

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Senescencia celular en el tejido hepático

ARTÍCULO DE REVISIÓN

CARACTERÍSTICAS DE LA SENESCENCIA CELULAR EN EL TEJIDO HEPÁTICO EN SALUD Y ENFERMEDAD

Blanca Alicia Delgado Coello*(1)

Departamento de Bioquímica y Biología Estructural, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510 Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia correo E: bdelgado@ifc.unam.mx

RESUMEN

El hígado es un órgano muy activo que en condiciones normales es quiescente, estado del cual puede salir a causa de distintos estímulos. En general, con el paso del tiempo las células pierden definitivamente su capacidad proliferativa y muestran tanto importantes cambios fenotípicos como alteraciones en mecanismos intracelulares relevantes para la función celular. A estas alteraciones se les conoce como senescencia celular. Aquí se analiza el papel de la senescencia celular en procesos de salud y enfermedad en el tejido hepático.

PALABRAS CLAVE

quiescencia,
senescencia,
hígado,
hepatocitos,
colangiocitos,
células estrelladas hepáticas

ABSTRACT

The liver is an active organ which under normal conditions is quiescent, but under different stimuli, it can overcome that stage. In general, over the years cells permanently lose their proliferative capacity and display important phenotypic changes as well as several alterations in intracellular mechanisms relevant to the appropriate cell function. Together, these alterations are known as cellular senescence. Here, the role of senescence in health and disease processes in the liver tissue is analyzed.

KEY WORDS

quiescence,
senescence,
liver,
hepatocytes,
cholangiocytes,
hepatic stellate cells

Introducción

Las células de un organismo contienen la misma información genética, pero cada tipo celular la expresa de distintas formas, lo que define su identidad. En el tejido hepático, la población celular está representada en un 80% por las células parenquimatosas, es decir, los hepatocitos; el 20% restante (células no parenquimatosas) incluye a las células endoteliales que recubren a los capilares sinusoidales o sinusoides, a las células de Kupffer (macrófagos residentes del hígado), a las células estrelladas hepáticas, distintos tipos de linfocitos y células epiteliales biliares o colangiocitos. El hígado es considerado un órgano quiescente debido a que, en condiciones normales, rara vez es posible observar división celular. Sin embargo, si el hígado es expuesto a estímulos químicos o quirúrgicos que impliquen una pérdida de tejido, sus células pueden activarse, entrar en la etapa G1 del ciclo celular y replicarse hasta recuperar su masa original mediante un mecanismo de hiperplasia compensatoria conocido comúnmente como regeneración hepática. La regeneración hepática tiene lugar en todas las clases de vertebrados con distintos grados de complejidad adquiridos a lo largo de la evolución (1). Dado que como ya se ha explicado, el hígado prolifera muy poco, es de interés conocer qué características muestra este órgano cuando se encuentra en un estado senescente.

El término senescencia celular fue propuesto originalmente por Leonard Hayflick al observar que después de 40 a 60 divisiones los fibroblastos en cultivo dejaban de replicarse, a este número se le conoce como “el límite de Hayflick” (2). Posteriormente se comprobó que la senescencia celular también ocurre *in vivo* en procesos del desarrollo embrionario y en etapas posteriores donde se observa que la senescencia tiende a incrementarse con la edad de los individuos. En un sentido más amplio, la senescencia celular es una de las posibles respuestas a distintos grados y tipos de estrés a los que pueden estar expuestas las células; otras posibilidades son el despliegue de mecanismos de reparación o la muerte celular (3).

La senescencia se caracteriza por llevar al arresto celular irreversible –aún en la presencia de mitógenos–, mientras las células permanecen metabólicamente activas, aunque de manera desregulada, debido a alteraciones en la morfología y función de las mitocondrias. En este estado, las células también muestran resistencia a apoptosis y presentan un fenotipo secretor asociado a senescencia. Para considerar a una célula como senescente, no es necesario que todos los eventos asociados se presenten. En la literatura se distinguen dos formas de senescencia

celular: la senescencia replicativa, la cual se caracteriza por una replicación exhaustiva del DNA con el consecuente acortamiento de los telómeros donde la célula ya no es capaz de dividirse. En contraste, la senescencia prematura, previa a la de tipo replicativo, se induce por factores tales como el estrés oxidativo, estrés osmótico, la sobreexpresión de oncogenes, daño al DNA y señales mitogénicas (4). Estudios recientes realizados en levaduras en gemación y en fibroblastos humanos sugieren que la senescencia prematura puede ser el resultado a largo plazo de daños observados a nivel de la membrana plasmática (5).

¿Qué tipo de estímulos pueden conducir a la célula a un estado de senescencia? Entre las causas de la senescencia celular destacan: el acortamiento progresivo y cambios en la estructura de los telómeros, señales mitogénicas, activación de oncogenes, daño en el DNA sin resolver, cambios epigenéticos, remodelación de la cromatina, la pérdida de la homeostasis de proteínas (proteostasis), alteraciones mitocondriales e inflamación (3). Algunos factores extrínsecos como la exposición a radiación, quimioterapias o privación de nutrientes, pueden llevar a la célula a la senescencia (Fig. 1).

