



# Senoterapia: una nueva perspectiva para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

Ciclo de Metodología Científica II-2021, Grupo 3

## **Integrantes del equipo:**

Boronat, Marcia<sup>1</sup>

Di Donato, Francesca<sup>1</sup>

Dinello, Lucía<sup>1</sup>

Draper, Sofía<sup>1</sup>

Musto, Luciana<sup>1</sup>

## **Orientadoras:**

Martínez, Jennyfer<sup>2</sup>

Quijano, Celia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ciclo de Metodología Científica II 2021 - Facultad De Medicina - Universidad de la República, Uruguay

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica – Facultad de Medicina – Universidad de la República, Uruguay

## **Índice de contenidos:**

<b>RESUMEN Y SUMMARY</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>6</b>
<b>METODOLOGÍA</b>	<b>6</b>
<b>ASPECTOS MOLECULARES DE LA SENESCENCIA</b>	<b>7</b>
Características de las células senescentes	7
Cese de la proliferación	7
Activación de la vía de la respuesta al daño al ADN (DDR)	8
SA- $\beta$ Galactosidasa	9
Alteraciones morfológicas	9
Fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP)	9
Alteraciones metabólicas	11
Resistencia a la apoptosis	11
Tipos de senescencia celular	12
Senescencia replicativa	12
Senescencia por daño al ADN	12
Senescencia inducida por oncogenes (OIS)	13
<b>ROL DE LA SENESCENCIA EN EL ALZHEIMER</b>	<b>13</b>
Inducción de la senescencia en células de la microglía	14
Inducción de la senescencia en los astrocitos	15
Inducción de la senescencia en las neuronas	16
<b>LA SENESCENCIA CELULAR COMO BLANCO TERAPÉUTICO</b>	<b>16</b>
Fármacos senolíticos	17
Fármacos moduladores del SASP	20
<b>LA SENOTERAPIA APLICADA A ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS</b>	<b>22</b>
<b>LA SENOTERAPIA APLICADA A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER</b>	<b>23</b>
<b>CONCLUSIONES Y PROYECCIONES A FUTURO</b>	<b>26</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA/REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>27</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>31</b>

## **Índice de figuras**

<b>Figura 1:</b> Características de las células senescentes	<b>7</b>
<b>Figura 2:</b> Fármacos senolíticos y sus sitios de acción	<b>18</b>
<b>Figura 3:</b> Fármacos senomórficos y sus sitios de acción	<b>20</b>

## RESUMEN

La senoterapia abarca todas aquellas estrategias terapéuticas dirigidas contra las células senescentes y/o el fenotipo secretor. La senescencia celular es un estado que se caracteriza por la detención permanente del ciclo celular, resistencia a la apoptosis y secreción de un conjunto de factores pro y anti-inflamatorios denominado fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP). Este tipo de células cobran mayor protagonismo en el envejecimiento del organismo, por lo cual, la senoterapia se hace relevante en patologías características de este proceso, entre las que se destacan las enfermedades neurodegenerativas. Estadísticamente, se estima que en Uruguay 1000 de cada 100.000 habitantes padecen Alzheimer y otras demencias. En este trabajo se realizará una búsqueda exhaustiva de la bibliografía acerca de la senoterapia enfocada en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, con especial énfasis en la enfermedad de Alzheimer. Se consultarán tanto revisiones sistemáticas y narrativas, como ensayos clínicos y preclínicos, abarcando un periodo de 10 años (2011-2021). La metodología de búsqueda comprende las bases de datos Pubmed, Google Scholar, Clinical Trials, Portal Regional de la BVS, Our World in Data, Scielo, Alzheimer 's Disease International, sitio oficial del Ministerio de Salud Pública del Uruguay. Palabras clave: senescencia, senoterapia, senolíticos, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad de Alzheimer.

## SUMMARY

Senotherapy encompasses all those therapeutic strategies directed against senescent cells and/or the secretory phenotype. Cellular senescence is a condition characterized by permanent cell cycle arrest, resistance to apoptosis, and secretion of a set of pro and anti-inflammatory factors called the senescence-associated secretory phenotype (SASP). This type of cells play a role in the aging of the body, which is why senotherapy becomes relevant in pathologies characteristic of this process, among which neurodegenerative diseases stand out. Statistically, it is estimated that in Uruguay 1000 out of every 100,000 inhabitants suffer from Alzheimer's and other dementias. This study will conduct a comprehensive search of the literature on senotherapy focused on the treatment of neurodegenerative diseases, with special emphasis on Alzheimer's disease. Systematic and narrative reviews, as well as clinical and preclinical trials, will be consulted, covering a period of 10 years (2011-2021). The search methodology includes the databases Pubmed, Google Scholar, Clinical Trials, Regional Portal of the VHL, Our World in Data, Scielo, Alzheimer's Disease International, official website of the Ministry of Public Health of Uruguay. Keywords: senescence, senotherapy, senolytics, neurodegenerative diseases, Alzheimer's disease.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas son enfermedades crónicas que se caracterizan por la pérdida progresiva y selectiva de cierta población de neuronas vulnerables y sus conexiones sinápticas, que se manifiestan a través de la declinación funcional del sistema nervioso central (1). Pueden desencadenarse debido a causas metabólicas tales como la deficiencia de vitamina b12, deficiencia nutricional, tumores, y trastornos tóxicos como intoxicación con metales pesados, infecciones y/o disminución de aporte de oxígeno al cerebro (2). A nivel molecular, los desórdenes neurodegenerativos más frecuentes, que se caracterizan por presentar proteínas anormales, se deben a amiloidosis, la patología dependiente de Tau,  $\alpha$ -sinucleinopatías y proteinopatías TDP43 (3). Uno de los tipos de demencia con mayor prevalencia es la enfermedad de Alzheimer.

A nivel mundial, las enfermedades neurodegenerativas ocupan un lugar muy importante por su alta tasa de prevalencia en la población de todas las edades. A su vez, su morbilidad alcanza números sorprendentes, pero no se condicen con la mortalidad estimada. Desde los años noventa la incidencia de Alzheimer y otras demencias ha aumentado aproximadamente un 150% entre individuos de todas las edades en el mundo (4). Según datos recabados hasta 2017, en Uruguay la incidencia de estas enfermedades pasó de 800 a 1000 personas por cada 100.000 habitantes en un lapso de tiempo de 20 años (5). Las proyecciones realizadas para nuestro país indican que la cifra de personas afectadas ascendería a 77.000 al año en el 2030. Sin embargo, la tasa de mortalidad del Alzheimer y otras demencias asociadas llega a 25-35 habitantes de cada 100.000 en toda América del Sur (6). En el mundo, el costo que implican los cuidados tanto formales como informales y médicos de Alzheimer, Parkinson y otras demencias, supera la cifra del trillón de dólares anuales, según datos que se registraron en 2020. En Uruguay, el dato más actualizado sobre costos es de 2010 y éste ascendía a 420 millones de dólares (US\$ 7787 por paciente), cifra que representaba en ese momento un poco más del 1,05% del Producto Bruto Interno (PBI) estimado en 40.000 millones de dólares en ese año (6).

Según la revista de la Asociación Uruguaya de Alzheimer y Similares (AUDAS), Uruguay es el país más envejecido de la región, con un 14% de su población mayor o igual a 65 años. En cuanto al deterioro de la calidad de vida, las enfermedades neurodegenerativas entran dentro de los principales desencadenantes de dependencia y discapacidad, obstaculizando la transición hacia un envejecimiento saludable. A nivel social, el mayor impacto se puede adjudicar a las consecuencias de la progresión de la enfermedad, en la cual los pacientes requieren mayores auxilios para llevar a cabo las tareas de la vida cotidiana (6).

A pesar de que la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas no tienen cura al día de hoy, las personas afectadas viven entre 7 y 12 años después de ser diagnosticadas. La falta de comprensión detallada sobre los mecanismos de estas enfermedades dificulta el desarrollo de estrategias terapéuticas (7). Para mejorar la calidad de vida de los pacientes y enlentecer la progresión de la enfermedad se requiere de un tratamiento tanto farmacológico como psicosocial de sostén. Actualmente en Uruguay, el Sistema Nacional Integrado de Salud (SNIS) brinda estos tratamientos de forma accesible, aunque solo un 5% de los pacientes tiene indicación y los tratamientos presentan una respuesta limitada, y por ende una baja efectividad (8). Por todo esto, la búsqueda de nuevos tratamientos, a nivel mundial y en nuestro país, aún continúa.

Ciertos estudios han demostrado la presencia de células con características senescentes tanto en pacientes como en modelos de animales con la enfermedad de Alzheimer. La senescencia celular es un proceso irreversible de detención del crecimiento celular que se da como respuesta al acortamiento de los telómeros y otro tipo de estímulos como pueden ser la activación de oncogenes, citoquinas, daño al ADN, entre otros (9). En organismos jóvenes, las células senescentes colaboran en la reparación y regeneración de tejidos dañados y en la supresión tumoral (10). Sin embargo, se ha visto que la acumulación de células senescentes en organismos envejecidos, contribuye a la patogénesis de las enfermedades vinculadas al envejecimiento mediante la generación de un microambiente pro-inflamatorio crónico (11).

En la Enfermedad de Alzheimer las células más comprometidas son los astrocitos, la microglía y las neuronas, en las cuales se detectó un aumento de varios marcadores de senescencia celular:  $\beta$ -galactosidasa asociada a la senescencia (SA- $\beta$ -Gal), p53, fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP), daño en el ADN y acortamiento de telómeros (11). La eliminación de estas células a nivel encefálico enlentece la progresión y mejora la supervivencia de pacientes con enfermedades neurodegenerativas. Es por esto que la aplicación de la senoterapia para pacientes con este tipo de patologías constituye un área interesante de estudio.

## OBJETIVOS

### Objetivo general:

El objetivo general de este trabajo es realizar una revisión completa de la bibliografía sobre la senoterapia y sus implicancias terapéuticas en enfermedades neurodegenerativas.

Los objetivos específicos se detallan a continuación:

1. Conocer los fármacos senolíticos y senomórficos existentes y sus mecanismos de acción.
2. Realizar una revisión completa de la bibliografía sobre la senoterapia como opción terapéutica para el Alzheimer
3. Evaluar la evidencia existente en ensayos preclínicos y clínicos sobre las células senescentes como blanco terapéutico para otras enfermedades neurodegenerativas.

## METODOLOGÍA

En este trabajo se pretendió realizar una revisión bibliográfica completa sobre la senoterapia y su aplicación al tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, con especial énfasis en la enfermedad de Alzheimer. Se realizó una búsqueda exhaustiva de la bibliografía disponible, abarcando un período de tiempo de 10 años (2011-2021).

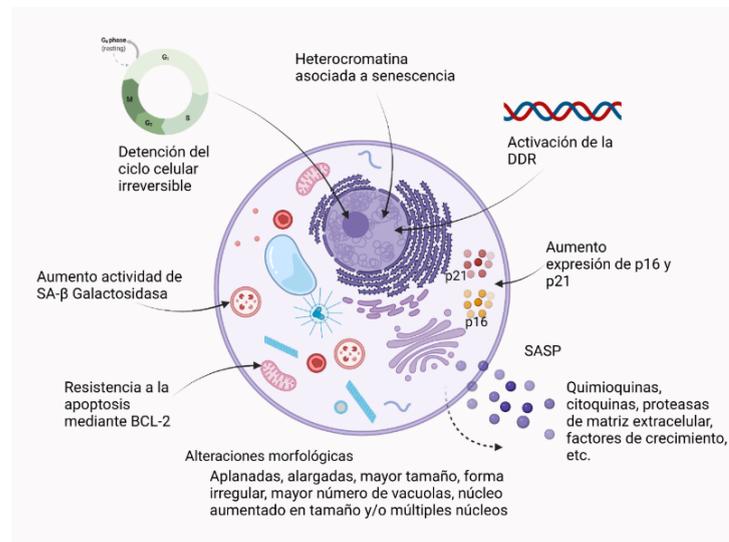
Para esta revisión se utilizaron los siguientes términos de búsqueda: Senotherapy (senoterapia), Senolytics (senolíticos), Senescence (senescencia), Quercetin, Dasatinib, Clinical trial (ensayo clínico), Alzheimer disease (enfermedad de Alzheimer), Parkinson disease (enfermedad de Parkinson) neurodegenerative disease (enfermedad neurodegenerativa), neurodegeneration (neurodegeneración), senescence associated secretory phenotype (SASP) (fenotipo secretor asociado a la senescencia). Se emplearon términos en inglés debido a que la mayoría de la literatura científica y médica se encuentra en este idioma.

