



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

# USO DE SENOLÍTICOS PARA EL CONTROL DEL ENVEJECIMIENTO



LUCÍA FLORIDO PAJUELO





UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

# USO DE SENOLÍTICOS PARA EL CONTROL DEL ENVEJECIMIENTO

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

Grado en Farmacia

**Autora:** Lucía Florido Pajuelo

**Tutor:** Sandro Argüelles Castilla

TRABAJO FIN DE GRADO

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Sevilla, Enero de 2020

## RESUMEN

El envejecimiento es el principal factor de riesgo para la mayoría de enfermedades crónicas, discapacidades y deterioro de la salud. Existen múltiples mecanismos moleculares que llevan al envejecimiento, entre los cuales se encuentra la senescencia celular. En esta se propone que las células senescentes, células dañadas que han perdido la capacidad de dividirse, provocan el deterioro que subyace al envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad. Uno de los principales objetivos del trabajo es dar a conocer los principales senolíticos, tanto naturales como sintéticos, para el control del envejecimiento, los cuales son conocidos como senoterapéuticos y cuya función es la eliminación de estas células senescentes. Existen estudios en diferentes especies dónde se ha podido comprobar la aplicabilidad de estas moléculas sobre este tipo de células. En el uso de senolíticos en animales se ha podido observar la acción rejuvenecedora de diversos órganos y tejidos, lo cual aumenta la esperanza de vida. Se ha de aclarar que el principal objetivo de este grupo terapéutico es contribuir a un envejecimiento saludable. Para asegurarnos una buena calidad de vida, una vez llegado a la tercera edad, se recomienda el uso de posibles agentes senolíticos en combinación con terapias no farmacológica (ejercicio físico) y una dieta saludable (restricción calórica), en los cuales se vería también reflejado un ahorro en sanidad pública.

**Palabras claves:** Envejecimiento, Senescencia, Senolíticos, Actividad física y Restricción Calórica.

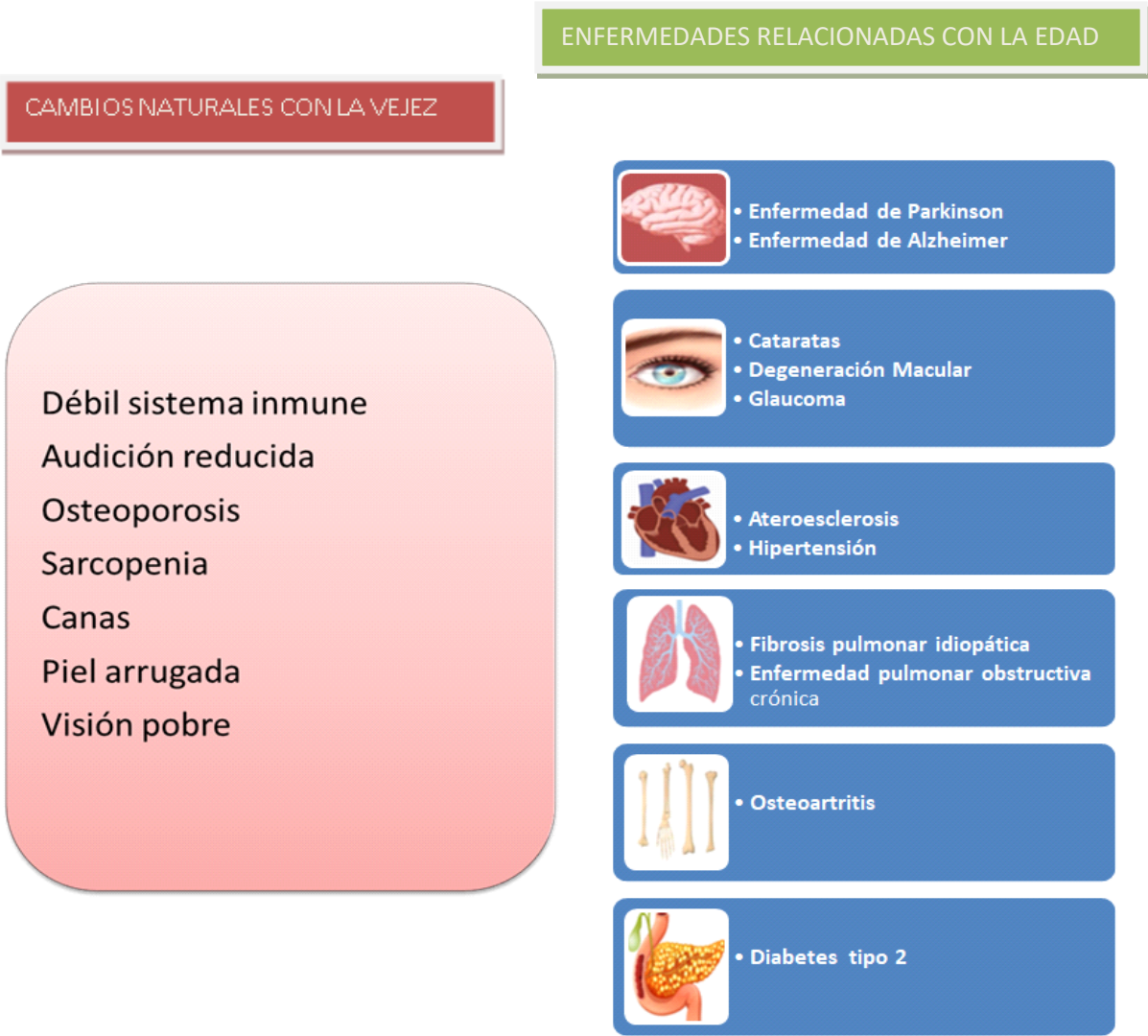
## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. OBJETIVOS.....	12
2.1 OBJETIVO GENERAL	
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICOS	
3. METODOLOGÍA.....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
4.1 PRINCIPALES MECANISMOS MOLECULARES DEL ENVEJECIMIENTO.....	13
4.1.1 Inestabilidad genómica.....	14
4.1.2 Desgaste de telómeros.....	14
4.1.3 Alteraciones epigenéticas.....	15
4.1.4 Pérdida de proteostasis.....	15
4.1.5 Alteración en la ruta metabólica.....	16
4.1.6 Disfunción mitocondrial.....	16
4.1.7 Disminución de la capacidad regeneradora de la célula madre.....	17
4.1.8 Comunicación intercelular alterada.....	18
4.1.9 Senescencia celular.....	19
4.2 PRINCIPALES SENOLÍTICOS PARA EL CONTROL DEL ENVEJECIMIENTO.....	21
4.3 IMPORTANCIA/APLICABILIDAD DEL USO DE SENOLÍTICOS PARA EL CONTROL DEL ENVEJECIMIENTO.....	27
5. CONCLUSIÓN.....	28
6. REFERENCIAS.....	29

## 1. INTRODUCCIÓN

La esperanza de vida hace unos años atrás era muy diferente a la de hoy en día. Por ejemplo, en 1900 el 1% de la población eran personas mayores de 65 años. Las cifras de supervivencia han ido aumentando, y hacia el año 2000 los mayores de 60 pasaron a ser un 10% de la población. Se estima que sobre el año 2050 las personas de este grupo pasarán a ser la quinta parte de la población mundial (Cano et al., 2017). El envejecimiento es un proceso universal caracterizado por la acumulación de cambios biológicos que conducen al deterioro funcional del organismo con el tiempo (Kritsilis et al., 2018). En la vejez las funciones fisiológicas y físicas disminuye, lo que supone un mayor riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas, mayor discapacidad, aumento de los gastos de salud y mortalidad (Xu, 2018). En la actualidad se pretende que la población envejezca de forma saludable y libre de discapacidad.