La senescencia celular es crucial en procesos fisiológicos como el desarrollo embrionario, donde contribuye en el desarrollo de la placenta y las células senescentes se hacen presentes en la membrana coriónica en la etapa previa al parto (6). Asimismo, la senescencia participa manteniendo la homeostasis de los tejidos; en lesiones de la piel, la senescencia promueve una adecuada cicatrización. También destaca su papel en la secreción de insulina por células- β y contribuye a limitar el avance de procesos tumorales al evitar que células potencialmente disfuncionales, dañadas o transformadas no se perpetúen a las siguientes generaciones (3,6,7).

Experimentalmente se hace uso de algunos marcadores para discernir los eventos involucrados en la senescencia; por ejemplo, el arresto celular puede evaluarse mediante la detección de distintos miembros de dos familias de cinasas dependientes de ciclinas (proteínas reguladoras del ciclo celular) como p21 y p53. En el caso del acortamiento de los telómeros, el cual está estrechamente asociado a la baja actividad de la telomerasa en células somáticas, es de utilidad la detección de proteínas asociadas a esas regiones, como la histona H2AX fosforilada (γ H2A.X). Conforme progresa la senescencia, aumenta el número de lisosomas por lo que el incremento de la β -galactosidasa asociada a senescencia (β -gal-AS) que es producida por estos organelos, es también un indicador común.

A continuación, se describe cómo se estudia la senescencia celular, con énfasis en procesos relacionados con estados patológicos del tejido hepático.

Desarrollo de un fenotipo secretor asociado a senescencia en células hepáticas

A lo largo de la vida de los organismos el potencial de replicación de las células varía. En roedores lactantes los hepatocitos muestran una actividad mi-

tótica alta y conforme alcanzan la madurez, ésta disminuye sensiblemente (esta capacidad decreciente, también se ha observado *in vitro*). La capacidad diferencial de proliferación de los hepatocitos maduros es evidente durante la etapa del destete. Con base en su capacidad de proliferación, se han clasificado distintas poblaciones de hepatocitos maduros (HM): los más proliferativos en neonatos son del tipo HM-I o también llamados he-

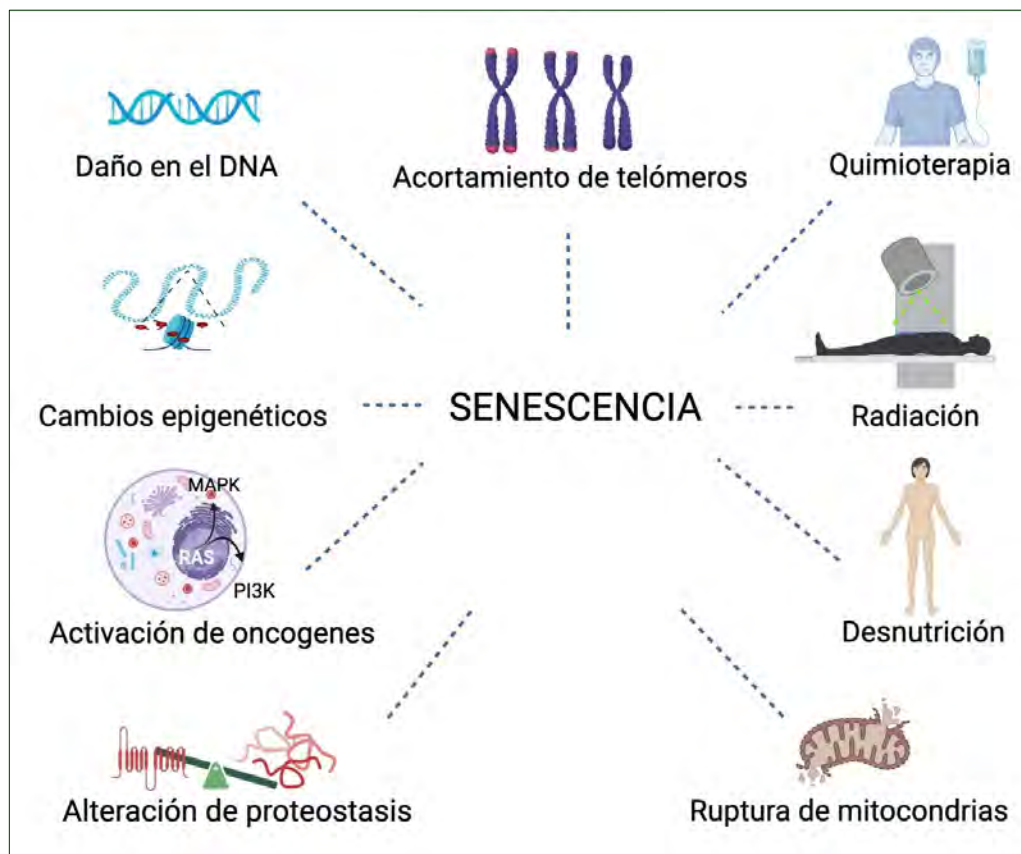


Figura 1. Causas internas y externas que generan senescencia celular. Entre los factores internos que inducen a la senescencia a través de los años, destacan la erosión de los telómeros, el daño al DNA no resuelto, activación de oncogenes, la alteración en el equilibrio de la homeostasis de la maquinaria proteica (proteostasis), la acumulación de mitocondrias disfuncionales debido a fallas en los procesos de degradación de éstas (mitofagia), aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno. Por otra parte, factores externos a los que podemos estar expuestos (quimioterapias, radiaciones y desnutrición), también pueden disparar procesos de senescencia celular. Figura realizada con herramientas de Biorender.com

patocitos pequeños, los que proliferan de manera limitada durante el destete y etapas jóvenes son llamados HM-II, y finalmente, los del tipo HM-III son aquellos que ya senescentes pierden su capacidad de replicación (8).

