

Revisión

Las células senescentes como factores patogénicos y posibles dianas terapéuticas en osteoporosis

Lorena Pena Larrea¹, Manuela de Blas Rodríguez², Manuel Naves Díaz³, Carlos Gómez Alonso³

¹Departamento de Traumatología y Cirugía Ortopédica. Hospital García Orcoyen. Estella, Navarra. ²Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo Óseo. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ³Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo Óseo. Hospital Universitario Central de Asturias. Grupo de Metabolismo Óseo, Vascular y Enfermedades Inflamatorias Crónicas. Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). RICORS 2040 - Enfermedad Renal del ISCIII. Oviedo

Resumen

La senescencia celular es un proceso inducido por varios tipos de estrés que causan una detención irreversible del ciclo celular y un cambio en las características y la funcionalidad de las células, además de la adquisición de un fenotipo secretor que genera un ambiente proinflamatorio. Si bien en determinados contextos es beneficiosa para los tejidos y promueve el desarrollo del organismo, la senescencia es un destino celular implicado en el proceso de envejecimiento y en las patologías degenerativas relacionadas con la edad. Los senolíticos son fármacos que eliminan específicamente a las células senescentes y los senomórficos son fármacos que suprimen su fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP) sin inducir la muerte celular. Así, las estrategias terapéuticas enfocadas en las células senescentes (senolíticos y senomórficos) como mecanismo subyacente al envejecimiento, se erigen en una alternativa con gran potencial para luchar contra las enfermedades relacionadas con la edad en su conjunto, y no de forma individual. Una de estas patologías es la osteoporosis, donde además se han descrito, a nivel experimental, que fármacos como el ácido zoledrónico tiene efecto sobre los preosteoblastos y actúa sobre las células senescentes, prolongando la supervivencia y abriendo la puerta a la posibilidad de tratar las enfermedades relacionadas con la edad con fármacos que ya se emplean en la práctica, y que puedan tener un efecto más allá del propio hueso y aumentar la supervivencia. En este trabajo se va a realizar una revisión en este campo de vertiginoso crecimiento en los últimos años y con indudable interés traslacional.

Palabras clave:

Senescencia.
Osteoporosis.
Senolíticos.
Senomórficos.
Hueso.
Fragilidad.
Fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP).

Recibido: 18/04/2023 • Aceptado: 25/05/2023

Autoría: Lorena Pena Larrea y Manuela de Blas Rodríguez figuran como primeros autores del artículo.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de interés.

Pena Larrea L, de Blas Rodríguez M, Naves Díaz M, Gómez Alonso C. Las células senescentes como factores patogénicos y posibles dianas terapéuticas en osteoporosis. Rev Osteoporos Metab Miner 2023;15(3):115-124

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00013

Correspondencia:

Lorena Pena Larrea. Departamento de Traumatología y Cirugía Ortopédica. Secretaría de Traumatología. Hospital Comarcal García Orcoyen. C/ Santa Soria, n.º 22. 31200 Estella, Navarra
e-mail: lorenapena89@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El notable incremento de la esperanza de vida desde mediados del siglo XX determina un rápido envejecimiento de la población (1). A nivel global, la población mayor de 65 años crece a un ritmo más veloz que el resto de los segmentos poblacionales. De hecho, se estima que para el 2050 el total de octogenarios triplique las cifras del 2019 (2).

Este incremento de la longevidad, un logro de las mejores condiciones de vida y de la propia medicina, va de la mano de un aumento de la carga de enfermedades crónicas (cardiovasculares, musculoesqueléticas, neoplasias y neurológicas) (3-5), que tiene no solamente una derivada socioeconómica, sino que conlleva también una pérdida de la calidad de vida, limitaciones funcionales, fragilidad y mortalidad (6,7). En el contexto en que nos encontramos, desarrollar estrategias con la mirada puesta en tratar el envejecimiento como denominador común de estas dolencias, en lugar de específicamente cada enfermedad, puede adquirir tremenda relevancia, prolongando la salud y retrasando, previniendo o aliviando los trastornos relacionados con la edad.

Los mecanismos celulares que subyacen al envejecimiento incluyen: acortamiento de los telómeros, inestabilidad genómica, alteraciones epigenéticas, disfunción mitocondrial, pérdida de la homeostasis proteica (proteostasis), agotamiento y disminución de las células madre, desregulación de la detección de nutrientes, declive del sistema inmune y senescencia celular (8,9). Estos procesos se encuentran interrelacionados (10), vinculados y superpuestos, y la senescencia no solo es causa, sino también consecuencia de varios de ellos, actuando las células senescentes como auténticos "sincronizadores" del envejecimiento en diferentes tejidos, órganos o sistemas. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue realizar una revisión en este campo de vertiginoso crecimiento en los últimos años y con indudable interés traslacional.

CONCEPTO

La senescencia celular se define como un estado estable de parada del ciclo celular en respuesta a diferentes estímulos, en el que las células detienen su proliferación y adquieren un fenotipo alterado, perdiendo su funcionalidad primaria. El concepto fue descrito por primera vez en 1961 por Hayflick y cols. (11) en fibroblastos diploides humanos cultivados *in vitro*. Se demostró que las células normales tienen una capacidad limitada de división debido al acortamiento de los telómeros. Este fenómeno hoy día se conoce como senescencia replicativa, aunque ya se han descubierto otros muchos estímulos de estrés que desencadenan la respuesta de senescencia celular.

En términos generales, los tipos de senescencia se pueden agrupar en función de sus desencadenantes en senescencia replicativa, inducida por daño al ADN (ácido desoxirribonucleico), inducida por oncogenes, inducida por estrés oxidativo, asociada a disfunción mitocondrial, inducida epigenéticamente, paracrina y endocrina (inducida por el ambiente inflamatorio generado por las propias células senescentes) (12). Se han encontrado daños en el ADN (como acortamiento de los telómeros y roturas de una y dos cadenas), mutaciones oncogénicas (como Ras, Myc, B-Raf) que afectan por lo general a genes involucrados en el control del ciclo celular. También metabolitos reactivos como: especies reactivas de oxígeno (ROS) y lípidos bioactivos. Además, señales de mitógenos y nutrientes elevados que aumentan la actividad de mTOR (*mammalian target of rapamycin*), estrés proteotóxico como agregación de proteínas y proteínas no plegadas; proteínas de patrón molecular asociadas al daño (DAMPs, del inglés *damage associated molecular patterns*), entre otras. Gran parte de estos hallazgos fueron demostrados en experimentos en cultivos celulares y desde entonces se consideran inductores de senescencia también *in vivo* (13).