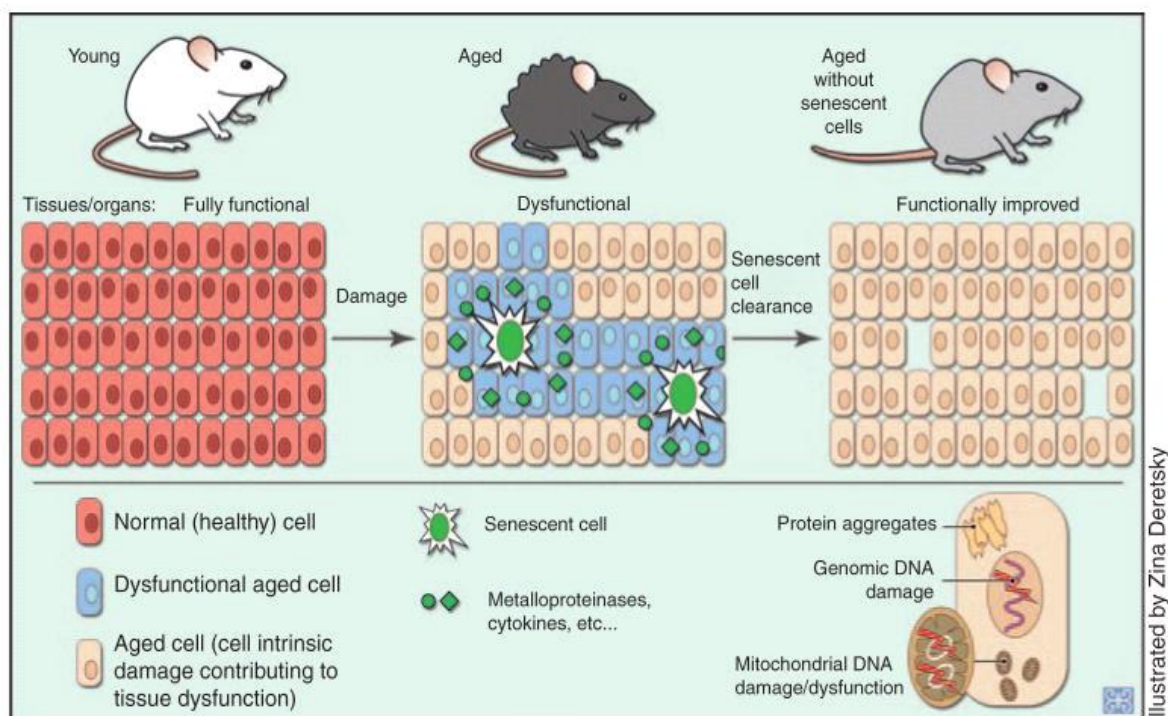
La edad es un factor de riesgo para desarrollar numerosas enfermedades crónicas, como cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, musculoesqueléticas y neurodegenerativas (Figura 1) (López-Otín et al., 2013). La discapacidad asociada a la edad así como la morbilidad afecta de manera negativa en la calidad de vida, teniendo un gran impacto e importancia en el individuo en si como en la sociedad general. La interacción entre los antecedentes genéticos, los factores ambientales y la acumulación de daños irreparables relacionados con la edad en el ADN del organismo también puede determinar la probabilidad de desarrollar una enfermedad relacionada con la edad (Kritsilis et al., 2018). Por lo general, la mayoría de los trastornos neurodegenerativos se manifiestan en los ancianos. Se ha demostrado que la incidencia anual de la enfermedad de Alzheimer (EA) aumenta de manera exponencial con la edad avanzada. También se ha visto que los modelos de envejecimiento prematuro en ratones producen un exceso de  $A\beta$  y muestran problemas de aprendizaje y memoria. La enfermedad de Parkinson (EP), la segunda afección neurodegenerativa relacionada con la edad más frecuente, también aumenta con la edad. Ambas son enfermedades neurodegenerativas típicas caracterizadas por la pérdida crónica progresiva de neuronas y sus conexiones sinápticas que se manifiestan con un deterioro funcional gradual (Kritsilis et al., 2018).



**Figura 1. Cambios característicos que se producen con la edad y principales enfermedades asociadas con el envejecimiento.**

A nivel molecular el envejecimiento se caracteriza por una serie de mecanismos como son: la inestabilidad genómica, el desgaste de los telómeros, la pérdida de proteostasis, alteraciones epigenéticas, la alteración de la ruta metabólica, la disfunción mitocondrial, la disminución de la capacidad regeneradora de la célula madre, la comunicación celular alterada y la senescencia celular. Este último es el mecanismo celular en el cual se centra el trabajo (Argüelles et al., 2019; López-Otín et al., 2013).

Las células senescentes contribuyen al aumento del daño oxidativo e inflamación ya que pueden producir un aumento en la liberación de diferentes sustancias (citocinas proinflamatorias, proteasas y factores de crecimiento que proporcionan señales mitógenas aberrantes) que en conjunto se conocen como **SASP** (fenotipo secretor asociado a la senescencia) (Naylor et al., 2013). La senescencia celular cuando no se controla puede provocar el deterioro de órganos y tejidos con la edad, acelerando el envejecimiento, así como favoreciendo las patologías relacionadas con la edad. Por lo que la eliminación selectiva de estas células puede prevenir o revertir el deterioro relacionado con la edad (Figura 2). De hecho, se consideran a las células senescentes como posibles objetivos terapéuticos para el control del envejecimiento y en las enfermedades relacionadas con la edad. A niveles fisiológicos la senescencia puede ser beneficiosa para el organismo, pues actúa evitando un aumento descontrolado de la proliferación celular asociado con el cáncer. Una forma de eliminar estas células senescentes y proteger así frente al cáncer o enfermedades neurodegenerativas sería mediante apoptosis, sin embargo, estas células son resistentes a la apoptosis (Argüelles et al., 2019; López-Otín et al., 2013).



**Figura 2. Mecanismo de eliminación de células senescentes de los tejidos envejecidos.** Las células senescentes, a través de su SASP (fenotipo secretor asociado a la senescencia), interrumpen la funcionalidad de las células vecinas. La eliminación selectiva de células senescentes mejora la función del tejido. Fuente: **Naylor et al., 2013.**



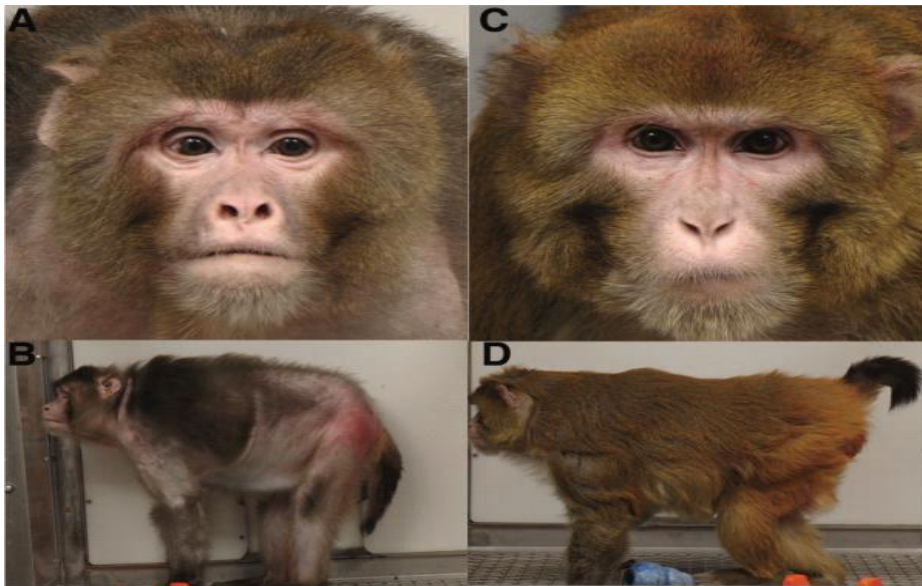
Se ha visto que el envejecimiento se puede controlar “en teoría” mediante el uso de compuestos que actúan a nivel de algunos de los mecanismos moleculares antes descritos. Ejemplo de estos compuestos son la rapamicina, la metformina, el resveratrol, entre otros senolíticos que se verán más adelante (Cano et al., 2019).