Para el estudio de la senescencia de células hepáticas se usan distintos modelos tanto *in vivo* como *in vitro*. La senescencia es un proceso complejo y dinámico que en términos generales involucra estrés oxidativo y daño en las mitocondrias, por ello una forma de abordar su estudio es el uso de H_2O_2 , etanol o cromo hexavalente como inductores de senescencia prematura (Tabla 1). Es de notar que en hígado de humanos sanos se ha observado un porcentaje basal de células senescentes de entre 3-7% (9).

Una vez que las células ya no se dividen, se desencadena un fenotipo secretor caracterizado por la

producción de quimiocinas, citocinas y moduladores del sistema inmune, además son evidentes cambios morfológicos. Tanto el arresto de las células como el desarrollo del fenotipo secretor asociado a senescencia son dirigidos por complejas vías de señalización, tema revisado por Huda y colaboradores, 2019 (10). El fenotipo secretor es regulado mediante la modificación de la cromatina en el núcleo, así como a nivel de transcripción, traducción, estabilidad y secreción del RNA mensajero (11).

Los tipos celulares que contribuyen mayormente a la senescencia en el hígado son los hepatocitos por ser estos los más abundantes y los colangiocitos, aunque otras células hepáticas también pueden mostrar signos de senescencia (10). El fenotipo secretor puede tener similitudes entre distintos tipos celulares, pero cada patrón de secreción tiene sus

peculiaridades (Tabla 1). En células HepG2 (línea celular transformada de humano) tratadas con peróxido de hidrógeno, son típicas la sobreexpresión del gen que codifica la β -gal-AS (y un aumento de la actividad de la enzima), de la expresión del inhibidor del ciclo celular, p21, la disminución de Ki67, proteína asociada a proliferación y el incremento de focos de heterocromatina asociados a la

senescencia, además del alargamiento y aplanamiento de las células (4,10,12). En uno de estos trabajos, el aumento de los niveles del factor de crecimiento derivado de plaquetas que activa fibroblastos y células estrelladas hepáticas (o PDGF) observado en células HepG2 senescentes, también se observó en sueros de pacientes con cirrosis (4). En hepatocitos AML12 de ratón, se encontró un pa-

Tipo celular	Inductor de senescencia	Marcadores de senescencia	Referencia
HepG2 (humano)	H ₂ O ₂	↑ β -gal-AS, ↑p21, ↓Ki67, ↑HP1 β , ↑IL8	(12)
Macrófagos derivados de monocitos humanos	Medio de HepG2 tratadas con H ₂ O ₂	Migración	(12)
HepG2 (humano)	H ₂ O ₂	↑ β -gal-AS, ↑p21, ↑HMG1-C	(4)
HSC (humano)	Medio de HepG2 tratadas con H ₂ O ₂	↑TNF- α , ↑IL1 β , ↑TIMP1, ↑ α -SMA, ↑procolágena *, ↑PDGF	(4)
Hepatocitos L02 (humano)	Cromo hexavalente	↑ α -enolasa, peroxiredoxina, proteína tipo coactosina	(14)
Hepatocitos AML12 (ratón)	H ₂ O ₂	↑ β -gal-AS, ↑ γ H2A.X	(13)
Colangiocitos (ratón)	Deleción condicional de Mdm2 (p-53 dependiente)	p53, p27	(32)
Hepatocitos (ratón)	Deleción condicional de Mdm2 (p-53 independiente)	p21, p27, 53BP1, γ H2A.X, DCR2	(32)

Tabla 1. Ejemplos de algunos efectos observados en distintos tipos celulares hepáticos inducidos a senescencia. β -gal-AS: β -galactosidasa asociada a senescencia; γ H2A.X: histona H2AX fosforilada; p21, p53, p27: diferentes tipos de ciclinas; Ki67, proteína indicativa de proliferación; HP1 β : proteína de unión a heterocromatina; IL8/IL1 β : citocinas proinflamatorias; HMG1-C: marcador de focos de heterocromatina asociados a senescencia; TNF- α : factor de necrosis tumoral- α ; TIMP1: inhibidor tisular de metaloproteinasas; α -SMA: actina- α de músculo liso; PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas que activa fibroblastos y células estrelladas hepáticas; 53BP1 y DCR2: marcadores de senescencia.

trón de secreción similar después de ser tratados con H₂O₂, que además reproduce los cambios metabólicos observados (cambio a glicólisis, oxidación de glutamato y disminución de la autofagia) en el hígado de ratones viejos (13). Algunos de los efectos generados en hepatocitos por tratamiento con H₂O₂ pueden extenderse a otros tipos celulares hepáticos al exponerse a los medios condicionados obtenidos de los primeros (Tabla 1). En otra línea de hepatocitos de origen humano expuestos a cromo

hexavalente se encontró sobreexpresión de β -gal-AS y de la fibronectina 1, closterina y la proteína-30, marcadora de senescencia, entre otras más (14).