Todos estos efectores contribuyen a cambios generalizados en la expresión génica, el metabolismo y la organización de la cromatina que están detrás de la detención del crecimiento asociada a la senescencia, de los cambios estructurales en las células y de una actividad secretora especializada conocida como fenotipo secretor asociado a senescencia (de ahora en adelante, SASP). Además, genera un ambiente inflamatorio. Los cambios estructurales que se describen en las células son: morfología plana, vacuolizada y de mayor tamaño, composición alterada de la membrana plasmática y acumulación de lisosomas y mitocondrias (14).

FISIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA DE LA SENESCENCIA

El objetivo general de la senescencia es la eliminación de células no deseadas en el organismo. En este sentido, su implicación en la defensa contra el cáncer es vital: frente a agentes oncogénicos, se induce la senescencia y se detiene la replicación de las células cancerosas (el SASP proapoptótico puede incluso eliminar las células tumorales circundantes) (3,10). En condiciones fisiológicas, juega un papel clave en la respuesta al daño o estrés, y en la reparación y remodelación tisular, esto es, en los procesos de cicatrización (15). Su papel fisiológico en el desarrollo embrionario está bien establecido, pues participa en la formación de varias estructuras anatómicas durante la organogénesis y regula la proporción de diferentes tipos celulares (a modo de complemento a la apoptosis). También ocurre en tejidos adultos sanos como mecanismo de maduración de megacariocitos y sincitiotrofoblastos de la placenta y de protección del organismo (12,13).

Cuando las células senescentes no se eliminan de forma eficiente y se acumulan, lejos de favorecer la regeneración, agrava la disfunción tisular y participa en la génesis de enfermedades (16,17). La senescencia no solo se produce con la edad, sino que también impulsa el envejecimiento sincronizando el mismo en diferentes tejidos y sistemas (18,19).

De lo anterior se deduce que la senescencia celular es un fenómeno complejo que en condiciones fisiológicas puede actuar como mecanismo de *defensa* para detener la progresión de la enfermedad (3) al tiempo que en otras puede *favorecer su desarrollo*. Cuando es localizado y limitado en el tiempo promueve la remodelación tisular durante el crecimiento o tras daño en el tejido; pero contribuye también al declive del potencial regenerativo y funcional de los tejidos, a la inflamación y a la tumorigénesis cuando es pronunciado o persistente, como en organismos envejecidos.

VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DE LA SENESCENCIA

Desde el punto de vista molecular, la senescencia celular puede entenderse como un destino celular que ocurre en cualquier momento de la vida y que pasa por la actuación de inductores externos e internos, cascadas de factores de transcripción, cambios en la expresión génica y remodelación de la cromatina (20). Inicialmente, se produce la activación de las vías p53/p21^{Cip1} y el supresor tumoral p16^{Ink4a} que genera una respuesta que tarda en establecerse por completo y es irreversible. El proceso se ve reforzado por un bucle de señalización intracelular que incluye ROS vinculadas a las respuestas al daño del ADN, NFκB (nuclear factor kappa B), TGF-β (*transforming growth factor beta*) y GATA4 (guanina adenina timina adenina), así como un bucle de IL-1α, IL-6 y la proteína de unión al potenciador CCAAT-β (C/EBP-β) (5).

El fenotipo senescente que adquieren estas células generalmente va acompañado de un aumento de la secreción de factores proinflamatorios: TGF-β, NFκB, IL-1α, IL-6, IL-8, quimiocinas que atraen y anclan células inmunitarias, y activan diferentes enzimas como las metaloproteasas. Otras características del fenotipo senescente incluyen la expresión nuclear de inhibidores del ciclo celular y supresores tumorales (p15, p16, p21, p53, Rb hipo-fosforilada), la ausencia de marcadores proliferativos como Ki67, la expresión de marcadores de daño al ADN, la presencia de focos nucleares de heterocromatina asociados a senescencia (SAHF) y la acumulación de lipofuscina (20). Como se ha dicho, las células senescentes regulan al alza varias vías antiapoptóticas de las células senescentes o SCAP: vía de la familia BCL-2/BCL-w/BCL-XL; vía PI3K (fosfatidilinositol-3-quinasa)/Akt; vía p53/p21/serpina; vía de las efrinas/receptores de dependencia/tiro-

sin-quinasa; vía HIF-1α (hipoxia inducible factor 1 alfa); vía HSP-90 (proteína de *shock* térmico de 90 kDa - Heat Shock Protein 90-) (21,22); pues necesitan resistir a la apoptosis para protegerse de su propio SASP proapoptótico. Estas vías constituyen un punto débil de las células senescentes y han allanado el camino para la identificación de la primera clase de fármacos capaces de bloquearlos (senolíticos), como se describe más adelante. También es importante remarcar que, aunque es muy característico, no todas las células senescentes desarrollan un SASP (10).

Identificar el estado senescente es útil no solo para localizar estas células, sino, más importante aún, para desarrollar terapias dirigidas, así como comprobar el efecto que las mismas tienen sobre las células senescentes o el SASP (Fig. 1). En sucesivas investigaciones se han descubierto características fenotípicas y biomarcadores moleculares de senescencia tanto en cultivo como en tejidos. Sin embargo, estos marcadores son inespecíficos y las células senescentes, heterogéneas entre sí. Por ello, el enfoque para la detección de células senescentes *in vivo* hoy en día es la combinación de múltiples métodos, que son recogidos en la tabla I (13). Queda por determinar cuáles serían los más eficientes de cara a una futura práctica clínica.