La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo en las siguientes bases de datos: PubMed, Google Scholar, Clinical Trials, Portal Regional de la BVS, Our World in Data, Scielo, Alzheimer's Disease International, sitio oficial del Ministerio de Salud Pública del Uruguay. En esta búsqueda bibliográfica se incluyeron revisiones sistemáticas, revisiones narrativas, ensayos clínicos y artículos científicos.

## ASPECTOS MOLECULARES DE LA SENESCENCIA

### Características de las células senescentes

La senescencia celular es un estado permanente de detención del ciclo celular mediado por las vías de señalización de p16, p53/p21 y la proteína retinoblastoma (pRb) (12). Las células senescentes se caracterizan por el cese irreversible de la proliferación, un aumento de la actividad  $\beta$ -galactosidasa (SA- $\beta$ -Gal), aparición de focos de daño en el ADN y de heterocromatina en el núcleo celular, alteraciones morfológicas y por la secreción de factores pro y anti-inflamatorios, conocido como fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP). En muchos casos presentan también resistencia a la apoptosis y alteraciones metabólicas (12,13) (Figura 1). Sin embargo, los marcadores identificados a la fecha para la detección de células senescentes no son específicos. Por esto se deben utilizar combinaciones de los mismos para poder concluir que una célula es senescente, así como para evaluar los efectos de las distintas intervenciones sobre el número de células senescentes.



*Figura 1: Características de las células senescentes*

### Cese de la proliferación

Una de las principales características de las células senescentes es la detención irreversible del ciclo celular como respuesta a estímulos deletéreos o aberraciones en la proliferación celular (14). Estas células pierden la capacidad de responder a las señales mitogénicas del entorno como a la presencia de factores de crecimiento, siendo incapaces de iniciar nuevamente el ciclo celular (15). Las células diferenciadas, como las neuronas, también presentan detención de su ciclo celular, sin embargo, lo hacen como resultado de un programa de desarrollo celular definido que transforma células precursoras no diferenciadas en células especializadas terminales (15).

Los estímulos que inducen la senescencia celular activan diferentes vías de señalización, como la vía del p53/p21 y la de p16, las cuales tienen un rol fundamental en el cese de la proliferación celular (14,15). Las quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) regulan múltiples proteínas encargadas de la progresión del ciclo celular. Las principales proteínas

inhibidoras de las CDKs (p16, p15 y p21), que se encuentran involucradas en la detención de este ciclo, están codificadas en los loci *CDKN2A* (p16), *CDKN2B* (p15) y *CDKN1A* (p21) (12).

En las células senescentes observamos una acumulación de p21 y p16, que da como resultado la hipofosforilación y activación permanente de la familia pRb, la inhibición de la transactivación de E2F y como resultado la detención del ciclo celular (14).

#### Activación de la vía de la respuesta al daño al ADN (DDR)

Las células están expuestas inevitablemente a agentes externos e internos capaces de afectar la integridad de su genoma. Para poder sobrevivir a estas condiciones adversas y poder transmitir información genética intacta a las siguientes generaciones, las células han desarrollado mecanismos para sobrellevar el estrés genotóxico, entre los cuales se encuentra la respuesta al daño del ADN (DDR) (16). Las vías de señalización del DDR son activadas por la detección de aberraciones a nivel de la estructura del ADN, que llevan a la activación de distintos sensores que pueden inhibir la proliferación, estimular la reparación del ADN o inducir la apoptosis (16,17).

Los sensores del daño al ADN reconocen cortes de ADN simple hebra (SSBs, del inglés *Single-Strand breaks*) y la rotura de ADN doble cadena (DSB, del inglés *Double Strand breaks*), para luego transmitir esta información a los miembros de la familia fosfoinositido 3-quinasa vinculada a quinasas (PIKKS), cuyos principales miembros son la serin-protein quinasa ATM (ataxia-telangiectasia mutada), y la serin-protein quinasa ATR (proteína relacionada a ATM y Rad3) y ADN-PKcs (proteínquinasa dependiente de ADN), que tienen un rol crítico en la transmisión de señales en los puntos de control del ciclo celular (18). ATM y ATR son reclutadas al sitio de lesión del ADN, donde fosforilan localmente a la histona H2AX. La H2AX fosforilada ( $\gamma$ H2AX) actúa atrayendo y reteniendo factores de la DDR necesarios para la reparación del ADN. Frente al DSB la  $\gamma$ H2AX recluta complejos adicionales de ATM en un ciclo de retroalimentación positiva, incrementando así la actividad ATM local y promoviendo la diseminación de  $\gamma$ H2AX a lo largo de la cromatina (12,19).

La proteína quinasa ATM influye sobre efectores que actúan sobre los puntos de control o los “checkpoints” del ciclo celular, incluyendo a la Checkpoint quinasa 2 (Chk2), BRCA1, p53 y E3 ubiquitin-quinasa ligasa Mdm2 (17). Chk2 es activada por ATM mediante fosforilación en la treonina 68, y Chk1 por ATM o ATR por fosforilación en las serinas 345 o 317 (17,19). A pesar de que Chk1 o Chk2 son conocidas por mediar la detención del ciclo celular en la fase G2/M mediante la fosforilación y activación de la fosfatasa CDC25C, estas quinasas también controlan la detención del ciclo en G1 a través de la activación por fosforilación de p53 potenciando su función como factor de transcripción (17). El aumento de la

expresión de p21 dependiente de p53, determina la inhibición de CDK2 y por tanto la hipofosforilación de pRb. De esta forma se previene la progresión de la fase G1 a la S del ciclo celular (18).

Mientras que la inducción de p53 y p21 está relacionada a la DDR, la expresión aumentada de p16 y el subsecuente aumento del estado hipofosforilado de pRb está relacionada con cambios, a nivel epigenético, en la regulación de BMI1, una proteína que reprime la expresión de p16 (20).

#### SA- $\beta$ Galactosidasa

La actividad enzimática de la  $\beta$ -Gal se encuentra en una gran variedad de células normales bajo condiciones fisiológicas. A nivel de las células senescentes esta actividad es amplificada debido al aumento del contenido lisosomal, puede medirse a pH 6, y recibe el nombre de actividad  $\beta$  galactosidasa asociada a la senescencia (SA- $\beta$ -Gal). SA- $\beta$ -Gal es el marcador de senescencia celular más fiel y por tanto el más utilizado, ya que se lo detecta positivo en todas las células senescentes tanto *in vitro* como *in vivo* (15).

#### Alteraciones morfológicas

*In vitro*, se constató que las células senescentes sufren diversas alteraciones morfológicas. Estas células se vuelven aplanadas, alargadas, de mayor tamaño, de forma irregular y presentan mayor número de vacuolas; también se puede observar un núcleo aumentado en tamaño y/o múltiples núcleos por célula. Los cambios morfológicos dependen del estado de la proteína Caveolina1 y las Rho GTPasas Rac1 y CDC42. El aumento en la cantidad de vacuolas se relaciona al estrés del retículo endoplasmático causado por la respuesta a proteínas desplegadas (15).

#### Fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP)

El SASP se caracteriza por la secreción de quimioquinas, citoquinas, proteasas de matriz extracelular, factores de crecimiento y otras moléculas por parte de las células senescentes. Su composición específica varía según el tipo de célula y el estímulo inductor de la senescencia (15). Por un lado, se cree que el SASP podría haber evolucionado inicialmente como una forma de reclutar al sistema inmunológico para eliminar las células senescentes pero, por otro lado, el SASP puede tener propiedades inmunosupresoras (15) (Anexo 2, Figura 1).

Este fenotipo está regulado en múltiples niveles como son la transcripción, traducción, estabilización del ARNm, secreción y presenta bucles de retroalimentación positiva autocrina y paracrina (15). Varias vías de señalización regulan el SASP, entre ellas se destacan la vía de la DDR, p38 proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK), mTOR (del inglés *mechanistic target of rapamycin*) y GMP-AMP sintasa/estimulador de genes interferón (cGAS/STING).

Estas cascadas tienen como final común la activación de los siguientes factores de transcripción: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- $\kappa$ B) y CCAAT/proteína de unión a potenciador- $\beta$  (C/EBP $\beta$ ) (15).

La vía de mTOR regula al SASP mediante dos mecanismos post transcripcionales. Por un lado, promueve la traducción de la interleuquina 1A (IL-1A) que activa a NF- $\kappa$ B y C/EBP $\beta$ , los cuales controlan directamente la transcripción de reguladores clave del SASP como son las interleuquinas 8 y 6 (IL-8 e IL-6). Estas últimas a su vez participan en un ciclo de retroalimentación positiva activando NF- $\kappa$ B y C/EBP $\beta$ , amplificando así la señalización del SASP. Por otro lado, la vía mTOR inhibe indirectamente a la proteína de unión al ARN ZFP36L1 previniendo la degradación del ARNm de los componentes pro-inflamatorios del SASP (12,15).

El ADN citosólico es censado por la sintasa de AMP-GMPc (cGAS) que mediante la producción del segundo mensajero GMP-AMP cíclico (cGAMP) activa al receptor estimulador de genes del interferón (STING). STING activa a NF- $\kappa$ B, y promueve su translocación al núcleo la cual induce la transcripción de genes que activan respuestas inflamatorias. La vía cGAS/STING es clave para regular la inducción del SASP (21). Por otro lado, p38 es un miembro de la familia MAPK que se activa mediante fosforilación de tirosina y treonina en respuesta a una variedad de estímulos que dañan el ADN, esta activación induce al SASP a través de NF- $\kappa$ B (21,22).

Todas estas vías convergen en la activación de NF- $\kappa$ B y C/EBP $\beta$ , ambos factores de transcripción se han visto implicados en la regulación del estrés celular y las señales inflamatorias. NF- $\kappa$ B es un importante regulador tanto de la inmunidad adaptativa como de la innata. Por su parte, C/EBP $\beta$  es un potente co-regulador de la respuesta inflamatoria y del ciclo celular, ya que puede regular la proliferación a través del complejo pRb/E2F (23).

Los dímeros de NF- $\kappa$ B se encuentran secuestrados en el citoplasma por una familia de inhibidores llamada I $\kappa$ B que los mantienen en un estado de inactivación. La activación de NF- $\kappa$ B depende de la quinasa de I $\kappa$ B (IKK), la cual está compuesta por subunidades IKK $\alpha$ , IKK $\beta$  y IKK $\gamma$  o NEMO (modulador esencial de NF- $\kappa$ B). La fosforilación de los residuos de serina I $\kappa$ B por la IKK resulta en la degradación de I $\kappa$ B por el proteosoma, lo que lleva a la liberación de los dímeros de NF- $\kappa$ B que entonces migran del citoplasma al núcleo, donde activan la transcripción de genes blanco específicos (24) (Anexo 2, Figura 2).

El SASP refuerza la detención del crecimiento induciendo senescencia mediante un ciclo de retroalimentación positiva autocrina, este bucle contribuye a la función supresora de tumores de la senescencia. Así mismo, el SASP también puede inducir senescencia de forma

paracrina en células vecinas proliferantes no malignas. Otras funciones fisiológicas o patológicas que se le asignan al SASP son: aceleración del cierre de heridas, resolución de la fibrosis, reclutamiento o evasión del sistema inmune, promoción del desarrollo tumoral y plasticidad tumoral, entre otros (15). Estos roles, que aparecen en muchos casos como contrapuestos, dependen del contexto celular (15).

Si bien el SASP cumple un rol fundamental en la actividad de las células senescentes, tiene utilidad limitada como biomarcador específico de senescencia, ya que es muy inespecífico y heterogéneo (12,15). Sin embargo, la cuantificación de sus componentes podría utilizarse para detectar distintos programas de senescencia, por ejemplo, las células senescentes que están asociadas a la reparación tisular expresan varias metaloproteasas y factores de crecimiento como el PDGF-A y VEGF, mientras que las células senescentes asociadas al envejecimiento o inducidas por terapia expresan mayoritariamente factores pro-inflamatorios (12).

Se ha visto que el SASP también está fuertemente relacionado con el envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad, como las enfermedades neurodegenerativas. A su vez, podría explicar en parte la inflamación local crónica de bajo nivel de los tejidos envejecidos (15).

