

# Ujarzmianie starzenia: różnicowanie komórkowe i komórki macierzyste

## Aging subjugation: cellular differentiation and stem cells

Wojciech Sawicki, Jacek Malejczyk, Martyna Wróblewska

Zakład Histologii i Embriologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

### Streszczenie

Ostatnie lata przyniosły znaczący postęp w dziedzinie wyjaśniania przyczyn różnicowania komórkowego, starzenia i odmładzania komórek. W obecnym przeglądzie przedstawiono to w świetle mechanizmów prowadzących do różnicowania komórkowego i starzenia oraz ich odwracania/spowalniania dla celów terapeutycznych. Rozpoczęto od wymienienia głównych cech/przyczyn starzenia, tj. modyfikacji epigenomu (zmiany metylacji cytozyny DNA i kodu histonowego) oraz modyfikacji genomu (mutacji DNA, zmian długości telomerów, a także przemieszczania transpozonów). Następnie omówiono mechanizmy różnicowania komórkowego w kontekście zmian epigenomu i podkreślono odwracalność tego procesu dla odmładzania komórek. Przedyskutowano powstawanie pluripotentnych, embrionalnych komórek macierzystych oraz pochodzenie, plastyczność i starzenie komórek macierzystych narządowych. (*Gerontol Pol* 2015, 1, 143-58)

**Słowa kluczowe:** starzenie, epigenom/genom, różnicowanie komórkowe, odmładzanie komórek, komórki macierzyste

### Abstract

Recent years have brought remarkable advance in the field of cellular differentiation, senescence and rejuvenation. Those phenomena are presented in the light of mechanisms of cellular differentiation, senescence and their reversion/slowing down. At the outset, the epigenetic and genetic hallmarks of senescence (drift of DNA cytosine methylation, histone code, DNA mutations, telomere shortening and transposon translocalization) are discussed. Then, the attention is focused on the mechanisms of cellular differentiation, its reversion and formation of embryonal pluripotent stem cells. The provenience, plasticity and senescence of organ stem cells is critically disussed. (*Gerontol Pol* 2015, 1, 143-58)

**Key words:** epigenome, cell rejuvenation, cell differentiation, stem cells

### Wstęp

Organizmy wielokomórkowe, a szczególnie kręgowce, w tym także ludzie, podlegają w czasie swojego życia procesowi zmian struktury i pogarszania funkcji komórek, czyli starzeniu, które kończy się nieodwołalnie śmiercią.

Od zarania dziejów ludzie marzyli o nieśmiertelności, odmładzaniu i możliwości odtwarzania części swojego ciała. Dowodzą tego liczne mity sumeryjskie, greckie, chińskie i indyjskie m.in. o eliksirze młodości oraz o koralu i fontannie nieśmiertelności.

Ostatnie dekady przyniosły lawinę publikacji naukowych wyjaśniających molekularne i komórkowe mechanizmy starzenia. W ślad za tymi publikacjami podążyło zainteresowanie procesami powstrzymywania i odwracania procesu starzenia, czyli odmładzanie organizmu.

Zainteresowaniom tym towarzyszy wzrost badań nad usprawnieniem regeneracji komórek poprzedzony postępem w wyjaśnianiu mechanizmów różnicowania komórkowego oraz powstawania i funkcjonowania komórek macierzystych. Wprawdzie nazwę *stammzelle* - *stem cell* - komórka macierzysta sugerował już w 1868r E. Haeckel, ale nowoczesne badania nad rolą komórek macierzystych rozpoczęły się dopiero pod koniec lat sześćdziesiątych ubiegłego stulecia.

W ciągu ostatnich trzydziestu lat udowodniono także, że różnicowanie komórkowe jest procesem odwracalnym, co przełożyło się na praktyczne możliwości cofania tego procesu i wytwarzania z całkowicie zróżnicowanych komórek – odmłodzonych komórek pluripotentnych oraz innych zróżnicowanych komórek. Zaowocowało to także sukcesami w klonowaniu ssaków. Postęp w tych dziedzinach wraz ze stosowaniem komórek ma-

cierzystych w terapii stworzyły podwaliny do powstania medycyny regeneracyjnej, która zajmuje się teorią odmładzania i regeneracji ludzkich komórek.

