A Vladimir Petrovich Skulachev,
padre del concetto di fenoptosi,
essenziale per comprendere l'invecchiamento

Gerontologia e Geriatria Evoluzionistica
Perché e Come Invecchiamo

Giacinto Libertini[a,*], Graziamaria Corbi[b,c], Valeria Conti[d],
Olga Shubernetskaya[e,f], Nicola Ferrara[c,g]

Presentazione di Alexey Olovnikov[e,h]

Affiliazioni:
[a] Ricercatore indipendente, e socio della Società Italiana per la Biologia Evoluzionistica (SIBE), Italia;
[b] Dip. di Medicina e Scienze della Salute, Univ. del Molise, Campobasso, Italia;
[c] Società Italiana di Gerontologia e Geriatria (SIGG);
[d] Dip. di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Univ. di Salerno, Baronissi, SA, Italia;
[e] Centro nazionale di ricerca medica per ostetricia, ginecologia e perinatologia, Mosca, Russia;
[f] Istituto di Chimica Bio-Organica M.M. Shemyakin–Yu.A. Ovchinnikov, Mosca, Russia;
[g] Dip. di Scienze Mediche Traslazionali, Federico II Univ. di Napoli, Napoli, Italia;
[h] Ist. di Biochimica Fisica, Accademia Russa delle Scienze, Mosca, Russia;

Libertini Giacinto, giacinto.libertini@yahoo.com; * corresponding author
Graziamaria Corbi, graziamaria.corbi@unimol.it;
Valeria Conti, vconti@unisa.it;
Olga Shubernetskaya, olgasb21@gmail.com;
Nicola Ferrara, nicola.ferrara@unina.it;
Alexey Olovnikov, olovnikov@gmail.com.

INDICE

Presentazione (Alexey Olovnikov)

Terminologia

Capitolo 1 - Introduzione
1.1 - Medicina evoluzionistica e “gerontologia e geriatria evoluzionistica”
1.2 - Definizione dell’invecchiamento
1.3 – L’invecchiamento nell’osservazione naturale
1.4 - Una breve storia delle teorie sull’invecchiamento
1.4.1 - La concezione dell’invecchiamento fino al XIX secolo
1.4.2 - Teorie dell’invecchiamento nel XIX secolo e nella prima metà del XX secolo
1.4.3 - Teorie dell’invecchiamento dalla seconda metà del XX secolo ad oggi
1.4.4 - Classificazione delle teorie dell’invecchiamento

Capitolo 2 - Evoluzione e fenoptosi
2.1 - Definizione darwiniana della selezione naturale
2.2 - Selezione sopraindividuale
2.3 - Definizione di fenoptosi
2.4 - Esempi di fenoptosi e sua ampia diffusione
2.4.1 - (A) Fenoptosi obbligatoria e rapida
2.4.2 - (B) Fenoptosi obbligatoria e lenta
2.4.3 - (C) Fenoptosi opzionale
2.4.4 - (D) Fenoptosi indiretta
2.5 - Fenomeni fenoptotici nella nostra specie
2.6 – Tabelle di sopravvivenza e fenoptosi

Capitolo 3 - Medicina evoluzionistica
3.1 - Definizione di medicina evoluzionistica
3.2 - Una breve storia della medicina evoluzionistica
3.3 - Il concetto di normalità nella medicina evoluzionistica
3.4 - Il concetto di discrepanza nella medicina evoluzionistica
3.5 - Malattie causate da discrepanze
3.6 - Malattie causate da alterazioni del genotipo
3.7 - Il concetto di olobionte
3.8 – I disturbi immunologici nell’interpretazione della medicina evoluzionistica
3.8.1 - L’attuale “epidemia” di malattie allergiche
3.8.2 - L’attuale “epidemia” di malattie autoimmuni
3.8.3 - Cause dell’epidemia di disturbi immunologici
3.9 - Classificazione non evoluzionistica delle malattie
3.10 - Classificazione evoluzionistica delle malattie
3.11 - Significato e scopi della medicina evoluzionistica

Capitolo 4 - Il confronto tra i due paradigmi
4.1 - Introduzione
4.2 - Il paradigma dell’invecchiamento come fenomeno non adattativo
4.3 - Il paradigma dell’invecchiamento come fenomeno adattativo
4.4 – Argomentazioni e evidenze empiriche a sostegno o contro i due paradigmi
4.4.1 - Assenza di postulati improbabili
4.4.2 - Non universalità dell’invecchiamento

4.4.3 - Variazione dei ritmi di invecchiamento nel confronto tra specie
4.4.4 - Considerazione della selezione naturale sopraindividuale e dei fenomeni fenoptotici
4.4.5 - Effetti della restrizione calorica sulla durata della vita
4.4.6 - Esistenza di mortalità crescente correlata all'età in condizioni naturali
4.4.7 - Nel confronto tra specie, relazione inversa tra mortalità estrinseca e proporzione di morti dovute a mortalità intrinseca
4.4.8 - Impossibilità di spiegare il declino correlato all'età della capacità di sopravvivenza come conseguenza di geni dannosi a una certa età
4.4.9 - Declino progressivo correlato all'età delle capacità di turnover cellulare
4.4.10 – Il programma della senescenza cellulare
4.4.11 – La senescenza cellulare graduale
4.4.12 - Valutazione generale degli anzidetti argomenti e evidenze empiriche
4.5 – Teoria dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione
4.6 - Teoria dell'invecchiamento mediante meccanismo di selezione di parentela
4.6.1 -Definizioni
4.6.2 -Il vantaggio evoluzionistico di una ML più breve
4.6.3 - Effetti dell'IMICAW sulla ML
4.6.4 - Stabilità evoluzionistica di un gene che causa IMICAW
4.6.5 - Le condizioni preliminari
4.6.6 - Due possibili obiezioni
4.6.7 - L'effetto Matusalemme
4.6.8 – IMICAW, IMICAC e geni t

Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento
5.1 - Descrizione della teoria "subtelomerica-telomerica"
5.1.1 - Limiti nelle capacità di duplicazione cellulare
5.1.2 - Relazione probabilistica tra accorciamento dei telomeri e senescenza replicativa
5.1.3 - Suggerimenti dal lievito
5.1.4 - Senescenza cellulare graduale e senescenza cellulare
5.1.5 - Assenza di relazione tra longevità e lunghezza iniziale dei telomeri
5.2 - Cambiamenti metabolici nelle cellule che invecchiano
5.3 - La sindrome atrofica
5.4 - Limiti nelle capacità di duplicazione cellulare e altri effetti del sistema telomero-subtelomero-telomerasi spiegati come una difesa generale contro il cancro
5.5 - Il telomero
5.6 - L'enzima telomerasi
5.7 - Il subtelomero
5.8 - Il cappuccio eterocromatinico sul telomero

Capitolo 6 - L'invecchiamento nella specie umana
6.1 - Alterazioni conseguenti alle azioni del sistema telomero-subtelomero-telomerasi
6.1.1 - Alterazioni del metabolismo cellulare
6.1.2 - Alterazioni del turnover cellulare
6.2 - Invecchiamento diretto
6.2.1 - Endotelio
6.2.2 - Pelle
6.2.3 - Cellule recettoriali olfattive
6.2.4 - Altre cellule neuronali sensoriali periferiche (escluse le cellule recettoriali olfattive)
6.2.5 - Muscolo scheletrico
6.2.6 - Cuore
6.2.7 - Sistema gastrointestinale

6.2.8 - Tessuti e organi orofacciali
6.2.9 - Polmoni
6.2.10 - Reni
6.2.11 - Cellule β pancreatiche
6.2.12 - Ossa e articolazioni
6.2.13 - Fegato
6.2.14 - Cellule ematopoietiche e midollo osseo
6.2.15 - Testicoli
6.3 - Invecchiamento indiretto
6.3.1 - Cellule fotorecettrici
6.3.2 - Neuroni del sistema nervoso centrale
6.3.3 - Neuroni uditivi
6.3.4 – Il cristallino
6.4 - Schemi generali

Capitolo 7 - Gli anziani e i loro disturbi
7.1 - Classificazione evoluzionistica dei disturbi degli anziani
7.2 - Declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età
7.3 - Malattie dovute ad alterazioni genetiche
7.4 - Malattie dovute ad alterazioni genetiche che causano sindromi simili all'invecchiamento
7.5 - Malattie derivanti da "estremi" della nicchia ecologica e da relazioni con altri esseri viventi
7.6 - Malattie causate da discrepanze
7.7 - Malattie causate da discrepanze che accelerano l'invecchiamento fisiologico
7.8 - Importanza dell'invecchiamento fisiologico

Capitolo 8 - Prevenzione e cura dei disturbi degli anziani
8.1 - Razionalità dell'approccio evoluzionistico
8.2 - Prevenzione e cura delle malattie identiche o simili a qualsiasi età
8.3 - Accelerazione dell'invecchiamento: prevenzione e trattamento
8.4 - Trattamento dell'invecchiamento fisiologico
8.4.1 - Attivazione della telomerasi
8.4.2 - Eliminazione delle cellule senescenti
8.4.3 - Sostanze e metodi anti-invecchiamento
8.4.4 - Modifiche genetiche
8.4.5 - Problemi etici
8.5 - Geriatria e società attuale
8.6 - Geriatria e società futura

Appendice
Parte A
Parte B

Bibliografia

PRESENTAZIONE

Il lettore riceve un libro importante che riassume i risultati raggiunti oggi dalla scienza dell'invecchiamento ed è ricco non solo di risposte ma anche di questioni che necessitano di risposte. E gli autori, interpretando il ruolo di un Virgilio collettivo, guidano il lettore attraverso le complessità di fatti e ipotesi, abbondanti nella moderna gerontologia che corre sempre più veloce verso l'obiettivo prediletto dell'umanità.
Cosa succede al corpo quando la vita terrena è già trascorsa per metà? Quando inizia l'invecchiamento? Nel corso dell'evoluzione è apparso per caso oppure no? L'invecchiamento è solo dannoso o ha qualche beneficio biologico? Come e perché le strutture e le funzioni del corpo cambiano con l'età? Cosa può dare alla medicina una comprensione dei processi evoluzionistici? Diverse teorie danno le loro risposte a tali domande. Quali di loro e perché sono più vicine alla verità?
Tutto questo è solo una parte del libro, che offre anche una visione speciale della medicina in generale. Gli autori danno un contributo significativo alla medicina evoluzionistica, un campo in rapida crescita, che combina i risultati della biologia evoluzionistica e della scienza medica moderna. In conformità con i loro interessi professionali, gli autori si concentrano principalmente sulla gerontologia evoluzionistica e sulla geriatria. Questa area di ricerca è interessante per medici, gerontologi e tutti i biologi di ampio profilo. Le nuove prospettive prese in considerazione nel libro consentono di comprendere meglio le malattie stesse e allo stesso tempo aiutano a estrarre informazioni dalle osservazioni mediche e a usarle per un ulteriore sviluppo della biologia evoluzionistica. Notando l'esistenza di numerosi meccanismi che sono compatibili o incompatibili con i due paradigmi opposti dell'invecchiamento programmato e non programmato (stocastico), gli autori sviluppano la propria versione, vale a dire la cosiddetta "teoria subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento.
Il libro è splendidamente illustrato con grafici, foto e disegni che arricchiscono il testo. Gli autori usano per i loro scopi non solo una ricca serie di fatti, idee e conclusioni, ma perfino mappe geografiche. Per quanto riguarda la geografia, essa mostra chiaramente la connessione della salute umana con la presenza di parassiti naturali che hanno accompagnato la nostra specie nel corso della sua lunga storia. Davanti a noi viene disegnato un sorprendente paradosso: l'esistenza dell'antagonismo tra la presenza di elminti e lo sviluppo di patologie umane così pericolose come le malattie autoimmuni e allergiche.
In generale, raccomando di leggere questo libro a medici, evoluzionisti e certamente a coloro che sono interessati ai problemi dell'invecchiamento. E chi ora non è interessato a ciò?

Alexey Olovnikov

Terminologia in inglese + abbreviazioni (se usate più di una volta) + traduzioni in italiano

Ipotesi relative all'invecchiamento

aging as an accelerating factor of evolution hypothesis	ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione
antagonistic pleiotropy h.	ip. della pleiotropia antagonistica
cessation of somatic growth h.	ip. della cessazione della crescita somatica
damage accumulation hypotheses	ip. dell'accumulo di danni
disposable soma h.s	ip. del soma disponibile
historical h.	ip. storica
mutation accumulation h.	ip. dell'accumulo di mutazioni
quasi-programmed aging h.	ip. dell'invecchiamento quasi-programmato
Red Queen h.	ip. della Regina Rossa

Malattie

age-related macular degeneration	AMD	degenerazione maculare correlata all'età
Alzheimer's disease	AD	malattia di Alzheimer
dementia with Lewy bodies	DLB	demenza con corpi di Lewy
dyskeratosis congenita	DC	discheratosi congenita
Parkinson's disease	PD	morbo di Parkinson
progeroid syndromes	PS	sindromi progeroidi
Werner syndrome or adult progeria	WS	sindrome di Werner o progeria dell'adulto

Tipi cellulari

endothelial progenitor cells	EPC	cellule progenitrici endoteliali
olfactory receptor cells	ORC	cellule recettoriali olfattive
retina pigmented cells	RPC	cellule pigmentate della retina

Enzimi e molecole

extrachromosomal ribosomal DNA circles	ERC	circoli extracromosomici di DNA ribosomiale
mammalian TOR	mTOR	TOR dei mammiferi
reactive oxygen species	ROS	specie reattive dell'ossigeno
human TER	hTER	TER umano
human TERT	hTERT	TERT umana
target of rapamycin	TOR	bersaglio della rapamicina
Telomerase RNA	TER	RNA telomerasico
Telomerase Reverse Transcriptase	TERT	trascrittasi inversa telomerica
Telomeric Repeat-containing RNA	TERRA	RNA telomerico contenente ripetizioni

Miscellanea

caloric restriction	CR	restrizione calorica
calorie restriction mimetics	CRM	mimetici della restrizione calorica
combined use of dasatinib and quercetin	DQ	uso combinato di dasatinib e quercetina
hypothetical ML without the age-related increasing mortality	HML	ipotetica ML senza l'incremento della mortalità correlato all'età
International Classification of Diseases	ICD	Classificazione Internazionale delle Malattie
mean duration of life	ML	durata media della vita
senescence-associated secretory phenotype	SASP	fenotipo secretorio associato alla senescenza
senescent cell anti-apoptotic pathways	SCAP	vie metaboliche anti-apoptosi delle cellule senescenti
Telomere-Subtelomere-Telomerase system	sistema TST	sistema Telomero-Subtelomero-Telomerasi

Tre importanti definizioni:
Telomere - Un telomero, dalle parole del greco antico τέλος [*télos*, fine] e μέρος [*méros*, parte], è la parte finale di una molecola di DNA cromosomico ed è composto da una breve sequenza nucleotidica più volte ripetuta (*motif*), che risulta molto conservata nel corso dell'evoluzione (ad esempio, TTAGGG nei vertebrati). Un telomero è anche inteso come l'associazione di tale sequenza ripetuta con proteine specializzate.
Telomerasi - La telomerasi è un enzima trascrittasi inversa, cioè una ribonucleoproteina enzimatica che aggiunge per ogni ciclo una sequenza nucleotidica specifica all'estremità telomerica 3'. La sequenza è definita dalla telomerasi RNA ed è la stessa sequenza ripetuta dei telomeri. L'azione della telomerasi compensa la duplicazione incompleta dell'estremità della molecola di DNA da parte dell'enzima DNA polimerasi e senza questa azione il telomero si accorcia ad ogni duplicazione della molecola di DNA.
Subtelomero - Il subtelomero, o regione subtelomerica, è quella parte della molecola di DNA cromosomico immediatamente precedente il telomero. Questa definizione indica con precisione che il subtelomero inizia dove finisce il telomero ma non indica l'altra estremità del subtelomero. Nel capitolo 5 di questo libro, il subtelomero è definito in termini funzionali come composto da due parti:
- Subtelomero R (subtelomero Regolatore) composto da sequenze regolatrici di primo livello represse in proporzione all'accorciamento del telomero;
- Subtelomero A (subtelomero Amplificatore) composto da sequenze regolatrici di secondo livello regolate dalle sequenze del subtelomero R. La loro azione amplifica e moltiplica gli effetti del subtelomero R.

Capitolo 1
Introduzione

1.1 - Medicina evoluzionistica e “gerontologia e geriatria evoluzionistica”
1.2 - Definizione dell’invecchiamento
1.3 – L’invecchiamento nell’osservazione naturale
1.4 - Una breve storia delle teorie sull’invecchiamento
1.4.1 - La concezione dell’invecchiamento fino al XIX secolo
1.4.2 - Teorie dell’invecchiamento nel XIX secolo e nella prima metà del XX secolo
1.4.3 - Teorie dell’invecchiamento dalla seconda metà del XX secolo ad oggi
1.4.4 - Classificazione delle teorie dell’invecchiamento

1.1 - Medicina evoluzionistica e “gerontologia e geriatria evoluzionistica”

Poiché la medicina è una parte importante della biologia, se è vero che “Niente in biologia ha senso, tranne che alla luce dell’evoluzione” [Dobzhansky 1973], perché “Nulla in medicina ha senso, tranne che alla luce dell’evoluzione” [Varki 2012] non dovrebbe essere vero?
“La Medicina Evoluzionistica è il progetto di utilizzare la biologia evoluzionistica per affrontare i problemi della medicina” [Nesse 2008, p. 417].
La medicina evoluzionistica non è una medicina alternativa (come l’omeopatia, l’iridologia, la medicina ayurvedica, la naturopatia, la medicina tradizionale cinese, la medicina energetica, etc.), ma una medicina che è più completamente scientifica dal momento che coinvolge i concetti dell’evoluzionismo. Una medicina che ignorasse i principi della chimica, per esempio, sarebbe parzialmente scientifica. Allo stesso modo, una medicina che ignora i principi dell’evoluzione è parzialmente scientifica.
Inoltre, proprio come la medicina attuale comprende molte branche, incluso quell’insieme di cognizioni e applicazioni pratiche che sono oggetto della gerontologia e della geriatria, anche la medicina evoluzionistica deve avere una branca simile che può essere definita come “gerontologia e geriatria evoluzionistica”. L’esposizione e la discussione di questo argomento richiede certamente una breve descrizione e discussione dei concetti principali alla base della medicina evoluzionistica e questo sarà l’argomento del *Capitolo 3 - Medicina evoluzionistica*.
Tuttavia, la medicina evoluzionistica, come è comunemente intesa oggi [Trevathan et al. 1999, 2008a; Stearns e Koella 2008], è ancora legata ai concetti tradizionali dell’invecchiamento concepito come un fenomeno non adattativo e ignora completamente il concetto di fenoptosi (morte adattativa o programmata di un individuo, vedi sotto). Per un’inclusione razionale e convincente della gerontologia e della geriatria nella medicina evoluzionistica, è perciò necessario approfondire i concetti di selezione sopraindividuale e di fenoptosi e questo sarà l’argomento del *Capitolo 2 - Evoluzione e fenoptosi*.
Il *Capitolo 3 - La medicina evoluzionistica*, in cui vengono delineati i concetti principali della medicina evoluzionistica, sarà anche un momento utile per sottolineare alcune importanti differenze tra il nuovo e il tradizionale approccio della medicina evoluzionistica.

1.2 - Definizione dell’invecchiamento

Esistono due modi diversi per definire l’invecchiamento.
Il primo definisce come sinonimo di invecchiamento il declino correlato all’età delle funzioni biologiche. Esempi di questo tipo di definizione sono:
L’invecchiamento è ...
--- “progressiva perdita di funzionalità accompagnata da diminuzione della fertilità e aumento della mortalità con l’avanzare dell’età” [Kirkwood e Austad 2000];

--- “un persistente declino delle componenti delle capacità di sopravvivenza specifiche per l’età di un organismo causato da deterioramento fisiologico interno” [Rose 1991, p. 20];
--- “qualsiasi cambiamento dipendente dal tempo che si verifica *dopo che* la maturità di dimensioni, forma e funzioni è raggiunta e che è distinto da ritmi giornalieri, stagionali e altri ritmi biologici.” [Rockstein et al. 1977].

Il secondo tipo di definizione non fa alcun riferimento alle alterazioni delle funzioni e descrive il fenomeno semplicemente come un aumento della mortalità correlato all’età. Esempi di questo secondo tipo di definizione sono:
L’invecchiamento è ...
--- “un titolo generale per il gruppo di effetti che, in vari *phyla*, porta ad una diminuzione dell’aspettativa di vita con l’aumentare dell’età” [Comfort 1979, p. 7];
--- “aumento della mortalità con l’aumento dell’età cronologica in popolazioni allo stato selvatico” [Libertini 1988] (Fig. 1.1);
--- “senescenza attuariale (declino della sopravvivenza con l’età)” [Holmes e Austad 1995];
--- “aumento della mortalità con l’età ... senescenza attuariale” [Nussey et al. 2013].

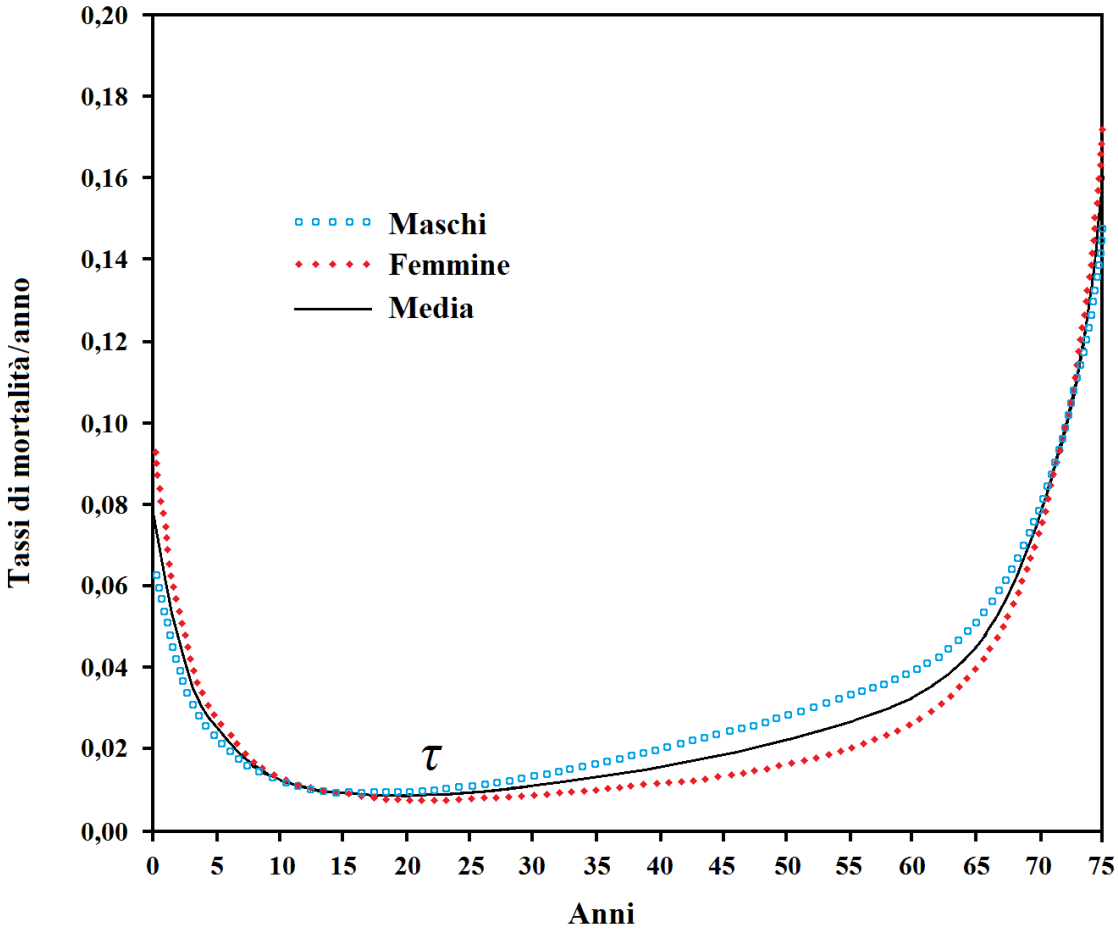


Figura 1.1 - Definizione dell’invecchiamento come “aumento della mortalità con l’aumento dell’età cronologica in popolazioni allo stato selvatico” [Libertini 1988]. I tassi di mortalità del popolo Ache in condizioni naturali (periodo della foresta) mostrano tassi di mortalità in aumento a partire dal periodo τ; dati da [Hill e Hurtado 1996].

Poiché il declino delle funzioni biologiche, in condizioni naturali, comporta il declino della capacità darwiniana di sopravvivere (fitness), ovvero un aumento della mortalità, il primo tipo di definizione è equivalente al secondo tipo se le definizioni sono sempre limitate alle osservazioni in natura.

Tuttavia, il secondo tipo di definizione dovrebbe essere preferito per vari motivi.
L'aumento del tasso di mortalità può essere definito con precisione. Certamente è utile stabilire il valore arbitrario inferiore dell'aumento a partire dal quale si considera che l'invecchiamento inizia. È anche possibile stabilire arbitrariamente un valore del tasso di mortalità (o dell'aumento di questo tasso) a partire da cui inizia una condizione avanzata di senescenza ("stato di senilità" [Williams 1957]). Tuttavia, la scelta arbitraria di questi valori non altera il concetto che l'invecchiamento è definito sulla base di un preciso parametro, il tasso di mortalità.
Al contrario, come è possibile definire in modo obiettivo che la modifica di un parametro biologico fa parte dell'invecchiamento o no? Il problema potrebbe essere aggirato specificando che la modifica di un parametro biologico è una manifestazione dell'invecchiamento quando e nella misura in cui riduce la capacità di sopravvivenza, ovvero aumenta la mortalità. Tuttavia, con questa interpretazione il primo tipo di definizione diventa sinonimo del secondo e a questo punto è meglio fare riferimento direttamente ai tassi di mortalità indipendentemente dalle alterazioni biologiche che li causano.
La definizione dell'invecchiamento basata su alterazioni biologiche comporta anche il pericolo di una seria "... confusione del processo dell'invecchiamento con lo stato senile" [Williams 1957]. Lo stato di senilità, cioè la condizione di grave alterazione delle funzioni biologiche che caratterizza le fasi avanzate dell'invecchiamento, non è sinonimo di invecchiamento.
La distinzione tra invecchiamento e stato senile è ben nota da molto tempo ed è espressa in modo eccellente da una affermazione di Williams: "Nessuno considererebbe senile un uomo sulla trentina, eppure, secondo i record atletici e le tabelle di sopravvivenza, l'invecchiamento è rampante in questa decade." [Williams 1957]
La confusione tra invecchiamento e stato senile ha portato a negare e sminuire l'esistenza dell'invecchiamento in condizioni naturali e, quindi, alla conclusione che l'invecchiamento non può essere oggetto di selezione naturale a causa della sua inesistenza in natura: "... c'è poca evidenza che la senescenza contribuisca in modo significativo alla mortalità in condizioni naturali. ... Di norma gli animali selvatici semplicemente non vivono abbastanza a lungo da invecchiare. Pertanto, la selezione naturale ha limitate opportunità di esercitare un'influenza diretta sul processo di invecchiamento" [Kirkwood e Austad 2000].

