

RESPUESTA AL ESTRÉS CELULAR. IMPLICACIONES EN ENVEJECIMIENTO Y OTRAS PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON LA EDAD

Juan José Berlanga Chiquero

Departamento de Biología Molecular. Universidad Autónoma de Madrid

RESUMEN

Las células, de forma individual, pero también formando parte de organismos complejos, están expuestas a agresiones procedentes del ambiente que las rodea. Dichas agresiones constituyen lo que conocemos como estrés celular, al que células y organismos deben adaptarse para poder sobrevivir. La respuesta al estrés afecta especialmente a la expresión génica, es decir, al repertorio de proteínas presentes en las células y que se encargarán de dar una respuesta adecuada para mitigar los efectos nocivos del estrés y promover la adaptación celular a la nueva situación ambiental. Nuestros resultados de los últimos años han permitido establecer y confirmar la relevancia de un adecuado control del mecanismo de fabricación de las proteínas en distintas funciones básicas para la supervivencia de las células expuestas a distintas formas de estrés.

1. ANTECEDENTES Y PERSPECTIVAS

La respuesta al estrés permite a los seres vivos adaptarse a un ambiente cambiante que los expone a radiación, cambios de temperatura, agentes tóxicos y a la eventual carencia de nutrientes. Una adecuada respuesta de los organismos al estrés no sólo determina sus posibilidades de sobrevivir y adaptarse, sino que también puede afectar en gran medida al proceso natural de envejecimiento y al desarrollo de algunas patologías asociadas al mismo, como por ejemplo cáncer, diabetes o enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (Haigis y Yankner, 2010; Kourtis y Tavernarakis, 2011; López-Otín y colaboradores, 2013).

La naturaleza de la respuesta al estrés en mamíferos es fundamentalmente adaptativa, y debe de entenderse como un intento del organismo de restablecer la homeostasis celular y sistémica que el estrés ha alterado (Haigis y Yankner, 2010), es decir, recuperar en la medida de lo posible la situación de dinámica celular anterior a la agresión recibida. Además, episodios de estrés de moderada o baja intensidad a lo largo de la vida parecen preparar al animal para soportar y responder mejor a futuras situaciones de estrés agudo. Este concepto, denominado hormesis, no ha sido formalmente probado todavía, aunque existen datos experimentales que lo apoyan (Calabrese y colaboradores, 2011).

El proceso de hormesis ha cobrado recientemente un gran protagonismo porque se ha propuesto como responsable, al menos en parte, de los efectos beneficiosos que la restricción calórica y nutricional ejerce sobre la longevidad de animales de laboratorio (Calabrese y colaboradores, 2011; Masoro, 2005). En estos experimentos se ha comprobado que los animales sometidos a lo largo de la mayor parte de su vida a dietas que contienen bajas concentraciones de azúcares (principales fuentes de energía celular) o de algunos aminoácidos (nutrientes esenciales y componentes de las proteínas) consiguen vivir durante más tiempo ($\approx 20\%$) que los que siguieron una dieta normal. En este proceso, el ritmo de fabricación de las proteínas (proceso conocido también como “traducción”) de las células se presenta como modulador de la longevidad en mamíferos y en otros animales a través de las rutas de

respuesta a nutrientes, como la hormona insulina a nivel sistémico, o como la proteína mTOR a nivel celular (Kourtis y Tavernarakis, 2011).

Menos conocidos son los efectos que una respuesta al estrés alterada ejerce a largo plazo sobre la aparición de tumores en animales, aunque se sospecha que ambos procesos deben de estar asociados. En este sentido, una hipótesis que manejamos en nuestro grupo, y en general en nuestro campo de estudio, es la posibilidad de que privaciones nutricionales esporádicas o mantenidas a lo largo de la vida de un animal reduzcan su sensibilidad ante distintas agresiones ambientales, pudiendo responder mejor a las mismas y evitando así daños mayores que puedan derivar en la aparición de determinadas enfermedades relacionadas o no con la edad, haciendo que gocen de una mejor salud general y puedan vivir durante más tiempo; un ejemplo de este tipo de dolencias podría ser la aparición de algunos tipos de tumores promovida por la radiación solar ultravioleta (UV), entre otros. Esta idea podría explicar la buena salud y longevidad de algunos grupos de población que se criaron en las penurias de las guerras del siglo pasado.