#### Alteraciones metabólicas

El metabolismo celular se puede dividir en dos categorías: el catabolismo, encargado de la degradación oxidativa de macromoléculas para producir ATP y poder reductor; y el anabolismo, dedicado a la síntesis de macromoléculas para producir componentes celulares en vías que consumen energía y equivalentes de reducción (25). A pesar de la detención permanente del ciclo celular de las células senescentes, estas se mantienen metabólicamente activas (25). En reportes pasados, se han encontrado cambios en el metabolismo energético de células senescentes que difieren según el estímulo inductor y el tipo celular.

#### Resistencia a la apoptosis

En respuesta a un estímulo de estrés celular se ponen en marcha mecanismos a nivel celular para prevenir la proliferación y eliminar las células dañadas, conocidos como senescencia y apoptosis, respectivamente. Otra posibilidad de respuesta ante el estrés es la detención del ciclo celular con el fin de reparar los daños al ADN (26). En la actualidad no se tiene conocimiento sobre qué factores determinan que una célula escoja un camino por sobre el otro (15). Cuando las células se vuelven senescentes se activan varios factores de supervivencia y adquieren resistencia a la apoptosis. En las células senescentes hay un aumento de proteínas de la familia BCL-2, lo que las hace resistentes a los estímulos pro-apoptóticos. A diferencia de lo que ocurre en la mayoría de las células, al exponer las células senescentes a estímulos

apoptóticos, la expresión de la proteína anti-apoptótica BCL-2 aumenta y las células sobreviven. Se ha planteado que la activación del factor de transcripción CREB (del inglés, *cAMP response element-binding*), en las células senescentes, aumenta la transcripción de BCL-2 protegiendo a estas células de la muerte (12) (Figura 1).

#### Tipos de senescencia celular

##### Senescencia replicativa

Los télómeros son secuencias de ADN localizadas en los extremos de los cromosomas, lo que los hace pasibles de ser reconocidas por proteínas involucradas en la DDR como un daño. Sin embargo, existen dos factores (TRF2 y POT1) que en condiciones normales inhiben la unión de ATM y ATR al télómero. En ausencia de un mecanismo especializado que repare la pérdida de bases de los extremos de los télómeros en cada ciclo de replicación del ADN, se produce un acortamiento progresivo de los télómeros. Esto determina la pérdida de los factores que impiden la unión del ATR y ATM, permitiendo que la DDR reconozca el ADN expuesto como un DSB, lo que lleva a la inhibición de la proliferación (19).

##### Senescencia por daño al ADN

La exposición a diferentes tipos de estrés agudo subletal, como el estrés oxidativo producido por la exposición a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) u otras especies reactivas del oxígeno (ROS), puede inducir el fenotipo senescente en células humanas y murinas (27). El daño al ADN conduce a la activación de la DDR e inducción de la senescencia celular. La senescencia inducida por oxidantes también involucra la activación de la vía p38 MAPK. Estas vías finalmente activan a p53 y aumentan la expresión de p21 (20,28).

Por otro lado, la exposición a la radiación desencadena la formación del anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) anión hidróxido ( $OH^-$ ) y radicales hidroxilo ( $\bullet OH$ ), estas ROS pueden dañar la integridad estructural del ADN al oxidar las bases nitrogenadas y a la desoxirribosa, generando bases modificadas, entrecruzamientos y rotura de las hebras de ADN (20). Estas especies oxidantes también se forman en la cadena de transporte electrónico mitocondrial y por varias enzimas celulares como las NADH oxidasas (28).

Como consecuencia del estrés persistente al que se encuentran sometidas las células del sistema nervioso central, tanto las células postmitóticas como las neuronas y las células proliferativas como los astrocitos y microglia, pueden entrar en un estado de senescencia celular. De hecho, la aparición de células senescentes se ha visto relacionada con las enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer, que aparecen durante el envejecimiento (29).

### Senescencia inducida por oncogenes (OIS)

La senescencia inducida por oncogenes (OIS) actúa como un mecanismo de supresión tumoral al impedir la proliferación de células que expresan niveles elevados de un oncogén. Es importante destacar que este tipo de senescencia, al igual que la senescencia inducida por agentes que dañan el ADN o por alteraciones de la cromatina, suceden independientemente del largo de los telómeros (19).

### ROL DE LA SENESCENCIA EN EL ALZHEIMER

Una de las formas de demencia con mayor prevalencia es la enfermedad de Alzheimer. Esta se define como una enfermedad neurodegenerativa desencadenada por la presencia de placas neuríticas y ovillos neurofibrilares, producto de la acumulación del péptido beta amiloide ( $A\beta$ ) y la proteína Tau hiperfosforilada, respectivamente (2). Estas lesiones se encuentran en distintas zonas del cerebro, como son el lóbulo temporal medio y estructuras neocorticales (2). La acumulación de células cerebrales senescentes es una característica de las lesiones neuropatológicas en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer (2).

La declinación cognitiva en la enfermedad de Alzheimer se puede explicar por dos tipos de lesiones a nivel celular: lesiones producto de la acumulación de placas de amiloide, ovillos neurofibrilares, atrofia de neurita, hilos de neuropilo, etc; y lesiones por la atrofia causada por la pérdida neuronal y de conexiones sinápticas (2). Las placas de amiloide están compuestas por el péptido  $A\beta$ , su sobreproducción o disminución induce la formación de oligómeros que en última instancia dan lugar a estas placas (30). Tanto el péptido  $A\beta$  soluble como las placas amiloide son neurotóxicos, por lo que se ha visto que su acumulación a nivel de diferentes estructuras del sistema nervioso central puede inducir la senescencia en astrocitos y microglia, afectar la integridad de los axones y dendritas y llevar a la pérdida de conexiones sinápticas (2).

Los ovillos neurofibrilares (NFT) intracelulares están formados por filamentos helicoidales pareados (PHF) y filamentos rectos (SF) que provienen de la agregación y polimerización de la proteína Tau hiperfosforilada (31). Los NFT pueden acumularse a nivel del cuerpo neuronal, de los axones y de las dendritas, causando la pérdida de estabilidad en el citoesqueleto como consecuencia de que la proteína Tau hiperfosforilada no se une a la tubulina, ni promueve el ensamblaje de los microtúbulos (31). La formación de los NFT puede desencadenar a nivel celular cambios metabólicos, alteraciones genéticas e inducir daño irreversible en el ADN. En consecuencia, la formación de los NFT puede inducir senescencia celular y de esta forma evitar la muerte celular (29).

### Inducción de la senescencia en células de la microglía

Dentro del SNC, el sistema inmune tiene como efectores a las microglías. Estas se encuentran involucradas en una amplia variedad de funciones dentro de las que se destacan la regulación de la inflamación, conectividad sináptica, muerte celular programada, formación de circuitos, fagocitosis de debris celular, poda sináptica y pulido de los circuitos neuronales postnatales. Las microglías son sensores eficientes de cambios en el microambiente del SNC, y su rol neuroprotector se cree que disminuye con el envejecimiento (32).

A diferencia de otros macrófagos, las células microgliales no se encuentran constantemente renovándose a partir de precursores mieloides, sino que aumentan en cantidad mediante división celular. No es sorprendente que las microglías sean vulnerables a disturbios fisiológicos, como el envejecimiento, ya que el tamaño de su población está preestablecida temprano en el desarrollo neural (33).

En cerebros humanos se encontraron células microgliales que presentaban cambios morfológicos, conocidas como fenotipo distrófico microglial, asociadas al envejecimiento (32). En enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer, se ha visto que este fenotipo de la microglia está relacionado con alteraciones en la fisiología neuronal. Esto puede indicar que existe una asociación entre la senescencia de la microglia y la neurodegeneración (1).

La proliferación y promoción del estado activo de la microglía se puede explicar por la acumulación de proteínas mal plegadas que ocurre durante la neurodegeneración o el envejecimiento. La activación de la microglía, también conocido como *priming*, desencadena la fagocitosis, el aumento en la liberación de citoquinas, TNF y óxido nítrico. Se ha encontrado que en muestras de tejido cerebral envejecido o con enfermedad de Alzheimer ocurre el *priming* de la microglía y un aumento en la respuesta pro-inflamatoria (34). Tanto en estudios realizados sobre ratas como en pacientes con enfermedad de Alzheimer, se encontraron células microgliales senescentes capaces de producir citoquinas pro-inflamatorias y otros componentes del SASP (11,32).

Un estudio reciente reportó que la microglia de ratas *in vitro*, luego de tratamiento con oligómeros de A $\beta$ , adquirirían el fenotipo senescente con detención del ciclo celular caracterizado por niveles elevados de SA- $\beta$ -Gal, y secreción de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y MMP-2 (32). En un modelo de neurodegeneración basado en la senescencia mediada por Tau, la destrucción de células microgliales senescentes redujo significativamente la patología, sugiriendo que las senoterapias podrían ser beneficiosas en las enfermedades neurodegenerativas (32).

### Inducción de la senescencia en los astrocitos

Los astrocitos componen el 20% de la glía y son responsables de múltiples funciones esenciales para el SNC como la provisión de nutrientes a la neurona, la regulación de la plasticidad sináptica, liberación de transmisores dependientes de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), soporte de la barrera hematoencefálica y mantenimiento del balance iónico extracelular (35).

Se ha visto que luego de exponer astrocitos murinos a varios ciclos de replicación, estrés oxidativo, inhibidores del proteasoma o altos niveles de glucosa, los astrocitos muestran varios cambios propios de la senescencia celular. A su vez, los niveles elevados de oxidantes activan la vía de NF- $\kappa$ B y promueven la producción y secreción de factores pro-inflamatorios (1,35).

Por otra parte, se ha visto que en los astrocitos humanos varios factores y estímulos pueden inducir la senescencia celular tanto *in vitro* como *in vivo*. Los oligómeros de A $\beta$  pueden inducir senescencia celular y promover el SASP, además se ha demostrado que la depleción de glutatión en astrocitos humanos activa vías que regulan el SASP (NF- $\kappa$ B y p38 MAPK) y desencadenan la secreción de IL-6, lo que estaría de acuerdo con el rol potencial del astrocito senescente en la enfermedad de Alzheimer (1,35) (Anexo 2, Figura 3). Un estudio realizado por Bhat et al. mostró la asociación entre los astrocitos senescentes y la enfermedad de Alzheimer, utilizando astrocitos humanos *in vitro* tratados con medio de células CHO productoras de A $\beta$  o de oligómeros de A $\beta$  (36,37). Se encontró un aumento de componentes del SASP y astrocitos positivos para p16 en muestras de tejido de corteza frontal, relacionados al envejecimiento. Concomitantemente, en pacientes con enfermedad de Alzheimer se detectó un aumento de estas células en comparación con pacientes sanos de la misma edad. Este estudio demostró que los astrocitos senescentes podrían contribuir a esta enfermedad a través del efecto que generan en su microambiente (36,37).

Por último, en el estudio realizado por Kawano et al., al cultivar astrocitos senescentes junto con neuronas se vio menor sobrevida neuronal que en los co-cultivos con astrocitos no senescentes, sugiriendo que el astrocito senescente puede causar muerte neuronal (38). Además, las neuronas co-cultivadas con astrocitos senescentes presentaron una disminución de la liberación de glutamato en la sinapsis y una reducción global en el pool de vesículas sinápticas disponibles, debido en parte a un retraso en la maduración sináptica (36) (Anexo 2, Figura 3). Por lo tanto, estos estudios demostraron que los astrocitos senescentes podrían contribuir a esta enfermedad a través del efecto que generan en su microambiente y sobre células vecinas.

### Inducción de la senescencia en las neuronas

Las neuronas son células postmitóticas, una característica que no permite pensar que puedan adquirir el fenotipo senescente, dada la asociación de la detención del ciclo celular con la senescencia. A pesar de esto, existe evidencia que sugiere que incluso las neuronas post mitóticas maduras pueden desarrollar un fenotipo similar al senescente (1). Se constató este fenotipo senescente en células de Purkinje y neuronas corticales sometidas a daño al ADN, asociado a la activación de la DDR (39). A su vez se observó un incremento en la actividad de la SA- $\beta$ -Gal y en los niveles intracelulares de calcio, lo que sugiere que neuronas envejecidas acumulan daño al ADN que lleva a la senescencia (39).

Analizando la expresión genética en tejido de cerebros humanos post mortem con enfermedad de Alzheimer, se encontró que las neuronas con NFT tienen un perfil consistente con el de senescencia celular (32). Las neuronas que contienen NFT tienen un aumento en la expresión de CDKN1A y CDKN2A lo que induce un estado similar a la senescencia celular para evitar la apoptosis y la muerte, y concomitantemente desencadena al SASP. Por lo tanto, la agregación de Tau y sus efectos citotóxicos parecen inducir la senescencia celular y la inflamación (29).