A nivel epigenético, las células senescentes muestran alteraciones tales como remodelación de la cromatina, pérdida de la heterocromatina (forma compacta de la cromatina que impide la transcripción), hipometilación del DNA, modificación de las histonas y cambios en la topología tridimen-

sional del genoma (15). En conjunto, el epigenoma traduce la información genética en cambios en la fisiología de los organismos. Los cambios epigenómicos que surgen con la edad conducen a efectos nocivos como son un aumento de la inflamación, fibrosis, una capacidad regenerativa reducida y a estados patológicos. El papel de los cambios en la cromatina en contextos relacionados con la edad aún no es muy conocido (16).

Papel de la senescencia celular en distintas patologías del hígado

En condiciones normales, cuando se producen células senescentes, éstas son reconocidas rápidamente y eliminadas en días o semanas por células del sistema inmune. Si la capacidad de eliminar células senescentes es sobrepasada, éstas pueden acumularse y mediante mecanismos paracrinos extender la senescencia a otras células. Las características proapoptóticas y proinflamatorias de las células senescentes presentes crónicamente, pueden propiciar destrucción de los tejidos adyacentes y distantes, de forma que también pueden afectar a células progenitoras que en otras circunstancias ayudarían a la regeneración del tejido, y eventualmente, generar procesos patológicos (17). En el tejido hepático, la senescencia puede ser benéfica, por ejemplo, en situaciones donde se desarrolla senescencia en células formadoras de cicatrices, es decir, en las células estrelladas, se produce un efecto antagónico al proceso de fibrosis hepática; asimismo, son positivos los efectos antitumorales y proregenerativos (18). ¿Pero qué papel tiene la senescencia en procesos patológicos hepáticos?

Como ya se ha comentado, la senescencia celular tiende a incrementar con la edad de los organismos. La acumulación de células senescentes tiene una estrecha relación con el desarrollo de patologías del hígado que involucran alteraciones metabólicas como las hepatitis virales crónicas, la enfermedad de hígado graso alcohólica y no alcohólica y la fibrosis hepática. Los hepatocitos senescentes pueden promover la activación y eventual senescencia de células estrelladas, aunque no se conocen los efectos de éstas (y de otras células senescentes hepáticas) sobre los hepatocitos (19). Debido a la abundancia mayoritaria de los hepatocitos en el hígado, no se recomienda inducir la senescencia en estas células.

Las células estrelladas son el tipo celular más fibrogénico en el tejido hepático y se ha estudiado extensamente su activación en modelos de fibrosis hepática inducidos con tetracloruro de carbono y dietilnitrosamina (DEN), además de su transición hacia el fenotipo senescente. Es de destacar que las

células estrelladas pueden adquirir el fenotipo senescente en correlación directa con la presencia de obesidad (20). Mediante la comunicación paracrina, los hepatocitos, las células biliares, los macrófagos, las células endoteliales sinusoidales y distintas células del sistema inmune pueden promover que las células estrelladas se activen o inhibir que esto suceda (21). Sin embargo, la inducción de células estrelladas a la senescencia, por ejemplo, con interleucina-22, permite inhibir el proceso de fibrosis hepática (22,23).