## Starzenie i jego przyczyny a odmładzanie komórek

Przyczyny starzenia wyjaśnia wiele teorii opisanych ostatnio w licznych opracowaniach przeglądowych [1-6]. Wśród tych teorii–przyczyn starzenia znajdują się najważniejsze: • zmiany genomu (mutacje DNA, skracanie telomerów i przemieszczanie transpononów) [7,8] • modyfikacje epigenomu (metylacja cytozyny DNA, kod histonowy oraz mikroRNA i długie, niekodujące RNA [9-11] • uszkodzenia makrocząsteczek, w tym DNA, przez wolne rodniki i glikację [12,13] • zaburzenia kontaktów między komórkami [14] • zapalenie starcze [15].

Strategie powstrzymywania starzenia oraz pobudzania regeneracji tkanek opierają się na odwracaniu procesów różnicowania komórkowego, na zatrzymywaniu/cofaniu procesów starzenia oraz na terapeutycznym stosowaniu komórek macierzystych narządowych [16-19].

## Resetowanie, odbudowa i zmiany epigenomu. Różnicowanie komórkowe

Różnicowanie (dyferencjacja) komórkowe zachodzi głównie w czasie rozwoju embrionalnego, ale także w życiu po urodzeniu. W jego wyniku powstaje z jednej zapłodnionej komórki jajowej 200 rodzajów zróżnicowanych i wyspecjalizowanych komórek organizmu dorosłego. Ten plejomorfizm komórek, a w późniejszym życiu także proces ich starzenia wywoływane są głównie zmianami (dryftem) epigenomu [20-22].

Epigenom odpowiada za pozagenetyczną regulację ekspresji genów (bez ingerencji w sekwencję nukleotydów DNA), która odbywa się, poprzez tzw. cis-epigenetyczną kontrolę, tj.: • metylację/demetylację cytozyny DNA występującej w parach CpG lub poprzez tzw. trans-epigenetyczną kontrolę aktywności genów, tj.: • acetylację/deacetylację oraz metylację/demetylację histonów, a także ich ubikwitynację i fosforylację. Te zmiany struktury histonów przybierają postać tzw. kodu histonowego • mikroRNA, który hamuje translację poprzez blokowanie mRNA.

Metylacja cytozyny DNA, kod histonowy i stan mikroRNA odpowiadają za na charakterystyczny wzorzec epigenomu, który zmienia się wraz z wiekiem organizmu.

W czasie i wkrótce po zapłodnieniu wzorzec epigenomu jest kasowany – resetowany [23,24], a komórki

stają się całkowicie niezróżnicowane, czyli **totipotentne**. Mogą dzielić się nieskończenie, a także wytwarzać wszystkie rodzaje komórek organizmu oraz komórki błon płodowych. Ich zdolność do podziałów jest wynikiem wydłużania telomerów dzięki mechanizmowi ALT (alternative lengthening of telomeres) włączającemu wymiany między telomerami siostrzanych chromosomów. ALT jest także sposobem wydłużania telomerów w komórkach ok. 10% nowotworów [25,26].

W komórkach późniejszego rozwoju embrionalnego za wydłużanie telomerów odpowiada enzym – telomeraza [27,28], który w aktywnej formie występuje także po urodzeniu w narządowych komórkach macierzystych, w męskich komórkach płciowych i w komórkach ok. 90% nowotworów. Komórki somatyczne pozbawione są telomerazy, co prowadzi, obok wpływu innych czynników, do ich starzenia replikacyjnego i śmierci.

W stadium moruli i blastocysty [29] rozpoczyna się odbudowa epigenomu, czyli różnicowanie komórkowe, a komórki embrioblastu blastocysty (wykształca się z niego embrion) stają się pluripotentne, tzn. mogą z nich powstawać wszystkie komórki organizmu z wyjątkiem komórek błon płodowych.