Además del posible uso de terapias farmacológicas, algunas aproximaciones no farmacológicas pueden ser usadas para el control del envejecimiento. Por ejemplo, existen investigaciones sobre el efecto de una buena actividad física para favorecer un envejecimiento saludable que contribuye al aumento de la esperanza de vida (Pardo, 2016; Landinez et al., 2012). Se ha comprobado que una práctica habitual de **ejercicio físico** tiene un gran número de efectos beneficiosos, entre ellos el retraso del envejecimiento. La participación periódica en actividades físicas moderadas puede retrasar el declive funcional y reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas tanto en los ancianos sanos como en aquellos que las sufren (Pardo, 2016; Landinez et al., 2012).

Durante el envejecimiento, la vía de mTOR (diana de rapamicina en células de mamíferos) se activa de manera persistente ante la abundancia de nutrientes y señales mitógenas, estimulándose el anabolismo celular y la síntesis de proteínas. Ante esta síntesis aberrante de proteínas, se genera un estrés metabólico, las cuales no pueden ser eliminadas porque mTOR también bloquea el complejo de iniciación de la autofagia, un importante mecanismo de proteostasis. El ejercicio físico limita la fuente de nutrientes e inhibe de manera indirecta mTOR, lo que restablece los mecanismos de proteostasis para la eliminación del exceso de proteínas mal plegadas o de orgánulos dañados (Pardo, 2016). Además el ejercicio físico activa las sirtuinas. Estas tienen un efecto antagónico a mTOR, favoreciéndose a sí el correcto plegamiento proteico y modulando el epigenoma celular a la vez que activan la maquinaria de reparación del ADN (Pardo, 2016).

Otra aproximación no farmacológica es la restricción calórica. La reducción de ingesta calóricas, conocida como **restricción calórica**, (entre un 10% y un 40%), ha demostrado ser la intervención más efectiva para extender la vida útil máxima en una gran gama de organismos (Liang et al., 2018). De hecho, hay evidencias en estudios con primates, como es el mono Rhesus, que la restricción calórica moderada de inicio en la edad adulta retrasa la aparición de patologías asociadas a la edad y promueve la supervivencia de primates (Figura 3). Las marcadas similitudes anatómicas, fisiológicas y de comportamiento entre los primates

humanos y no humanos hacen que este último sea especialmente adecuado para proporcionar información sobre la biología del envejecimiento humano (Colman et al., 2009).



**Figura 3. Mono Rhesus (A-B) en la vejez. (C-D) animal en restricción calórica.** En la imagen se puede observar a dos animales de la misma especie y de la misma edad. Uno de ellos ha estado sometido a restricción calórica(C-D) Mientras el otro (A-B) no. Se puede apreciar el retraso en patologías relacionadas con la edad en el mono (C-D). Fuente: **Colman et al., 2009.**

Los efectos beneficiosos de la restricción calórica, con nutrición adecuada, ocurren a través de una amplia gama de mecanismos moleculares (Gensous et al., 2019):

**Metilación de ADN:** consiste en la adición de un grupo metilo a un residuo de citosina. Durante el envejecimiento, hay una marcada remodelación de los patrones de metilación del ADN genómico, que ha sido investigado e implicado en múltiples enfermedades comunes relacionadas con la edad (Gensous et al., 2017; Bacalini et al., 2014). Diferentes tipos de cambios en la metilación del ADN coexisten durante el envejecimiento. Recientemente se han publicado estudios independientes donde se comparan el efecto de la edad sobre los patrones de metilación del ADN en animales alimentados con una dieta de restricción calórica. Se ha informado que la restricción calórica protege contra los cambios de metilación del ADN con la edad en mamíferos y en diferentes tipos de tejidos, como el riñón, sangre, hígado y cerebelo (Cole et al., 2017).

**miARNs:** Otro mecanismo de regulación epigenéticas está representado por los ARN no codificantes, entre los cuales los microARN (miARN) son los más característicos. Estudios

recientes han demostrado, en diferentes especies, que numerosos miARNs se expresan diferencialmente durante el envejecimiento (Huan et al., 2018). Se ha comprobado que la restricción calórica puede afectar a la expresión diferencial de miARNs relacionado con la edad, en diferentes tejidos. Por ejemplo, en el cerebro de los ratones, la restricción calórica pudo contrarrestar el aumento dependiente de la edad lo que condujo a una ganancia en la expresión de su gen objetivo común, Bcl-2, involucrado en la apoptosis (Khanna et al., 2011). En respuesta a la restricción calórica, los niveles elevados persistentes de Bcl-2 en los cerebros de animales de mayor edad podrían disminuir la apoptosis y participar de este modo en los efectos neuroprotectores de la restricción calórica.

**Modificaciones de histonas:** Las modificaciones de histonas son catalizadas por enzimas específicas, entre las que se sabe que las sirtuinas afectan al proceso de envejecimiento. Las sirtuinas son una familia de desacetilasa dependiente de  $NAD^+$  La activación de sirtuinas se observa en individuos bajo restricción calórica. Se sugiere que los efectos beneficiosos sobre la extensión de la vida útil y la mejora de la salud asociada con la restricción calórica están medidos por mecanismos que involucran sirtuinas a través de efectos epigenéticos. Fue demostrado que SIRT1 está involucrado en la regulación del gen *p16INK4 $\alpha$* , un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina vinculado a la regulación de la senescencia celular (Gensous et al., 2019). *p16INK4 $\alpha$*  se acumula durante el proceso de envejecimiento, característica que sirve como un biomarcador de senescencia. Aunque en seres humanos aún no se haya demostrado científicamente que la restricción calórica aumente el lapso de vida, la evidencia preliminar es muy prometedora (Pifferi et al., 2019).

Dada la importancia del envejecimiento y su control, en este trabajo se centrará en "el uso de senolíticos para el control del envejecimiento".

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL:**

Dar una visión general del uso de senolíticos para el control del envejecimiento.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- Describir los principales mecanismos moleculares del envejecimiento.
- Señalar los principales compuestos con actividad senolítica.
- Destacar la importancia/aplicabilidad del uso de senolíticos para el control del envejecimiento.

## **3. METODOLOGÍA**

Para la búsqueda de información se utilizaron bases de datos procedentes de internet y son: Google académico, Pubmed/Medline, Science Direct y BMC Medecine.

La estrategia de búsqueda empleada en estas bases de datos ha sido la selección de artículos (del 2009 al 2019). Las fuentes consultadas han sido artículos originales, revisiones bibliográficas, páginas web, libros y publicaciones en revistas científicas.

Los descriptores empleados fueron: "Aging", "Antiaging", "Organ and tissue rejuvenation", "Cell senescence", "Molecular mechanisms of aging", "Aging characteristics", "Age-related diseases", "Biological markers of senescence", "Senolytics", "Quercetin and dasatinib", "Physical exercise and longevity", "Caloric restriction and senescence", "Rhesus Monkey", "Mice and senolytics"

Se han tenido en cuenta fuentes bibliográficas tanto en inglés como en español.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 PRINCIPALES MECANISMOS MOLECULARES DEL ENVEJECIMIENTO

Dado que el envejecimiento de la población está en aumento y, teniendo en cuenta que la edad es un factor de riesgo asociado a patologías crónicas, es importante estudiar y conocer los principales mecanismos a nivel molecular y celular.

Los principales **mecanismos moleculares (Figura 4)** incluyen la inestabilidad genómica, el desgaste de los telómeros, la pérdida de proteostasis, alteraciones epigenéticas, la alteración de la ruta metabólica, la disfunción mitocondrial, el agotamiento de las células madre, la comunicación celular alterada y la senescencia celular excesiva (Argüelles et al., 2019; López-Otín et al., 2013).



**Figura 4. Principales Mecanismos moleculares relacionados con la edad.** Fuente modificada de: López-Otín et al., 2013.