Prácticamente todos los tipos de estrés celular que se conocen promueven la activación de alguna de las cuatro eIF2 α quinasas que existen en las células de los mamíferos (GCN2, PKR, PERK y HRI). La activación de estas proteínas, a su vez, produce la fosforilación transitoria del factor de iniciación de la traducción eIF2 en su subunidad α (eIF2 α). Dicha fosforilación, consistente en la modificación química de eIF2 α , provoca una inactivación parcial de esta proteína esencial para la síntesis de todas las proteínas celulares. El efecto final de estos procesos inducidos por el estrés, es la parada instantánea de la síntesis general de proteínas. Sin embargo, y al mismo tiempo, por un mecanismo relativamente complejo, se produce un aumento selectivo de la síntesis de algunas proteínas cuya función principal es la de promover y coordinar una adecuada respuesta al estrés que permita a las células adaptarse y sobrevivir a él (Dever, 2002). Por tanto, la fosforilación de eIF2 α es esencial para atenuar el efecto directo que el estrés pueda tener sobre las proteínas de nueva síntesis (proteostasis), y para desencadenar aquellos cambios en la expresión génica de la célula encaminados a soportar y superar el estrés (Harding y colaboradores, 2003).

En mamíferos se detecta una especialización de las eIF2 α quinasas, de modo que cada una de ellas responde de manera específica a ciertas formas de estrés. La quinasa GCN2, la única de las cuatro que está presente en todos los organismos eucariotas, responde a estrés nutricional (fundamentalmente carencia de aminoácidos) y a la radiación UV. GCN2 dispone de un dominio de unión a ARN transferente (ARNt) que regula la actividad de la quinasa, de modo que un aumento en los niveles de ARNt no cargados (ARNt no unidos a aminoácido) debido a una carencia nutricional, dispara la activación de la quinasa (Dever, 2002; Deng y colaboradores, 2002; Berlanga y colaboradores, 2006).

No se conoce todavía el mecanismo molecular de activación de la quinasa por luz UV, aunque es posible que también implique un mecanismo similar. Los animales carentes de la quinasa GCN2, y las células derivadas de ellos, muestran una sensibilidad mayor al estrés nutricional y desarrollan alteraciones metabólicas cuando los animales se someten a dietas carenciales en algunos aminoácidos como la leucina (Guo y Cavener, 2007; Maurin y colaboradores, 2005).

2. NUESTRAS APORTACIONES

2.1. Defensa celular frente a infección viral y contramedidas

Los virus son parásitos intracelulares que proliferan dentro de las células utilizando la maquinaria celular de biosíntesis tanto de proteínas como de material genético. Una vez se ha producido un gran número de nuevos virus, éstos salen de la célula destruyéndola a la vez que se propagan invadiendo las células vecinas. Para defenderse de estos fatídicos invasores, las células han desarrollado o adaptado algunos mecanismos para intentar impedir la multiplicación de estos sencillos seres vivos.

Uno de estos mecanismos consiste en bloquear de forma temprana la síntesis de las proteínas virales, algunas de ellas esenciales no sólo para formar parte de la estructura del virus, sino también para permitir la replicación del material genético que contiene la información necesaria para que el virus lleve a cabo sus ciclos de infección y propagación. Hace mucho tiempo que se descubrió que el material genético de algunos virus era capaz de unirse a una proteína celular, llamada PKR, y activarla. PKR es una eIF2 α quinasa que al actuar sobre eIF2 y fosforilarlo produce un bloqueo general de la síntesis de proteínas que afecta tanto a la propia célula como al virus, impidiendo la progresión del ciclo de reproducción viral (Dauber y Wolff, 2009).