Komórki embrioblastu blastocysty można hodować *in vitro* i wtedy nazywane są embrionalnymi komórkami macierzystymi (ES) pluripotentnymi. Poddają się one z trudem, jeśli w ogóle, procesowi starzenia i stosunkowo łatwo różnicują się. Jednak stosowanie ludzkich ES w celach badawczych i leczniczych ograniczają względy etyczne.

W dalszym rozwoju embrionalnym różnicowanie komórkowe postępuje, czego wynikiem jest powstawanie trzech listków zarodkowych: ekto-, mezo- i endodermi, a z nich, ich pochodnych tkankowych i narządowych. Z ektodermi powstają również pierwotne komórki płciowe i ich komórki potomne, które resetują swój epigenom, w tym tzw. imprinting, tj. inny wzorzec epigenomu alleli męskich i inny wzorzec alleli żeńskich. Wynikiem tego jest ukształtowanie epigenomu ojcowskiego (plemników) i matczyne (komórek jajowych).

Apogeum odbudowy zapisu epigenetycznego, a zatem także różnicowania komórkowego przypada na okres okołoporodowy, kiedy 81% miejsc cytozynowych DNA jest zmetylowanych. W życiu po urodzeniu dochodzi do postępującej hipometylacji DNA – u ludzi 26-letnich 78% miejsc cytozynowych jest zmetylowanych, a u starców tylko 73% [30,31].

W miarę różnicowania komórek ich potencja, tj. zdolność do podziałów i różnicowania stopniowo zawęża się. W końcu większość komórek przestaje się dzielić i traci potencję do przekształcania się w inne komórki

zachowując jednak zdolność do wykonywania swoich specjalistycznych funkcji.

Hamowanie podziałów komórek różnicujących się jest powodowane, poza skracaniem ich telomerów, szczególnie aktywnością genów dla białka RB – inhibitora podziałów komórkowych, które ponadto podtrzymuje stan zróżnicowania komórek [32]. W czasie starzenia niezdolność zróżnicowanych komórek do podziałów jest wzmacniana ekspresją dodatkowego białka, inhibitora cyklu komórkowego – p16 [33].

Hamowanie podziałów komórkowych w trakcie różnicowania komórkowego i starzenia jest dobrotliwą właściwością sprzyjającą przedłużaniu życia całego organizmu, ponieważ nie dzielące się komórki są statystycznie mniej narażone na mutacje DNA, a zatem także na nowotworzenie, choroby degeneracyjne i inne [7].

### Komórki macierzyste i ich pochodzenie

Starzejące się i śmiertelne komórki somatyczne wypracowały w czasie ewolucji sposób dla zachowania swojej stałej liczby w narządach oraz, u człowieka, do ograniczonej regeneracji. Niewielka ich część zachowuje mianowicie ograniczone właściwości komórek embrionalnych stając się komórkami macierzystymi zachowującymi zdolność do podziałów i różnicowania w inne komórki na ogół tej samej linii.

Pochodzenie komórek macierzystych sięga początków ewolucji życia na ziemi. Istniejące wówczas proste, jednokomórkowe organizmy rozmnażały się przez podziały. Nie obumierały wykazując rodzaj nieśmiertelności. Z czasem te nieśmiertelne twory wytworzyły pomocnicze komórki wspomagające je w rozmnażaniu i zdobywaniu pożywienia. W ten sposób powstała linia komórek płciowych zapewniających rozmnażanie i przedłużanie gatunku oraz linie pomocniczych komórek somatycznych ciała. Pojęcia *komórka płciowa*, *komórka somatyczna* wprowadził w 1893 r. A. Weismann.

U człowieka dorosłego linię komórek płciowych reprezentują wyspecjalizowane komórki jajowe i plemniki, które po połączeniu (zapłodnieniu) zyskują potencję do rozmnażania tworząc linię nieśmiertelnych komórek zarodkowych. Te z kolei różnicują się w czasie rozwoju embrionalnego podtrzymując istnienie linii komórek płciowych oraz przywracając linie znacznie liczniejszych, pomocniczych komórek somatycznych, które podlegają starzeniu i są śmiertelne.