#### **4.1.1 Inestabilidad genómica**

Una de las características del envejecimiento es la acumulación del daño genético a lo largo de la vida. Muchas enfermedades asociadas al envejecimiento son debido a este cumulo de daños en el ADN. La integridad y la estabilidad del ADN se ven afectadas por agentes químicos, físicos y biológicos externos, así como por causas internas, como son errores en la replicación del ADN, las reacciones hidrolíticas que surgen de forma espontánea y la formación de especies reactivas de oxígeno (López-Otín et al., 2013). El daño genético causado tanto por agentes exógenos como endógenos incluye diversas mutaciones puntuales como las que se acumulan en el ADN nuclear y mitocondrial, ganancias y pérdidas cromosómicas, el acortamiento de telómeros y las alteraciones epigenéticas que afectan a la acetilación y metilación del ADN o las histonas. Para reducir estas lesiones los organismos han creado una serie de mecanismos de reparación de ADN (Lord y Ashworth, 2012). Está comprobado que una lesión excesiva de ADN o una reparación insuficiente del ADN favorece el proceso de envejecimiento (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013).

#### **4.1.2 Desgaste de telómeros**

Los telómeros son unas regiones cromosómicas que particularmente son muy susceptibles al deterioro relacionado con la edad. La telomerasa es una ADN polimerasa especializada que tiene la capacidad de replicar completamente los extremos terminales de las moléculas de ADN lineales. La mayoría de las células somáticas de mamíferos no expresan la telomerasa y esto lleva a la pérdida progresiva y acumulativa de secuencias protectoras de los telómeros de los extremos cromosómicos, es decir conducen al acortamiento de los telómeros (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013). Existen unos modelos con animales que han sido modificados genéticamente en donde se ha visto una relación entre la pérdida de telómeros, la senescencia celular (de la cual se hablará más adelante) y el envejecimiento del organismo. Por tanto los ratones con telómeros acortados presentan una vida útil disminuida, mientras que aquellos con telómeros alargados exhiben una mayor esperanza de vida (Armanios et al., 2009). Esta evidencia reciente también indica que el envejecimiento puede revertirse mediante la activación de la telomerasa. El envejecimiento fisiológico normal se puede retrasar sin un aumento en incidencias de cáncer en ratones adultos por activación farmacológica o transducción viral sistémica de telomerasa (Jaskelioff et al., 2011).

#### **4.1.3 Alteraciones epigenéticas**

Los cambios epigenéticos suponen una alteración en la metilación y acetilación del ADN, en la postraducción de histonas así como en la remodelación de la cromatina. El aumento de la acetilación de la histona H4K16, la trimetilación de H4K20 o la trimetilación de H3K4, así como la disminución de la metilación de H3K9 o la trimetilación de H3K27, constituyen marcas epigenéticas asociadas a la edad (López-Otín et al., 2013; Han y Brunet, 2012). La familia de las proteínas sirtuinas de mamíferos (SIRT1-SIRT7) son posibles factores antienvjecimientos. Varios estudios han demostrado que tres de las sietes sirtuinas, como la SIRT1, SIRT2, SIRT3 pueden retrasar varios parámetros del envejecimiento en ratones y aportando una vejez saludable. Las sirtuinas no solo desacetilan las histonas, sino también a una amplia gama de reguladores transcripcionales, controlando así su actividad. Se cree que la activación de sirtuinas es beneficiosa no solo para enfermedades relacionadas con el metabolismo, como la diabetes tipo 2 y la obesidad, sino también para enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer y Parkinson. Esto se debe en parte a que las sirtuinas estimulan la actividad de las mitocondrias, las potencias de la célula y de las proteínas mitocondriales, que tienen un papel clave en las patologías mencionadas anteriormente (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013; Houtkooper et al., 2012). A diferencia de las mutaciones de ADN, las alteraciones epigenéticas son, al menos teóricamente, reversibles, por lo que ofrecen oportunidades para el diseño de nuevos tratamientos antienvjecimiento.

#### **4.1.4 Pérdida de proteostasis**

La proteostasis es un mecanismo para la estabilización mediante el correcto plegamiento de proteínas y la degradación de proteínas por el proteosoma o el lisosoma. El objetivo es la restauración de la estructura de polipéptidos mal plegados o para eliminarlos y degradarlos por completo, evitando así la acumulación de componentes dañados y asegurando la renovación continua de las proteínas intracelulares. Hay muchos estudios que han demostrado que la proteostasis se altera con el envejecimiento (Koga et al., 2011). Algunas patologías relacionadas con la edad, como la enfermedad del Alzheimer, la del Parkinson y las cataratas se ven desarrollada por una expresión crónica de proteínas desplegadas, mal plegadas o agregadas (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013).

#### 4.1.5 Alteración en la ruta metabólica

En los mamíferos el eje somatotrófico está comprendido por la hormona del crecimiento (GH), producida por la pituitaria anterior, y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), producido en respuesta a la GH por muchos tipos de células. La vía de señalización intracelular de IGF-1 es la misma que la provocada por la insulina, por esto la IGF-1 y la señalización de insulina se conocen como la vía de “señalización de insulina e IGF-1” (IIS). Esta vía IIS, junto con la familia FOXO de factores de transcripción y los complejos mTOR, están involucrados en el control del envejecimiento. Los polimorfismos genéticos o mutaciones que reducen las funciones de GH, receptor de IGF-1, receptor de insulina o efectores intracelulares posteriores como AKT, mTOR, y FOXO, se han relacionado con la longevidad, tanto en humanos como en organismo modelo, demostrando el gran impacto de estas rutas metabólicas en el envejecimiento (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013; Barzilai et al., 2012).

Además hay dos rutas importantes que promueven la longevidad: **AMPK (proteína quinasa activada por AMP)** y sirtuinas. El AMPK es un complejo enzimático que se activa con el aumento de la relación AMP-APT, así es considerado un detector de energía celular el cual ayuda al balance energético de la célula y el consumo de calorías. Las sirtuinas son una clase de enzimas, unas desacetilasas de histona NAD-dependientes. Afectan al metabolismo celular regulando la expresión de ciertos genes (epigenética). Si se produce una activación de estas vías se produce un aumento de la longevidad. Si por el contrario estas vías se inactivan el proceso de envejecimiento se vería aumentado (Argüelles et al., 2019).

#### 4.1.6 Disfunción mitocondrial

La relación entre la disfunción mitocondrial y el envejecimiento se sospecha desde hace años, pero sus detalles sigue siendo un desafío en la investigación con respecto al envejecimiento (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013). A medida que los organismos y las células envejecen, la eficacia de la cadena respiratoria tiende a disminuir, aumentándose la fuga de electrones y reduciéndose la generación de ATP. Las alteraciones de las funciones mitocondriales están unidas a numerosas enfermedades degenerativas o aguda (Green et al., 2011). La disfunción mitocondrial progresiva que ocurre con el envejecimiento da como resultado una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), dando a su vez un mayor deterioro mitocondrial y daño celular global. Paradójicamente resulta de gran



impacto las observaciones en estudios con Levaduras y *C. elegans* donde el aumento de ROS puede prolongar la vida útil de estos dos anteriores. También en ratones se ha podido comprobar que las manipulaciones genéticas que aumentan el ROS mitocondrial y el daño oxidativo no aceleran el envejecimiento. Y finalmente, las manipulaciones genéticas que deterioran las funciones mitocondriales pero no aumentan las ROS aceleran el envejecimiento (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013).

#### **4.1.7 Disminución de la capacidad regeneradora de la célula madre**

Una de las características principales del envejecimiento es la disminución del potencial regenerativo de los tejidos (Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013). Estudios en ratones envejecidos han demostrado una disminución general en la actividad del ciclo celular de las células madres hematopoyéticas (HSC), con HSC antiguas que experimentan menos divisiones celulares que las HSC jóvenes. Esto se correlaciona con la acumulación de daños en el ADN y con la sobreexpresión de proteínas inhibitoras del ciclo celular como p16<sup>INK4a</sup>. El acortamiento de telómeros también es causa de disminución de células madres con el envejecimiento en múltiples tejidos (López-Otín et al., 2013).

