

Teorie dell'invecchiamento

The aging theories

N. FERRARA * **, G. CORBI ** ***, D. SCARPA ****, G. RENGO **, G. LONGOBARDI **, F. MAZZELLA ****, F. CACCIATORE **, F. RENGO ** *****

* Dipartimento di Scienze per la Salute, Università degli Studi del Molise; ** Fondazione "Salvatore Maugeri", Istituto Scientifico di Telesse/Campoli, IRCCS, Telesse Terme; *** Dip. di Gerontologia, Geriatria e Malattie del Metabolismo, Seconda Università di Napoli; **** Dip di Medicina Sperimentale, Sezione di Fisiologia Umana, Seconda Università di Napoli; ***** Dip. di Medicina Clinica e Scienze Cardiovascolari ed Immunologiche, Cattedra di Geriatria, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Parole chiave: Invecchiamento • Longevità • Teorie

Keywords: Aging • Longevity • Theory

Introduzione

Nel XVIII secolo Lamarck differenziò due tipi di mortalità: morte accidentale (malattie, predazione ed incidenti) *vs* morte naturale (invecchiamento), postulando che l'invecchiamento sia dovuto a cause intrinseche. Un avanzamento nella comprensione dell'invecchiamento venne un secolo più tardi quando Weismann ¹ ipotizzò che l'attività cellulare normale è dannosa per l'organismo e porta alla sua distruzione sia direttamente che indirettamente (aumentata suscettibilità alla morte accidentale) ².

Negli ultimi decenni l'allungamento della vita media e della sua durata massima, l'elevata prevalenza di soggetti anziani nella popolazione generale, specialmente nei paesi sviluppati, e l'incremento della spesa sanitaria e sociale ascrivibile alla cura ed all'assistenza degli anziani hanno stimolato, sia nei ricercatori dell'area economico-sociale che in quelli dell'area biomedica, un particolare interesse nello studio dei processi dell'invecchiamento ^{3,4}. Tale elemento diviene ancora più importante per quanto si sta osservando nei paesi in via di sviluppo dove, pur non essendo state sconfitte nella loro globalità le classiche malattie infettive, si assiste ad un aumento significativo delle malattie croniche ad elevato rischio di disabilità tipiche della popolazione anziana.

Basandosi sull'evidenza che molti meccanismi possono interagire simultaneamente operando a diversi livelli di organizzazione funzionale, la visione dell'invecchiamento come processo multifattoriale complesso ha sostituito le precedenti teorie "monofattoriali" che vedevano una singola causa come responsabile di tale fenomeno ⁵. Di fatto molte teorie singolarmente possono spiegare alcuni dei fenomeni che caratterizzano un invecchiamento cosiddetto "fisiologico", ma non possono dare ragione del processo nella sua globalità.

■ Corrispondenza: Prof. Nicola Ferrara, Dipartimento di Scienze per la Salute Università del Molise, Fondazione "Salvatore Maugeri", IRCCS, Istituto Scientifico di Telesse/Campoli, via dei Bagni Vecchi, 82037 Telesse Terme (BN) - Tel.: +39 082 4909601 - Fax: +39 082 4909603 - E-mail: nferrara@fsm.it, graziamariacorbi@libero.it

La definizione di invecchiamento di per sé è aperta a varie interpretazioni, sebbene possa essere condivisa la raffigurazione di tale processo come la somma di tutti i cambiamenti fisiologici, genetici e molecolari che si verificano con il passar del tempo, dalla fertilizzazione alla morte^{6,7}.

Le modificazioni età-dipendenti possono essere attribuite al naturale processo di crescita, a difetti genetici legati all'individuo, al rapporto tra genotipo ed ambiente, allo svilupparsi di malattie ed all'invecchiamento, che di per sé rappresenta il maggior fattore di rischio per malattie e morte dopo i 28 anni nei paesi sviluppati. L'invecchiamento è, dunque, caratterizzato da un complesso di mutamenti che aumentano il rischio di malattia e di morte⁸. Una recente definizione amplia ancor di più tale concetto riconoscendo l'invecchiamento come una trasformazione che coinvolge l'organismo in ogni tempo, riferendosi non solo a cambiamenti associati alla perdita (ossia alla senescenza, che è la definizione più comunemente accettata per invecchiamento), ma anche all'acquisizione di funzioni (crescita e sviluppo). Usando tale definizione, la velocità di invecchiamento sarebbe sinonimo di velocità di cambiamento. Infatti la velocità di cambiamento/invecchiamento è massima durante il periodo fetale, quando l'organismo si sviluppa da singola cellula (all'atto del concepimento) a complesso organismo multicellulare alla nascita. Pertanto, l'*invecchiamento fetale* sarebbe determinato da fattori che regolano la rapidità di mitogenesi, differenziazione e morte cellulare e che sono responsabili della regolazione dell'invecchiamento durante tutto l'arco della vita⁹.

Sul piano teorico i meccanismi di base sono quelli relativi alla *teoria dell'invecchiamento programmato* (secondo cui la durata della vita dipenderebbe da geni che sequenzialmente inviano e bloccano segnali ai sistemi nervoso, endocrino ed immune) ed alla *teoria dell'errore* (in cui gli insulti ambientali sarebbero responsabili del danno progressivo a vari livelli degli organismi viventi). Negli organismi multicellulari complessi (dove i singoli meccanismi possono sovrapporsi a vari livelli di organizzazione) lo studio delle interazioni tra cause intrinseche (genetiche), estrinseche (ambientali) e stocastiche (danno casuale di molecole) permette un più corretto approccio per la comprensione del processo dell'invecchiamento⁴.

Al di là delle singole teorie che cercano di spiegare in modo più o meno completo il processo dell'invecchiamento possiamo trarre conclusioni comuni a tutte le teorie: 1) la ridondanza è un elemento chiave per la comprensione dell'invecchiamento:

sistemi che sono ridondanti per numero di elementi non sostituibili (cellule post-mitotiche), vanno incontro a deterioramento (invecchiamento) nel tempo, anche se costituiti da elementi eterni; 2) la velocità d'invecchiamento o l'espressione fenotipica dell'invecchiamento (misurata anche come mortalità) è maggiore per i sistemi con livelli maggiori di ridondanza; 3) l'esaurimento della ridondanza nel corso della vita spiega la legge compensatoria della mortalità (convergenza della mortalità ad età avanzata) così come la decelerazione della mortalità a tarda età, ed i *plateau* di mortalità; 4) gli organismi viventi sembrano essere formati con un alto carico di danno iniziale, e perciò i pattern della loro durata di vita e d'invecchiamento possono essere sensibili nelle prime fasi di vita alle condizioni che determinano il carico di danno durante lo sviluppo¹⁰.

Nella presente trattazione saranno prese in considerazione e discusse le teorie più accreditate quali la: a) teoria della regolazione genica; b) teoria evolutivista; c) teoria dei radicali liberi (RL); d) teoria della senescenza cellulare; e) teoria neuroendocrina; f) teoria immunitaria; g) teoria del doppio agente.

Teoria della regolazione genica

Le modificazioni nell'espressione genica indotte dall'invecchiamento sono alla base della teoria della regolazione genica¹¹ della senescenza. Tuttavia, sebbene sia chiaro che molti geni vanno incontro a modificazioni dell'espressione con l'età¹²⁻¹⁴, è improbabile che la selezione naturale possa agire su geni che promuovano direttamente la senescenza¹⁵ influenzando, piuttosto, la selezione di geni che promuovono la longevità.

Recenti osservazioni, che hanno rilevato come ad età molto avanzate la variabilità genetica declini, contraddicono la teoria della regolazione genica in cui i modelli genetici d'invecchiamento predicono un incremento della variabilità genetica con l'età. Se la variabilità genetica nello sforzo riproduttivo coinvolge la variabilità genetica nella mortalità, il declino dello sforzo riproduttivo a tarda età dovrebbe portare ad una riduzione della variabilità genetica nella mortalità. Partendo da tali presupposti Snoke et al hanno dimostrato che la variabilità per mortalità e fertilità declina in età avanzata¹⁶.

Per meglio definire quali siano i cambiamenti che si verificano con l'invecchiamento, in molti modelli animali, è stata utilizzata la metodica di *micro-ar-*

ray del DNA^{12-14 17}, che con un'analisi a livello genico ha permesso di comporre un'impronta digitale trascrizionale dell'invecchiamento "normale", e di confrontare tali dati con quelli di condizioni che rallentano o accelerano l'invecchiamento, permettendo l'identificazione di cambiamenti nell'espressione genica associati al processo d'invecchiamento^{12-14 18}. In tal senso, una delle evidenze più interessanti è stata l'identificazione di una via di trasmissione del segnale *Insulin-like*, che regola la durata di vita di vermi, moscerini e topi¹⁹. La durata di vita di tali specie è il risultato dell'attivazione di un fattore trascrizionale, in risposta alla riduzione del segnale *Insulin-like*, indicando che tale attivazione genica può regolare la durata di vita di alcuni organismi. Inoltre è stato dimostrato che nel *Caenorhabditis elegans* il segnale insulinico regola la durata di vita oltre che la riproduzione, il metabolismo e l'attività del gene protettivo contro i RL. Il coinvolgimento di ormoni ad azione simile all'insulina suggerisce che la plasticità (ossia la capacità di modificare la propria funzione in relazione alla domanda) nella durata di vita possa essere dovuta a variazioni nel tempo di rilascio di ormoni che controllano la vita e la morte, così come variazioni nella risposta a tali ormoni. Un'analisi del pedigree dell'invecchiamento umano può rivelare variazioni nei geni del *pathway* insulinico e dei sistemi accoppiati che regolano l'invecchiamento degli invertebrati, portando all'identificazione di circuiti predisposti in epoca ancestrale alla regolazione della longevità²⁰.

Anche nell'uomo studi su centenari e loro parenti hanno permesso di identificare un coinvolgimento genetico nella longevità. In uno studio sui centenari è stato visto che la longevità sarebbe l'effetto di fattori genetici, piuttosto che ambientali o socioeconomici^{21 22}. In particolare, Puca et al supportano l'ipotesi che la longevità estrema sia correlata ad una componente genetica, identificabile con geni promotori la longevità posti su un *locus* del cromosoma^{4 23}.

Teoria evolucionistica

La teoria evolucionistica ipotizza che l'invecchiamento sia dovuto ad una riduzione delle capacità di selezione naturale. Poiché l'evoluzione agisce in modo da ottimizzare le capacità riproduttive di una specie, la longevità è un tratto genetico che dovrebbe essere selezionato solo se è a beneficio della riproduzione. Pertanto, la durata della vita sarebbe il risultato di pressioni selettive finalizzate all'in-

cremento delle capacità riproduttive con un ampio grado di flessibilità inter- ed intra- specie.