En nuestro grupo obtuvimos evidencias de que en este mecanismo de defensa celular frente a la infección también participaba otra de las cuatro eIF2 α quinasas, GCN2, que de forma similar a PKR era activada por la unión directa del genoma viral a esta proteína. Este genoma, hecho del mismo material que el activador natural de GCN2, ARNt, se une a la proteína en el mismo lugar en el que se une éste. Así, nuestros resultados sugerían que al entrar el material genético del virus en la célula para intentar expresar sus proteínas, éste promueve la activación de GCN2, que a su vez modifica la actividad del factor eIF2 produciéndose un bloqueo en la maquinaria de síntesis de proteínas que impide la progresión del ciclo de infección viral (Berlanga y colaboradores, 2006). Estas conclusiones están avaladas por experimentos en los que células y animales modificados genéticamente para que no expresen la proteína GCN2 son mucho más permisivos a la infección viral que los normales.

Entonces, pensamos que este mecanismo podría ser más o menos general y que podría afectar a otros virus cuyo genoma estuviera constituido por ARN, de modo que se pudiera desarrollar algún tratamiento terapéutico frente a los virus de este tipo basado en la modulación de la actividad de la proteína GCN2. De este modo, comprobamos que en ensayos in vitro esta proteína se activaba en presencia del genoma de algunos virus que causan enfermedades humanas, como la poliomielitis (virus de la polio, PV) y la inmunodeficiencia adquirida tipo 1 (HIV-1, SIDA). Como cabía esperar la infección de las células con estos virus provoca la fosforilación del factor eIF2, principal sustrato de GCN2 y responsable del bloqueo de la síntesis de proteínas, pero para nuestra sorpresa también encontramos que durante la infección con el virus HIV-1 se produce una rotura de la proteína GCN2, aparentemente debido a la acción de una proteína del virus.

Esta proteína viral, llamada proteasa por su capacidad para romper de forma muy específica a otras proteínas, produce una rotura en GCN2 que hace que ésta quede inactivada para bloquear la síntesis de proteínas mediante la fosforilación de eIF2. De esta forma, el virus, afectado en su ciclo vital por la acción de la proteína GCN2, parece haber desarrollado una herramienta, como es la rotura de la misma, utilizando una proteína propia, la proteasa, que además tiene otras funciones específicas esenciales para el ciclo de vida del virus, y así contrarrestar el mecanismo de defensa antiviral celular (del Pino y colaboradores, 2012). Estudios posteriores aún no publicados nos han permitido desvelar que al menos otras dos proteínas esenciales del virus HIV-1 son capaces de bloquear la actividad de GCN2, en este caso, interfiriendo con la necesaria interacción de ésta con su sustrato eIF2.

Por tanto, si bien las células han desarrollado sistemas que les permiten luchar contra agresiones externas, como la infección por virus y defenderse de ellos, éstos han encontrado estrategias que les permitirían evadir los sistemas defensivos celulares para conseguir su propósito de supervivencia y propagación como cualquier otro organismo vivo. En cualquier caso, el control de la actividad de proteínas como GCN2 parece ser una valiosa herramienta de aplicación general para luchar contra las infecciones virales que tantos y tan graves problemas de salud provocan.

2.2. Regulación de la respuesta a estrés por GCN2 mediante su interacción con otras proteínas

Dada la interacción funcional de GCN2 con algunas proteínas virales y que su activación en algunas situaciones fisiopatológicas no es fácilmente explicable por su interacción con ARNt o ARN

viral, decidimos estudiar si la actividad de esta proteína podría estar regulada por su interacción física y/o funcional con otras proteínas. Así, utilizando técnicas de análisis masivo, encontramos que GCN2 parece estar unida a otras proteínas celulares que podrían tener una relación funcional con ella; principalmente encontramos proteínas del citoesqueleto celular, es decir, proteínas que constituyen filamentos que contribuyen a estructurar un esqueleto que, por una parte, ayuda a mantener la forma adecuada de la célula y que, por otra parte, sirven de auténticas vías de transporte de moléculas entre distintas regiones celulares con tareas específicas.