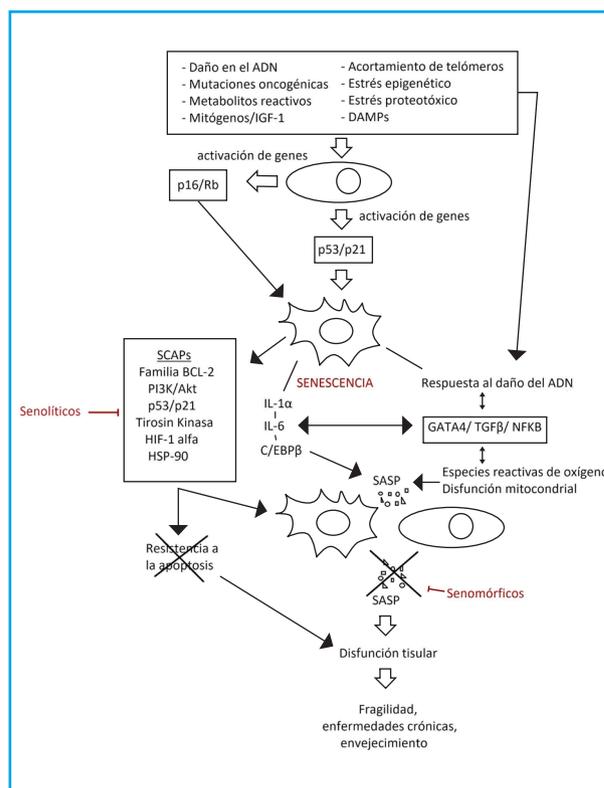


Figura 1. Inductores y mediadores de la senescencia, SCAP (vías antiapoptóticas de las células senescentes), SASP (fenotipo secretor asociado a senescencia) y dianas terapéuticas de los senoterápicos sobre las células senescentes. Modificada de: Farr JN, et al. Bone 2019 (13).

Tabla I. Señalización de la senescencia celular en diferentes niveles

Promotores de senescencia	Genes efectores de senescencia	p16 ^{Ink4a} , p21 ^{Cip1} , transgenes (<i>p16-LUC</i> , <i>INK-ATTAC</i> [EGFP, FLAG], 3MR [mRFP])
	Daños en el ADN	γH2AX, TAF (colocalización de daños en el ADN con secuencias de repetición telomérica), p53 fosforilado
	Detención del ciclo celular	p16 ^{Ink4a} , p21 ^{Cip1} , tasa de síntesis de ADN
Reguladores del proceso de senescencia	Biomarcadores del ambiente inflamatorio (SASP)	IL-6, IL-8, IL1-α, IL1-β, MCP-1, Pai-1, Pai-2, MMP, activina A, TNFα, TGFβ, NFκβ, CEBPβ, GATA4...
	Biomarcadores antiapoptosis	SCAP, Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w...
	Modulación autofagia	GDF 11 (factor de diferenciación del crecimiento 11)
Alteraciones histológicas	Disfunción lisosomal	Cantidad y actividad de la β-galactosidasa lisosomal a pH 6,0
	Acumulación mitocondrial	Mitotrazadores y forma (fusión/fisión)
	Alteraciones morfológicas	Agrandamiento, aplanamiento, granularidad, cariomegalia, heterocromatinización, falta de segregación cromosómica, CCF elevados
	Otros biomarcadores	Presencia de lipofuscina (tinción GL13); pérdida de HMGB1 y disminución de laminina B1

Bcl: B cell lymphoma; *CCFs*: fragmentos de cromatina citoplasmática; *CEBP*: CCAAT/enhancer-binding protein; *GATA*: guanina adenina timina adenina; *HMGB1*: high mobility group box 1; *H2AX*: histone family member X; *IL*: interleuquina; *MCP1*: monocyte chemoattractant protein-1; *MMP*: matrix metalloproteinase; *NFκB*: nuclear factor kappa B; *SASP*: fenotipo secretor asociado a senescencia; *SCAP*: vías antiapoptóticas de las células senescentes; *TNF*: tumor necrosis factor. Modificada de Farr JN, et al. (13,49,50).

Uno de los marcadores de senescencia más clásicos, que tradicionalmente se ha usado *in vitro* en tejidos esqueléticos como la piel o el tejido adiposo, es la actividad aumentada de la enzima β-galactosidasa lisosomal o actividad β-galactosidasa asociada a senescencia (SAβGal). La razón por la que este incremento de actividad se detecta en las células senescentes es consecuencia del elevado contenido lisosomal presente en las mismas (12).

ENFERMEDADES ASOCIADAS

Aunque las células senescentes pueden aparecer en cualquier momento de la vida, se sabe que se acumulan en estos tejidos a medida que aumenta la edad cronológica: tejido adiposo, pulmón, músculo esquelético, corazón, riñón, hueso (13,17,19). De hecho, el trasplante de pequeñas cantidades de células senescentes alrededor de la articulación de la rodilla en ratones jóvenes induce una condición similar a la osteoartritis (23). Otras patologías en las que se ha demostrado acumulación de células senescentes son: síndromes progeroides en niños, preeclampsia, degeneración macular asociada a la edad, cirrosis hepática, cáncer o espondilosis vertebral (4,10).

Asimismo, estudios recientes han demostrado que las células senescentes y el SASP poseen un papel protagónico en la mediación de patologías relacionadas con la edad: cáncer, osteoporosis, fragilidad, enfermedades cardiovasculares, osteoartritis, diabetes y obesidad, entre otras (3,6,16).

SENOLÍTICOS Y SENOMÓRFICOS

Dado el potencial que la eliminación de células senescentes o su secreción proinflamatoria posee para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la edad y sus consecuencias, la detección de células senescentes y el desarrollo de terapias dirigidas a ellas se han convertido en un importante objeto de investigación en el ámbito biomédico. Hasta la fecha, se trabaja fundamentalmente con dos categorías de fármacos, los que eliminan específicamente a las células senescentes o *senolíticos*, y los que suprimen su SASP sin inducir la muerte celular o *senomórficos*.

La primera prueba que apoyó la hipótesis de que el tratamiento de las células senescentes puede aliviar las enfermedades crónicas relacionadas con la edad provino de la creación de INK-ATTAC, un modelo de ratón transgénico en el que es posible identificar (mediante p16^{Ink4a}), aislar y eliminar selectivamente las células senescentes, por medio de la administración de una molécula activadora sintética: AP20187 (24). Se demostró que la eliminación de las células senescentes positivas para p16^{Ink4a} mejoró la esperanza de vida generando efectos beneficiosos en múltiples tejidos (25).

