

CELIČNA SENESENCA: NOVA TERAPEVTSKA TARČA PRI ZDRAVLJENJU S STAROSTJO POVEZANIH BOLEZNI

CELL SENESCENCE: A NEW THERAPEUTIC TARGET FOR THE TREATMENT OF AGE- RELATED DISEASES

AVTORJI / AUTHORS:

Eva Prašnikar, mag. farm.

dr. Jure Borišek, mag. farm.

izr. prof. dr. Andrej Perdih, mag. farm.

Kemijski inštitut, Hajdrihova 19, 1001 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: andrej.perdih@ki.si

POVZETEK

Staranje predstavlja ključni dejavnik tveganja za razvoj večine kroničnih bolezni. Slednje pogosto zahtevajo nepreklenjeno farmakološko zdravljenje, negativno vplivajo na kakovost življenja posameznika ter predstavljajo širši izviv sodobne družbe, še posebej kot znatno breme za zdravstveni sistem. Trenutno potekajo intenzivne raziskave na področju staranja, ki bi v prihodnosti lahko omogočile razvoj novih terapevtskih pristopov. Slednji ciljajo na biokemijske poti, udeležene v procesu staranja. Na ta način bi lahko bolj vzročno zdravili več s starostjo povezanih kroničnih bolezni. Eden izmed pomembnih pojavov v procesu staranja je celična senescenca, ki ima pomembno vlogo pri številnih s starostjo povezanih boleznih in posledično predstavlja perspektivno tarčo. Prve obetavne spojine, ki ciljajo na senescentne celice, so tudi že vstopile v klinična preskušanja. V prispevku predstavljamo različne poti nastanka senescence, obravnavamo nekaj ključnih lastnosti senescentnih celic ter opišemo trenutno poznane pristope njihove detekcije in modulacije v terapevtske namene.

KLJUČNE BESEDE:

označevalci, senescentne celice, senolitiki, senomorfiki, staranje

ABSTRACT

Aging is a key risk factor for the development of most chronic diseases. The latter frequently require continuous pharmacological interventions, which affect the individual's quality of life and pose a major challenge for modern society, as a significant burden on its health system. Currently, intensive research is conducted in the field of aging, which could eventually enable the development of novel therapeutic approaches targeting the biochemical pathways involved in this process, resulting in a more causal treatment of the age-related chronic diseases. Among the hallmarks of aging, cellular senescence plays a significant role in the development of many age-related diseases, and it thus represents a promising target. The first promising compounds targeting these cells have already entered clinical trials. Here, we present the mechanisms leading to senescence, outline some of the key properties of senescent cells, and



describe current approaches of their detection and targeting for therapeutic purposes.

KEY WORDS:

aging, biomarkers, senolytics, senomorphics, senescent cells

1 STARANJE

Zaradi daljše življenjske dobe, kot posledice višje stopnje preživetja v zgodnjih letih, ter sočasnega upada rodnosti se delež ostarelega prebivalstva nenehno povečuje. Poleg tega demografski kohort prebivalstva, znan kot »baby boomerji«, ki zajema posamezni, rojene med letoma 1946 in 1964, počasi doseg obdobje starosti. Slednje napoveduje velik svetovni demografski premik, imenovan tudi »srebrni cunami (silver tsunami)«, ki bo prinesel mnoge izzive na številnih socialnih in ekonomskeh področjih, vključno z zdravstvom. S staranjem

se namreč veča dovzetnost za s starostjo povezane bolezni. Nekatere najpomembnejše so srčno-žilne bolezni, možganska kap, kronične pljučne bolezni, rak, diabetes, osteoartroza ter demanca. S starostjo se poveča tudi tveganje za multimorbidnost – tj. sočasno prisotnost več bolezenskih stanj (1). Staranje definiramo kot proces časovno odvisnega upadanja funkcionalnega delovanja organizma, ki vodi do večje raljivosti in na koncu smrti. Odvija se hitro (npr. pri kavovkah, ogorčici, sadni mušici), postopno (npr. pri miših in človeku), lahko pa poteka tudi zelo počasi (npr. pri kamniti ribi, želvi, bristlekonskem boru) (2). Tako je staranje kompleksen večdimenzionalen proces, katerega celoten potek še slabo razumemo in je zelo odvisen od posamezne vrste organizma. Vedno več raziskav se ukvarja z mehanističnim razumevanjem staranja in raziskovalci so definirali nekatere splošne značilnosti staranja, ki so med seboj povezane in značilne za večino organizmov, predvsem pa za sesalce, torej tudi človeka. Te so: genomska nestabilnost, krajšanje telomer, epigenetske spremembe, izguba proteostaze, deregulirano zaznavanje hrani, mitohondrijska disfunkcija, celična senescenca, izčrpanost matičnih celic ter spremenjena medcelična komunikacija (slika 1) (3, 4).



Slika 1: Shematski prikaz splošnih značilnosti staranja (prirejeno po (3)).

Figure 1: Schematic representation of the hallmarks of aging (adapted from (3)).

S trenutno uveljavljenimi terapijami se prvenstveno osredotočamo na zdravljenje posamezne bolezni. Zdravilne učinkovine praviloma blažijo simptome ali pa se ukvarjajo z odpravljanjem posledic teh bolezni. V mnogih primerih žal to le malo prispeva k izboljšanju celotnega zdravstvenega stanja, saj so v poznejših letih življenja navadno prisotne še številne druge zdravstvene težave in komorbidnosti. Proces staranja tako predstavlja gonilo zdravstvenih težav v poznejšem življenjskem obdobju, zato predstavlja pomembno tarčo za zdravila prihodnosti. Poleg tega so raziskave pokazale, da je daljša življenjska doba povezana tudi z daljšim obdobjem odsotnosti s starostjo povezanih bolezni (5). To mlado področje raziskav se je začelo intenzivneje razvijati v novem tisočletju. Želja, da bi z mehanističnim poznavanjem procesov staranja omogočili tudi učinkovitejše zdravljenje, predstavlja eno izmed velikih raziskovalnih prioritet in izzivov 21. stoletja.

2 CELIČNA SENESCIENCA

2.1 OPREDELITEV

Celična senescenca je eden splošnih znakov staranja. Gre za stanje trajne ustavitev celičnega cikla, ki sta ga Hayflick in Moorhead prvič opisala že leta 1961 na kulturi človeških fibroblastnih celic (6). Senescentne celice se ustavijo v fazi celičnega cikla G1 (ali tudi v fazi G2) kot odgovor na krašanje telomer, genotoksični stres ter prekomerno izražanje ali inaktivacijo nekaterih genov, kot sta npr. gena *RAS* in *PTEN*. Senescenca je vključena tudi v fiziološke procese, kot so celjenje ran, fibroza, preoblikovanje tkiv in embrionalni razvoj, in ima tako pomembno vlogo za organizem. Senescentne celice so podvržene številnim spremembam, ki so odvisne od vrste celice in stresnega dejavnika. S pomočjo komponent imunskega sistema omogočajo tudi lastno odstranjevanje, vendar se s starostjo začnejo kopičiti (1, 7). Senescentne celice so opredelili kot vzročni dejavnik pri staranju sesalcev, saj njihova odstranitev upočasni staranje pri miših (8–10). Ena izmed njihovih ključnih lastnosti je s senescenco povezan sekretorni fenotip (*senescence-associated secretory phenotype*, SASP), ki ga sestavlja več dejavnikov, vključno s kemokini, citokini, rastnimi dejavniki in proteazami, in ga bomo natančneje opisali v nadaljevanju. Posledično so tesno povezane z vnetjem, ki prav tako predstavlja pomembno značilnost staranja (11).