1.3 – L'invecchiamento nell'osservazione naturale

Fino a qualche tempo fa era comune sollevare dubbi sull'esistenza dell'invecchiamento in condizioni naturali. Ad esempio, nel 1952, Medawar osservò che "se gli animali *possono* o no rivelare un innato deterioramento con l'età è quasi alla lettera un problema in condizioni di domesticazione; il fatto è che sotto le durezze della vita in condizioni naturali non lo fanno. Semplicemente non vivono così a lungo" [Medawar 1952]; Rose, nel 1991, dichiarò che "... [in condizioni naturali] è dubbio che per uno studio molti individui rimarrebbero alla età in cui le popolazioni di laboratorio mostrano l'invecchiamento." [Rose 1991, p. 21]; "L'invecchiamento raramente o mai si verifica in animali selvatici perché è insolito per loro vivere abbastanza a lungo da avere esperienza del fenomeno. La stessa osservazione può essere fatta per gli umani in tempi preistorici. La selezione naturale non può avere efficacia selettiva per un processo come l'invecchiamento quando pochi o nessun animale è mai vissuto abbastanza a lungo da partecipare al processo di selezione." [Hayflick 2000], e poco sopra la convinzione di due autorevoli autori nel 2000 ("... Di norma gli animali selvatici semplicemente non vivono abbastanza a lungo per invecchiare ..." [Kirkwood e Austad 2000]). L'idea che solo pochissime persone sopravvivano in natura abbastanza a lungo da morire a causa della mortalità correlata all'invecchiamento fu considerata accettabile per lungo tempo [Lack 1954; Berry e Bronson 1992].
Tuttavia, già in quegli anni la presenza in natura di un aumento della mortalità correlato all'età era nota da tempo per varie specie [Libertini 1988; Finch 1990]. In particolare, il lavoro di Libertini riportava nel 1988 dati derivati da precedenti studi sul campo che documentavano l'invecchiamento

per sette specie di mammiferi (elefante [Laws 1966], ippopotamo [Laws 1968], antilope d'acqua [Spinage 1970], ariete di Dall [Deevey 1947], zebra, facocèro, impala e bufalo [Spinage 1972]). Nel 1998, un autorevole articolo [Ricklefs 1998] ha ulteriormente documentato l'esistenza di un aumento della mortalità correlata all'età per popolazioni in condizioni naturali.
Un esempio di tabella di sopravvivenza con mortalità crescente correlata all'età, basata su dati provenienti dall'osservazione naturale [Ricklefs 1998], è illustrato nella Figura 1.2.

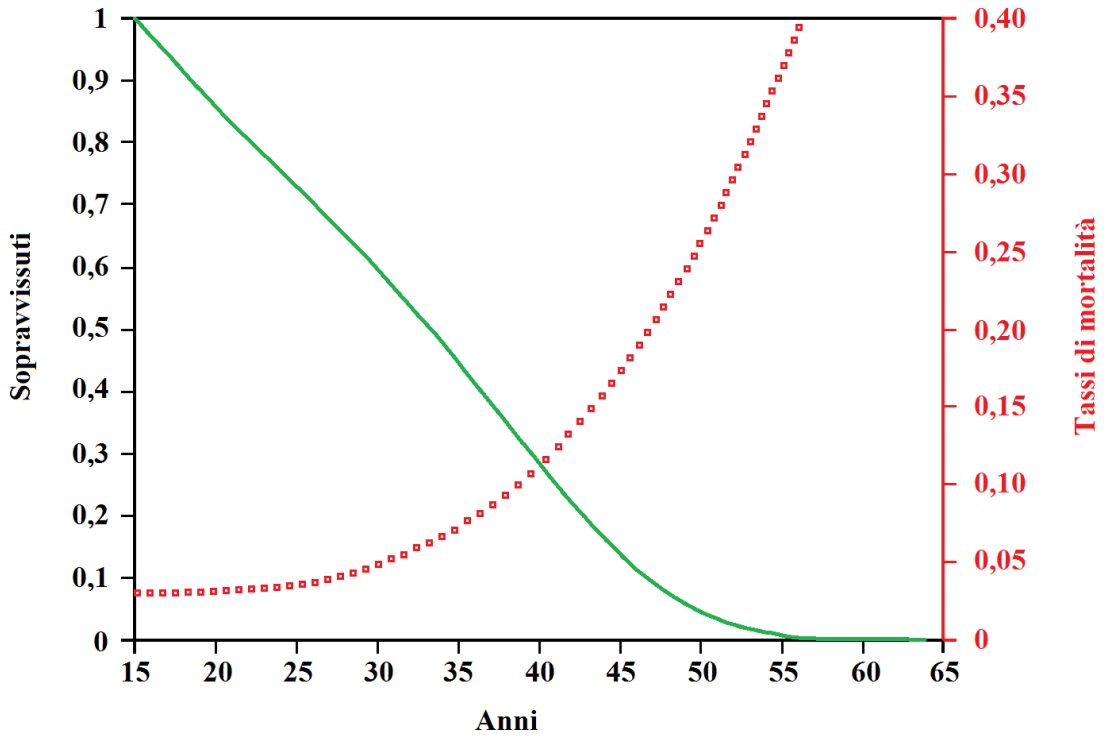


Figura 1.2 - Tabella di sopravvivenza e mortalità di *Hippopotamus amphibius* in natura, dati complessivi per i due sessi (dati da [Ricklefs 1998]). I sopravvissuti e l'elevata mortalità nei primi anni non sono riportati.

Una successiva autorevole rassegna [Nussey et al. 2013], per molte specie studiate allo stato selvatico, ha ampiamente confermato l'esistenza di un aumento della mortalità correlato all'età in condizioni naturali. In particolare, nella rassegna si afferma che: "La recente comparsa di studi sul campo a lungo termine presenta prove inconfutabili che la senescenza è comunemente rilevata in natura. Abbiamo trovato tali prove in 175 diverse specie animali da 340 studi separati." [Nussey et al. 2013]. È interessante notare che uno degli autori dello studio, Steven Austad, è lo stesso che, insieme a Kirkwood, nel 2000 aveva negato l'esistenza dell'invecchiamento in condizioni naturali [Kirkwood e Austad 2000].
Un argomento strettamente correlato è la misura in cui l'invecchiamento contribuisce a modificare la durata media della vita (mean duration of life span, "ML") in condizioni naturali. Kirkwood e Austad [Kirkwood e Austad 2000], come precedentemente riportato, sostenevano che l'invecchiamento, essendo praticamente assente in condizioni naturali, aveva poca o nessuna influenza nel ridurre le possibilità di sopravvivenza e quindi non era un fenomeno modificabile dalla selezione naturale.
Questa convinzione era già insostenibile nel 2000 giacché era contraddetta da dati derivanti dall'osservazione di popolazioni animali in condizioni naturali. In effetti, in un lavoro del 1988 già citato [Libertini 1988] e basato su dati preesistenti noti, era stato dimostrato che la ML si sarebbe approssimativamente raddoppiata se non ci fosse stato un aumento della mortalità correlato all'età. Inoltre, escludendo gli individui deceduti durante il primo periodo di vita, caratterizzato da un'alta

mortalità, la ML residua della sottopopolazione considerata (ML_τ) si triplicava nell'ipotetica assenza di aumento della mortalità correlata all'età (v. la Tabella 1.1).

Tabella 1.1 - Influenza dell'invecchiamento sulla ML (Tabella 1 in [Libertini 1988], modificata; tutti i tempi sono in anni).
Legenda:
τ = età in cui il tasso di mortalità è il più basso;
λ_{min} = mortalità all'età τ;
ML = ML osservata in condizioni naturali;
HML = ipotetica ML senza la mortalità crescente correlata all'età;
MLτ - τ = [ML osservata in natura per le persone sopravvissute al tempo τ] - [τ];
HMLτ - τ = [ipotetica ML degli individui sopravvissuti al tempo τ senza la crescente mortalità correlata all'età] - [τ].

Specie [fonte dei dati]	τ	λ_{min}	ML (A)	HML (B)	Rapp. B/A	MLτ-τ (C)	HML$\tau - \tau$ (D)	Rapp. (D/C)
Zebra [Spinage 1972]	6	4.63	8.48	17.23	2.03	6.73	21.55	3.20
Ippopotamo [Laws 1968]	14	1.03	15.40	43.33	2.81	21.69	96.68	4.45
Elefante [Laws 1966]	16	1.95	17.27	28.85	1.67	21.08	51.95	2.42
Antilope d'acqua [Spinage 1970]	3	5.55	3.71	9.56	2.57	4.47	18.00	4.02
Facocèro [Spinage 1972]	8	5.90	4.79	7.43	1.55	5.92	16.93	2.85
Impala [Spinage 1972]	3	5.44	6.37	16.87	2.64	4.76	18.35	3.85
Bufalo [Spinage 1972]	5	4.23	5.50	12.16	2.21	6.80	23.61	3.46
Ariete di Dall [Deevey 1947]	4	3.54	7.15	23.00	3.21	5.52	28.17	5.09
				Media =	2.34		Media =	3.67

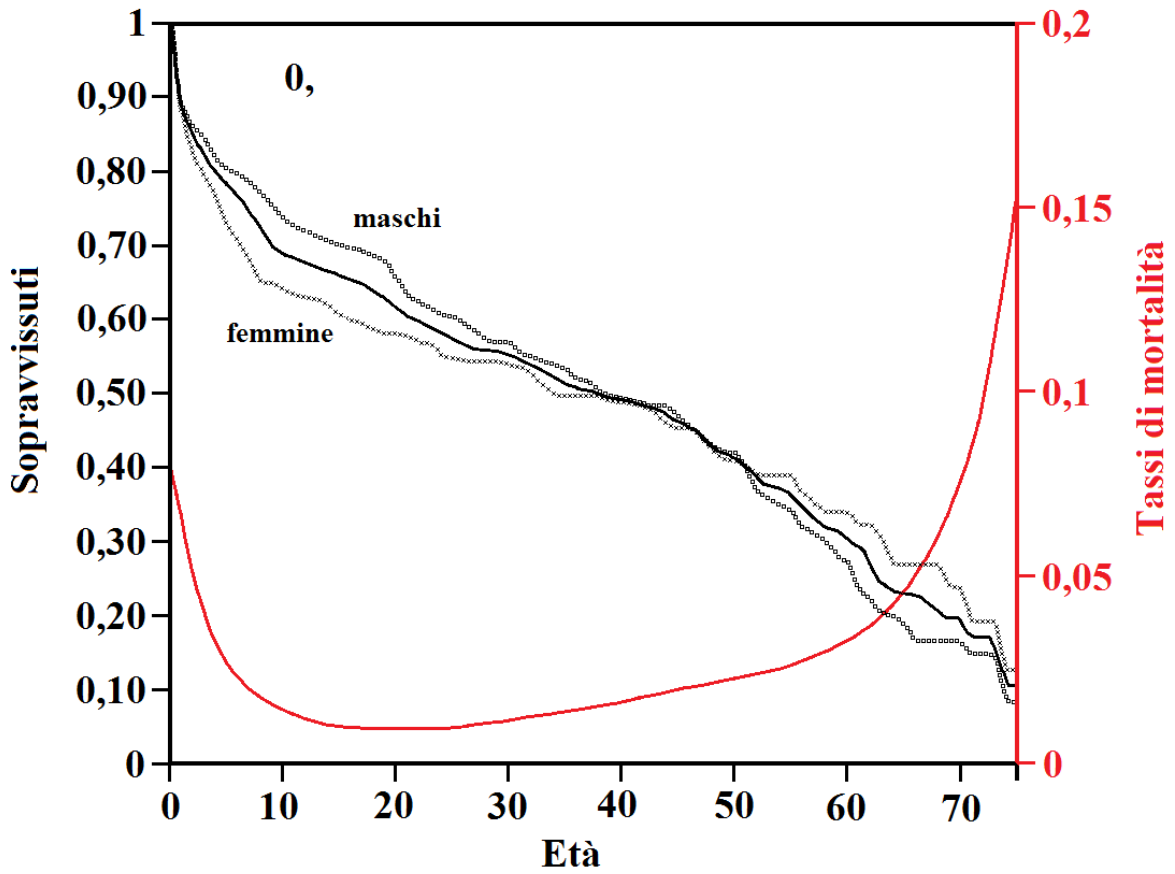


Figura 1.3 - Sopravvissuti e tassi di mortalità della popolazione Ache (nel periodo della foresta) (dati da [Hill e Hurtado 1996]).

Un successivo lavoro del 1998 [Ricklefs 1998] mostrò per un ancor maggior numero di specie che, in condizioni naturali, la proporzione di morti dovute a invecchiamento (P_s) era considerevole e tale da ridurre significativamente la durata della vita.
Dopo il lavoro di Kirkwood e Austad [Kirkwood e Austad 2000], ulteriori dati hanno contraddetto la loro ferma convinzione. Come già detto, nel 2013 un'importante rassegna [Nussey et al. 2013] ha esaminato un numero significativo di lavori che dimostrano come per molte specie esiste un aumento della mortalità correlato all'età in condizioni naturali il quale influenza chiaramente la durata media della vita.
Nello stesso anno, un altro lavoro [Libertini 2013] ha discusso i dati ricavati da una popolazione umana (il popolo Ache del Paraguay) in condizioni naturali in un importante studio osservazionale sul campo [Hill e Hurtado 1996]. Questo studio ha documentato un aumento della mortalità correlato all'età che iniziava dalla terza decade di vita (lo stesso periodo di vita evidenziato da Williams [Williams 1957] per le popolazioni moderne). Nonostante le primitive condizioni di vita e l'elevata mortalità dovuta a cause violente o ad altre cause che sarebbero letali a qualsiasi età, circa il 31%, il 24%, il 21% e l'11% degli individui sopravvivevano rispettivamente alle età di 60, 65, 70 e 75 anni [Hill e Hurtado 1996] (Fig. 1.3).
Inoltre, fu calcolata la ML nel caso ipotetico di nessun aumento della mortalità correlato all'età, sia considerando l'intera popolazione (Fig. 1.4) sia considerando solo i sopravvissuti all'età di 20 anni quando la mortalità era al suo valore più basso (Fig. 1.5).
Nel primo caso, in condizioni naturali la ML per l'intera popolazione era pari a 38,8 anni, mentre escludendo ipoteticamente qualsiasi aumento di mortalità correlato all'età la ML raggiungeva 87,75 anni con un rapporto tra i due valori pari a 2,26.

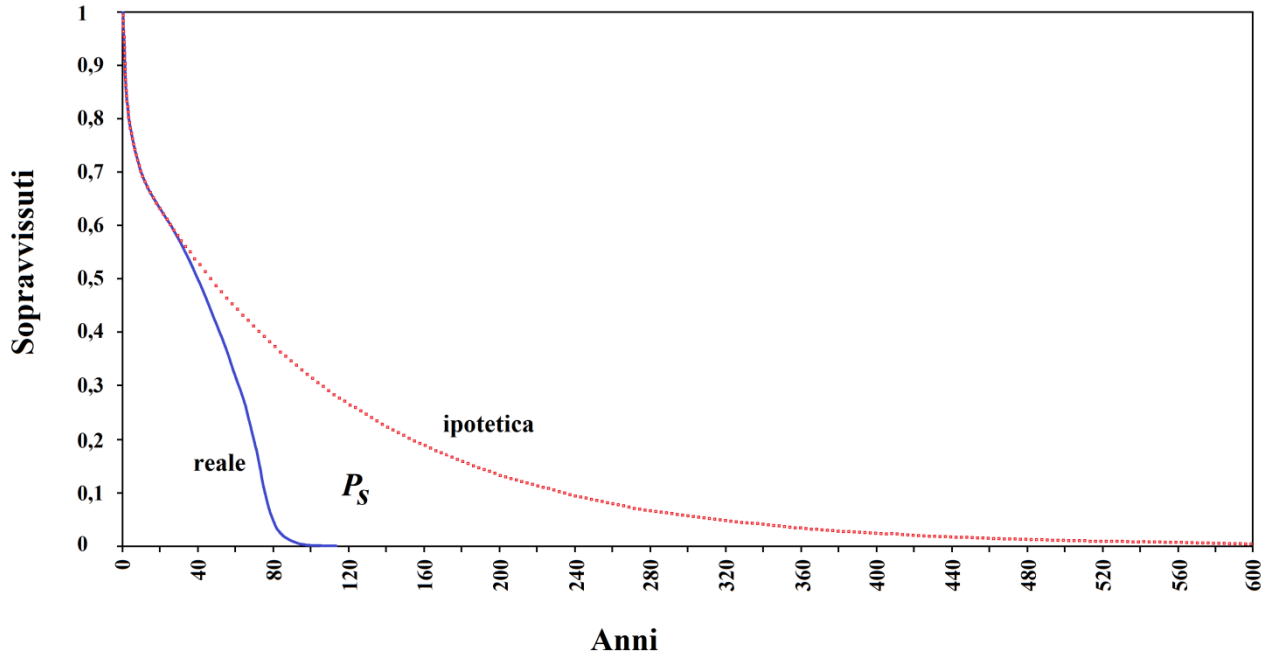


Figura 1.4 - La linea continua mostra la tabella di sopravvivenza reale del popolo Ache in condizioni naturali (periodo della foresta; dati da [Hill e Hurtado 1996]), mentre la linea tratteggiata indica la tabella di sopravvivenza ipotetica senza la mortalità crescente correlata all'età. L'area P_s indica la proporzione di morti dovute all'invecchiamento (definizione di P_s da [Ricklefs 1998]). Le ascisse si estendono fino a 600 anni, poiché all'età di 580 anni circa lo 0,5% della popolazione sopravviverebbe se la mortalità fosse costante con un tasso dello 0,9%/anno (approssimativamente la mortalità minima stimata in condizioni naturali).

Nel secondo caso, ovvero considerando solo gli individui sopravvissuti all'età di 20 anni (quando la mortalità aveva il suo valore più basso, circa lo 0,858%/anno), la ML era di 20 + 38,1 = 58,1 anni,

mentre per la curva ipotetica in cui la mortalità crescente correlata all'età è stata esclusa, la ML era 20 + 116,55 = 136,55 anni, con un rapporto tra gli anni sopravvissuti dopo i 20 anni pari a 116,55/38,1 = 3,059. Questi dati erano equivalenti a quelli ottenuti per le altre specie riportate nella Tabella 1.1.

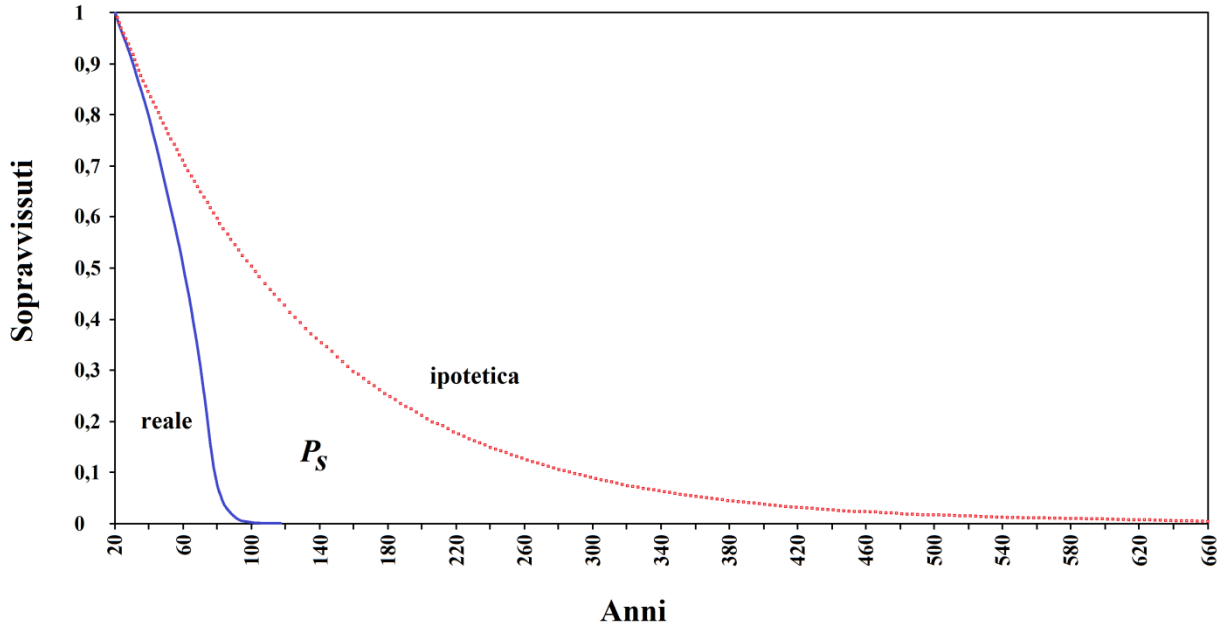


Figura 1.5 - Lo stesso della figura precedente, ma vengono considerati solo gli individui sopravvissuti all'età di 20 anni. Le ascisse si estendono fino a 660 anni, poiché - con un tasso di mortalità costante dello 0,9%/anno - all'età di 634 anni circa lo 0,5% della popolazione sopravviverebbe.

Questi studi confermavano il concetto che la definizione di invecchiamento come aumento della mortalità con l'aumentare dell'età cronologica nelle popolazioni selvatiche, o altre definizioni equivalenti, descrive un fenomeno che esiste in condizioni naturali e riduce significativamente la durata della vita. Questo è un punto di partenza solido e importante.

1.4 - Una breve storia delle teorie sull'invecchiamento

Una breve storia dei concetti e delle teorie sull'invecchiamento e sulla sua interpretazione è ora utile e necessaria.

Come in ogni descrizione storica, la divisione arbitraria in periodi implica in sé un'interpretazione soggettiva. Inoltre, qualunque siano i criteri adottati, ci saranno sempre molti eventi che cadono temporaneamente in un periodo ma riflettono le caratteristiche di altri periodi. Le seguenti parti di questa sezione cercano di dividere la storia delle teorie dell'invecchiamento in tre periodi.

1.4.1 - La concezione dell'invecchiamento fino al XIX secolo

Come dice Comfort: "... la senescenza entra nell'esperienza umana attraverso il fatto che l'uomo la mostra lui stesso. Questo stretto coinvolgimento con le paure e le aspirazioni umane può spiegare la vastissima letteratura metafisica sull'invecchiamento. Ciò spiega certamente la profonda preoccupazione con cui l'umanità ha teso a considerare l'argomento. In larga misura la storia e la psicologia umana devono essere sempre state determinate e plasmate dalla consapevolezza che la durata della vita di ogni individuo è determinata e che l'attesa della vita tende a diminuire con l'aumentare dell'età. L'Orientale poteva dire *O Re, vivi per sempre!* nella consapevolezza che ogni tirannia personale ha il suo termine. Ogni bambino dall'emergere del linguaggio ha probabilmente

chiesto *Perché quell'uomo è morto?* e gli è stato detto che *E' morto perché era vecchio*." [Comfort 1979, pagg. 1-2]
Sempre, fino a Darwin e oltre, l'osservazione che ogni oggetto materiale con il passare del tempo si deteriora e consuma ha radicato in tutti, pure nei più grandi filosofi, l'idea che ciò fosse vero anche per ogni essere vivente, incluso l'uomo. Come spiegato al bambino, non invecchiamo per qualche motivo specifico, ma solo perché il tempo è passato e siamo diventati vecchi, cioè usurati e modificati, come ogni altra cosa. Non erano necessarie altre spiegazioni per una categoria di eventi così banalmente ovvia.
Nella cultura greca classica, l'immortalità e l'eterna giovinezza erano prerogative delle divinità che i mortali non potevano avere. Un mortale che presumeva di competere con gli dei, alla ricerca di essere simile a loro, ad esempio, aspirando all'immortalità, diventava colpevole di ὕβρις, cioè di empio orgoglio e arroganza verso la divinità.
Vi era anche piena consapevolezza della distinzione tra immortalità e eterna giovinezza. È noto il mito di *Eos* (Aurora), che chiese a *Zeus* (Giove) l'immortalità per l'amato *Tithonus*. *Zeus* acconsentì alla richiesta di *Eos*, che aveva però dimenticato di chiedere anche l'eterna giovinezza per l'amato. Quindi *Tithonus* non morì, ma divenne sempre più vecchio e decrepito fino a quando *Zeus* mosso a pietà acconsentì alla nuova richiesta di *Eos* di porre fine a questo tormento e trasformò *Tithonus* in un animale [Comfort 1979].

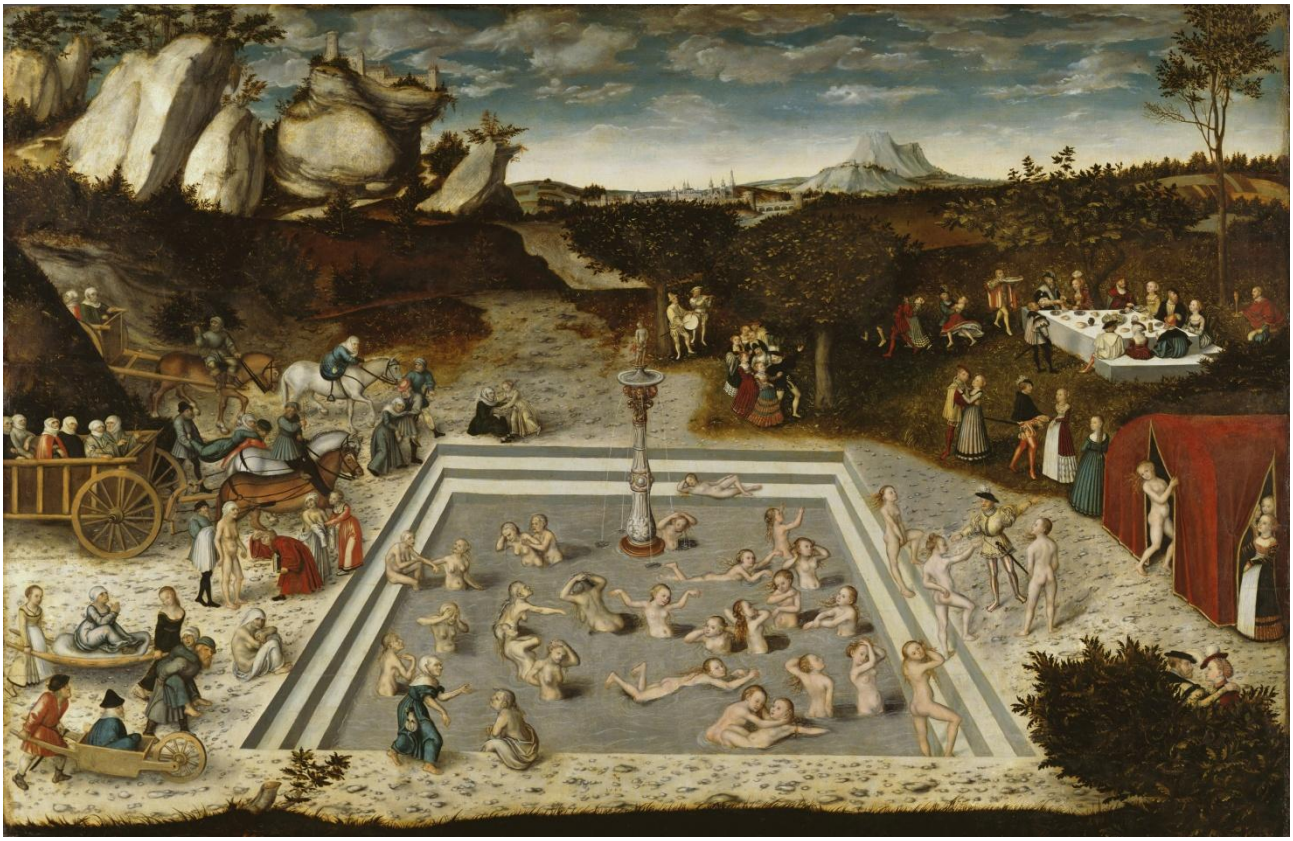


Figura 1.6 - Lucas Cranach l'anziano, *La Fontana della Giovinezza*, 1546.