Las neuronas de ratones envejecidos acumulan mayores cantidades de DSB, actividad SA- $\beta$ -Gal, activación p38 MAPK y producción de IL-6 y ROS. (1) Algunas neuronas parecen ser propensas a acumular lipofuscina con la edad; estas neuronas exhibieron arborizaciones dendríticas pobres y disminución de producción de neurotransmisores, indicativo del compromiso funcional en estas neuronas (1).

### LA SENESCENCIA CELULAR COMO BLANCO TERAPÉUTICO

En los últimos 10 años se han realizado diversos estudios en ratones modificados genéticamente que han tenido como objetivo principal la eliminación de células senescentes y tuvieron como consecuencia que actualmente se considere a este tipo celular como un blanco terapéutico (14,21). La senoterapia comprende todos aquellos mecanismos terapéuticos dirigidos hacia estas células, con el objetivo de eliminarlas o inhibir su fenotipo secretor (40). Es importante destacar que estas terapias deben ser específicas para eliminar las células senescentes o inhibir la secreción de factores por parte de éstas, de tal forma de no comprometer el funcionamiento fisiológico de otras células del organismo. Esto representa un gran desafío al que se enfrenta el desarrollo de las senoterapias para tratar las diferentes patologías relacionadas al envejecimiento, entre las que se destacan las enfermedades neurodegenerativas, fibrosis pulmonar, enfermedades cardiovasculares, cáncer y patologías (40).

Existen dos modelos principales de ratones que permitieron estudiar la función de las células senescentes, así como también la búsqueda de fármacos o compuestos que actúen sobre las mismas. El modelo de ratón transgénico INK-ATTACK y el modelo de ratón transgénico p16-3MR<sup>2</sup>, ambos permiten la eliminación selectiva de células senescentes con alta expresión de p16-INK4a (41–45). Los ratones también expresan las proteínas luciferasa y proteína fluorescente roja bajo el control del promotor de p16-INK4a. Esto permite la detección de las células senescentes *in vivo* e *in vitro* y la evaluación de terapias capaces de eliminarlas. Mediante el tratamiento sistémico en ambos modelos transgénicos, se logró demostrar que la ablación de células senescentes protege al ratón de los signos y enfermedades relacionadas con el envejecimiento, e incluso aumenta la vida media de los animales. Más específicamente, se atenuaron los aumentos de citoquinas inflamatorias y proteasas características de la edad avanzada (42). Además de los modelos de ratones, para los estudios sobre células senescentes se han empleado con frecuencia modelos celulares humanos, incluyendo fibroblastos de pulmón o piel, preadipocitos, y células endoteliales de cordón umbilical (o HUVECs de su sigla en inglés) (46).

La supresión de los efectos nocivos de las células senescentes puede lograrse mediante tres tipos de abordajes diferentes. En primer lugar, se ha buscado evitar la aparición de las mismas, aunque se ha observado cierta relación entre estos mecanismos y la incidencia de cáncer, motivo por el cual este tipo de acciones están en desuso. El segundo tipo de abordaje es la eliminación de las células senescentes, mientras que el tercero implica disminuir la naturaleza pro-inflamatoria del SASP (46). En suma, actualmente existen dos tipos de fármacos utilizados en la senoterapia: los senolíticos y los senomórficos. Los primeros son aquellos encargados de eliminar selectivamente las células senescentes, mientras que los segundos son los destinados a modificar o inhibir la secreción de los factores por dichas células (40).

#### Fármacos senolíticos

Las células senescentes cumplen un ciclo vital como todas las células del organismo, pero dependen de vías anti-apoptóticas para asegurar su supervivencia. Esto condujo a la búsqueda de fármacos que ataquen estas vías, con el fin de eliminar las células senescentes, y llevó así al descubrimiento de los primeros senolíticos (21) (Anexo 3, Tabla 1). En el diseño de senolíticos también se tuvo en cuenta las similitudes de este fenotipo celular a las células cancerígenas, ya que estas células presentan mecanismos para evitar la muerte celular programada (47). Otra estrategia para desarrollar senolíticos se basó en explorar las peculiaridades de las células senescentes, como lo son la actividad de SA-β-Gal (21). A partir de estos estudios, se logró la identificación de los primeros agentes senolíticos: Dasatinib,

Quercetina y Navitoclax (47). Además se observó que no basta con atacar una sola de estas vías, sino que es necesario atacar varias a la vez para eliminar las células senescentes de los distintos tejidos del organismo (47).

Como mencionamos las vías anti-apoptóticas de las células senescentes (SCAP) son imprescindibles para la viabilidad de este tipo celular. Una de las vías de mayor importancia que integra el SCAP es la vía PI3K/AKT, la cual es vital en la supervivencia de las células senescentes. La misma se inicia con la activación de la enzima fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K), la cual estimula a la proteína AKT que actúa como un factor pro-supervivencia, inhibiendo señales pro-apoptóticas y a la misma vez estimulando señales anti-apoptóticas. Entre las funciones a destacar de esta vía, se encuentra la inhibición de proteínas pro-apoptóticas, tales como BAX, BIM y BAD, la activación de NF- $\kappa$ B, que estimula la transcripción de genes de proteínas anti-apoptóticas, sobre todo de BCL-2 y BCL-XL, y la inducción de la vía de señalización mTOR, con la consiguiente fosforilación y activación de la proteína anti-apoptótica MCL-1. La vía final común es la inhibición de la apoptosis (48). La vía anti-apoptótica de BCL-2/BCL-XL se destaca por su rol en la regulación de la muerte celular por distintos mecanismos, entre los cuales se encuentra la apoptosis y la autofagia. Incluye a las proteínas anti-apoptóticas BCL-W, BCL-XL, MCL-1 y A1, y estudios recientes han demostrado que la inhibición de estas proteínas induce apoptosis y reduce el número de células senescentes *in vivo*, motivo por el cual esta vía es fuertemente investigada como diana de intervención farmacológica en patologías relacionadas con la edad y cáncer (49). Por otra parte, la vía p53/p21/serpina es reguladora fundamental en la senescencia celular, y se ha visto que la pérdida de función de esta vía atenúa el estado pro-inflamatorio inducido por el SASP (13).

Dasatinib es un inhibidor del receptor tirosin quinasa que promueve la apoptosis de las células senescentes mediada por receptores de dependencia, como pueden ser las efrinas, BCR-ABL, quinasas de la familia SCR, entre otros (21) (Figura 2). Su mecanismo de acción consiste en bloquear las vías de señalización descendentes que son activadas por estas quinasas, lo que da como resultado la inhibición de la expresión del gen Stat5 que permite el crecimiento celular (50).

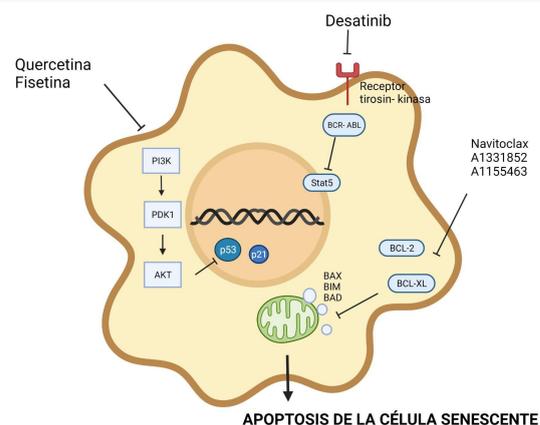


Figura 2: Fármacos senolíticos y sus sitios de acción

Quercetina es un flavonoide que puede actuar por dos rutas para eliminar las células senescentes, ya sea inhibiendo a miembros de la familia BCL-2 así como también otros componentes de las vías SCAP (51). La vía final común de Quercetina es entonces la promoción de la apoptosis (Figuras 2 y 3). Es importante mencionar que Quercetina tiene un amplio espectro de actividades farmacológicas, entre las que se destacan acciones anti-inflamatorias, anti-tumorales, anti-oxidantes e inmunomoduladoras (51).

En lo que respecta a Navitoclax, éste es un inhibidor de BCL-2/BCL-XL (Figura 2). Esta familia de proteínas anti-apoptóticas cumplen su función a través de su dominio BH3 (dominio de homología de Bcl-2). Mediante ARN de interferencia específicos para estas proteínas se logró restaurar la apoptosis en células senescentes en cultivos. Esto condujo al diseño de fármacos agonistas de BH3, capaces de inducir la muerte en células HUVEC senescentes y en fibroblastos embrionarios de ratón (41). El ABT-737, un análogo de Navitoclax, logró reducir el número de células senescentes en los tejidos de hígado, pulmones, riñones y tejido adiposo de dos modelos de ratones con envejecimiento acelerado (52).

Actualmente, se han descubierto nuevos fármacos senoterapéuticos como la Fisetina y otros inhibidores de BCL-XL (A1331852 y A1155463) (Figura 2), aunque estos últimos únicamente se han probado en experimentos *in vitro* (53). Fisetina es un flavonoide capaz de bloquear la vía PI3K/ AKT/ mTOR (Figura 2), así como también de regular la síntesis de Glutación, un antioxidante endógeno (54). Además, se vio *in vitro* que tiene la capacidad de inhibir la actividad de varias citoquinas pro-inflamatorias, como por ejemplo TNF- $\alpha$ , IL-6 y el factor de transcripción NF-kB (54). La Fisetina indujo la apoptosis en las células HUVECs senescentes, no así en los no senescentes ni en los otros modelos celulares, por tanto tiene la capacidad de actuar como senolítico *in vitro* en algunas células senescentes (53).

También se destacan los inhibidores de BCL-XL, A1331852 y A1155463 (Figura 2) como opciones senoterapéuticas ya que demostraron reducir la viabilidad y supervivencia de las células HUVECs y fibroblastos humanos senescentes inducidas por radiación. Sin embargo, no se vieron los mismos resultados en preadipocitos humanos senescentes (55). Aunque los inhibidores de BCL-2 pueden producir efectos secundarios graves tales como plaquetopenia y neutropenia, empleando A1331852 y A1155463 se evidenció la ausencia de neutropenia habilitando la posibilidad para una eventual aplicación en estudios clínicos en humanos (55).

Si bien se pueden emplear los agentes senolíticos de forma aislada, se comprobó que estos pueden actuar de forma sinérgica, principalmente Dasatinib + Quercetina, ampliando el espectro de acción de cada uno contra las células senescentes sin afectar las células control (47,56). La combinación de senolíticos con otros agentes (como por ejemplo estradiol) que

actúan sobre mecanismos patológicos vinculados al envejecimiento, puede ser más efectiva que los agentes individuales, disminuyendo los efectos secundarios (40,48).

En este sentido, se aisló tejido adiposo de pacientes con patologías crónicas, a los cuales se le administró la combinación Dasatinib + Quercetina, observándose en el tejido una disminución del 70% de la población de células senescentes (47).

En relación al rol de la senescencia celular en la regeneración de los tejidos, algunos estudios mostraron que la eliminación de células senescentes provocó defectos en la curación de heridas, lo que sugiere que remover estas células puede dar lugar a efectos indeseados (21).

### Fármacos moduladores del SASP

Los senomórficos surgen como una alternativa a los senolíticos, ya que muchos de los efectos negativos que se asocian con la senescencia celular derivan directamente del SASP. Estos fármacos pueden modular o inhibir la expresión del SASP, y por ende disminuir la actividad de las células senescentes (21) (Anexo 3, Tabla 1). En cuanto a los mecanismos de acción de los senomórficos, se destacan: (a) la interferencia de la vía cGAS-STING, que inhibe el SASP y reduce la inflamación; (b) la regulación de la transcripción del SASP; y (c) la modificación de la actividad mitocondrial, que resulta en la modulación del SASP (Figura 3) (21).

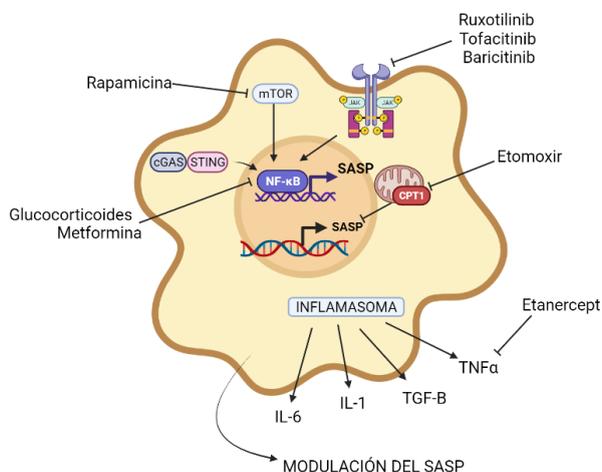


Figura 3: Fármacos senomórficos y sus sitios de acción

La vía cGAS-STING es considerada un regulador clave de la inducción del SASP. STING activa a TBK1, en consecuencia se activa IRF3 y NF-κB lo cual genera la estimulación de IFN-gamma y respuestas pro-inflamatorias (21). La inhibición de la señalización de ésta vía resultó en la supresión del SASP y en la reducción de la inflamación del tejido *in vivo* (21,57).