### Komórki macierzyste narządowe

W embriogenezie komórki wczesnych stadiów rozwoju embrionalnego, do stadium blastocysty/organogenezy są komórkami twórczymi całego organizmu, a po organogenezie część z nich staje się komórkami macierzystymi narządowymi włączającymi i utrzymującymi w stanie aktywnym geny dla telomerazy – enzymu wydłużającego telomery. Komórki macierzyste mają zdolność dzielenia się oraz ograniczonego różnicowania w jeden, dwa lub kilka rodzajów komórek. Są zatem uni- bi- lub multipotentne [34].

Takie komórki nazywane są komórkami macierzystymi narządowymi lub dorosłymi i występują w większości narządów organizmu dorosłego jako komórki macierzyste hemocytopoezy, mezenchymatyczne, śródbłonna, nerwowe wywodzące się z cewy nerwowej i grzebienia nerwowego (w tym komórki glejowe osłonkowe narządu węchowego), nabłonna jelita, jądra, gruczołu mlekowego i krokowego oraz wątroby i in. narządów. Mogą się one dzielić i różnicować przez całe życie człowieka, chociaż podlegają także starzeniu. Odpowiadają za homeostazę komórkową narządów oraz za ograniczoną u człowieka ich regenerację.

Komórki macierzyste narządowe zajmują w różnych narządach nisze, tj. wolne przestrzenie wraz z blaszkami podstawnymi komórek oraz elementami istoty podstawowej, które grają ważną rolę w ich komunikowaniu się z otoczeniem i w starzeniu [35,36].

### Plastyczność komórek macierzystych. Komórki progenitorowe

Komórki macierzyste narządowe dzielą się wielokrotnie, a los połowy liczby ich potomstwa zostaje zdeterminowany przez wytworzenie komórek progenitorowych, które dzielą się i różnicują w określone, wyspecjalizowane komórki. Jednak komórki macierzyste i progenitorowe mogą zmieniać swój los. Na przykład, z jednego rodzaju komórki macierzystej szpiku (hemocytoblastu) powstaje w warunkach naturalnych wiele rodzajów komórek progenitorowych krwi i komórek tucznych, które dzieląc się podlegają różnicowaniu, a z każdej z nich powstaje jeden rodzaj komórki krwi/tkanki łącznej. Również po przeszczepieniu komórek macierzystych/progenitorowych, np. szpiku do innego narządu mogą z nich powstawać komórki tego narządu. Zjawisko takie nazywane jest plastycznością komórek macierzystych/progenitorowych. Jej przyczyny wiążą się z przeprogramowaniem epigenomu przeszczepionych komórek macierzystych lub niekiedy, z fuzją komórek wszczepionych z komórkami innego mikrośrodowiska [37].

## Manipulacje różnicowaniem a odmładzanie komórek

Przez długi czas uważano różnicowanie komórkowe za proces nieodwracalny. Przeczyły temu klasyczne badania embriologiczne heterotopowego przeszczepiania tkanek, komórek i ich jąder, a szczególnie przeszczepy jąder całkowicie zróżnicowanych komórek do cytoplazmy komórek jajowych płazów [38]. W wyniku tych ostatnich przeszczepów powstawały dorosłe i płodne organizmy. Również przeprowadzone znacznie później (1997) sklonowanie owcy poprzez wszczepienie jądra komórkowego zróżnicowanej komórki do cytoplazmy komórki jajowej [39], dostarczyło bezpośredniego dowodu na odwracalność procesu różnicowania u ssaków. Podobnych dowodów dostarczyły również wyniki fuzji komórek zróżnicowanych z niezróżnicowanymi, a przede wszystkim konwersja fibroblast → mioblast uzyskana przez wprowadzenie do fibroblastu czynnika transkrypcji *MyoD* [40].