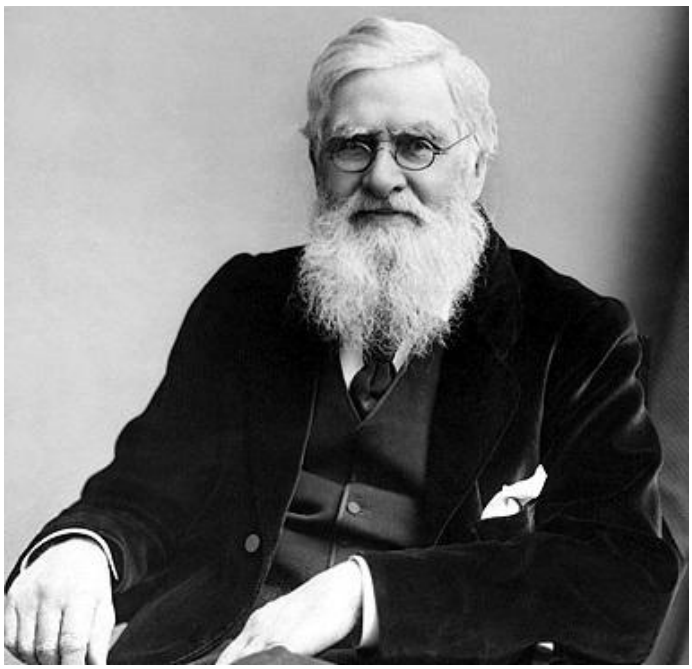
Tuttavia, un fatto ritenuto inevitabile trovava i suoi rimedi fantastici nei miti e nelle fantasie. Ad esempio, gli alchimisti medievali cercavano faticosamente di ottenere la pietra filosofale che avrebbe dato sia la capacità di trasformare il piombo in oro sia di ottenere un elisir di vita che avrebbe permesso una giovinezza eterna e l'immortalità [Comfort 1979].
Poi vi era il mito della Fontana della Giovinezza, nato con Erodoto: "Gli Ittiofagi poi interrogarono a loro volta il Re [degli Etiopi] sul termine della vita e sulla dieta del suo popolo, e fu loro detto che la maggior parte viveva fino a centoventi anni, mentre alcuni addirittura superavano quell'età:

mangiavano carne bollita e non bevevano altro che latte. Quando gli Ittiofagi mostrarono meraviglia per il numero di anni, il Re li condusse a una fontana, in cui quando si furono lavati, trovarono la loro carne tutta lucida e liscia, come se avessero fatto il bagno nell'olio - e venne un profumo dalla sorgente come quello delle violette. L'acqua era così leggera, dicevano, che non vi galleggiava nulla, né legno, né alcuna sostanza più leggera, ma tutto andava a fondo. Se il resoconto di questa fontana fosse vero, sarebbe il loro uso costante dell'acqua che li rende così longevi." [Erodoto, *Le storie*, libro III, 23].

Questo mito perdurò nel Medioevo (Fig. 1.6) e fu rinvigorito dalla scoperta delle Americhe. Gonzalo Fernández de Oviedo y Valdés scrisse nel 1535 che Ponce de Leon stava cercando le acque di Bimini (nelle Bahamas moderne) per riottenere la giovinezza [de Oviedo, XVI secolo, libro 16, capitolo XII]. Nel 1575, Hernando d'Escalente Fontaneda, che aveva vissuto per 17 anni con i nativi americani della Florida, nelle sue memorie individua le mitiche acque nella Florida e sostiene che Ponce de León avrebbe dovuto cercarle lì [Fontaneda 1575].

1.4.2 - Teorie dell'invecchiamento nel XIX secolo e nella prima metà del XX secolo

Nel diciannovesimo secolo, prima e dopo la pubblicazione del rivoluzionario libro di Charles Darwin [Darwin 1859], vi fu un fiorire di studi in tutti i campi della biologia. Non poteva certo mancare l'argomento dei meccanismi alla base del progressivo decadimento degli individui con il passare del tempo. L'evoluzione per selezione naturale cambiò la concezione dell'intera biologia e quindi potenzialmente anche i concetti alla base dell'invecchiamento, ma questo fu compreso molto tempo dopo. In effetti, il concetto cardine dell'evoluzione nella sua prima formulazione darwiniana, cioè la selezione naturale basata sulla "sopravvivenza del più adatto" [Darwin 1869], era in netto contrasto con la possibilità che la selezione potesse favorire qualcosa che certamente danneggiava l'individuo in un modo totale e inequivocabile.



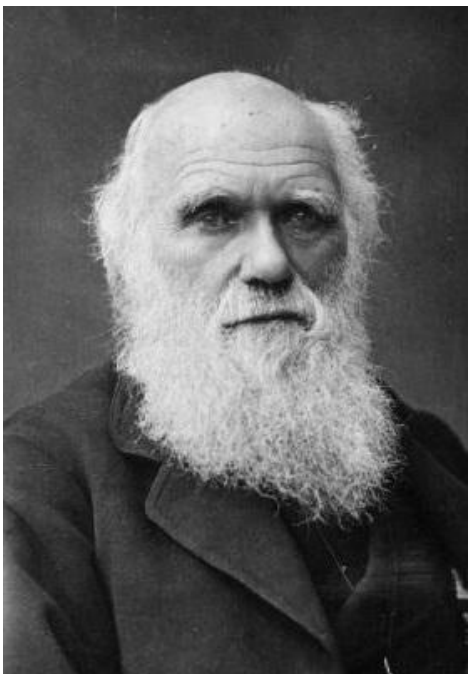


Figure 1.7 e 1.8 - Alfred Russell Wallace (1823-1913), a sinistra, concepì la teoria dell'evoluzione attraverso la selezione naturale indipendentemente da Charles Robert Darwin (1809-1882), a destra. La sua proposta e quella di Darwin furono pubblicate congiuntamente nel 1858.

Ma in effetti, l'espressione "sopravvivenza del più forte" fu coniata da Herbert Spencer [Spencer 1864] e solo dopo fu adottata da Darwin nella quinta edizione del suo libro ("Selezione naturale o la sopravvivenza del più adatto" [Darwin 1869]). Tuttavia, Darwin non escludeva la possibilità che la

selezione naturale potesse favorire caratteristiche dannose per l'individuo. Ad esempio dice: "Una tribù che includesse molti membri ... sempre pronti ad aiutarsi a vicenda e a sacrificarsi per il bene comune, sarebbe vittoriosa sulla maggior parte delle altre tribù; e questa sarebbe selezione naturale." [Darwin 1871, p. 500]
Tuttavia, l'interpretazione comune delle idee darwiniane era che la selezione naturale favoriva sempre tratti benefici per l'individuo e quindi l'invecchiamento non sembrava concepibile come un fenomeno favorito dalla selezione naturale.
Vi furono solo due eccezioni in questo coro unanime. Alfred Russel Wallace (Fig. 1.7), che aveva proposto insieme a Charles Robert Darwin (Fig. 1.8) l'evoluzione per selezione naturale, fu il primo a prospettare, con straordinaria intuizione, che l'invecchiamento poteva essere un fenomeno adattativo, e ciò in una delle sue lettere, scritta in un anno non specificato intorno al 1865-1870, come riportato da August Weismann: "... poiché è evidente che quando uno o più individui hanno fornito un numero sufficiente di successori, essi stessi, in quanto consumatori di nutrimento in misura costantemente crescente, sono dannosi per quei successori. La selezione naturale quindi li elimina, e in molti casi favorisce le razze in cui gli individui muoiono quasi immediatamente dopo aver avuto i successori." [Wallace 1865-1870 in Weismann 1889, vol. I]
Questo principio fu successivamente sviluppato dallo stesso Weismann (Fig. 1.9), il quale ipotizzò che la morte anticipata degli individui vecchi fosse benefica perché questo dava più spazio alle nuove generazioni e ciò favoriva l'evoluzione della specie [Weismann 1889, vol. I, 1891]: "... Per dirla brevemente, ritengo che la durata della vita invero dipenda dall'adattamento alle condizioni esterne, che la sua lunghezza, più o meno lunga, è regolata dai bisogni della specie, e che è determinata proprio dallo stesso processo meccanico di regolazione con cui la struttura e le funzioni di un organismo sono adattate al suo ambiente "[Weismann 1891, pp. 6-10]; "Gli individui usurati non sono solo senza valore per la specie, ma sono anche dannosi, poiché prendono il posto di quelli che sono sani. Quindi, mediante il meccanismo della selezione naturale, la vita del nostro individuo ipoteticamente immortale verrebbe accorciata della quantità che sarebbe inutile per la specie" [Weismann 1891, pp. 24-25].
"... la ragione suggerita da Weismann per l'evoluzione dell'invecchiamento era adattiva, vale a dire che l'invecchiamento è benefico in quanto libera la specie degli individui vecchi e decrepiti che altrimenti competerebbero per le risorse con quelli più giovani. Quindi, per selezione naturale, le cellule somatiche dell'organismo sarebbero venute a perdere la loro capacità di sopravvivenza illimitata e sarebbe apparso l'invecchiamento dell'organismo nel suo insieme." [Kirkwood e Cremer 1982]
Quindi, dopo Wallace, Weismann ripropose un significato adattativo per l'invecchiamento e fu anche il primo a ipotizzare che il meccanismo alla base dell'invecchiamento fosse il rallentamento o il blocco del rinnovamento di cellule e tessuti [Kirkwood e Cremer 1982]: "... la morte ha luogo perché un tessuto consumato non può rinnovarsi per sempre, e poiché una capacità di aumento mediante la divisione cellulare non è eterna, ma finita" [Weismann 1891, p. 21]; "... l'organismo non ha infine smesso di rinnovare il materiale cellulare consumato perché la natura delle cellule non ha permesso loro di moltiplicarsi indefinitamente, ma perché il potere di moltiplicarsi indefinitamente è stato perso quando ha cessato di essere utile" [Weismann 1891, p. 25].
Tuttavia, Weismann non spiegò né giustificò la proposta di un significato adattativo dell'invecchiamento in modo più dettagliato, fu attaccato come anti-darwinista anche se Darwin aveva ipotizzato il sacrificio degli individui "per il bene comune" [Darwin 1871, p. 500], e dopo alcuni anni ripudiò questa idea [Weismann 1892; Kirkwood e Cremer 1982]. Inoltre, l'ipotesi che i limiti delle capacità riproduttive delle cellule fossero il principale meccanismo dell'invecchiamento apparve invalidata, alcuni anni dopo, dagli errati esperimenti di Carrel che sembravano dimostrare una capacità illimitata di riproduzione cellulare [Carrel 1912, 1913; Carrel e Ebeling 1921a]. Solo quando gli esperimenti di Hayflick dimostrarono falsi quelli di Carrel [Hayflick e Moorhead 1961; Hayflick 1965] questa ipotesi dimenticata divenne di nuovo accettabile.

A parte queste eccezioni, per lungo tempo la ricerca sulle cause dell'invecchiamento ignorò i meccanismi dell'evoluzione e cercò di identificare le cause dell'invecchiamento in una serie di fattori chimici o fisici.
In questo periodo, a riguardo all'invecchiamento, mentre le idee darwiniane venivano ignorate, vi era una vasta gamma di cause putative dell'invecchiamento, molte delle quali potevano essere definite come "ipotesi dell'accumulo di danni" (Damage Accumulation hypotheses). Esse proponevano che l'invecchiamento era dovuto all'effetto cumulativo di danni di vario genere, ad es.:
- "usura e consumo" cellulare [Weismann 1882; Pearl 1928; Warthin 1929];
- deterioramento meccanochimico dei colloidi cellulari [Bauer 1924; Bergauer 1924; Růžická 1924, 1929; Lepeschkin 1931; Szabó 1931; Dhar 1932; Marinesco 1934; Kopaczewski 1938; Georgiana 1949];

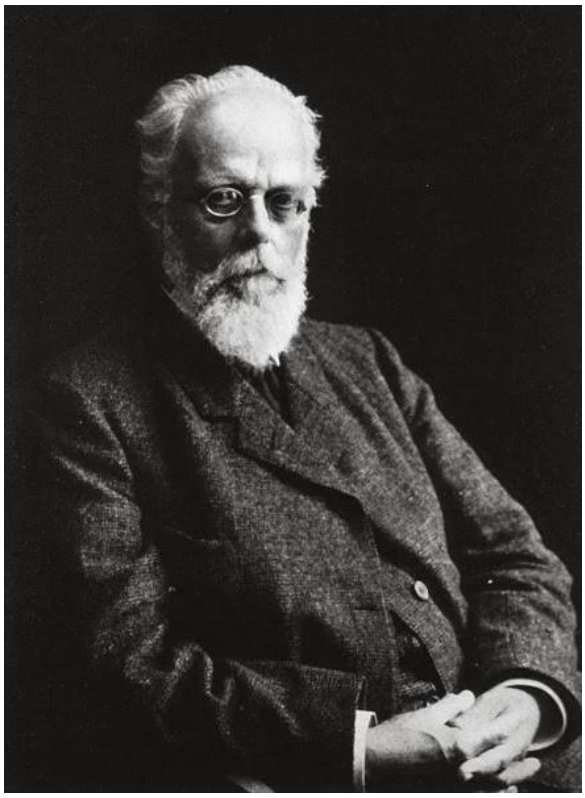


Figura 1.9 - Friedrich Leopold August Weismann (1834-1914) è considerato il secondo più noto teorico evoluzionista del XIX secolo, dopo Charles Darwin, e uno dei fondatori del Neo-Darwinismo.

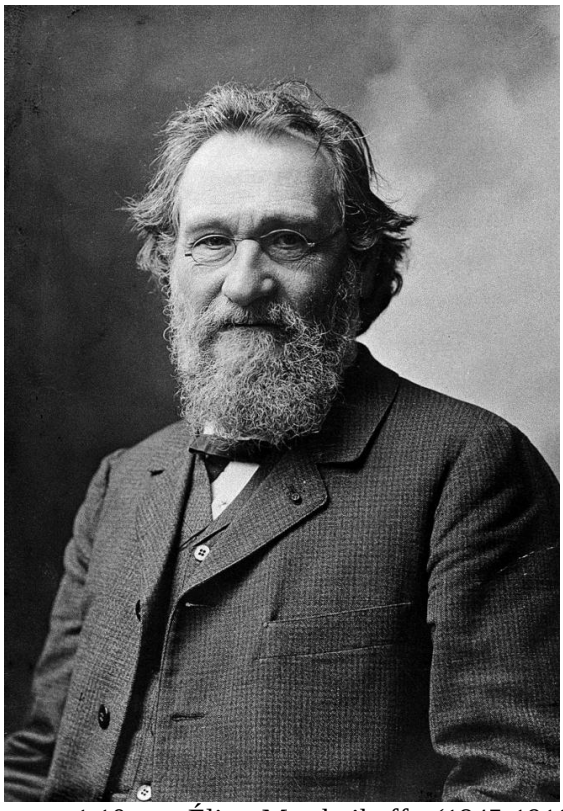


Figura 1.10 - Élie Metchnikoff (1845-1916), vincitore con Paul Ehrlich del Premio Nobel per la fisiologia o la medicina del 1908 per le sue ricerche sulla fagocitosi e sull'immunità, propose che l'invecchiamento era causato da batteri tossici nell'intestino e che l'acido lattico poteva prolungare la vita.

- cambiamenti intrinseci in specifici tessuti:
--- nervoso [Mühlmann 1900, 1924, 1927; Ribbert 1908; Vogt e Vogt 1946; Bab 1948];
--- endocrino [Lorand 1904; Gley 1922; Dunn 1946; Findley 1949; Parhon 1955];
--- vascolare [Demange 1886];
--- connettivo [Bogomolets 1947];
- prodotti tossici di batteri intestinali [Metchnikoff 1904, 1907; Lorand 1929; Metalnikov 1937] (Fig. 1.10);
- accumulo di "metaplasma" o di metaboliti [Kassowitz 1899; Jickeli 1902; Montgomery 1906; Mühlmann 1910; Molisch 1938; Lansing 1942; Heilbrunn 1943];

- azione della gravità [Darányi 1930];
- accumulo di acqua pesante [Hakh e Westling 1934] (un'ipotesi riproposta nel 1973 [Griffiths 1973]);
- l'effetto di una *entelechia* aristotelica [Driesch 1941; Bürger 1954];
- teorie metaboliche che introducono il concetto di una reazione a quantità fissa o di una relazione tasso/quantità nel determinare la longevità [Loeb 1908; Rubner 1908; Robertson 1923; Pearl 1928];
- raggiungimento di una critica relazione volume-superficie [Mühlmann 1910];
- teorie depletive che correlavano la senescenza alla riproduzione [Orton 1929].

Il diciannovesimo secolo fu anche l'epoca in cui furono proposti il concetto di entropia (grado di disordine di un sistema) e il teorema generale che, in un sistema chiuso, l'entropia poteva solo aumentare. Di conseguenza, interpretando l'invecchiamento come una condizione di maggiore disordine dell'organismo, il fenomeno fu spiegato come conseguenza di un disordine dell'organismo necessariamente crescente in relazione all'età. Questa ipotesi trascurava il fatto che qualsiasi organismo non è un sistema chiuso e può vivere solo perché riceve energia dall'esterno (le piante dalla luce del sole attraverso la fotosintesi, gli animali dalle piante e altri animali, etc.). Pertanto, non è previsto un inevitabile aumento dell'entropia negli organismi viventi né vi è una valida giustificazione per l'invecchiamento. Eppure, anche oggi qualcuno cerca di giustificare l'invecchiamento come causato dell'inevitabile aumento dell'entropia. Hayflick (!) alcuni anni fa affermò con certezza: "Esiste un enorme corpus di conoscenze a sostegno della convinzione che i cambiamenti dell'età sono caratterizzati da una crescente entropia, che si traduce in una perdita casuale di fedeltà molecolare che si accumula sopraffacendo lentamente i sistemi di manutenzione." [Hayflick 2007a]

Figura 1.11 - Charles Sedgwick Minot (1852-1914).

Figura 1.12 - George Parker Bidder III (1863-1953).

Un diverso gruppo di teorie correlava l'invecchiamento con:
- la continuità della senescenza con la morfogenesi [Baer 1864; Roux 1881; Cholodkowsky 1882; Delage 1903; Warthin 1929];
- la cessazione della crescita somatica [Minot 1908; Carrel e Ebeling 1921b; Brody 1924; Bidder 1932; Lansing 1948, 1951] (figure 1.11 e 1.12);

Un esempio di come in questo periodo il problema dell'invecchiamento veniva affrontato in "termini scientifici" è il seguente: "L'universo, per sua stessa natura, richiede la mortalità per l'individuo se la vita della specie deve raggiungere l'immortalità attraverso la capacità di far fronte ai cambiamenti dell'ambiente nelle epoche successive. ... È evidente che l'*involuzione* è un'entità biologica altrettanto importante dell'*evoluzione* nell'ampio schema del processo immortale della vita. I suoi processi sono *fisiologici* come quelli della crescita. È quindi inerente alla cellula stessa, una intrinseca e ereditata qualità del plasma germinale e nessuna denigrazione o marchio quale fenomeno *patologico* dovrebbe essere gettato su questo processo. Quale è il suo esatto meccanismo chimico-fisico sarà noto solo quando conosceremo la natura della *carica di energia* e del *rilascio di energia* della cellula. Possiamo quindi affermare che l'età, la principale involuzione, è dovuta principalmente al progressivo indebolimento della carica energetica attivato dal momento della fecondazione, e dipende dal potenziale adempimento della funzione da parte dell'organismo. L'immortalità del plasma germinale si basa sul rinnovamento di questa carica di energia di generazione in generazione." [Warthin 1929] (riportato in [Comfort 1979, p. 8]).

1.4.3 - Teorie dell'invecchiamento dalla seconda metà del XX secolo ad oggi

Nella seconda metà del XX secolo, emerse l'idea che lo studio delle cause dell'invecchiamento non poteva trascurare i meccanismi della selezione naturale. Quindi furono proposte alcune teorie "evoluzionistiche" a riguardo dell'invecchiamento:

- Ipotesi dell'accumulo delle mutazioni (*Mutation accumulation hypothesis*). Poiché in età avanzata pochi individui sopravvivono, la selezione naturale diventa sempre più debole. Quindi i geni dannosi che agiscono in età avanzata sono scarsamente eliminati dalla selezione naturale e l'invecchiamento è una conseguenza dei loro effetti combinati [Medawar 1952; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Mueller 1987; Partridge e Barton 1993] (Figg. 1.13 e 1.14).

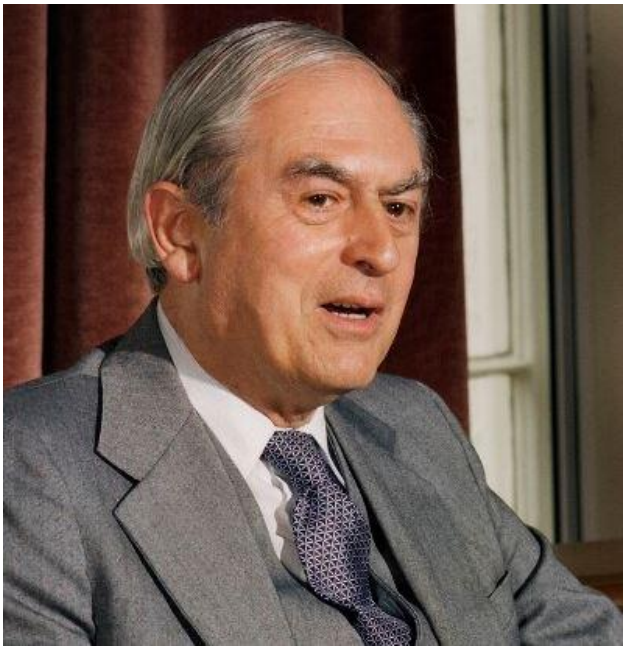


Figura 1.13 - Peter Brian Medawar (1915-1987).

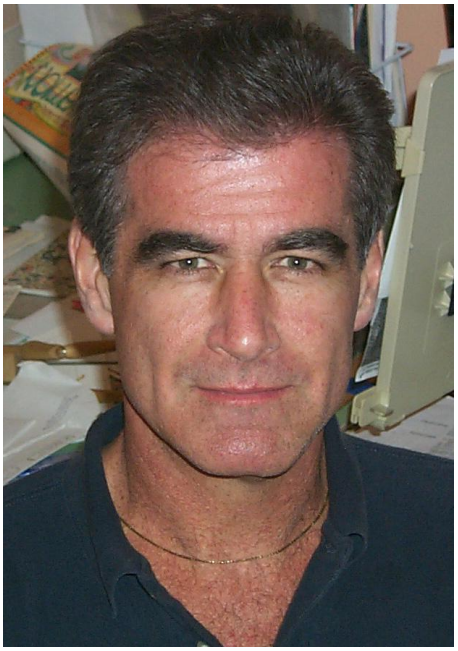


Figura 1.14 - Laurence D. Mueller.

- Ipotesi della pleiotropia antagonista (*Antagonistic pleiotropy hypothesis*). Si ipotizza l'esistenza di geni vantaggiosi nella fase giovane o adulta e svantaggiosi ad età maggiori. Pertanto, tali geni sono solo parzialmente eliminati dalla selezione naturale e i loro effetti alle maggiori età sono la causa dell'invecchiamento [Williams 1957; Rosa 1991] (figure 1.15 e 1.16).
- Ipotesi del soma disponibile (*Disposable soma hypothesis*). L'organismo ha limitate risorse energetiche e metaboliche. Pertanto, l'organismo, nella ripartizione di queste risorse limitate, deve dividerle tra le necessità di una maggiore capacità riproduttiva e quelle di una migliore

efficienza dei sistemi di manutenzione. L'insufficienza di questi sistemi compromette le funzioni dell'organismo in età avanzata e così il corpo (ovvero il soma) è sacrificato per soddisfare le esigenze della riproduzione. [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979] (Fig. 1.17).

- Ipotesi della senescenza quasi programmata (*Quasi-programmed senescence hypothesis*) [Blagosklonny 2006] (Fig. 1.18): "la natura seleziona alla cieca i benefici a breve termine di un vigoroso accrescimento dello sviluppo ... l'invecchiamento è una continuazione dispendiosa e senza scopo dell'accrescimento dello sviluppo" [Blagosklonny 2013]. Questa ipotesi appare continuare alcuni aspetti di un'altra precedente teoria che propone un meccanismo neuroendocrino dell'invecchiamento, in particolare un generale squilibrio ormonale dovuto a una graduale alterazione delle funzioni ipotalamiche [Dilman 1971; Dilman and Anisimov 1979]. In analogia alla *Disposable soma hypothesis* è verosimile che tale alterazione non potrebbe essere eliminata dalla selezione naturale a causa di contrastanti esigenze metaboliche.

Figura 1.15 - George Cristopher Williams (1926-2010).

Figura 1.16 - Michael R. Rose.

Figura 1.17 - Thomas Burton L. Kirkwood (1951).

Figura 1.18 - Mikhail V. Blagosklonny.

Queste teorie "evoluzionistiche" dell'invecchiamento sono unite dal presupposto che l'invecchiamento, essendo certamente dannoso in termini individuali, non può essere il risultato della selezione naturale come altre caratteristiche degli esseri viventi. Pertanto, la selezione naturale può agire solo contro i fattori che causano l'invecchiamento, ma per vari motivi la sua azione è indebolita e frenata e quindi invecchiamo.
Nello stesso periodo, tuttavia, furono proposte altre teorie che spiegavano l'invecchiamento come risultato della selezione naturale a livello sopraindividuale.

- Nel 1961, Aldo Carl Leopold, un botanico, propose che l'invecchiamento aumentava la velocità di adattabilità evoluzionistica di una specie: "... nelle piante la senescenza è un catalizzatore dell'adattabilità evoluzionistica" [Leopold 1961]. Leopold seguì l'intuizione di Weismann, suggerendo ancora una volta che l'invecchiamento favorisce l'evoluzione in quanto accelera il ricambio generazionale. Inoltre, ipotizzò che l'invecchiamento era determinato da meccanismi specifici: "Possiamo tranquillamente supporre che vi siano dei meccanismi biologici interni che determinano un declino della vitalità e un aumento della vulnerabilità in tali popolazioni" [Leopold 1961]. Questa è una chiara definizione dell'invecchiamento come fenomeno geneticamente determinato e programmato.

Figura 1.19 - Giacinto Libertini.

Figura 1.20 - Justin M. Travis.

- Nel 1988 (anticipato nel 1983 in un libro senza peer review [Libertini 1983]), fu proposta una teoria che spiegava l'invecchiamento come un fenomeno adattativo. Secondo questa ipotesi, l'invecchiamento era favorito dalla selezione naturale a livello sopraindividuale, in termini di selezione parentale, in particolari condizioni ecologiche (popolazioni strutturate nello spazio e con selezione K) [Libertini 1988] (Fig. 1.19). Questa ipotesi fu successivamente ribadita e, tra l'altro, per la prima volta fu prevista una relazione inversa tra la proporzione di morti dovute all'invecchiamento e la mortalità estrinseca [Libertini 2006, 2008, 2009a, 2013].
- Nel 2004 e successivamente, altri autori proposero teorie che sottolineavano un vantaggio evoluzionistico per l'invecchiamento in popolazioni strutturate spazialmente [Travis 2004; Martins 2011; Yang 2013; Mitteldorf e Martins 2014] (Fig. 1.20, 1.21 e 1.22).
- Seguendo l'intuizione di Weismann, Goldsmith propose che l'invecchiamento è favorito dalla selezione naturale perché aumenta la velocità di evoluzione o evolvibilità [Goldsmith 2004, 2008] (Fig. 1.23).
- Coerentemente con l'idea dell'invecchiamento come fenomeno programmato favorito dalla selezione naturale, il danno indotto dalle forme mitocondriali reattive dell'ossigeno (mtROS) fu proposto come meccanismo cardine [Skulachev 1999a, 2001; Skulachev e Longo 2005]. Lo stesso Skulachev (Fig. 1.24) nel 1997 definì l'invecchiamento come una forma di "fenoptosi", un neologismo che indica i casi di morte programmata determinati dallo stesso organismo [Skulachev 1997, 1999b], e pochi anni dopo definì più precisamente l'invecchiamento come "fenoptosi lenta" [Skulachev 2002a].
- Nel 2009, una teoria suggerì che l'invecchiamento era un adattamento per limitare la diffusione delle malattie, mediante un meccanismo analogo all'ipotesi della Regina Rossa sul significato adattativo della riproduzione sessuale [Mitteldorf e Pepper 2009].

Nel 2008, fu evidenziato che c'erano alcune previsioni logiche comuni a tutte le teorie dell'invecchiamento programmato. In effetti, queste prevedevano (i) l'esistenza di specie che non invecchiavano, cioè senza alcun aumento della mortalità correlato all'età; (ii) nel confronto tra diverse specie, una relazione inversa tra la proporzione di morti dovute all'invecchiamento e la mortalità estrinseca; e (iii) l'esistenza di meccanismi specifici, determinati e modulati geneticamente, che causavano l'invecchiamento. Fu inoltre sottolineato che queste previsioni erano in netto contrasto con quelle delle teorie dell'invecchiamento non programmato [Libertini 2008].

