

Trabajo de Fin de Grado
Grado en Farmacia

*Fármacos para el tratamiento
de la senescencia*

Departamento de Medicina Física y Farmacología
Área de Farmacología

Curso 2022-2023

Autora

Lucía Fuentes Yáñez

Tutor

Javier Rafael Castro Hernández

Cotutor

José Miguel Brito Armas

ÍNDICE

RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN	4
<i>1.1 Envejecimiento</i>	4
<i>1.2 Acumulación de mutaciones somáticas con la edad</i>	6
<i>1.3 Acumulación de células senescentes con la edad</i>	6
<i>1.4 Primeros fármacos para atacar el envejecimiento</i>	8
<i>1.5 Estrategias farmacológicas contra el envejecimiento (senoterapia): senolíticos y senomórficos</i>	9
2. HIPÓTESIS	11
3. OBJETIVOS	11
4. MATERIAL Y MÉTODOS	11
5. RESULTADOS	12
<i>5.2 Rapamicina</i>	12
<i>5.2 Metformina</i>	13
6. DISCUSIÓN	14
7. CONCLUSIONES	15
8. REFERENCIAS	16

RESUMEN

El incremento en la esperanza de vida de la población mundial se ha convertido en un problema económico y de salud pública a nivel global. Este aumento conlleva a una mayor incidencia de múltiples condiciones crónicas, a pesar de los avances sin precedentes en el diagnóstico y el tratamiento. A nivel celular, el envejecimiento se caracteriza por una disminución funcional dependiente del tiempo asociada a cambios fisiológicos y anatómicos debida principalmente a la acumulación de mutaciones somáticas y al acortamiento de los telómeros. Distintos factores (inestabilidad genómica, disfunción mitocondrial, alteración de la comunicación intercelular, alteraciones epigenéticas, etc.) obligan a la célula a entrar en fase de senescencia, una etapa irreversible en la que es metabólicamente activa, pero detiene su capacidad proliferativa. Estas células senescentes coadyuvan al aumento del daño oxidativo e inflamación, adquiriendo un fenotipo secretor de mediadores proinflamatorios e impulsando el envejecimiento. En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica para investigar el tratamiento de la senescencia mediante el uso de fármacos antienvjecimiento (senoterapia) en humanos. La evidencia científica actual indica que diferentes fármacos ya existentes son una estrategia terapéutica eficaz para combatir el envejecimiento. Sin embargo, todos ellos se encuentran aún en fase experimental, siendo necesarios más estudios que avalen su uso en clínica para reducir la velocidad de senescencia y aumentar la esperanza de vida útil, con el uso de terapias dirigidas a la reducción de la acumulación de células senescentes, mejorando con ello la calidad de vida en la vejez.

ABSTRACT

The increase in life expectancy of the world's population has become a global public health and economic issue. This increase leads to a higher incidence of multiple chronic conditions, despite unprecedented advances in diagnosis and treatment. At the cellular level, aging is characterized by a time-dependent functional decline associated with physiological and anatomical changes mainly due to the accumulation of somatic mutations and telomere shortening. Various factors (genomic instability, mitochondrial dysfunction, altered intercellular communication, epigenetic alterations, etc.) force the

cell to enter senescence, an irreversible stage in which it is metabolically active but stops its proliferative capacity. These senescent cells contribute to increased oxidative damage and inflammation, acquiring a phenotype that secretes proinflammatory mediators and drives aging. In this work, a literature review has been performed to investigate the treatment of senescence by using anti-aging drugs (senotherapy) in humans. Current scientific evidence indicates that different existing drugs are an effective therapeutic strategy to combat aging. However, all of them are still in the experimental phase, and more studies are needed to support their clinical use to reduce the rate of senescence and increase the lifespan, with the use of therapies aimed at reducing the accumulation of senescent cells, thereby improving the quality of life in the elderly.

1. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) manifiesta que la pauta de envejecimiento de la población es más rápida cada año, estimando que para 2050 el porcentaje de personas de 60 años o más pasará a aumentar sobre un 34%, superando al número de niños menores de 5 años. Se denomina a este aumento “envejecimiento de la población”, cuyo ritmo se acelerará en los países de desarrollo, incluyendo a España (1).

En consecuencia, los sistemas sanitarios y sociales deberán afrontar ese cambio demográfico para intentar evitar así un problema sociosanitario a nivel mundial (1). Este problema viene justificado porque el envejecimiento está asociado con el desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad debido a la degeneración biológica y cognitiva (2). Como consecuencia, el aumento de la población mayor de 65 años es proporcional a un aumento desmesurado del gasto farmacéutico.

1.1 Envejecimiento

El envejecimiento se puede definir como un proceso universal caracterizado por la acumulación de cambios biológicos que conducen al deterioro funcional del organismo con el tiempo (3). Como indicamos anteriormente, en la vejez, las funciones fisiológicas

y físicas disminuyen, lo que supone un mayor riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas, mayor discapacidad, aumento de los gastos de salud y mortalidad (4). A nivel molecular podemos definir las características del envejecimiento como: acortamiento de los telómeros, inestabilidad genómica, disfunción mitocondrial, senescencia celular, agotamiento de las células madre, pérdida de proteostasis, desregulación de sensores nutricionales, alteraciones epigenéticas y comunicación intercelular alterada (5). Se han descrito varios mecanismos importantes del envejecimiento humano involucrados en varios órganos, como la inflamación, la senescencia celular replicativa, la senescencia inmune, los fallos en la proteostasis, las disfunciones mitocondriales, la propensión fibrótica, el envejecimiento hormonal, cambios en la composición corporal, etc. Por este motivo, la OMS incluyó la vejez en la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades (CIE-11). De esta forma encontramos la clasificación como enfermedad: “*la disminución de la capacidad intrínseca asociada al envejecimiento (Senescencia sin mención de psicosis, vejez sin mención de psicosis y debilidad senil; MG2A)*”. Esto abre una nueva puerta al tratamiento del envejecimiento (Diagrama 1), pues todos los países del mundo pueden empezar a informar usando los códigos del ICD-11, y ya es posible ser diagnosticado de una enfermedad llamada “vejez” (6).