Kopičenje senescentnih celic je povezano tudi z razvojem s starostjo povezanih bolezni, predvsem z aterosklerozo, osteoartrozo, osteoporozo, nevrodgeneracijo, rakom, kronično ledvično boleznijo, sladkorno boleznijo tipa ena in tipa dva. Prav tako imajo te celice domnevno vlogo pri AIDS-u, idiopatski pljučni fibrozi, jetrni steatozi in benigni hiperplaziji prostate (1). Kot zanimivost omenimo še, da so med pandemijo covid-19 raziskave nakazale, da SARS-CoV-2 prednostno cilja senescentne celice v pljučih, ki prekomerno izražajo dve predlagani tarči – dipeptidil peptidazo 4 (DPP4, znana tudi kot CD26) in angiotenzin konvertatzo 2 (ACE-2) (12).

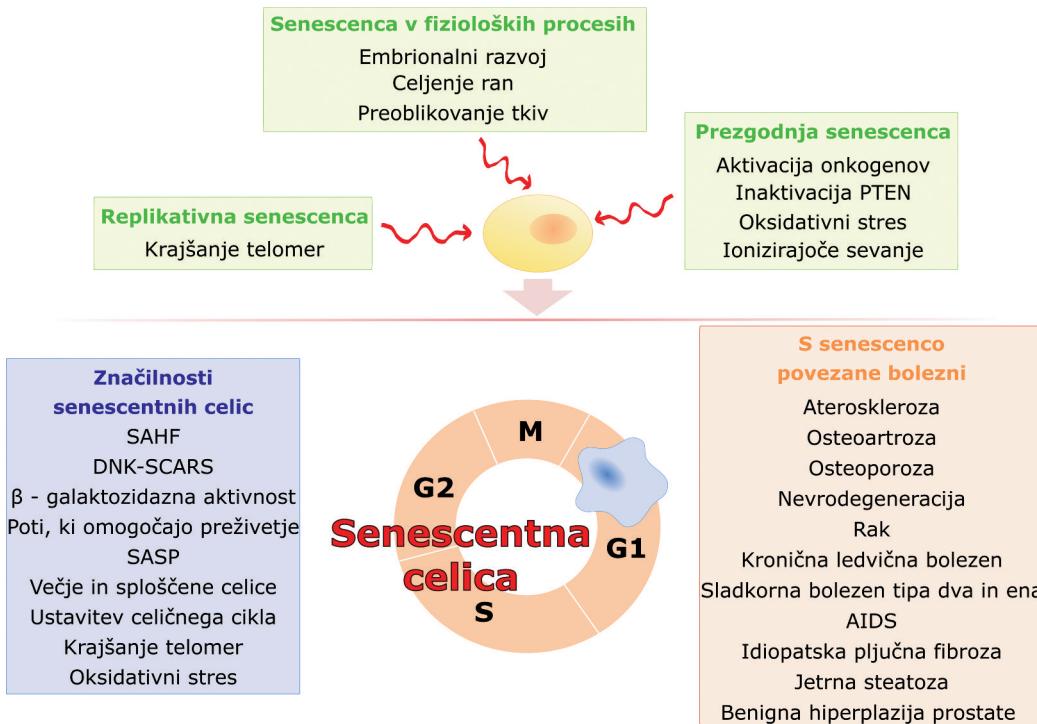
2.2 MEHANIZMI NASTANKA SENESCENTNIH CELIC

V splošnem poznamo tri mehanizme, ki vodijo do senescentnih celic (slika 2). Senescenco, ki omogoča pravilen potek nekaterih fizioloških procesov, kot so celjenje ran (13), preoblikovanje tkiv in embrionalni razvoj (14), imenujemo senescenca v fizioloških procesih. Preostala mehanizma povzročajo različni stresorji. Replikativna senescenca se pojavlja zaradi progresivnega krašanja telomer (15), prezgodnja senescenca (1) pa nastane kot celični odziv na dražljaje, ki povzročajo nepopravljive poškodbe (npr. oksidativni stres, ionizirajoče sevanje, nekatere terapije) ali prekomerno/pomanjkljivo izražanje/aktivnost nekaterih genov (16).

2.2.1 Replikativna in prezgodnja senescenca

Replikativna senescenca je povezana s podvajanjem molekule DNA. Telomere so ponovljive sekvene nukleotidov TTAGGG na koncih kromosomov, ki ščitijo genetsko informacijo. Ker po vsaki celični delitvi pride do skrajšanja nepodvojene DNA, so telomere krajše v hitro delečih se tkivih, kot so adipociti, levkociti in fibroblasti (17).

Običajno po približno 50 celičnih delitvah (6) krašanje telomer prepoznamo kot poškodbo DNA, ki izzove specifičen odziv, imenovan tudi DDR (*DNA damage response*) (18). Domnevamo, da poškodba DNA najprej aktivira kinazi ATM (*ataxia-telangiectasia mutated*) in ATR (*ataxia-telangiectasia and Rad3-related protein*), ki nato aktivirata širok spekter beljakovin, vključno s kinazo kontrolne točke 2 (Chk2). Slednja posreduje signalizacijo poškodbe DNA različnim dejavnikom, ki sodelujejo pri zaustavljanju celičnega cikla, apoptozi in popravljanju DNA. Ti vključujejo fosforilacijo ter posledično stabilizacijo in aktivacijo proteina p53, kar vodi do transkripcije proteina p21. Slednji inhibira od ciklina odvisno kinazo 2 (CDK2) in tako prepreči fosforilacijo proteina retinoblastoma



Slika 2: Celično senescenco, udeleženo v mnogih bolezenskih stanjih, izzovejo različni dejavniki in jo razdelimo na replikativno in prezgodnjino senescenco ter senescenco, udeleženo v fizioloških procesih. Glede na tip celice in induktor imajo senescentne celice različne značilnosti.

Figure 2: Cellular senescence, involved in many disease states, is triggered by various factors, and is divided into replicative and premature senescence and senescence involved in physiological processes. Depending on the cell type and inductor, senescent cells possess different characteristics.

(Rb). Prepisovanje beljakovin, potrebnih za napredovanje celičnega cikla v naslednjo stopnjo (faza S), je zato ustavljeno, kar vodi v zaustavitev celičnega cikla v fazi G1 (1, 19, 20). Prezgodnja senescenca predstavlja široko in raznoliko skupino tvorbe senescentnih celic, katerih mehanizmi nastanka so še vedno slabo opredeljeni. Navadno je povezana z različnimi stresorji, ki senescenco sprožijo preko od DDR odvisnih ali neodvisnih poti. Dejavniki, ki so se v dosedanjih raziskavah izkazali za pomembne, vključujejo protein p19^{Arf} (protein iz lokusa CDKN2a, ARF) ali p16^{Ink4a}, prekomerno izražanje dejavnika transkripcije faze S E2F3 in prekomerno izražanje ali znižanje izražanja nekaterih genov (npr. RAS, BRAF, MYC, PTEN) (19).