La teoria evolucionistica fu formulata per la prima volta negli anni '40, basandosi sull'osservazione che la malattia di Huntington, una mutazione dominante mortale, permaneva nella popolazione, sebbene fortemente sfavorevole dal punto di vista selettivo²⁴. La tarda età di comparsa della malattia di Huntington (30-40 anni) permette al portatore di riprodursi prima di morire, rendendo la malattia non soggetta alla selezione naturale.

Tale osservazione ha ispirato la *teoria dell'accumulo delle mutazioni* dell'invecchiamento, la quale suggerisce che mutazioni dannose, agenti tardivamente, possano accumularsi nella popolazione ed alla fine portare a malattia e senescenza²⁵. Ad oggi vi sono limitate evidenze sperimentali che supportano tale teoria²⁶.

Nell'ambito della teoria evolucionistica si è sviluppata la *teoria dell'invecchiamento dei corpi eliminabili*, secondo la quale l'organismo vive solo per il successo riproduttivo, raggiunto il quale è eliminabile. Secondo tale teoria la senescenza è la conseguenza di una riduzione nell'energia investita nei processi di mantenimento e di riparazione cellulare (mantenimento dei corpi), poiché sarebbe più vantaggioso investire nella riproduzione²⁷. Recentemente sono stati identificati vari geni le cui modificazioni condizionano la durata di vita di alcuni animali, la maggior parte dei quali sono correlati al metabolismo energetico (specialmente l'insulina, l'IGF-1 ed i loro recettori). Inoltre, è stato dimostrato che vi è una modificazione delle vie metaboliche durante l'invecchiamento, il cui risultato finale è un potenziamento delle vie di immagazzinamento e riduzione delle vie di utilizzo dell'energia. Tali rilievi suggeriscono che l'invecchiamento è una strategia designata dalla selezione naturale al risparmio energetico, in accordo ad altre strategie volte in tal senso. In tal modo l'energia non utilizzata può essere dedicata alla progenie per migliorare la sua sopravvivenza pre-riproduttiva²⁸.

Comunque, la teoria dei corpi eliminabili chiarisce perché si vive per un periodo di tempo, ma non spiega la causa specifica dell'invecchiamento. Al contrario la *teoria dell'antagonismo pleiotropico* suggerisce che alcuni geni possano essere selezionati per effetti benefici nella prima parte della vita e poi avere effetti deleteri indesiderati con l'invecchiamento, contribuendo, pertanto, direttamente alla senescenza. In base a tale teoria la selezione naturale ha favorito geni che conferiscono benefici a breve termine all'organismo a costo di effetti

dannosi nelle fasi successive²⁷. L'antagonismo tra riproduzione e longevità è supportato da esperimenti in cui, limitando la riproduzione mediante distruzione di linee di cellule germinali, si può prolungare la vita sia della *Drosophila* che del *Caenorhabditis elegans*^{29,30}. Recenti sviluppi teorici hanno fornito, comunque, nuovi mezzi per differenziare tra i modelli di senescenza da accumulo di mutazioni e di pleiotropia antagonista¹⁶.

È interessante osservare che negli esseri umani, la crescita e la normale funzione della ghiandola prostatica, necessaria per l'ottimale capacità riproduttiva maschile, sono promosse dagli androgeni, gli ormoni gonadici maschili, mentre negli anziani questi stessi ormoni possono essere responsabili del carcinoma prostatico, una delle maggiori cause di morte negli anziani. Tuttavia, la relazione tra longevità e fecondità non è assoluta; infatti in alcune specie di *Drosophila longeva* non si osserva perdita della capacità riproduttiva³¹ e tartarughe longeve continuano a riprodursi per più di 60 anni³². Inoltre, insetti eusociali, come le formiche, cooperano nel supportare una singola regina. La regina, protetta dall'ambiente e curata dalle formiche operaie, da vita a centinaia ed anche migliaia di discendenti ogni giorno e, in alcuni casi, vive per 30 anni³³, a differenza di insetti non eusociali che hanno una vita media che non supera alcuni mesi.

I pipistrelli sono un ottimo esempio della teoria evoluzionistica dell'invecchiamento, poiché la loro longevità estrema è predetta dalla loro capacità di volare e, in alcune specie, di ibernarsi. Essi mostrano anche alternanza tra longevità e riproduzione, come predetto dalla teoria dei corpi eliminabili dell'invecchiamento. Infatti, organismi ad alta mortalità beneficiano di un'elevata e rapida capacità riproduttiva, mentre organismi caratterizzati da una bassa mortalità investono nel mantenimento somatico ed estendono la capacità riproduttiva in una più lunga durata di vita^{34,35}. Tra i pipistrelli la longevità è minore in specie con alta frequenza riproduttiva^{36,38} e precoce maturazione sessuale³⁶. Tuttavia in alcune specie la longevità si correla alla longevità replicativa, alla bassa attività di calpaina cerebrale (una proteasi che rimodella e disassembla il citoscheletro) ed ad una ridotta produzione di specie di ossigeno reattivo (ROS)³⁹. Questo dato sembra caratterizzare anche l'uomo. Infatti, in un recente lavoro Gavrilova et al hanno dimostrato come un'eccezionale longevità nelle donne non si associ ad aumentata incidenza di infertilità, dimostrando che anche nell'uomo il concetto di longevità umana prescinde da quello di sterilità⁴⁰.

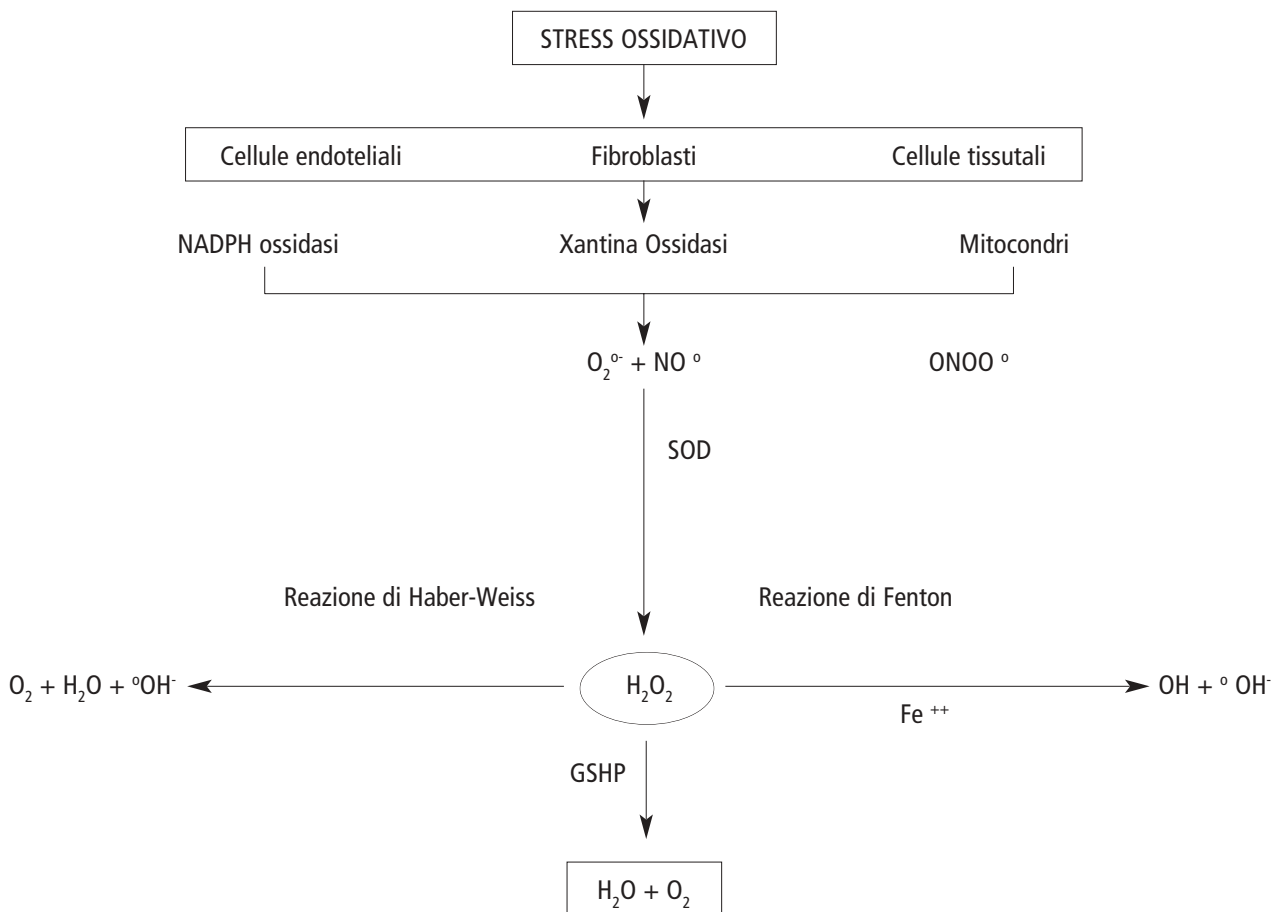
Teoria dei radicali liberi (RL)

La teoria dei RL dell'invecchiamento fu proposta per la prima volta nel 1957⁴¹ e si basa sull'evidenza che tutti gli organismi vivono in un ambiente contenente ROS: la respirazione mitocondriale, la base della produzione d'energia in tutti gli eucarioti, genera ROS per fuoriuscita di intermedi dalla catena di trasporto degli elettroni⁴². La natura universale dei RL ossidati è sottolineata anche dalla presenza di Superossido Dismutasi (SOD), un enzima presente in tutti gli organismi aerobi, che deossida esclusivamente anioni superossidi⁴². La teoria dei RL ipotizza che la reattività dei RL non è ereditaria ma è il risultato di un danno cumulativo correlato al tempo. Il danno ossidativo cellulare è indiscriminato, come dimostra l'evidenza di modificazioni in senso ossidativo di molecole di DNA, proteine e lipidi⁴³, con elevati livelli di ossidazione sia di DNA che di proteine ad ogni livello di complessità dell'organismo invecchiato^{3,44}.

Per comprendere come i RL possano essere coinvolti nella genesi dell'invecchiamento di numerosi organi ed apparati bisogna considerare la produzione ed il destino delle ROS a livello dei tessuti. Le ossidasi ed i mitocondri rappresentano le fonti maggiori di ROS, che comprendono molecole altamente reattive quali l'anione superossido. Il destino di tale molecola dipende dall'equilibrio totale tra ossidazione e riduzione a livello cellulare, regolato dalle SOD, che generano H₂O₂, generalmente trasformata in H₂O mediante reazione enzimatica catalizzata da una catalasi o dalla glutatione perossidasi. Quando la produzione di superossido anione o di H₂O₂ è tale da saturare completamente la capacità riduttiva, rispettivamente, delle SOD o della glutatione perossidasi, tali molecole divengono il substrato per la formazione di molecole altamente reattive (attraverso la reazione di Fenton, in presenza di ferro bivalente, e/o di Haber-Weiss), responsabili di danno cellulare e tissutale. L'anione superossido può reagire con l'ossido nitrico in una reazione limitata alla diffusione per generare perossinitrito, che è esso stesso una potente ROS. La capacità di diffusione della maggior parte delle ROS è limitata dalla loro insolubilità lipidica, e pertanto la loro azione è generalmente confinata al compartimento intracellulare di produzione. Al contrario il H₂O₂ può diffondere attraverso le membrane cellulari e perciò può agire in sedi più distanti⁴⁵ (Fig. 1).