Figura 1.21 – Andrè C. Martins.

Figura 1.22 - Josh Mitteldorf.

Figura 1.23 - Theodore C. Goldsmith.

In questo stesso periodo continuavano a essere proposte teorie classificabili nel gruppo delle *Damage Accumulation hypotheses* e che ignoravano i meccanismi della selezione naturale. Secondo queste teorie, in un elenco sommario, l'invecchiamento è dovuto a:

- accumulo di danni chimici dovuti a errori di trascrizione del DNA [Weinert e Timiras 2003];
- effetti deleteri dell'ossidazione [Molnár 1972];
- effetti ossidativi dei radicali liberi su tutto il corpo [Harman 1956; Croteau e Bohr 1997; Beckman e Ames 1998; Oliveira et al. 2010] (Fig. 1.25);
- effetti ossidativi dei radicali liberi sui mitocondri [Harman 1972; Miquel et al. 1980; Trifunovic et al. 2004; Balaban et al. 2005; Sanz e Stefanatos 2008];
- effetti ossidativi dei radicali liberi sul DNA [Bohr e Anson 1995; Weinert e Timiras 2003];
- fenomeni infiammatori ("inflamm-aging") e alterazioni immunologiche legate all'età [Franceschi et al. 2000; Fülöp et al. 2014; Fülöp 2017; Franceschi et al. 2018] (Fig. 1.26 e 1.27), che caratterizzano l'invecchiamento. Essi furono spiegati non come conseguenze ma come cause dell'invecchiamento.

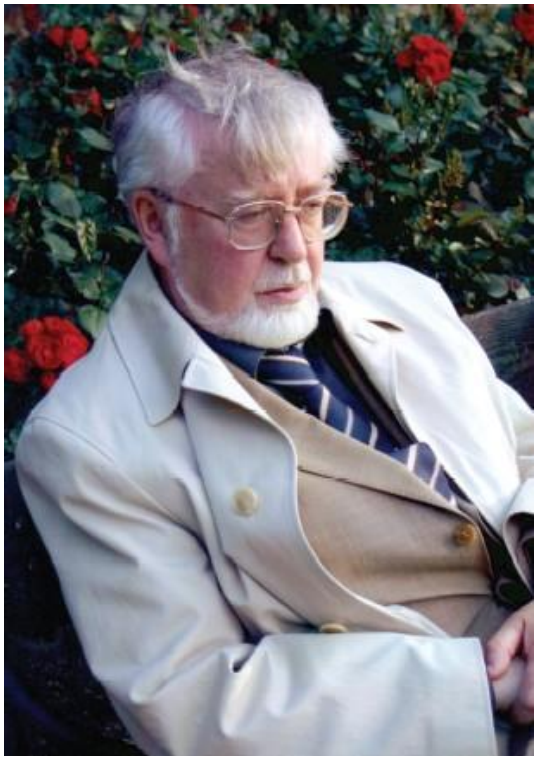


Figura 1.24 - Vladimir Skulachev.

Figura 1.25 - Denham Harman (1916-2014).

Figure 1.26 – Claudio Franceschi.

Figure 1.27 - Tamas Fülöp.

1.4.4 - Classificazione delle teorie dell'invecchiamento

Le teorie che cercano di spiegare le cause dell'invecchiamento [Comfort 1979; Medvedev 1990; Weinert e Timiras 2003; Libertini 2015a], possono essere divise in teorie: (A) non evoluzionistiche; e (B) evoluzionistiche, a secondo della non considerazione o considerazione della selezione naturale come possibile fattore che potrebbe influenzare o determinare l'invecchiamento.

Una seconda divisione è tra: (C) teorie dell'invecchiamento non programmato o non adattativo; e (D) teorie dell'invecchiamento programmato o adattativo.

Per le teorie del primo gruppo (C), l'invecchiamento è dovuto a fenomeni dannosi o degenerativi che la selezione naturale non può contrastare con forza sufficiente. Pertanto l'invecchiamento è considerato un *fallimento* della selezione naturale.

Al contrario, per le teorie del secondo gruppo (D), l'invecchiamento, sebbene dannoso per l'individuo, è favorito dalla selezione naturale a livello sopraindividuale. Pertanto, l'invecchiamento, essendo forgiato dalla selezione naturale, deve essere determinato da meccanismi geneticamente determinati e modulati e deve essere considerato come un *successo* dell'evoluzione.

Le teorie del gruppo C (teorie non adattative) includono l'intero gruppo A (teorie non evoluzionistiche) e parte del gruppo B (teorie evoluzionistiche), mentre le teorie del gruppo D (teorie adattative) sono tutte all'interno del gruppo B (teorie evoluzionistiche) (vedi una schematizzazione in Fig. 1.28).

Mentre la distinzione fra teorie dei gruppi A e B (teorie non evoluzionistiche ed evoluzionistiche) non è sempre chiara, la distinzione tra i gruppi C e D è forte e completa, in quanto hanno premesse e risultati opposti e non vi è alcun possibile forma di compromesso. Pertanto questi due tipi opposti di interpretazioni del fenomeno dell'invecchiamento meritano la definizione di paradigmi opposti [Libertini 2009a], nel significato del termine definito da Kuhn [Kuhn 1962].

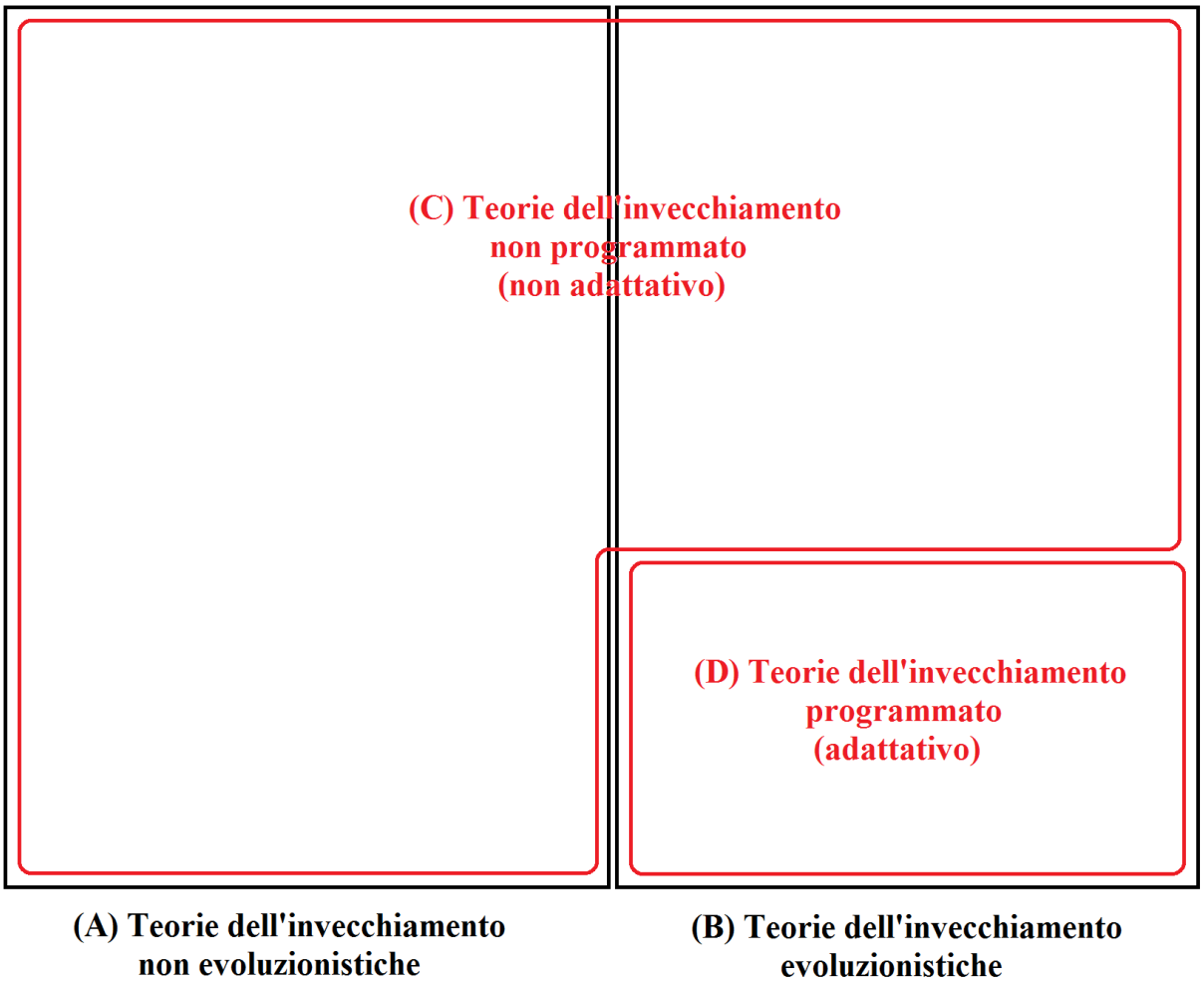


Figura 1.28 – Classificazione schematica delle teorie dell'invecchiamento.

Capitolo 2
Evoluzione e fenoptosi

2.1 - Definizione darwiniana della selezione naturale
2.2 - Selezione sopraindividuale
2.3 - Definizione di fenoptosi
2.4 - Esempi di fenoptosi e sua ampia diffusione
2.4.1 - (A) Fenoptosi obbligatoria e rapida
2.4.2 - (B) Fenoptosi obbligatoria e lenta
2.4.3 - (C) Fenoptosi opzionale
2.4.4 - (D) Fenoptosi indiretta
2.5 - Fenomeni fenoptotici nella nostra specie
2.6 – Tabelle di sopravvivenza e fenoptosi

2.1 - Definizione darwiniana della selezione naturale

Poiché l'invecchiamento è certamente dannoso per l'individuo senescente, ogni ipotesi di una spiegazione adattativa per l'invecchiamento è in netto contrasto con l'idea di evoluzione concepita esclusivamente come "sopravvivenza del più adatto" [Darwin 1869]. Pertanto, è necessario prima definire chiaramente il concetto di "sopravvivenza del più adatto" e quindi evidenziare come l'idea delle forme sopraindividuali di selezione naturale rende questo concetto solo un caso speciale in un contesto più generale compatibile con l'ipotesi di un significato adattativo dell'invecchiamento.
Secondo Darwin, l'evoluzione di una specie è determinata dal meccanismo di selezione naturale per cui i caratteri che determinano una maggiore capacità di sopravvivere (cioè la fitness), in conformità alla propria definizione, consentono una maggiore sopravvivenza per gli individui che li hanno [Darwin 1859].
In termini moderni, con la conoscenza che i caratteri di un individuo sono determinati dai geni e che il meccanismo generale dell'evoluzione si basa sulle variazioni di frequenza dei geni e delle loro varianti generate da mutazioni e altri meccanismi, una formula generale che mostra queste variazioni di frequenza tra una generazione e la successiva, può essere la seguente:

$$\Delta_c \propto S \cdot P \qquad (2.1)$$

dove:
Δ_c = variazione di frequenza tra una generazione e la successiva di un gene C che agisce nell'individuo I; S = vantaggio/svantaggio (cioè maggiore/minore capacità di sopravvivenza) per I causato dal gene C; P = capacità residua di riproduzione di I all'età in cui il gene manifesta la sua azione (valore riproduttivo).

2.2 - Selezione sopraindividuale

La selezione naturale descritta come "sopravvivenza del più adatto", espressione proposta da Spencer [Spencer 1864] e successivamente adottata da Darwin [Darwin 1869], può essere facilmente estesa a caratteri che consentono maggiore riproduzione e sopravvivenza della prole [Darwin 1859].
Tuttavia, con questa estensione il concetto di selezione naturale limitato all'idea di maggiore capacità di sopravvivenza individuale appare incompleto e insoddisfacente. In effetti, il caso di individui che trasferiscono parte delle loro energie ai neonati (ad es., allattandoli al seno) o riducono le loro possibilità di sopravvivenza per aumentare quelli della prole (ad es., difendendoli dagli attacchi di altri) non sono inclusi nella formula di cui sopra (2.1) e nel concetto da cui deriva. È quindi necessaria una definizione diversa, più ampia, che tenga conto degli effetti di un carattere

non solo sulla sopravvivenza dell'individuo in cui il carattere agisce, ma anche su altri individui geneticamente correlati (progenie in primo luogo, ma non esclusivamente).
In altre parole, per quanto riguarda i geni che determinano un carattere, invece di considerare solo la sopravvivenza dell'individuo I in cui agiscono i geni (cioè, con *S* che riguarda solo I), è necessario considerare anche gli effetti di questi geni su tutti gli individui che sono geneticamente correlati a I (cioè, con *S* che deve includere la somma di tutti i vantaggi/svantaggi sia per I che per tutti gli individui correlati a I).
L'idea che la selezione naturale potesse favorire caratteri dannosi per l'individuo non era esclusa dal concetto darwiniano di evoluzione, come lo stesso Darwin propose a riguardo del possibile sacrificio dei membri di una tribù per la sua vittoria o sopravvivenza [Darwin 1871]. Tuttavia, Darwin non evidenziò che questo non era lo stesso concetto di "sopravvivenza del più adatto".
Molto più tardi, questa contraddizione fu risolta dall'introduzione del concetto di "inclusive fitness" [Hamilton 1964, 1970; Trivers 1971; Wilson 1975]. Usando questo concetto, il calcolo della selezione naturale considera sia l'individuo I (I_1) in cui agisce un gene C sia tutti gli individui geneticamente correlati a I (I_2, I_3, ...) per i quali le azioni di un gene C hanno conseguenza per la capacità di sopravvivenza. Pertanto, le variazioni di frequenza del gene C tra una generazione e la successiva sono descritte dalla formula:

$$\Delta_c \propto \sum_{x=1}^{n} (S_x \cdot P_x \cdot r_x) \qquad (2.2)$$

dove:
n = numero di individui I_X (I_1, I_2, I_3, ..., I_n) geneticamente correlati a I_1 per i quali le azioni del gene C hanno qualche effetto; S_x = vantaggio/svantaggio (= maggiore/minore capacità di sopravvivenza) per l'individuo I_x; P_x = valore riproduttivo di un individuo I_x all'età in cui il gene C agisce; r_x = coefficiente di relazione tra l'individuo I_x e l'individuo I_1.
Il gene C è favorito dalla selezione naturale (cioè aumenta la sua frequenza) quando la sommatoria è maggiore di 0 e il contrario accade quando la sommatoria è inferiore a zero.
Quando il gene C agisce solo sul singolo I_1, poiché per definizione $r_1 = 1$, la formula (2.2) diventa:

$$\Delta_c \propto S_1 \cdot P_1 \qquad (2.3)$$

che è identica alla formula (2.1).
In casi particolari, la distinzione tra selezione di parentela (*kin selection*) e selezione di gruppo scompare. Ad esempio, consideriamo una specie suddivisa in sottopopolazioni (demi), ciascuna composta da individui strettamente correlati o addirittura di origine monoclonale.
Ora, limitando la discussione ai demi monoclonali, consideriamo un evento catastrofico in cui:
--- se non vi è sacrificio di alcun individuo, si ha uno svantaggio per ogni individuo pari a –*S*;
--- al contrario, se, per azione di un gene C, tra n individui con il gene C, alcuni (n_d) si sacrificano e muoiono (S_d = -1) mentre i sopravvissuti (n_s) godono di un vantaggio S_s.
Poiché in un deme monoclonale r_x è sempre uguale a 1 (e trascurando, per semplicità, il valore riproduttivo che è considerato uguale per tutti gli individui), il gene C sarà favorito dalla selezione naturale se:

$$\sum_{x=1}^{n_d}(-S_d) + \sum_{x=1}^{n_s} S_s > (-S)\cdot n \qquad (2.4)$$

vale a dire:

$$n_d \cdot (-S_d) + n_s \cdot S_s > (-S) \cdot n \qquad (2.5)$$

formula che è uno sviluppo della (2.2).
Consideriamo ora il caso di un deme costituito da diversi gruppi monoclonali di individui (1, 2, ... Z). Se C esiste negli individui del clone 1, esisterà in un clone X con una probabilità pari al coefficiente di parentela del clone X con il clone 1 (r_x) e il gene C sarà favorito dalla selezione se:

$$[n_{1,d} \cdot (-S_d) + n_{1,s} \cdot S_s] + [n_{2,d} \cdot r_2 \cdot (-S_d) + n_{2,s} \cdot r_2 \cdot S_s] \ldots + [n_{z,d} \cdot r_z \cdot (-S_d) + n_{z,s} \cdot r_z \cdot S_s] > (-S) \cdot n \qquad (2.6)$$

dove, in un clone X, $n_{x,\ d}$ sono gli individui che si sacrificano e $n_{x,\ s}$ i sopravvissuti [Libertini 2015b].
Va notato che la formula di selezione di parentela (2.2), che è una formula generale la quale include anche i casi di selezione individuale, è dimostrata dalle ultime due formule essere equivalente a particolari tipi di selezione di gruppo. Ciò significa che non esiste una netta distinzione tra selezione individuale, selezione di parentela e selezione di gruppo.
La formula della selezione di parentela spiega molti comportamenti altruistici ed egoistici, incluse le cure parenatli e i casi di molte specie in cui la riproduzione è associata alla morte dei genitori. Comunque, il concetto di inclusive fitness/selezione di parentela non è alternativo alla classica interpretazione darwiniana della selezione naturale, ma ne è una formulazione più completa, che include il caso classico della diffusione di un gene C che aumenta l'idoneità individuale di I senza effetti su altri individui correlati.

Il concetto di inclusive fitness è stato usato per alcuni decenni per spiegare anche l'eusocialità di molte specie di imenotteri come formiche, vespe e api, in particolare mediante l'ipotesi dell'aplodiploidia, "haplodiploidy hypothesis" [Wilson 1975]. Però:
--- le formule basate sulla selezione di parentela diventano complicate e molto difficili quando è necessario considerare plurimi effetti sinergici tra molti individui;
--- vi è eusocialità in molte specie non aplodiploidi (ad es., termiti) e "L'associazione tra aplodiploidia e eusocialità è al di sotto della significatività statistica." [Nowak et al. 2010];
--- "... la teoria della selezione naturale standard nel contesto di modelli precisi della struttura della popolazione rappresenta un approccio più semplice e superiore ..." [Nowak et al. 2010].
Ciò evidenzia i limiti dell'approccio della selezione di parentela ma anche la possibilità di utilizzare altri modelli di popolazione per spiegare particolari forme di selezione di gruppo, in cui i vantaggi sopraindividuali prevalgono sul vantaggio individuale, come nell'interpretazione dell'eusocialità.
Il concetto di selezione di parentela e opportuni modelli di popolazione in cui viene considerata la selezione sopraindividuale, modelli che non sono descritti, approfonditi o discussi qui, ci forniscono idee che costituiscono un'estensione della classica selezione naturale darwiniana:
--- Una formula come la (2.1), che descrive la selezione naturale solo a livello individuale, non giustifica in alcun modo l'esistenza di un gene la cui azione è dannosa per l'individuo in cui il gene agisce;
--- Al contrario, le formule basate sulla selezione di parentela, come la (2.2) o altre che ne derivano, e inoltre appropriati modelli di popolazione, consentono di spiegare l'esistenza di geni dannosi per l'individuo in cui agiscono. Ciò non esclude che la maggior parte dei geni senza effetti su altri individui sia favoriti dalla selezione naturale perché aumentano la capacità di sopravvivenza individuale.

2.3 - Definizione di fenoptosi

I concetti sviluppati nella precedente *Sezione 2.2 - Selezione sopraindividuale* indicano chiaramente che anche un gene che provoca la morte dell'individuo in cui agisce può essere favorito dalla selezione naturale in particolari condizioni.

L'idea che la "natura" possa favorire i sacrifici individuali che sono utili alla sopravvivenza collettiva era già stata espressa, tra l'altro, da un filosofo [Schopenhauer 1819] in termini che in qualche modo anticipavano Darwin:
"Schopenhauer scrisse: *L'individuo è ... non solo esposto alla distruzione in mille modi dagli incidenti più insignificanti, ma è addirittura destinato a questo e viene guidato verso di esso dalla natura stessa, dal momento in cui l'individuo ha preservato il mantenimento della specie*. Oggi, questa affermazione richiede solo una specificazione, ovvero il termine 'specie' dovrebbe essere sostituito da 'programma genetico inerente alla specie'. Di norma, gli interessi dell'individuo coincidono con quelli del programma genetico che richiede all'individuo di esistere, moltiplicarsi ed evolversi. Tuttavia, in alcuni casi, questi due tipi di interessi sono opposti, e pertanto il programma genetico costringe l'individuo a operare in un modo controproducente per l'individuo. In casi estremi, ... favorisce l'eliminazione, piuttosto che la sopravvivenza, di un individuo." [Skulachev 2010]
Lo stesso Darwin, quando parla di membri di una tribù che si sacrificano per il bene comune come comportamenti che sarebbero favoriti dalla selezione naturale [Darwin 1871], in effetti parla di selezione a livello sopraindividuale, ma senza sviluppare il concetto e andare oltre il limite di selezione solo a livello individuale.
Come è possibile vedere nelle prossime sezioni, in natura i casi in cui gli individui si sacrificano sono molto frequenti e diffusi in ogni parte del mondo vivente. Incredibilmente, tuttavia, nell'enorme vocabolario dei termini scientifici relativi ai fenomeni biologici, mancava un termine che descrivesse questo tipo di fenomeni. Questa lacuna era forse spiegabile in base alla resistenza ad accettare pienamente l'idea che la selezione naturale possa essere una forza motrice attiva nel favorire i geni che determinano la morte dell'individuo in cui agiscono, in netto contrasto con la classica formulazione del darwinismo.
Nel 1997 e in seguito, un biochimico, Skulachev, forte della sua grande esperienza e autorità (non nel campo dell'evoluzionismo!) ma meno vincolato da opinioni inveterate, coniò il neologismo "fenoptosi" [Skulachev 1997, 1999b] che indicava la morte programmata di individui, cioè la morte prematura di un individuo in qualche modo determinata e regolata da geni presenti nell'individuo e quindi necessariamente favoriti dalla selezione naturale.
Alcuni anni dopo, lo stesso studioso ha interpretato l'invecchiamento come una forma di fenoptosi che, per la lentezza con cui si manifesta il fenomeno, definì "fenoptosi lenta" [Skulachev 2002a].
Successivamente, la definizione di fenoptosi è stata estesa ai casi in cui, a seguito di azioni di geni presenti in un individuo, è determinata la morte di individui correlati ("fenoptosi indiretta"): "La fenoptosi è la morte di un individuo causata da proprie azioni o da azioni di parenti stretti (in particolare, la morte causata da un genitore di una progenie o infanticidio filiale) e non causata principalmente da incidenti o malattie o fattori esterni, che è determinata, regolata o influenzata da geni favoriti da selezione naturale." [Libertini 2012]
Inoltre, fu fatta una distinzione tra fenoptosi obbligatoria e opzionale e tra i casi di fenoptosi rapida e lenta, e quindi fu proposta la seguente classificazione generale dei fenomeni fenoptotici [Libertini 2012]:
A) Fenoptosi obbligatoria e rapida;
B) Fenoptosi obbligatoria e lenta;
C) Fenoptosi opzionale;
D) Fenoptosi indiretta.

2.4 - Esempi di fenoptosi e sua ampia diffusione

I fenomeni inclusi nella definizione di fenoptosi sono innumerevoli e presenti ovunque nel mondo vivente. Di seguito una miscellanea di esempi.

2.4.1 - (A) Fenoptosi obbligatoria e rapida

La fenoptosi è obbligatoria e rapida quando si verifica in un periodo specifico della vita per tutti gli individui di una specie.
Questo tipo di fenomeni fenoptotici è stato definito da Caleb Finch (Fig. 2.1) come "Senescenza rapida e morte improvvisa" [Finch 1990, p. 43]. Il termine "senescenza" usato da Finch (e altri autori) è evitato qui perché potrebbe facilmente essere confuso con la definizione precisa di invecchiamento proposta nel precedente *Capitolo 1 - Introduzione* (progressivo, e non improvviso, decadimento legato all'età della capacità di sopravvivenza).

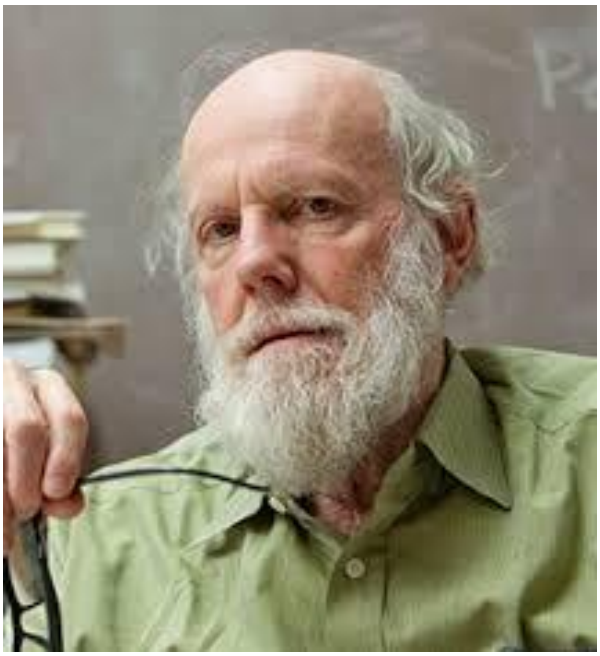


Figura 2.1 - Caleb E. Finch.

La definizione di fenoptosi rapida non implica una breve durata della vita prima dell'evento fenoptotico. Ad esempio: "Varie specie di bambù con stelo grosso (*Phyllostachys*) hanno fasi prolungate di crescita vegetativa che durano per molti anni o decenni (7, 30, 60, o 120 anni), a seconda della specie, prima di fiorire e morire improvvisamente ..." [Finch 1990, p. 101]
Per le specie in cui la riproduzione è seguita da un'improvvisa senescenza innescata da particolari segnali fisiologici [Finch 1990], questi non dovrebbero essere considerati forme di fenoptosi opzionale (vedi sotto) ma la modulazione temporale di un ciclo vitale obbligatorio e fisso.
È utile descrivere due principali sottotipi di Fenoptosi obbligatoria e rapida [Libertini 2012]:
A-1) Correlata con il ciclo riproduttivo
- Un caso molto comune in natura è quando la riproduzione avviene una sola volta nella vita di un individuo (semelparità) ed è immediatamente seguita da un rapido declino delle funzioni e quindi dalla morte (Figg. 2.2 e 2.3). Ciò è un evento ben noto per molte specie di piante, in particolare le angiosperme monocarpiche [Finch 1990]. Inoltre, è noto e indiscusso che questo tipo di declino funzionale è un processo geneticamente determinato e regolato e non il risultato di alterazioni casuali: "Molti botanici sottolineano che la senescenza delle piante è un processo ordinato e attivo [Leopold 1961; Noodén 1988a, 1988b, 1988c]" [Finch 1990, p. 98];
- Vi sono anche casi speciali che colpiscono l'attenzione, come il matricidio obbligatorio al momento della nascita (endotokic matricide) mostrato da alcuni invertebrati. Per alcuni animali, infatti, la morte della madre è un effetto obbligatorio della nascita, in quanto "i giovani uccidono la madre passando attraverso la parete del suo corpo" o cannibalizzano il suo corpo [Finch 1990, p. 102];
- Altri casi straordinari sono quelli in cui l'accoppiamento comporta la morte di uno dei partner. Ad esempio, la femmina della *Mantis religiosa* (mantide europea) uccide e mangia (o almeno cerca

di uccidere e mangiare) il maschio durante la copulazione o subito dopo, vale a dire il maschio sacrifica la sua vita per riprodursi [Lawrence 1992] (Fig. 2.4).

Figura 2.2 - *Agave americana* (pianta secolare), una pianta semelpara.

Figura 2.3 - *Octopus maya* (polpo messicano con quattro occhi), un animale semelparo.