Diagrama 1. Abordajes terapéuticos frente a las 9 características del envejecimiento.

Adaptación de López-Otín et al.(5).

1.2 Acumulación de mutaciones somáticas con la edad

Las mutaciones somáticas son alteraciones del material genético que ocurren durante el desarrollo, o tras la diferenciación de las células en los diferentes tejidos, creando mosaicos de células con pequeñas diferencias en el genoma.

Los organismos pluricelulares están formados por millones a cuatrillones de células que derivan de una sola célula, el cigoto. Durante el transcurso de la vida, como causa de las divisiones celulares inherentes a la misma o debido a agresiones externas, ocurre la acumulación de mutaciones somáticas en células sanas en diferentes tipos celulares. Esto apunta al desarrollo de cáncer (7) y se ha especulado que contribuye al envejecimiento (8) (9) (10). Sin embargo, hasta ahora ha sido complejo analizar la acumulación de mutaciones somáticas con la edad, por la aleatoriedad y dispersión de estas mutaciones, diferentes de una célula a otra. Para identificarlas y estimar de forma precisa su frecuencia en tejidos normales, es necesaria la secuenciación del genoma completo en célula única, porque cada célula adquiere un patrón único de mutaciones durante su vida (11). Gracias al desarrollo reciente de métodos precisos para cuantificar estas alteraciones (12) (13) (14), ha sido posible comenzar a conocer la relación entre acumulación de daño con el tiempo y enfermedades asociadas al envejecimiento (15).

1.3 Acumulación de células senescentes con la edad

Las células senescentes se vuelven muy abundantes en el envejecimiento, en paralelo a la acumulación de mutaciones que ocurre con el tiempo. Las células se van dividiendo hasta que alcanzan un número máximo de divisiones. Si extraemos células humanas jóvenes y las cultivamos en una placa de Petri, tendrán entre cuarenta y setenta divisiones, hasta que sus telómeros se acorten de forma crítica y la célula se vuelva senescente (límite de Hayflick) (16). Además de este límite de divisiones, otros factores pueden determinar la senescencia celular prematura: la activación de oncogenes (17), agentes tóxicos o estrés oxidativo (18) (19).

Las células senescentes son células defectuosas, por lo que 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) (Diagrama 2) (20).

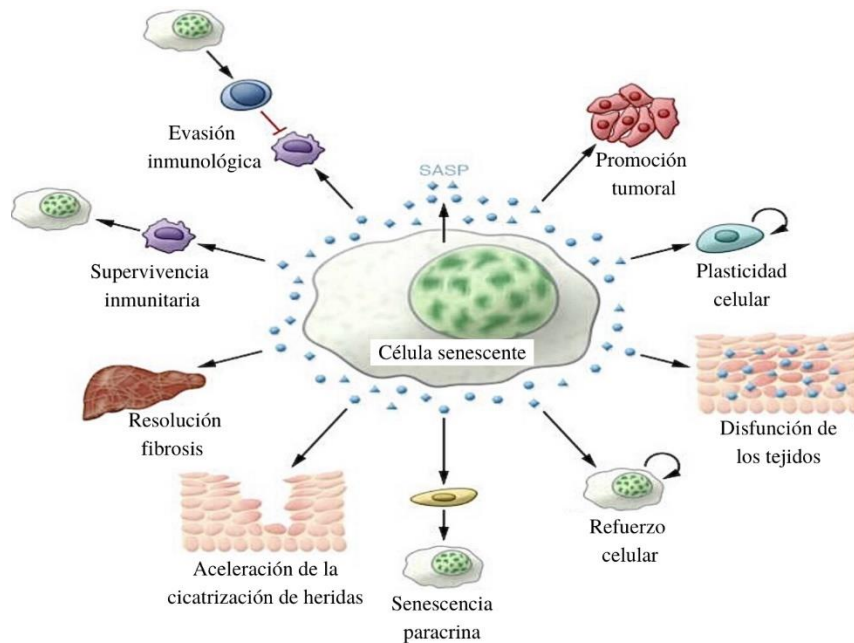


Diagrama 2. Esquema con algunas de las funciones asociadas al SASP. Adaptación de Herranz N & Gil J (21).

La senescencia celular, cuando no se controla, puede provocar el deterioro de órganos y tejidos acelerando el envejecimiento y favoreciendo las patologías relacionadas con la edad (22) (23) (24) (25). Una forma de eliminar esta acumulación descontrolada de células senescentes y protegernos así frente al cáncer o las enfermedades neurodegenerativas, sería mediante la inducción de su apoptosis (muerte celular programada). Sin embargo, estas células son resistentes a la muerte por apoptosis debido a la regulación positiva de vías de supervivencia celular, incluida la familia Bcl-2 de proteínas antiapoptóticas, incluso en exposición al estrés exógeno (26). Fármacos inhibidores de las proteínas de la familia Bcl-2, como el ABT-737 han conseguido la eliminación de estas células, consiguiendo prolongar la vida en un modelo murino de progeria (27).

1.4 Primeros fármacos para atacar el envejecimiento

En 1972, investigadores canadienses de la Universidad de McGill tomaron muestras de suelo en la Isla de Pascua (Chile) y descubrieron una bacteria, *Streptomyces higoscopius*, con capacidad para secretar un compuesto que frenaba el crecimiento de hongos competitivos y absorbía de esta forma un mayor número de nutrientes para sí misma. Los investigadores denominaron este compuesto como rapamicina, en honor al nombre nativo de la isla, Rapa Nui. En 1991, el laboratorio de Michael Hall descubrió la diana de este fármaco en levaduras, denominando a estas proteínas TOR1 y TOR2, del inglés “*target of rapamycin*” (28).