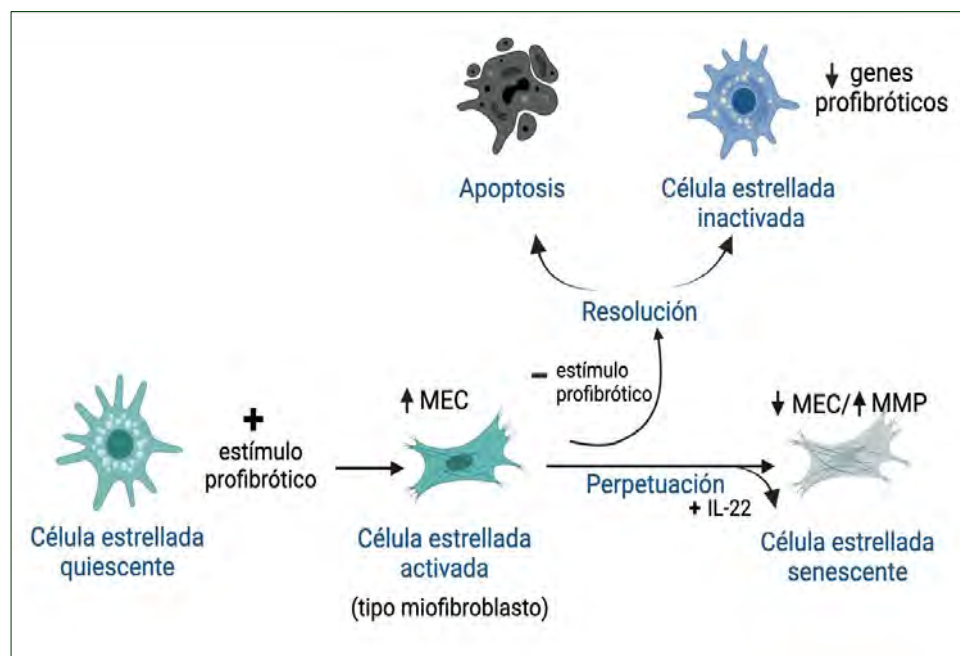
En modelos de fibrosis hepática se ha observado que después de retirar el estímulo profibrótico, el hígado puede volver a la normalidad mediante un proceso llamado resolución de la fibrosis, por el que puede eliminar las células activadas (en inglés este proceso es llamado “*clearance*”) que implica que las HSC activadas entran espontáneamente en apoptosis (en etapas tempranas de la resolución) o adopten un fenotipo inactivo que predomina hacia las etapas media y tardía del proceso (Fig. 2). El fenotipo inactivado no es equivalente al fenotipo quiescente (ni al senescente), estas células se caracterizan por mostrar una subregulación de genes profibróticos y por ser propensas a reactivarse nuevamente con otros estímulos (19). Por el contrario, si el estímulo profibrótico continúa, eventualmente las células estrelladas activadas dan origen a células senescentes en las que disminuye la producción de proteínas de MEC y aumenta la síntesis de metaloproteasas de matriz (MMP). Mediante estudios a nivel de célula única se ha determinado que existen subtipos de células estrelladas. Uno de éstos incluye a las células senescentes cuyo fenotipo secretor —dado que incluye la expresión de los genes que codifican para las interleucinas IL1A, IL1B e IL6— es claramente proinflamatorio y profibrogénico. Las células estrelladas hepáticas senescentes prácticamente no existen en el hígado sano, pero aumentan notablemente en un modelo murino y en pacientes que padecen esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (24).

Con base al hecho de que la persistencia de células estrelladas senescentes puede promover la formación de tumores, una estrategia experimental consiste en eliminarlas de manera específica mediante el uso de senolíticos como dasatinib y/o quercetina. Senolíticos como los mencionados también pueden usarse para eliminar células progenitoras hepáticas senescentes; existen otros compuestos que contribuyen a eliminar hepatocitos senescentes. En ratones viejos se ha demostrado la presencia del marcador p16 en células endoteliales sinusoidales senescentes, pero el uso de senolíticos no es recomendado porque se disminuye la capacidad de autorenovación de las células que aún no son

senescentes. La presencia de células senescentes se ha caracterizado como un factor que reduce el éxito de trasplantes de hígado por complicaciones biliares a pesar de mantener el órgano del donante en frío. En ratones donde se reproducen las etapas pre-trasplante, se han usado senolíticos que permiten una mejor preservación del hígado, lo cual también se probó en fragmentos descartados de hígados de donadores humanos (25). Con relación al potencial del uso de senolíticos como terapia en humanos (senoterapia), los primeros reportes publicados en

2019 abordaron el uso intermitente de dasatinib y quercetina (DQ) para mejorar la fibrosis pulmonar idiopática (26) y la disfunción renal asociada a diabetes (27). Recientemente se ha administrado por primera vez DQ en un ensayo clínico (fase I), para tratar a pacientes con enfermedad de Alzheimer (28). Para el caso de enfermedades que afectan al hígado, solo se ha estudiado a nivel preclínico usando un modelo en ratas en que se indujo senescencia mediante ligación del ducto biliar. En dicho trabajo se encontró que la mezcla DQ administrada a las 48 horas postcirugía, no mejoró

Figura 2. Activación de células estrelladas hepáticas y sus posibles destinos. Las células estrelladas quiescentes muestran un fenotipo fácilmente distinguible por su forma y por la presencia de gotas de vitamina A. En presencia de estímulos profibróticos, las células estrelladas se activan y dejan de ser quiescentes, además sufren una transdiferenciación que es evidente por la depleción de la vitamina A, la adquisición de actividad contráctil similar a miofibroblastos y un incremento en la síntesis de proteínas de matriz extracelular (MEC). En la etapa de resolución, condicionada a la eliminación del estímulo profibrótico, el hígado puede deshacerse de las células estrelladas activadas por apoptosis o las células pueden inactivarse. Cuando las células estrelladas se inactivan, se observa una subregulación de genes profibróticos y quedan propensas a reactivarse nuevamente con otros estímulos. Cuando el estímulo profibrótico es crónico (perpetuación), el fenotipo activado continúa y eventualmente conduce a la



senescencia celular en la cual disminuye la producción de proteínas de MEC, como colágena y aumenta la síntesis de metaloproteasas de matriz (MMP). La interleucina 22 (IL-22) es capaz de inducir a las células estrelladas a la senescencia y, por lo tanto, contribuye a inhibir el proceso de fibrosis hepática (22,23). Figura realizada con herramientas de Biorender.com

las señales de senescencia, en contraste al tratamiento con células progenitoras de hígado obtenidas de humano (29). Actualmente se encuentran en curso ensayos clínicos de fase 1 y 2 para tratar enfermedades como osteoartritis con otros senolíticos como fisetina y navitoclax (revisado por Chaib y col., 2022) (17).