Dado el rol que cumple la vía JAK/STAT en la inflamación, se estudiaron los efectos de la inhibición de ésta vía sobre el SASP en modelos de preadipocitos humanos senescentes y en modelos de ratones (41,46). Estos estudios arrojaron que la vía JAK se activó más en el tejido graso de ratones viejos que en los animales jóvenes y en particular en las células senescentes presentes en el tejido. El uso de inhibidores de la vía JAK, como Ruxolitinib, Tofacitinib, Baricitinib o Momelotinib, demostró suprimir el SASP a la vez que disminuyó la expresión y

los niveles de varios componentes del mismo como IL-1, IL-6, IL- 8 e INF- $\gamma$  (46,58) (Anexo 2, Figura 4).

La proteína mTOR se vincula con el desarrollo del fenotipo senescente, por tanto es posible que las intervenciones dirigidas a suprimir la actividad de mTOR-1, como la restricción calórica o el tratamiento con el inhibidor Torin 1, logren disminuir específicamente el fenotipo senescente sin eliminar la célula. La inhibición de mTOR, también puede interferir en las vías de señalización con la consiguiente supresión del SASP. Específicamente, se evaluó el efecto del inhibidor Torin 1 sobre los hepatocitos senescentes en distintos modelos de ratones, y se vio que éstas células disminuyeron significativamente en ratones de tipo salvaje (59). Además se ha visto que la Rapamicina, otro inhibidor de mTOR puede reducir los efectos pro-tumorales de las células senescentes *in vivo* (21). También se han evaluados algunos análogos de la Rapamicina, que demostraron tener resultados positivos frente a la inmunosenescencia en adultos mayores y en la esperanza de vida (60).

NF- $\kappa$ B es conocido como un factor de transcripción esencial para la adquisición del SASP, debido a que regula la expresión de múltiples citoquinas y factores secretados por las células senescentes. En células IMR-90 senescentes inducidas por H-Ras y también por el genotóxico Etopósido, se mostró un aumento en la translocación y acumulación excesiva de la subunidad p65 de NF- $\kappa$ B en la cromatina, y se evidenció un vínculo entre genes pro-senesencia y del SASP (61). La supresión de este mediador inflamatorio reduce el SASP, favorece la reactivación del ciclo celular, colabora en la inactivación de p53 y por consiguiente evita la senescencia celular (61).

También se han utilizado inhibidores de componentes del fenotipo secretor. Por ejemplo, muy recientemente en un modelo de ratón transgénico, se vio que la eliminación del factor de transcripción A mitocondrial (TFAM) en los linfocitos T llevó a la secreción de TNF- $\alpha$ . Este factor indujo la senescencia en células de varios tejidos. Mediante la inyección de un inhibidor de TNF- $\alpha$  (Etanercept) se logró reducir la senescencia, evidenciado por la disminución de IL-1, IL-6 e IFN gamma, y signos clínicos del envejecimiento en los tejidos, así como también prolongar la longevidad de los ratones (41).

Algunas drogas empleadas para el tratamiento de otras patologías han mostrado tener efectos senoterápicos, principalmente vinculados a la modulación del SASP. Por ejemplo, la metformina y los glucocorticoides son capaces de disminuir tanto la producción como la secreción de algunos factores del SASP. A su vez, la metformina inhibe la expresión de genes que codifican para varias citoquinas pro-inflamatorias, bloqueando la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B (62,63).

Por último, algunos estudios indican que la mitocondria cumple un rol en la secreción de factores por las células senescentes y la inhibición de algunas vías metabólicas o procesos mitocondriales reduce el SASP (Anexo 3, Tabla 1) (64,65).

Se cree que la senoterapia irá desarrollándose a pasos acelerados en los próximos años por la elevada implicancia terapéutica que posee sobre diversas patologías (53). Estudios futuros tendrán que investigar las repercusiones de inducir la muerte de células senescentes en la integridad de los tejidos, particularmente en aquellos con una capacidad regenerativa más baja.

### LA SENOTERAPIA APLICADA A ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Diversos estudios se han enfocado en obtener técnicas y herramientas eficaces en la identificación y posterior eliminación de células senescentes como blanco terapéutico para el tratamiento de varias patologías, incluyendo las enfermedades neurodegenerativas (66). Es por eso que se busca identificar compuestos que logren modular las vías implicadas en el desarrollo y progresión de las mismas (67). Si bien se han ido desarrollando nuevas estrategias, existen limitaciones, ya que entran en juego algunos obstáculos tales como la farmacocinética, las interacciones fármaco-fármaco y la dificultad mayor de atravesar la barrera hematoencefálica (68).

Múltiples estudios han confirmado el gran potencial beneficioso de los flavonoides en la prevención de las enfermedades neurodegenerativas, específicamente de Fisetina, conocido como un compuesto neuroprotector con actividad neurotrófica, capaz de prevenir la muerte celular (69). Algunos ejemplos de patologías neurodegenerativas en las cuáles se ha testeado la acción de este compuesto son la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) (67). Una característica patológica común de las enfermedades neurodegenerativas es la acumulación de agregados de la proteína Tau, y la sobreexpresión de esta proteína se vincula con declinación cognitiva y pérdida de células nerviosas (47). Ensayos pre-clínicos demuestran de manera concluyente que la eliminación de células con alto contenido de Tau utilizando fármacos senolíticos reduce la neurodegeneración, la atrofia cerebral, el agrandamiento ventricular y el deterioro cognitivo, pudiendo aliviar la disfunción asociada a la edad (32). Esto se logra mediante la activación de la apoptosis utilizando como blanco de acción las vías anti-apoptóticas (53).

Por un lado, a nivel molecular la enfermedad de Parkinson se caracteriza por la degeneración y muerte prematura de las neuronas dopaminérgicas que se encuentran a nivel de la pars compacta de la sustancia nigra. Con el fin de buscar opciones terapéuticas para esta patología se han utilizado modelos animales, siendo uno de los modelos más usados los ratones

expuestos a MTPT, compuesto que destruye las células dopaminérgicas de la sustancia nigra. Fisetina se testeó en estos modelos, donde llevó al aumento de los niveles de dopamina en el cuerpo estriado de los cerebros de los ratones, a la vez que fue capaz de prevenir los efectos tóxicos del MTPT, además de mejorar la función motora de estos animales (67). Mientras tanto, a nivel intracelular, Fisetina demostró ser capaz de mejorar la función mitocondrial y los marcadores de estrés oxidativo en las áreas del cerebro que se encuentran afectadas por la enfermedad de Parkinson (67).

Por otro lado, la ELA es una de las enfermedades neurodegenerativas más agresivas, cuya principal afectación se ve a nivel de la musculatura voluntaria, ya que se caracteriza por la pérdida de motoneuronas (67). Para estudiar los efectos de la Fisetina en animales con ELA, se emplearon ratones transgénicos con pérdida de motoneuronas y denervación axonal, entre otras características. La administración del compuesto retrasó de manera significativa la aparición del déficit motor en estos modelos animales con un aumento importante del recuento de neuronas motoras en la médula espinal, reduciendo así la tasa de progresión de la enfermedad (67). Otra característica que se identificó en pacientes con ELA fue la expresión aumentada del gen c-Abl en la médula espinal, cuya activación coincide con la activación de la caspasa 3, por lo que se lo relaciona con un aumento de la apoptosis. Se administró Dasatinib en ratones transgénicos con el fin de inhibir c-Abl, donde se vió inactivada la caspasa 3 e inhibida la citotoxicidad de las células espinales, mejorando así el estado de las uniones neuromusculares y la progresión de la patología (70).

A propósito de los estudios relacionados con Fisetina en enfermedades neurodegenerativas per se, se estudió el efecto de este compuesto en la memoria y sobre los cambios en la función cerebral en el contexto del envejecimiento. Fisetina redujo los marcadores cerebrales de estrés oxidativo, aumentó los niveles de algunas enzimas antioxidantes y disminuyó la incidencia de indicadores de patologías neurodegenerativas, en relación con los ratones control. Debido a que estas situaciones se vinculan al desarrollo de la senescencia celular, se puede inferir que la Fisetina actúa previniendo la aparición de la misma (67).

#### LA SENOTERAPIA APLICADA A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

En la búsqueda de nuevas perspectivas para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, entra el rol de la senescencia y su utilidad como blanco terapéutico. Es por esto que en el estudio realizado por Musi et al. (2018), se buscó determinar la utilidad de dos de los senolíticos más conocidos, Dasatinib y Quercetina, para atacar células senescentes en patologías

neurodegenerativas asociadas a Tau (71). Se utilizaron ratones que presentaban alteraciones por sobreexpresión de una forma mutada de Tau humano que forma NFTs. En estos ratones se encontró evidencia de senescencia celular en el cerebro, por esto fueron tratados de forma intermitente con Dasatinib + Quercetina. Los resultados del estudio arrojaron que en el tejido cerebral post mortem de los ratones disminuyó la población de neuronas corticales que contenían NFTs y esto determinó una reducción de la atrofia cerebral. Por otro lado, se evidenció una mejoría en el flujo sanguíneo cerebral, que en conjunto con la reducción de neuronas con NFTs, otorgó neuroprotección a través de modificaciones post-traduccionales o eliminación de NFTs insolubles (71).

En otro estudio en células precursoras de oligodendrocitos (OPCs) se observó que exhibían un fenotipo senescente y pro-inflamatorio en el entorno de placas A $\beta$  de cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer y en un modelo de ratones transgénicos que emulan la enfermedad. Sin embargo, se vio que los astrocitos y microglías que rodeaban las placas no presentaban un fenotipo senescente (72). A su vez, se vio que con el tratamiento senolítico con Dasatinib + Quercetina se eliminaban las células OPCs senescentes que expresaban p16 en las placas A $\beta$  en el modelo de ratón, así como también reducían el tamaño de las placas A $\beta$  y la neuroinflamación, logrando disminuir los niveles de citoquinas pro-inflamatorias asociadas a las placas. Este tratamiento no tuvo efecto significativo sobre los astrocitos ni microglías asociados a la placa A $\beta$ , lo cual sugiere que las células OPCs senescentes son las responsables de acelerar el desarrollo de las placas A $\beta$  en los cerebros con enfermedad de Alzheimer (72). A su vez, se vio que la actividad SA- $\beta$ -Gal asociada a las placas A $\beta$  disminuyó con el tratamiento senolítico y que se mejoraban los déficits de memoria y aprendizaje en ratones con enfermedad de Alzheimer. Estos resultados sugieren que la senescencia cobra un rol importante en el desarrollo de las placas de A $\beta$  y el deterioro cognitivo en los pacientes con esta enfermedad y que su tratamiento con senolíticos puede ser beneficioso (72).

Se constató que la Quercetina tiene efectos neuroprotectores que pueden interferir en la progresión de la enfermedad de Alzheimer. Tiene la capacidad de suprimir los procesos de neuroinflamación al disminuir la expresión de citoquinas pro-inflamatorias en macrófagos, los niveles de ROS e iNOS en la microglia, mientras estimula la regeneración neuronal. Además inhibe la AChE y las secretasas, previniendo la degradación de la acetilcolina y reduciendo la producción de A $\beta$ , mejorando en la función cognitiva en esta patología (73). A su vez, en modelo de ratones con Alzheimer se observó que la Quercetina tiene la capacidad de inhibir la formación de NFTs y disminuir la fosforilación de las proteínas Tau (Anexo 2, Figura 5) (72).

Estos resultados indican que las acciones neuroprotectoras de la Quercetina pueden ser diversas y tanto dependientes como independientes de sus roles como senolítico (73).