Efektem cofania różnicowania jest także przywrócenie komórkom właściwości wydłużania telomerów, co przywraca im także zdolność do podziałów. Dokonuje się to/tego albo przez przywrócenie aktywności telomerazy, albo z pomocą alternatywnego wydłużania telomerów (ALT) przez wzbudzenie rekombinacji między telomerami siostrzanych chromosomów [25,26].

## Embrionalne komórki macierzyste (ES)

Na początku lat osiemdziesiątych ubiegłego stulecia wykazano, że hodowanie *in vitro* blastocyst pozwalało na otrzymywanie pluripotentnych komórek permanentnie dzielących się oraz różnicujących się we wszystkie komórki organizmu (z wyjątkiem komórek błon płodowych) [41]. Ludzkie komórki pluripotentne uzyskano prawie dwadzieścia lat później z embrioblastu blastocysty (powstaje z niego embriion) [42]. Można je było hodować *in vitro*, jako embrionalne komórki macierzyste (ES). Cechuje je pluripotencja i prawdopodobnie nieskończona zdolność do rozmnażania [43]. Jednak stosowanie ES ludzkich jest w wielu krajach zabronione ze względów etycznych, ponieważ przy ich pobieraniu blastocysty mogą ulec uszkodzeniu.

Główną zaletą ES w terapii jest ich pluripotencja, tj. możliwość różnicowania się we wszystkie komórki organizmu z wyjątkiem komórek błon płodowych oraz zdolność do permanentnego rozmnażania. Ich wadą wynikającą z ubóstwa stosowanej obecnie technologii jest trudność kontrolowania ich różnicowania w pożądane komórki i tkanki. Na znaczenie różnicowania ES stosowanego w celach terapeutycznych wskazuje fakt, że

muszą one ulec różnicowaniu w 100%. Pozostawienie bowiem nawet pojedynczych, niezróżnicowanych ES w różnicującej się populacji komórek może być źródłem potworniaków i potworniaków.

## Starzenie komórek macierzystych narządowych

Podobnie jak inne komórki, somatyczne komórki macierzyste narządowe podlegają starzeniu tracąc stopniowo właściwości proliferacji i precyzję różnicowania do wyspecjalizowanych komórek określonego typu. Starzenie się narządowych komórek macierzystych odgrywa znaczną rolę w postępie starzenia całego organizmu. W miarę upływu wieku organizmu przejawia się to siwieniem i wypadaniem włosów, spadkiem masy i siły mięśni, spadkiem masy kości, dominacją liczby komórek linii myelopoetycznej krwi i szpiku nad komórkami linii limfopoetycznej, hamowaniem neurogenezy [18] oraz spowolnieniem gojenia się ran.

Starzenie komórek macierzystych, podobnie jak starzenie innych komórek somatycznych, przejawia się występowaniem markerów komórkowych starzenia: ekspresją białka p16 i  $\beta$ -galaktozydazy oraz obecnością w jądrach komórkowych konglomeratów białka HP-1 [19,44].

Komórki macierzyste, szczególnie w długo żyjącym organizmie człowieka, przechodzą przez wiele cykli podziałowych, a w każdym z nich skracane są ich telomery, chociaż w mniejszym stopniu niż innych komórek somatycznych tego samego wieku. Skracanie telomerów ogranicza aktywna telomeraza, co jest charakterystyczną cechą narządowych komórek macierzystych [45]. Ponadto zmieniać się może struktura chromosomów komórek macierzystych narządowych, a pojedyncze zasady ich DNA mogą ulegać mutacji. To wszystko prowadzi, obok wpływu innych czynników (np. zmian epigenomu i gromadzenia szkodliwych makrocząsteczek) do starzenia przejawiającego się zmniejszeniem liczby i ograniczeniem funkcji komórek macierzystych. Na przykład, w mięśni szkieletowych młodych organizmów jego komórki macierzyste (komórki satelitarne) odpowiadają na uszkodzenia będące skutkiem np. treningu – podziałami komórkowymi, a następnie hipertrofią (zwiększeniem masy komórek) i ewentualnym różnicowaniem w komórki mięśniowe. W mięśniach organizmów starych, poza ograniczeniem podziałów, występują tendencje różnicowania się ich komórek macierzystych, głównie w adipocyty i fibroblasty, a w mniejszym stopniu w komórki mięśniowe. Upośledza to regenerację tkanki mięśniowej na rzecz fibrogenezy i adipocytogenezy. Podobnie jest w szpiku kostnym, którego komórki macierzyste