También encontramos una relación con al menos una proteína implicada en diversas funciones relacionadas con la síntesis, procesamiento, transporte y estabilidad de los RNA mensajeros (RNAm), que a su vez son parte esencial del proceso de síntesis de proteínas en el que GCN2 está muy directamente involucrada. De momento no tenemos evidencias directas de la relación funcional de GCN2 con estas proteínas, sin embargo, sí hemos obtenido evidencias experimentales muy concluyentes de la regulación de la actividad de esta proteína por su interacción funcional con otras proteínas celulares que también tienen relación con el proceso de síntesis de proteínas, al tratarse de componentes dinámicos de los ribosomas (máquinas moleculares encargadas de la síntesis de proteínas en las células).

Estas proteínas no esenciales, pero aparentemente relacionadas con la síntesis diferencial de proteínas en los ribosomas, estimulan enormemente la actividad de GCN2 sobre el factor eIF2, incluso siendo mucho mejores activadores que los ARNt y ARN virales, en experimentos in vitro y, además, son necesarias para que las células respondan a determinadas formas de estrés celular, ya que células modificadas para impedir su expresión son incapaces de activar GCN2 y modificar el estado de fosforilación del factor eIF2 (Jiménez-Díaz y colaboradores, 2013).

Estos resultados revelan una forma alternativa de activación de la eIF2 α quinasa GCN2, ampliando el abanico de posibilidades de controlar su actividad en las células, lo que podría ser utilizado con fines terapéuticos frente a infecciones virales o en otras situaciones patológicas que lo requieran.

2.3. Respuesta al estrés y supervivencia en el sistema modelo unicelular *Schizosaccharomyces pombe*

Aunque desde el punto de vista práctico lo que más nos interesa es conocer cómo funcionan nuestras células y cómo solucionar los distintos problemas que en forma de enfermedad afectan a los seres humanos, la investigación necesita sistemas modelo más sencillos donde estudiar procesos esenciales y situaciones patológicas que nos permitan obtener conclusiones y soluciones aplicables a los humanos. Este es el caso de la levadura unicelular *Schizosaccharomyces pombe* que, por una parte, debido a su baja complejidad y a la facilidad para su manipulación genética, nos permite llevar a cabo estudios que serían inviables económica y éticamente en seres humanos. Por otra parte, y a pesar de su sencillez, por compartir con las células humanas muchos de los procesos esenciales, permiten trasladar los resultados obtenidos fácilmente a humanos.

En la parte que nos interesa, esta levadura, a diferencia de las células humanas, que contienen cuatro eIF2 α quinasas (GCN2, HRI, PERK, PKR), tiene tres eIF2 α quinasas, una del tipo GCN2 y otras dos del tipo HRI, por lo que aparentemente podría responder de manera diferencial a distintas formas de estrés celular. Para comprobarlo realizamos manipulaciones genéticas que nos permitieron obtener células que contienen dos, una o ninguna eIF2 α quinasa. A continuación sometimos estas células a distintos tratamientos que producían estrés celular: choque térmico, por aumento súbito de la temperatura; estrés oxidativo, por tratamiento con el oxidante peróxido de hidrógeno; metales pesados, como el cadmio; agentes que dañan el material genético, provocando una respuesta celular de reparación; privación de nutrientes esenciales como la glucosa o la fuente de nitrógeno. De esta

manera estudiamos si estas proteínas se activaban o no en respuesta a cada tipo de estrés y la relevancia que esta activación podría tener sobre la adaptación y supervivencia de las células.

En primer lugar observamos que efectivamente existía cierto grado de especialización, de modo que no todas las eIF2 α quinasas respondían igual a las distintas agresiones ambientales, aunque mientras que en algunos casos una de ellas monopoliza la respuesta, en otros casos parece producirse una colaboración entre ellas, activándose de forma secuencial en el tiempo. Algunos resultados, como sucede con bastante frecuencia, fueron sorprendentes, ya que observamos que, mientras que todos los tipos de estrés ensayados producían una muy rápida activación de estas proteínas, medida en forma de la modificación (fosforilación) de su sustrato eIF2 α , la ausencia de estas proteínas no parecía comprometer la supervivencia de las células sometidas al estrés (Berlanga y colaboradores, 2010). Es decir, es, al menos aparentemente, paradójico que una respuesta celular tan inmediata y de tanta magnitud no resulte esencial para las células, pero la realidad es que estas células poseen sistemas de respuesta al estrés que, bien de forma simultánea o bien de forma alternativa a la que producen las eIF2 α quinasas, permiten a las células adaptarse y sobrevivir.