El TNF- $\alpha$  es una citoquina capaz de promover reacciones de fase aguda, aunque cuando está crónicamente elevado puede producir cambios degenerativos. Es capaz de aumentar los niveles de IL-1, que a su vez aumenta precursores necesarios para la formación de placas A $\beta$ , ovillos neurofibrilares y cuerpos de Lewy. Además, se ha descrito en estudios experimentales como un gliotransmisor implicado en la modulación de las sinapsis y de las funciones de potenciación, y memoria a largo plazo. Sin embargo, un estudio demostró que ratones knockout para TNF- $\alpha$  mostraban un mayor rendimiento de memoria espacial, por lo que la sobreexpresión del mismo se asocia al deterioro de la memoria (74). En la enfermedad de Alzheimer el TNF- $\alpha$  ha demostrado ser mediador en la conectividad sináptica pudiendo tener implicancias relevantes en el mantenimiento y eficacia de las redes neuronales, además de controlar la intensidad de la sinapsis y tener un efecto directo sobre la transmisión glutamatérgica (75). En pacientes con esta patología se ha encontrado exceso de TNF- $\alpha$  tanto en el líquido cefalorraquídeo como en el plasma y éste mostró incrementar la neurotoxicidad y el daño neuronal. Es por todo esto que el exceso de TNF- $\alpha$  representa un blanco terapéutico para la intervención en esta enfermedad (75).

Se vio que llevar al TNF- $\alpha$  a niveles normales podría ser un acercamiento lógico para la recuperación cognitiva (74). Para demostrar esto se realizó un estudio con 15 pacientes con probable enfermedad de Alzheimer que fueron tratados semanalmente con una inyección periespinal de Etanercept, un inhibidor del TNF- $\alpha$  que fue utilizado en un modelo celular de ratón donde se vio que disminuye las células senescentes y en consecuencia la sintomatología asociada al envejecimiento (74). Los resultados demostraron que la administración de Etanercept podría proporcionar una mejoría sostenida en la función cognitiva de los pacientes con Alzheimer debido a la captura del exceso de TNF- $\alpha$  por parte del mismo, que da como resultado la reversión de la desregulación sináptica (74,75).

Actualmente existen ensayos clínicos que se encuentran en curso, con el objetivo de valorar la respuesta a la administración de Dasatinib y Quercetina en pacientes que padecen enfermedad de Alzheimer. El estudio "*Senolytic therapy to modulate progression of Alzheimer's disease*" tiene como propósito evaluar la capacidad de penetración en el SNC de la combinación de ambos fármacos en adultos y ancianos con enfermedad de Alzheimer. El objetivo es evaluar si esta intervención puede ser beneficiosa para el tratamiento de la sintomatología de esta enfermedad. Actualmente el estudio está reclutando individuos y tiene como fecha de probable finalización en agosto del 2023 (76).

Por otro lado, en el estudio “*ALSENLITE: Senolytics for Alzheimer 's Disease*” el fin es evaluar la seguridad y factibilidad del uso de senolíticos en pacientes con deterioro cognitivo leve o enfermedad de Alzheimer. Para ello se realizó un ensayo abierto donde se administró intermitentemente un régimen de drogas senolíticas como son Dasatinib y Quercetina a adultos sintomáticos mayores a 55 años con diagnóstico clínico de enfermedad de Alzheimer y con biomarcadores para el Alzheimer positivos para Tau. Actualmente el estudio está reclutando individuos y tiene como fecha de probable finalización en junio del 2023 (77).

## CONCLUSIONES Y PROYECCIONES A FUTURO

La senescencia celular, característica principal de las células envejecidas, ofrece una buena diana terapéutica para tratar el envejecimiento y las patologías que acompañan este proceso. La senoterapia abarca dos tipos de fármacos con diferentes mecanismos de acción dentro de los que se encuentran los senolíticos, capaces de eliminar las células afectadas por la senescencia, y los senomórficos, que modulan los efectos del SASP obteniendo resultados similares en cuanto a la eficacia sobre la senescencia, pero con menos repercusiones negativas. Dentro de los senolíticos se destacan el Dasatinib como inhibidor de los receptores tirosin-quinasa, la Quercetina y Fisetina como inhibidores de la vía PI3K, y Navitoclax como la inhibidor de la vía BCL-XL. El SASP puede modularse de diferentes maneras; por ejemplo, Ruxotilnib, Tofacitinib y Baricitinib inhiben la vía JAK/STAT, disminuyendo la inflamación sistémica. También se puede inhibir componentes específicos del SASP, como es el caso de Etanercept y Fisetina, que son capaces de eliminar TNF- $\alpha$  e interleuquinas.

Luego de hacer una búsqueda exhaustiva en la bibliografía consultada pudimos comprobar que existen ensayos que estudian el efecto que pueden tener los senoterápicos más conocidos, como Dasatinib y Quercetina, sobre la enfermedad de Alzheimer. Los resultados obtenidos varían según el blanco terapéutico y el fármaco empleado, a pesar de esto el efecto que primó en todos los ensayos fue la disminución de la neuroinflamación provocada por la senescencia.

Como mencionamos con anterioridad, el desarrollo de los fármacos tanto senolíticos como senomórficos continuará debido a los diversos beneficios que están demostrando tener sobre el envejecimiento y sus patologías asociadas. Se espera que con el paso del tiempo surjan nuevos fármacos, ya sea con los mecanismos de acción ya conocidos o dirigidos a otras vías. Este campo de estudio ampliará sus horizontes en los años venideros con efectos positivos sobre la salud humana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kritsilis M, Rizou S v., Koutsoudaki PN, Evangelou K, Gorgoulis VG, Papadopoulos D. Ageing, cellular senescence and neurodegenerative disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(10).
2. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. Vol. 25, *Molecules* (Basel, Switzerland). NLM (Medline); 2020.
3. Dugger BN, Dickson DW. Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2017;9(7).
4. Feigin VL, Nichols E, Alam T, Bannick MS, Beghi E, Blake N, et al. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*. 2019 May 1;18(5):459–80.
5. Prevalence of Alzheimer disease and other dementias, World, 1990 to 2017 [Internet]. *Our World in Data*. 2017 [cited 2021 May 4]. Available from: [https://ourworldindata.org/grapher/prevalence-of-dementias?country=~OWID\\_WRL](https://ourworldindata.org/grapher/prevalence-of-dementias?country=~OWID_WRL)
6. Plan Nacional De Demencias Para La República Oriental Del Uruguay [Internet]. 2016 [cited 2021 May 4]. Available from: [https://www.audas.org.uy/06\\_Informacion/AUDAS\\_Plan\\_Nacional\\_Demencias-Presentacion\\_Publica.pdf](https://www.audas.org.uy/06_Informacion/AUDAS_Plan_Nacional_Demencias-Presentacion_Publica.pdf)
7. Childs BG, Durik M, Baker DJ, van Deursen JM. Cellular senescence in aging and age-related disease: From mechanisms to therapy. Vol. 21, *Nature Medicine*. Nature Publishing Group; 2015. p. 1424–35.
8. Perez R. El tratamiento de las demencias en el sistema de salud de Uruguay [Internet]. 2018 [cited 2021 May 1]. Available from: [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1688-70262018000200098#B2](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-70262018000200098#B2)
9. Mijit M, Caracciolo V, Melillo A, Amicarelli F, Giordano A. Role of p53 in the regulation of cellular senescence. *Biomolecules*. 2020;10(3):1–16.
10. Schmitt R. Senotherapy: growing old and staying young? *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. 2017;469(9):1051–9.
11. Martínez-Cué C, Rueda N. Cellular Senescence in Neurodegenerative Diseases. Vol. 14, *Frontiers in Cellular Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2020.
12. Hernandez-Segura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of Cellular Senescence. Vol. 28, *Trends in Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2018. p. 436–53.
13. Saleh T, Tyutynuk-Massey L, Cudjoe EK, Idowu MO, Landry JW, Gewirtz DA. Non-cell autonomous effects of the senescence-associated secretory phenotype in cancer therapy. *Frontiers in Oncology*. 2018;8(MAY):1–14.
14. Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, et al. Cellular Senescence: Defining a Path Forward. Vol. 179, *Cell*. Cell Press; 2019. p. 813–27.
15. Herranz N, Gil J. Mechanisms and functions of cellular senescence. *Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(4):1238–46.
16. Maréchal A, Zou L. DNA damage sensing by the ATM and ATR kinases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2013;5(9):1–17.
17. Kulkarni A, Das KC. Differential roles of ATR and ATM in p53, Chk1, and histone H2AX phosphorylation in response to hyperoxia: ATR-dependent ATM activation. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2008;294(5):998–1006.
18. Abraham RT. Cell cycle checkpoint signaling through the ATM and ATR kinases. Vol. 15, *Genes and Development*. 2001. p. 2177–96.
19. D'Adda Di Fagagna F. Living on a break: Cellular senescence as a DNA-damage response. Vol. 8, *Nature Reviews Cancer*. 2008. p. 512–22.
20. Pole A, Dimri M, P. Dimri G. Oxidative stress, cellular senescence and ageing. *AIMS Molecular Science*. 2016;3(3):300–24.
21. Birch J, Gil J. Senescence and the SASP: Many therapeutic avenues. *Genes and Development*. 2020;34(23–24):1565–76.

22. Freund A, Patil CK, Campisi J. P38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype. *EMBO Journal*. 2011 Apr 20;30(8):1536–48.
23. Salminen A, Kauppinen A, Kaarniranta K. Emerging role of NF- $\kappa$ B signaling in the induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP). Vol. 24, *Cellular Signalling*. 2012. p. 835–45.
24. Brasier AR. The NF- $\kappa$ B regulatory network. *Cardiovascular Toxicology*. 2006;6(2):111–30.
25. Kwon SM, Hong SM, Lee YK, Min S, Yoon G. Metabolic features and regulation in cell senescence. Vol. 52, *BMB Reports*. The Biochemical Society of the Republic of Korea; 2019. p. 5–12.
26. Campisi J, D'Adda Di Fagagna F. Cellular senescence: When bad things happen to good cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(9):729–40.
27. Matthes M. Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *DGL Tagungsbericht 2003*. 2004;II:401–4.
28. Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence: From physiology to pathology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [Internet]. 2014;15(7):482–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3823>
29. Saez-Atienzar S, Masliah E. Cellular senescence and Alzheimer disease: the egg and the chicken scenario. *Nature Reviews Neuroscience* [Internet]. 2020;21(8):433–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41583-020-0325-z>
30. Soria Lopez JA, González HM, Léger GC. Alzheimer's disease. *Handbook of Clinical Neurology*. 2019;167:231–55.
31. Asociación Costarricense de Medicina Forense. C, SciELO (Online service) C. Medicina legal de Costa Rica. [Internet]. Vol. 33, *Medicina Legal de Costa Rica*. Asociación Costarricense de Medicina Forense; 2016 [cited 2021 May 31]. 104–122. Available from: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152016000200104&lng=en&nrn=iso&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152016000200104&lng=en&nrn=iso&tlng=es)
32. Wissler Gerdes EO, Zhu Y, Weigand BM, Tripathi U, Burns TC, Tchkonina T, et al. Cellular senescence in aging and age-related diseases: Implications for neurodegenerative diseases. In: *International Review of Neurobiology*. Academic Press Inc.; 2020. p. 203–34.
33. Angelova DM, Brown DR. Microglia and the aging brain: are senescent microglia the key to neurodegeneration? *Journal of Neurochemistry*. 2019;151(6):676–88.
34. Carreno G, Guiho R, Martinez-Barbera JP. Cell senescence in neuropathology: A focus on neurodegeneration and tumours. Vol. 47, *Neuropathology and Applied Neurobiology*. Blackwell Publishing Ltd; 2021. p. 359–78.
35. Han X, Zhang T, Liu H, Mi Y, Gou X. Astrocyte Senescence and Alzheimer's Disease: A Review. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020;12(June):1–13.
36. Cohen J, Torres C. Astrocyte senescence: Evidence and significance. *Aging Cell*. 2019;18(3):1–14.
37. Bhat R, Crowe EP, Bitto A, Moh M, Katsetos CD, Garcia FU, et al. Astrocyte Senescence as a Component of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE*. 2012 Sep 12;7(9).
38. Kawano H, Katsurabayashi S, Kakazu Y, Yamashita Y, Kubo N. Long-Term Culture of Astrocytes Attenuates the Readily Releasable Pool of Synaptic Vesicles. *PLoS ONE* [Internet]. 2012;7(10):48034. Available from: [www.plosone.org](http://www.plosone.org)
39. Tan FCC, Hutchison ER, Eitan E, Mattson MP. Are There Roles for Brain Cell Senescence in Aging and Neurodegenerative Disorders?
40. Song S, Tchkonina T, Jiang J, Kirkland JL, Sun Y. Targeting Senescent Cells for a Healthier Aging: Challenges and Opportunities. Vol. 7, *Advanced Science*. John Wiley and Sons Inc; 2020.
41. Veret D, Brondello JM. Senotherapy: Advances and new clinical perspectives. Vol. 36, *Medecine/Sciences*. Editions EDK; 2020. p. 1135–42.
42. PhD MsphALCP\* 'Correspondence information about the author PALC the author PALCKEDPIAPSDPMSPHMBMSPHHS. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Physiology & behavior*. 2017;176(5):139–48.
43. Patil P, Dong Q, Wang D, Chang J, Wiley C, Demaria M, et al. Systemic clearance of p16INK4a-positive senescent cells mitigates age-associated intervertebral disc degeneration. *Aging Cell*. 2019;18(3):1–11.