Posteriormente, en 1994, varios grupos descubrieron la diana de la rapamicina en mamíferos (mTOR) (29) (30). A partir de este momento empezó a estudiarse los efectos de la activación o inhibición de mTOR en diferentes especies. Se observó que, cuando mTOR se activaba, la autofagia era suprimida, y cuando mTOR se inhibía, la autofagia se inducía. Este control celular determina si la célula entra en una fase de anabolismo (crecimiento y división celular), o catabolismo (degradación y reciclaje) (31). TOR es un sensor celular, que integra señales de factores de crecimiento, disponibilidad de nutrientes, estado energético y diversos factores estresantes, determinando si se dan las condiciones para el crecimiento y la división celular. Es un interruptor celular que controla el metabolismo a través de la modulación de la traducción de ARNm, la autofagia, la transcripción y la función mitocondrial.

En la primera década de este siglo, diferentes grupos describieron que la inhibición de TOR alargaba la vida en diversas especies, como levaduras (32), gusanos (33), moscas (34), ratones (35). Esta inhibición se podía conseguir mediante la restricción dietética o mediante la acción farmacológica. En 2009, Colman y colaboradores describieron por primera vez que la restricción calórica alargaba la vida y retrasaba la aparición de enfermedades en primates no humanos (36). Estudios posteriores también han aclarado la relación entre TOR y la restricción dietética. Las hipótesis evolutivas que explican los efectos protectores de la restricción dietética argumentan que, bajo la

restricción de nutrientes, hay un cambio en la inversión metabólica desde la reproducción y el crecimiento hacia el mantenimiento somático para extender la supervivencia (37).

Dado el papel tan importante que tiene mTOR en la vida de la célula y del organismo, su modulación farmacológica es compleja y aún se está estudiando. Por ejemplo, la activación de mTOR *in vivo* promueve la hipertrofia muscular a corto plazo (38). Sin embargo, la activación crónica de mTOR lleva a una atrofia muscular grave, baja masa corporal y muerte prematura, debido a la inhibición de la autofagia en este tejido (39).

Actualmente, diferentes fármacos y estrategias se están probando en ensayos clínicos para conseguir alargar la vida en humanos, retrasar el envejecimiento y conseguir así el retraso en la aparición de enfermedades asociadas al mismo.

1.5 Estrategias farmacológicas contra el envejecimiento (senoterapia): senolíticos y senomórficos

Las terapias para eliminar las células senescentes se basan en tres puntos: el uso de fármacos senolíticos, la inhibición de SASP mediante senomórficos y la mejora de las funciones del sistema inmunitario frente a las células senescentes (inmunovigilancia) (40). En el año 2011, Baker y colaboradores diseñaron un modelo de ratón transgénico en el que se llevó a cabo la eliminación de células senescentes (senólisis), observándose un retraso de la aparición de enfermedades relacionadas con la edad y de posibles tumores (41). Tras el éxito de estos ensayos, se propuso transferir esta idea en humanos, pero finalmente no se realizó tras reconocer los posibles efectos adversos perjudiciales (42). Otro experimento posterior concluyó que el trasplante de células senescentes, por muy pequeño que fuera el número, en ratones jóvenes propagó la senescencia celular a los tejidos vecinos, causando disfunciones físicas, lo que se podría reducir con la administración de senolíticos (43). Por otro lado, cada vez hay más evidencias de que los flavonoides se dirigen a vías celulares específicas que regulan la senescencia, previniendo así el deterioro de la apariencia y de la piel (44).

Por el momento, se han encontrado que diferentes agentes naturales con características senolíticas, como la Quercetina, Fisetina, Curcumina, Piperlongumina (45) y los glucósidos cardíacos (46), eliminan la resistencia de estas células a la apoptosis. Algunos han sido validados en animales, pero todos ellos se encuentran aún en fase experimental para el uso en humanos.

Por otro lado, los senomórficos son fármacos que suprimen la inflamación asociada a la senescencia y reducen el tipo de secreciones que se producen a partir de las células senescentes. Existen senomórficos que afectan a la comunicación intercelular de las células senescentes mediante la modulación de SASP por medio de rutas como mTOR y NF-kB, entre otras (Diagrama 3) (47). Recientemente se ha sugerido que la metformina, un antidiabético, tiene propiedades senomórficas relacionadas con su actividad antioxidante que podrían prevenir el daño al ADN y reducir la inflamación (48).

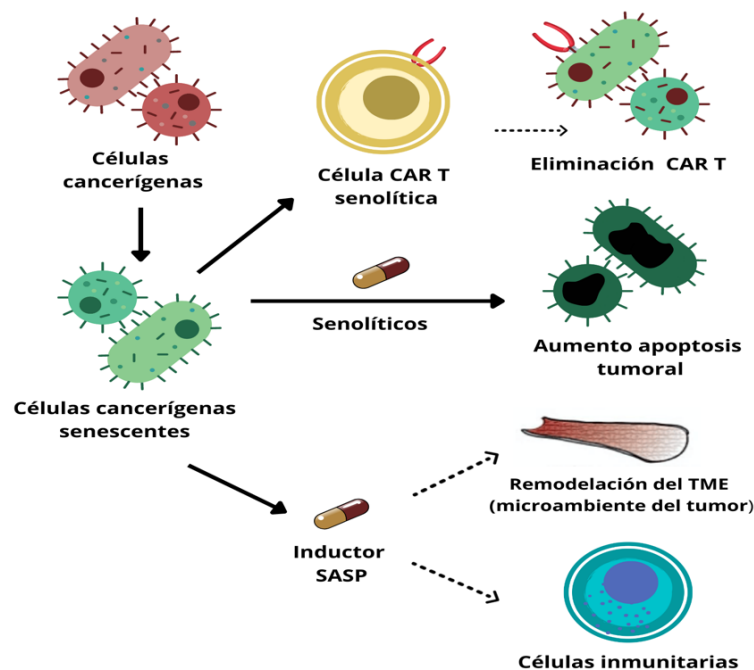


Diagrama 3. La senescencia y el SASP. Senescencia en el cáncer.

Adaptación de J. Birch y J. Gil (49).