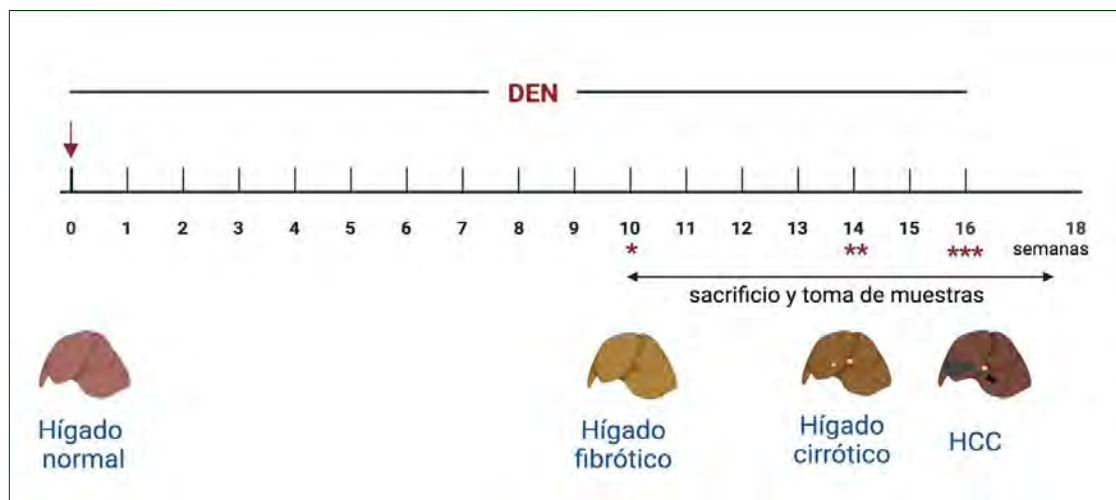
En un interesante trabajo se analizó la evolución temporal de las afectaciones al hígado en ratones inoculados con DEN por 16 semanas. En ese trabajo, mediante marcadores de senescencia y de proliferación, se determinó la participación de células tipo miofibroblastos, que corresponden a las células estrelladas activadas, y de hepatocitos, como se ilustra en la figura 3 (30).

En humanos también es clara la asociación de procesos de senescencia con patologías hepáticas. Un estudio demostró que la senescencia replicativa se presenta en un 20% de los individuos sanos y que aumenta sustancialmente a un 50% en casos de pacientes con hepatitis crónica o hasta 60% en pacientes diagnosticados con hepatocarcinomas relacionados con hepatitis C (9). Asimismo, en pacientes con cirrosis de distintos orígenes se ha observado un mayor acortamiento de telómeros en correlación con el grado de severidad de la enfermedad, independientemente de la edad. Además, se determinó que dicho acortamiento y el incremento de la β -gal-AS ocurre principalmente en hepatocitos y no en células estrelladas hepáticas, ni en linfocitos (31).

Otras patologías del hígado que involucran senescencia celular son aquellas que afectan los conductos biliares y las células residentes como son la colangitis esclerosante primaria y la colangitis biliar primaria. En este contexto, Ferreira-Gonzalez y colaboradores en 2018 desarrollaron en ratones, un modelo de delección condicional de Mdm2 (regulador negativo del supresor tumoral p53 y regulador positivo de p21 proteína río abajo de la vía de p53 y

determinante de la sobrevivencia celular) específicamente en los ductos biliares donde demostraron la presencia de colangiocitos senescentes y la inducción mediante comunicación paracrina de senescencia en hepatocitos y colangiocitos adyacentes (32). Un importante hallazgo es que al boquear la vía de señalización de TGF- β , pudieron inhibirse, al menos parcialmente, los efectos de la senescencia y mejorar la función hepática.

Figura 3. Cronología de la aparición de células senescentes durante el desarrollo de hepatocarcinoma (HCC) por tratamiento de ratas con dietilnitrosamina (DEN). La inoculación intraperitoneal de ratas una vez por semana con DEN por 16 semanas, produjo efectos notables relacionados con el deterioro del hígado evaluado mediante varios marcadores (GGT, colágena, β -gal-AS, γ H2A.X y otros) y análisis histopatológico. A primera vista, desde los 10 días de tratamiento son lesiones nodulares visibles que empeoran con el tiempo. Bajo este tratamiento se determinó la senescencia evaluada por cuantificación de β -gal-AS mayoritariamente en células tipo miofibroblastos, seguida por hepatocitos. Paralelamente, el marcador de proliferación Ki67 mostró que los hepa-



tocitos proliferan a partir de las 10 semanas de tratamiento en tanto que las células tipo miofibroblastos son senescentes. * daños iniciales; ** daños crecientes; *** daños máximos. Figura realizada con base en lo reportado por Pacheco Rivera y colaboradores, 2016 (30). Figura realizada con herramientas de Biorender.com

Otros tipos celulares afectados con la edad son las células endoteliales sinusoidales que una vez senescentes pierden sus fenestraciones típicas, se engrosa el endotelio, se deposita colágena, lo que conduce a una desregulación sinusoidal. La senescencia en células de Kupffer ha sido poco estudiada, pero recientemente se reportó que estas células en estado senescente secretan IL-1 β que es regulada por el micro RNA miR-7 (33).