2.3 URAVNAVANJE KOLIČINE SENESCENTNIH CELIC S POMOČJO IMUNSKEGA SISTEMA

V uravnavanje količine senescentnih celic je udeležen tudi imunski sistem. Le-ta jih odstrani s trenutno še slabo ra-

zumljenim procesom, ki vključuje prirojen in pridobljen imunski odziv. Pri odstranjevanju so vključene različne vrste imunske celic, vključno z makrofagi, nevtronofilci, celicami naravnimi ubijalkami (NK) in T-limfociti CD4⁺. Prav tako naj bi bile vključene tudi komponente SASP (kemokin in citokin), ki služijo kot kemoatraktanti za NK in druge imunske celice, ter nekateri izraženi adhezijski (npr. ICAM-1, VCAM-1) in drugi proteini (npr. MICA (*MHC class I polypeptide-related sequence A*), UL16 vezovični protein 2 (ULBP2) in malondialdehid (MDA)-vimentin) (1).

Prav tako še vedno ne razumemo popolnoma, zakaj se senescentne celice pričnejo kopičiti v poznejšem življenjskem obdobju. Nedavno so ugotovili, da senescentni dermalni fibroblasti izražajo molekulo glavnega histokompatibilnega kompleksa (MHC) razreda Ib, HLA-E. HLA-E je v večji meri izražen pri starejših posameznikih. Interagira z zaviralnim receptorjem NKG2A, ki je prisoten na celicah NK in visoko diferenciranih T-limfocitih CD8⁺ (21, 22). Interakcija med NKG2A in HLA-E zavira očistek senescentnih celic s celicami NK in CD8⁺, ki imajo izražen receptor NKG2A. *In vitro* zaviranje interakcije HLA-E/NKG2A krepi

imunski odziv proti senescentnim celicam, kar kaže na vlogo HLA-E pri njihovem kopičenju (23)."

3 ZNAČILNOSTI SENESCENTNIH CELIC

Poleg trajne zaustavitve celičnega cikla imajo senescentne celice še nekaj značilnosti, ki jih ločijo od drugih celic. Najprej kažejo spremembe v morfologiji in delovanju, kar vodi v moteno celično komunikacijo z okoliškimi celicami (24). Senescentne celice lahko prostorsko prerazporedijo heterokromatin v t. i. s senescencijo povezana heterokromatin-ska žarišča (*senescence-associated heterochromatin foci*, SAHF), kar lahko vodi v spremenjeno izražanje genov (25). Kot odgovor na poškodbo DNA se v senescentnih celicah lahko pojavijo tudi segmenti DNA s spremembami v kromatinu, ki ojačajo senescencijo (*DNA segments with chromatin alterations reinforcing senescence*, DNA-SCARS) (26). Te in še nekatere druge modifikacije, ki spremeljajo celično senescencijo, so izpostavljene na sliki 2.

Različne senescentne celice se v svojih značilnostih lahko tudi močno razlikujejo, zato je razvoj ustreznih označevalcev za njihovo prepoznavanje in nadaljnje načrtovanje učinkovitih terapevtikov precej otežen (27). Dosedanji pristopi detekcije in terapije v večini temeljijo na poznavanju ključnih značilnosti senescentnih celic, kot so: (i) s senescencijo povezan sekretorni fenotip, (ii) specifične poti, ki omogočajo preživetje teh celic in preprečijo apoptozo, in (iii) s senescencijo povezana β -galaktozidazna aktivnost.

3.1 S SENESCIENCO POVEZAN SEKRETORNI FENOTIP – SASP

Kot smo omenili, senescentne celice razvijejo edinstven sekretorni fenotip, imenovan SASP (*senescence-associated secretory phenotype*), ki ga sestavljajo raznoliki citokini, kemokini, rastni dejavniki, proteaze, lipidi in nemakromolekularni elementi (npr. dušikov oksid, reaktivne kisikove zvrsti). Nekatere komponente SASP so pogosteje od drugih, vendar se razlikujejo med različnimi senescentnimi celicami, odvisno od induktorjev senescence in tipa celic (1). Pri nastanku SASP v posamezni senescentni celici sodelujejo različni dejavniki, med katerimi so najpomembnejšo vlogo izkazali jedrni faktor kB (NF-kB), protein p53, CCAAT/ojačevalno-vezavni protein in protein GATA4. Nastanek SASP poteka v treh fazah: najprej se zgodi hitra z DDR povezana

faza, ki ji sledi zgodnja faza samoojačanja, kjer se pričnejo sproščati dejavniki SASP. V zadnji, zreli fazi pride do popolnega izražanja posameznega fenotipa SASP. Nekateri dejavniki, kot sta interlevkina 1 α in β (IL-1 α , IL-1 β), se izrazijo prej kot drugi in vplivajo na nadaljnjo strukturo SASP (1). Senescentne celice lahko preko SASP delujejo na parakrini ali avtokrini način ter povzročajo provnetno mikrookolje ter tako spodbujajo lastno odstranjevanje z aktivacijo in rekrutiranjem imunskega celic. V nekaterih primerih povzročajo odpornost na zdravila (npr. protirakave učinkovine) in angiogenezo. Preko teh mehanizmov lahko SASP vzdržuje senescenco in jo povzroča v sosednjih celicah (28). Čeprav je senescanca v osnovi obrambni mehanizem pri raku, lahko senescentne celice prek SASP tudi spodbujajo kancerogenost. SASP ima torej preko spodbujanja vaskularizacije in celične proliferacije tako tumor promotorske kot tudi protitumorne lastnosti (spodbujanje senescence in imunskega očistka) (29). Prav zato je za stabilnost organizma ključno pravilno ravnotežje.

3.2 POTI, KI OMOGOČajo PREŽIVETJE SENESCENTNIH CELIC

Podobno kot rakave tudi senescentne celice razvijejo mehanizme, ki jim omogočajo njihovo dolgoročno preživetje in izognitev programirani celični smrti – apoptozi. Senescentne celice se apoptozi lahko izognejo z aktivacijo proteinov iz družine Bcl (Bcl-2, Bcl-w, Bcl-xL, Mcl-1 in Bfl-1) ali preko vpliva na p53-p21-serpin in fosfoinozitid-3-kinazno (PI3K)/AKT pot. Pri odpornosti proti apoptozi sodelujejo tudi od efrina odvisna receptorska liganda, efrina B1 in B3, zaviralec aktivatorja plazminogena tipa 1 (PAI-1) (27), s hipoksijo inducirani dejavnik 1 α (HIF-1 α) ter proteini vročinskega šoka (HSP90) (30). Pri teh se izražanje pro- in antiapoptotičnih proteinov lahko razlikuje glede na vrsto celice (27). To pomeni, da se posamezna vrsta senescentnih celic lahko različno odzove na moduliranje izbrane »poti preživetja«, kar posledično omogoča tudi specifično ciljanje na posamezen tip senescentnih celic.

3.3 S SENESCIENCO POVEZANA β - GALAKTOZIDAZNA AKTIVNOST

Encim β -D-galaktozidaza (β -Gal) je evkariontska hidrolaza, ki cepi končne β -galaktozne ostanke iz naravnih substratov, kot so gangliozidi, glikoproteini in glikozaminoglikani. Je lisosomalni encim, ki optimalno deluje pri pH, ki je blizu narnemu okolju lisosoma (pH 4,0–4,5) (31).



Leta 1995 so Dimri in sod. v senescentnih človeških fibroblastnih celicah odkrili s senescenco povezano β -galaktozidazno aktivnost pri pH 6. Detekcija encimske aktivnosti pri pH 6 se je v primerjavi z drugimi celicami izkazala kot specifična za senescentne celice (32) in je posledica povečane koncentracije lizosomalnega encima in njegove rezidualne aktivnosti pri suboptimalnem pH, kar so potrdili tudi na nivoju izražanja genov (33).