Tale teoria propone che la produzione mitocondriale di ROS controlli la velocità d'invecchiamento. In base a tale ipotesi, specie longeve produco-

Fig. 1. Genesi e destino delle ROS. Le cellule endoteliali, i fibroblasti e le cellule tissutali sono le sedi colpite dallo stress ossidativo. Le ossidasi ed i mitocondri sono le principali fonti di ROS, molecole altamente reattive come l'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$). Il destino di tali molecole dipende dall'equilibrio riduttivo cellulare, regolato da enzimi scavenger quali le Superossido Dismutasi (SOD), che generano perossido di idrogeno (H_2O_2), che è a sua volta trasformato da una catalasi o dalla glutazione perossidasi (GSHP) in H_2O ed O_2 . Quando la capacità di riduzione degli enzimi scavenger è saturata per eccessiva produzione di RL, le specie reattive vengono veicolate verso altre reazioni enzimatiche, quali la reazione di Fenton che richiede come cofattore una molecola di Fe^{2+} , e la reazione di Haber-Weiss, con conseguente produzione di altri ROS molto potenti come l'idrossile ($^{\cdot}OH$). Inoltre l'anione superossido può reagire con l'ossido nitrico in una reazione limitata alla diffusione per generare perossinitrito, che è esso stesso un potente ROS.



no meno ROS di specie a vita breve, e roditori sottoposti a restrizione calorica vivono più a lungo e producono meno ROS dei controlli ⁴⁶.

Sebbene sia chiaro che il danno ossidativo si accumula con l'invecchiamento, non è chiaro se questo processo contribuisca all'invecchiamento di tutti gli organismi ^{42,43}. A tal proposito, in un recente lavoro Miwa et al hanno dimostrato che nella *Drosophila melanogaster* la restrizione calorica allungava la durata di vita, ma non vi era una significativa differenza in produzione mitocondriale di ROS se confrontata ai controlli, ipotizzando che tra du-

rata di vita e produzione mitocondriale di ROS non vi è correlazione ⁴⁶.

Ancora, Brunet Rossini ha dimostrato come una specie longeva di pipistrello produca approssimativamente metà del quantitativo di perossido di idrogeno di un pipistrello a breve vita. Infatti, comparando il consumo di ossigeno e la produzione di perossido di idrogeno di anziani e giovani di pipistrelli longevi, per valutare il danno ossidativo mitocondriale dovuto all'alto metabolismo associato al volo, i giovani mostravano livelli significativamente più alti di produzione di perossido di idro-

geno rispetto agli adulti. Secondo tale autore, quindi, la ridotta produzione di RL negli adulti è il risultato di una selezione, nell'individuo, dei mitocondri efficienti, dovuta alla pressione selettiva creata dall'alta domanda energetica richiesta dal volo, senza correlazione con l'invecchiamento⁴⁷.

Evidenze contrarie mostrano che vi è un allungamento della durata di vita nelle *Drosophila* transgeniche che esprimono SOD⁴⁸, indicando che la presenza di enzimi in grado di ridurre i RL sono sufficienti a ritardare l'invecchiamento. Inoltre, moscerini selezionati per longevità hanno elevati livelli di SOD ed aumentata resistenza allo stress ossidativo⁴⁹. Vermi mutanti longevi sono anche resistenti allo stress ossidativo e mostrano un aumento età-dipendente dell'attività della SOD e della catalasi⁵⁰. L'allungamento della durata di vita di *Caenorhabditis elegans*, mediante molecole sintetiche che mimano le SOD/catalasi, dimostra che composti antiossidanti possono ritardare l'invecchiamento nei vermi⁵¹.

In epoca recente, l'ipotesi che ROS generate dai mitocondri giochino un ruolo nell'invecchiamento organico è stata direttamente testata sia in sistemi di modelli di invertebrati sia di mammiferi; sebbene in questi ultimi l'effetto dello stress ossidativo sulla durata di vita non sia ben chiaro, vi sono evidenze che il trattamento antiossidante protegga contro il declino funzionale età-correlato, anche per quanto riguarda il deficit cognitivo⁵².

È stato dimostrato, infatti, che antiossidanti dietetici possono ridurre l'accumulo di molecole ossidate in topi, anche se non sono capaci di allungarne la vita media⁴³. Di contro, roditori con mutazioni della SOD sono molto malati e muoiono prematuramente, sebbene un'iperespressione ubiquitaria di SOD non ne prolunghi la vita, indicando che tale enzima non regola la longevità⁵³.

Inoltre, è stato dimostrato che l'esposizione cronica a radiazioni ionizzanti, che generano RL, causa un riproducibile aumento della durata di vita in roditori⁵⁴. L'effetto di stimolo dell'irradiazione cronica sulla longevità può essere spiegato, se si pensa che l'esposizione radioattiva provoca stabile attivazione delle difese cellulari. Un simile stimolo condizionante può portare ad una risposta compensatoria positiva, che protegge contro il danno ossidativo ed aumenta la durata di vita²⁴.

La restrizione calorica è un intervento che prolunga la durata di vita di quasi tutti gli organismi in cui è stata attuata. In roditori, la restrizione calorica riduce la genesi di ROS da preparazioni mitocondriali isolate ed attenua l'accumulo di danno ossidativo⁵⁵. In tal senso, la teoria dei RL può fornire

un'affascinante spiegazione degli effetti pro-longevità della restrizione calorica (il ridotto introito calorico riduce il metabolismo e la produzione di ROS).

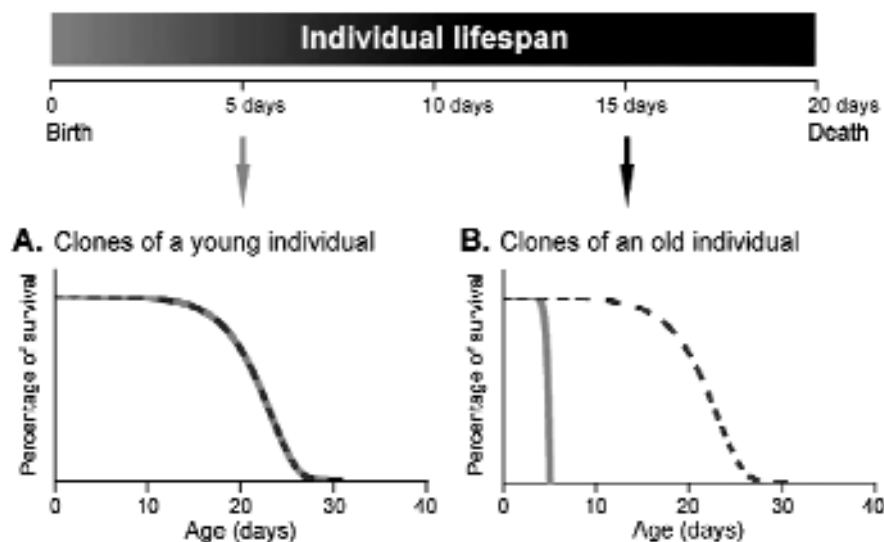
La teoria dei RL è ulteriormente articolata in molte ipotesi, che si focalizzano sull'esclusivo ruolo dei mitocondri e tipi di molecole danneggiate nel processo d'invecchiamento. Una di queste ipotesi presuppone che mutazioni del DNA mitocondriale (mtDNA) accelerino il danno da RL mediante l'introduzione di componenti enzimatiche alterate nella catena di trasporto degli elettroni. Il danneggiamento del trasporto degli elettroni provoca un'elevata fuoriuscita di RL e, alla fine, più mutazioni di mtDNA ed esacerbata produzione ossidante. Questo circolo vizioso di mutazioni e produzione di ossidanti alla fine porta alla catastrofe cellulare, al decadimento organico ed alla senescenza⁵⁶.

Evidenze sperimentali dimostrano una relazione tra disfunzione della catena respiratoria, danno da ROS ed invecchiamento nella maggior parte degli organismi, sebbene il coinvolgimento di mutazioni del mtDNA nel processo d'invecchiamento sia ancora dibattuto. In tal senso, Dufour et al, utilizzando mutanti murini con incrementati livelli di mutazioni somatiche di mtDNA che causano un progressivo decadimento della funzione della catena respiratoria ed invecchiamento prematuro, hanno dimostrato che l'invecchiamento può essere provocato da un singolo evento primario che porta ad una serie di effetti e cause secondarie² (Fig. 2).

Un'altra ipotesi teorizza che i RL causino invecchiamento quando proteine ossidate si accumulano nelle cellule. Una riduzione età-correlata nella capacità di degradare proteine modificate ossidativamente può contribuire allo sviluppo nella cellula di molecole danneggiate, non funzionanti⁵⁷. In particolare, lo stress ossidativo è ritenuto un elemento importante nel processo d'invecchiamento, perché colpisce principalmente cellule longeve postmitotiche come i cardiomiociti ed i neuroni. Le cellule invecchiate accumulano mitocondri mutati ed ingranditi, così come un pigmento intralisosomiale non degradabile, la lipofuscina.

Terman et al hanno dimostrato che il contenuto in lipofuscina, che varia drasticamente da cellula a cellula, si correla positivamente al danno mitocondriale (valutato come ridotto potenziale di membrana), così come alla produzione di ROS. Gli autori suggeriscono che l'accumulo di lipofuscina e di danno mitocondriale ha meccanismi sottostanti comuni, che probabilmente includono un'autofagia imperfetta ed una conseguente degradazione lisosomiale di mitocondri danneggiati dall'ossidazio-

Fig. 2. Teoria dei RL in una coltura cellulare di *Podospora anserina*. (A) Cloni derivati da individui giovani hanno un'aspettativa di sopravvivenza identica a quella del ceppo da cui derivano. I 5 giorni di crescita prima del clonaggio non accorciavano la loro aspettativa di sopravvivenza. (B) Cloni derivati dagli stessi individui 5 giorni prima di morire. L'aspettativa di sopravvivenza di tali cloni è esattamente di 5 giorni e quindi molto più corta dell'aspettativa di sopravvivenza del ceppo d'origine. Un invecchiamento irreversibile e progressivo è la probabile causa di tale fenomeno (Dufour E, Larsson NG. *Understanding aging: revealing order out of chaos*. *Biochim Biophys Acta* 2004;1658:122-32).



ne. L'aumentata grandezza dei mitocondri (probabilmente risultante da danno ossidativo del mtDNA, di membrane e proteine) potrebbe anche interferire con il *turnover* mitocondriale, portando alla comparsa dei cosiddetti mitocondri "giganti" (*Giant Mitochondria*)⁵⁸.