A pesar de lo prometedor de estas conclusiones, puesto que implica la inserción de un transgén, este enfoque genético no puede ser empleado en seres humanos (26). Se identificó entonces la primera clase de fármacos que acaban selectivamente con las células senescentes, los *senolíticos*, pequeñas moléculas que eliminan selectivamente a las células senescentes induciendo la muerte celular por apoptosis. Su modo de actuación es mediante la desactivación transitoria de

las SCAP que, como se ha comentado previamente, se encargan de proteger a las propias células senescentes de su SASP proapoptótico. Los primeros compuestos senolíticos que se describieron, primero in vitro y después in vivo, fueron el dasatinib (D) y la quercetina (Q), empleados en combinación (D+Q). Dasatinib es un inhibidor de las tirosin-kinasa y la quercetina es un flavonoide presente en frutas y verduras que inhibe el TNF α (tumor necrosis factor alpha) (21).

En modelos preclínicos, los senolíticos retrasan, previenen y/o alivian la fragilidad, el cáncer y los trastornos cardiovasculares, hepáticos, musculoesqueléticos y neurológicos. Los primeros ensayos sugieren que disminuyen las células senescentes, reducen la inflamación y alivian la fragilidad en seres humanos, y están en marcha numerosos ensayos clínicos en múltiples enfermedades para que pueda hacerse de manera segura su traslación a la práctica clínica para el tratamiento de las enfermedades degenerativas asociadas al envejecimiento (10,16).

Es importante matizar que, dada la importancia de las funciones benéficas que poseen las células senescentes, intervenir en los mecanismos por los que una célula se

convierte en senescente podría tener efectos perjudiciales, como aumentar el riesgo de cáncer (27-30). Así, el objetivo siempre es actuar sobre las células ya formadas, que acumulan daño y provocan disfunción tisular mediante su SASP proinflamatorio. A continuación, se exponen las características más importantes de cada grupo.

Las células senescentes, como ya se ha comentado, resisten a la apoptosis por medio de sus SCAP. El modo de actuar de los senolíticos es mediante la desactivación transitoria de las mismas, lo que desemboca en la muerte celular.

Si se clasifican en función de las vías antiapoptóticas por medio de las que actúan, representadas en la figura 2, podemos dividir a los agentes senolíticos en (16,22):

- Vía de la familia BCL-2/BCL-W/BCL-XL: Navitoclax, fisetina, A1331852, A1155463.
- Vía PI3K/Akt: quercitina, fisetina, piperlongumina.
- Vía p53/p21/serpina: quercitina, fisetina, péptido relacionado con FOXO4.
- Vía de las efrinas/receptores de dependencia/tirosin-kinasa: dasatinib (receptores de efrina), piperlongumina (receptores de andrógenos).

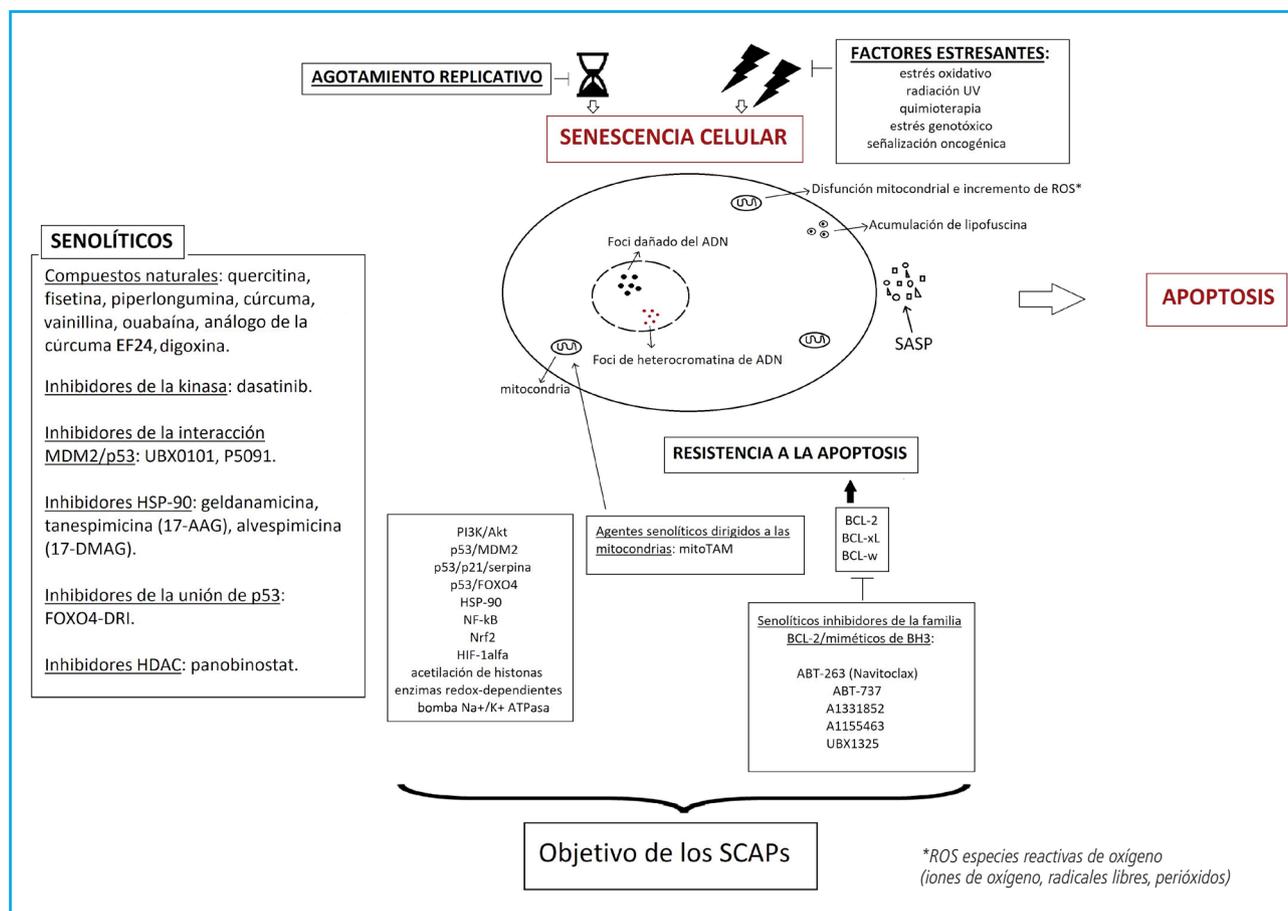


Figura 2. Principales vías contra las que se dirigen los agentes senolíticos. Incluyen la vía de la familia BCL-2, vía PI3K/Akt, vía p53/p21/serpina, vía de las efrinas/receptores de dependencia/tirosin-kinasa y vía HIF-1 α . Modificada de: Lagoumtzi, et al. Free Radic Biol Med 2021 (16).