A-2) *Derivanti in generale dalle caratteristiche del ciclo di vita*

In molte specie di insetti, nella fase larvale l'individuo si nutre, cresce e accumula energia, mentre la fase adulta serve per la riproduzione. L'adulto utilizza principalmente o esclusivamente le riserve di energia accumulate nella fase precedente. Il caso più eclatante è quello degli insetti adulti che sono completamente incapaci di nutrirsi, un fenomeno definito come afagia: "L'afagia causata da parti difettose della bocca o degli organi digestivi è molto comune durante le fasi adulte degli insetti [Weismann 1889, pp. 111-57, Metchnikoff 1915; Norris 1934; Brues 1946; Wigglesworth 1972; Dunlap-Pianka et al. 1977] ed è il fattore limitante nella durata della vita adulta di molte specie di breve durata. Questo fenomeno è, indiscutibilmente, senescenza programmata." [Finch 1990, p. 49]; "Difetti dello sviluppo che influenzano la fase adulta si verificano anche in altri phyla, incluso i Protista. Uno dei migliori esempi è dato dai maschi dei rotiferi, che hanno una vita molto più breve rispetto alle femmine, sopravvivendo da poche ore a pochi giorni [Hyman 1951, p. 123], con evidente aumento esponenziale della mortalità ... A differenza delle femmine, i rotiferi maschi

mancano di intestino, ano o altri organi escretori e digestivi ... [Tannreuther 1919; Miller 1931; Remane 1932; Hyman 1951; de Beauchamp 1956; Gilbert 1968, 1988; Thane 1974].” [Finch 1990, p. 57].

Figura 2.4 - *Mantis religiosa* (mantide europea).

2.4.2 - (B) Fenoptosi obbligatoria e lenta

La fenoptosi è obbligatoria e lenta quando, per tutti gli individui di una specie, vi è, in correlazione all’età, un progressivo declino della capacità di sopravvivenza, cioè una crescente probabilità di morte. L’espressione “fenoptosi lenta” è stata proposta da Skulachev [Skulachev 2002a].

Esistono due importanti sottotipi di Fenoptosi obbligatoria e lenta [Libertini 2012]:

B-1) *Probabilità crescente di apoptosi correlata al numero di duplicazioni in eucarioti monocellulari*

Nel lievito, una specie eucariotica monocellulare, la cellula madre si divide in due cellule con caratteristiche diverse. La prima è definita come cellula “figlia”, mostra intatte tutte le caratteristiche fisiologiche delle cellule sane del lievito e può essere paragonata a una cellula germinale di un organismo multicellulare. La seconda è definita come cellula “madre”, mostra alcune alterazioni rispetto a quelle della cellula progenitrice e una minore resistenza alla morte mediante un fenomeno definito come apoptosi, perché appare correlato all’apoptosi degli eucarioti multicellulari [Madeo et al. 1997]. Nelle generazioni successive il fenomeno si ripete e così ci sarà una popolazione divisa tra cellule figlie e cellule madri di prima, seconda, ... ennesima generazione. Nelle cellule madri, con l’aumentare del numero di generazioni, il declino funzionale e la vulnerabilità alla morte per apoptosi aumentano seguendo una dinamica esponenziale [Laun et al. 2007], che è analoga all’aumento del tasso di mortalità degli eucarioti multicellulari che mostrano il fenomeno dell’invecchiamento.

I fenomeni che causano il declino funzionale e una maggiore vulnerabilità all’apoptosi nelle cellule della linea madre saranno discussi in un altro capitolo. In ogni caso, il fenomeno è stato interpretato come avente un valore adattativo: “l’apoptosi unita all’invecchiamento cronologico e replicativo limita la durata della vita che manterrebbe antiche varianti genetiche all’interno della popolazione e, quindi, favorirebbe il conservatorismo genetico.” [Büttner et al. 2006]

Lewis contesta questa interpretazione osservando che una cellula della linea madre muore obbligatoriamente per apoptosi dopo 25-35 duplicazioni (in condizioni di laboratorio [Jazwinski 1993]) e che non è plausibile considerare la morte obbligatoria di un singolo individuo tra 2^{25} - 2^{35} = 3.36E+07 - 3.44E+10 discendenti per qualsiasi ipotesi che volesse presentare il fenomeno

come favorito dalla selezione naturale [Lewis 2000]. Ma questo argomento dà importanza alla morte sicura di un improbabile singolo individuo tra innumerevoli discendenti, mentre ciò che è importante è la probabilità di apoptosi, la quale cresce esponenzialmente dopo ogni generazione della linea madre e determina il turnover più rapido delle generazioni, contrastando così il "conservatorismo genetico" menzionato da Büttner et al. [Büttner et al. 2006]

B-2) *Mortalità crescente correlata all'età negli eucarioti pluricellulari*

Molte specie di eucarioti pluricellulari mostrano una "mortalità crescente con l'aumentare dell'età cronologica in condizioni naturali" [Libertini 1988, 2006, 2008], definita anche come "senescenza attuariale" [Holmes e Austad 1995], "declino della forma fisica legata all'età in condizioni naturali" [Libertini 2009a] e "Senescenza graduale con longevità definita" [Finch 1990]. Sebbene in passato la sua esistenza in condizioni naturali sia stata negata o sottovalutata [Kirkwood e Austad 2000], le prove della sua esistenza, in particolare riviste nei lavori di Robert Ricklefs (Fig. 2.5) [Ricklefs 1998] e di un team guidato da Daniel Nussey e Steven Austad (Fig. 2.6) [Nussey et al. 2013], sono forti e indiscutibili.

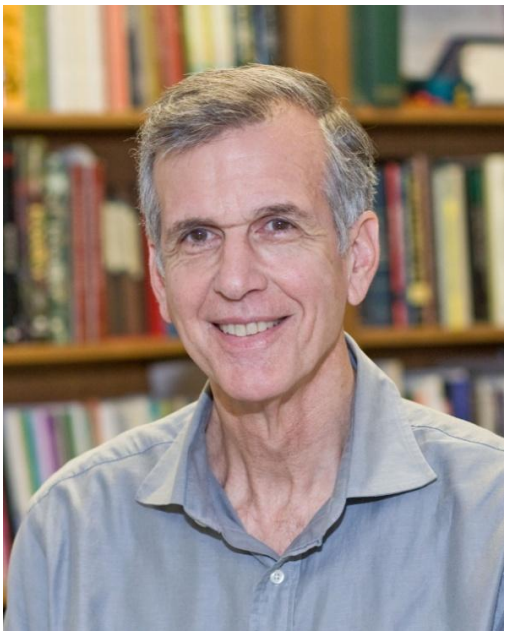


Figura 2.5 - Robert E. Ricklefs.

Figura 2.6 – Steven N. Austad.

È molto dibattuto se questo fenomeno è non-adattivo e il risultato dell'accumulo di alterazioni insufficientemente contrastate dalla selezione naturale (paradigma dell'invecchiamento non programmato) o se, al contrario, è un fenomeno adattativo, favorito dalla selezione naturale e quindi determinato e modulato dai geni (paradigma dell'invecchiamento programmato) [Libertini 2008, 2015a].

2.4.3 - (C) Fenoptosi opzionale

La fenoptosi è opzionale quando la morte o un comportamento che determina un rischio di morte si verificano solo in condizioni particolari ed è causata o influenzata da meccanismi geneticamente determinati.

È utile definire due importanti sottotipi di fenoptosi opzionale:

C-1) *Determinata da meccanismi biochimici*

--- Nel mondo unicellulare eucariotico

Per brevità la discussione si limiterà al lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), una specie unicellulare eucariotica ben studiata.

In questa specie, è stato detto prima che esiste un fenomeno definito come apoptosi perché affine e filogeneticamente correlato con l'apoptosi degli eucarioti multicellulari [Madeo et al. 1997]. Tra le

altre cose: (i) la sovraespressione di un fattore particolare (BAX dei mammiferi) innesca sia tale fenomeno nel lievito sia l'apoptosi negli eucarioti multicellulari [Ligr et al. 1998]; e (ii) la sovraespressione di un altro fattore (Bcl-2 umano) appare sia ritardare i meccanismi che conducono ad esso nel lievito sia inibire l'apoptosi negli eucarioti multicellulari [Longo et al. 1997].
Poiché vi è una forte evidenza della somiglianza tra l'apoptosi negli eucarioti multicellulari e questo fenomeno, essi meritano la stessa definizione di apoptosi. Inoltre, ciò indica una comune origine filogenetica [Madeo et al. 1999; Longo et al. 2005; Kaeberlein et al. 2007]: "... dalla prima descrizione dell'apoptosi in un ceppo di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) con mutazione CDC48 [Madeo et al. 1997], sono stati scoperti nel lievito numerosi ortologhi di cruciali proteine apoptotiche dei mammiferi [Madeo et al. 2002; Fahrenkrog et al. 2004; Wissing et al. 2004; Qiu et al. 2005a; Li et al. 2006; Walter et al. 2006] e sono state delineate vie metaboliche apoptotiche che sono conservate e proteasomiche, mitocondriali e istono-regolate [Manon et al. 1997; Ligr et al. 2001; Ludovico et al. 2002; Fannjiang et al. 2004; Ahn et al. 2005; Gourlay e Ayscough 2005; Pozniakovsky et al. 2005]." [Büttner et al. 2006]
Prima abbiamo detto che per le cellule di lievito della linea madre, in relazione al numero di duplicazioni, vi è una crescente vulnerabilità all'apoptosi [Laun et al. 2001; Herker et al. 2004; Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008] e che l'incremento del tasso di mortalità segue una dinamica esponenziale [Laun et al. 2007]. In combinazione con questa crescente vulnerabilità, l'apoptosi è innescata da: a) carenza di nutrienti [Granot et al. 2003]; b) alterazioni chimiche dannose [Madeo et al. 1999]; c) accoppiamento fallito [Büttner et al. 2006]; e anche d) tossine attivanti l'apoptosi secrete da colonie rivali di lieviti [Büttner et al. 2006].
Un fatto importante, che è lo stesso sia per l'apoptosi negli eucarioti multicellulari sia per quella nelle colonie di lieviti, è che le parti delle cellule morte non sono dannose per gli altri individui e, al contrario, vengono utilmente assorbite o fagocitate da altre cellule, che "... sono in grado di sopravvivere più a lungo con le sostanze rilasciate dalle cellule morenti." [Herker et al. 2004]
L'apoptosi nel lievito è stata interpretata come adattativa perché, in condizioni di carenza di nutrienti, il sacrificio mediante apoptosi di una parte della popolazione e l'uso dei loro componenti cellulari a beneficio di altri individui consente loro di sopravvivere e questo è utile per la sopravvivenza del deme [Skulachev 2002b, 2003; Fabrizio et al. 2004; Herker et al. 2004; Longo et al. 2005; Skulachev e Longo 2005; Mitteldorf 2006]. L'interpretazione adattativa dell'apoptosi appare plausibile giacché le specie di lievito sono divise in piccoli demi, ciascuno con uno o pochi cloni. Secondo questa spiegazione, la crescente vulnerabilità degli individui della linea madre, consente di sacrificare in caso di necessità, anche in una tribù monoclonale, sottogruppi con diversi gradi di vulnerabilità. Al contrario, quando l'apoptosi è innescata da tossine secrete dalle colonie di lieviti nemici, il meccanismo adattativo appare chiaramente sfruttato dai concorrenti [Büttner et al. 2006].

--- Tra i procarioti

La fenoptosi non è limitata alle specie eucariotiche multicellulari o socialmente organizzate. Le occasioni in cui gli organismi procariotici si suicidano in massa sono comuni e non rappresentano una rara curiosità [Lane 2008]. Qualche esempio:
1) Il suicidio di massa del fitoplancton batterico come difesa contro la propagazione di virus battericidi (fagi) è ben noto [Lane 2008];
2) Allo stesso modo, è documentato che l'infezione da fagi attiva il suicidio batterico "limitando così la moltiplicazione virale e proteggendo dall'infezione i vicini *E. coli*" [Raff 1998];
3) "In *E. coli*, sono stati descritti tre meccanismi di suicidio attivati dalla comparsa di un fago all'interno della cellula" [Skulachev 2003];
4) In *E. coli* esiste un "modulo suicida incorporato" attivato dagli antibiotici come difesa contro la diffusione di altri ceppi batterici che li producono [Engelberg-Kulka 2004].
I molti casi di "morte programmata nei batteri" [Skulachev 2003] e "morte cellulare programmata" nel fitoplancton [Lane 2008] non possono essere un fenomeno casuale non influenzato dalla

selezione ed è davvero indispensabile che siano favoriti dalla selezione naturale a livello sopraindividuale.
Per i procarioti, le principali cause della selezione naturale che favoriscono e modulano l'attivazione dei meccanismi fenoptotici sono probabilmente: (i) difesa contro la propagazione di virus battericidi (fagi) [Raff 1998; Lane 2008]; e (ii) eliminazione di individui che per qualche ragione sono compromessi e quindi riducono le risorse per altri individui: "La maggior parte delle specie batteriche in realtà non vive come sospensioni planctoniche in vivo ma forma biofilm complessi, comunità di cellule strettamente legate [Costerton et al. 1999]. Da questo punto di vista, la morte programmata di cellule danneggiate può essere utile per una comunità batterica multicellulare." [Lewis 2000]
Nei procarioti, i fenomeni associati alla morte cellulare programmata, appaiono strettamente collegati ad altri tipi di specializzazione e allo sviluppo della comunicazione e del coordinamento fra le cellule (nelle manifestazioni primitive di "socialità"). Pertanto, i mixobatteri sono caratterizzati da un comportamento cooperativo complesso e dalla formazione di colonie che si nutrono collettivamente su un terreno ricco. In condizioni di stress, e in caso di esaurimento dei nutrienti, i mixobatteri formano corpi fruttiferi, a volte coinvolgendo la cooperazione di colonie distinte, sia mediante meccanismi di chemiotassi che di segnalazione di contatto [Cao et al. 2015]. La maggior parte delle cellule (e, in questo caso, i singoli organismi) all'interno dei corpi fruttiferi mostrano un comportamento "altruistico" e persino di "sacrificio di sé stessi" delle cellule. Condividono prontamente le risorse e subiscono persino l'autolisi per il bene degli altri [Wireman e Dworkin 1977]. La complessa cooperazione nei mixobatteri, dalla formazione di raggruppamenti alla morte programmata di molte cellule, assicura la disponibilità di risorse, altrimenti presenti nel substrato ma inaccessibili per una singola cellula, e una complessiva maggiore sopravvivenza e persistenza delle specie [Muñoz-Dorado et al . 2016]. Questo esempio mostra come i comportamenti e i processi costosi o addirittura fatali per un singolo organismo conferiscono benefici alla popolazione, superando di gran lunga i danni su scala individuale. Pertanto, anche negli organismi primitivi, all'inizio dell'evoluzione delle interazioni, vengono sviluppati meccanismi regolatori che nei momenti appropriati antepongono gli interessi della popolazione a lungo termine a quelli individuali a breve termine.
In ogni caso, è necessario ipotizzare meccanismi di selezione sopraindividuale: "Poiché la maggior parte del plancton in una fioritura è quasi identica geneticamente, dal punto di vista dei loro geni, una morìa che crea abbastanza terra bruciata da fermare l'avanzamento virale può avere senso" [Lane 2008], superando vecchi argomenti teorici che escludevano la possibilità di meccanismi di selezione di gruppo [Maynard Smith 1964, 1976].
Il tipo di meccanismo che innesca la fenoptosi nei batteri è stato definito come "proapoptosi" ed è stato suggerito come precursore filogenetico dell'apoptosi eucariotica [Hochman 1997]. In effetti, la proapoptosi mostra varie caratteristiche omologhe o simili a quelle mostrate dall'apoptosi: "Diversi enzimi chiave dei macchinari apoptotici, tra cui le famiglie paracaspasi e metacaspasi della superfamiglia di proteasi caspasi-simile, le ATPasi apoptotiche e le NTPasi della famiglia NACHT e le proteasi mitocondriali HtrA-simili, hanno diversi omologhi nei batteri, ma non negli *archaea*. L'analisi filogenetica suggerisce fortemente un'origine mitocondriale per metacaspasi e proteasi HtrA-simili, mentre l'acquisizione da *Actinomycetes* sembra essere lo scenario più probabile per AP-ATPasi. Gli omologhi delle proteine apoptotiche sono particolarmente abbondanti e diversi nei batteri che subiscono uno sviluppo complesso, come gli actinomiceti, i cianobatteri e gli alfa-proteobatteri, questi ultimi progenitori dei mitocondri." [Koonin e Aravind 2002]
Se consideriamo: (i) l'apoptosi negli eucarioti unicellulari come l'evoluzione della proapoptosi nei procarioti; e (ii) l'organizzazione di organismi multicellulari eucariotici come risultato dell'evoluzione delle colonie monoclonali di cellule eucariotiche in cui le cellule hanno progressivamente assunto ruoli differenziati e dove, in circostanze appropriate, alcune cellule sono soggette a morte cellulare programmata, una categoria di fenomeni che include l'apoptosi; non c'è da meravigliarsi dei legami filogenetici tra proapoptosi e apoptosi.

C-2) *Determinata da meccanismi comportamentali*

In particolari condizioni, la selezione naturale, in termini di selezione di parentela o comunque in termini di selezione sopraindividuale, può favorire comportamenti rischiosi o mortali per l'individuo che li manifestano, ma che consentono la sopravvivenza o aumentano le probabilità di sopravvivenza, di individui collegati.

Il significato del termine "comportamentale" implica che i meccanismi richiedono un sistema nervoso, con o senza le azioni di istinto o intelligenza o consapevolezza, comunque essi siano definiti o concepiti.

--- Negli invertebrati, i sacrifici individuali nelle specie di insetti eusociali (formiche, api, termiti, etc.) Sono molto diffusi e noti [Wilson 1975].

--- Nelle specie di vertebrati sociali, comportamenti disinteressati che sono pericolosi per la sopravvivenza di un individuo ma aumentano le probabilità di sopravvivenza degli altri sono comuni. Ad esempio, i maschi predominanti di *Papio cynocephalus* (babbuino giallo) [Altman e Altman 1970] e di *Papio ursinus* (babbuino nero) [Hall 1960] si collocano, con grande rischio individuale, nelle posizioni più esposte per difendere dai predatori il loro branco.

Per varie specie di uccelli, vi sono i comportamenti di distrazione mostrati dai genitori con grande rischio individuale per salvare la prole minacciata dai predatori [Armstrong 1947; Brown 1962; Gramza 1967].

--- In molti casi, la ricerca di un partner e la lotta per superare i rivali è pericolosa e talvolta mortale e ciò potrebbe essere considerato una forma di fenoptosi opzionale.

--- Per la nostra specie, ci sono innumerevoli condizioni e casi in cui gli individui mettono a repentaglio o addirittura sacrificano la propria vita per salvare la vita di altri membri del proprio gruppo. Questi atti di uomini che mettono a repentaglio o sacrificano la loro vita sono di solito interpretati come espressioni di libero arbitrio e non come effetto di meccanismi, determinati o almeno parzialmente influenzati dai geni. In effetti, questa interpretazione fenoptotica potrebbe essere interpretata come una negazione del concetto di libero arbitrio e di certi valori religiosi e filosofici.

Tuttavia, sia per la nostra specie che per i vertebrati sociali, è possibile sostenere che i geni che, in condizioni particolari, determinano comportamenti fissi sono inesistenti, mentre esistono combinazioni di geni che determinano uno sviluppo neuroendocrino e una miscela di ormoni (o qualcosa di analogo) che in particolari condizioni tendono a favorire particolari strategie stereotipate. Ad esempio, quando c'è un pericolo forte e immediato, alcuni scapperanno senza esitazioni per salvare le proprie vite, trascurando la possibilità di salvare altri, mentre alcuni cercheranno di salvare gli altri, anche se questo mette a repentaglio la loro vita.

La scelta tra questi due comportamenti opposti è anche fortemente influenzata dal grado di relazione tra l'individuo che sceglie la strategia e gli individui la cui vita potrebbe essere salvata: in questa delicata scelta la strategia di cercare di salvare qualcuno è più probabile se tra gli individui minacciati vi sono individui geneticamente correlati, in particolare la prole, mentre la strategia della fuga senza esitazione è più probabile se nessun individuo geneticamente correlato è minacciato.

Allo stesso tempo, in caso di pericolo, a parte le strategie comportamentali di "fuga" e "difesa degli altri", un numero considerevole di individui può presentare una reazione diversa [Herberholz and Marquart 2012]. Una di queste è il comportamento di blocco (*freezing*), che può rendere la maggior parte dei membri del gruppo meno stimolante per il predatore. La strategia comportamentale, così come la decisione tra "rimanere fermi", "correre immediatamente" o "attaccare il nemico", non è immutabile per l'individuo. La scelta dipende da molti fattori, tra cui l'età, l'esperienza, la salute, l'ambiente circostante e la posizione gerarchica, e ha una complessa regolazione neuroumorale [Hashemi et al. 2019]. Gli individui malati o più deboli in genere passano più velocemente all'opzione di "correre il più velocemente possibile" e hanno minori possibilità di scappare mentre il predatore si avvicina. Allo stesso tempo, tale azione degli individui "più paurosi" di solito attira l'attenzione del predatore e provoca un attacco nei loro

confronti. I tentativi di fuga del membro più debole del gruppo sembrano molto meno "eroici" piuttosto che un'aggressiva difesa "con sacrificio di sè stessi" [Chakraborty et al. 2020]. In molti casi, una tale corsa finisce nello stesso sacrificio per il bene degli altri membri del gruppo.

Tale comportamento sembra "egoistico", a tutte le apparenze opposto al comportamento di distrazione mostrato dai genitori volto ad allontanare il predatore dalla prole. Tuttavia, mentre il successo è spesso dalla parte dei genitori forti e in buona salute, che giocano solo il ruolo di una preda facilmente accessibile, in caso di corsa nel panico "codardo" le proprie possibilità di vincere sono incomparabilmente minori [Herberholz and Marquart 2012]. Di conseguenza, in quest'ultimo caso, il predatore ha molte più probabilità di catturare la preda e perdere interesse per gli altri membri del gruppo. Pertanto, anche se "guidato solo dalla paura", il comportamento di fuga dei membri più deboli del gruppo diminuisce i costi dell'attacco predatore per il gruppo, poiché il rischio più elevato incide su un membro (al momento) "meno prezioso".

Per le specie non umane, scelte comportamentali analoghe sono interpretate come fortemente determinate dagli istinti. Tuttavia, è necessario ammettere che in qualche modo gli istinti e quindi il comportamento sono stati forgiati dalla selezione naturale. Nell'uomo è probabile che in ogni comportamento ci siano sia componenti istintive forgiate dalla selezione naturale come per gli animali sia componenti determinate da atti di libero arbitrio. Ma un'analisi più attenta dovrebbe dire che la volontà, la coscienza e ogni altra qualità intellettuale che ci rende molto diversi da qualsiasi altra specie, anche quelle che sono filogeneticamente vicini a noi, sono frutto della selezione naturale. Il risultato è sicuramente molto più complesso e meno prevedibile di quello determinato da semplici istinti, ma certamente è anche il risultato della selezione naturale.

2.4.4 - (D) Fenoptosi indiretta

La fenoptosi è definita come indiretta quando un individuo, in particolari condizioni, provoca o favorisce la morte di uno o più dei suoi parenti stretti.

È possibile distinguere due tipi principali di fenoptosi indiretta:

D-1) *Determinata da meccanismi biochimici*

--- Nel topo, il nuovo partner di una femmina uccide la prole appena nata perché hanno i geni del partner precedente. Quando un nuovo maschio prende il sopravvento, una femmina abortisce i propri piccoli mediante un meccanismo biochimico interno. Questo fa risparmiare alla madre il tempo e l'energia necessari per continuare la gestazione della prole che verrà uccisa dopo la nascita e quindi l'aborto viene interpretato come adattativo [Bruce 1959].

--- Nei vertebrati, è di primaria importanza che il sistema immunitario di un individuo discrimini tra i propri antigeni e quelli dei parassiti. In effetti, i parassiti cercano di aggirare le difese immunologiche usando nelle loro parti esterne proteine con gli stessi antigeni dell'ospite (mimetismo antigenico). Gli ospiti possono opporsi al mimetismo antigenico dei parassiti presentando la massima variabilità delle formule antigeniche in modo che un mimetismo antigenico adatto a tutti i potenziali ospiti diventi impossibile. Il principale complesso di istocompatibilità (MHC) è il principale gruppo di alleli che consente agli organismi ospiti la possibilità della maggiore variabilità dell'antigene. Mentre le somiglianze tra le formule antigeniche degli ospiti e dei parassiti originano una maggiore suscettibilità alle infezioni, al contrario le differenze determinano una maggiore resistenza ad esse. Esistono correlazioni note tra specifici alleli MHC umani e suscettibilità o resistenza a molte malattie infettive o correlate all'infezione [Lechler e Warrens 2000; Shiina et al. 2004].

Ciò implica che la maggiore variabilità antigenica caratterizza la progenie migliore. Di conseguenza, ci sono due meccanismi fenoptotici che aumentano la variabilità antigenica della prole: (i) scelta del compagno mediata dagli alleli MHC; e (ii) selezione post-copulatoria. Il primo meccanismo è documentato per diversi taxa di vertebrati [Slev et al. 2006], compresa la nostra specie: a) Gli odori degli uomini con diversi alleli MCH sono stati valutati dalle studentesse di un collegio come "più piacevoli" rispetto a quelli degli uomini con alleli MHC simili [Wedekind et al. 1995; Wedekind e Füri 1997]; b) In una comunità etnicamente omogenea

e isolata, è stato scoperto che un minor numero di coppie avere eguaglianze per un aplotipo 16-locus MHC in misura statisticamente significativa [Ober et al. 1997; Ober et al. 1999].
Per quanto riguarda il secondo caso, noto come "selezione post-copulatoria (chiamata anche scelta criptica femminile)" [Loisel et al. 2008, pag. 104], aborti spontanei non patologici eliminano i feti con minore variabilità antigenica con una probabile ridotta resistenza alle malattie infettive [Apanius et al. 1997]. La selezione post-copulatoria o scelta femminile criptica è ben nota negli animali [Tregenza e Wedell 2000]. Per quanto riguardo la nostra specie, uno studio ha rilevato un eccesso di eterozigoti per MHC nei neonati di sesso maschile [Dorak et al. 2002]. Per comunità isolate ed etnicamente omogenee è stato dimostrato che, confrontando le coppie con alleli HLA-DR condivisi o non condivisi: 1) un intervallo maggiore tra le gravidanze [Ober 1992]; 2) un tasso di perdita di gravidanza maggiore [Ober et al. 1998]; e 3) significativamente meno bambini [Ober e van der Ven 1997]; erano la regola nel caso di alleli condivisi.

--- Il fenomeno definito "il gemello che scompare" (*vanishing twin*) [Landy e Keith 1998] è ben documentato per la nostra specie "... le ecografie delle donne nel primo trimestre di gravidanza rivelano che i gemelli sono concepiti da due a quattro volte più spesso di quanto sono presenti alla nascita; nella maggior parte dei casi, il più piccolo dei due feti scompare entro il terzo trimestre ed è apparentemente riassorbito dalla madre [Robinson e Caines 1977; Varma 1979]." [Hausfater e Hrdy 1984, pag. XIX].

D-2) *Determinato da meccanismi comportamentali*

L'uccisione di un figlio da parte dei suoi stessi genitori per azioni dirette o per abbandono, è definita come infanticidio filiale.

--- Nel mondo animale, l'infanticidio filiale è molto diffuso e spesso è seguito dal cannibalismo [Hausfater e Hrdy 1984].

--- Per la nostra specie, l'infanticidio filiale, per azioni dirette o per abbandono, sia di neonati sani che di neonati deformi o molto malati, è documentato per molte società primitive [Scrimshaw 1984]. In tale studio, le cause documentate più frequenti di infanticidio erano: concepimento adulterino, neonati deformi o molto malati, gemelli, nessun supporto maschile e madre non sposata [Scrimshaw 1984, Tabella I]. Questi atti, che sono presenti e diffusi anche nelle società moderne insieme all'aborto, possono essere interpretati in termini evoluzionistici in vari modi, in particolare dal fatto che un neonato con ridotta possibilità di sopravvivenza sottrae risorse preziose ad altri neonati presenti o futuri [Eaton et al. 1988a]. Questi comportamenti e il fenomeno del "gemello che scompare" seguono la stessa logica evoluzionistica, vale a dire le scarse risorse non consentono l'allevamento con successo di due bambini contemporaneamente o addirittura di un singolo figlio.