Un'altra ipotesi è che lo stress ossidativo, l'aumentata deposizione di ferro e l'insufficienza mitocondriale in corso di invecchiamento costituiscano una singola "lesione", e che l'avvento di una delle componenti di tale triade induca la comparsa delle altre. Evidenze in tal senso vengono da studi di neuropatologia umana, malattie neurologiche età-correlate e modelli di senescenza astrogliale⁵⁹.

Secondo Poon et al la teoria dei RL spiega come il decadimento funzionale cerebrale sia la conseguenza dell'attacco di componenti cellulari critiche da parte dei RL, ROS e specie di nitrogeno reattivo prodotte durante il normale metabolismo. Il cervello senile, in condizioni di stress ossidativo, risponde mediante induzione di vari geni protettivi, tra cui l'ossigenasi dell'eme. Sebbene vi possano essere altri fattori che contribuiscono all'invecchiamento cerebrale, i RL sono coinvolti nei processi di danneggiamento associati all'invecchiamento cerebrale, e, in condizioni di stress ossidativo da RL, sono indotti geni in risposta allo stress

cellulare, che pertanto sarebbero un elemento chiave nell'invecchiamento cerebrale⁶⁰.

Nell'ambito della teoria dei RL si è sviluppata la *teoria della mutazione somatica dell'invecchiamento*. Essa ipotizza che l'accumulo di mutazioni genetiche in cellule somatiche sia la causa specifica della senescenza, di cui il danno da RL può essere un'importante fonte⁴⁴. Tuttavia, esperimenti su topi clonati in serie mediante trasferimento nucleare somatico per 6 generazioni, non hanno fornito alcun segno di invecchiamento prematuro⁶¹, indicando che le mutazioni somatiche non possono essere chiamate in causa nell'invecchiamento nei topi ed i RL probabilmente non promuovono la senescenza in tal modo.

Teoria della senescenza cellulare

La senescenza cellulare fu descritta, per la prima volta nel 1956, come il processo che limita il numero di divisioni cellulari normali umane che possono avvenire in coltura⁶². Questo "limite nella capacità replicativa" si realizza dopo un caratteristico numero di divisioni cellulari⁶³ (limite di Hayflick) e può verificarsi anche in risposta a diversi eventi molecolari.

La *senescenza replicativa* è caratterizzata dalla perdita di telomeri (strutture specializzate composte da una sequenza ripetuta di DNA e posizionate alla fine di ogni cromosoma)⁶⁴. Con ogni divisione cellulare, una piccola quantità di DNA è necessariamente persa alla fine di ogni cromosoma, portando a telomeri sempre più corti, alterata struttura telomerica ed eventuale senescenza replicativa⁶⁴. Si è visto che l'attivazione di enzimi telomerasici rigenera i telomeri, previene la senescenza ed immortalizza colture di cellule primarie⁶⁵, come evidente anche in cellule immortali specializzate (cellule staminali, germinali e linfociti T) che esprimono telomerasi che conservano telomeri lunghi o ritardano il deterioramento del telomero^{66,67}. Ancora, tutte le cellule neoplastiche attivano telomerasi o una via alternativa di allungamento del telomero, al fine di evitare la senescenza replicativa^{68,69}.

La necessità di telomerasi per l'immortalità cellulare, associata all'osservazione che i telomeri si accorciano con l'età, ha portato ad ipotizzare che la lunghezza del telomero regoli la durata di vita della cellula replicativa in vivo, e contribuisca all'invecchiamento. Esperimenti con cellule in coltura hanno mostrato una correlazione tra potenziale replicativo ed età del donatore, suggerendo che cellule di individui anziani abbiano una più limitata capacità di ulteriori divisioni cellulari. La necessità di telomerasi per l'immortalità delle cellule umane, unita all'osservazione che i telomeri si accorciano con l'età, ha portato a formulare l'ipotesi che la lunghezza telomerica regoli la durata di vita delle cellule replicative in vivo e contribuisca all'invecchiamento. Nonostante la sua suggestione, tale ipotesi non è facilmente testabile direttamente sull'uomo ed esperimenti sui roditori hanno fornito poco supporto ad essa.

Diversi studi hanno dimostrato che la longevità della progenie dipende dalla longevità dei genitori e dall'età dei genitori all'atto del concepimento. Basandosi sulla teoria dell'invecchiamento dei telomeri, Manestar-Blazic ha suggerito, in un recente articolo, che la longevità della progenie è direttamente proporzionale alla lunghezza del telomero ed inversamente proporzionale al grado di integrità del telomero dello spermatozoo e dell'ovocita al concepimento. Queste due caratteristiche dei telomeri dipendono dall'età dei genitori. I telomeri diventano più lunghi nei gameti nel corso della vita, ma allo stesso tempo accumulano mutazioni (ridotto grado di integrità) che causano una più rapida perdita di sequenze ripetitive. Data l'esistenza di due meccanismi con effetti opposti, secondo l'autore vi potrebbe essere un'età ideale dei geni-

tori per la trasmissione della longevità massima. In modo analogo, la diversa longevità degli uomini e delle donne potrebbe parzialmente essere il risultato di differenti dinamiche dei telomeri dei cromosomi sessuali⁷⁰. Comunque, altri esperimenti hanno sollevato notevoli dubbi su tali osservazioni e vi è bisogno di ulteriori ricerche per chiarire questa divergenza di dati^{64,71,72}.

Esperimenti in lieviti hanno dimostrato che aumentando l'accuratezza dei ribosomi mitocondriali aumenta la durata di vita cellulare, suggerendo che l'alterazione dei ribosomi mitocondriali potrebbe essere una fonte potenziale di disfunzione mitocondriale età-correlata. È stato speculato che in mammiferi anziani, quando la frequenza di crescita e sostituzione mitocondriale declina, l'incremento degli organelli permetta il manifestarsi della perdita di accuratezza dei mito-ribosomi. I risultanti polipeptidi aberranti potrebbero poi sovraccaricare le proteasi, che degradano anche polipeptidi danneggiati dall'ossidazione, e pertanto contribuire all'accumulo di macromolecole danneggiate, di disfunzione mitocondriale e senescenza⁷³.

Nell'ambito della teoria della senescenza cellulare, si è sviluppata *la teoria della senescenza indotta da stress*, secondo la quale l'invecchiamento è la risposta a vari elementi stressanti come un danno del DNA o forti segnali mitogeni, espressione di oncogeni⁶³. Cellule che esprimono marcatori di stress si accumulano con l'età in molti tessuti^{74,75}, sebbene non sia ancora chiaro se ciò si correli alla presenza di cellule senescenti in vivo. Molti studi, per esempio, suggeriscono che l'aterosclerosi derivi da cambiamenti senescenti delle cellule endoteliali arteriose⁷⁵⁻⁷⁹. La sindrome di Werner è singolare tra le sindromi progeroidi, poiché è caratterizzata da un periodo di sviluppo, fino alla pubertà, apparentemente normale, seguito da precoci manifestazioni di molti cambiamenti età-correlati, quali l'aterosclerosi⁸⁰ e dalla presenza di un'accelerata senescenza nelle colture cellulari^{80,81}.

Suggestivo è il ruolo nell'invecchiamento cellulare della proteina anti-neoplastica p53, regolatore chiave delle risposte cellulari di controllo genomico. Tra le molte funzioni attribuite alla p53 sono essenziali: a) il ruolo di arresto dell'attivazione del ciclo delle cellule transitorie; b) l'apoptosi; c) la senescenza replicativa; d) la senescenza indotta da stress in risposta al danno da radiazione del DNA e perdita della replicazione telomerica⁸².

La proteina anti-neoplastica p53 è un attivatore chiave della senescenza cellulare, come dimostrato dal deficit di p53 che sopprime il fenotipo di invecchiamento precoce dell'ultima generazione di

topi *knock out* per telomerasi⁸³. Il tipo di risposta cellulare p53-dipendente (arresto cellulare, apoptosi o senescenza) deriva spesso dal particolare tipo cellulare esaminato o dal tipo e dalla severità dello stress a cui le cellule sono esposte. Topi con p53 mutata hanno, ad esempio, un'aumentata incidenza di cancro⁸⁴ ed il segnale p53 è alterato in circa l'80% dei cancri umani⁸⁵, indicando che funzioni p53-mediate sono importanti per la soppressione tumorale (Fig.3).

L'apparente contraddizione tra l'incremento della prevalenza di neoplasie in età geriatrica ed il ruolo della senescenza cellulare come soppressore tumorale, è parzialmente spiegabile attraverso l'ipotesi evuzionistica (*pleiotropia antagonista*), secondo la quale la senescenza cellulare ha un importante ruolo nella eliminazione del cancro in età giovane, ma ha l'effetto indesiderato di contribuire alle malattie età-correlate ed al cancro negli anziani, in epoca post-riproduttiva⁷⁵. A supporto di tale teoria Promislow ha dimostrato come il numero di interazioni (o connettività) tra le proteine coinvolte nell'invecchiamento è molto più alto rispetto alle altre⁸⁵.

Nonostante numerose osservazioni sperimentali^{64 71 72 86} sul ruolo della senescenza replicativa (dovuta a perdita di telomeri) e della senescenza cellulare (dovuta ad accumulo di danni ed altri fattori) nel

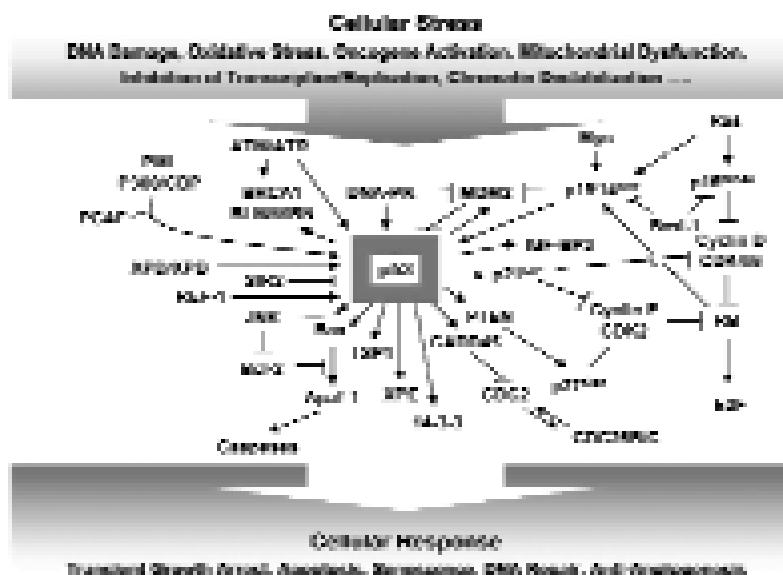
processo d'invecchiamento è ancora ampio il dibattito nella comunità scientifica.