organizmów starzejących się mają większe tendencje różnicowania się w komórki szeregu myelopoety niż limfopoety.

Zmiany takie są szczególnie wyraźne i przyspieszone w przebiegu przedwczesnego starzenia (progerii) badanego na modelu myszy. Zdrowe myszy żyją średnio 1-2 lata, natomiast u zwierząt progeryjnych proces starzenia ujawnia się już po 17 dniach życia, a życie kończy się ze starości po 28 dniach. Jednak czynniki humoralne wydzielane przez młode komórki macierzyste mogą hamować przyspieszone starzenie i przedłużać trzykrotnie życie myszy progeryjnych [46].

Starzenie komórek macierzystych nie tylko zmniejsza ich populację, pogarsza odnowę i zdolności reparacyjne

tkanek, ale może także drastycznie skracać życie ludzkie wskutek transformacji starzejących się komórek macierzystych w komórki nowotworowe. Wprawdzie nie ma bezpośrednich dowodów na zależność starzenie → transformacja nowotworowa komórek macierzystych, ale wiadomo, że wiele funkcjonalnych szlaków przekazujących sygnały wewnątrz komórek i pobudzających wzrost komórek nowotworowych pobudza także wzrost komórek macierzystych [18].

#### Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

#### Piśmiennictwo

1. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, et al. Hallmarks of aging. *Cell* 2013;153:1194-217.
2. Issa JP. Aging and epigenetics drift: a vicious cycle. *J Clin Invest*. 2014;124:24-9.
3. Lee HJ, Hore TA, Reik W. Reprogramming the methylome: erasing memory and creating diversity. *Cell Stem Cell* 2014;14:710-9.
4. Rando TA, Chang HY. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock. *Cell*. 2012;148:46-57.
5. Sawicki W, Malejczyk J, Wróblewska M. Starzenie: mechanizmy epigenetyczne i genetyczne. *Gerontol Pol*. 2015;2:68-73.
6. Sawicki W, Malejczyk J, Wróblewska M. Mechanizmy starzenia: uszkodzenie cząsteczek i zapalenie starcze. *Gerontol Pol*. 2015;2:74-9.
7. Aubert G, Lansdorp P. Telomeres and aging. *Physiol. Rev.* 2008;88:557-79.
8. Kennedy SR, Loeb LA, Herr AJ. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. *Mech Ageing Dev*. 2012;133:118-26.
9. Korkmaz A, Manchester LC, Topal T, et al. Epigenetic mechanisms in human physiology and diseases. *J Exp Integr Med*. 2011;1:139-47.
10. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res*. 2011;21:381-95.
11. Fatica A, Bozzani I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nature Rev Genet*. 2014;15:7-21.
12. Best PB. Nuclear DNA damage as direct cause of aging. *Rejuvenation Res*. 2009;12:199-208.
13. Grillo MA, Colombatto S. Advanced glycation end-products (AGEs): involvement in aging and neurodegenerative diseases. *Amino Acids*. 2008;35:29.
14. Dizdaroglu M, Jaruga P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res*. 2012;46:382-419.
15. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014;69:S4-S9.
16. Jaskelioff M, Muller FL, Paik JH, et al. Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase deficient mice. *Nature* 2011;469:102-6.
17. Cosgrove B, Gilbert P, Porpiglia E, et al. Rejuvenation of the muscle stem cell population restores strength to injured aged muscles. *Nature Med*. 2014;20:255-64.
18. Liu L, Rando TA. Manifestations and mechanisms of stem cell aging. *J Cell Biol*. 2011;193:257-66.
19. Rodier F, Campisi J. Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol*. 2011;192:547-56.