4 OZNAČEVALCI ZA DETEKCIJO SENESCENTNIH CELIC

Za uspešen študij senescentnih celic je ključna njihova učinkovita identifikacija. Ravno ta korak predstavlja pomemben izviv pri proučevanju celične senescence, saj trenutno še ne poznamo dovolj občutljivega in specifičnega označevalca. Težavo predstavlja dejstvo, da prej opisane

značilnosti senescentnih celic niso prisotne v enakem obsegu v vseh vrstah senescentnih celic, medtem ko nekatere od njih sploh niso specifične za senescentne celice. Zato za detekcijo senescentnih celic večinoma uporabljamo kombinacije njihovih značilnosti (27). Najpogosteje po vizualni in rastni analizi celic celične kulture testiramo še na vsaj dva od naslednjih potencialnih označevalcev: s senescenco povezana β -galaktozidazna aktivnost, povečana prisotnost proteina p16, SAHF in DNA-SCARS (označevalci poškodb DNA) (34) (preglednica 1).

5 SENESCENTNE CELICE KOT TERAPEVTSKE TARČE

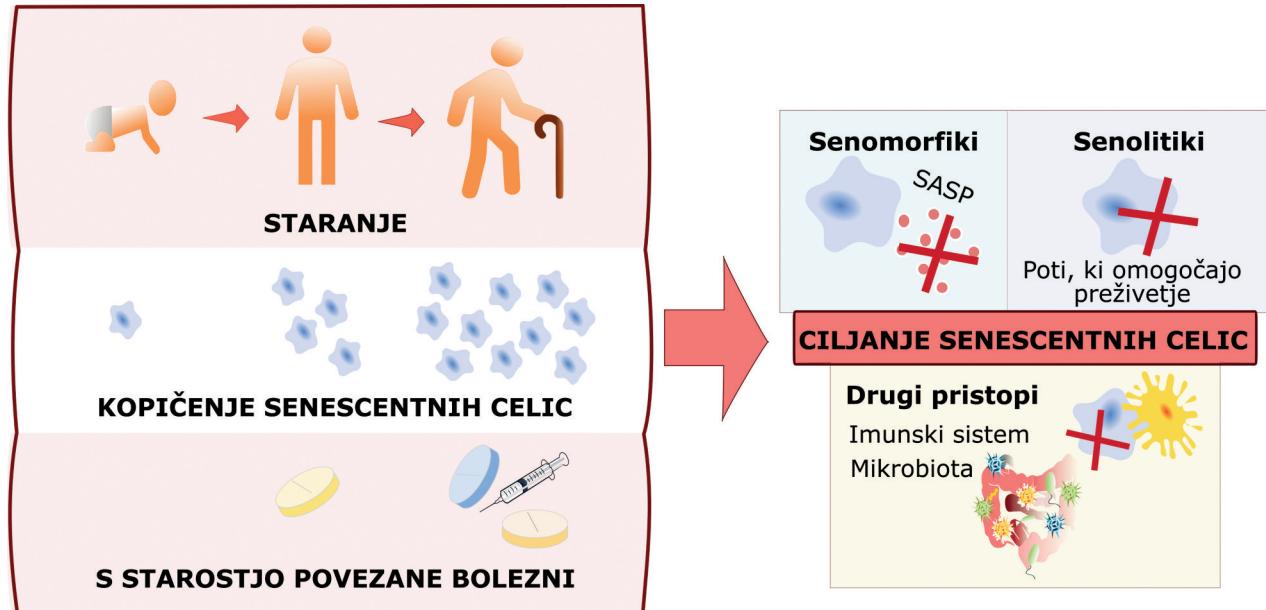
Senescentne celice so vzročno povezane s staranjem in imajo pomembno vlogo pri nastanku več s starostjo povezanih bolezni (29). Zato predstavljajo nove potencialne te-

Preglednica 1: Pregled najpomembnejših označevalcev senescentnih celic (1, 35).

Table 1: Overview of most important biomarkers of senescent cells (1, 35).

OZNAČEVALEC	METODA ZA DOLOČANJE	REFERENCA
Morfološke spremembe (velikost jedra in oblika)	barvanje DNA s fluorescentnimi barvili vizualni pregled za velikost in obliko celice	34
Ustavljena replikacija	BrdU/EdU test štetje celic	34
Prisotnost proteinov, značilnih za ustavitev celičnega cikla	metoda, osnovana na imunskejem odtisu	34
β -galaktozidazna aktivnost pri pH = 6,0	uporaba kromogenega (X-Gal), fluorescentnega (C_{12} FDG) ali kemiluminiscenčnega substrata (Galacton)	34, 36
Komponente SASP	sendvič ELISA kvantitativna proteomika na osnovi SILAC profiliranje mRNA	34
S senescenco povezana heterokromatinska gorišča (SAHF) in njihovi označevalci	barvanje DAPI-imunofluorescenca	34
DDR (žarišča poškodb DNA in teles PML)	označevanje žarišč poškodovane DNA/teles PML, pregled števila, velikosti žarišč in kolokalizacije teles PML	34

DAPI – 4',6-diamidino-2-fenilindol, BrdU – bromodeoksuridin, EdU – 5-etinil-2'-deoxiuridin, X-Gal – 5-bromo-4-kloro-3-indolil- β -D-galaktopiranoid, C12FDG – 5-dodecanoilaminofluorescein di- β -D-galaktopiranoid, SASP – s senescenco povezan sekretorni fenotip, ELISA – encimskoimunski test, SILAC – stabilno označevanje izotopa z aminokislino v celični kulturi, telesa PML – promielocitska levkemična telesa, DDR – odziv na poškodbe DNA.



Slika 3: Povezava staranja, kopičenja senescentnih celic in s starostjo povezanih bolezni ter strategije ciljanja senescentnih celic s potencialnimi zdravilnimi učinkovinami.

Figure 3: Relationship between aging, accumulation of senescent cells and age-related diseases along with existing strategies of targeting senescent cells with potential drugs.

terapevtske tarče za zdravljenje teh bolezni. Ločimo dve strategiji za regulacijo škodljivih učinkov senescentnih celic: (i) specifično odstranjevanje senescentnih celic ali (ii) modulacija njihove funkcije in morfologije oz. upočasnitev njihovega nastanka (slika 3) (1).

Senolitiki so spojine, ki povzročajo specifično odstranjevanje senescentnih celic. To dosežemo z delovanjem na v senescentnih celicah aktivirane poti, zlasti tiste, ki sodelujejo pri njihovi odpornosti proti apoptozi. Sem sodijo tarče, kot so proteini iz družine Bcl, p53, p21, PI3K, AKT in HSP90. Poznamo tudi nekatere druge tarče, kot so FOXO4 (*fork-head box protein O*) in histonske deacetilaze (1).

Senomorfiki, redkeje imenovani tudi senostatiki, so spojine, ki delujejo na fenotip senescentnih celic in tako zmanjšajo njihove škodljive učinke na okoliško tkivo ali zakasnijo nastop senescence in pri tem ne povzročajo apoptoze senescentnih celic. Izraz je pomanjkljiv, saj se prekriva z drugimi izrazi v literaturi, kot sta inhibitorji SASP (37) in geroprotektorji (38). Ker obe omenjeni skupini delujeta na fenotip senescentnih celic, ju tu uvršamo med senomorfike. Senomorfiki torej zavirajo tvorbo SASP. Kot terapevtske tarče so v uporabi sirtuin 1 (SIRT1), mehanistična tarča ramicina (mTOR), NF- κ B, p38-mitogen aktivirana protein-

ska kinaza (P38MAPK), s kinazo aktivirana protein kinaza 2 (MK2), MDM2, glukokortikoidni receptorji in IL-1 α . Izraz senomorfiki lahko nadalje razširimo in vanj vključimo spojine, ki modulirajo delovanje in morfologijo senescentnih celic in zavirajo njihovo tvorbo. Te spojine lahko modulirajo telomerazno aktivnost, spreminjajo razmerja nekaterih oksidantov in antioksidantov, ki so pomembni za nastanek senescence, ali vplivajo na celične organe, kot so lizosomi in mitohondriji (1).