Pertanto, la senescenza replicativa può essere considerata una causa di invecchiamento di per sé stessa, essendo correlata al numero di divisioni cellulari determinato dalla lunghezza dei telomeri, mentre la senescenza indotta da stress è una risposta ad uno stress, in particolare ad una modificazione repentina del genoma e danno del DNA. La senescenza cellulare dovrebbe, pertanto, essere considerata una risposta cellulare a cambiamenti età-correlati, che agisce esacerbando o accelerando l'invecchiamento organico. Questa visione della senescenza è compatibile con le varie teorie dell'accumulo del danno (come quella dei RL, dell'errore catastrofico e della mutazione somatica), che possono spiegare la causa finale della senescenza cellulare con l'invecchiamento.

Teoria neuroendocrina

Secondo tale teoria l'invecchiamento è una conseguenza di alcuni cambiamenti delle funzioni nervose ed endocrine coinvolgenti selettivamente i neuroni e gli ormoni che regolano, dal punto di vista evuzionistico, la riproduzione, la crescita, lo sviluppo e la sopravvivenza attraverso adattamen-

Fig. 3. Diagramma di alcune delle componenti note del *network* regolatorio della p53 (da Vijg J, Suh Y. *Functional genomics of ageing*. Mech Ageing Dev 2003;124:3-8).



to allo stress. La durata della vita sarebbe regolata da fasi sequenziali e governata da segnali nervosi ed endocrini⁸⁷⁻⁹⁰.

La crescita post-embrionale è, infatti, caratterizzata da una costante riduzione di alcuni parametri in relazione ad altri. Si ipotizza che le stesse sostanze che promuovono ed inibiscono la crescita regolino non solo lo sviluppo ma anche l'invecchiamento e che è tale equilibrio tra promotori ed inibitori dello sviluppo che cambia costantemente⁹¹.

Ad esempio, le calpaine sono una famiglia di proteasi non lisosomiali calcio-dipendenti, implicate in un'ampia serie di funzioni cellulari inclusa l'apoptosi, la proliferazione e la migrazione cellulare. Durante lo sviluppo, la calpaina è coinvolta nello stabilire l'organizzazione sinaptica, la plasticità ed il potenziamento a lungo termine. L'attività della calpaina aumenta nel cervello senile, forse in seguito ad un deterioramento dei meccanismi inibitori. Si è visto che un'inappropriata attivazione delle calpaine è implicata in patologie età-correlate di rene, cuore, tessuto connettivo, occhio, così come in miopatie, morbo di Alzheimer e molte risposte degenerative allo stress⁹²⁻⁹⁴. Questo aumento dell'attività sembra portare a distruzione di proteine importanti per la stabilità ed il mantenimento di network neuronali⁹³⁻⁹⁵. Baudry et al⁹⁶, data la correlazione inversa tra attività della calpaina e la dimensione cerebrale e quella diretta tra dimensioni cerebrali e longevità⁹⁷, hanno dimostrato che l'attività della calpaina sarebbe anche inversamente correlata alla massima durata di vita.

Una componente importante della teoria neuroendocrina è la funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA). Una delle maggiori funzioni dell'asse HPA è coordinare gli aggiustamenti fisiologici necessari alla preservazione ed al mantenimento dell'omeostasi interna, nonostante i continui cambiamenti ambientali⁹⁸⁻⁹⁹. Durante la vita, l'esposizione cronica a stress di natura fisica, biologica o emozionale, può esaurire o danneggiare la capacità di adattamento e portare alle cosiddette "malattie da adattamento" ed a morte¹⁰⁰⁻¹⁰¹. L'integrazione di risposte a stimoli ambientali sarebbe effettuata dall'ipotalamo attraverso informazioni provenienti da varie strutture cerebrali (principalmente la corteccia cerebrale, il lobo limbico, e la formazione reticolare). In risposta ai segnali ipotalamici, l'ipofisi, produce e secerne ormoni che regolano importanti funzioni corporee e stimola ghiandole endocrine periferiche come la ghiandola surrenalica, la tiroide o le gonadi.

La stimolazione della midollare surrenalica, ad esempio, determina produzione di catecolamine,

che agiscono come neurotrasmettitori della porzione simpatica del sistema nervoso autonomico. Tali neurotrasmettitori rispondono rapidamente ad uno stimolo esterno o interno, attraverso aggiustamenti circolatori (aumento della pressione arteriosa) e metabolici (facilitando l'utilizzazione di carboidrati e lipidi per l'energia)⁹⁹. Con l'invecchiamento si avrebbe quindi una riduzione nella responsività simpatica¹⁰².

La deplezione di follicoli ovarici è stata spesso ritenuta il fattore determinante nell'invecchiamento riproduttivo femminile. Tuttavia, sempre maggiori evidenze suggeriscono che cambiamenti neurali e neuroendocrini svolgono un ruolo causale importante nel declino di cicli riproduttivi regolari che portano alla menopausa. Nell'invecchiamento umano e di animali da laboratorio è stata documentata una riduzione o soppressione del pattern giornaliero di secrezione di molti ormoni neuroendocrini. Oscillazioni che si verificano approssimativamente ogni 24 ore sono una caratteristica di molti organismi viventi. Questi cicli forniscono all'organismo la capacità di coordinare eventi che si verificano a frequenze maggiori (orarie) e minori (settimanali, mensili) in un unico organismo, e la capacità di sincronizzare tali eventi con l'ambiente esterno. Nei mammiferi, è stato dimostrato che il nucleo ipotalamico soprachiasmatico è un oscillatore capo che regola la maggior parte dei ritmi circadiani dei mammiferi. Modificazioni dell'organizzazione temporale si verificano in corso di invecchiamento ed influenzano numerosi sistemi fisiologici, incluso la ciclicità riproduttiva femminile¹⁰³.

La *teoria neuroendocrina* è stata recentemente supportata da dati che dimostrano che una via ancestrale dell'insulina controlla le risposte allo stress e la longevità nel nematode *Caenorhabditis elegans*¹⁰⁴. Mutazioni di una serie di geni in questa via portano ad aumentata longevità.

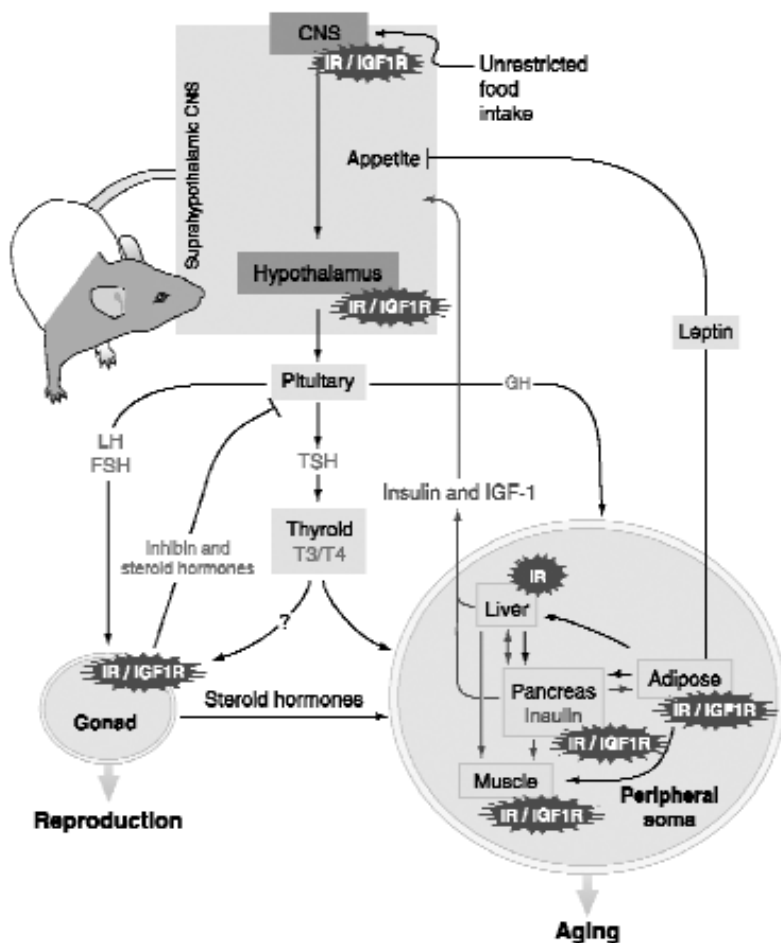
Nel *Caenorhabditis elegans*, questi geni costituiscono un primordiale sistema neuroendocrino in cui il peptide insulina/IGF1 integra informazioni dello stress ambientale, monitorando lo stato metabolico e riproduttivo, al fine di permettere aggiustamenti energetici appropriati, ed allungare la durata della vita¹⁹. Pertanto, tale sistema ha la capacità, non solo di coordinare ciò che si verifica in ogni cellula e tessuto, ma anche di evitare disorganizzazione nelle risposte allo stress.

È stato ampiamente dimostrato che un ridotto segnale dei peptidi insulino-simili aumenta la durata di vita di nematodi, moscerini e roditori. Nei nematodi e moscerini la cascata di ormoni secondaria al *signaling insulin-like* sembra regolare l'invecchia-

mento. In tutte le specie esaminate ad oggi, manipolazioni endocrine possono rallentare l'invecchiamento senza costi concorrenti nella riproduzione, ma con inevitabili modificazioni nella resistenza allo stress. Nonostante le similitudini tra mammiferi ed invertebrati dei peptidi insulino-simili e della loro cascata del segnale, sono necessarie altre ricerche per determinare se tali segnali controllano l'invecchiamento nello stesso modo in tutte le specie attraverso gli stessi meccanismi ¹⁹ (Fig. 4).

Secondo Bowen et al poiché le modalità di allungamento della vita coinvolgono essenzialmente la riproduzione e gli ormoni riproduttivi regolano la mitogenesi e la differenziazione, l'invecchiamento è principalmente regolato dagli ormoni che controllano la riproduzione (*teoria dell'invecchiamento del ciclo cellulare riproduttivo*). Nei mammiferi, la riproduzione è controllata dagli ormoni dell'HPA. Interventi che inducono longevità, quali la restrizione calorica, riducono la fertilità median-

Fig. 4. Teoria neuroendocrina. Fattori ambientali e dieta sono integrati dal Sistema nervoso centrale (SNC), che attivano la riproduzione, pro-invecchiamento attraverso segnali endocrini. Inoltre, ormoni forniscono il controllo a *feedback* e le informazioni sullo stato fisiologico ai centri del SNC/neuroendocrini. Le vie di attivazione della riproduzione sono mostrate come linee continue, le linee tratteggiate rappresentano vie *down-regolate*; le frecce indicano agonisti, le barre gli antagonisti. "?" indica elementi ipotetici o speculative. L'introito calorico altera l'*input* neuronale ipotalamica promuovendo il rilascio di gonadotropine (LH ed FSH), di TSH, e di GH dall'ipofisi. Questi ormoni causano aumento della secrezione di ormoni steroidei, tiroidei e IGF-1. il rilascio di insulina da parte delle cellule pancreatiche è incrementato dall'introito calorico. L'azione combinata di IGF-1, insulina, ormoni gonadici e tiroidei promuove la crescita e riproduzione a scapito dei meccanismi anti-invecchiamento (da Tatar M, Bartke A, and Antebi A. *The endocrine regulation of aging by insulin-like signals*. Science 2003; 299:1346-51)



te soppressione degli ormoni dell'HPA ed è noto che gli ormoni dell'asse HPA sono coinvolti nel signaling attraverso la ben documentata *pathway* GH/IGF-1/PI3K/Akt/cervello che regola la longevità. Per questi autori gli ormoni che regolano la riproduzione agiscono in un modo di pleiotropismo antagonistico per controllare l'invecchiamento attraverso il signaling del ciclo cellulare; essi promuovono la crescita e lo sviluppo precoce al fine di attuare la riproduzione, ma più tardi nella vita, in un inutile tentativo di conservare la riproduzione, vanno incontro a disregolazione e portano a senescenza⁹.