Esta idea de que la célula responde a las agresiones externas por distintas vías, relacionadas o no entre sí, permitiendo una mayor versatilidad y flexibilidad así como una menor dependencia, se vio reforzada cuando encontramos una correlación entre la activación de nuestras quinasas y la actividad de otra ruta principal de respuesta al estrés celular (SAPKs, *Stress Activated Protein Kinases*) que también regula la expresión de genes importantes para contrarrestar los daños producidos por el estrés en las células.

Como la ausencia de nuestras proteínas de interés en las células no tiene el efecto esperado, decidimos estudiar qué pasaría si, en lugar de eliminar las proteínas de la célula, alteráramos su sustrato de forma que no pudiera ser modificado por ellas. Mediante una mutación conseguimos células que tienen todas las eIF2 α quinasas, pero que no pueden fosforilar al factor y, por tanto, no se produciría la inhibición de la síntesis de proteínas promovida por la activación de las quinasas; esto excluiría la probablemente remota posibilidad de que alguna otra proteína celular pudiera estar sustituyendo, al menos parcialmente, a nuestras proteínas cuando éstas no están presentes en las células. De nuevo las células no parecen verse muy afectadas por este hecho, ni cuando se cultivan en condiciones normales ni en la mayoría de situaciones de estrés, salvo cuando las células son sometidas a restricción de nutrientes, especialmente cuando se retira del medio de cultivo la fuente de nitrógeno, esencial para la síntesis de proteínas y del material genético en las células.

Esta situación en células normales promueve una parada del ciclo celular, es decir, que las células dejen de dividirse (reproducirse) constantemente y pasen a un estado de latencia en el que, aunque manteniendo sus funciones vitales a ritmos muy bajos, las células viven y son capaces de volver al ciclo normal de división si se repusiera la fuente de nitrógeno. Si la situación de carencia se mantuviera durante mucho tiempo estas células acabarían dando lugar a unas formas celulares de resistencia, llamadas esporas, aún más restringidas en cuanto a funciones vitales, pero capaces de volver al ciclo normal en caso de encontrar un medio rico adecuado. Pues bien, las células que tienen un eIF2 α que no puede ser fosforilado son prácticamente incapaces de detener el ciclo celular y alcanzar ese estado de latencia que les permitiría sobrevivir si se recuperasen las condiciones ambientales adecuadas (Martín, Berlanga y de Haro, 2013). Por tanto, en este caso la actividad de las eIF2 α quinasas sobre el factor son determinantes para la supervivencia celular, promoviendo en las células una ralentización de sus funciones vitales necesaria para la adquisición de un estado de resistencia.

3. PERSPECTIVAS

La transformación tumoral conlleva alteraciones en el proceso de expresión génica, de forma que, en general, las células tumorales aceleran su ritmo global de síntesis de proteínas, incrementando

también la producción de proteínas que habitualmente se encuentran en concentraciones muy bajas. Algunas de esas proteínas favorecen tanto la división celular como su migración a otros órganos y tejidos características de las células cancerígenas (Stumpf y Ruggero, 2011). También es frecuente que esas células pierdan la capacidad de responder al estrés a través de una fosforilación adecuada del factor eIF2 (Spilka y colaboradores, 2013).

Desde hace tiempo se conoce el efecto pro-inflamatorio y potencialmente cancerígeno que la exposición permanente a luz ultravioleta tipo B y tipo A (UVB/A), presente en la radiación solar, tiene sobre la piel en humanos (Ziegler y colaboradores, 1994). La exposición continuada a la radiación UVB/A (rayos solares) es la principal causa de envejecimiento prematuro de la piel, y está directamente relacionado con la aparición de los diferentes tipos de cáncer de piel. La radiación UVB/A puede provocar un daño directo sobre el ADN, provocando modificaciones en los genes que incrementarían la susceptibilidad a padecer cáncer de piel (Hussein, 2005). Sin embargo, se desconoce si la respuesta al estrés promovida por la fosforilación de eIF2 por GCN2 en respuesta a UVB/A ejerce un efecto preventivo (hormético) en la aparición de lesiones cutáneas precancerosas. Esta hipótesis está siendo testada actualmente por nuestro grupo de investigación en experimentos en los que estamos estudiando si los animales y las células que han sido modificados genéticamente para no poseer GCN2 son más proclives a sufrir transformación tumoral cuando se someten a irradiación con luz ultravioleta tipo A o tipo B.