2. HIPÓTESIS

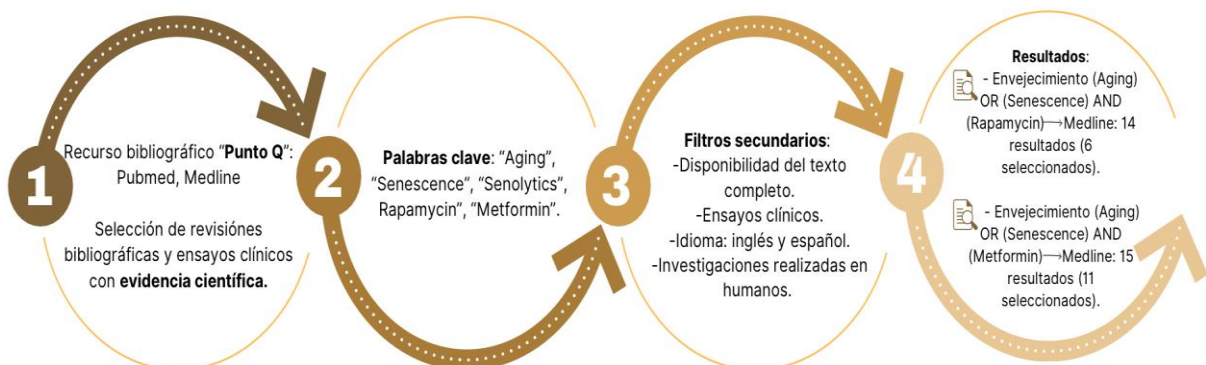
El envejecimiento es un estado fisiológico que algunos autores consideran una enfermedad tratable e incluso curable. Se produce como consecuencia de la acumulación de mutaciones somáticas en diferentes tejidos que llevan, con el paso del tiempo, a su reducción o pérdida de función. Por lo tanto, terapias dirigidas a la reducción de esta acumulación de mutaciones asociadas a la edad, ya sea mediante la reducción de la tasa de mutación por reducción de la división celular (modulación de mTOR) o mediante la inducción de mecanismos de reparación o reducción del daño al ADN, podrían reducir la prevalencia de las enfermedades asociadas al envejecimiento, así como retrasar e incluso revertir el envejecimiento.

3. OBJETIVOS

- 1) Investigar la evidencia científica existente sobre la aplicación de senoterapia en la prevención y tratamiento de enfermedades en humanos.
- 2) Explorar el estado de desarrollo actual de los fármacos antienvjecimiento en humanos.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Con la finalidad de localizar artículos relacionados con la aplicación de senoterapia en humanos, se ha llevado a cabo la siguiente búsqueda bibliográfica:



5. RESULTADOS

5.2 Rapamicina

La búsqueda bibliográfica ha dado como resultado 14 artículos para envejecimiento (senescencia) y rapamicina, de los cuáles 6 han sido seleccionados para esta revisión.

La rapamicina es un fármaco que se emplea en clínica como inmunosupresor para prevenir el rechazo del injerto de órganos y se ha observado que alarga la vida en ratones (50). El hecho de que la rapamicina haya sido eficaz incluso cuando se inició el tratamiento en animales relativamente viejos, sugiere que la inhibición de mTOR podría potencialmente reducir las patologías relacionadas con la edad, incluyendo el cáncer en la vejez, y suprimir la inflamación asociada con la senescencia (51).

Según los resultados de un estudio reciente que involucró a 25 adultos de entre 70 - 95 años, el tratamiento con rapamicina a corto plazo se puede usar de manera segura en personas mayores sanas (52). En dosis bajas (3 mg diarios) se ha comprobado que tiene una actividad farmacodinámica e inmunomoduladora, favorable en pacientes quirúrgicos y que posee el potencial de disminuir la disfunción inmunológica inducida por la cirugía (53). Además, se ha observado que su aplicación puede reducir la senescencia y producir una mejora relativa en la apariencia clínica de la piel, siendo esta una posible terapia antienvjecimiento con eficacia en humanos (54).

Existe también un ensayo clínico en fase II aleatorizado, doble ciego, y controlado por placebo para estudiar los efectos a dosis baja y alta de rapamicina intermitente con una pauta semanal, que se encuentra actualmente en progreso. El objetivo es determinar la seguridad y eficacia de la rapamicina a largo plazo en reducir los marcadores clínicos de envejecimiento y los criterios de valoración bioquímicos y fisiológicos asociados con el deterioro de la salud y el envejecimiento en adultos mayores sanos (55).

5.2 Metformina

La búsqueda bibliográfica ha dado como resultado 15 artículos para envejecimiento (senescencia) y metformina, de los cuáles 11 han sido seleccionados para esta revisión.

La metformina es un antidiabético que se dirige a varios mecanismos moleculares del envejecimiento. Una investigación mostró una mayor esperanza de vida en pacientes con diabetes tras recibir metformina que en personas no diabéticas, así como la mejoría de enfermedades cardiovasculares, cáncer y la reducción de la mortalidad (56). También se demostró que la metformina y el ejercicio mejoran de forma independiente la sensibilidad a la insulina, disminuyendo el riesgo de diabetes (57). Sin embargo, antes de recetar metformina para retrasar el envejecimiento, se necesitan estudios adicionales para comprender los mecanismos que provocan respuestas positivas y negativas a la metformina con y sin ejercicio, ya que este estudio indicó que agregar metformina al ejercicio antagoniza la mejora inducida por el ejercicio en la sensibilidad a la insulina y la capacidad cardiorrespiratoria.

Otros estudios sugieren que tanto el entrenamiento con ejercicios de resistencia progresiva como la metformina retrasan una variedad de morbilidades relacionadas con la edad, modulando vías relevantes para el envejecimiento, como la senescencia celular y la autofagia (58). Por otro lado, las niñas con bajo peso al nacer tienden a desarrollar un exceso de grasa visceral y hepática que puede ir acompañado de una pubertad rápidamente progresiva. Tras tratar a un grupo de niñas con metformina se comprobó que el ritmo del envejecimiento óseo fue un 20% más lento frente a las niñas no tratadas, normalizando la maduración ósea (59).