Secondo la *teoria mitocondriale dell'invecchiamento* i mitocondri delle femmine producono significativamente meno perossido di idrogeno dei maschi ed hanno più elevati livelli di glutazione ridotto mitocondriale, Manganese-SOD (Mg-SOD) e di glutazione perossidasi rispetto ai maschi. Inoltre, il danno ossidativo del mtDNA è quattro volte maggiore nei maschi rispetto alle femmine. Tali differenze possono essere spiegate dagli estrogeni. Infatti l'ovariectomia abolisce le differenze sessuali tra maschi e femmine e la terapia sostitutiva con estrogeni protegge dagli effetti dell'ovariectomia. Pertanto, in futuro si dovrebbe cercare di sviluppare molecole che abbiano i benefici effetti dell'estradiolo, ma senza i suoi effetti femminilizzanti. I fitoestrogeni e le molecole correlate al fitoestrogeno potrebbero essere buoni candidati in tal senso¹⁰⁵.

Teoria immunitaria

La teoria immunologica dell'invecchiamento, proposta più di 40 anni fa da Roy Walford, suggerisce che il normale processo d'invecchiamento nell'uomo e negli animali sia patogeneticamente correlato a processi immunologici sbagliati¹⁰⁶.

In molti esseri umani anziani, l'immunosenescenza è caratterizzata da una ridotta resistenza alle malattie infettive, una ridotta protezione contro il cancro, ed un'aumentata incapacità di autoriconoscimento (da cui patologia autoimmune)^{107 108}. D'altro canto, differenti risposte immunitarie sono influenzate diversamente con l'età. Negli esseri umani, il timo è coinvolto nella selezione e maturazione delle cellule T e nella produzione degli ormoni peptidici, raggiungendo un picco sia in dimensione sia nella funzione durante la pubertà dopodiché rapidamente si atrofizza e progressivamente si riduce la sua produzione di cellule T mature e di or-

moni. Questo segno di precoce immunosenescenza può essere interpretato come una transizione tra la ridotta utilità del timo, una volta che il *repertoire* di cellule T è stato completato, ed il costo del mantenimento dell'organo¹⁰⁹. Ancora, altre funzioni, per esempio le attività di molti tipi di linfociti (*killer* naturali e cellule dendritiche, macrofagi) ed il sistema del complemento, sono ben preservati nei centenari sani¹¹⁰.

Ricerche estensive sulla senescenza delle cellule T in colture cellulari hanno dimostrato, in vitro, cambiamenti che rispecchiano alterazioni che si verificano in vivo durante l'invecchiamento umano, enfatizzando il significato biologico della senescenza replicativa delle cellule T. Inoltre, l'inclusione di alte concentrazioni di cellule T senescenti nella definizione del "fenotipo a rischio immunologico", associato a mortalità precoce in ottuagenari, fornisce un'iniziale conferma clinica sia della teoria immunologia sia del ruolo del limite di Hayflick delle cellule T nell'invecchiamento umano¹⁰⁶.

Nell'ultimo decennio numerose ricerche hanno confermato l'importanza del ruolo del sistema immunitario così come del processo di senescenza replicativa delle cellule T in varie malattie umane¹⁰⁶. In particolare recenti studi longitudinali sulla popolazione geriatrica svedese hanno permesso di identificare una serie di parametri immunitari associati a mortalità precoce, permettendo l'identificazione del così detto "fenotipo immunologico a rischio", caratterizzato da alte concentrazioni di cellule T CD8, deficit di espressione di CD28 e scarsa capacità replicativa delle cellule T^{111 112}, tutti marker di senescenza replicativa delle cellule T. Inoltre, è sempre più evidente che molte delle malattie definite età-correlate siano anche associate a disfunzione del sistema immunitario ed eccessiva infiammazione. Per esempio, pazienti con malattia di Alzheimer mostrano una correlazione tra funzione mentale e lunghezza telomerica delle cellule T¹¹³. Fratture osteoporotiche nell'anziano sono associate ad alte concentrazioni di cellule T CD8 con marker di senescenza¹¹⁴, in accordo al ben documentato legame tra attivazione cronica delle cellule T e perdita ossea¹¹⁵, così come sempre più evidente è il coinvolgimento delle cellule T nel processo aterosclerotico¹¹⁶⁻¹¹⁸.

Sia il sistema neuroendocrino sia quello immunitario sono dotati di un alto grado di plasticità, che è la capacità di modificare la propria funzione in relazione alla domanda. La plasticità è molto efficiente nelle prime decadi di vita, ma permane anche ad età avanzata.

Mentre negli anni '60-80 molti studi sull'invecchiamento umano si sono focalizzati sulle perdite funzionali che coinvolgono tutti gli organi e sistemi del corpo ¹¹⁹, negli anni '80 e 90 vi è stata una riconcettualizzazione di tale processo, che ha permesso di delineare 3 tipi di invecchiamento: 1) "l'invecchiamento patologico", caratterizzato da malattia e disabilità; 2) "l'invecchiamento fisiologico", caratterizzato dall'assenza di una patologia evidente ma dalla presenza di un declino funzionale; 3) "l'invecchiamento di successo", con poca o nessuna perdita fisiologica e assenza di malattia ¹²⁰. I meccanismi dell'invecchiamento di successo consisterebbero in: persistenza della normale plasticità, risposte compensatorie di ripristino della normale funzione (indotte dall'esercizio, corretta nutrizione), interventi per ripristinare una attività deficitaria (come da terapie sostitutive), cambiamento degli outcome di salute mediante modificazione dei profili di rischio, prevenzione delle malattie, ed incremento delle interazioni sociali e di supporto ¹²¹.

Un esempio di successo di tale "rimodellamento funzionale" può essere mediato dai segnali neuroendocrini e immunologici ¹²². Per esempio, la sensibilità insulinica dei tessuti bersagli periferici è ridotta negli anziani ma può essere migliorata attraverso restrizione calorica ¹²³.

Teoria del doppio agente

Tentativi di trattare la maggior parte delle malattie età-correlate usando supplementi antiossidanti è stata fallimentare, nonostante gli effetti positivi di un corretto regime alimentare. La teoria del doppio agente è una nuova, unificante sintesi di 3 teorie portanti dell'invecchiamento. Essa ipotizza che vi è un'alternanza tra stress ossidativo come segnale critico di deossidazione, che assembla difese genetiche contro lo stress fisiologico (quali infezioni), e lo stress ossidativo come causa d'invecchiamento e di malattie età-correlate. La risposta allo stress e l'invecchiamento sono legati da fattori trascurzionali sensibili alla deossidazione, come l'NF-

κB. L'invecchiamento è in funzione dell'accrescimento dello stress ossidativo intracellulare, piuttosto che essere legato ad un fattore cronologico, ma tale relazione non è evidente poichè la fuoriuscita di RL dai mitocondri tende ad aumentare con l'età. La fuga mitocondriale produce una risposta genetica che mima le conseguenze di un'infezione, ma poichè tale fuga mitocondriale è continua lo shift nell'espressione genica è persistente, portando alle caratteristiche infiammazioni croniche dell'anziano.

Pertanto le malattie età-correlate sono il prezzo che paghiamo al controllo deossidazione di ROS/espressione genica. Poiché la pressione selettiva favorente la risposta allo stress in giovani è più forte di quella che penalizza le malattie degenerative dopo il declino riproduttivo, possiamo essere refrattari a supplementi antiossidanti che mirano allo switch riduttivo. Inoltre, poichè la selezione genetica avviene prevalentemente in un ambiente omeostaticamente caratterizzato da deossidazione in giovani, alleli associati con malattie età-correlate non sono danneggiati, ma sono semplicemente meno efficaci in condizioni ossidanti nell'anziano. Di conseguenza, la terapia genica per malattie età-correlate è improbabile che abbia successo a meno che lo stress ossidativo possa essere controllato fisiologicamente, alterando l'attività e la funzione di centinaia di geni ¹²⁴.

Conclusioni

Da quanto esposto in questa breve trattazione, nonostante le notevoli incertezze circa i meccanismi alla base del processo dell'invecchiamento, ampio è il supporto all'ipotesi che l'invecchiamento sia un processo multifattoriale e complesso. Inoltre l'osservazione che modifiche ambientali (per esempio la restrizione calorica) possano indurre un incremento della durata di vita attraverso il coinvolgimento di numerosi meccanismi responsabili del processo dell'invecchiamento sostiene ulteriormente la teoria della multifattorialità nella genesi della senescenza.