Aunque la disminución de células madres es perjudicial para el mantenimiento a largo plazo del organismo, la proliferación excesiva de células madres y progenitoras también puede ser perjudicial pues se acelera el agotamiento de los nichos de las células madres. En estudios se ha observado que la inducción de *INK4a* durante el envejecimiento y la disminución de IGF-1 en suero presentan un intento del organismo por preservar la quiescencia de las células madres. También se ha demostrado que el aumento de la señalización de FGF2 en el nicho de las células madres musculares envejecidas provoca la pérdida de quiescencia, y finalmente el agotamiento de células madres y la disminución de la capacidad regenerativa. La supresión de esta vía rescata estos defectos (López-Otín et al., 2013; Chakkalakal et al., 2012). También se están estudiando intervenciones farmacológicas para mejorar las funciones de las células madres. La rapamicina inhibe mTORC1 pudiendo así posponer el envejecimiento al mejorar la proteostasis y al afectar la detección de energía. También puede mejorar la función de las células madres en la epidermis, en el sistema hematopoyético y en el intestino (Castilho et al., 2009).

#### **4.1.8 Comunicación intercelular alterada**

EL envejecimiento también implica cambios a nivel de comunicación intercelular, ya sea endocrino, neuroendocrino o neuronal. La señalización neurohormonal tiende a desregularse en el envejecimiento a medida que las reacciones inflamatorias aumentan. La inflamación puede ser debida a diferentes causas, como la acumulación de daño tisular proinflamatorio, fallo del sistema inmunitario cada vez con menor capacidad para eliminar a los patógenos de manera efectiva, la propensión de células senescentes a secretar citosinas proinflamatorias, la aparición de una respuesta de autofagia defectuosa o la activación mejorada del factor de transcripción del ADN NF-KB, el cual tiene un papel clave en la regulación de la respuesta inmune debida a la infección. La regulación defectuosa de NF-kB está relacionada con el cáncer, enfermedades inflamatorias y autoinmunes entre otras (López-Otín et al., 2013; Salminen et al., 2012). Esta sobre activación de la vía NF-kB es como ya se ha dicho una de las marcas transcripcionales del envejecimiento y se ha comprobado que la expresión de un inhibidor de NF-kB en la piel envejecida de ratones transgénicos provocan el rejuvenecimiento fenotípico del tejido. De manera que la inhibición genética y farmacológica de la señalización de NF-kB previene las características asociadas a la edad en diferentes modelos de ratones de envejecimiento acelerado (López-Otín et al., 2013; Salminen et al., 2012).

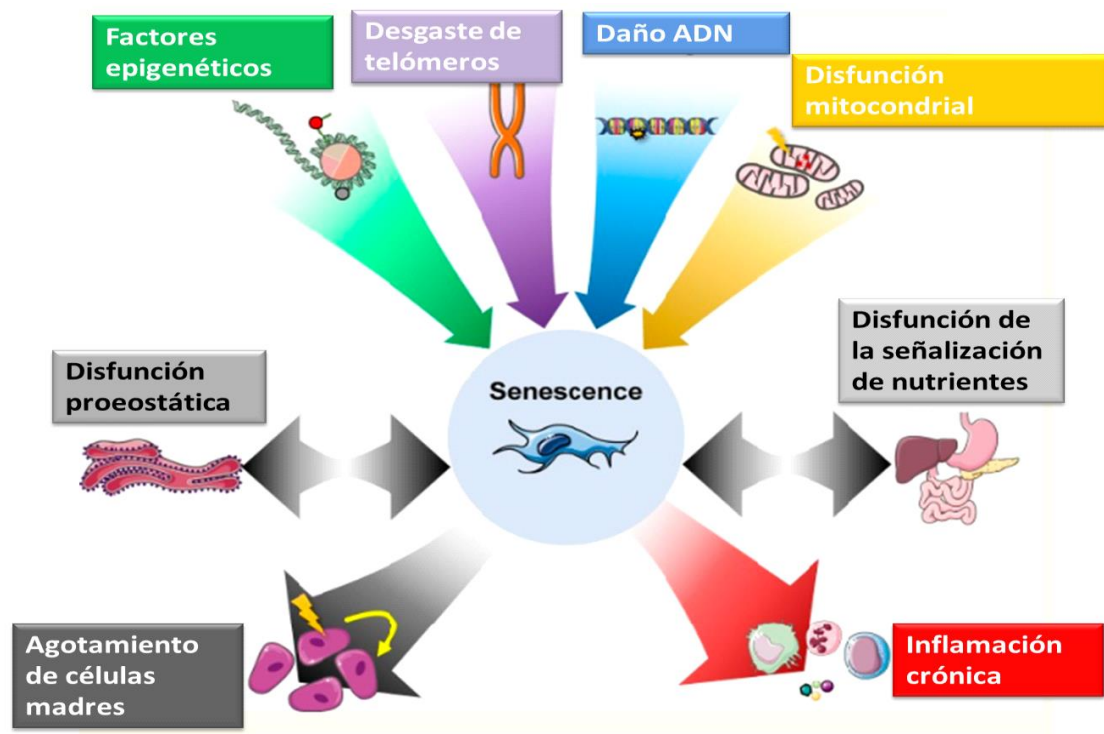
Otro vínculo entre la inflamación y el envejecimiento se deriva del estudio observado sobre como las respuestas inflamatorias y el estrés activan NF-kB en el hipotálamo e inducen una vía de señalización que lleva a una producción reducida de hormonas liberadora de gonadotropinas (GnRH) por las neuronas. Esta disminución puede provocar numerosos cambios relacionados con el envejecimiento como la fragilidad ósea, debilidad muscular o atrofia de la piel (Zhang et al., 2013; López-Otín et al., 2013). La inflamación está involucrada en la patogénesis de la obesidad y la diabetes tipo 2, condiciones que también contribuyen y se correlacionan con el envejecimiento de la población (López-Otín et al., 2013; Barzilai et al., 2012). La inmunosenescencia o disminución del sistema inmune con la edad puede agravar el fenotipo del envejecimiento a nivel sistémico. El sistema inmune pierde capacidad para eliminar agentes infecciosos, células infectadas, células en transformación malignas, además perdiendo la capacidad de reconocer células senescentes que se acumulan en tejidos envejecidos (López-Otín et al., 2013; Barzilai et al., 2012).

#### 4.1.9 Senescencia celular

La senescencia celular se define inicialmente como una detención irreversible del crecimiento de las células somáticas normales, y se ha propuesto que contribuye al envejecimiento del tejido y del organismo (Kim y Kim, 2019; Argüelles et al., 2019; Mattson y Arumugan, 2018; López-Otín et al., 2013).

Las células senescentes surgen de células normales en múltiples órganos debido a señales inflamatorias, metabólicas (restricción calórica), de daño en el ADN o de tejido. Permanecen viables y metabólicamente activas. Aunque estas células pueden ser reconocidas por las células T helper y eliminadas por los macrófagos y los linfocitos asesinos naturales, se ha demostrado que su número aumenta con el envejecimiento normal en los tejidos de humanos, primates y roedores. Se ha hallado que las células senescentes tienen diversos fenotipos, que incluye el aplanamiento celular e hipertrofia, la actividad de  $\beta$ -galactosidasa asociada a la senescencia, fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP), resistencia a la muerte celular apoptótica, alteraciones en la estructura nuclear y heterocromática asociada a la senescencia, focos, expansión mitocondrial y eventos de señalización, incluida la regulación positiva de los inhibidores del ciclo celular y los efectores pro-supervivencia (Kim y Kim, 2019).

En experimentos con ratones se ha podido comprobar que células senescentes se acumularon en varios tejidos de ratones de mayor edad. Comprendían del 5 al 40% total de células dependiendo del tipo de tejido. Las células senescentes pueden causar una disfunción extensa del microambiente y daño a las células y tejidos circundantes, debido a su fenotipo secretor asociado a la senescencia proinflamatoria (Kim y Kim, 2019). Como se ha dicho anteriormente, el aumento de la senescencia contribuye al envejecimiento (Figura 5). Por otra parte es sabido que una función fisiológica de la senescencia es evitar la propagación de células dañadas, provocar su desaparición por parte del sistema inmune para evitar una proliferación excesiva que lleve al cáncer (López -Otín et al., 2013)



**Figura 5. Senescencia como sello central del envejecimiento. Varios de estos factores de daño pueden inducir senescencia.** Fuente modificada de: *McHugh y Gil, 2018*.

