisi J. (2011). Four faces of cellular senescence. *Journal of Cell Biology*, 192(4), 547–556. <https://doi.org/10.1083/jcb.201009094>
246. Rongvaux A. (2018). Innate immunity and tolerance toward mitochondria. *Mitochondrion*, 41: 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2017.10.007>
247. Rongvaux A. y cols. (2014). Apoptotic caspases prevent the induction of type I interferons by mitochondrial DNA. *Cell*, 159(7), 1563–1577.

248. Rutault K, Alderman C, Chain B y Katz D. (1999). Reactive oxygen species activate human peripheral blood dendritic cells. *Free Radic Biol Med.* 26(1–2):232–238.
249. Saki M., y Prakash A. (2017). DNA damage related crosstalk between the nucleus and mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 216–227. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.050>
250. Salminen A., Ojala J., y Kaarniranta K. (2011). Apoptosis and aging: Increased resistance to apoptosis enhances the aging process. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(6), 1021–1031.
251. Salminen A., Kaarniranta K., y Kauppinen A. (2012). Inflammaging: disturbed interplay between autophagy and inflammasomes. *Aging*, 4(3), 166.
252. Salvioli S, Monti D, Lanza C, y cols. Immune system, cell senescence, aging and longevity--inflamm-aging reappraised. *Curr Pharm Des.* 2013;19(9):1675-1679.
253. Sansoni P.y cols. (2008). *The immune system in extreme longevity. Experimental Gerontology*, 43(2)
254. Santo A., Zhu H., y Li Y. (2016). Free Radicals: From Health to Disease. *Reactive Oxygen Species*, October. <https://doi.org/10.20455/ros.2016.847>
255. Stahl E. y Brown B. (2015). Cell Therapy Strategies to Combat Immunosenescence. *Organogenesis*, 11(4), 159–172. doi:10.1080/15476278.2015.1120046

256. Satthaporn S. y Eremin O. (2001). Dendritic cells: Biological functions. *J R Coll Surg Edinb.*;46(1):9-19.
257. Schiffrin, E., Morley, J., Donnet-Hughes, A., y Guigoz, Y. (2010). The inflammatory status of the elderly: The intestinal contribution. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 690(1–2), 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.07.011>
258. Schmitt V., Hahn M. y Kästele V., y cols. (2017). Interleukin-36 receptor mediates the crosstalk between plasma cells and synovial fibroblasts. *Eur J Immunol.*47(12):2101-2112. doi:10.1002/eji.201646788
259. Schreck R., Albermann K. y Baeuerle P. (1992). Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review). *Free Radic Res Commun.*;17(4):221-237. doi:10.3109/10715769209079515
260. Schneider W., Chevillotte M. y Rice C. (2014). Interferon- stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu. Rev. Immunol.* 32, 513–545
261. Schoggins J. (2019). Interferon-Stimulated Genes: What Do They All Do? *Annual Review of Virology*, 6, 567–584. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092818-015756>
262. Sedelnikova O. y cols. (2004) Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unrepairable double-strand breaks. *Nat Cell Biol* 6:168–170

263. Servicio Nacional del Adulto Mayor (2020) (07 de Junio de 2020).
<http://www.senama.gob.cl/servicio-nacional-del-adulto-mayor>
264. Servicio Nacional del Adulto Mayor (2017) (07 de Junio de 2020).
<http://www.senama.gob.cl/noticias/censo-2017-revelo-que-mas-del-16-de-la-poblacion-chilena-es-adulto-mayor>
265. Seluanov, A., Gorbunova, V., Falcovitz, A., Sigal, A., Milyavsky, M., Zurer, I., Shohat, G., Goldfinger, N., y Rotter, V. (2001). Change of the Death Pathway in Senescent Human Fibroblasts in Response to DNA Damage Is Caused by an Inability To Stabilize p53. *Molecular and Cellular Biology*, 21(5), 1552–1564.
<https://doi.org/10.1128/mcb.21.5.1552-1564.2001>
266. Seluanov A., Mittelman D., Pereira-Smith O., Wilson J. y Gorbunova V. (2004). DNA End joining becomes less efficient and more error-prone during cellular senescence. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101(20):7624-7629.
[doi:10.1073/pnas.0400726101](https://doi.org/10.1073/pnas.0400726101)
267. Shay J. y Wright W. (2010). Telomeres and telomerase in normal and cancer stem cells. *FEBS Lett*. 10;584(17):3819-25. [doi:10.1016/j.febslet.2010.05.026](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.05.026)
268. Shekhidem, H. A., Sharvit, L., Leman, E., Manov, I., Roichman, A., Holtze, S., Huffman, D., Cohen, H. Y., Hildebrandt, T. B., Shams, I., y Atzmon, G. (2019). Telomeres and longevity: A cause or an effect? *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms20133233>
269. Shigenaga, M., Hagen, T., y Ames, B. (1994). Oxidative damage and

mitochondrial decay in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(23), 10771–10778. <https://doi.org/10.1073/PNAS.91.23.10771>