Los efectos geroprotectores de la metformina pueden deberse también a su potencial antiinflamatorio. Un estudio en humanos encontró que la metformina frenó específicamente en macrófagos la secreción de citoquinas proinflamatorias, sin inhibir la diferenciación o activación a M1/M2 (60). En una gran cohorte de población de diabetes mellitus sin tratamiento previo, se observó que la metformina redujo la proporción de neutrófilos/linfocitos, un marcador de inflamación sistémica en un tiempo de 8 a 16 meses

(61). Además, la metformina suprimió las citocinas plasmáticas, incluida la citocina asociada al envejecimiento CCL11 (ligando de quimiocina con motivo C-C 11) (61).

En cambio, la metformina fue ineficaz reduciendo la prevalencia a la fragilidad presente en pacientes con diabetes y la hiperglucemia, lo que puede provocar una mayor vulnerabilidad en el envejecimiento (62).

A día de hoy, se está desarrollando un ensayo clínico en fase III para estudiar los efectos de la metformina añadida a la dieta y el ejercicio para tratar la fragilidad en personas obesas mayores de 65 años (63). Además, existe otro ensayo clínico en fase III cuyo objetivo es investigar los efectos a corto plazo de la metformina sobre marcadores de senescencia celular y autofagia en pacientes adultos con prediabetes (64).

En conclusión, las reducciones aparentes en la mortalidad por todas las causas y las enfermedades del envejecimiento asociadas con el uso de metformina sugieren que podría prolongar la vida y la salud al actuar como un agente geroprotector (65), siendo aún necesario más estudios para afirmar que la metformina puede alargar nuestra vida, y cuál sería la pauta de tratamiento adecuada en tal caso.

6. DISCUSIÓN

El envejecimiento viene dado por la disminución funcional de todos los órganos, como consecuencia de un desequilibrio en los procesos de daño y reparación tisular. Hoy por hoy se están estudiando los mecanismos responsables del proceso de envejecimiento. La teoría de la pleiotropía antagónica plantea que la senescencia celular tendría efectos beneficiosos en los organismos jóvenes (cicatrización de heridas y supresión de tumores). Por otro lado, sería perjudicial en los organismos envejecidos, ya que el cúmulo de células senescentes favorecen la aparición de diferentes enfermedades asociadas al envejecimiento, mediante el deterioro de las respuestas al estrés y vías celulares de reparación (66). Sin embargo, las células senescentes en organismos envejecidos nos protegen de la aparición de cáncer.

La abundancia de estas células se puede controlar con senoterapia, denominándose así al conjunto de fármacos senolíticos, fármacos senomórficos y la intervención genética. La senoterapia ha mostrado efectos prometedores como terapia antienvjecimiento en humanos sin desarrollar casi resistencia a medicamentos (67). El problema principal es que estos fármacos no están exentos de efectos adversos (68). A pesar de que estos efectos no son graves, suponen un problema ya que están dirigidos concretamente a la población anciana, quienes son más vulnerables, pudiendo poner en peligro sus vidas. Además, diversos fármacos antienvjecimiento se encuentran aún sometidos a ensayos clínicos, así que se podrían encontrar más efectos secundarios tras su administración en un futuro.

Por último, hay que tener en cuenta que el envejecimiento no ocurre de forma sincrónica en todo el organismo, encontrando diferencias entre tejidos y órganos (69). Esto es importante a la hora de aplicar terapias de rejuvenecimiento tales como eliminación de células senescentes o la manipulación de sensores nutricionales (rapamicina y metformina). En este sentido, faltan estudios para determinar el posible efecto de estos fármacos sobre la acumulación de mutaciones somáticas con el envejecimiento o sobre si modulan de alguna manera los mecanismos de reparación del material genético.

Para ello, actualmente se están desarrollando diferentes ensayos, tanto en animales como en humanos, para comprender con detalle los mecanismos implícitos del envejecimiento y mejorar el comportamiento farmacológico para mejorar la calidad de vida en la última etapa de nuestra vida.

7. CONCLUSIONES

- 1) Los senolíticos y los senomórficos cuentan con gran potencial para tratar el envejecimiento, retrasando algunos síntomas y patologías relacionados con la edad.
- 2) La rapamicina y la metformina, son los fármacos con capacidad geroprotectora mejor estudiados, y poseen gran potencial de aumentar la esperanza y calidad de vida, reduciendo así la mortalidad.

- 3) Siguen siendo necesarios más ensayos clínicos para demostrar si la senoterapia es capaz de prolongar nuestra vida útil, así como para determinar su eficacia y seguridad en humanos.

8. REFERENCIAS

1. Envejecimiento y salud, (available at <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>).
2. K. Jin, J. W. Simpkins, X. Ji, M. Leis, I. Stambler, The Critical Need to Promote Research of Aging and Aging-related Diseases to Improve Health and Longevity of the Elderly Population. *Aging Dis.* 6, 1–5 (2014).
3. M. Kritsilis, S. v. Rizou, P. N. Koutsoudaki, K. Evangelou, V. G. Gorgoulis, D. Papadopoulos, Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *Int J Mol Sci.* 19 (2018), doi:10.3390/IJMS19102937.
4. M. Xu, T. Pirtskhalava, J. N. Farr, B. M. Weigand, A. K. Palmer, M. M. Weivoda, C. L. Inman, M. B. Ogrodnik, C. M. Hachfeld, D. G. Fraser, J. L. Onken, K. O. Johnson, G. C. Verzosa, L. G. P. Langhi, M. Weigl, N. Giorgadze, N. K. LeBrasseur, J. D. Miller, D. Jurk, R. J. Singh, D. B. Allison, K. Ejima, G. B. Hubbard, Y. Ikeno, H. Cubro, V. D. Garovic, X. Hou, S. J. Werooha, P. D. Robbins, L. J. Niedernhofer, S. Khosla, T. Tchkonja, J. L. Kirkland, Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med.* 24, 1246–1256 (2018).
5. C. López-Otín, M. A. Blasco, L. Partridge, M. Serrano, G. Kroemer, The hallmarks of aging. *Cell.* 153, 1194 (2013).
6. CIE-11 para estadísticas de mortalidad y morbilidad, (available at <https://icd.who.int/browse11/11-m/es#/http%3a%2f%2fid.who.int%2ficd%2fentity%2f835503193>).
7. M. R. Stratton, P. J. Campbell, P. A. Futreal, The cancer genome. *Nature.* 458, 719–724 (2009).
8. L. Szilard, ON THE NATURE OF THE AGING PROCESS. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 45, 30–45 (1959).
9. A. A. Morley, The somatic mutation theory of ageing. *Mutat Res.* 338, 19–23 (1995).