Por último, una creciente acumulación de datos apunta a la síntesis de proteínas general y específica como un modulador clave en el proceso de envejecimiento celular en mamíferos y en las patologías asociadas al mismo, fundamentalmente cáncer y enfermedades neurodegenerativas. A modo de ejemplo, la atenuación de la traducción celular mediante la administración de inhibidores farmacológicos de la proteína mTOR, como rapamicina (también utilizado en clínica por su actividad inmunosupresora), alarga la vida de los ratones hasta un 40%, mientras que la generación de ratones incapaces de fosforilar el factor de iniciación eIF2 y, por tanto, incapaces de atenuar la traducción en respuesta al estrés, mueren a los pocos días debido a una disfunción de ciertos órganos como el páncreas y el hígado (Scheuner y colaboradores, 2005; Harrison y colaboradores, 2009). Por tanto, es probable que las quinasas del factor eIF2, especialmente GCN2, puedan estar modulando el proceso natural de envejecimiento, y la aparición de patologías asociadas a la edad, por su doble papel de sensores de estrés y de atenuadores de la síntesis de proteínas. En este sentido, nuestros resultados preliminares en la levadura *Schizosaccharomyces pombe* indican claramente que, en células incapaces de inhibir o atenuar la síntesis de proteínas debido a la imposibilidad de modificar la actividad del factor eIF2, se produce un acortamiento muy significativo de la vida.

Así, nuestra hipótesis fundamental es que la respuesta al estrés iniciada por la quinasa GCN2 a través de la fosforilación del factor eIF2, modula, y en algunos casos puede retrasar, el proceso natural de envejecimiento y la aparición de lesiones cancerosas en mamíferos funcionando, por tanto, como un anti-oncogén. Por lo que la modulación de la actividad de estas proteínas podría tener efectos muy beneficiosos para la salud humana.

4. BIBLIOGRAFÍA

- BERLANGA, J.J.; RIVERO, D.; MARTÍN, R.; HERRERO, S.; MORENO, S.; DE HARO, C. (2010): "Role of mitogen-activated protein kinase Sty1 in regulation of eukaryotic initiation factor 2alpha kinases in response to environmental stress in *Schizosaccharomyces pombe*". Eukaryotic Cell (9, 194-207).
- BERLANGA, J.J.; VENTOSO, I.; HARDING, H.P.; DENG, J.; RON, D.; SONENBERG, N.; CARRASCO, L.; DE HARO, C. (2006): "Antiviral effect of the mammalian translation initiation factor 2alpha kinase GCN2 againsts RNA viruses". EMBO Journal (25, 1730-1740).