Poleg senolitikov in senomorfikov uporabljamo tudi druge pristope, s katerimi vplivamo na senescentne celice, npr. na njihovo odstranjevanje s komponentami imunskega sistema, ki temelji na specifičnih proteinih, izraženih na površini teh celic. Novejše raziskave so pokazale, da na količino senescentnih celic vpliva tudi mikrobiota (39). Nekateri senomorfiki so predstavljeni v preglednici 2, medtem ko so strukture izbranih predstavnikov obeh skupin podane na sliki 4.

Čeprav so raziskave vpliva na senescentne celice v terapevtske namene večinoma še v začetnih stopnjah, so nekatere spojine že vstopile v različne faze kliničnih raziskav; nekatere od njih so predstavljene v preglednici 3.

Razvoj optimalnega dostavnega sistema se običajno začne po identifikaciji potencialne učinkovine, ko že poznamo



Preglednica 2: Pregled identificiranih spojin z aktivnostjo na senescentnih celicah.

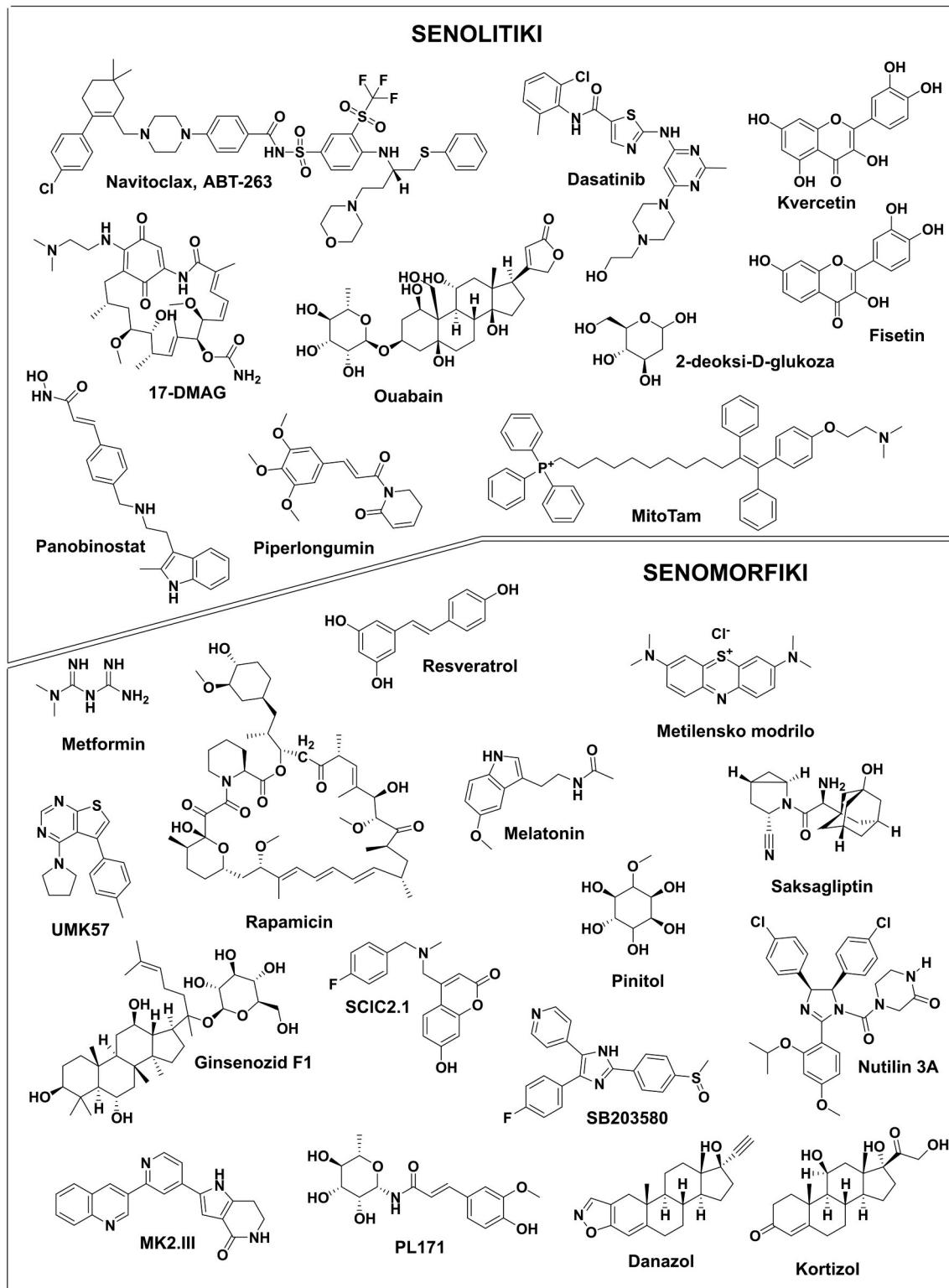
Table 2: Overview of identified compounds with activity on senescent cells.

SENOLOGIKI	TARČA/TARČNE POTI	SENOFONI	TARČA/TARČNE POTI
Navitoclax (ABT-263) (40), ABT-737 (41)	Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w	metformin (42)	ni natančno znano
Venetoclax (ABT-199) (41)	Bcl-2	rapamicin (43)	mTOR
WEHI-539 (+ABT-199) (44), A1331852, A1155463 (45)	Bcl-xl	NEMO vezova domena (NBD), vezana na domeno 8K (46)	IKK
		melatonin (47)	številne poti
TW-37 (40)	Bcl-2, Bcl-xl, Mcl-1	SCIC2, SCIC2.1 (48), omentin-1 (49)	SIRT1
Piperlongumin in analogi (50)	Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1, Bfl-1	platikodin D (51), metilensko modrilo (52)	mitohondrij
		resveralogji (53)	ekspresija »splicing« faktorjev
Dasatinib (54)	tirozin kinaza	SB203580 (55), UR-13756 (56), BIRB-796 (23)	P38MAPK
Kvercetin (54), fisetin (45, 57)	serpini, PI3K in druge kinaze	PF-3644022, MK2.III (56)	MK2
Kardiotonični glikozidi (58)	Na ⁺ /K ⁺ transportna ATP-aza (podenota α), NOXA pot	nutilin 3A, MI-63 (59)	MDM2
		PL171 (60)	SIRT3
FOXO4-DRI (61)	FOXO4-p53 interakcija	ginsenzid F1 (62)	P38MAPK
Geldanamicin, 17-DMAG (63)	HSP-90	resveratrol (64)	različne poti, vključno s SIRT1
Panobinostat (65)	histonska deacetylaza	Kortizol, kortikosteron (66)	glukokortikoidni receptor
MitoTam (67)	dihalna veriga	17-β-estradiol (68), danazol (69)	telomeraza
2-deoksi-D-glukoza (70)	GLUTs	UMK57 (71)	kinezin-13
		nanodelci MoS ₂ (72)	avtofagični fluks lizosomov
		pinitol (73)	Nrf2 pot
		saksagliptin (74)	DPP4

GLUTs – glukozni transporterji, Nrf2 – jedrnemu dejavniku eritroid 2 soroden dejavnik 2, IKK – kinaza IκB

njene fizikalno-kemijske, farmakokinetske in farmakodinamske lastnosti, tarčno mesto delovanja ter potencialna zunajtarčna mesta. Čeprav še nobene učinkovine s tem mehanizmom delovanja niso vpeljali v terapijo, najdemo v

literaturi že nekaj poskusov razvoja dostavnih sistemov, ki bi omogočili specifično ciljanje senescentnih celic in tako zmanjšali tveganje za neželene učinke. Tako npr. nanodelci iz poroznega ogroda iz silicijevega dioksida, obdani z ga-



Slika 4: Izbrane spojine, ki delujejo kot senolitiki ali senomorfiki (75).