Para comprender mejor el papel de las células senescentes en condiciones fisiológicas y patológicas, es esencial poder detectarlas *in vitro* e *in vivo*. Hasta ahora, la investigación sobre la senescencia celular se ha visto obstaculizada por falta de un marcador universal, específico y ampliamente aplicable de la senescencia celular. Los marcadores de la senescencia más utilizados según *Kritsilis, 2018*:

- **p16<sup>INK4a</sup>**: es un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina D (**CDK4 y CDK6**), que previene la fosforilación de la proteína del retinoblastoma (Rb), lo que lleva a la suspensión del ciclo celular antes de la fase S. Se han recogido niveles elevados de p16<sup>INK4a</sup> en tejidos envejecidos y estresados, en comparación con tejidos más jóvenes y sanos, mientras que la eliminación de células senescentes que expresan p16<sup>INK4a</sup> en ratones previno retrasó la disfunción tisular y los trastornos relacionados con la edad. Esta evidencia ha establecido p16<sup>INK4a</sup> como un marcador ampliamente aceptado del envejecimiento y la senescencia celular.
- **p21<sup>CIP1/WAF1/SDI1</sup>**: p21 es un miembro del segundo grupo de inhibidores de CDK. Es un mediador clave en varias funciones biológicas, incluida la detención del ciclo celular, la muerte celular, los procesos de reparación del ADN e incluso la reprogramación de

células somáticas. En el contexto de la senescencia, la p53 inducida por el estrés activa la p21 para activar la detención del ciclo celular. Aunque tanto p21 como p16<sup>INK4a</sup> conducen a la detención del ciclo celular, actúan a través de diferentes vías y tienen papeles distintos en la inducción y progresión de la senescencia celular.

- **SA-β-gal:** detectable a pH 6.0, es hoy el biomarcador más utilizados para detectar células senescentes. La enzima lisosómica β-galactosidasa codificada por el gen GLB1 (galactosidasa beta 1), es la fuente de actividad de SA-β-gal y, por lo tanto, puede elevarse en cualquier situación con un aumento en el número o actividad de lisosomas.
- **Lipofuscina:** los agregados intracelulares de lipofuscina consisten en proteínas oxidadas y residuos de degradación de lípidos y cationes metálicos que no pueden ser degradados por enzimas lisosomales. La lipofuscina se acumula con la edad y su acumulación es un sello documentado de las células senescentes.

#### 4.2 PRINCIPALES SENOLÍTICOS PARA EL CONTROL DEL ENVEJECIMIENTO.

La eliminación de células senescentes utilizando enfoques genéticos mitigó el envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad, por tanto se ha propuesto una intervención farmacológica dirigida a células senescentes, llamados senoterapéuticos. Los senoterapéuticos se clasifican como senolíticos, que eliminan selectivamente las células senescentes; senomórficos que modulan las células senescentes bloqueando SASP; y la inflamación y el aclaramiento de células senescentes por el sistema inmune (Kim y Kim, 2019).

Particularmente este TFG está centrado en el uso de senolíticos para el control del envejecimiento de órganos y tejidos. Estos pequeños compuestos farmacológicamente activos inhiben las vías de supervivencia en células senescentes que conducen a la apoptosis, una estrategia terapéutica que puede mejorarse adicionalmente mediante el uso de inmunomoduladores que promueven la eliminación natural de células senescentes (Paez-Ribes et al., 2019; Cano et al., 2019). Algunos de los senolíticos con esta actividad son:

El inhibidor de la tirosina quinasa, **Dasatinib (D)** y el inhibidor de la vía PI3K-AKT, **Quercetina (Q)**, compuesto flavonoide natural, que en combinación son efectivos para la eliminación de células senescentes *in vitro* e *in vivo*. La administración única de **D+Q** en ratones de edad avanzada mejoró la función cardiovascular y redujo la expresión de p16<sup>in4a</sup> y la prevalencia de

células positivas para SA $\beta$ Gal después de la irradiación localizada de extremidades. La combinación de **D+Q** en ratones proporcionó una mejor salud y una mayor supervivencia. Se previno y se alivió la disfunción física en ratones de edad natural y ratones trasplantados con preadipocitos senescentes, reduciéndose la prevalencia de las células senescentes y la secreción de citosinas proinflamatorias en tejido adiposo humano obtenido de individuos obesos (Paez-Ribes et al., 2019; Cano et al., 2019).

La regulación positiva de Bcl-2 y Bcl-X (proteínas que constituyen un punto clave en la vía intrínseca de apoptosis celular) conlleva la resistencia de células senescentes a la muerte celular apoptótica. Se ha sugerido como inhibidores de estas proteínas antiapoptóticas a ABT-263, ABT-737, A1331852 y A1155463. Se informaron como candidatos senolíticos en modelos *in vitro*, así como *in vivo* (Kim y Kim, 2019).

**ABT-263** se une al dominio inhibidor de Bcl-2, Bcl-XL y Bcl-W antiapoptóticos, eliminando células madre hematopoyéticas senescentes de médula ósea (HSC) y células madre musculares senescentes (MuSC) de ratones irradiados o normalmente envejecidos, y esto llevó al rejuvenecimiento de HSC y MuSC en ambos modelos animales. Disminuyó selectivamente la viabilidad de algunas células senescentes, como las células epiteliales venosas umbilicales humanas senescentes (HUVEC), los fibroblastos pulmonares humanos IMR90 y los fibroblastos embrionarios murinos (MEF), pero no los preadipocitos primarios humanos. También eliminó los macrófagos de células espumosas senescentes en lesiones ateroscleróticas, bloqueando en consecuencia la progresión de la aterosclerosis en ratones *LDLR*<sup>-/-</sup> (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019).

**ABT-737** destruye selectivamente células IMR90 (inhibidores de las proteínas de choque térmico) senescentes inducidas por la activación *H-RAS* y replicación *in vitro*. El tratamiento con este candidato senolítico también eliminó células epiteliales pulmonares senescentes de ratones irradiados y las células epidérmicas senescentes de ratones transgénicos *p14*<sup>ARF</sup>, dando como resultado un aumento en la proliferación de células madre del folículo piloso (Kim y R Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019).

**A1331852 y A1155463** son inhibidores selectivos de Bcl-XL, apoptosis inducida por HUVEC senescentes inducida por irradiación y células IMR90. A1331852 redujo la fibrosis hepática a través del agotamiento de los colangiocitos senescentes y la reducción de los niveles séricos de factores SASP en un modelo con ratones knockout con resistencia a múltiples fármacos (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019).

Otra nueva clase de candidatos senolíticos son los inhibidores de HSP90 (proteína de shock térmico de 90kDa), **17-AAG (17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina) y geldanamicina**. Indujeron la apoptosis de MEF senescentes, células madre mesenquimales murinas (MSC), IMR-90, células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) y células WI-38, inducidas por estrés oxidativo, irradiación o replicación, *in vitro*. Se eliminaron selectivamente *p16<sup>Ink4a</sup>* células positivas, retrasando la aparición de varios síntomas relacionados con la edad, alargándose la duración de la salud de *ERCC1 (proteína de reparación por escisión del grupo de complementación cruzada 1)*<sup>-/-</sup> Ratones<sup>Δ</sup> progeroid (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019).

A demás de la quercetina, fitoquímicos naturales como la **piperlongumina (PL)** y la **fisetina** también presentan actividad senolítica en experimentos *in vitro*. **PL** apoptosis inducida preferentemente en fibroblastos WI-38 humanos, sometidos a radiación ionizante, agotamiento replicativo o expresión ectópica del oncogén *Ras*, a través de una vía independiente de ROS. La **fisetina** eliminó selectivamente los HUVEC senescentes inducidos por radiación, pero no el IMR90 senescente o los pre-adipocitos (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019; Cano et al., 2019).