10. J. Vijg, X. Dong, Pathogenic Mechanisms of Somatic Mutation and Genome Mosaicism in Aging. *Cell*. 182, 12–23 (2020).
11. Z. Huang, S. Sun, M. Lee, A. Y. Maslov, M. Shi, S. Waldman, A. Marsh, T. Siddiqui, X. Dong, Y. Peter, A. Sadoughi, C. Shah, K. Ye, S. D. Spivack, J. Vijg, Single-cell analysis of somatic mutations in human bronchial epithelial cells in relation to aging and smoking. *Nature Genetics* 2022 54:4. 54, 492–498 (2022).
12. K. Brazhnik, S. Sun, O. Alani, M. Kinkhabwala, A. W. Wolkoff, A. Y. Maslov, X. Dong, J. Vijg, Single-cell analysis reveals different age-related somatic mutation profiles between stem and differentiated cells in human liver. *Sci Adv*. 6 (2020), doi:10.1126/SCIADV.AAX2659.
13. M. A. Lodato, R. E. Rodin, C. L. Bohrson, M. E. Coulter, A. R. Barton, M. Kwon, M. A. Sherman, C. M. Vitzthum, L. J. Luquette, C. N. Yandava, P. Yang, T. W. Chittenden, N. E. Hatem, S. C. Ryu, M. B. Woodworth, P. J. Park, C. A. Walsh, Aging and neurodegeneration are associated with increased mutations in single human neurons. *Science*. 359, 555–559 (2018).
14. L. Zhang, X. Dong, M. Lee, A. Y. Maslov, T. Wang, J. Vijg, Single-cell whole-genome sequencing reveals the functional landscape of somatic mutations in B lymphocytes across the human lifespan. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 116, 9014–9019 (2019).
15. Z. Huang, S. Sun, M. Lee, A. Y. Maslov, M. Shi, S. Waldman, A. Marsh, T. Siddiqui, X. Dong, Y. Peter, A. Sadoughi, C. Shah, K. Ye, S. D. Spivack, J. Vijg, Single-cell analysis of somatic mutations in human bronchial epithelial cells in relation to aging and smoking. *Nature Genetics* 2022 54:4. 54, 492–498 (2022).
16. L. Hayflick, P. S. Moorhead, The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 25, 585–621 (1961).
17. M. Serrano, A. W. Lin, M. E. McCurrach, D. Beach, S. W. Lowe, Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell*. 88, 593–602 (1997).
18. F. D’Adda Di Fagagna, Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer*. 8, 512–522 (2008).
19. G. Saretzki, T. von Zglinicki, Replicative aging, telomeres, and oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci*. 959, 24–29 (2002).

20. T. Tchkonina, Y. Zhu, J. van Deursen, J. Campisi, J. L. Kirkland, Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest.* 123, 966–972 (2013).
21. N. Herranz, J. Gil, Mechanisms and functions of cellular senescence. *J Clin Invest.* 128, 1238–1246 (2018).
22. L. I. Prieto, D. J. Baker, Cellular Senescence and the Immune System in Cancer. *Gerontology.* 65, 505–512 (2019).
23. C. Martínez-Cué, N. Rueda, Cellular Senescence in Neurodegenerative Diseases. *Front Cell Neurosci.* 14 (2020), doi:10.3389/FNCEL.2020.00016.
24. I. Shimizu, T. Minamino, Cellular senescence in cardiac diseases. *J Cardiol.* 74, 313–319 (2019).
25. S. Khosla, J. N. Farr, T. Tchkonina, J. L. Kirkland, The role of cellular senescence in ageing and endocrine disease. *Nat Rev Endocrinol.* 16, 263–275 (2020).
26. W. Li, Y. He, R. Zhang, G. Zheng, D. Zhou, The curcumin analog EF24 is a novel senolytic agent. *Aging.* 11, 771–782 (2019).
27. Y. Ovadya, T. Landsberger, H. Leins, E. Vadai, H. Gal, A. Biran, R. Yosef, A. Sagiv, A. Agrawal, A. Shapira, J. Windheim, M. Tsoory, R. Schirmbeck, I. Amit, H. Geiger, V. Krizhanovsky, Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging. *Nature Communications* 2018 9:1. 9, 1–15 (2018).
28. J. Heitman, N. R. Movva, M. N. Hall, Targets for Cell Cycle Arrest by the Immunosuppressant Rapamycin in Yeast. *Science (1979).* 253, 905–909 (1991).
29. E. J. Brown, M. W. Albers, T. Bum Shin, K. Ichikawa, C. T. Keith, W. S. Lane, S. L. Schreiber, A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin-receptor complex. *Nature.* 369, 756–758 (1994).
30. D. M. Sabatini, H. Erdjument-Bromage, M. Lui, P. Tempst, S. H. Snyder, RAFT1: A mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell.* 78, 35–43 (1994).
31. R. A. Saxton, D. M. Sabatini, mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell.* 168, 960–976 (2017).
32. M. Kaeberlein, R. W. Powers, K. K. Steffen, E. A. Westman, D. Hu, N. Dang, E. O. Kerr, K. T. Kirkland, S. Fields, B. K. Kennedy, Cell biology: Regulation of yeast replicative life span by TOR and Sch9 response to nutrients. *Science (1979).* 310, 1193–1196 (2005).