20. Chen T, Dent SYR. Chromatin modifiers and remodellers: regulator of cellular differentiation. *Nat Rev Genet.* 2014;15:93-106.
21. Meissner A. Epigenetic modifications in pluripotent and differentiated cells. *Nat. Biotechnol.* 2010;28:1079-88.
22. Belmonte JCI. Reprogramming development and aging: cell differentiation as a malleable process. *Curr Opin Cell Biol.* 2012;24:1-3.
23. Messerschmidt D, Knowles BB, Solter D. DNA methylation dynamics during epigenetic reprogramming in the germline and preimplantation embryos. *Genes Dev.* 2014;28:812-28.
24. Guo H, Zhu P, Yan L, et al. The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature.* 2014;511:606-10.
25. Cesare AJ, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nat Rev Genet.* 2010;11:319-30.
26. Neumann AA, Watson CM, Noble JR, et al. Alternative lengthening of telomeres: in normal mammalian somatic cells. *Genes Dev.* 2013;27:18-23.
27. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiol Rev.* 2008;88:557-79.
28. Kalmbach K, Robinson L.G, Wang F, Liu L, Keefe D. Telomere length reprogramming in embryos and stem cells. *Biomed Res. Int.* 2014;2014:925121.
29. Sawicki W, Kujawa M, Jankowska-Steifer E, et al. Temporal/spatial expression and efflux activity of ABC transporter, P-glycoprotein/Abcb1 isoforms and Bcrp/Abcg2 during early murine development. *Gene Expr Patterns* 2006;6:738-46.
30. Heyn H, Li N, Ferreira HJ, et al. Distinct DNA methylomes of newborn and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109:10522-7.
31. Guo H, Zhu P, Yan L, et al. The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature* 2014;511:606-10.
32. Nicolay BN, Bayarmagnai B, Moon NS, et al. Combined inactivation of pRB and Hippo pathways induces dedifferentiation in *Drosophila* Retina. *Plos Genet.* 2010;6:e1000918.
33. Rayess H, Wang MB, Srivatsan ES. Cellular senescence and tumor suppressor gene p16. *Int J Cancer.* 2012;130:1715-25.
34. Weissman I. Stem cells: units of development, units of regeneration and units in evolution. *Cell.* 2000;100:157-68.
35. Li L, Xie T. Stem cell niche: structure and function. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2005;21:605-31.
36. Scadden DT. Nice neighborhood: emerging concepts of stem cell niche. *Cell.* 2014;157:41-50.
37. Bonfanti P, Barrandon Y, Cossu G. „Hearts and bones”: the ups and downs of „plasticity” in stem cell biology. *EMBO Mol Med.* 2012;4:353-61.
38. Gurdon JB, Elsdale TR, Fischberg M. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei. *Nature.* 1958;182:64-5.
39. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, et al. Campbell K.H. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature.* 1997;385:810-3.
40. Davies RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell.* 1987;51:987-1000.
41. Martin GR. Isolation of pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *PNAS.* 1981;78:7634-8.
42. Thomson JA, Itskowitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;282:1145-7.
43. Miura T, Mattson MP, Rao MS. Cellular lifespan and senescence signaling in embryonic stem cells. *Aging Cell.* 2004;3:333-43.
44. Behrens A, Deursen JM, Rudolph KL, et al. Impact of genomic damage and ageing on stem cell function. *Nature Cell Biol.* 2014;16:201-7.
45. Kalmbach K, Robinson LG, Wang F, et al. Telomere length reprogramming in embryos and stem cells. *Biomed Res Int.* 2014;2014:925121.
46. Song M, Lavasani M, Thompson SD, et al. Muscle derived stem/progenitor cell dysfunction in *Zmpste* 24-deficient progeroid mice limits muscle regeneration. *Stem Cell Res. Therapy* 2013;4:33.