Conclusión

Hoy en día, se reconoce que el fenotipo secretor asociado a senescencia representa características heterogéneas y dinámicas que pueden resultar en efectos benéficos o perjudiciales para las células, pero los eventos que lo disparan y su comporta-

miento en condiciones de salud y enfermedad aún no se conocen. En el contexto hepático, los fenómenos de senescencia son vitales tanto en salud como en condiciones patológicas. El uso terapéutico de senolíticos como dasatinib, quercetina y otros más, de manera amplia en la clínica, estará condicionado a conocer a profundidad su efectividad, especificidad, sus posibles efectos colaterales, y al desarrollo de ensayos rigurosos con número suficiente de pacientes para obtener resultados más confiables que superen la etapa preclínica.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser un motor de difusión de la cultura.

Referencias

1. Delgado-Coello B. Liver regeneration observed across the different classes of vertebrates from an evolutionary perspective. *Heliyon*. 2021; 7(3):e06449.

2. Hayflick L, Moorehead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Res.* 1961; 25(3):585-621.
3. Kumari R, Jat P. Mechanisms of cellular senescence; cell cycle arrest and senescence associated secretory phenotype. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9:645593.
4. Wijayasiri P, Astbury S, Kaye P, Oakley F, Alexander GJ, Kendall TJ, Aravinthan AD. Role of hepatocyte senescence in the activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis progression. *Cells.* 2022; 11(4):2221.
5. Suda K, Moriyama Y, Razali N, Chiu Y, Masukagami Y, Nishimura K, Barbee H, Takase H, Sugiyama S, Yamazaki Y, Sato Y, Higashiyama T, Johmura Y, Nakanishi M, Kono K. Plasma membrane damage limits replicative lifespan in yeast and induces premature senescence in human fibroblasts. *Nat Aging.* 2024; 4(3):319-335.
6. Kuehnemann C, Wiley CD. Senescent cells at the crossroads of aging, disease, and tissue homeostasis. *Aging Cell.* 2024; 23:e13988.
7. Muñoz-Espín D, Cañamero M, Maraver A, Gómez-López G, Contreras J, Murillo-Cuesta S, Rodríguez-Baeza A, Varela-Nieto I, Ruberte J, Collado M, Serrano M. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell.* 2013; 155:1104-1118.
8. Mitaka T, Ichinohe N, Tanimizu N. "Small hepatocytes" in the liver. *Cells.* 2023; 12:2718.
9. Paradis V, Youssef N, Dargère D, Bâ N, Bonvoust F, Deschatrette J, Bedossa P. Replicative senescence in normal liver, chronic hepatitis C, and hepatocellular carcinomas. *Human Pathol.* 2001; 32(3):327-332.
10. Huda N, Liu G, Hong H, Yan S, Khambu B, Yin X-M. Hepatic senescence, the good and the bad. *World J Gastroenterol.* 2019; 25(34):5069-5081.
11. Herranz N, Gil J. Mechanisms and function of cellular senescence. *J Clin Invest.* 2018; 128(4):1238-1246.
12. Irvine KM, Skoien R, Bokil NJ, Melino M, Thomas GP, Loo D, Gabrielli B, Hill MM, Sweet MJ, Clouston AD, Powell EE. Senescent human hepatocytes express a unique secretory phenotype and promote macrophage migration. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(47):17851-17862.
13. Singh BJ, Tripathi M, Sandureddy R, Tikno K, Zhou J, Yen PM. Decreased autophagy and fuel switching occur in a senescent hepatic cell model system. *Aging.* 2020; 12(14):13958-13978.
14. Ma Y, Liang Y, Liang N, Zhang Y, Xiao F. Identification and functional analysis of senescence-associated secretory phenotype of premature senescent hepatocytes induced by hexavalent chromium. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021; 211:111908.
15. Muthamil S, Kim H-Y, Jang H-J, Lyu J-H, Shin UC, Go Y, Park S-H, Lee HG, Park JH. Biomarkers of senescence and aging: current state-of-the-art. Challenges and future perspectives. *Adv Biol.* 2024; 8:2400079.
16. Yang N, Ocean JR, Melters DP, Shi C, Wang L, Stransky S, Doyle ME, Cui C-Y, Delannoy M, Fan J, Slama E, Egan JM, De S, Cunningham SC, de Cabo R, Sidoli S, Dalal Y, Sen P. A hyper-quiescent chromatin state formed during aging is reversed by regeneration. *Mol Cell.* 2023; 83(10):1659-1676.
17. Chaib S, Tchkonja T, Kirkland JL. Cellular senescence and senolytics: the path to clinic. *Nat Med.* 2022; 28:1556-1568.
18. Ferreira-Gonzalez S, Rodrigo-Torres D, Gad VL, Forbes SJ. Cellular senescence in liver disease and regeneration. *Semin Liver Dis.* 2021; 41:50-66.
19. Zhang M, Serna-Salas S, Damba T, Borghesan M, Demaria M, Moshage H. Hepatic stellate cell senescence in liver fibrosis: characteristics, mechanisms and perspectives. *Mech Ageing Dev.* 2021; 199:111572.
20. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, Honda K, Ishikawa Y, Hara E, Ohtani N. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature.* 2013; 499(7456):97-101.
21. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 14(7):397-411.
22. Kong X, Feng D, Wang H, Hong F, Bertola A, Wang F-S, Gao B. Interleukin-22 induces hepatic stellate cell senescence and restricts liver fibrosis in mice. *Hepatology.* 2012; 56(3):1150-1159.
23. Chen E, Cen Y, Lu D, Luo W, Jiang H. IL-22 inactivates hepatic stellate cells via downregulation of the TGF- β 1/Notch signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2018; 17:5449-5453.
24. Yashaswini CN, Qin T, Bhattacharya D, Amor C, Lowe S, Lujambio A, Wang S, Friedman SL. Phenotypes and ontogeny of senescent hepatic stellate cells in metabolic dysfunction-associated steatohepatitis. *J Hepatol.* 2024; 81(2):207-217.