APPENDICE

BREVE GLOSSARIO DEI TERMINI UTILIZZATI

Termini	Definizione
Apoptosi	Morte cellulare programmata, sotto controllo genetico
DNA mitocondriale	DNA circolare o lineare dei mitocondri, che codifica per una piccola ma essenziale parte di proteine mitocondriali
Espressione genica	Processo per cui l'informazione codificata dal gene è convertita in strutture presenti ed operanti nella cellula. I geni espressi includono quelli trascritti in mRNA e poi tradotti in proteine e quelli trascritti in RNA ma non tradotti in proteine
Evoluzione	Passaggio lento e graduale degli organismi viventi da forme inferiori e rudimentali a forme sempre più complesse
Eucariote	Cellula o organismo animale o vegetale caratterizzato da una netta delimitazione tra nucleo e citoplasma
Gene	Ordinata sequenza di nucleotidi localizzati in una particolare posizione di un particolare cromosoma che codifica uno specifico prodotto funzionale. I geni espressi includono sia quelli che sono trascritti in mRNA e poi tradotti in proteina sia quelli che sono trascritti in mRNA ma non tradotti in proteina
Animali <i>knock out</i>	Animali modificati geneticamente, ove si è agito eliminando un gene in modo tale da modificarne l'espressione fenotipica
Mutazione	Ogni variazione ereditabile della sequenza di DNA
Plasticità	Capacità di modificare la propria funzione in relazione alla domanda
Protozoi	Sono organismi unicellulari, eucarioti costituiti dal citoplasma e da uno o più nuclei
Replicazione	Meccanismo di replicazione del DNA a doppia elica, in cui ciascuna delle due doppie eliche neoformate contiene un filamento proveniente dalla doppia elica genitrice e un filamento neosintetizzato, complementare al primo
Ridondanza	Amplificazione di elementi (geni, molecole, cellule) tutti aventi la stessa funzione
Telomero	La porzione terminale di un cromosoma. Queste strutture specializzate sono coinvolte nella replicazione e la stabilità delle molecole di DNA
Telomerasi	Trascrittasi inversa coinvolta nella sintesi dei telomeri in molti organismi. Previene il successivo declino delle parti finali del telomero
Trascrizione	Processo di trasferimento dell'informazione contenuta nel DNA in una sequenza complementare di RNA; la reazione è catalizzata dall'enzima RNA polimerasi DNA-dipendente
Variabilità genetica	Entro una popolazione, la misura di quanto di una variazione di un particolare fenotipo è dovuto ad una variazione genotipica

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Poulton EB, Schonland S, Shipley AE. *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems*. 2nd ed. vol. 1. Oxford: Clarendon Press 1891.
- ² Dufour E, Larsson NG. *Understanding aging: revealing order out of chaos*. *Biochim Biophys Acta* 2004;1658:122-32.
- ³ Wachter KW, Finch CE. *Between Zeus and the Salmon*. Washington: National Academy Press 1997.
- ⁴ Weinert BT, Timiras PS. *Theories of aging*. *J Appl Physiol* 2003;95:1706-16.
- ⁵ Kowald A, Kirkwood TB. *A network theory of ageing: the interactions of defective mitochondria, aberrant proteins, free radicals and scavengers in the ageing process*. *Mutat Res* 1996;316:209-36.
- ⁶ Carey JR. *Theories of life span and aging. Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. 3th ed. Boca Raton: CRC Press 2003:85-95.
- ⁷ Sacher GA. *Evolutionary theory in gerontology*. *Perspect Biol Med* 1982;25:339-53.
- ⁸ Harman D. *The free radical theory of aging*. *Antioxid Redox Signal* 2003;5:557-61.
- ⁹ Bowen RL, Atwood CS. *Living and dying for sex. A theory of aging based on the modulation of cell cycle signaling by reproductive hormones*. *Gerontology* 2004;50:265-90.
- ¹⁰ Gavrilov LA, Gavrilova NS. *The reliability-engineering approach to the problem of biological aging*. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1019:509-12.
- ¹¹ Kanungo MS. *A model for ageing*. *J Theor Biol* 1975;53:253-61.
- ¹² Pletcher SD, Macdonald SJ, Marguerie R, Certa U, Stearns SC, Goldstein DB, et al. *Genome-wide transcript profiles in aging and calorically restricted *Drosophila melanogaster**. *Curr Biol* 2002;12:712-23.
- ¹³ Weindruch R, Kayo T, Lee CK, Prolla TA. *Gene expression profiling of aging using DNA microarrays*. *Mech Ageing Dev* 2002;123:177-93.
- ¹⁴ Zou S, Meadows S, Sharp L, Jan LY, Jan YN. *Genome-wide study of aging and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster**. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:13726-31.
- ¹⁵ Kirkwood TB. *New science for an old problem*. *Trends Genet* 2002;18:441-2.
- ¹⁶ Snoko MS, Promislow DE. *Quantitative genetic tests of recent senescence theory: age-specific mortality and male fertility in *Drosophila melanogaster**. *Heredity* 2003;91:546-56.
- ¹⁷ Reinke V. *Functional exploration of the *C. elegans* genome using DNA microarrays*. *Nat Genet* 2002;32:541-6.
- ¹⁸ Weindruch R, Kayo T, Lee CK, Prolla TA. *Microarray profiling of gene expression in aging and its alteration by caloric restriction in mice*. *J Nutr* 2001;131:918S-923S.
- ¹⁹ Tatar M, Bartke A, Antebi A. *The endocrine regulation of aging by insulin-like signals*. *Science* 2003;299:1346-51.
- ²⁰ Finch CE, Ruvkun G. *The genetics of aging*. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001;2:435-62.
- ²¹ Perls T, Kunkel L, Puca A. *The genetics of aging*. *Curr Opin Genet Dev* 2002;12:362-9.
- ²² Perls TT, Wilmoth J, Levenson R, Drinkwater M, Cohen M, Bogan H, et al. *Life-long sustained mortality advantage of siblings of centenarians*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:8442-7.
- ²³ Puca AA, Daly MJ, Brewster SJ, Matise TC, Barrett J, Shea-Drinkwater M, et al. *A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10505-8.
- ²⁴ Haldane JBS. *New Paths in Genetics*. London: Allen & Unwin 1941.
- ²⁵ Medawar PB. *An Unsolved Problem in Biology*. London: H.K. Lewis 1952.
- ²⁶ Partridge L, Gems D. *Mechanisms of ageing: public or private?* *Nat Rev Genet* 2002;3:165-75.
- ²⁷ Sozou PD, Seymour RM. *To age or not to age*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 2004;7:457-63.
- ²⁸ Zafon C. *Ageing purpose: another thrifty genotype*. *Med Hypotheses* 2003;61:482-5.
- ²⁹ Arantes-Oliveira N, Apfeld J, Dillin A, Kenyon C. *Regulation of life-span by germline stem cells in *Caenorhabditis elegans**. *Science* 2002;295:502-5.
- ³⁰ Sgro CM, Partridge L. *A delayed wave of death from reproduction in *Drosophila**. *Science* 1999;286:2521-4.
- ³¹ Arking R, Buck S, Novoseltev VN, Hwangbo DS, Lane M. *Genomic plasticity, energy allocations, and the extended longevity phenotypes of *Drosophila**. *Ageing Res Rev* 2002;1:209-28.
- ³² Miller JK. *Escaping senescence: demographic data from the three-toed box turtle (*Terrapene carolina triunguis*)*. *Exp Gerontol* 2001;36:829-32.
- ³³ Keller L, Genoud M. *Extraordinary lifespans in ants: A test of evolutionary theories of ageing*. *Nature* 1997;389:958-60.
- ³⁴ Kirkwood TB. *Evolution of ageing*. *Nature* 1977;270:301-4.
- ³⁵ Kirkwood TB. *Human senescence*. *Bioessays* 1996;18:1009-16.
- ³⁶ Rachmatulina IK. *Major demographic characteristics of populations of certain bats from Azerbaijan*. In: Horacek J, Vohralik V, eds. *Prague Studies in Mammalogy*. Prague: Charles University Press 1992:127-41.
- ³⁷ Wilkinson GS, South JM. *Life history, ecology and longevity in bats*. *Ageing Cell* 2002;1:124-31.
- ³⁸ Barclay RMR, Harder LD. *Life histories of bats: life in the slow lane*. In: Kunz TH, Fenton MB, eds. *Bat Ecology*. Chicago: University of Chicago Press. 2003:209-253.
- ³⁹ Brunet-Rossinni AK, Austad SN. *Ageing studies on bats: a review*. *Biogerontology* 2004;5:211-22.
- ⁴⁰ Gavrilova NS, Gavrilov LA, Semyonova VG, Evdokushkina GN. *Does exceptional human longevity come with a high cost of infertility? Testing the evolutionary theories of aging*. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1019:513-7.
- ⁴¹ Harman D. *Ageing: A theory based on free radical and radiation chemistry*. *J Gerontol* 1957;2:298-300.
- ⁴² Finkel T, Holbrook NJ. *Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing*. *Nature* 2000;408: 239-47.
- ⁴³ Mehlforn RJ. *Oxidants and Antioxidants in Aging*. In: Timiras PS. Third ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. Boca Raton: CRC Press 2003:61-83.

- ⁴⁴ Beckman KB, Ames BN. *The free radical theory of aging matures*. *Physiol Rev* 1998;78:547-81.
- ⁴⁵ Byrne JA, Grieve DJ, Cave AC, Shah AM. *Oxidative Stress and Heart Failure*. *Arch Mal Coeur* 2003;96:214-21.
- ⁴⁶ Miwa S, Riyahi K, Partridge L, Brand MD. *Lack of correlation between mitochondrial reactive oxygen species production and life span in Drosophila*. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1019:388-91.
- ⁴⁷ Brunet Rossinni AK. *Testing the free radical theory of aging in bats*. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1019:506-8.
- ⁴⁸ Tower J. *Transgenic methods for increasing Drosophila life span*. *Mech Ageing Dev* 2000;118:1-4.
- ⁴⁹ Arking R, Burde V, Graves K, Hari R, Feldman E, Zeevi A, et al. *Forward and reverse selection for longevity in Drosophila is characterized by alteration of antioxidant gene expression and oxidative damage patterns*. *Exp Gerontol* 2000;35:167-85.
- ⁵⁰ Larsen PL. *Aging and resistance to oxidative damage in Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:8905-9.
- ⁵¹ Melov S, Ravenscroft J, Malik S, Gill MS, Walker DW, Clayton PE, et al. *Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics*. *Science* 2000;289:1567-9.
- ⁵² Golden TR, Hinerfeld DA, Melov S. *Oxidative stress and aging: beyond correlation*. *Aging Cell*. 2002;1:117-23.
- ⁵³ Huang TT, Carlson EJ, Gillespie AM, Shi Y, Epstein CJ. *Ubiquitous overexpression of CuZn superoxide dismutase does not extend life span in mice*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000;55:B5-9.
- ⁵⁴ Caratero A, Courtade M, Bonnet L, Planel H, Caratero C. *Effect of a continuous gamma irradiation at a very low dose on the life span of mice*. *Gerontology* 1998;44:272-6.
- ⁵⁵ Merry BJ. *Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity*. *Int J Biochem Cell Biol* 2002;34:1340-54.
- ⁵⁶ Mandavilli BS, Santos JH, Van Houten B. *Mitochondrial DNA repair and aging*. *Mutat Res* 2002;509:127-51.
- ⁵⁷ Shringarpure R, Davies KJ. *Protein turnover by the proteasome in aging and disease*. *Free Radic Biol Med* 2002;32:1084-9.
- ⁵⁸ Terman A, Dalen H, Eaton JW, Neuzil J, Brunk UT. *Aging of cardiac myocytes in culture: oxidative stress, lipofuscin accumulation, and mitochondrial turnover*. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1019:70-7.
- ⁵⁹ Schipper HM. *Brain iron deposition and the free radical-mitochondrial theory of ageing*. *Ageing Res Rev* 2004;3:265-301.
- ⁶⁰ Poon HF, Calabrese V, Scapagnini G, Butterfield DA. *Free radicals: key to brain aging and heme oxygenase as a cellular response to oxidative stress*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:478-93.
- ⁶¹ Wakayama T, Shinkai Y, Tamashiro KL, Niida H, Blanchard DC, Blanchard RJ, et al. *Cloning of mice to six generations*. *Nature* 2000;407:318-9.
- ⁶² Hayflick L. *The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains*. *Exp Cell Res* 1965;37:614-36.
- ⁶³ Campisi J. *Cellular Senescence and Cell Death*. In: Timiras PS. Third ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. Boca Raton: CRC Press 2003:47-59.
- ⁶⁴ Blackburn EH. *Telomere states and cell fates*. *Nature* 2000;408:53-6.
- ⁶⁵ Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, et al. *Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells*. *Science* 1998;279:349-52.
- ⁶⁶ Collins K. *Mammalian telomeres and telomerase*. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12:378-83.
- ⁶⁷ Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. *Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells*. *Dev Genet* 1996;18:173-9.
- ⁶⁸ Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, et al. *Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer*. *Science* 1994;266:2011-5.
- ⁶⁹ Reddel RR. *The role of senescence and immortalization in carcinogenesis*. *Carcinogenesis* 2000;21:477-84.
- ⁷⁰ Manestar-Blazic T. *Hypothesis on transmission of longevity based on telomere length and state of integrity*. *Med Hypotheses* 2004;62:770-2.
- ⁷¹ Rubin H. *The disparity between human cell senescence in vitro and lifelong replication in vivo*. *Nat Biotechnol* 2002;20:675-81.
- ⁷² Wright WE, Shay JW. *Historical claims and current interpretations of replicative aging*. *Nat Biotechnol* 2002;20:682-8.
- ⁷³ Hipkiss AR. *Errors, mitochondrial dysfunction and ageing*. *Biogerontology* 2003;4:397-400.
- ⁷⁴ 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 USA* 1995;92:9363-7.
- ⁷⁵ Krtolica A, Campisi J. *Cancer and aging: a model for the cancer promoting effects of the aging stroma*. *Int J Biochem Cell Biol* 2002;34:1401-14.
- ⁷⁶ Chang E, Harley CB. *Telomere length and replicative aging in human vascular tissues*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:11190-4.
- ⁷⁷ Fenton M, Barker S, Kurz DJ, Erusalimsky JD. *Cellular senescence after single and repeated balloon catheter denudations of rabbit carotid arteries*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:220-6.
- ⁷⁸ Vasile E, Tomita Y, Brown LF, Kocher O, Dvorak HF. *Differential expression of thymosin beta-10 by early passage and senescent vascular endothelium is modulated by VPF/VEGF: evidence for senescent endothelial cells in vivo at sites of atherosclerosis*. *Faseb J* 2001;15:458-66.
- ⁷⁹ Martin GM, Oshima J. *Lessons from human progeroid syndromes*. *Nature* 2000;408:263-6.
- ⁸⁰ Lebel M, Leder P. *A deletion within the murine Werner syndrome helicase induces sensitivity to inhibitors of topoisomerase and loss of cellular proliferative capacity*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:13097-102.
- ⁸¹ Martin GM, Sprague CA, Epstein CJ. *Replicative life-span of cultivated human cells. Effects of donor's age, tissue, and genotype*. *Lab Invest* 1970;23:86-92.
- ⁸² Donehower LA. *Does p53 affect organismal aging?* *J Cell Physiol* 2002;192:23-33.
- ⁸³ Chin L, Artandi SE, Shen Q, Tam A, Lee SL, Gottlieb GJ, et