- Vía HIF-1 α : quercitina, fisetina.
- Vía HSP-90: tanespimicina, alvespimicina (esta vía fue descubierta *a posteriori*) (31).

Recientemente, se ha descubierto que el mitoTAM (tamoxifeno dirigido a las mitocondrias) actúa como fármaco senolítico, y se postula que forme parte de un nuevo grupo de agentes dirigidos a las mitocondrias, que aún queda por esclarecer en su totalidad (16).

Entre la primera tanda de senolíticos descubiertos (10), mediante el enfoque que se ha explicado, se encuentran dasatinib, quercitina (21), fisetina (32,33), luteolina, curcumina, análogo de la curcumina EF24, Navitoclax (ABT263) (34,35), A1331852, A1155463, geldanamicina, tanespimicina, alvespimicina, piperlongumina (36), péptido relacionado con FOXO4 (37), nutlin3a, ouabaina y proscillaridina. Algunos de ellos son compuestos naturales, otros, pequeñas moléculas sintéticas (22).

En la actualidad, los métodos para identificar fármacos senolíticos son, entre otros, los cribados aleatorios de bibliotecas de fármacos, el uso de nanotecnología o los inmunomoduladores (10).

Desde el punto de vista de encontrar fármacos lo más específicos posibles, es interesante que las vías por las que actúen sean múltiples, lo cual reduce las posibilidades de encontrar efectos fuera de objetivo. Un caso concreto que ilustra esta problemática es el del Navitoclax (34,35), que actúa sobre un rango restringido de células senescentes, pero que tiene efectos apoptóticos en células no senescentes. Por tanto, su uso clínico está limitado al provocar como efectos secundarios trombocitopenia y neutropenia grave (30).

Las SCAP necesarias para sobrevivir a la apoptosis difieren de unas células senescentes a otras, lo cual complica que exista un solo senolítico que sea eficaz contra todas ellas (4,22,30).

Los senolíticos pueden actuar de forma sinérgica (4,22), como les ocurre a D+Q, lo cual abre la posibilidad de que haciendo combinaciones de diferentes moléculas se logre ampliar su espectro de actuación, como ocurre con los antibióticos.

Dado que las células senescentes tardan en volver a acumularse en un tejido y en adquirir un SASP, administrar los fármacos senolíticos de manera intermitente podría ser suficiente para lograr objetivos terapéuticos, minimizando así los efectos secundarios, el riesgo de efectos más allá del lugar donde se pretende actuar y permitiendo que puedan administrarse en periodos de buena salud (21). Además, como las células senescentes no se dividen, es poco probable que estos fármacos generen resistencias. En cuanto a la dosificación, seguramente dependa de la circunstancia que produzca la senescencia, que determinará una tasa de acumulación específica para cada proceso (4,22,38).

Previamente a los ensayos clínicos en humanos para demostrar si un fármaco senolítico realmente lo es, conviene asegurarse de que los efectos que produce se deben a su acción y no a efectos fuera de objetivo. Para

ello, existen unos postulados de Koch modificados (4) que se cumplen en ratones tratados con D+Q en varias enfermedades y parece que también para fisetina, existiendo más dudas respecto a Navitoclax (10).

Como se ha mencionado con anterioridad, para el tratamiento de la senescencia existe otra categoría de fármacos denominada *senomórficos* o *senomoduladores* que son pequeñas moléculas que actúan indirectamente sobre las células senescentes mediante la inhibición de su SASP inflamatorio.

Algunos de estos agentes son: resveratrol, apigenina, kaempferol, metformina, glucocorticoides, rapamicina, everolimus, ruxolitinib o EGCG (galato de epigallocatequina). Entre ellos los hay que son compuestos naturales y otros que constituyen fármacos aprobados por las agencias reguladoras para indicaciones específicas, aunque queda por determinar si la dosificación sería similar. Además, hay moléculas identificadas como potenciales senomórficos como la lorapamida (4,16).

Las dianas de estos fármacos son las vías por las que el SASP se expresa o actúa (Fig. 3). Las más importantes, junto con los más destacados agentes que actúan sobre ellas, son (16):

- Vía de inhibición de NF κ B: resveratrol, apigenina, kaempferol, metformina, glucocorticoides.
- Vía de inhibición de mTOR: rapamicina, everolimus.
- Vía JAK (janus kinase)/STAT (inhibición de JAK): ruxolitinib.
- Anticuerpos contra la actividad y función de mediadores específicos del SASP como IL-6 o IL-8.

SENESCENCIA EN EL HUESO

El papel de la senescencia en la pérdida ósea con la edad es un tema que ha sido recientemente objeto de numerosas investigaciones. Con el envejecimiento, la remodelación ósea se altera y da lugar a una pérdida del balance entre la cantidad de hueso nuevo que se forma y la que se resorbe, generando un balance negativo que, mantenido en el tiempo, provoca la osteoporosis.

El envejecimiento se manifiesta en el hueso como una disminución del propio tejido óseo y un aumento de la grasa medular. No se sabe a ciencia cierta si la grasa de la médula tiene un efecto negativo directo sobre la formación ósea, aunque es probable porque las células madre mesenquimales (MSC) son precursoras tanto de los adipocitos medulares como de los osteoblastos, lo que sugiere que podría existir un viraje hacia el linaje adipogénico que junto a las adipocinas fuesen causantes de la situación que se expone.

Si bien los procesos que causan estos cambios con el envejecimiento no se conocen con precisión, se ha planteado la hipótesis de que son los mecanismos básicos del envejecimiento, que se han comentado, los responsables de la disfunción ósea relacionada con la edad, entre ellos, la senescencia (13).