2.5 - Fenomeni fenoptotici nella nostra specie

Poiché è possibile morire una sola volta, possibili false deduzioni sono che: (i) ogni specie può presentare un solo fenomeno fenoptotico; e (ii) le specie sono divise tra fenoptotiche e non fenoptotiche.

Per mostrare come queste idee siano errate, esaminiamo il caso della nostra specie.

--- Prima della nascita, un feto può essere eliminato in molti modi mediante fenoptosi indiretta (in questi casi per via biochimica o ormonale), perché (i) il feto è in qualche modo difettoso; (ii) fa parte di una gravidanza multipla; o (iii) è con scarsa variabilità antigenica.

--- Dopo la nascita, altri meccanismi di fenoptosi indiretta (in questi casi determinati da meccanismi comportamentali) possono determinare l'uccisione di un bambino. Tra le motivazioni trovate in 60 diverse società, per lo più primitive, riportate da Hausfater e Hrdy nella "Tabella I. Circostanze di presunto infanticidio nella società" [Hausfater e Hrdy 1984, pp. 490-1], abbiamo: concezione adulterina (15 società), deformato o molto malato (21), gemelli (14), nascita troppo presto o troppi (11), nessun sostegno maschile (6), madre morta (6), madre non sposata (14),

difficoltà economiche (3). Si potrebbe obiettare che questi eventi sono un'espressione della condizione primitiva di quasi tutte le società studiate, ma nelle società moderne un numero notevole di feti viene eliminato mediante aborto per una serie di ragioni analoghe o identiche.

--- Nell'età adulta ci sono innumerevoli circostanze in cui un individuo può mettere in pericolo o addirittura sacrificare la propria vita per salvare o tentare di salvare uno o più individui geneticamente correlati o anche individui non geneticamente correlati (fenoptosi opzionale).

--- Per tutti coloro che non sono morti per altre cause (inclusi i decessi dovuti a fenoptosi indiretta o opzionale), esiste il destino comune della morte dovuto a cause legate all'invecchiamento (fenoptosi lenta obbligatoria).

--- Inoltre, si dovrebbe considerare che ogni individuo della nostra specie, così come quelli di qualsiasi specie multicellulare eucariotica, è fondamentalmente una colonia monoclonale evoluta di cellule eucariotiche. In queste colonie, solo le cellule della linea germinale si riproducono mentre per tutte le altre un destino abituale è uno fra diversi tipi di morte cellulare programmata (programmed cell death, PCD; ad es.: apoptosi, distacco di cellule dalle mucose, cheratinizzazione e distacco di cellule della pelle, etc.). Infatti, senza la differenziazione dei ruoli tra le cellule di un organismo pluricellulare e la PCD in circostanze opportune di molte cellule, lo sviluppo e la sopravvivenza di un organismo pluricellulare non sarebbero concepibili. L'eliminazione delle cellule mediante PCD non rientra nella definizione di fenoptosi ma indica che l'origine e l'organizzazione di qualsiasi organismo multicellulare si basa nella sua prima costituzione su una sorta di "patto fenoptotico" tra le cellule della colonia monoclonale originale.

Queste valutazioni, qui presentate in modo conciso e incompleto, potrebbero essere estese a molte altre specie. Esse indicano che una distinzione tra specie fenoptotiche e non fenoptotiche è impossibile o inappropriata e che una specie può essere soggetta a una pluralità di fenomeni fenoptotici.

La varietà, l'importanza e le implicazioni dei fenomeni fenoptotici porta al concetto che, in termini biologici, per comprendere la vita è anche essenziale comprendere la morte causata da fenomeni fenoptotici.

Figura 2.7 - Owen R. Jones.

2.6 – Tabelle di sopravvivenza e fenoptosi

I fenomeni fenoptotici non dovrebbero essere considerati solo come una serie di fenomeni insoliti e curiosi di importanza secondaria che arricchiscono le infinite caratteristiche degli esseri viventi. In effetti, per molte specie, la fenoptosi è il principale determinante della tabella di sopravvivenza [Libertini et al. 2017].
Lo studio comparativo delle tabelle di sopravvivenza di molte specie mostra che sono determinate in vari modi da diversi tipi di fenoptosi. Al contrario, per altre specie, la tabella di sopravvivenza è rilevante perché non la determina una obbligatoria fine fenoptotica.
Uno studio dettagliato della grande varietà di tavole di sopravvivenza esistenti in natura non è appropriato qui. Tuttavia, è possibile delineare alcuni tipi principali, in particolare sulla base di una recente rassegna di Jones (Fig. 2.7) et al. [Jones et al. 2014].

Questi sono i tipi principali:

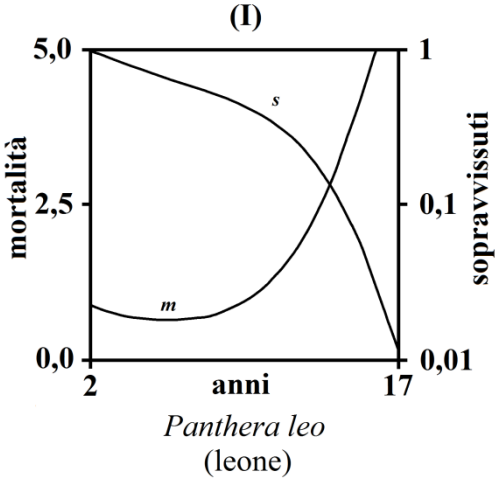
Tipo I - Mortalità crescente legata all'età in condizioni naturali. È il tipo di tavola di sopravvivenza che ci è più familiare, e prima è stato precisamente definito come "invecchiamento" e anche descritto come "fenoptosi lenta" [Skulachev 2002a]. Un esempio di questo tipo di tabella di sopravvivenza è mostrato dalla specie *Panthera leo* (leone) (Figg. 2.8 e 2.9).

Tipo II - Mortalità costante e quindi rapido collasso di tutte le funzioni vitali e morte. In generale, vi è riproduzione e poi morte (semelparità) (Fig. 2.10). Questo rapido declino di tutte le funzioni descritto da Finch per molte piante (in particolare angiosperme monocarpiche) e animali (molti *Anguilliformes* e *Salmoniformes*, alcuni roditori e marsupiali dasiuridi, etc.) è definito come "senescenza rapida e morte improvvisa" [Finch 1990, p . 43], ma il fenomeno non dovrebbe essere interpretato semplicemente ed erroneamente come una forma accelerata di invecchiamento. Tre esempi di questo tipo di tabelle di sopravvivenza sono dati da *Oncorhyncus nerka* (salmone del Pacifico) (Fig. 2.11), *Antechinus stuartii* (antechinus di Stuart), un marsupiale della famiglia *Dasyuridae* (Fig. 2.12) e *Glycine max* (soia) (Fig. 2.13). Il concetto di rapido declino di tutte le funzioni e della conseguente morte non è affatto sinonimo di breve durata della vita. Un esempio straordinario che contraddice questo malinteso è la specie *Phyllostachys bambusoides* (bambù gigante o giapponese) (Fig. 2.14) che fiorisce dopo 120 anni e poi muore, un fenomeno documentato in Giappone fin da un millennio fa [Kawamura 1927].

Tipo III - Mortalità costante a tutte le età in condizioni naturali, con lunga durata della vita (Fig. 2.15). In effetti, molte specie, ad esempio l'idra (*Hydra magnipapillata*), la balia dal collare (*Ficedula albicollis*), bivalvi come la vongola artica *Arctica islandica* [Philipp e Abele 2010; Munro e Blier 2012] (Fig. 2.16), rockfish (Fig. 2.17), storioni e forse aragoste (Fig. 2.18), mostrano "nessun aumento osservabile del tasso di mortalità correlato all'età o diminuzione del tasso di riproduzione dopo la maturità sessuale; e ... nessun declino osservabile correlato all'età della capacità fisiologica o della resistenza alle malattie" [Finch e Austad 2001]. Queste specie sono definite come specie che non invecchiano e viene usata anche l'espressione animali con "senescenza trascurabile" [Finch 1990, p. 206].

Tipo IV - Mortalità che diminuisce in relazione all'età, definita da Vaupel (Fig. 2.19) et al. come "senescenza negativa" ("La senescenza negativa è caratterizzata da un declino della mortalità in relazione all'età dopo la maturità riproduttiva, generalmente accompagnato da un aumento della fecondità. Hamilton [Hamilton 1966] escluse la senescenza negativa: noi accenniamo alle carenze del suo modello. Rivediamo studi empirici su varie piante e alcuni tipi di animali che possono mostrare una senescenza negativa e concludiamo che la senescenza negativa può essere frequente, specialmente nelle specie a crescita indeterminata per le quali dimensioni e fertilità aumentano con l'età." [Vaupel et al. 2004]) (Figg 2.20, 2.21 e 2.22). In effetti, invece di senescenza negativa, per tali specie sarebbe più preciso parlare di una variante di specie che non invecchiano in cui qualche altro fattore (ad esempio una dimensione crescente con l'età), riduce la mortalità per predazione [Libertini 2012].

Figura 2.8 - *Panthera leo* (leone).



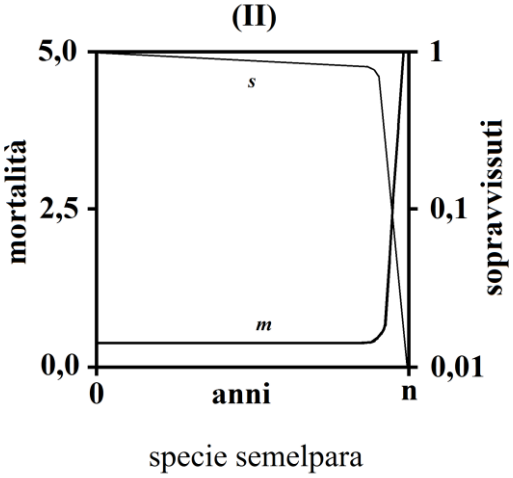


Figura 2.9 - Un esempio di tabella di sopravvivenza di tipo I, ovvero una specie con mortalità crescente correlata all'età in condizioni naturali (*Panthera leo*, leone) (piccola parte, ridisegnata, della Figura 1 in [Jones et al. 2014]). In questa e in altre figure analoghe, le linee indicano la mortalità standardizzata (*m*) e la sopravvivenza (*s*).

Figura 2.10 -Un esempio di tabella di vita di tipo II, ovvero una specie semelpara con mortalità costante e poi, a una certa età, dopo la riproduzione, un rapido aumento della mortalità e morte improvvisa (nella figura, una tabella di vita ideale di una specie semelpara come descritto in [Finch 1990]).

Figura 2.11- *Oncorhyncus nerka* (salmone rosso, salmone del Pacifico).

Figura 2.12 - *Antechinus stuarti*i (antechinus marrone/antechinus di Stuart/topo marsupiale di Macleay) è un piccolo marsupiale della famiglia *Dasyuridae*. I maschi muoiono dopo la stagione riproduttiva.

Tipo V - Mortalità costante ma molto elevata in condizioni naturali, con una durata della vita molto breve. Gli individui della stessa specie in condizioni protette possono mostrare una durata della vita significativamente più lunga e, ad età non presenti in natura, una mortalità crescente legata all'età. Un esempio ben documentato è quello del ragno *Frontinella pyramitela* (ragno "ciotola e centrino") (Fig. 2.23): in condizioni naturali è difficile che viva più di trenta giorni mentre, in condizioni protette di laboratorio e con una dieta limitata (1 mosca/settimana), raggiunge un'età di 4-5 volte superiore e mostra una mortalità crescente correlata all'età [Austad 1989] (Fig. 2.24). Con una maggiore alimentazione (2-3 mosche/settimana) si riduce la sopravvivenza e si accelera l'aumento della mortalità [Austad 1989]. Per molte specie di insetti e per molti altri piccoli invertebrati come il famoso *C. elegans*, la fase adulta in natura ha una durata piuttosto

breve con una mortalità elevata e costante mentre in condizioni protette la sopravvivenza aumenta in modo significativo e vi è un aumento di mortalità a partire da epoche inesistenti in condizioni naturali [Finch 1990].

Figura 2.13 - *Glycine max* (soia).

Figura 2.14 - *Phyllostachys bambusoides* (bambù gigante o giapponese).

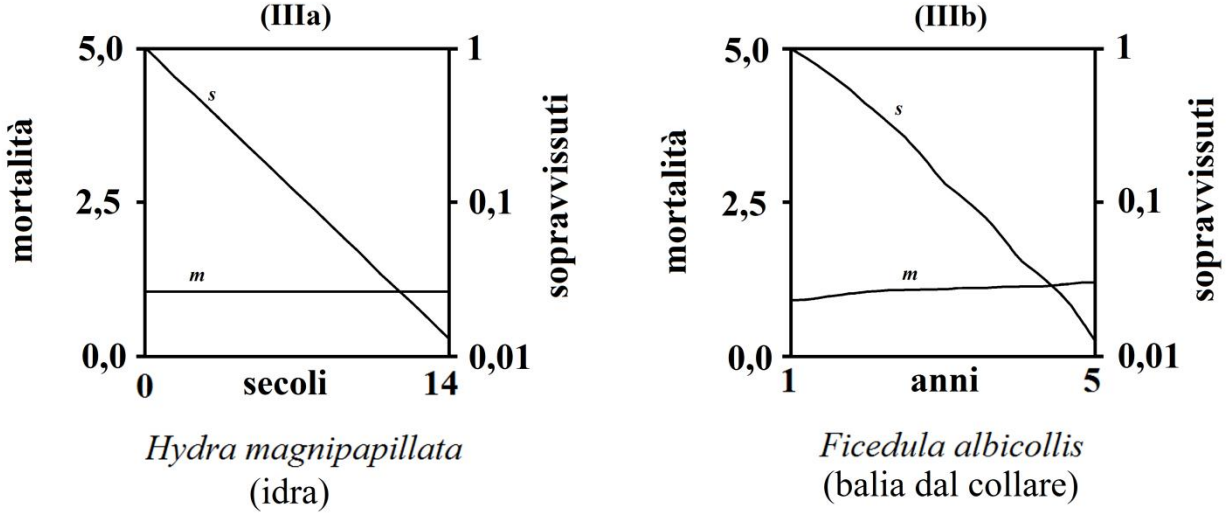


Fig. 2.15 - Due esempi di tabella di sopravvivenza di tipo III, ovvero specie con mortalità costante a qualsiasi età con durata della vita non piccola. A sinistra, *Hydra magnipapillata* (idra); a destra, *Ficedula albicollis* (baia dal collare). Piccole parti, ridisegnate, della Figura 1 in [Jones et al. 2014].

Figura 2.16 - *Arctica islandica* (vongola artica).

Per queste specie, l'aumento della mortalità correlata all'età nelle condizioni artificiali di laboratorio è definito come invecchiamento con lo stesso termine usato per altre specie che mostrano un analogo aumento della mortalità in condizioni naturali, vale a dire a età esistenti in natura. La distinzione tra i due fenomeni è necessaria e importante. In effetti, "l'aumento della mortalità con l'aumentare dell'età cronologica in condizioni naturali" ["increasing mortality with increasing chronological age in the wild (IMICAW)"] e "l'aumento della mortalità con l'aumento dell'età cronologica in cattività" ["in captivity ... increasing mortality with increasing chronological age ... (IMICAC)"] [Libertini 1988] devono essere chiaramente distinti l'uno dall'altro. Il primo fenomeno, essendo presente in natura, è influenzato dalla selezione naturale e può avere un valore adattativo mentre il secondo fenomeno, essendo per definizione assente in condizioni naturali, è solo un artefatto di laboratorio, non è influenzato dalla selezione naturale e non può avere un valore adattativo [Libertini 1988]. Gli esempi più evidenti di specie con questo tipo di tabella di sopravvivenza che mostrano le loro differenze con le specie che invecchiano (come la nostra) possono essere gli insetti che presentano il fenomeno dell'afagia. In tali specie,

la fase adulta presenta difetti anatomici che rendono gli individui incapaci di nutrirsi e in grado di utilizzare solo le riserve accumulate. Da ciò segue la morte certa causata dalla fame per gli individui che sopravvivono alla morte per predazione [Finch 1990].

Tipo VI - Molte specie procariotiche ed eucariotiche unicellulari si dividono semplicemente in due cellule figlie che sono indistinguibili l'una dall'altra, e questo fenomeno non può essere definito come invecchiamento. Un caso particolare diverso, esposto altrove, è quello di specie come *Saccharomyces cerevisiae* (lievito) in cui vi sono differenze tra le due cellule derivanti dalla divisione e si può parlare di invecchiamento nel significato preciso attribuito a questo termine e con le caratteristiche del tipo I delle tavole di sopravvivenza.

Figura 2.17 - Il rockfish con l'occhio ruvido (*rougheye rockfish*, *Sebastes aleutianus*) è probabilmente tra i pesci marini più longevi della Terra, con una durata della vita di 205 anni. Per una specie simile, il rockfish con l'occhio giallo (*yelloweye rockfish*, *Sebastes ruberrimus*), con durata della vita documentata fino a 118 anni, fra il pescato commerciale al largo di Sitka, in Alaska, "il 16% dei pesci che andavano a tavola delle persone aveva 50 anni o più, con diversi più di 100 anni vecchi!" (dal sito http://www.agelessanimals.org).

Figura 2.18 - "Gennaio 2009: un'aragosta gigante di nome George, che è stato stimato avere circa 140 anni, è sfuggito al destino di un tavolo da pranzo ed è stato rilasciata nell'Oceano Atlantico dopo che un ristorante di pesce di New York gli ha concesso la sua libertà" (www.cnn.com/2009/US/01/10/maine.lobster.liberated/).

Figura 2.19 - James W. Vaupel.

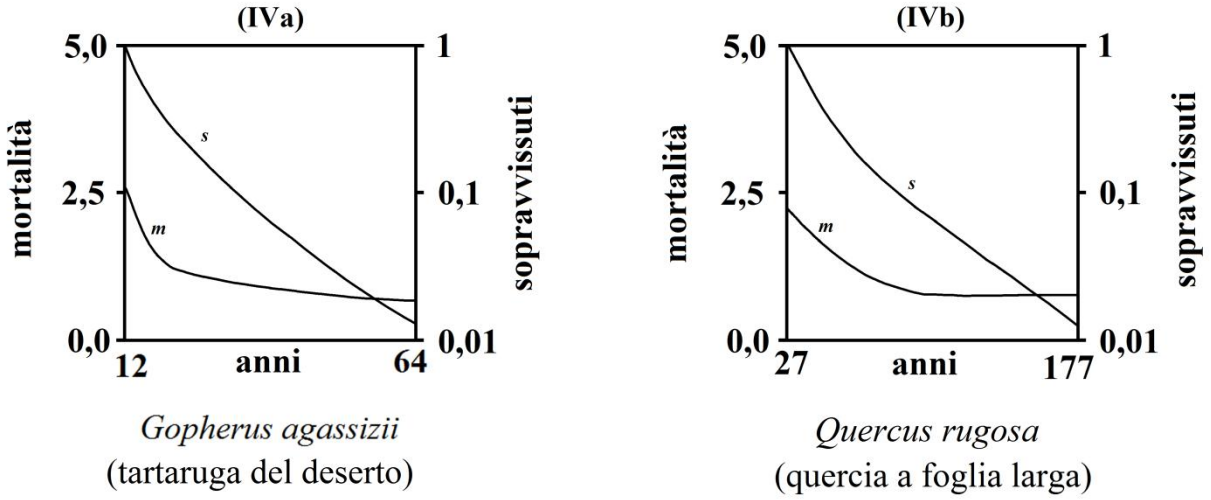


Fig. 2.20 - Due esempi di tabella di sopravvivenza di tipo IV, ovvero specie con mortalità che diminuisce in correlazione all'età. A sinistra, *Gopherus agassizii* (tartaruga del deserto); a destra, *Quercus rugosa* (quercia a foglia larga). Piccole parti, ridisegnate, della Figura 1 in [Jones et al. 2014].

Questi tipi di tabelle di sopravvivenza, e altre non menzionate qui, mostrano che la maggior parte delle specie ha tabelle di sopravvivenza diverse dall'invecchiamento nel significato preciso che è stato dato (aumento della mortalità correlata all'età in condizioni naturali). Ciò dimostra che le specie "che invecchiano" sono una piccola minoranza tra tutte le innumerevoli specie viventi e dimostra anche che la convinzione diffusa che l'invecchiamento sia un fenomeno universale, forse con alcune eccezioni ammesse con riluttanza (ad esempio, l'idra e gli animali con senescenza trascurabile), è errata.

Figura 2.21 - *Gopherus agassitii* (tartaruga del deserto).

Figura 2.22 - *Quercus rugosa* (quercia a foglia larga).

A proposito dei diversi tipi di tabelle di sopravvivenza, due considerazioni sono utili e opportune [Libertini et al. 2017]:

1) Nelle valutazioni del mondo scientifico, la maggior parte delle tabelle di sopravvivenza sono chiaramente determinate e modulate da geni e quindi devono necessariamente essere considerate fenomeni adattativi [Finch 1990]. L'invecchiamento (tipo I delle tabelle di sopravvivenza) è una eccezione evidente in queste valutazioni poiché la convinzione prevalente e ampiamente diffusa è che si tratti di un fenomeno non determinato e non modulato da geni e quindi non adattativo (paradigma dell'invecchiamento non programmato). Tuttavia, questo paradigma, nel contesto generale dell'interpretazione delle tabelle di sopravvivenza, rappresenta una posizione inusuale e minoritaria del mondo scientifico biologico. La tesi opposta, ovvero che l'invecchiamento è

determinato e modulato da geni ed è quindi adattivo (paradigma dell'invecchiamento programmato), anche se è una posizione di minoranza, è più coerente con l'interpretazione comune del significato evoluzionistico di tutte le altre tabelle di sopravvivenza, che sempre li vede come il frutto della fucina della selezione naturale e mai come un fenomeno non adattativo.

Figura 2.23- *Frontinella pyramitela* (ragno "ciotola e centrino").

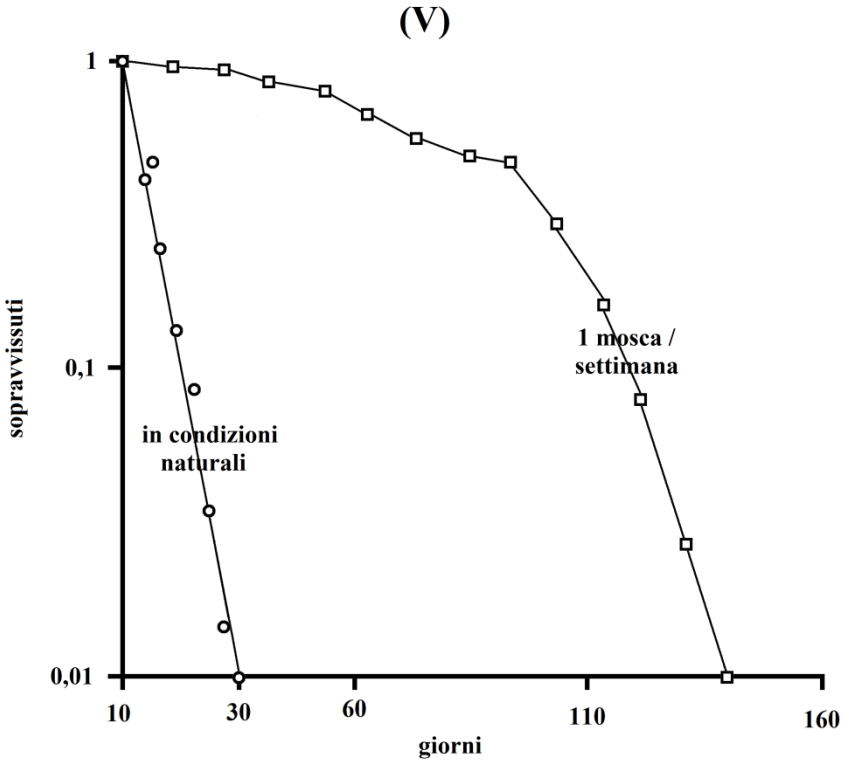


Figura 2.24 - Un esempio di tabella di sopravvivenza di tipo V: *Frontinella pyramitela* (ragno "ciotola e centrino") in condizioni naturali (cerchi) e in laboratorio con una dieta limitata (1 mosca/settimana) (quadrati); dati da [Austad 1989].

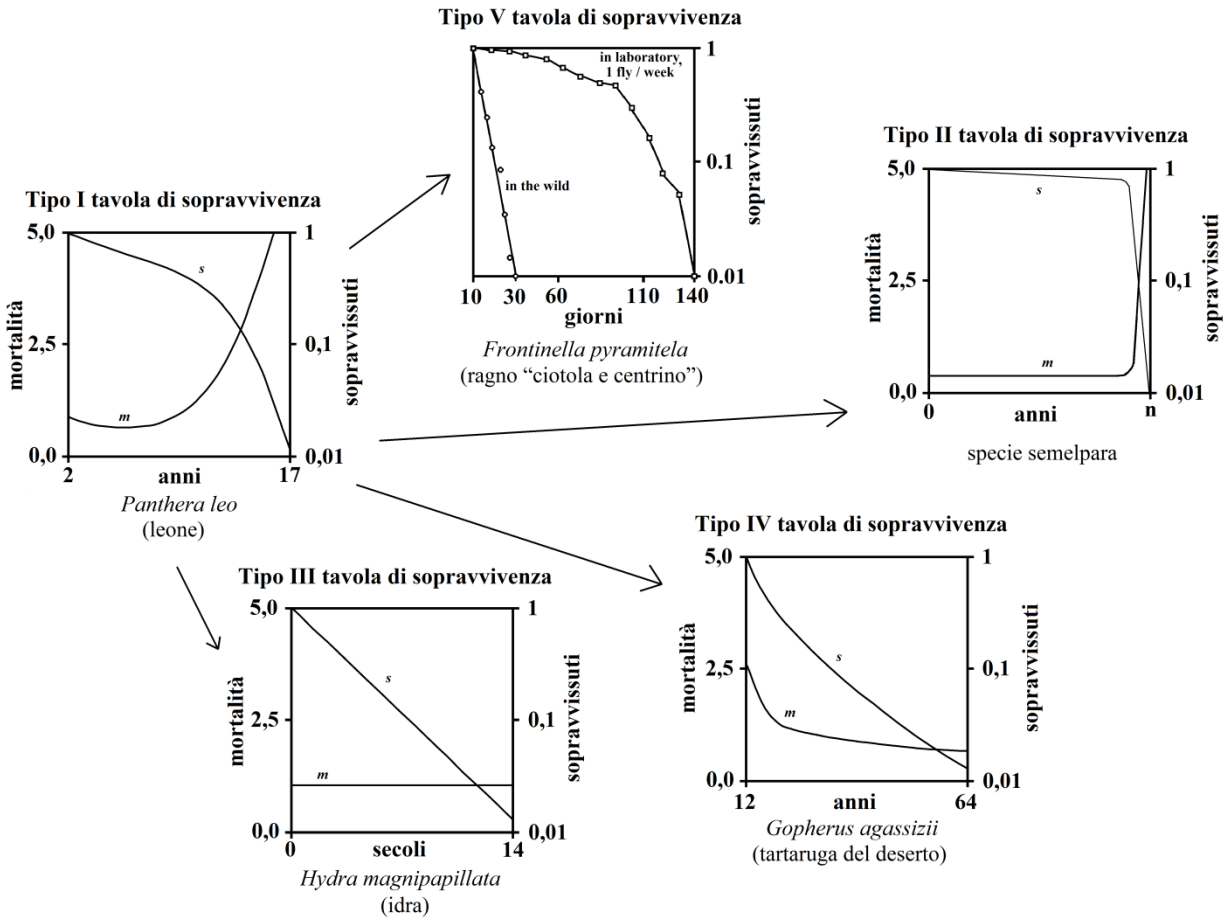


Figura 2.25 - Per il paradigma dell'invecchiamento non programmato, la condizione primaria è la tabella di sopravvivenza di tipo I (cioè le specie che invecchiano) e tutte le altre tabelle di sopravvivenza sono derivate. L'evoluzione dal Tipo I al Tipo III è particolarmente difficile da spiegare.