- al. *p53 deficiency rescues the adverse effects of telomere loss and cooperates with telomere dysfunction to accelerate carcinogenesis*. *Cell* 1999;97:527-38.
- ⁸⁴ Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA Jr, Butel JS, et al. *Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours*. *Nature* 1992;356:215-21.
- ⁸⁵ Promislow DE. *Protein networks, pleiotropy and the evolution of senescence*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 2004; 22:1225-34.
- ⁸⁶ Sherr CJ, DePinho RA. *Cellular senescence: mitotic clock or culture shock?* *Cell* 2000;102:407-10.
- ⁸⁷ Finch CE. *Longevity, Senescence and the Genome*. Chicago: University of Chicago Press 1990.
- ⁸⁸ Finch CE. *The regulation of physiological changes during mammalian aging*. *Q Rev Biol* 1976;51:49-83.
- ⁸⁹ Timiras P. *Neuroendocrine models regulating lifespan*. In: Schreibman MP, Scanes CG. *Development, maturation and senescence of neuroendocrine systems: a comparative approach*. New York: Academic Press 1989.
- ⁹⁰ Timiras PS. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. Third ed. Boca Raton: CRC Press 2003.
- ⁹¹ Geraert E. *Constant and continuous growth reduction as a possible cause of ageing*. *Int J Dev Biol* 2004;48:271-4.
- ⁹² Bahr BA, Vanderklish PW, Ha LT, Tin MT, Lynch G. *Spectrin breakdown products increase with age in telencephalon of mouse brain*. *Neurosci Lett* 1991;131:237-40.
- ⁹³ Vanderklish PW, Bahr BA. *The pathogenic activation of calpain: a marker and mediator of cellular toxicity and disease states*. *Int J Exp Pathol* 2000;81:323-39.
- ⁹⁴ Croall DE, DeMartino GN. *Calcium-activated neutral protease (calpain) system: structure, function, and regulation*. *Physiol Rev* 1991;71:813-47.
- ⁹⁵ Sloane JA, Hinman JD, Lubonia M, Hollander W, Abraham CR. *Age-dependent myelin degeneration and proteolysis of oligodendrocyte proteins is associated with the activation of calpain-1 in the rhesus monkey*. *J Neurochem* 2003;84:157-68.
- ⁹⁶ Baudry M, DuBrin R, Beasley L, Leon M, Lynch G. *Low levels of calpain activity in Chiroptera brain: implications for mechanisms of aging*. *Neurobiol Aging* 1986;7:255-8.
- ⁹⁷ Hofman MA. *Energy metabolism, brain size and longevity in mammals*. *Q Rev Biol* 1983;58:495-512.
- ⁹⁸ Bernard C. *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux*. Paris: J.B. Bailliere 1878-79.
- ⁹⁹ Cannon WB. *The Wisdom of the Body*. New York: WW Norton & Co 1932.
- ¹⁰⁰ McEwen BS. *The End of Stress as We Know It*. Washington: Joseph Henry Press 2002.
- ¹⁰¹ Selye H. *The Stress of Life*. New York: McGraw-Hill 1976.
- ¹⁰² Udelsman R, Blake MJ, Stagg CA, Li DG, Putney DJ, Holbrook NJ. *Vascular heat shock protein expression in response to stress. Endocrine and autonomic regulation of this age-dependent response*. *J Clin Invest* 1993;91:465-73.
- ¹⁰³ Wise PM, Scarbrough K, Lloyd J, Cai A, Harney J, Chiu S, et al. *Neuroendocrine concomitants of reproductive aging*. *Exp Gerontol* 1994;29:275-83.
- ¹⁰⁴ Kawano T, Ito Y, Ishiguro M, Takuwa K, Nakajima T, Kimura Y. *Molecular cloning and characterization of a new insulin/IGF-like peptide of the nematode Caenorhabditis elegans*. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;273:431-6.
- ¹⁰⁵ Vina J, Sastre J, Pallardo F, Borras C. *Mitochondrial theory of aging: importance to explain why females live longer than males*. *Antioxid Redox Signal* 2003;5:549-56.
- ¹⁰⁶ Effros RB. *From Hayflick to Walford: the role of T cell replicative senescence in human aging*. *Exp Gerontol* 2004;39:885-90.
- ¹⁰⁷ Franceschi C, Valensin S, Bonafe M, Paolisso G, Yashin AI, Monti D, et al. *The network and the remodeling theories of aging: historical background and new perspectives*. *Exp Gerontol* 2000;35:879-96.
- ¹⁰⁸ Ginaldi L, Sternberg H. *The Immune System*. In: Timiras PS. Third ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. Boca Raton: CRC Press 2003.
- ¹⁰⁹ George AJ, Ritter MA. *Thymic involution with ageing: obsolescence or good housekeeping?* *Immunol Today* 1996;17:267-72.
- ¹¹⁰ Franceschi C, Monti D, Sansoni P, Cossarizza A. *The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians*. *Immunol Today* 1995;16:12-6.
- ¹¹¹ Wikby A, Johansson B, Olsson J, Lofgren S, Nilsson BO, Ferguson F. *Expansions of peripheral blood CD8 T-lymphocyte subpopulations and an association with cytomegalovirus seropositivity in the elderly: the Swedish NONA immune study*. *Exp Gerontol* 2002;37:445-53.
- ¹¹² Pawelec G, Ouyang Q, Wikby A. *Pathways to a robust immune response in the elderly*. In: Mountz JD. *Immunology and Allergy Clinics of North America: Impact of Immune Senescence on Human Aging*. vol. 23. Philadelphia: WB Saunders Co 2003:1-13.
- ¹¹³ Panossian L, Porter VR, Valenzuela HF, Masterman D, Reback E, Cummings J, et al. *Telomere shortening in T cells correlates with Alzheimer's disease status*. *Neurobiol Aging* 2002;24:77-84.
- ¹¹⁴ Pietschmann P, Grisar J, Thien R, Willheim M, Kersch-Schindl K, Preisinger E, et al. *Immune phenotype and intracellular cytokine production of peripheral blood mononuclear cells from postmenopausal patients with osteoporotic fractures*. *Exp Gerontol* 2001;36:1749-59.
- ¹¹⁵ Arron JR, Choi Y. *Bone versus immune system*. *Int Immunol* 2000;408:535-6.
- ¹¹⁶ Samani NJ, Boulby R, Butler R, Thompson JR, Goodall AH. *Telomere shortening in atherosclerosis*. *Lancet* 2001;358:472-3.
- ¹¹⁷ Jonasson L, Tompa A, Wikby A. *Expansion of peripheral CD8⁺ T cells in patients with coronary artery disease: relation to cytomegalovirus infection*. *J Intern Med* 2003;254:472-8.
- ¹¹⁸ de Boer OJ, Becker AE, van der Wal AC. *T lymphocytes in atherogenesis-functional aspects and antigenic repertoire*. *Cardiovasc Res* 2003;60:78-86.
- ¹¹⁹ Shock NW. *Age changes in physiological functions in the total animal: The role of tissue loss*. In: Strehler BL, Ebert JD, Shock NW. Third ed. *The Biology of Aging: a Symposium*. Washington, DC: Am Inst Biol Sci 1960.
- ¹²⁰ Rowe JW, Kahn RL. *Human aging: usual and successful*. *Science* 1987;237:143-9.
- ¹²¹ Rowe JW, Kahn RL. *Successful aging*. *Aging* 1998;10:142-4.

- ¹²²Mobbs CV, Bray GA, Atkinson RL, Bartke A, Finch CE, Maratos-Flier E, et al. *Neuroendocrine and pharmacological manipulations to assess how caloric restriction increases life span*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56:34-44.
- ¹²³Weindruch R, Walford RL. *The Retardation of Aging and Diseases by Dietary Restriction*. Springfield, IL: Thomas 1998.
- ¹²⁴Lane N. *A unifying view of ageing and disease: the double-agent theory*. *J Theor Biol* 2003;21:531-40.