33. T. Vellai, K. Takacs-Vellai, Y. Zhang, A. L. Kovacs, L. Orosz, F. Müller, Genetics: influence of TOR kinase on lifespan in *C. elegans*. *Nature*. 426, 620 (2003).
34. I. Bjedov, J. M. Toivonen, F. Kerr, C. Slack, J. Jacobson, A. Foley, L. Partridge, Mechanisms of life span extension by rapamycin in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Cell Metab.* 11, 35–46 (2010).
35. D. E. Harrison, R. Strong, Z. D. Sharp, J. F. Nelson, C. M. Astle, K. Flurkey, N. L. Nadon, J. E. Wilkinson, K. Frenkel, C. S. Carter, M. Pahor, M. A. Javors, E. Fernandez, R. A. Miller, Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*. 460, 392–395 (2009).
36. R. J. Colman, R. M. Anderson, S. C. Johnson, E. K. Kastman, K. J. Kosmatka, T. M. Beasley, D. B. Allison, C. Cruzen, H. A. Simmons, J. W. Kemnitz, R. Weindruch, Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 325, 201–204 (2009).
37. A. Unnikrishnan, K. Kurup, A. B. Salmon, A. Richardson, Is Rapamycin a Dietary Restriction Mimetic? *The Journals of Gerontology: Series A*. 75, 4–13 (2020).
38. S. C. Bodine, T. N. Stitt, M. Gonzalez, W. O. Kline, G. L. Stover, R. Bauerlein, E. Zlotchenko, A. Scrimgeour, J. C. Lawrence, D. J. Glass, G. D. Yancopoulos, Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol.* 3, 1014–1019 (2001).
39. P. Castets, S. Lin, N. Rion, S. di Fulvio, K. Romanino, M. Guridi, S. Frank, L. A. Tintignac, M. Sinnreich, M. A. Rüegg, Sustained activation of mTORC1 in skeletal muscle inhibits constitutive and starvation-induced autophagy and causes a severe, late-onset myopathy. *Cell Metab.* 17, 731–744 (2013).
40. C. von Kobbe, Targeting senescent cells: approaches, opportunities, challenges. *Aging*. 11, 12844–12861 (2019).
41. D. J. Baker, T. Wijshake, T. Tchkonja, N. K. Lebrasseur, B. G. Childs, B. van de Sluis, J. L. Kirkland, J. M. van Deursen, Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 2011 479:7372. 479, 232–236 (2011).
42. H. H. Glossmann, O. M. D. Lutz, Metformin and Aging: A Review. *Gerontology*. 65, 581–590 (2019).
43. M. Xu, T. Pirtskhalava, J. N. Farr, B. M. Weigand, A. K. Palmer, M. M. Weivoda, C. L. Inman, M. B. Ogrodnik, C. M. Hachfeld, D. G. Fraser, J. L. Onken, K. O. Johnson, G. C. Verzosa, L. G. P. Langhi, M. Weigl, N. Giorgadze, N. K.

- LeBrasseur, J. D. Miller, D. Jurk, R. J. Singh, D. B. Allison, K. Ejima, G. B. Hubbard, Y. Ikeno, H. Cubro, V. D. Garovic, X. Hou, S. J. Weroha, P. D. Robbins, L. J. Niedernhofer, S. Khosla, T. Tchkonina, J. L. Kirkland, Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med.* 24, 1246–1256 (2018).
44. A. Domaszewska-Szostek, M. Puzianowska-Kuźnicka, A. Kuryłowicz, Flavonoids in Skin Senescence Prevention and Treatment. *Int J Mol Sci.* 22 (2021), doi:10.3390/IJMS22136814.
45. W. Li, L. Qin, R. Feng, G. Hu, H. Sun, Y. He, R. Zhang, Emerging senolytic agents derived from natural products. *Mech Ageing Dev.* 181, 1–6 (2019).
46. F. Triana-Martínez, P. Picallos-Rabina, S. da Silva-Álvarez, F. Pietrocola, S. Llanos, V. Rodilla, E. Soprano, P. Pedrosa, A. Ferreirós, M. Barradas, F. Hernández-González, M. Lalinde, N. Prats, C. Bernadó, P. González, M. Gómez, M. P. Ikonopoulou, P. J. Fernández-Marcos, T. García-Caballero, P. del Pino, J. Arribas, A. Vidal, M. González-Barcia, M. Serrano, M. I. Loza, E. Domínguez, M. Collado, Identification and characterization of Cardiac Glycosides as senolytic compounds. *Nat Commun.* 10 (2019), doi:10.1038/S41467-019-12888-X.
47. J. A. Fafián-Labora, A. O’Loughlen, NF- κ B/IKK activation by small extracellular vesicles within the SASP. *Aging Cell.* 20 (2021), doi:10.1111/ACEL.13426.
48. M. B. Acar, Ş. Ayaz-Güner, Z. Gunaydin, M. Karakukcu, G. Peluso, G. di Bernardo, S. Özcan, U. Galderisi, Proteomic and Biological Analysis of the Effects of Metformin Senomorphics on the Mesenchymal Stromal Cells. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 9, 888 (2021).
49. J. Birch, J. Gil, Senescence and the SASP: many therapeutic avenues. *Genes Dev.* 34, 1565–1576 (2020).
50. J. Y. An, K. A. Kerns, A. Ouellette, L. Robinson, D. Morris, C. Kaczorowski, S. il Park, T. Mekvanich, A. Kang, J. S. McLean, T. C. Cox, M. Kaeberlein, Rapamycin rejuvenates oral health in aging mice. *Elife.* 9 (2020), doi:10.7554/ELIFE.54318.
51. R. M. Laberge, Y. Sun, A. v. Orjalo, C. K. Patil, A. Freund, L. Zhou, S. C. Curran, A. R. Davalos, K. A. Wilson-Edell, S. Liu, C. Limbad, M. Demaria, P. Li, G. B. Hubbard, Y. Ikeno, M. Javors, P. Y. Desprez, C. C. Benz, P. Kapahi, P. S. Nelson, J. Campisi, MTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting IL1A translation. *Nat Cell Biol.* 17, 1049–1061 (2015).
52. E. Kraig, L. A. Linehan, H. Liang, T. Q. Romo, Q. Liu, Y. Wu, A. D. Benavides, T. J. Curiel, M. A. Javors, N. Musi, L. Chiodo, W. Koek, J. A. L. Gelfond, D. L.