La **quercetina 3-D-galactósido (Q3G)**, también conocido como hiperósido, es un derivado natural de quercetina producido por *Hypericum perforatum* L (Hierba de San Juan). Q3G es estructuralmente idéntico a la quercetina, excepto por un grupo galactósido unido a través de un enlace O-glucósido que puede ser escindido por la beta-galactosidasa para liberar la quercetina. Al igual que la quercetina, la Q3G es bioactiva con sus propiedades antioxidantes, incluso cuando no es procesada por la beta-galactosidasa. Q3G es un agente senolítico potencial, la cual demostró que actúa sobre las células endoteliales senescentes, pero no sobre las HUVEC (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019; Cano et al., 2019).

**UBX0101**, un inhibidor de la interacción MDM2/ p53. La inyección intraarticular de este candidato eliminó células senescentes acumuladas en el cartílago articular y sinovial. Como resultado dio una atenuación en el desarrollo de la osteoartritis postraumática en ratones de edad avanzada. UBX101 es el primer ensayo clínico senolítico en fase 1, en pacientes con artrosis de rodilla (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019).

**Panobinostat** tiene actividad senolítica en células cancerosas inducida por quimioterapia, cáncer de pulmón de células no pequeñas y líneas celulares de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). Durante la quimioterapia se producen efectos

asociados a la senescencia, como la disminución de la acetilación de histonas, la mejora de las proteínas de la familia BCL-2 y la producción de SASP en células cancerosas. La senescencia inducida por la quimioterapia está involucrada en un aumento de la invasión de las células cancerosas, por esto los senolíticos dirigidos a células cancerosas senescentes podría ser una nueva estrategia para el tratamiento de metástasis y la resistencia del cáncer (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019).

La proteína O4 Forkhead box (**FOXO4**) es una proteína fundamental involucrada en la viabilidad de las células senescentes. Regula muchas vías celulares, incluidas la señalización de estrés oxidativo, la longevidad, la progresión de ciclo celular y la apoptosis. **FOXO4-DRI** (FOXO4-D-retro-inverso) es una nueva clase de candidatos senolíticos que se demostró tras un análisis bioinformático de los datos de la secuencia de ARN de las células IMR90 senescentes inducidas por radiación (Kim y Kim, 2019; Paez-Ribes et al., 2019).

Existen otros compuestos con actividad senolítica como son: **Acacetina** (Disminuye apoptosis, disfunción mitocondrial, inflamación y aumenta neuroprotección); **Baicaleina** ( Disminuye inflamación, apoptosis, ROS y aumenta neuroprotección); **Ácido chlorogénico** (disminuye inflamación, apoptosis, estrés oxidativo y aumenta antioxidante); **Epigallocatechin-3-G-gallate** (disminuye inflamación, apoptosis, estrés oxidativo, angiogénesis retiniana); **Genisteina** (disminuye inflamación, apoptosis, estrés oxidativo, angiogénesis retiniana); **Resveratrol** (Disminuye metástasis, inflamación, estrés oxidativo y aumenta actividad de SIRT1); **Triptolide** (Disminuye fibrosis cardiaca, invasión ,inflamación, necrosis tubular aguda y aumenta función cardiaca, memoria ,aprendizaje) (Cano et al., 2019).



**Tabla 1. Principales moléculas con actividad senolítica.** Fuente modificada de: *Kim y Kim, 2019; Cano et al., 2019; Kritsilis et al., 2018.*

<b>Senolíticos</b>	<b>Diana</b>	<b>Resultados in vivo</b>
Dasatinib + Quercetina	Dasatinib: (-)Pan-receptor tirosina quinasa (SRC, c-KIT, receptores de efrina y otras quinasas) Quercetina: (-) quinasas, PI3K-AKT	↓Aterosclerosis ↓Osteoporosis ↓Esteatosis hepática ↓Fibrosis pulmonar ↑Capacidad de ejercicio ↑Función vasomotora y cardíaca ↑Vida libre de discapacidad
ABT-263 (Navitoclax)	Familia Bcl-2 (Bcl-2,BCL-XL,Bcl-W)	↑Función de células madres hematopoyéticas y musculares ↓ Riesgo de lesión aterosclerótica
ABT-737	Familia Bcl-2 (Bcl-2,BCL-XL,Bcl-W)	↑Función de células madres del folículo piloso y ↓ Lesión pulmonar

**Tabla 1 (continua)**

A1331852 A1155463	Familia Bcl-2 (Bcl-XL)	↓ Fibrosis hepática
17-AGG Geldanamicina	(-) HSP90	↓ Síntomas relacionados con la edad ↑ Duración de la salud
Fisetina	PI3K/AKT/mTOR	↓ Inflamación ↓ Célula de invasión ↑ Antioxidante
Piperlongumina	Modulador NF-kB	Induce la apoptosis de células envejecidas
Quercetina-3-D-galactosa	(-) quinasas, PI3K-AKT	↓ Inflamación ↓ Estrés oxidativo ↓ Acumulación de lípidos ↓ Apoptosis
UBX0101	MDM2/P53	↓ Osteoartritis
Panobinostat	(-)HDAC	Efecto sinérgico con el taxol para inducir la muerte de células senescentes. En mieloma múltiple.
Péptido FOXO4-DRI	P53/p21/serpina	↓ Toxicidad hepática ↓ Fragilidad ↑ Crecimiento cabello

Abreviaturas (Tabla 1): SRC: protooncogén; c-KIT: receptor de la tirosina quinasa y de marcador tumoral; AKT: proteína serina-treonina quinasa; PI3K: Fosfoinositol 3-quinasa; MDM2: regulador negativo de p53; HDAC: histona desacetilasa.

### 4.3. IMPORTANCIA/APLICABILIDAD DEL USO DE SENOLÍTICOS PARA EL CONTROL DEL ENVEJECIMIENTO.

Existen estudios en ratones donde se comprueba que las células senescentes pueden causar disfunción física y disminución de la supervivencia en ratones jóvenes, y en donde los senolíticos pueden mejorar la salud y la vida útil restante en ratones viejos. (Xu et al., 2018; Roos et al., 2016). El cóctel senolítico de Dasatinib + Quercetina, provoca una disminución en el número de células senescentes naturales y la secreción de citosinas proinflamatorias relacionadas con la fragilidad en explantes de tejido adiposo humano. Una administración oral intermitente de senolíticos, tanto a ratones senescentes trasplantados de células jóvenes como a ratones de edad natural, mejoró la disfunción física y aumentó la supervivencia después del tratamiento en un 36%, al mismo tiempo que se redujo el riesgo de mortalidad al 65%. Esto podría ser un posible enfoque para mejorar la salud en individuos de edad avanzada (Xu et al., 2018; Roos et al., 2016).

Por ejemplo, en otro estudio se vio que Dasatinib + Quercetina reduce la carga de células senescentes y disminuye la secreción de citocinas proinflamatorias en el tejido adiposo humano. Lo que se hizo en el experimento fue utilizar tejido adiposo omental humano recién aislado de individuos obesos, ya que la obesidad está relacionada con la acumulación de células senescentes (Tchkonia et al., 2010). Los explantes extirpados quirúrgicamente que contenían células senescentes de origen natural fueron tratados con Dasatinib + Quercetina (1  $\mu$ M + 20  $\mu$ M) durante 48 horas. Los explantes tratados con estos senolíticos tenían una menor expresión de p16<sup>INK4A</sup> y células SA- $\beta$ gal<sup>+</sup>, los cuales son biomarcadores de la senescencia como ya se ha dicho anteriormente, y también más células sometidas a apoptosis (Xu et al., 2018).

Los preadipocitos senescentes producen una variedad de citocinas proinflamatorias y también pueden inducir la producción de citocinas por el tejido adiposo *in vitro*, pudiendo llevar a un aumento de la inflamación del tejido adiposo. Para comprobar si Dasatinib + Quercetina disminuye la secreción de citoquinas por parte del tejido adiposo de individuos obesos se trataron los explantes durante 48 horas y luego se lavaron. Se recolectó un medio acondicionado en ausencia de fármacos durante las siguientes 24 horas. Se midieron los niveles de proteínas secretadas en el medio de cultivo después del tratamiento Dasatinib + Quercetina, y se encontraron menos secreción de los componentes claves de SASP, IL-6 (interleucina), IL-8 proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1), inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1) y factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos (GM-

CSF). Dasatinib + Quercetina redujo la producción de citocinas más ampliamente en los explantes del tejido adiposo humano que D o Q solo (Xu et al., 2018).