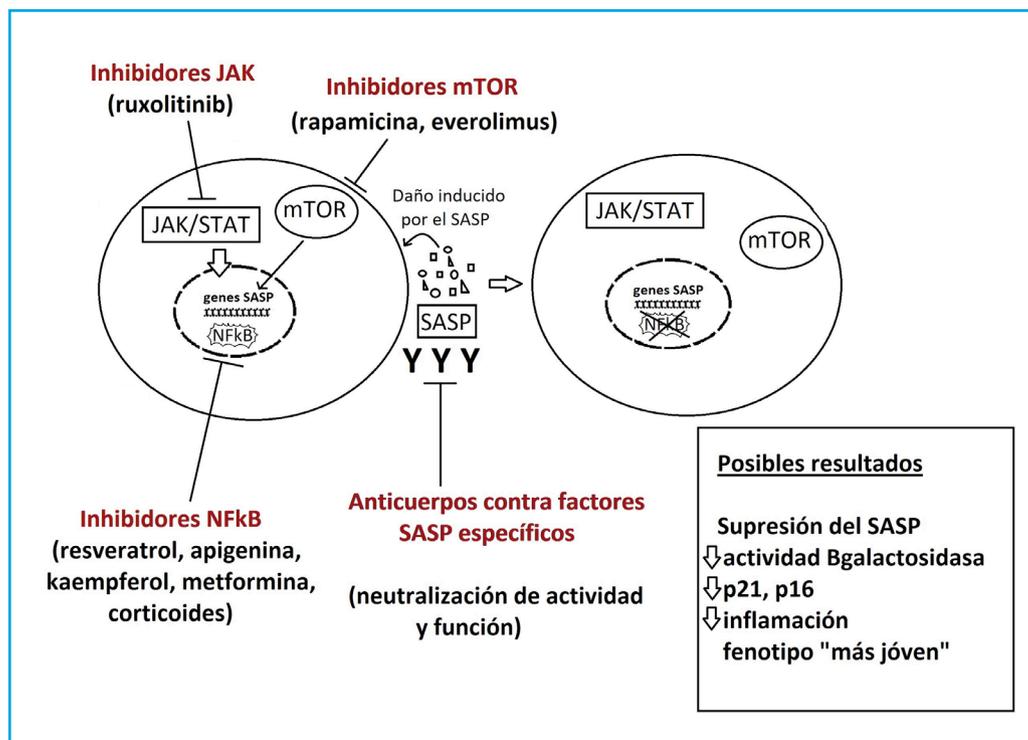


Figura 3. Principales vías contra las que se dirigen los agentes senomórficos. Incluyen la vía de inhibición de NFκB, vía de inhibición de mTOR, vía JAK/STAT, y anticuerpos contra la actividad y función de mediadores específicos del SASP (fenotipo secretor asociado a senescencia). La quinasa mTOR es clave en el metabolismo celular que es la llave del catabolismo y el anabolismo celular, determina si las células (y en particular las cancerígenas) deben crecer y proliferar. Además, mTOR tiene efectos en la regulación de la apoptosis. NFκB es ampliamente utilizado por las células eucariotas como regulador de los genes que controlan la proliferación y la supervivencia celulares. La vía de señalización JAK/STAT está involucrada en procesos como la inmunidad, la división celular, la muerte celular y la formación de tumores. Modificada de: Lagoumtzi, et al. Free Radic Biol Med 2021 (16).

Durante años, no se había demostrado que las células senescentes se acumularan en hueso con el envejecimiento, como ocurría en otros tejidos. Tampoco se sabía qué células del microambiente óseo se vuelven senescentes al aumentar la edad ni si estas eran capaces de generar SASP (4). En el primer estudio que abordó estas cuestiones (39), se midieron *in vivo* los marcadores de senescencia y SASP en ratones jóvenes (machos y hembras) frente a ratones viejos, en poblaciones altamente enriquecidas de varios linajes celulares. Así se descubrió que la expresión de p16^{Ink4a} aumentaba de forma consistente con el envejecimiento en células B, células T, células mieloides, osteoprogenitores, osteoblastos y osteocitos. Además, se vio que los niveles de p21^{Cip1} aumentaban con el envejecimiento en las células aisladas de los machos enriquecidas con osteocitos (mientras que en las hembras no se observó ningún cambio en este sentido). Estos hallazgos en ratones se validaron en humanos mediante la obtención de biopsias óseas de mujeres ancianas y jóvenes; se descubrió un aumento tanto de p16^{Ink4a} como de p21^{Cip1} con la edad. Por último, se demostró que el

SASP es producido sobre todo por osteoprogenitores senescentes, células mieloides senescentes y osteocitos senescentes.

Aunque existen aún importantes lagunas de conocimiento y muchas preguntas que resolver, la senescencia celular parece ser una característica global del envejecimiento natural en el hueso, como en el resto del organismo. Esto abre la posibilidad de que tratándola específicamente pueda disminuirse el impacto de una enfermedad como la osteoporosis.

Para determinar si la senescencia celular desempeña un papel en la pérdida ósea relacionada con la edad, se emplearon tres estrategias: una genética, una farmacológica para eliminar las células senescentes (INKATTAC o senolíticos, D+Q), y un senomórfico (con un inhibidor de JAK, ruxolitinib) (40) para inhibir el SASP (26). Las tres intervenciones demostraron prevenir la pérdida ósea en ratones viejos y, además, ninguna tuvo efectos en los parámetros óseos de ratones jóvenes, es decir, son específicas para el envejecimiento (25).

En definitiva, los estudios al respecto de la senescencia en hueso demuestran que, con el envejecimiento, las células del microambiente óseo (al menos un subconjunto de la mayoría de sus tipos) se vuelven senescentes y desarrollan un SASP heterogéneo. Además, establecen que las células senescentes tienen un papel causal en la pérdida ósea relacionada con la edad, que puede aliviarse en ratones viejos reduciendo la carga genética o farmacológicamente con la primera clase de senolíticos, o con un senomórfico. Esto podría constituir una nueva estrategia para tratar o prevenir la osteoporosis, con ventajas potenciales sobre la terapia convencional (25,26).

Los bisfosfonatos son fármacos empleados habitualmente en la práctica clínica para el tratamiento de la osteoporosis. Uno de ellos, el ácido zoledrónico, podría ser en sí mismo un senoterápico. En experimentación animal se ha descrito que el zoledrónico alarga la supervivencia celular y retrasa la senescencia de las células madre mesenquimales, mejora la reparación del ADN por inhibición del mevalonato y la vía mTOR, mejora la displasia del epitelio intestinal y previene mutaciones inducidas por radiación (41). En el año 2007, se observó un efecto en la reducción de la mortalidad independiente del efecto en la incidencia de fracturas (42); a partir de entonces, ensayos clínicos, metaanálisis y estudios observacionales diseñados específicamente para medir esta relación, apuntan a que los bisfosfonatos (y en particular los nitrogenados, de los que forma parte el zoledrónico) tienen un beneficio sobre la supervivencia en pacientes osteoporóticos/osteopénicos, pero también en enfermos previamente expuestos y que son atendidos por diversas circunstancias en cuidados intensivos, con cáncer o patología cardíaca (43). Recientemente, en mujeres en la séptima década con osteopenia, la administración de 5 mg de zoledrónico IV cada 18 meses demostró una evidente tendencia en disminución de mortalidad, incidencia de cáncer y eventos cardiovasculares (44), que podría corresponderse a un efecto sistémico senoterápico.