270. Shimi, T., Butin-Israeli, V., Adam, S., Hamanaka, R., Goldman, A., Lucas, C., Shumaker, D. K., Kosak, S., Chandel, N., y Goldman, R. (2011). The role of nuclear lamin B1 in cell proliferation and senescence. *Genes and Development*, 25(24), 2579–2593. <https://doi.org/10.1101/gad.179515.111>

271. Shu, C., Yi, G., Watts, T., Cheng C., y Li, P. (2012). Structure of STING bound to cyclic di-GMP reveals the mechanism of cyclic dinucleotide recognition by the immune system. *Nature Structural and Molecular Biology*, 19(7), 722–724. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2331>

272. Sies H. y Jones D. (2007). Oxidative stress. In: Fink G, editor. *Encyclopedia of stress*. Vol.3, 2nd ed. Oxford: Academic Press, pp 45–48.

273. Sies H., y Jones D. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>.

274. Sies H. (2020). *Oxidative stress: eustress and distress*. Elsevier. Academic Press.

275. Snezhkina A., Kudryavtseva, A. V, Kardymon, O., Savvateeva M., Melnikova N., Krasnov G., y Dmitriev A. (2019). ROS Generation and Antioxidant Defense Systems in Normal and Malignant Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–17. doi:10.1155/2019/6175804

276. Soudet, J., Jolivet, P., y Teixeira, M. (2014). Elucidation of the DNA end-replication problem in *saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Cell*, 53(6), 954–964. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.02.030>
277. Svilar, D., Goellner, E. M., Almeida, K., y Sobol, R. (2011). Base excision repair and lesion-dependent subpathways. *Antioxidants y Redox Signaling*, 14(12), 2491–2507. <https://doi.org/10.1089=ars.2010.3466>
278. Sliter D. y cols. (2018). Parkin and PINK1mitigate STING- induced inflammation. *Nature* 561, 258–262
279. Stetson, D., Ko J., Heidmann T., y Medzhitov, R. (2008). Trex1 Prevents Cell-Intrinsic Initiation of Autoimmunity. *Cell*, 134(4), 587–598. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.06.032>
280. Sun W, Li Y, Chen L, Chen H, You F, y cols. (2009). ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization. *PNAS* 106(21):8653–58
281. Sun, L., Wu, J., Du, F., Chen, X. y Chen, Z. J. (2013) Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science* 339, 786–791
282. Sze, A., Belgnaoui, S. M., Olganier, D., Lin, R., Hiscott, J., y Van Grevenynghe, J. (2013). Host restriction factor SAMHD1 limits human T cell leukemia virus type 1 infection of monocytes via STING-mediated apoptosis. *Cell Host and Microbe*, 14(4), 422–434. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.09.009>
283. Takahashi A., Loo T., Okada R., Kamachi F., Watanabe Y., Wakita, M.,...

Hara E. (2018). Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells. *Nature Communications*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03555-8>

284. Takahashi A., Okada, R., Nagao, K., Kawamata, Y., Hanyu, A., Yoshimoto, S.,... Hara E. (2017). Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells. *Nature Communications*, 8.

285. Tao J., Zhou X., y Jiang Z. (2016). cGAS-cGAMP-STING: The three musketeers of cytosolic DNA sensing and signaling. *IUBMB Life*, 68(11), 858–870.

286. Tao L., Lemoff A., Wang G., Zarek C., Lowe A., Yan N., Reese A. Reactive oxygen species oxidize STING and suppress interferon production. (2020). *Elife*. 9:e57837. doi: 10.7554/eLife.57837.

287. Tait S. y Green D. (2010). Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11, 621–632

288. Tilstra J. y cols. (2012). NFκB inhibition delays DNA damage–induced senescence and aging in mice *J Clin Invest*. 122(7):26012612.

289. Torralba, D., Baixauli, F., Villarroya-Beltri, C., Fernández-Delgado, I., Latorre-Pellicer, A., Acín-Pérez, R., ...Sánchez-Madrid, F. (2018). Priming of dendritic cells by DNA-containing extracellular vesicles from activated T cells through antigen-driven contacts. *Nature Communications*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05077-9>

290. Tower J. (2015). Programmed cell death in aging. *Ageing Research Reviews*, 23(PA), 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.04.002>