Figure 4: Representative compounds that act as either senolytics or senomorphics (75).



Preglednica 3: Pregled izbranih kliničnih raziskav s senolitiki in senomorfiki (1).

Table 3: Overview of selected clinical studies with senolytics and senomorphics (1).

NASLOV KLINIČNE RAZISKAVE	BOLEZEN	FAZA	UČINKOVINA	KODA RAZISKAVE
Senescenca, krhkost in delovanje mezenhimskih matičnih celic pri kronični bolezni ledvic: učinek senolitičnih učinkovin	kronična ledvična bolezen	faza 2	dasatinib + kvercetin	NCT02848131
Ciljanje senescentnih celic s senolitiki za izboljšanje zdravja okostja pri starejših ljudeh	/	faza 2	dasatinib + kvercetin fisetin	NCT04313634
Pilotna raziskava za proučevanje varnosti in izvedljivosti senolitične terapije za modulacijo napredovanja Alzheimerjeve bolezni (stomp-ad)	Alzheimerjeva bolezen	faza 1, faza 2	dasatinib + kvercetin	NCT04063124
Senolitična zdravila zmanjšujejo z osteoartritisom povezano degeneracijo artikularnega hrustanca: klinično preskušanje	osteoartroza, koleno	faza 1, faza 2	fisetin	NCT04210986
Dvojno slepo, s placeboom kontrolirano preskušanje »anti-aging«, proavtogenkih učinkov metformina pri odraslih s prediabetesom	prediabetes	faza 3	metformin	NCT03309007
Metformin v raziskavah dolgoživosti (MILES)	/	faza 4 (zaključena)	metformin	NCT02432287
Vpliv zaviralcev mTOR in druge intervencije metabolnih procesov pri ostarelih: imunske, kognitivne in funkcionalne posledice	/	faza 2 (zaključena)	rapamicin	NCT02874924

laktooligosaharidi, omogočajo specifično dostavo v senescentne celice, pri čemer izkorisčamo povišano aktivnost lizosomske β -galaktozidaze v senescentnih celicah (76, 77). Še en primer specifične dostave so nanodelci iz kalcijskega karbonata, obdani z laktozo (Lac-PEG-COOH), konjugirano z monoklonskimi protitelesi proti v senescentnih celicah prekomerno izraženem proteinu CD9 (78). Nedvomno bo imel primeren dostavni sistem za uspeh terapije, usmerjene na senescentne celice, ključno vlogo zaradi potrebe po zagotavljanju specifičnega delovanja.

6 IZZIVI IN NADALJNJI RAZVOJ PODROČJA

Senescenca je razmeroma mlado, hitro razvijajoče se raziskovalno področje. Še zlasti to velja za področje potencialnih terapeutikov. Še vedno je prisotnih mnogo neznank, na katere moramo z raziskavami poiskati ustrezne odgovore. Najprej omenimo potrebo po natančnejšem pozna-

vanju mehanizmov tvorbe senescentnih celic ter njihovih značilnosti. Prav tako moramo pojasniti razloge za njihovo kopičenje ter odkriti mehanizme, ki omogočajo njihovo učinkovito odstranjevanje pri mlajših posameznikih. Potreben bo tudi nadaljnji razvoj občutljivih označevalcev za njihovo detekcijo (slika 5).

Eden izmed ključnih izzivov pri raziskovanju celične senescence je odsotnost specifičnega označevalca za detekcijo senescentnih celic. Obstojče strategije sicer omogočajo uspešno identifikacijo senescentnih celic, vendar zahtevajo uporabo kombinacije razmeroma nespecifičnih označevalcev, kar pomeni več časa in sredstev, potrebnih za raziskave. Pomemben korak je bil storjen z nedavno predstavljenim »Atlasom SASP« (79), obsežno proteomsko bazo topnih beljakovin in ekso-somskih dejavnikov SASP, pridobljenih iz različnih tipov celic, ki so bile podvržene senescenci preko različnih induktorjev (79).

Ustreznih živalski modeli so naslednji raziskovalni izziv, saj rezultatov, pridobljenih iz teh modelov (identificirani potencialni terapevtiki, mehanizmi), ni vedno mogoče neposredno prenesti na človeka. Miši so najpogosteje uporabljeni testni živalski modeli, čeprav med njimi in človekom obstaja precej razlik med procesi staranja in izražanjem bolezni. S prilagoditvijo njihovega genskega zapisa je mogoče zagotoviti ustreznajše in natančnejše mišje modele. Takšen primer so »humanizirane« miši, ki so imunsко oslabljene in imajo prisotne funkcionalne cloveške hematopoetske in imunske celice ter tkiva (npr. ksenografti). Z vidika večje sorodnosti je v raziskavah staranja smiselna uporaba nečloveških primatov. Uporaba slednjih je zelo zahtevna, saj je povezana s številnimi etičnimi vprašanji, zahtevnim vzdrževanjem, dolgoživostjo ter majhnim številom potomcev. Podobno kot pri mišjih modelih pa bi v prihodnosti mogoče lahko razvili tudi modele nečloveških primatov s pospešenim staranjem (1).



Slika 5: Ponazoritev nekaterih bodočih izzivov raziskav na področju celične senescence.

Figure 5: Illustration of future research challenges in the field of cellular senescence.

7 SKLEP

Senescentne celice so ena izmed ključnih značilnosti staranja, zato predstavljajo potencialno novo terapevtsko tarčo. Vse več raziskav potrjuje vzročno povezavo med kopičenjem senescentnih celic in večjo pojavnostjo različnih s starostjo-povezanih bolezni. V večini primerov njihovo vpletost potrdi tudi izboljšanje simptomov po njihovi odstranitvi ali utišanju dela SASP, ki je z njimi povezan. Ta opažanja nakazujejo, da bi morda že preprosto odstranjevanje senescentnih celic ali manipulacija z njihovim fenotipom s senolitiki ali senomorfiki lahko vodila k podaljšanju obdobja odsotnosti s starostjo povezanih bolezni in tako izboljšala potek nekaterih bolezni (npr. idiopatska pljučna fibroza, rak, genetske bolezni, povezane s kratkimi telomerami). V nekaterih primerih (npr. celjenje ran, embrionalni razvoj) so senescentne celice tudi koristne za organizem, zato bo pravilna terapevtska uporaba nedvomno zelo zahtevna in povezana z mnogimi izzivi. Toda zaradi številnih mehanizmov njihovega nastanka in posledično raznolikih značilnosti senescentnih celic predvidevamo, da bo mogoče doseči tudi selektivno odstranitev oz. modulacijo z golj posameznih tipov teh celic. To bo omogočilo, da se bomo izognili morebitnim negativnim posledicam in neželenim učinkom takšne terapije.