Con una población que envejece en todo el mundo, el envejecimiento saludable es un objetivo importante para la salud pública. Según varias líneas de evidencia reciente, los mecanismos responsables de regular la senescencia, así como compuestos con actividad senolítica ocupan una posición central para el posible control del envejecimiento y son un área atractiva de investigación (Cano et al., 2019; Argüelles et al., 2019). Es posible que el tratamiento ideal para un mejor envejecimiento y una mayor calidad de vida sea la combinación del tratamiento agentes que actúan efectivamente sobre algunos de los mecanismos moleculares del envejecimiento con senolíticos y/o un tratamiento no farmacológico, como sería la dieta y el ejercicio, los cuales se han demostrado que son determinantes en un envejecimiento saludable (Pardo, 2016; Landinez et al., 2012). El hecho de mantenerse activo puede ayudar a las personas mayores a conservar la mayor independencia posible durante un mayor periodo, además de reducir el riesgo de caídas. Por lo tanto, existen ventajas económicas en el hecho de que las personas mayores permanezcan activas físicamente, entre ellas, la reducción considerable de gastos médicos.

## **5. CONCLUSIÓN**

Se ha visto que el mecanismo molecular de senescencia es uno de los mecanismos que contribuye al envejecimiento, pues está asociado al riesgo de padecer enfermedades crónicas relacionadas con la edad.

Hemos podido comprobar que los diversos senolíticos revisados han demostrado ser eficaces sobre diferentes células senescentes específicas, siendo capaces de controlar situaciones relacionadas con el envejecimiento, como es la inflamación, apoptosis, enfermedades neurodegenerativas o cáncer entre otras, contribuyendo todo esto al control del envejecimiento y una mejor calidad de vida.

Los senolíticos están siendo estudiados sobre diferentes mamíferos obteniéndose resultados positivos sobre el envejecimiento y la longevidad del organismo. Es posible que en un futuro este grupo terapéutico sea el tratamiento farmacológico clave para el control total del envejecimiento y que nuestras personas mayores puedan envejecer de una mejor forma y con la mínima dependencia social posible.

## 6. REFERENCIAS

- Argüelles S, Guerrero Catilla A, Cano M, Muñoz MF, Ayala A. Advantages and disadvantages of apoptosis in the aging process. *An.N.Y.Acad.Sci.ISSN*. 2019; 1443:20-33.
- Armanios M, Alder JK, Parry EM, Karim B, Strong MA, Greider CW. Short telomeres are sufficient to cause the degenerative defects associated with aging. *Am J Hum Genet*. 2009; 85(6):823–832.
- Bacalini MG, Friso S, Olivieri F, Pirazzini C, Giuliani C, Capri M, Santoro A. et al. Present and future of anti-ageing epigenetic diets. *Elsevier*. 2014; 136-137:101-115.
- Barzilai N, Huffman DM, Muzumdar RH, Bartke A. The critical role of metabolic pathways in aging. *Diabetes*. 2012; 61(6):1315–1322.
- Cano M, Ayala A, Marotta F, Argüelles S. Application of Kinase Inhibitors for Anti-aging Intervention. *Curr.Pharm.Des*. 2017; 23(9):4351-4368.
- Cano M, Guerrero-Castilla A, Navabi SM, Ayala A, Argüelles S. Targeting pro-senescence mitogen activated protein kinase (Mapk) enzymes with bioactive natural compounds. *Food and Chemical Toxicology*. 2019; 131:110544.
- Castilho RM, Squarize CH, Chodosh LA, Williams BO, Gutkind JS. mTOR mediates Wnt-induced epidermal stem cell exhaustion and aging. *Cell Stem Cell*. 2009; 5(3):279–289.
- Chakkalakal JV, Jones KM, Basson MA, Brack AS. The aged niche disrupts muscle stem cell quiescence. *Nature*. 2012; 490(7420):355–360.
- Cole, J.J., Robertson, N.A., Rather, M.I. et al. Diverse interventions that extend mouse lifespan suppress shared age-associated epigenetic changes at critical gene regulatory regions. *Genome Biol*. 2017; 18,58.
- Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009; 325(5937):201–204.
- Gensous N, Franceschi C, Santoro A, Milazzo M, Garagnani P, Bacalini MG. The Impact of Caloric Restriction on the Epigenetic Signatures of Aging. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(8):2022.
- Gensous N, Bacalini MG, Pirazzini C, et al. The epigenetic landscape of age-related diseases: the geroscience perspective. *Biogerontology*. 2017; 18(4):549–559.

Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science*. 2011; 333(6046):1109–1112.

Han S, Brunet A. Histone methylation makes its mark on longevity. *Trends Cell Biol*. 2012; 22(1):42–49.

Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012; 13(4):225–238.

Huan T, Chen G, Liu C, et al. Age-associated microRNA expression in human peripheral blood is associated with all-cause mortality and age-related traits. *Aging Cell*. 2018; 17(1):e12687.

Jaskelioff M, Muller FL, Paik JH, et al. Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Nature*. 2011; 469(7328):102–106.

Khanna A, Muthusamy S, Liang R, Sarojini H, Wang E. Gain of survival signaling by down-regulation of three key miRNAs in brain of calorie-restricted mice. *Aging (Albany NY)*. 2011; 3(3):223–236.

Kim EC, Kim JR. Senotherapeutics: emerging strategy for healthy aging and age-related disease. *BMB Rep*. 2019; 52(1):47–55.

Koga H, Kaushik S, Cuervo AM. Protein homeostasis and aging: The importance of exquisite quality control. *Ageing Res Rev*. 2011; 10(2):205–215.

Kritsilis M, V Rizou S, Koutsoudaki PN, Evangelou K, Gorgoulis VG, Papadopoulos D. Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(10):2937.

Landinez NS, Contreras K, Castro A. Proceso de envejecimiento, ejercicio y fisioterapia. *Rev Cubana de salud pública*. 2012; 38(4):0864-3466.

Liang Y, Liu C, Lu M, et al. Calorie restriction is the most reasonable anti-ageing intervention: a meta-analysis of survival curves. *Sci Rep*. 2018; 8(1):5779.

López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013; 153(6):1194–1217.

Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature*. 2012; 481: 287–294.

Mattson M.P, T.V. Arumugam. Hallmarks of brain aging: adaptive and pathological modification by metabolic states. *Cell Metab.*2018. 27: 1176–1199.

McHugh D, Gil J. Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues. *J Cell Biol.* 2018; 217(1):65–77.

Naylor RM, Baker DJ, van Deursen JM. Senescent cells: a novel therapeutic target for aging and age-related diseases. *Clin Pharmacol Ther.* 2013; 93(1):105–116.

Paez-Ribes M, González-Gualda E, Doherty GJ, Muñoz-Espín D .Targetin senescent cells in translational medicine. *EMBO Mol Med.*2019; 11: e10234.

Pardo Ramírez I. ¿Es posible el rejuvenecimiento celular? *EB.*2016; 9(160):175-176.

Pifferi F, Terrien J, Perret M, et al. Promoting healthspan and lifespan with caloric restriction in primates. *Commun Biol.* 2019; 2:107.

Roos CM, Zhang B, Palmer AK, et al. Chronic senolytic treatment alleviates established vasomotor dysfunction in aged or atherosclerotic mice. *Aging Cell.* 2016; 15(5):973–977.

Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Inflammaging: disturbed interplay between autophagy and inflammasomes. *Aging (Albany NY).* 2012; 4(3):166–175.

Tchkonia T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell.* 2010; 9(5):667–684.

Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med.* 2018; 24(8):1246–1256.

Zhang G, Li J, Purkayastha S, et al. Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK- $\beta$ , NF-kB and GnRH. *Nature.* 2013; 497(7448):211–216.