2) È strettamente correlata alla precedente considerazione la valutazione della tavola di sopravivenza verosimilmente più primitiva o di default, alla quale una specie tende in assenza di una selezione naturale specifica e dalla quale sarebbero quindi derivati gli altri tipi di tavole di sopravvivenza. Anche qui vi è una interpretazione diversa a seconda che sia considerata corretta la tesi del paradigma dell'invecchiamento non programmato o quella del paradigma dell'invecchiamento programmato. Nel primo caso, la condizione più semplice e di default è quella della mortalità che cresce in relazione all'età e tutte le altre tabelle di sopravvivenza sono adattamenti modellati dalla selezione naturale (Fig. 2.25). Nel secondo caso, la condizione più semplice e di default è quella della mortalità costante a tutte le età (ad esempio quella mostrata dall'idra) e tutte le altre tabelle di sopravvivenza sono adattamenti modellati dalla selezione naturale (Fig. 2.26). È interessante notare che in questo secondo caso il modello di base degli esseri viventi è l'idra, che tra le specie multicellulari è quella con la struttura più semplice ed è quindi più plausibile come modello di base più primitivo. Al contrario, nel primo caso, gli esseri viventi di base sarebbero analoghi ai mammiferi, compresa le nostra specie, che certamente non possono essere considerati tra gli esseri viventi più primitivi.

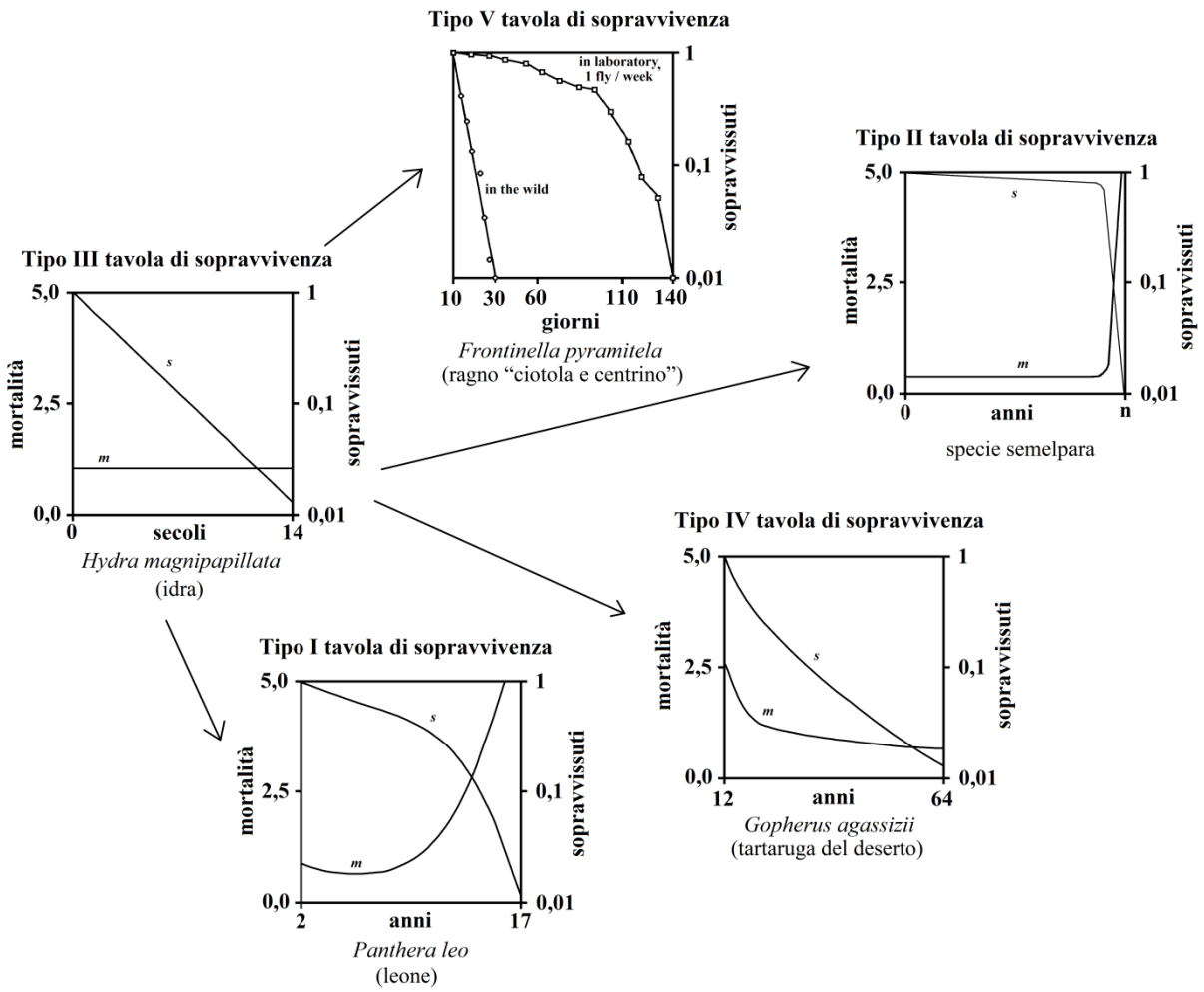


Figura 2.26 - Per il paradigma dell'invecchiamento programmato, la condizione primaria è la tabella di sopravvivenza di Tipo III (cioè, specie con mortalità costante a qualsiasi età) e le altre condizioni sono derivate.

Capitolo 3
Medicina evoluzionistica

3.1 - Definizione di medicina evoluzionistica
3.2 - Una breve storia della medicina evoluzionistica
3.3 - Il concetto di normalità nella medicina evoluzionistica
3.4 - Il concetto di discrepanza nella medicina evoluzionistica
3.5 - Malattie causate da discrepanze
3.6 - Malattie causate da alterazioni del genotipo
3.7 - Il concetto di olobionte
3.8 – I disturbi immunologici nell'interpretazione della medicina evoluzionistica
3.8.1 - L'attuale "epidemia" di malattie allergiche
3.8.2 - L'attuale "epidemia" di malattie autoimmuni
3.8.3 - Cause dell'epidemia di disturbi immunologici
3.9 - Classificazione non evoluzionistica delle malattie
3.10 - Classificazione evoluzionistica delle malattie
3.11 - Significato e scopi della medicina evoluzionistica

3.1 - Definizione di medicina evoluzionistica

Come nella medicina tradizionale attuale non è concepibile parlare di gerontologia e geriatria senza tener conto delle conoscenze mediche generali, allo stesso modo non è concepibile discutere di gerontologia e geriatria evoluzionistica trascurando i concetti generali della medicina evoluzionistica.

Figura 3.1 - James J. McKenna.

Nel *Capitolo 1 - Introduzione*, la medicina evoluzionistica è già stata definita come: "il progetto di usare la biologia evoluzionistica per affrontare i problemi della medicina" [Nesse 2008]. È stato anche sottolineato che la medicina evoluzionistica non è una delle molte medicine alternative non scientifiche, ma l'integrazione della medicina attuale con i concetti di evoluzionismo e le implicazioni di questi concetti. Ciò arricchisce le basi scientifiche della medicina così come altre discipline scientifiche quali, ad esempio, la chimica e la fisica, hanno arricchito e arricchiscono le basi scientifiche mediche. D'altra parte, negare il possibile contributo dell'evoluzionismo alla medicina significa limitare e menomare la piena validità scientifica della medicina.
Sull'importanza di questo arricchimento scientifico, se marginale e di minima importanza o al contrario fondamentale e di grande importanza, l'evidenza fornirà una risposta a riguardo.

3.2 - Una breve storia della medicina evoluzionistica

Una "Breve Storia dell'Evoluzione nella Medicina" è stata proposta nel 2008 in un libro curato da Trevathan, Smith e McKenna (Fig. 3.1) [Trevathan et al. 2008b, pagg. 4-9]. Nello stesso libro, Nesse (Fig. 3.2) fornisce altre informazioni su questo argomento [Nesse 2008].

Figura 3.2 - Randolph M. Nesse.

Figura 3.3 - Erasmus Darwin (1731-1802).

Alcuni scienziati possono essere considerati precursori della medicina evoluzionistica per certe idee innovative che anticipano la sua nascita ufficiale. Erasmus Darwin (Fig. 3.3), il nonno di Charles Darwin, può essere considerato un profetico precursore sia dell'evoluzionismo che della medicina evoluzionistica:

"Come osserva Randolph Nesse (Capitolo 23), Erasmus Darwin (1731-1802) è stato uno dei primi medici a meditare esplicitamente a riguardo del cambiamento in natura e del come i cambiamenti osservati in natura potrebbero essere messi in parallelo nell'uomo, scrivendo nel suo lavoro su due volumi, *Zoonomia, or the Laws of Organic Life* (*Zoonomia, o le leggi della vita organica*) [Darwin 1794-1796]. Il lavoro è diviso in tre parti, con la Parte 2 intitolata 'Un catalogo delle malattie distribuito in classi naturali in base alle loro cause primarie, con i loro successivi ordini, generi e specie e con i loro metodi di cura'. Pertanto quando ci riferiamo alla medicina darwiniana, in un certo senso ci riferiamo sia a Charles Darwin che a suo nonno." [Trevathan et al. 2008b, pag. 5]

"La prima menzione della potenziale utilità dell'evoluzione per la medicina si trova in Darwin, non in Charles, ma in suo nonno, il medico e poeta Erasmus Darwin. La prefazione al suo poema filosofico del 1796, *Zoonomia*, contiene una descrizione notevolmente presciente dell'evoluzione, nonché del suo potenziale come fondamento per la medicina [Darwin 1794-1796, pp. vii-viii]….)" [Nesse 2008]

"La necessità di una teoria, dedotta da tanto severa analogia, per condurre la pratica della medicina è lamentata dai suoi professori; in quanto, poiché un gran numero di fatti non connessi è difficile da acquisire e considerare, l'arte della medicina risulta in molti casi meno efficace sotto la direzione dei suoi più saggi professionisti ... Una teoria fondata sulla natura, che dovrebbe unire i fatti disparati della conoscenza medica, e convergere in un'unica interpretazione le leggi della vita organica, contribuirebbe quindi per molti aspetti all'interesse della società ... consentirebbe a qualunque erudito di distinguere i veri discepoli della medicina da quelli con presuntuosa

sfacciataggine o astute argomentazioni; e insegnerebbe all'umanità in alcune situazioni importanti la conoscenza di se stessi." [Darwin 1794-1796] (riportato in [Nesse 2008], p. 420)
Dudley J. Morton (1884-1960) [Morton 1926] è un altro precursore indicato da Trevathan et al.: "Egli riconobbe che la comprensione di quale fosse una vera deviazione dalla normalità, e quindi appropriata per l'intervento clinico, dipendeva direttamente dalla conoscenza di ciò che costituisce il normale intervallo della variazione umana e la conoscenza di quali fattori preservano le condizioni normali. Riconobbe che per mantenere la *normalità*, la medicina doveva sviluppare pratiche che rafforzassero le naturali tutele che il corpo possedeva contro forze che avrebbero sconvolto la normalità." [Trevathan et al. 2008b, pag. 6]
Trevathan et al. indicano anche che un ben noto gruppo di studi nati dal comune tronco della medicina, sono in effetti studi completi di medicina evoluzionistica [Trevathan et al. 2008a]. Ad esempio: (i) Allison dimostrò che, nelle aree con un'alta incidenza di malaria, gli individui con il gene dell'anemia falciforme erano favoriti dalla selezione naturale [Allison 1954]; e (ii) Livingstone evidenziò che con la distruzione di vaste aree forestali causate dalla diffusione dell'agricoltura vi era la formazione di pozze d'acqua che costituivano terreni fertili per *Anopheles gambiae*, vettore del *Plasmodium falciparum*, il protozoo che causa la malaria. La forma eterozigote dell'anemia falciforme dà un'immunità relativa alla malaria e quindi, sebbene la forma omozigote sia mortale, il gene dell'anemia falciforme è stato favorito dalla selezione naturale [Livingston 1958].

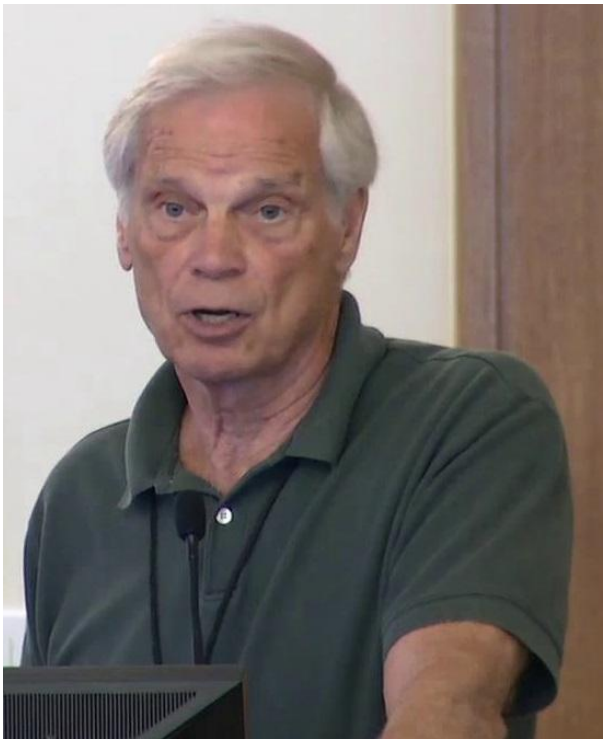


Figura 3.4 – S. Boyd Eaton.

Figura 3.5 - Melvin J. Konner.

A riguardo dei difetti della struttura umana, Nesse e Williams evidenziarono che: "La prevalenza delle caratteristiche disadattive della struttura umana è stata riconosciuta da molto tempo. Un libro del 1941 di George Hoben Estabrooks, *Man, The Mechanical Misfit* (*Uomo, Il Disadattamento Meccanico*) [Estabrooks 1941], descrive molti dei difetti strutturali e dei compromessi nell'anatomia umana ..." [Nesse e Williams 1994, p. 131] e, nella nota pertinente: "Mentre [il lavoro di Estabrooks] descrive molti difetti di progettazione del corpo umano, il suo messaggio principale è il disadattamento tra quella struttura e gli usi a cui è destinato nei tempi moderni." [Nesse e Williams 1994, pag. 263]
La loro interpretazione del contributo di Estabrooks [Estabrooks 1941] è riportata da Lewis [Lewis 2008, p. 400]: "come prefigurante in una certa misura la nozione di disadattamento". Inoltre, Lewis

sottolinea che Nesse e Williams nel loro libro del 1994 hanno trascurato altre due opere che in qualche modo anticipano concetti di medicina evoluzionistica, i.e., *Disease and Evolution* (*Malattia ed Evoluzione*) di Haldane [Haldane 1949] e *Scars of Evolution* (*Cicatrici dell'Evoluzione*) di Krogman [Krogman 1951].
Eaton (Fig. 3.4), Konner (Fig. 3.5) e Shostak (Fig. 3.6) sono spesso citati nel libro di Trevathan et al. [Trevathan et al. 2008b]. Questi autori, che dovrebbero essere considerati non precursori ma fondatori della medicina evoluzionistica prima della sua nascita ufficiale, hanno teorizzato e documentato che: "Quando le condizioni di vita di una qualsiasi popolazione animale si discostano da quelle a cui essa è adattata geneticamente, il disadattamento biologico - discrepanza - è inevitabile . La specie umana non fa eccezione. Per noi, la discrepanza tra il nostro stile di vita attuale e quello in cui ci siamo evoluti ha promosso 'malattie della civiltà' croniche e mortali: infarti, ictus, cancro, diabete, enfisema, ipertensione, cirrosi e malattie simili che causano il 75 percento di tutta la mortalità negli Stati Uniti e in altre nazioni industrializzate." [Eaton et al. 1988a, pag. 5] e coniarono il termine "discrepanza" (*mismatch*) [Eaton et al. 1988b].

Figura 3.6 - Marjorie Shostak (1945-1996) con una donna !Kung San.

La successiva storia della medicina evoluzionistica è ben nota.
L'articolo di Williams e Nesse del 1991 [Williams e Nesse 1991] e il libro di Nesse e Williams del 1994 [Nesse e Williams 1994] segnano la nascita ufficiale della medicina evoluzionistica. I libri editi da Stearns (Fig. 3.7) nel 1999 [Stearns 1999], Stearns e Koella nel 2008 [Stearns e Koella 2008], Trevathan, Smith e McKenna nel 2008 [Trevathan et al. 2008a] sono punti notevoli in una lunga sequenza di lavori dedicati ai temi della medicina evoluzionistica.
Tuttavia, altri due lavori dovrebbero essere considerati come precursori, o anche più, della medicina evoluzionistica.
Il primo è il famoso libro di Price (Fig. 3.8), *Nutrition and Physical Degeneration* (Nutrizione e Degenerazione Fisica), pubblicato nel 1939 [Price 1939].

Il dott. Weston Andrew Price (1870-1948), un dentista di Cleveland, non era un biologo evoluzionista, e alcune delle sue idee su razze e popoli sono collegate a quelle prevalenti al momento e sono chiaramente sbagliate o inaccettabili nei tempi moderni. Tuttavia, Price andò in tutto il mondo a studiare le condizioni della dentatura tra i popoli primitivi ancora esistenti ai suoi tempi in varie parti del mondo, confrontandoli con quelli delle popolazioni occidentali, o in generale dei popoli "civilizzati".

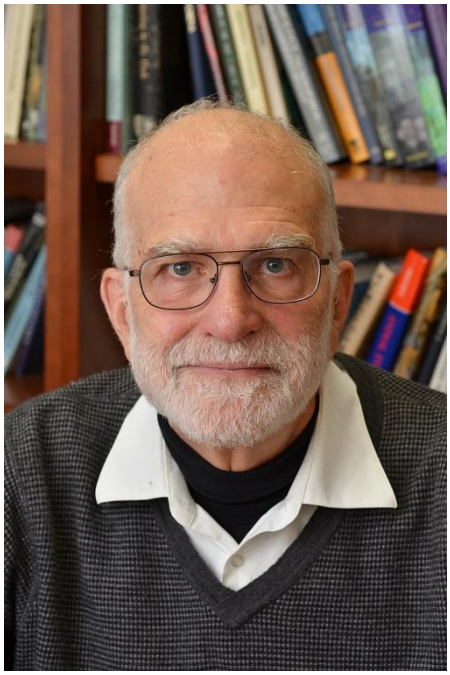


Figura 3.7 - Stephen C. Stearns.

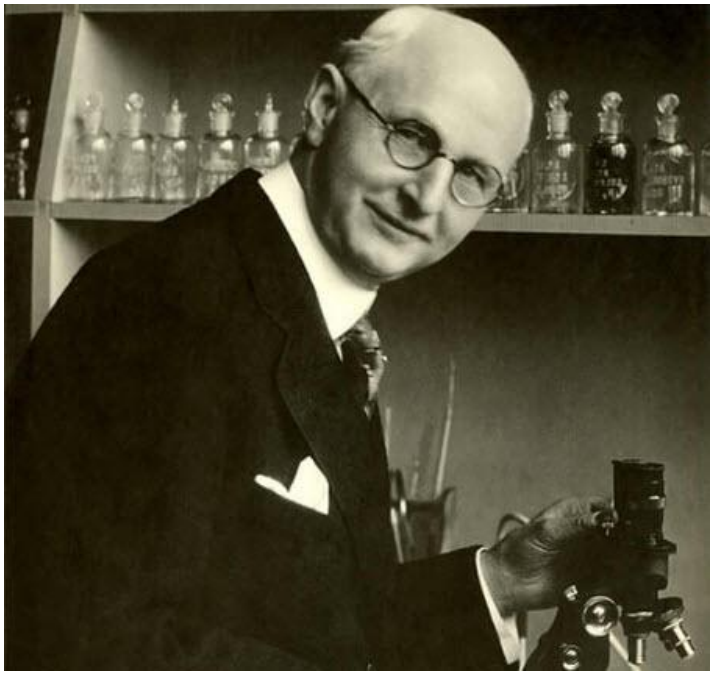


Figura 3.8 - Weston Andrew Price (1870-1948).

Figura 3.9 - Nella parte superiore: nativi che seguono abitudini alimentari ancestrali ("denti ... eccellenti e privi di carie dentale" [Price 1939, p. 225]); nella parte inferiore: nativi che seguono diete moderne (multiple carie dentali, piorrea, "cambiamenti nella forma del viso" [Price 1939, p. 137], "affollamento dei denti" [Price 1939, p. 156]) (foto da [Price 1939]).

A riguardo delle condizioni dei denti e, in generale, della salute, il libro descrive in dettaglio varie osservazioni nutrizionali etnografiche per culture disparate, come nativi americani, pigmei, polinesiani, la valle Lötschental in Svizzera, etc. I suoi imponenti materiali di ricerca includono numerose pellicole, circa 15.000 fotografie e 4.000 diapositive.
Price documentò che varie malattie, come la carie dentale e la tubercolosi, comuni nei paesi "civilizzati" negli anni 1920 e 1930, erano una rarità o assenti nelle popolazioni primitive. Inoltre, documentò che allorché queste popolazioni abbandonavano le loro diete e i loro stili di vita e adottavano quelli delle nazioni occidentali, mostravano una crescente frequenza delle malattie considerate tipiche dei paesi moderni. Concluse che le abitudini occidentali, inclusa la preparazione e la conservazione di cibi che toglievano vitamine e minerali essenziali, erano la causa di queste malattie "epidemiche".
È possibile e corretto affermare che Price nella sua ricerca è in parte un dilettante, spesso privo del rigore di riportare numeri precisi e analisi statistiche. Queste e altre critiche sono possibili, ma non inficiano il cuore dei suoi risultati. La sua ricerca è straordinaria.
In gran parte essa è irripetibile, poiché molte delle popolazioni che studiò vivono oggi in condizioni moderne. Documenta in modo convincente che lo stato di salute dei denti è passato da una condizione primitiva, in cui i popoli vivono secondo le abitudini ancestrali, sono ben adattati al loro ambiente e mostrano denti fondamentalmente sani, a condizioni moderne associate a un grave e diffuso deterioramento della salute dentale (Fig. 3.9). Price espande le sue considerazioni allo sviluppo delle ossa facciali (essenziale per il corretto sviluppo dei denti), alla corretta formazione di tutto lo scheletro e allo stato generale di salute. Price nota che siamo passati da uno stato di adattamento ottimale in condizioni primitive a uno stato di profondo squilibrio tra adattamento e stili di vita che causa malattie gravi e/o diffuse.
In breve, senza esperienza o formazione tecnica nella biologia evoluzionistica ma con una documentazione ampia e imponente, Price anticipa una serie di condizioni che saranno successivamente definite come "discrepanze" (*mismatches*).
"Poiché sappiamo da molto tempo che i selvaggi hanno eccellente dentatura e che gli uomini civilizzati hanno una dentatura orribile, mi sembra che siamo stati straordinariamente stupidi nel concentrare tutta la nostra attenzione sul compito di scoprire perché i nostri denti sono così scadenti, senza mai preoccuparci di apprendere perché i denti dei selvaggi sono buoni." (Dalla prefazione di Earnest A. Hooton, Università di Harvard, 21 novembre 1938, al libro di Price) [Price 1939, p. XXI]
"I suoi viaggi dimostrarono la sua teoria: se mangi la tua dieta etnica nativa in una forma non modificata avrai una buona salute mentale, fisica e dentale. Se mangi cibi altamente trasformati, che aggiungono sostanze discutibili e rimuovono i nutrienti essenziali, la tua salute peggiora." (Dal commento di Patrick Quillin, ex vicepresidente di Nutrition for Cancer Treatments Centers of America, all'edizione 2011 del libro di Price) [Price 1939, p. XXXVII].
Nel 1950, una rassegna sul giornale *The Laryngoscope* affermò che "Il dott. Price potrebbe ben chiamarsi il Charles Darwin della nutrizione" [Jones et al. 1950].

L'altro lavoro che, insieme ad altri argomenti, anticipa gran parte della medicina evoluzionistica fu un libro proposto in italiano nel 1983 e tradotto in inglese nel 2011 [Libertini 1983]. Anticipa molti concetti di medicina evoluzionistica, e per alcuni aspetti, dopo circa 38 anni!, si trova su posizioni che appaiono essere più avanzate di quelle comunemente accettate oggi.
Il lavoro precorre esplicitamente l'idea che il fenomeno "malattia" dovrebbe assolutamente essere considerato nel contesto dell'evoluzione e non trattato come estraneo al processo evoluzionistico: "Le malattie da un punto di vista evoluzionistico non sono un qualcosa che esula dagli schemi ma al contrario rappresentano un insieme di categorie di fenomeni evoluzionisticamente 'prevedibili' nella loro essenza generale. ... L'approccio evoluzionistico al concetto di malattia è il più razionale e generale possibile. Ogni altro più limitato approccio, anche se più utile per quanto riguarda i singoli problemi patologici, proprio perché più limitato e selettivamente orientato, non deve essere

concepito in termini in contrasto con la teoria dell'evoluzione." [Libertini 1983, dall'edizione inglese del 2011, p. 83]

Nel libro fu proposta una classificazione generale delle malattie in termini evoluzionistici. Questa proposta fu presentata come fondata su una base razionale e, con alcune modifiche e arricchimenti, è la classificazione che verrà proposta in questo capitolo.
"Da tale formulazione, infatti, risulteranno, come vedremo, spontanee e naturali e confermabili empiricamente alcune categorie di eventi, ognuna definibile separatamente, e che possono essere coperte da un'unica definizione complessiva sotto il termine di 'malattia'. ...
Malattie derivanti da alterazioni del genotipo ...
Malattie derivanti da alterazioni della nicchia ecologica ...
Malattie derivanti da rapporti con altri viventi ...
Malattie derivanti da 'eccessi della nicchia ecologica' ..." [Libertini 1983, dalla edizione in inglese del 2011, pp. 84-9]

Il concetto di discrepanza è definito in modo specifico e chiaro:
"... dovremo apettarci che una modifica casuale della nicchia ecologica per lo più, diminuendo l'ordine del sistema, alteri l'equilibrio fra specie e nicchia ecologica - leggi: adattamento -, vale a dire che comporti una minore attitudine alla persistenza per gli individui della specie. Minore attitudine vuol dire per definizione un danno o la potenzialità di un danno per gli individui della specie. ...
La specie umana ... fornisce notevoli esempi di grosse modifiche della nicchia ecologica che hanno avuto, da sole o in concomitanza di altri fattori, come conseguenza l'insorgere di vere e proprie epidemie. Citiamo:
a) Il fumo e il cancro polmonare e le bronchiti croniche;
b) Le diete ipercaloriche e la malattia aterosclerotica e il diabete mellito dell'adulto;
c) Le diete povere di scorie vegetali e la stipsi, le emorroidi, le ragadi e le fistole anali, la diverticolosi del colon e forse il cancro del retto;
d) L'addensarsi della popolazione in grossi agglomerati e le colossali epidemie infettive dell'epoca preindustriale (e quelle meno drammatiche dei tempi odierni);
e) Lo stress della vita urbana e 'civilizzata' e le malattie mentali e psicosomatiche;
f) L'assunzione ed il contatto con farmaci, sostante chimiche industriali, etc. e la patologia connessa." [Libertini 1983, dalla edizione in inglese del 2011, p. 87])

Il lavoro anticipa alcuni problemi derivanti dalla relazione tra parassita e parassitato: nel caso di batteri e ospite, in riferimento alle caratteristiche antigeniche delle superfici delle cellule ospiti e al tentativo dei batteri di emulare evoluzionisticamente queste superfici con il meccanismo del mimetismo dell'antigene.
L'argomento più originale del libro, un argomento eretico per molto tempo e ancora oggi per molti, è l'interpretazione del fenomeno dell'invecchiamento.
In effetti, dal momento della nascita ufficiale della medicina evoluzionistica da parte di Williams e Nesse, l'interpretazione dell'invecchiamento per la medicina evoluzionistica è praticamente identica a quella della medicina tradizionale. Secondo tale interpretazione, che si basa principalmente su tre teorie (*mutation accumulation hypothesis* [Medawar 1952; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Mueller 1987; Partridge e Barton 1993], *antagonistic pleiotropy h*. [Williams 1957; Rose 1991] e *disposable soma h*. [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979]), tutte ampiamente contraddette da prove empiriche e argomentazioni teoriche [Libertini 2008, 2015a], l'invecchiamento non esiste come entità a sé stante ma è il risultato dell'effetto cumulativo di geni dannosi che non sono sufficientemente eliminati dalla selezione naturale, anche perché sono vantaggiosi in età più giovane, o non possono essere eliminati per contrastanti esigenze. Per questa interpretazione, l'invecchiamento è un insieme di malattie disparate che esplicano sempre più i loro effetti man

mano che l'individuo invecchia: quindi, i fenomeni legati all'invecchiamento devono essere classificati tra le malattie, ognuna in modo distinto a seconda delle diverse manifestazioni.
Al contrario, il libro propose un'interpretazione completamente diversa, vale a dire che l'invecchiamento è un fenomeno fisiologico con un vantaggio evoluzionistico, cioè favorito dalla selezione naturale in termini di selezione sopraindividuale. Per questi motivi, una sottocategoria distinta fu dedicata al fenomeno dell'invecchiamento e alle sue manifestazioni nella classificazione delle malattie e dei fenomeni correlati, ovvero all'interno della categoria dei fenomeni fisiologici che causano sofferenza e danno.