44. Zhong J, Saltness R, Jeganathan KB, Versoza GC. Naturally occurring p16Ink4a -positive cells shorten healthy lifespan. 2016;530(7589):184–9.
45. Ogrodnik M, Evans SA, Fielder E, Victorelli S, Kruger P, Salmonowicz H, et al. Whole-body senescent cell clearance alleviates age-related brain inflammation and cognitive impairment in mice. *Aging Cell*. 2021 Feb 1;20(2).
46. Xu M, Tchkonina T, Ding H, Ogrodnik M, Lubbers ER, Pirtskhalava T, et al. JAK inhibition alleviates the cellular senescence-associated secretory phenotype and frailty in old age. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(46):E6301–10.
47. Kirkland JL, Tchkonina T. Senolytic drugs: from discovery to translation. Vol. 288, *Journal of Internal Medicine*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 518–36.
48. Kirkland JL, Tchkonina T, Zhu Y, Niedernhofer LJ, Robbins PD. The Clinical Potential of Senolytic Drugs. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2017 Oct 1;65(10):2297–301.
49. Sharma R, Padwad Y. In search of nutritional anti-aging targets: TOR inhibitors, SASP modulators, and BCL-2 family suppressors. *Nutrition* [Internet]. 2019;65:33–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.01.020>
50. McCormack PL, Keam SJ. Spotlight on dasatinib in chronic myeloid leukemia and philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *BioDrugs*. 2012;26(1):61–4.
51. Pan HC, Jiang Q, Yu Y, Mei JP, Cui YK, Zhao WJ. Quercetin promotes cell apoptosis and inhibits the expression of MMP-9 and fibronectin via the AKT and ERK signalling pathways in human glioma cells. *Neurochemistry International* [Internet]. 2015;80:60–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2014.12.001>
52. Ovadya Y, Landsberger T, Leins H, Vadai E, Gal H, Biran A, et al. Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging. *Nature Communications* [Internet]. 2018;9(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-07825-3>
53. Zhu Y, Doornebal EJ, Pirtskhalava T, Giorgadze N, Wentworth M, Fuhrmann-Stroissnigg H, et al. New agents that target senescent cells: The flavone, fisetin, and the BCL-XL inhibitors, A1331852 and A1155463. *Aging*. 2017;9(3):955–63.
54. Yousefzadeh MJ, Zhu Y, McGowan SJ, Angelini L, Fuhrmann-Stroissnigg H, Xu M, et al. Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine* [Internet]. 2018;36:18–28. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.09.015>
55. Levenson JD, Phillips DC, Mitten MJ, Boghaert ER, Diaz D, Tahir SK, et al. Exploiting selective BCL-2 family inhibitors to dissect cell survival dependencies and define improved strategies for cancer therapy. *Science Translational Medicine*. 2015;7(279):1–12.
56. Zhu Y, Tchkonina T, Pirtskhalava T, Gower AC, Ding H, Giorgadze N, et al. The achilles' heel of senescent cells: From transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell*. 2015;14(4):644–58.
57. Contributions A. Cytoplasmic chromatin triggers inflammation in senescence and cancer. *JZ contributed* [Internet]. 2017;550(7676):402–6. Available from: [http://www.nature.com/authors/editorial\\_policies/license.html#terms](http://www.nature.com/authors/editorial_policies/license.html#terms)
58. Xu M, Tchkonina T. Perspectiva: apuntar a la vía JAK / STAT para combatir la disfunción relacionada con la edad. 2017;1–6.
59. Kucheryavenko O, Nelson G, von Zglinicki T, Korolchuk VI, Carroll B. The mTORC1-autophagy pathway is a target for senescent cell elimination. *Biogerontology* [Internet]. 2019;20(3):331–5. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10522-019-09802-9>
60. Miller RA, Harrison DE, Astle CM, Baur JA, Boyd AR, de Cabo R, et al. Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2011;66 A(2):191–201.
61. Chien Y, Scuoppo C, Wang X, Fang X, Balgley B, Bolden JE, et al. Control of the senescence-associated secretory phenotype by NF-κB promotes senescence and enhances chemosensitivity. *Genes and Development*. 2011;25(20):2125–36.
62. Moiseeva O, Deschênes-Simard X, St-Germain E, Igelmann S, Huot G, Cadar AE, et al. Metformin inhibits the senescence-associated secretory phenotype by interfering with IKK/NF-κB activation. *Aging Cell*. 2013;12(3):489–98.

63. Laberge RM, Zhou L, Sarantos MR, Rodier F, Freund A, de Keizer PLJ, et al. Glucocorticoids suppress selected components of the senescence-associated secretory phenotype. *Aging Cell*. 2012;11(4):569–78.
64. Quijano C, Cao L, Fergusson MM, Romero H, Liu J, Gutkind S, et al. Oncogene-induced senescence results in marked metabolic and bioenergetic alterations. *Cell Cycle*. 2012;11(7):1383–92.
65. Martínez J, Tarallo D, Martínez-Palma L, Victoria S, Bresque M, Rodríguez-Bottero S, et al. Mitofusins modulate the increase in mitochondrial length, bioenergetics and secretory phenotype in therapy-induced senescent melanoma cells. *Biochemical Journal*. 2019;476(17):2463–86.
66. Si Z, Sun L, Wang X. Evidence and perspectives of cell senescence in neurodegenerative diseases. Vol. 137, *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier Masson s.r.l.; 2021.
67. Maher P. Preventing and Treating Neurological Disorders with the Flavonol Fisetin. *Brain Plasticity*. 2020 Jun 23;6(2):155–66.
68. Schubert D, Currais A, Goldberg J, Finley K, Petrascheck M, Maher P. Geroneuroprotectors: Effective Geroprotectors for the Brain. Vol. 39, *Trends in Pharmacological Sciences*. Elsevier Ltd; 2018. p. 1004–7.
69. Ishige K, Schubert D, Sagara Y. FLAVONOIDS PROTECT NEURONAL CELLS FROM OXIDATIVE STRESS BY THREE DISTINCT MECHANISMS. 2001.
70. Lu H, Le WD, Xie Y-Y, Wang X-P. Current Therapy of Drugs in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Vol. 14, *Current Neuropharmacology*. 2016.
71. Musi N, Valentine JM, Sickora KR, Baeuerle E, Thompson CS, Shen Q, et al. Tau protein aggregation is associated with cellular senescence in the brain. Vol. 17, *Aging Cell*. 2018.
72. Zhang P, Kishimoto Y, Grammatikakis I, Gottimukkala K, Cutler RG, Zhang S, et al. Senolytic therapy alleviates A $\beta$ -associated oligodendrocyte progenitor cell senescence and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Nature Neuroscience*. 2019 May 1;22(5):719–28.
73. Khan H, Ullah H, Aschner M, Cheang WS, Akkol EK. Neuroprotective effects of quercetin in alzheimer's disease. Vol. 10, *Biomolecules*. 2020.
74. Sue WST. Perispinal etanercept: Potential as an Alzheimer therapeutic. Vol. 5, *Journal of Neuroinflammation*. BioMed Central Ltd.; 2008.
75. Tobinick E. Perispinal Etanercept for Treatment of Alzheimer's Disease. Vol. 4, *Current Alzheimer Research*. 2007.
76. Musi N. Senolytic Therapy to Modulate Progression of Alzheimer's Disease (SToMP-AD) [Internet]. *ClinicalTrials.gov*. 2019 [citado 10 julio 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT04063124?id=NCT04785300+OR+NCT04063124+OR+NCT04685590+OR+NCT01716637&draw=2&rank=3&load=cart>
77. Petersen RC. ALSNLITE: Senolytics for Alzheimer's Disease [Internet]. *ClinicalTrials.gov*. 2021 [citado 10 julio 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04785300?id=NCT04785300+OR+NCT04063124+OR+NCT04685590+OR+NCT01716637&draw=2&rank=1&load=cart>

## **ANEXOS**

**ANEXO 1:** Lista de abreviaturas

**ANEXO 2:** Figuras

Figura 1: Activación y funciones del SASP.

Figura 2: Mecanismo de acción de NF- $\kappa$ B.

Figura 3: Impacto de la inducción de la senescencia de los astrocitos sobre el SNC

Figura 4: Mecanismo de acción de los inhibidores de JAK.

Figura 5: Acción de la quercetina en la enfermedad de Alzheimer.

**ANEXO 3:** Tabla fármacos senoterápicos

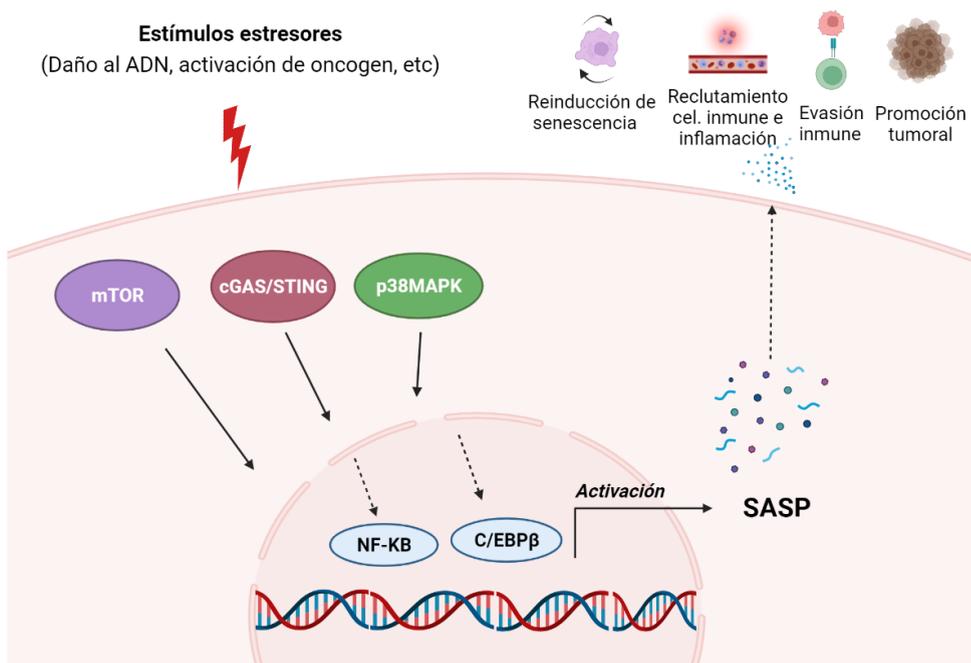
## ANEXO 1: LISTA DE ABREVIATURAS

- *AchE*: acetilcolinesterasa
- *ADN-PKs*: proteinquinasa dependiente de ADN
- *APP*: precursor proteico amiloide
- *ATM*: ataxia.telangiectasia mutada
- *ATP*: adenosina trifosfato
- *ATR*: proteína relacionada a ATM y Rad3
- *C/EBPβ*: CCAAT/proteína de unión a potenciador beta
- *Ca<sup>2+</sup>*: Calcio
- *CDK*: quinasas dependientes de ciclinas
- *cGAS/STING*: sintasa de AMP-GMPc/receptor estimulador de genes del interferón
- *DDR*: respuesta al daño del ADN
- *DSB*: cortes de ADN de doble cadena
- *ELA*: esclerosis lateral amiotrófica
- *HUVECs*: células endoteliales del cordón umbilical humano
- *IKK*: quinasa IκB
- *IL*: interleuquina
- *MAPK*: proteinquinasa activada por mitógeno
- *mTOR*: Blanco de la rapamicina en mamíferos
- *MTPT*: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
- *NEMO*: modulador esencial de NF-κB
- *NFT*: ovillos neurofibrilares
- *NF-κB*: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras Kappa de las células B activadas