291. Tsai C., Shen C., Liao H., Li K., Lee H., Lu C., Wu H., Kuo Y., Hsieh S., y Yu C. (2019). Molecular and Cellular Bases of Immunosenescence, Inflammation, and Cardiovascular Complications Mimicking "Inflammaging" in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *International journal of molecular sciences*, 20(16), 3878. <https://doi.org/10.3390/ijms20163878>
292. Turrens J. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *Journal of Physiology*, 552(2), 335–344. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
293. Uchil P., Nagarajan A. y Kumar P. (2017). B-Galactosidase. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2017(10), 774–779. <https://doi.org/10.1101/pdb.top096198>
294. Van Deursen J. (2014). The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509(7501), 439–446. <https://doi.org/10.1038/nature13193>
295. Vega B. (2008). Inmunología para el médico general, Fagocitosis. *Rev Fac Med UNAM*. 51: 6.
296. Ventura, M. T., Casciaro, M., Gangemi, S., y Buquicchio, R. (2017). Immunosenescence in aging: Between immune cells depletion and cytokines up-regulation. *Clinical and Molecular Allergy*, 15, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12948-017-0077-0>
297. Vijg, J., y Suh, Y. (2013). Genome Instability and Aging. *Annual Review of Physiology*, 75(1), 645–668.
298. Villalobos P. (2018). Is aging a problem?: Dependency, long-term care, and public policies in Chile. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 42, 1–5.

doi:10.26633/rpsp.2018.168

299. Vitale G., Salvioli S., y Franceschi C. (2013). Oxidative stress and the ageing endocrine system. *Nature Reviews Endocrinology*, 9(4), 228–240. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.29>

300. Vousden K., y Lane D. (2007). P53 in Health and Disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(4), 275–283. <https://doi.org/10.1038/nrm2147>

301. Wan D., Jiang W., y Hao J. (2020). Research Advances in How the cGAS-STING Pathway Controls the Cellular Inflammatory Response. *Frontiers in Immunology*, 11(April), 1–25. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00615>

302. West A, Khoury-Hanold W, Staron M, y cols. (2015). Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *Nature*.;520(7548):553-557.

303. Wellinger R. (2014). In the end, what's the problem? *Molecular Cell*, 53(6), 855–856.

304. World Health Organization y National Institute of Aging (2011). Global Health and Aging. Recuperado de https://www.who.int/ageing/publications/global_health.pdf

305. Wu J. y Chen Z. (2014). Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids. *Annu Rev Immunol*. 32:461-488.

306. Wu R., Upton, H., Vogan J., y Collins K. (2017). Telomerase Mechanism of Telomere Synthesis. *Annual Review of Biochemistry*, 86(1), 439–460. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045019>

307. Wu Z., y Miyamoto S. (2007). Many faces of NFκB signaling induced by

genotoxic stress. *Journal of Molecular Medicine*, 85(11), 1187–1202.
<https://doi.org/10.1007/s00109-007-0227-9>

308. Xia P., Wang S., Gao P., Gao G., y Fan Z. (2016). DNA sensor cGAS-mediated immune recognition. *Protein and Cell*, 7(11), 777–791.
<https://doi.org/10.1007/s13238-016-0320-3>

309. Yan N. (2017). Immune diseases associated with TREX1 and STING dysfunction. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 37(5), 198–206.
<https://doi.org/10.1089/jir.2016.0086>

310. Yang Y., Bazhin A., Werner J., y Karakhanova S. (2013). Reactive oxygen species in the immune system. *International Reviews of Immunology*, 32(3), 249–270. <https://doi.org/10.3109/08830185.2012.755176>

311. Yang H. y cols. (2017). cGAS is essential for cellular senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(23):4612–4620.
[doi:10.1073/pnas.1705499114](https://doi.org/10.1073/pnas.1705499114)

312. Yatim, N., Cullen, S., y Albert, M. L. (2017). Dying cells actively regulate adaptive immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 17(4), 262–275.
<https://doi.org/10.1038/nri.2017.9>

313. Zanni, F., Vescovini, R., Biasini, C., Fagnoni, F., Zanlari, L., Telera, A., ...Sanson, P. (2003) Marked increase with age of type 1 cytokines within memory and effector/cytotoxic CD8+ T cells in humans: a contribution to understand the relationship between inflammation and immunosenescence. *Exp. Gerontol.* 38, 981–987

314. Zhang X., Shi H., Wu. J., Zhang X., Sun L., Chen C. y Chen Z. (2013). Cyclic GMP-AMP Containing Mixed Phosphodiester Linkages Is An Endogenous High-Affinity Ligand for STING. *Molecular Cell*. 51 (2): 226–235.
315. Zhang C., Shang G., Gui X. y cols. (2019). Structural basis of STING binding with and phosphorylation by TBK1. *Nature* 567, 394–398.
316. Zhu Y., Liu X., Ding X., Wang F. y Geng X. (2019). Telomere and its role in the aging pathways: telomere shortening, cell senescence and mitochondria dysfunction. *Biogerontology*, 20(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10522-018-9769-1>.
317. Zou H. y Niswander L. (1996) Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation. *Science* 272: 738 – 741.
318. Zhu H., Wang J., Santo A. y Li Y. (2013). Downregulation of antioxidants and phase 2 proteins. In: *Molecular Basis of Oxidative Stress: Chemistry, Mechanisms and Disease Pathogenesis* (FA Villamena). Willey, Hoboken, NJ, USA., p. 113–22.