Na področju celične senescence se torej srečujemo z mnogimi izzivi, vključno z izostankom specifičnega označevalca za enostavno odkrivanje senescentnih celic, neustreznimi živalskimi modeli in nezadostnim razumevanjem temeljnih konceptov celične senescence. Rezultati intenzivnih raziskav trenutno nakazujejo, da jih lahko smatramo kot obetavne tarče za razvoj novih orodij in paradigem za bolj vzročno zdravljenje bolezni, povezanih s starostjo. Pomen in objektivni domet delovanja na senescentne celice bo seveda pokazala prihodnost. Že rezultati trenutno potekajočih kliničnih raziskav bodo kmalu postregli s prvimi podatki o potencialu tega pristopa za bodočo terapevtsko uporabo.

8 LITERATURA

- Prašnikar E, Borišek J, Perdih A. Senescent cells as promising targets to tackle age-related diseases. *Ageing Res Rev*. 2021;66:101251.

- Finch CE. Variations in senescence and longevity include the possibility of negligible senescence. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1998;53(4):B235–B239.
- López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194–217.
- Partridge L, Deelen J, Slagboom PE. Facing up to the global challenges of ageing. *Nature*. 2018;561(7721):45–56.
- 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.
- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1961;25:585–621.
- Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, di Fagagna F d'Adda. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021;22(2):75–95.
- Karin O, Agrawal A, Porat Z, Krizhanovsky V, Alon U. Senescent cell turnover slows with age providing an explanation for the Gompertz law. *Nat Commun*. 2019;10(1):1–9.
- Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, et al. Naturally occurring p16 Ink4a-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature*. 2016;530(7589):184–9.
- Baker DJ, Wijshake T, Tchkonia 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.
- D'Alessio PA, Béné MC. AISA can control the inflammatory facet of SASP. *Mech Ageing Dev*. 2020;186:111206.
- Lisanti MP, Sotgia F, Sargiacomo C. COVID-19 and chronological aging: senolytics and other anti-aging drugs for the treatment or prevention of corona virus infection? *Aging (Albany NY)*. 2020;12(8):6511–7.
- Jun J-I, Lau LF. Cellular senescence controls fibrosis in wound healing. *Aging (Albany NY)*. 2010;2(9):627–31.
- Muñoz-Espín D, Cañamero M, Maraver A, Gómez-López G, Contreras J, Murillo-Cuesta S, et al. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell*. 2013;155(5):1104–18.
- Campisi J. The biology of replicative senescence. *Eur J Cancer*. 1997;33(5):703–9.
- Vizioli MG, Santos J, Pilotti S, Mazzoni M, Anania MC, Miranda C, et al. Oncogenic RAS-induced senescence in human primary thyrocytes: molecular effectors and inflammatory secretome involved. *Oncotarget*. 2014;5(18):8270–83.
- Bernadotte A, Mikhelson VM, Spivak IM. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(1):3–11.
- di Fagagna F d'Adda, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, Von Zglinicki T, et al. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature*. 2003;426(6963):194–8.
- Childs BG, Durik M, Baker DJ, Van Deursen JM. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat Med*. 2015;21(12):1424–35.
- Van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature*. 2014;509(7501):439–46.
- Prašnikar E, Perdih A, Borišek J. All-Atom Simulations Reveal a Key Interaction Network in the HLA-E/NKG2A/CD94 Immune Complex Fine-Tuned by the Nonamer Peptide. *J Chem Inf Model*. 2021;61(7):3593–603.
- Prašnikar E, Perdih A, Borišek J. Nonamer Peptide Orchestrates Signal Transduction in the Activating HLA-E/NKG2C/CD94 Immune Complex as Revealed by All-Atom Simulations. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):6670.



23. Pereira BI, Devine OP, Vukmanovic-Stejic M, Chambers ES, Subramanian P, Patel N, et al. Senescent cells evade immune clearance via HLA-E-mediated NK and CD8+ T cell inhibition. *Nat Commun.* 2019;10:2387.
24. Kwon SM, Hong SM, Lee Y-K, Min S, Yoon G. Metabolic features and regulation in cell senescence. *BMB Rep.* 2019;52(1):5–12.
25. Sadaie M, Salama R, Carroll T, Tomimatsu K, Chandra T, Young AR, et al. Redistribution of the Lamin B1 genomic binding profile affects rearrangement of heterochromatic domains and SAHF formation during senescence. *Genes Dev.* 2013;27(16):1800–8.
26. Rodier F, Muñoz DP, Teachenor R, Chu V, Le O, Bhaumik D, et al. DNA-SCARS: distinct nuclear structures that sustain damage-induced senescence growth arrest and inflammatory cytokine secretion. *J Cell Sci.* 2011;124(Pt 1):68–81.
27. Knoppert SN, Valentijn FA, Nguyen TQ, Goldschmeding R, Falke LL. Cellular senescence and the kidney: potential therapeutic targets and tools. *Front Pharmacol.* 2019;10:770.
28. Hoare M, Narita M. Transmitting senescence to the cell neighbourhood. *Nat Cell Biol.* 2013;15(8):887–9.
29. Calcinotto A, Kohli J, Zagato E, Pellegrini L, Demaria M, Alimonti A. Cellular senescence: aging, cancer, and injury. *Physiol Rev.* 2019;99(2):1047–78.
30. Wissler Gerdes EO, Zhu Y, Tchkonia T, Kirkland JL. Discovery, development, and future application of senolytics: theories and predictions. *FEBS J.* 2020;287(12):2418–27.
31. Kurz DJ, Decary S, Hong Y, Erusalimsky JD. Senescence-associated (beta)-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *J Cell Sci.* 2000;113(Pt 20):3613–22.
32. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(20):9363–7.
33. Lee BY, Han JA, Im JS, Morrone A, Johung K, Goodwin EC, et al. Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase. *Aging cell.* 2006;5(2):187–95.
34. Galluzzi L, Vitale I, Kepp O, Kroemer G. Cell senescence: methods and protocols. Springer; 2013.
35. González-Gualda E, Baker AG, Fruk L, Muñoz-Espín D. A guide to assessing cellular senescence *in vitro* and *in vivo*. *FEBS J.* 2021;288(1):56–80.
36. Debacq-Chainiaux F, Erusalimsky JD, Campisi J, Toussaint O. Protocols to detect senescence-associated beta-galactosidase (SA-beta-gal) activity, a biomarker of senescent cells in culture and *in vivo*. *Nat Protoc.* 2009;4(12):1798–806.
37. Kirkland JL, Tchkonia T. Cellular senescence: a translational perspective. *EBioMedicine.* 2017;21:21–8.
38. Moskalev A. Is anti-ageing drug discovery becoming a reality? *Expert Opin Drug Discov.* 2020;15(2):135–8.
39. Loo TM, Kamachi F, Watanabe Y, Yoshimoto S, Kanda H, Arai Y, et al. Gut microbiota promotes obesity-associated liver cancer through PGE2-mediated suppression of antitumor immunity. *Cancer discov.* 2017;7(5):522–38.
40. Zhu Y, Tchkonia 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 anti-apoptotic factors. *Aging cell.* 2016;15(3):428–35.
41. Yosef R, Pilpel N, Tokarsky-Amiel R, Biran A, Ovadya Y, Cohen S, et al. Directed elimination of senescent cells by inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nature communications.* 2016;7(1):1–11.
42. 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-kappa B activation. *Aging cell.* 2013;12(3):489–98.
43. Wang R, Yu Z, Sunchu B, Shoaf J, Dang I, Zhao S, et al. Rapamycin inhibits the secretory phenotype of senescent cells by a Nrf2-independent mechanism. *Aging cell.* 2017;16(3):564–74.
44. Chang J, Wang Y, Shao L, Laberge R-M, 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.
45. Zhu Y, Doornbeal 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.
46. Tilstra JS, Robinson AR, Wang J, Gregg SQ, Clauson CL, Reay DP, et al. NF-κB inhibition delays DNA damage-induced senescence and aging in mice. *J Clin Invest.* 2012;122(7):2601–12.
47. Lee JH, Yoon YM, Song K-H, Noh H, Lee SH. Melatonin suppresses senescence-derived mitochondrial dysfunction in mesenchymal stem cells via the HSPA1L-mitophagy pathway. *Aging Cell.* 2020;19(3):e13111.
48. Scisciola L, Sarno F, Carafa V, Cosconati S, Di Maro S, Ciuffreda L, et al. Two novel SIRT1 activators, SCIC2 and SCIC2.1, enhance SIRT1-mediated effects in stress response and senescence. *Epigenetics.* 2020;15(6–7):664–83.
49. Chai B, Zheng Z-H, Liao X, Li K-Y, Liang J-S, Huang Y-X, et al. The protective role of omentin-1 in IL-1β-induced chondrocyte senescence. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2020;48(1):8–14.
50. 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.
51. Shi C, Li Q, Zhang X. Platycodin D Protects Human Fibroblast Cells from Premature Senescence Induced by H2O2 through Improving Mitochondrial Biogenesis. *Pharmacology.* 2020;1–11.
52. Atamma H, Nguyen A, Schultz C, Boyle K, Newberry J, Kato H, et al. Methylene blue delays cellular senescence and enhances key mitochondrial biochemical pathways. *FASEB J.* 2008;22(3):703–12.
53. Latorre E, Birar VC, Sheerin AN, Jeynes JCC, Hooper A, Dawe HR, et al. Small molecule modulation of splicing factor expression is associated with rescue from cellular senescence. *BMC Cell Biol.* 2017;18(1):31.
54. Zhu Y, Tchkonia T, Pirtskhalava T, Gower A, Ding H, Giorgadze N, et al. The Achilles' Heel of Senescent Cells: From Transcriptome to Senolytic Drugs. *Aging cell.* 2015;14(4):644–58.
55. Davis T, Kipling D. Assessing the role of stress signalling via p38 MAP kinase in the premature senescence of Ataxia Telangiectasia and Werner syndrome fibroblasts. *Biogerontology.* 2009;10(3):253–66.
56. Alimbetov D, Davis T, Brook AJ, Cox LS, Faragher RG, Nurgozhin T, et al. Suppression of the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in human fibroblasts using small molecule inhibitors of p38 MAP kinase and MK2. *Biogerontology.* 2016;17(2):305–15.
57. 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.* 2018;36:18–28.
58. Guerrero A, Herranz N, Sun B, Wagner V, Gallage S, Guiro R, et al. Cardiac glycosides are broad-spectrum senolytics. *Nat Metab.* 2019;1(11):1074–88.