- Kellogg, A randomized control trial to establish the feasibility and safety of rapamycin treatment in an older human cohort: Immunological, physical performance, and cognitive effects. *Exp Gerontol.* 105, 53–69 (2018).
53. R. S. Svatek, N. Ji, E. de Leon, N. Z. Mukherjee, A. Kabra, V. Hurez, M. Nicolas, J. E. Michalek, M. Javors, K. Wheeler, Z. Dave Sharp, C. B. Livi, Z. J. Shu, D. Henkes, T. J. Curiel, Rapamycin Prevents Surgery-Induced Immune Dysfunction in Patients with Bladder Cancer. *Cancer Immunol Res.* 7, 466–475 (2019).
 54. C. L. Chung, I. Lawrence, M. Hoffman, D. Elgindi, K. Nadhan, M. Potnis, A. Jin, C. Sershon, R. Binnebose, A. Lorenzini, C. Sell, Topical rapamycin reduces markers of senescence and aging in human skin: an exploratory, prospective, randomized trial. *Geroscience.* 41, 861–869 (2019).
 55. Participatory Evaluation (of) Aging (With) Rapamycin (for) Longevity Study - Full Text View - ClinicalTrials.gov, (available at <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04488601?term=rapamycin&cond=aging&draw=3&rank=1>).
 56. J. M. Campbell, S. M. Bellman, M. D. Stephenson, K. Lisy., Metformin reduces all-cause mortality and diseases of ageing independent of its effect on diabetes control: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 40, 31–44 (2017).
 57. R. G. Walton, C. M. Dungan, D. E. Long, S. C. Tuggle, K. Kosmac, B. D. Peck, H. M. Bush, A. G. Villasante Tezanos, G. McGwin, S. T. Windham, F. Ovalle, M. M. Bamman, P. A. Kern, C. A. Peterson, Metformin blunts muscle hypertrophy in response to progressive resistance exercise training in older adults: A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial: The MASTERS trial. *Aging Cell.* 18 (2019), doi:10.1111/ACEL.13039.
 58. A. S. Kulkarni, B. D. Peck, R. G. Walton, P. A. Kern, J. C. Mar, S. T. Windham, M. M. Bamman, N. Barzilai, C. A. Peterson, Metformin alters skeletal muscle transcriptome adaptations to resistance training in older adults. *Aging.* 12, 19852–19866 (2020).
 59. F. de Zegher, C. García Beltrán, A. López-Bermejo, L. Ibáñez, Metformin for Rapidly Maturing Girls with Central Adiposity: Less Liver Fat and Slower Bone Maturation. *Hormone research in paediatrics.* 89, 136–140 (2018).
 60. A. R. Cameron, V. L. Morrison, D. Levin, M. Mohan, C. Forteach, C. Beall, A. D. McNeilly, D. J. K. Balfour, T. Savinko, A. K. F. Wong, B. Viollet, K. Sakamoto,

- S. C. Fagerholm, M. Foretz, C. C. Lang, G. Rena, Anti-Inflammatory Effects of Metformin Irrespective of Diabetes Status. *Circ Res.* 119, 652–665 (2016).
61. A. R. Cameron, V. L. Morrison, D. Levin, M. Mohan, C. Forteach, C. Beall, A. D. McNeilly, D. J. K. Balfour, T. Savinko, A. K. F. Wong, B. Viollet, K. Sakamoto, S. C. Fagerholm, M. Foretz, C. C. Lang, G. Rena, Anti-Inflammatory Effects of Metformin Irrespective of Diabetes Status. *Circ Res.* 119, 652–665 (2016).
62. H. P. Hazuda, Q. Pan, H. Florez, J. A. Luchsinger, J. P. Crandall, E. M. Venditti, S. H. Golden, A. M. Kriska, G. A. Bray, Association of Intensive Lifestyle and Metformin Interventions With Frailty in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 76, 929–936 (2021).
63. Diet and Exercise Plus Metformin to Treat Frailty in Obese Seniors - Full Text View - ClinicalTrials.gov, (available at <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04221750?term=metformin&cond=Aging&phase=2&draw=2&rank=4>).
64. A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Anti-Aging, Pro-Autophagy Effects of Metformin in Adults With Prediabetes - Full Text View - ClinicalTrials.gov, (available at <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03309007?term=metformin&cond=Aging&phase=2&draw=2&rank=1>).
65. J. M. Campbell, S. M. Bellman, M. D. Stephenson, K. Lisy., Metformin reduces all-cause mortality and diseases of ageing independent of its effect on diabetes control: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 40, 31–44 (2017).
66. B. F. Oliveira, J. A. Nogueira-Machado, M. M. Chaves, The role of oxidative stress in the aging process. *ScientificWorldJournal.* 10, 1121–1128 (2010).
67. T. Tchkonina, Y. Zhu, J. van Deursen, J. Campisi, J. L. Kirkland, Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest.* 123, 966–972 (2013).
68. S. M. Lagoumtzi, N. Chondrogianni, Senolytics and senomorphics: Natural and synthetic therapeutics in the treatment of aging and chronic diseases. *Free Radic Biol Med.* 171, 169–190 (2021).
69. R. C. Slieker, C. L. Relton, T. R. Gaunt, P. E. Slagboom, B. T. Heijmans, Age-related DNA methylation changes are tissue-specific with ELOVL2 promoter methylation as exception. *Epigenetics and Chromatin.* 11, 1–11 (2018).