De hecho, en un artículo de revisión sobre efectos de los bisfosfonatos y la esperanza de vida, aparecen estudios en los que los bisfosfonatos muestran un efecto protector con hazard ratios entre 0,56 y 0,94 (43).

A pesar de que hacen falta más estudios que confirmen estos efectos, los resultados obtenidos hasta ahora son tremendamente prometedores en el sentido de que fármacos que ya se usan y son útiles en el tratamiento de una enfermedad tan prevalente como la osteoporosis, como es el zoledrónico, puedan tener beneficios adicionales asimilables a los descritos. Además, conocer esta asociación del zoledrónico con el aumento de la supervivencia abre la puerta a investigar el comportamiento de los señalizadores de células senescentes en pacientes que vayan a recibir tratamiento con zoledrónico y pacientes de otros grupos terapéuticos, para encontrar así marcadores subrogados de supervivencia que simplificarían futuros estudios en este campo.

CONCLUSIONES

La senescencia celular es una entidad involucrada en el envejecimiento y en las enfermedades crónicas que de él se derivan (incluida la osteoporosis). Su mecanismo es complejo y ambivalente: si bien es beneficiosa en determinados contextos, sobre todo en tejidos jóvenes; es perjudicial por acumulación y por su fenotipo secretor en otros, provocando o empeorando la disfunción tisular.

Con el objetivo de paliar su responsabilidad en la génesis de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, se investigan terapias dirigidas a las células senescentes o a su SASP. Un estudio más exhaustivo de los marcadores de senescencia permitiría comprobar el efecto de algunos fármacos ya utilizados clínicamente con otras indicaciones y con menor riesgo que fármacos noveles.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer el apoyo del Instituto de Salud Carlos III RICORS2040, Enfermedad Renal), Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y Plan de Ciencia, Tecnología e Innovación 2013-2017 y 2018-2022 del Principado de Asturias (IDI-2021-000080).

BIBLIOGRAFÍA

1. Seals DR, Justice JN, LaRocca TJ. Physiological geroscience: targeting function to increase healthspan and achieve optimal longevity. *J Physiol* 2016;594(8):2001-2024. DOI: 10.1111/jphysiol.2014.282665
2. United Nations. Envejecimiento [Internet]. Naciones Unidas. 2019 [citado 20 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.un.org/es/global-issues/ageing>
3. Song S, Lam EW, Tchkonina T, Kirkland JL, Sun Y. Senescent Cells: Emerging Targets for Human Aging and Age-Related Diseases. *Trends Biochem Sci* 2020;45(7):578-92. DOI: 10.1016/j.tibs.2020.03.008
4. Khosla S, Farr JN, Tchkonina T, Kirkland JL. The role of cellular senescence in ageing and endocrine disease. *Nat Rev Endocrinol* 2020;16(5):263-75. DOI: 10.1038/s41574-020-0335-y
5. Tchkonina T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 2013;123(3):966-72. DOI: 10.1172/JCI64098
6. Kaur J, Farr JN. Cellular senescence in age-related disorders. *Transl Res* 2020;226:96104. DOI: 10.1016/j.trsl.2020.06.007
7. Kirkland JL, Stout MB, Sierra F. Resilience in Aging Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2016;71(11):1407-14. DOI: 10.1093/gerona/glw086
8. Kennedy BK, Berger SL, Brunet A, Campisi J, Cuervo AM, Epel ES, et al. Geroscience: linking aging to chronic disease. *Cell* 2014;159(4):709-13. DOI: 10.1016/j.cell.2014.10.039

9. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell* 2013;153(6):1194-217. DOI: 10.1016/j.cell.2013.05.039
10. Kirkland JL, Tchkonja T. Senolytic drugs: from discovery to translation. *J Intern Med* 2020;288(5):518-36. DOI: 10.1111/joim.13141
11. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961;25:585-621. DOI: 10.1016/0014-4827(61)90192-6
12. Galiana Guillem I, Martínez Máñez R (dir), Orzáez Calatayud M (dir). Desarrollo de nuevos nanodispositivos terapéuticos aplicados al tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos de senescencia [tesis doctoral en Internet]. [Valencia]: Universitat Politècnica de València; 2020 [citado 15 marzo de 2022]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10251/151950>
13. Farr JN, Khosla S. Cellular senescence in bone. *Bone* 2019;121:121-33. DOI: 10.1016/j.bone.2019.01.015
14. Hernandez-Segura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends Cell Biol* 2018;28(6):436-53. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.02.001
15. Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, Rodier F, Toussaint W, Mitchell JR, et al. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Dev Cell* 2014;31(6):722-33. DOI: 10.1016/j.devcel.2014.11.012
16. Lagoumtzi SM, Chondrogianni N. Senolytics and senomorphics: Natural and synthetic therapeutics in the treatment of aging and chronic diseases. *Free Radic Biol Med* 2021;171:169-90. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.003
17. Tchkonja T, Palmer AK, Kirkland JL. New Horizons: Novel Approaches to Enhance Healthspan Through Targeting Cellular Senescence and Related Aging Mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106(3):e1481-e1487. DOI: 10.1210/clinem/dgaa728
18. DeVito LM, Barzilai N, Cuervo AM, Niedernhofer LJ, Milman S, Levine M, et al. Extending human healthspan and longevity: a symposium report. *Ann N Y Acad Sci* 2022;1507(1):70-83. DOI: 10.1111/nyas.14681
19. Kirkland JL, Tchkonja T. Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine* 2017;21:21-8. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.04.013
20. Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, et al. Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell* 2019;179(4):813-27. DOI: 10.1016/j.cell.2019.10.005
21. Zhu Y, Tchkonja 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. DOI: 10.1111/accel.12344
22. Kirkland JL, Tchkonja T, Zhu Y, Niedernhofer LJ, Robbins PD. The Clinical Potential of Senolytic Drugs. *J Am Geriatr Soc* 2017;65(10):2297-301. DOI: 10.1111/jgs.14969
23. Xu M, Bradley EW, Weivoda MM, Hwang SM, Pirtskhalava T, Decklever T, et al. Transplanted Senescent Cells Induce an Osteoarthritis-Like Condition in Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2017;72(6):780-5.
24. Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, et al. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 2011;479(7372):232-6. DOI: 10.1038/nature10600
25. Khosla S, Farr JN, Kirkland JL. Inhibiting Cellular Senescence: A New Therapeutic Paradigm for Age-Related Osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2018;103(4):12821290. DOI: 10.1210/jc.2017-02694
26. Farr JN, Xu M, Weivoda MM, Monroe DG, Fraser DG, Onken JL, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nat Med* 2017;23(9):1072-9. DOI: 10.1038/nm.4385
27. Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yoshimoto S, Tajima T, Yamakoshi K, et al. Intrinsic cooperation between p16Ink4a and p21Waf1/Cip1 in the onset of cellular senescence and tumor suppression in vivo. *Cancer Res* 2010;70(22):9381-90. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0801
28. Larsen CJ. PRB, p53, p16Ink4a/ARF, sénescence cellulaire et transformation maligne [pRB, p53, p16Ink4a, senescence and malignant transformation]. *Bull Cancer* 2004;91(5):399-402. French.
29. Faget DV, Ren Q, Stewart SA. Unmasking senescence: context-dependent effects of SASP in cancer. *Nat Rev Cancer* 2019;19(8):439-53. DOI: 10.1038/s41568-019-0156-2
30. Kang C. Senolytics and Senostatics: A Two-Pronged Approach to Target Cellular Senescence for Delaying Aging and Age-Related Diseases. *Mol Cells* 2019;42(12):821827.
31. Fuhrmann-Stroissnigg H, Ling YY, Zhao J, McGowan SJ, Zhu Y, Brooks RW, et al. Identification of HSP90 inhibitors as a novel class of senolytics. *Nat Commun* 2017;8(1):422. DOI: 10.1038/s41467-017-00314-z
32. Zhu Y, Dornebal 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 (Albany NY)* 2017;9(3):955-63. DOI: 10.18632/aging.101202
33. Yousefzadeh MJ, Zhu Y, McGowan SJ, Angelini L, Fuhrmann-Stroissnigg H, Xu M, et al. Fisetin is a serotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine* 2018;36:18-28. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.09.015
34. Zhu Y, Tchkonja T, Fuhrmann-Stroissnigg H, Dai HM, Ling YY, Stout MB, et al. Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of antiapoptotic factors. *Aging Cell* 2016;15(3):428-35. DOI: 10.1111/accel.12445
35. Chang J, Wang Y, Shao L, Laberge RM, Demaria M, Campisi J, et al. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 2016;22(1):78-83. DOI: 10.1038/nm.4010
36. Wang Y, Chang J, Liu X, Zhang X, Zhang S, Zhang X, et al. Discovery of piperlongumine as a potential novel lead for the development of senolytic agents. *Aging (Albany NY)* 2016;8(11):2915-26. DOI: 10.18632/aging.101100
37. Baar MP, Brandt R, Putavet DA, Klein J, Derks K, Bourgeois B, et al. Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging. *Cell* 2017;169(1):132-147.e16. DOI: 10.1016/j.cell.2017.02.031
38. Palmer AK, Gustafson B, Kirkland JL, Smith U. Cellular senescence: at the nexus between ageing and diabetes. *Diabetología* 2019;62(10):1835-41. DOI: 10.1007/s00125-019-4934-x
39. Farr JN, Fraser DG, Wang H, Jaehn K, Ogrodnik MB, Weivoda MM, et al. Identification of Senescent Cells in the Bone Microenvironment. *J Bone Miner Res* 2016;31(11):19201929. DOI: 10.1002/jbmr.2892
40. Xu M, Tchkonja 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. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A 2015;112(46):E6301-E6310. DOI: 10.1073/pnas.1515386112
41. Misra J, Mohanty ST, Madan S, Fernandes JA, Hal Ebetino F, Russell RG, et al. Zoledronate Attenuates Accumulation of DNA Damage in Mesenchymal Stem Cells and Protects Their Function. *Stem Cells* 2016;34(3):756-67. DOI: 10.1002/stem.2255
 42. Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, Mautalen C, et al; HORIZON Recurrent Fracture Trial. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med* 2007;357(18):1799-809. DOI: 10.1056/NEJMoa074941
 43. Center JR, Lyles KW, Bliuc D. Bisphosphonates, and lifespan. *Bone* 2020;141:115566. DOI: 10.1016/j.bone.2020.115566
 44. Reid IR, Horne AM, Milhov B, Stewart A, Garratt E, Bastin S, et al. Effects of Zoledronate on Cancer, Cardiac Events, and Mortality in Osteopenic Older Women. *J Bone Miner Res* 2020;35(1):20-7. DOI: 10.1002/jbmr.3860
 45. Marie PJ. Bone cell senescence: mechanisms and perspectives. *J Bone Miner Res* 2014;29(6):1311-21. DOI: 10.1002/jbmr.2190
 46. Marie PJ, Cohen-Solal M. The Expanding Life and Functions of Osteogenic Cells: From Simple Bone-Making Cells to Multifunctional Cells and Beyond. *J Bone Miner Res* 2018;33(2):199-210. DOI: 10.1002/jbmr.3356
 47. Reid IR, Horne AM, Mihov B, Stewart A, Garratt E, Wong S, et al. Fracture Prevention with Zoledronate in Older Women with Osteopenia. *N Engl J Med* 2018;379(25):2407-2416. DOI: 10.1056/NEJMoa1808082
 48. Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, Weigand BM, Palmer AK, Weivoda MM, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med* 2018;24(8):1246-1256. DOI: 10.1038/s41591-018-0092-9
 49. González-Gualda E, Baker A G, Fruk L, Muñoz-Espín D. A guide to assessing cellular senescence in vitro and in vivo. *FEBS J* 2021;288(2):56-80. DOI: 10.1111/febs.15570
 50. Sun J, Li Y, Yang X, Dong W, Yang J, Hu Q, et al. Growth differentiation factor 11 accelerates liver senescence through the inhibition of autophagy. *Aging Cell* 2022;21:e13532. DOI: 10.1111/acel.13532