- CALABRESE, V.; CORNELIUS, C.; CUZZOCREA, S.; IAVICOLI, I.; RIZZARELLI, E.; CALABRESE, E.J. (2011): "Hormesis, cellular stress response and vitagenes as critical determinants in aging and longevity". *Molecular Aspects of Medicine* (32, 279-304).
- DAUBER, B.; WOLFF, T. (2009): "Activation of the antiviral kinase PKR and viral countermeasures". *Viruses* (1, 523–544).
- DEL PINO, J.; JIMÉNEZ, J.L.; VENTOSO, I.; CASTELLÓ, A.; MUÑOZ-FERNÁNDEZ, M.Á.; DE HARO, C.; BERLANGA, J.J. (2012): "GCN2 has inhibitory effect on human immunodeficiency virus-1 protein synthesis and is cleaved upon viral infection". *PLoS One*. (7, e47272).
- DENG, J.; HARDING, H.P.; RAUGHT, B.; GINGRAS, A.C.; BERLANGA, J.J.; SCHEUNER, D.; KAUFMAN, R.J.; RON, D.; SONENBERG, N. (2002): "Activation of GCN2 in UV-irradiated cells inhibits translation". *Current Biology* (12, 1279-1286).
- DEVER, T.E. (2002): "Gene-specific regulation by general translation factors". *Cell* (5, 545-556).
- GUO, F.; CAVENER, D.R. (2007): "The GCN2 eIF2 α kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid". *Cell Metabolism* (5, 103-14).
- HAIGIS, M.C.; YANKNER, B.A. (2010): "The ageing Stress Response". *Molecular Cell* (40, 333-344).
- HARDING, H.P.; ZHANG, Y.; ZENG, H.; NOVOA, I.; LU, P.D.; CALFON, M.; SADRI, N.; YUN, C.; POPKO, B.; PAULES, R.; STOJDL, D.F.; BELL, J.C.; HETTMANN, T.; LEIDEN, J.M.; RON, D. (2003): "An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress". *Molecular Cell* (11, 619-633).
- HARRISON, D.E.; STRONG, R.; SHARP, Z.D.; NELSON, J.F.; ASTLE, C.M.; FLURKEY, K.; NADON, N.L.; WILKINSON, J.E.; FRENKEL, K.; CARTER, C.S.; PAHOR, M.; JAVORS, M.A.; FERNANDEZ, E.; MILLER, R.A. (2009): "Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice". *Nature* (460, 392-395).
- HUSSEIN, M. (2005): "Ultraviolet radiation and skin cancer: Molecular mechanisms". *Journal of Cutaneous Pathology* (32, 191-205).
- JIMENEZ-DIAZ, A.; REMACHA, M.; BALLESTA, J.P.; BERLANGA, J.J. (2013): "Phosphorylation of initiation factor eIF2 in response to stress conditions is mediated by acidic ribosomal P1/P2 proteins in *Saccharomyces cerevisiae*". *PLoS One* (8, e84219).
- KOURTIS, N.; TAVERNARAKIS, N. (2011): "Cellular stress response pathways and ageing: Intricate molecular relationships". *EMBO Journal* (30, 2520-2531).
- LÓPEZ-OTÍN, C.; BLASCO, M.A.; PARTRIDGE, L.; SERRANO, M.; KROEMER, G. (2013): "The Hallmarks of aging". *Cell* (153, 1194-1217).
- MARTÍN, R.; BERLANGA, J.J.; DE HARO, C. (2013): "New roles of the fission yeast eIF2 α kinases Hri1 and Gcn2 in response to nutritional stress". *Journal of Cell Science* (126, 3010-3020).
- MASORO, E.J. (2005): "Overview of caloric restriction and ageing". *Mechanisms of Ageing and Development* (126, 913-922).
- MAURIN, A.C.; JOUSSE, C.; AVEROUS, J.; PARRY, L.; BRUHAT, A.; CHERASSE, Y.; ZENG, H.; ZHANG, Y.; HARDING, H.P.; RON, D.; FAFOURNOUX, P. (2005): "The GCN2 kinase biases feeding behavior to maintain amino acid homeostasis in omnivores". *Cell Metabolism* (1, 273–277).
- SCHEUNER, D.; VANDER MIERDE, D.; SONG, B.; FLAMEZ, D.; CREEMERS, J.W.; TSUKAMOTO, K.; RIBICK, M.; SCHUIT, F.C.; KAUFMAN, R.J. (2005): "Control of mRNA translation preserves endoplasmic reticulum function in beta cells and maintains glucose homeostasis". *Nature Medicine* (11, 757-764).
- SPIILKA, R.; ERNST, C.; MEHTA, A.K.; HAYBAECK, J. (2013): "Eukaryotic translation initiation factors in cancer development and progression". *Cancer Letters* (340, 9-21).
- STUMPF, C.R.; RUGGERO, D. (2011) "The cancerous translation apparatus". *Current Opinion in Genetics & Development* (21, 474-483).
- ZIEGLER, A.; JONASON, A.S.; LEFFELL, D.J.; SIMON, J.A.; SHARMA, H.W.; KIMMELMAN, J.; REMINGTON, L.; JACKS, T.; BRASH, D.E. (1994): "Sunburn and p53 in the onset of skin cancer". *Nature* (372, 773-777).