- 25.** Ferreira-Gonzalez S, Man TY, Esser H, Aird R, Kilpatrick AM, Rodrigo-Torres D, Younger N, Campana L, Gadd VL, Dwyer B, Aleksieva N, Boulter L, Macmillan MT, Wang Y, Mylonas KJ, Ferenbach DA, Kendall TJ, Lu W-Y, Acosta JC, Kurian D, O'Neill S, Onicsu GC, Banales JM, Krimpenfort PJ, Forbes SJ. Senolytic treatment preserves biliary regenerative capacity lost through cellular senescence during cold storage. *Sci Transl Med.* 2022; 14:eabj4375.
- 26.** Justice JN, Nambiar AM, Tchkonina T, LeBrasseur NK, Pascual R, Hashmi SK, Prata L, Masternak MM, Kritchevsky SB, Musi N, Kirkland JL. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. *EBioMedicine.* 2019; 40:554-563.
- 27.** Hickson LJ, Langhi Prata LGP, Bobart SA, Evans TK, Giorgadze N, Hashmi SK, Herrmann SM, Jensen MD, Jia Q, Jordan KL, Kellogg TA, Khosla S, Koerber DM, et al. Senolytics decrease senescent cells in humans: Preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine.* 2019; 47:446-456.
- 28.** Gonzales MM, Garbarino VR, Kautz TF, Palavicini JP, Lopez-Cruzan M, Dehkordi SK, Mathews JJ, Zare H, Xu P, Zhang B, Franklin C, Habes M, Craft S, Petersen RC, Tchkonina T, Kirkland JL, Salardini A, Seshadri S, Musi N, Orr ME. Senolytic therapy in mild Alzheimer's disease: a phase 1 feasibility trial. *Nat Med.* 2023; 29:2481-2488.
- 29.** Jannone G, Bonaccorsi Riani E, de Magnée C, Tambucci R, Evraerts J, Ravau J, Baldin P, Bouzin C, Lorient A, Gatto L, Decottignies A, Najimi M, Sokal EM. Senescence and senotherapies in biliary atresia and biliary cirrhosis. *Aging (Albany NY).* 2023; 15(11):4576-4599.
- 30.** Pacheco-Rivera R, Fattel-Fazenda S, Arellanes-Robledo J, Silva-Olivares A, Alemán-Lazarini L, Rodríguez-Segura M, Pérez-Carreón J, Villa-Treviño S, Shibayama M, Serrano-Luna J. Double staining of β -galactosidase with fibrosis and cancer markers reveals the chronological appearance of senescence in liver carcinogenesis induced by diethylnitrosamine. *Toxicol Lett.* 2016; 241:19-31.
- 31.** Wiemann SU, S Satyanarayana A, Tsahuridu M, Tillmann HL, Zender L, Klempnauer J, Flemming P, Franco S, Blasco MA, Manns MP, Rudolph KL. Hepatocyte telomere shortening and senescence are general markers of human liver cirrhosis. *FASEB J.* 2002; 16:935-942.
- 32.** Ferreira-Gonzalez S, Lu WY, Raven A, Dwyer B, Man TY, O'Duibhir E, Lewis PJS, Campana L, Kendall TJ, Bird TG, Tarrats N, Acosta JC, Boulter L, Forbes SJ. Paracrine cellular senescence exacerbates biliary injury and impairs regeneration. *Nat Commun.* 2018; 9(1):1020.
- 33.** Wang Y, Qiu H, Chen S, Li D, Zhao X, Guo M, Li N, Chen C, Qin M, Zhou Y, Xiao D, Zhao J, Xu L. MicroRNA-7 deficiency ameliorates D-galactose-induced aging in mice by regulating senescence in Kupffer cells. *Aging Cell.* 2024; e14145.