59. Wiley CD, Schaum N, Alimirah F, Lopez-Dominguez JA, Orjalo AV, Scott G, et al. Small-molecule MDM2 antagonists attenuate the senescence-associated secretory phenotype. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–9.
60. Li Y, Lu J, Cao X, Zhao H, Gao L, Xia P, et al. A Newly Synthesized Rhamnoside Derivative Alleviates Alzheimer's Amyloid-beta-Induced Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Cell Senescence through Upregulating SIRT3. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020.
61. Baar MP, Brandt RM, Putavet DA, Klein JD, Derkks KW, Bourgeois BR, et al. Targeted apoptosis of senescent cells restores tissue homeostasis in response to chemotoxicity and aging. *Cell*. 2017;169(1):132–47.
62. Hou J, Cui C, Kim S, Sung C, Choi C. Ginsenoside F1 suppresses astrocytic senescence-associated secretory phenotype. *Chem-Biol Interact*. 2018;283:75–83.
63. 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):1–14.
64. Ali D, Chen L, Kowal JM, Okla M, Manikandan M, AlShehri M, et al. Resveratrol inhibits adipocyte differentiation and cellular senescence of human bone marrow stromal stem cells. *Bone*. 2020;115252.
65. Samaraweera L, Adomako A, Rodriguez-Gabin A, McDaid HM. A novel indication for panobinostat as a senolytic drug in NSCLC and HNSCC. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–11.
66. Laberge R-M, 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.
67. Hubackova S, Davidova E, Rohlenova K, Stursa J, Werner L, Andera L, et al. Selective elimination of senescent cells by mitochondrial targeting is regulated by ANT2. *Cell Death Differ*. 2019;26(2):276–90.
68. Imanishi T, Hano T, Nishio I. Estrogen reduces endothelial progenitor cell senescence through augmentation of telomerase activity. *J Hypertens*. 2005;23(9):1699–706.
69. Townsley DM, Dumitriu B, Liu D, Biancotto A, Weinstein B, Chen C, et al. Danazol treatment for telomere diseases. *N Engl J Med*. 2016;374(20):1922–31.
70. Lane MA, Ingram DK, Roth GS. 2-Deoxy-D-glucose feeding in rats mimics physiologic effects of calorie restriction. *J anti-aging med*. 1998;1(4):327–37.
71. Barroso-Vilares M, Macedo JC, Reis M, Warren JD, Compton D, Logarinho E. Small-molecule inhibition of aging-associated chromosomal instability delays cellular senescence. *EMBO J*. 2020;21(5):e49248.
72. Ke S, Lai Y, Zhou T, Li L, Wang Y, Ren L, et al. Molybdenum disulfide nanoparticles resist oxidative stress-mediated impairment of autophagic flux and mitigate endothelial cell senescence and angiogenic dysfunctions. *ACS Biomater Sci Eng*. 2018;4(2):663–74.
73. Lou C, Deng A, Zheng H, Sun G, Zhao H, Li A, et al. Pinitol suppresses TNF-alpha-induced chondrocyte senescence. *Cytokine*. 2020;130:155047.
74. Chen Z, Yu J, Fu M, Dong R, Yang Y, Luo J, et al. Dipeptidyl peptidase-4 Inhibition Improves Endothelial Senescence by Activating AMPK/SIRT1/Nrf2 Signaling Pathway. *Biochem Pharmacol*. 2020;113951.
75. PerkinElmer. *ChemOffice+ Cloud Suite*. Pridobljeno 1.10.2020 s strani: <https://perkinelmerinformatics.com/products/research/chemdra/w/>
76. Muñoz-Espín D, Rovira M, Galiana I, Giménez C, Lozano-Torres B, Paez-Ribes M, et al. A versatile drug delivery system targeting senescent cells. *EMBO Mol Med*. 2018;10(9):e9355.
77. Agostini A, Mondragón L, Bernardos A, Martínez-Máñez R, Marcos MD, Sancenón F, et al. Targeted cargo delivery in senescent cells using capped mesoporous silica nanoparticles. *Angew Chem Int Ed*. 2012;51(42):10556–60.
78. Thapa RK, Nguyen HT, Jeong J-H, Kim JR, Choi H-G, Yong CS, et al. Progressive slowdown/prevention of cellular senescence by CD9-targeted delivery of rapamycin using lactose-wrapped calcium carbonate nanoparticles. *Sci Rep*. 2017;7:43299.
79. Basisty N, Kale A, Jeon OH, Kuehnemann C, Payne T, Rao C, et al. A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development. *PLoS Biol*. 2020;18(1):e3000599.