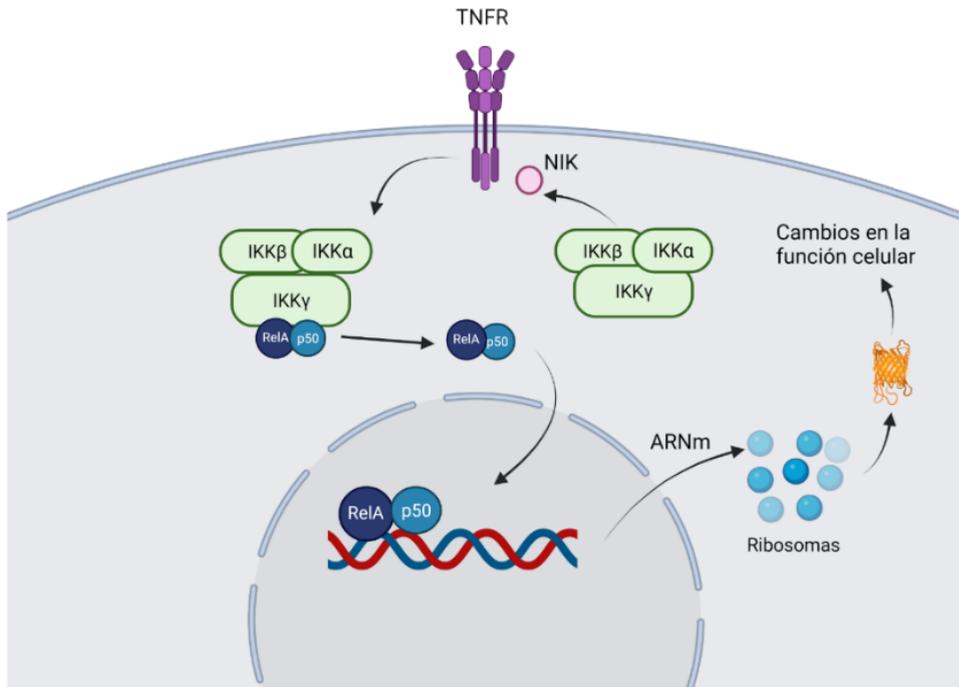
- *NSG*: modelos de ratones con la inmunidad innata comprometida
- *OIS*: Senescencia inducida por oncogenes
- *Péptido A $\beta$* : péptido beta amiloide
- *PI3K*: fosfatidil inositol 3 quinasa
- *PIKKS*: familia fosfoinositido 3 quinasa vinculada a quinasas
- *pRb*: proteína retinoblastoma
- *ROS*: especies reactivas de oxígeno
- *SASP*: fenotipo secretor asociado a senescencia
- *SA- $\beta$ -Gal*: actividad  $\beta$  galactosidasa asociada a senescencia
- *SCAP*: vías anti-apoptóticas de las células senescentes
- *SNC*: sistema nervioso central
- *SSB*: cortes de ADN de simple cadena
- *TNF- $\alpha$* : factor de necrosis tumoral alfa

## ANEXO 2: FIGURAS

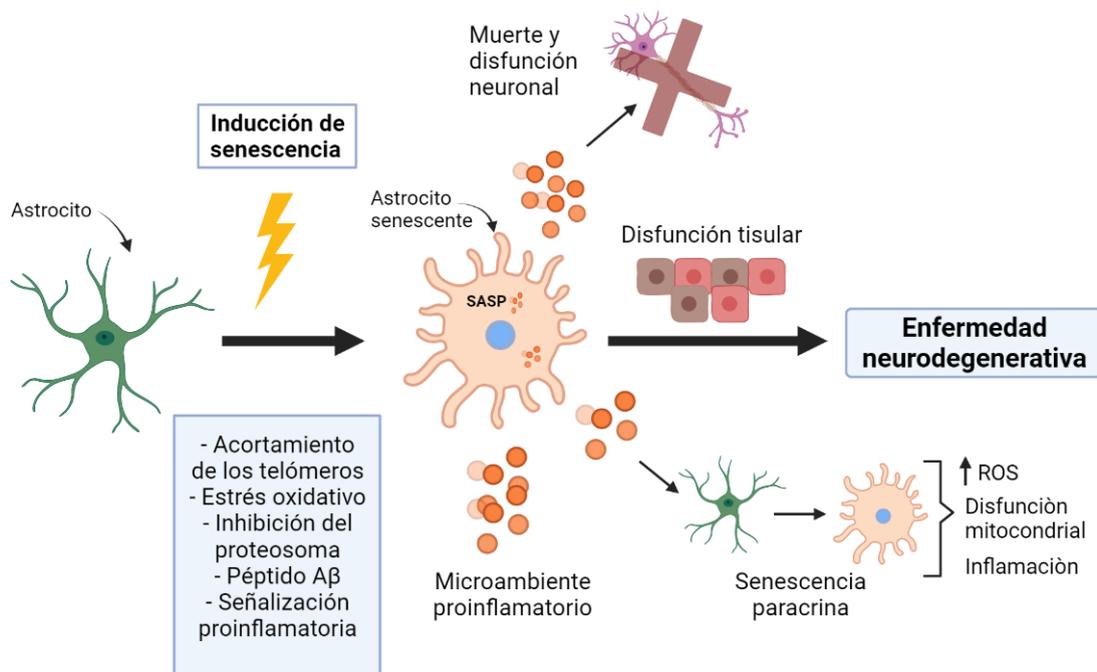
FIGURA 1: Activación y funciones del SASP.



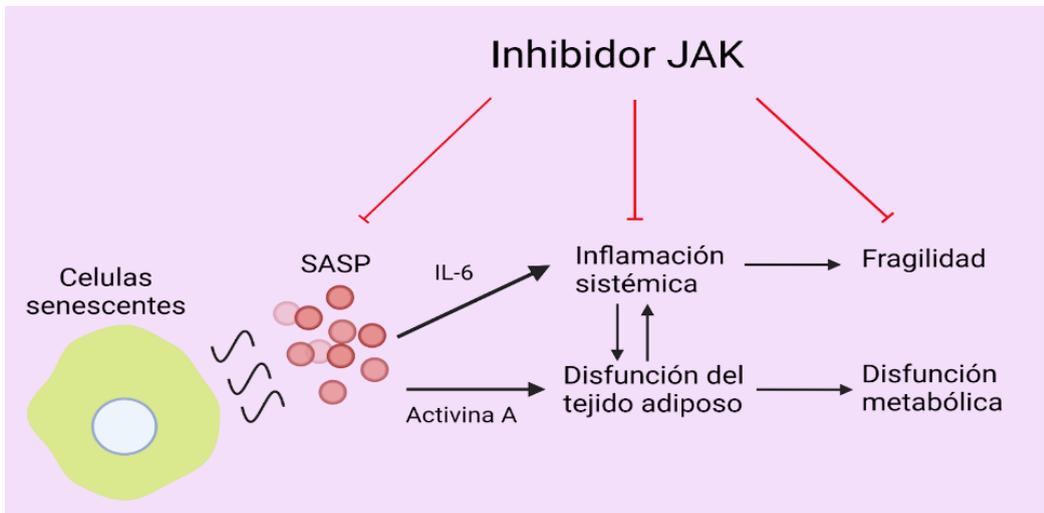
**FIGURA 2:** Mecanismo de acción de NF- $\kappa$ B. (24)



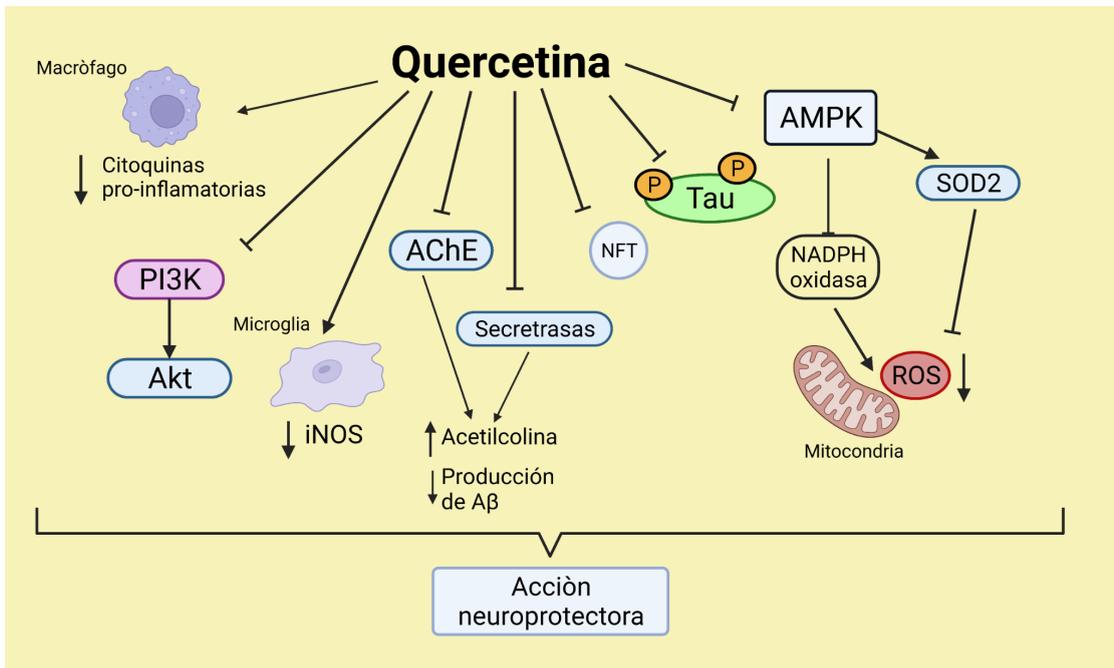
**FIGURA 3:** Impacto de la inducción de la senescencia de los astrocitos sobre el SNC. Extraído de “Astrocyte senescence: Evidence and significance” (36)



**FIGURA 4:** Mecanismo de acción de los inhibidores de JAK. Extraído de: “Perspective: targeting the JAK/STAT pathway to fight age-related dysfunction”(58)



**FIGURA 5:** Acción de la quercetina en la enfermedad de Alzheimer. Extraído de “Neuroprotective Effects of Quercetin in Alzheimer’s Disease” (73)



**ANEXO 3: TABLA 1: Características de los fármacos senoterápicos**

FÁRMACO	ACTIVIDAD	TIPO DE COMPUESTO	BLANCO TERAPEÚTICO	MODELO EVALUADO
Quercetina	Senolítico	Flavonoide	Inhibidor de PI3K	Preadipocitos humanos y HUVEC cells
Dasatinib	Senolítico	Inhibidor del receptor tirosin-quinasa	Promueve la apoptosis mediada por receptores de dependencia	Preadipocitos humanos y HUVEC cells
Fisetina	Senolítico	Flavonoide	Bloquea vía PI3K/ AKT /mTOR	Preadipocitos humanos y HUVEC cells
Navitoclax	Senolítico	Molécula sintética	Inhibidor de BCL-2 y BCL-XL	HUVEC cells y MEF
A1331852 /A1155463	Senolítico	Inhibidor de BCL-XL	Induce apoptosis en células dependientes de BCL-XL	HUVEC cells y IMR90
Glucocorticoides	Senomorfico	Hormonas esteroideas	Inhibidor de IL-6 e IL-8	Fibroblastos humanos y ratones
Metformina	Senomorfico	Biguanida	Bloquea NF-kB	Ratones transgénicos y células humanas
Etanercept	Senomorfico	Derivado de proteínas humanas	Inhibidor de TNF alfa	Musculo, hígado, tejido adiposo y riñones humanos
Etomoxir	Senomorfico	Inhibidor de CPT1/ RAS	Bloquea la beta oxidación	Células T en ratones y humanos
Fisetina	Senomorfico	Flavonoide	Inhibidor de citoquinas proinflamatorias (TNF alfa, IL-6, NFkB)	Preadipocitos humanos y HUVEC cells
Ruxolitinib	Senomorfico	Inhibidor de quinasas	Inhibe vía JAK/ STAT	Preadipocitos humanos y ratones envejecidos
Tofacitinib	Senomorfico	Inhibidor de quinasas	Inhibe vía JAK/ STAT	Preadipocitos humanos y ratones envejecidos
Torin 1	Senomorfico	Inhibe actividad de mTOR-1	Bloquea la fosforilación de mTOR-1 a mTOR-2	Hepatocitos de ratones
Rapamicina	Senomorfico	Derivado de la fermentación de bacterias	Inhibe mTOR-1	Células senescentes de ratones
Baricitinib	Senomorfico	Inhibidor de quinasas	Inhibe vía JAK/ STAT	Células humanas