3.3 - Il concetto di normalità nella medicina evoluzionistica

"Normale" è considerato ciò che è solito ovvero più frequente.
Ad esempio, è normale che un essere umano abbia due orecchie, due occhi, un naso, dieci dita in due mani e così via, mentre è anormale avere un numero diverso di queste parti anatomiche. In statistica, per una variabile che può avere molti valori, come indicatori della normalità è possibile indicare il valore medio, il valore mediano e, per le variabili che mostrano la cosiddetta distribuzione gaussiana o normale, è anche possibile definire quanti campioni hanno un valore compreso tra $\mu + \sigma n$ e $\mu - \sigma n$ (dove μ = valore medio; σ = deviazione standard; n = un numero intero) (Fig. 3.10). Da ciò, un valore potrebbe essere definito normale se è compreso nell'intervallo $\mu \pm n \sigma$, dove n viene scelto arbitrariamente.

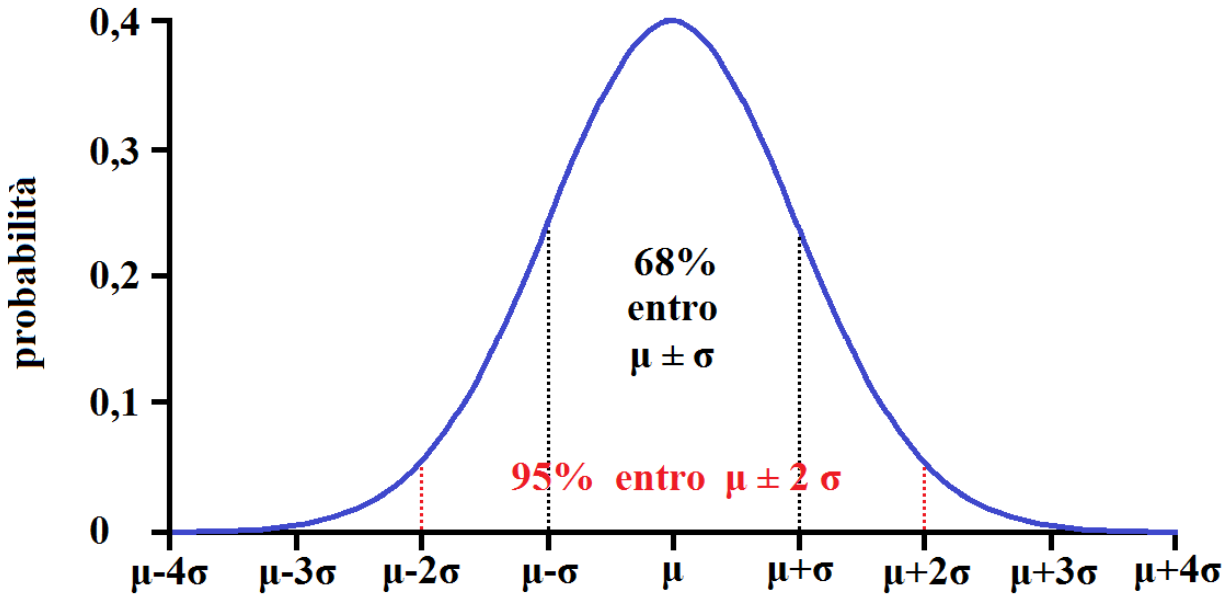


Figura 3.10 - In una distribuzione gaussiana o normale il 68% e il 95% dei campioni sono compresi rispettivamente nell'intervallo $\mu \pm \sigma$ e $\mu \pm 2\sigma$ [Armitage et al. 2002].

Tuttavia, tutte queste precise definizioni hanno un significato logico solo se specifichiamo la popolazione da cui vengono estratti i campioni e all'interno della quale vogliamo definire se qualcosa è normale o meno.
Nel racconto di fantasia *The Country of the Blind* (Il Paese dei Ciechi) di Herbert George Wells [Wells 1904], il protagonista raggiunge una valle nelle Ande completamente isolata per generazioni e dove tutti sono ciechi e con gli occhi atrofizzati a causa di un difetto genetico. La sua capacità di vedere non è creduta e i suoi occhi sono considerati l'origine della sua follia (Fig. 3.11). Gli abitanti vogliono provare a guarirlo dalla sua anomalia rimuovendo gli occhi, che nessuno ha, e pertanto è costretto a fuggire.

In un cimitero è normale essere morti, tra i pazienti di un ospedale psichiatrico è normale essere pazzi, mentre al di fuori di queste aree è normale essere vivi e sani.
Questi esempi paradossali possono sembrare banalità e concetti astratti senza alcuna importanza pratica per la medicina. Inoltre, un osservatore intelligente potrebbe facilmente contestarli con la semplice osservazione che è essenziale considerare un numero sufficientemente grande di individui (escludendo determinate categorie!) e non solo una frazione della popolazione che ha caratteristiche insolite.
Ma questo risolve solo la superficie del problema, come è facilmente dimostrato da un semplice esempio.

Figura 3.11 - Gli abitanti della valle andina, che sono ciechi e hanno gli occhi atrofizzati, toccano con meraviglia l'anomalia costituita dagli occhi del protagonista e credono che siano la fonte delle sue affermazioni inconcludenti sulla capacità di "vedere".

Quaranta o cinquanta anni fa, era solito, anche per i medici, affermare che il valore "normale" della pressione arteriosa sistolica era all'incirca uguale a: 100 + l'età. Uno studio condotto nel 1972 sulla popolazione di Londra confermava questa regola empirica, ma lo stesso studio dimostrava che in una popolazione primitiva (i Boscimani o !Kung del Botswana) la pressione sistolica arteriosa era di circa 120 mmHg a tutte le età [Truswell et al. 1972] (Fig. 3.12).
Pertanto, anche considerando ampie parti della specie umana (cioè le popolazioni molto grandi con stili di vita moderni), otteniamo risultati discutibili, poiché sicuramente non possiamo considerare "normale" in termini medici l'individuo con valori di pressione che aumentano con l'età e quindi con crescenti rischi cardiovascolari.
Per sfuggire a questa contraddizione, è possibile utilizzare i concetti di intervallo di salute [Klimis-Zacas e Wolinsky 2005; Jaminet e Jaminet 2012; McGrady e Moss 2013] o intervallo ottimale di salute [Chaker et al. 2017], che sono intervalli di riferimento basati su parametri associati a una salute ottimale o a un rischio minimo di complicanze e malattie correlate, piuttosto che l'intervallo standard basato sui valori osservati in una popolazione.
Tuttavia, il concetto di "intervallo di salute" si basa su valutazioni pratiche e non razionali e il conseguimento di un valore "normale" può richiedere molti anni e generare molte controversie (ad esempio: si vedano gli interrogativi sulle definizioni dei valori normali per la pressione arteriosa e per la colesterolemia).
Ciò indica che è importante e anzi indispensabile una definizione razionale di "normalità" basata su una teoria scientifica. In effetti la definizione di "normalità" è una necessità preliminare essenziale per lo studio del fenomeno della malattia in termini evoluzionistici e può essere immediatamente derivata da un concetto fondamentale della teoria evoluzionistica.

Una specie è adattata al meglio alla sua nicchia ecologica (habitat fisico, abitudini alimentari, relazioni con altre specie, etc.). Se gli individui di una specie vivono nelle condizioni della nicchia ecologica a cui la specie è adattata, dovrebbero trovarsi nelle migliori condizioni di salute possibili.
Di conseguenza i valori statistici relativi agli individui che vivono nelle condizioni della nicchia ecologica a cui è adattata la specie sono definiti "normali" e tale nicchia ecologica è definita "normalità".

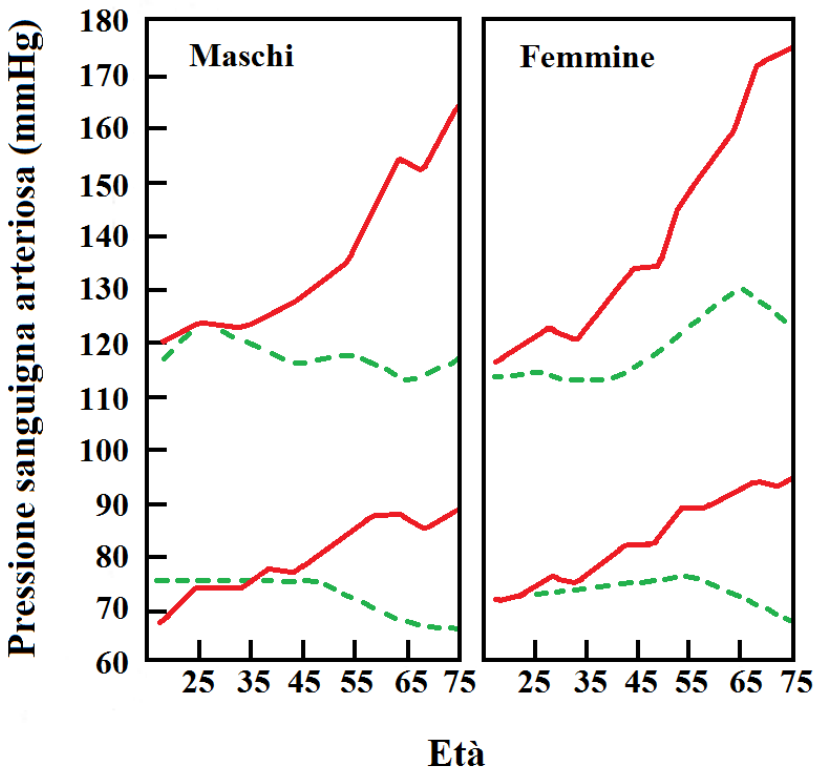


Figura 3.12 - Pressione arteriosa sanguigna negli individui !Kung (linee tratteggiate) e nei cittadini di Londra (linee continue) (da [Truswell et al. 1972], modificata e ridisegnata).

Ciò significa che per conoscere la condizione di "normalità" per una specie e definire qualsiasi parametro come "normale", prima di tutto è essenziale studiare la specie in condizioni naturali o almeno il più vicino possibile a quelle naturali. Pertanto, applicando questi concetti alla nostra specie, qualsiasi caratteristica deve essere prima studiata in popolazioni il più primitive possibili, vale a dire che vivono il più possibile secondo la nicchia ecologica a cui la nostra specie è adattata. I parametri normali così ottenuti possono essere successivamente confrontati con quelli delle popolazioni che vivono in condizioni moderne. Solo a questo punto i parametri ottenuti nelle popolazioni moderne si possono considerare se sono nell'intervallo della normalità o al di fuori della normalità.
Questa definizione evoluzionistica di normalità non è affatto una semplice curiosità semantica ma un concetto fondamentale per la medicina evoluzionistica. Vediamo tre esempi di come l'uso o il non uso di questo concetto abbia profonde conseguenze nel modo in cui interpretiamo e descriviamo le cause della malattia.
--- ***Esempio 1***
Un utile sommario di informazioni ben note sull'ipertensione, condivise da testi autorevoli (ad esempio [Black e Elliott 2007; Bonow et al. 2012]), è il seguente:

> L'ipertensione primaria o essenziale è la forma più comune di ipertensione. Nelle società moderne, la pressione sistolica aumenta con l'invecchiamento e l'ipertensione è una caratteristica legata all'età. L'ipertensione è l'effetto di una complessa interazione tra fattori

ambientali e geni. Le basi genetiche dell'ipertensione sono note solo in parte, sebbene conosciamo diverse varianti genetiche comuni che hanno piccoli effetti sulla pressione sanguigna e alcuni rari mutanti che aumentano fortemente la pressione sanguigna. La pressione sanguigna è influenzata da molti fattori ambientali.

I fattori dello stile di vita che abbassano la pressione sanguigna sono: riduzione dell'assunzione di sale nella dieta, prodotti a basso contenuto di grassi, aumento del consumo di frutta, perdita di peso, esercizio fisico e riduzione dell'assunzione di alcol.

I fattori dello stile di vita che aumentano la pressione sanguigna sono: aumento dell'assunzione di sale nella dieta, prodotti ad alto contenuto di grassi, basso consumo di frutta, aumento di peso, esercizio fisico ridotto, aumento dell'assunzione di alcol.

Altri fattori come lo stress, il consumo di caffeina, la vitamina D hanno un ruolo non chiaro nello sviluppo dell'ipertensione.

Usando il concetto evoluzionistico di normalità e le stesse evidenze esposte nei suddetti riferimenti, la descrizione scientifica sarebbe alquanto diversa:

Nelle popolazioni che vivono in condizioni normali (vale a dire la nicchia ecologica a cui la nostra specie è adattata), l'ipertensione è una condizione molto rara. La grande e crescente prevalenza di ipertensione nelle società moderne è una conseguenza di condizioni di vita alterate. L'aumento della pressione sanguigna correlato all'età non è fisiologico ma parte delle conseguenze di queste condizioni di vita alterate. Le alterazioni nello stile di vita che portano all'ipertensione sono abbastanza note, sebbene siano necessari ulteriori studi. L'inizio e l'evoluzione dell'ipertensione sono influenzati da una serie di geni normali, che non sono affatto patologici in condizioni "normali". Questi geni non sono la causa primaria dell'ipertensione ma fanno parte dei meccanismi con cui la malattia viene espressa e poi peggiora. In relazione all'ipertensione, definirli come causa o causa che contribuisce o causa aggravante o, in generale, come geni dannosi o patologici, è profondamente errato perché in condizioni normali non sono affatto causa di malattia. In effetti è probabile che facciano parte di meccanismi fisiologici utili o essenziali per la sopravvivenza in condizioni normali. Solo in alcuni rari casi, in cui un gene provoca ipertensione in condizioni naturali (e verosimilmente anche in condizioni modificate) la definizione di gene patologico è appropriata e il gene costituisce la causa primaria dell'ipertensione.

L'approccio della medicina attuale, come è chiaramente confermato dalla letteratura [Black e Elliott 2008; Bonow et al. 2012], porta a indirizzare gli sforzi medici su: (i) farmaci per contrastare l'ipertensione; e (ii) la genetica dei "geni cattivi" che in vari modi contribuiscono allo sviluppo della malattia. Inoltre, l'attenzione è in generale focalizzata sul trattamento della malattia e delle sue complicanze e non sulla sua prevenzione.

L'approccio della medicina evoluzionistica indica chiaramente che l'attenzione della ricerca deve essere focalizzata sulla causa primaria della malattia, vale a dire i cambiamenti della nicchia ecologica che causano la malattia, e che i maggiori sforzi devono essere dedicati alla prevenzione della malattia eliminando o in qualche modo compensando quei cambiamenti nella nicchia ecologica che sono la causa primaria della malattia.

--- ***Esempio 2***

A volte, proviamo a distinguere tra le cause genetiche e ambientali di una malattia studiando la frequenza della malattia in due distinti gruppi di soggetti (A e B) che vivono in condizioni diverse. Supponiamo che la frequenza della malattia sia x_A per il gruppo A e x_B per il gruppo B e che $x_A > x_B$.

Secondo gli schemi tradizionali, la conclusione potrebbe essere che la differenza tra x_A e x_B (Δx) rappresenta gli effetti dei fattori ambientali e che x_B rappresenta gli effetti dei fattori genetici.

Questo confronto è fuorviante, perché se entrambi i gruppi vivono secondo stili di vita più o meno diversi dalle condizioni "normali", entrambi possono soffrire della patologia in vari gradi (in proporzione alle alterazioni della nicchia ecologica) e i geni patologici potrebbero causare solo una piccola parte dei casi delle malattia oggetto di studio.

Pertanto, il confronto corretto dovrebbe essere quello tra due gruppi, il primo (A) che vive in condizioni moderne e l'altro (B) in condizioni "normali". In questo caso, Δx rappresenterebbe la porzione dovuta alle alterazioni della nicchia ecologica e x_B (che è presumibilmente molto piccola) quella dovuta a geni dannosi.

--- ***Esempio 3***

Talvolta, con lo stesso scopo dell'esempio precedente, uno studio cerca di ottenere una distinzione più precisa e sicura osservando coppie di gemelli, una delle quali (definita come appartenente al gruppo A) vive in determinate condizioni e l'altra (gruppo B) in condizioni diverse. Definiamo x_A e x_B come nell'esempio precedente.

Secondo gli schemi tradizionali, le conclusioni potrebbero essere le stesse dell'esempio precedente, ma con risultati più precisi e affidabili giacché si studiano coppie di gemelli e non individui non correlati. In particolare, se i gemelli sono omozigoti, i risultati dovrebbero avere la massima precisione e affidabilità.

Ma tali confronti sono fuorvianti, poiché se in entrambi i gruppi i gemelli vivono secondo stili di vita diversi dal "normale", entrambi i gruppi possono mostrare la patologia senza il necessario coinvolgimento significativo di geni patologici.

Il confronto corretto dovrebbe essere tra gemelli uno vivente in condizioni alterate della nicchia ecologica e l'altro vivente in condizioni "normali". Con questo confronto, Δx indicherebbe la parte dei casi dovuta a fattori non genetici, cioè le alterazioni della nicchia ecologica, e x_B la parte dei casi dovuta a geni dannosi.

3.4 - Il concetto di discrepanza nella medicina evoluzionistica

L'adattamento di una specie alla sua nicchia ecologica è un processo che richiede molto tempo, o più precisamente molte generazioni. Inoltre, questo fenomeno implica un adattamento complesso e intricato dei caratteri della specie (cioè dei geni che li determinano) alle molteplici caratteristiche della nicchia ecologica. L'adattamento di una specie alla sua nicchia ecologica rappresenta quindi un sistema molto complesso e ordinato. Una modifica casuale di un sistema complesso causa - come conseguenza più probabile - un'alterazione della sua funzionalità così come una modifica casuale di una macchina complessa (Fig. 3.13).

Figura 3.13 - Una modifica casuale di una macchina complessa è una probabile causa di malfunzionamento.

Allo stesso modo, qualsiasi modifica della nicchia ecologica, se non neutra, come evento più probabile sarà una causa di discrepanza (*mismatch*) tra l'adattamento degli individui della specie e le nuove condizioni e questa sarà una probabile causa di disfunzioni fisiologiche (Fig. 3.14).

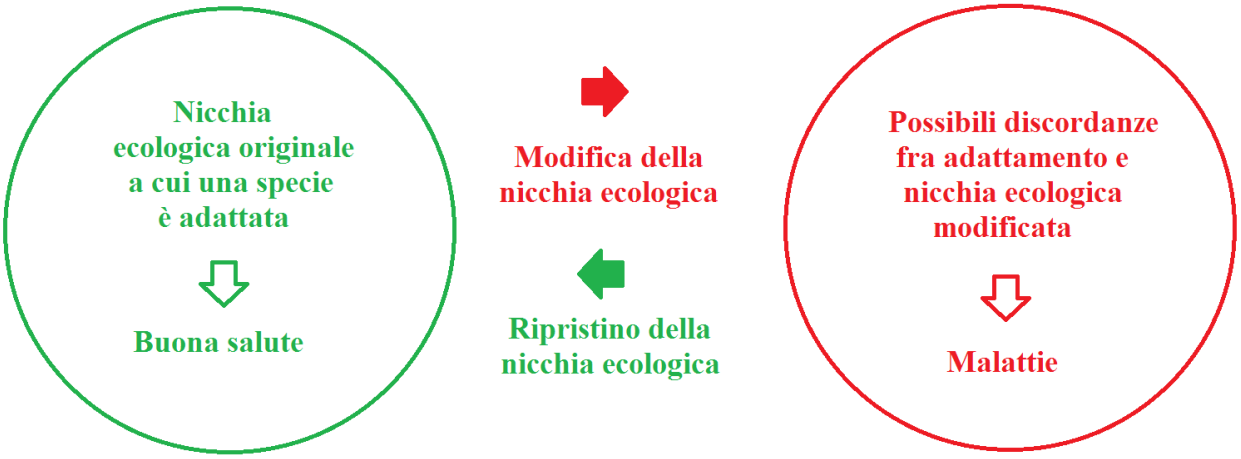


Figura 3.14 - Definizione evoluzionistica di normalità e discrepanze tra adattamento e nicchia ecologica modificata.

3.5 - Malattie causate da discrepanze

Le discrepanze tra adattamento di una specie e nuove condizioni in una nicchia ecologica modificata sono molto comuni e costituiscono le principali cause di malattie. La Tabella 3.1 (da [Libertini 2009b], modificata), mostra un piccolo elenco di alterazioni della nicchia ecologica che causano malattie.

Tabella 3.1: Alcune comuni malattie comuni causate da "discrepanze"

Eccessiva ingestione di sale -> ipertensione [Eaton et al. 1988a; Bragulat e de la Sierra 2002; Rodriguez-Iturbe et al. 2007] (-> ipertrofia cardiaca, insufficienza cardiaca congestizia, aritmie e morte improvvisa [Morse et al. 2005])
Ridotta esposizione alla luce naturale -> difetti di rifrazione (miopia, astigmatismo, ipermetropia) [Rose et al. 2008; Dirani et al. 2009] (la miopia colpisce fino al 70-90% di una popolazione [Wong et al. 2000]. Fu stimato che, entro il 2020, circa 3 miliardi di persone saranno affette da difetti di rifrazione [Kempen et al. 2004])
Eccessiva ingestione di grassi insaturi, cibi calorici, carne ad alto contenuto di grassi -> obesità (-> carcinoma a cellule renali [Lipworth et al. 2006], ipertrofia cardiaca, insufficienza cardiaca congestizia, aritmie e morte improvvisa [Morse et al. 2005]), diabete di tipo 2 e aumento del rischio vascolare (-> infarto del miocardio, ischemia cerebrale, infarti in tutti i distretti vascolari, ipertrofia e insufficienza cardiaca, etc.) [Eaton et al. 1988a]
Rumore in ambiente di lavoro, fumo, elevato indice di massa corporea (BMI) -> perdita dell'udito [Fransen et al. 2008]
Eccessiva esposizione al rumore -> perdita dell'udito [Eaton et al. 1988a; Daniel 2007]
Fumo e/o inquinamento atmosferico -> bronchite cronica [Viegi et al. 2006], enfisema [Taraseviciene-Stewart e Voelkel 2008]
Fumo -> coronaropatie e altre malattie cardiovascolari, malattie respiratorie croniche, complicanze della gravidanza e malattie respiratorie nei bambini [Giovino 2007], carcinoma in: polmone [Clavel 2007; Giovino 2007] / laringe [Clavel 2007; La Vecchia et al. 2008] / vescica [Clavel 2007; Janković e Radosavljević 2007] / rene [Lipworth et al. 2006] / pancreas [Hart et al. 2008], ulcera peptica [Halter e Brignoli 1998; Parasher e Eastwood 2000]

Eccessiva ingestione di carboidrati semplici e raffinati (in particolare zucchero) e altre modifiche dietetiche -> carie dentale, piorrea, disodontiasi [Price 1939; Eaton et al. 1988a]
Scarsa ingestione di fibre -> costipazione, diverticolosi del colon, carcinoma del colon e dello stomaco, diabete di tipo 2, sindrome metabolica e malattie cardiovascolari [Trepel 2004], appendicite [Arnbjörnsson 1983; Adamidis et al. 2000]
Scarsa ingestione di calcio e ridotta attività fisica -> osteoporosi [Eaton et al. 1988a; National Institutes of Health 2000], mal di schiena [Eaton et al. 1988a]
Ridotta esposizione agli allergeni naturali nell'infanzia -> allergie [Janeway et al. 2001]
Esposizione a sostanze chimiche sintetizzate artificialmente -> malattie allergiche [Kirchner 2002]
Condizioni alterate di socialità, stress delle condizioni civilizzate -> disturbi mentali e psichiatrici [Eaton et al. 1988a; Nesse e Williams 1994]
Molti fattori -> aumento dell'incidenza di molti tipi di cancro [Eaton et al. 1988a; Greaves 2000]
Alcolismo -> steatosi epatica, steatoepatite, cirrosi [Adachi e Brenner 2005], carcinoma della laringe [La Vecchia et al. 2008]

Tabella 3.2 - Sovrappeso (BMI > = 25) e obesità (BMI > = 30) in alcuni paesi (dati complessivi per i due sessi dove non specificato) ([Low et al. 2009]; dati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, banca dati globale sull'indice di massa corporea (World Health Organization. Global database on body mass index, disponibile all'indirizzo: http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html. Accesso dell'11 giugno 2008).

Nazione	Anno del rilievo	Intervallo di età	Sovrappeso % BMI>=25 kg/m^2	Obesità % BMI >= 30 kg/m^2
Australia	2004-2005	18-100	49.0	16.4
Bahrain	1998-1999	19-100	61.2	28.9
Brasile	2002-2003	20-100	40.6	21.9
Canada	2003	18-100	48.2	14.9
Cile	2003	17-100	59.7	21.9
Cina	2002	18-100	18.9	2.9
Danimarca	2000	16-100	41.7	9.4
Germania	2003	18-100	49.2	12.9
Ungheria	2003-2004	18-100	53.2	17.7
India	2005-2006	15-49	M 9.3; F 12.6	M 1.3; F 2.8
Indonesia	2001	15-100	13.4	2.4
Giappone	2004*, 2001**	15-100	23.2*	3.1**
Norvegia	2002	15-100	31.5	6.1
Polonia	2000-2001	19-100	52.2	18.0
Repubblica Coreana	2005*, 1998**	20-100	31.8*	2.4**
Arabia Saudita	1995-2000	30-70	72.5	35.6
Singapore	2004	18-69	32.5	6.9
Sudafrica	1998	15-100	45.0	24.0
Svizzera	2002	15-100	36.6	7.7
Regno Unito	2002	15-84	61.0	22.7
USA	2003-2004	20-100	66.3	32.7
Zimbabwe	2005	25-100	37.3	15.7

Le incidenze di malattie e morti causate da "discrepanze" sono state omesse nella tabella per brevità, ma sono spaventose e in aumento. Alcuni casi particolari (obesità e diabete) sono illustrati nelle Tabelle 3.2 e 3.3, e nelle Figg. 3.15 e 3.16. È utile evidenziare che per le poche superstiti popolazioni di cacciatori-raccoglitori studiate qualche anno fa, l'obesità e il diabete erano una rarità [Eaton et al. 1988b].

Tabella 3.3 – Ripartizione in regioni della International Diabetes Foundation (IDF) classificate in base alla incidenza del diabete mellito corretta per l'età negli adulti (20-79 anni) nel 2017 (stime) e 2045 (proiezioni) (dalla Tabella 3.1 in [Cho et al. 2018]).

	Regione IDF	Stime 2017		Proiezioni 2045	
		Incidenza comparativa del diabete (%), corretta per l'età	Incidenza del diabete (%), dato grezzo	Incidenza comparativa del diabete (%), corretta per l'età	Incidenza del diabete (%), dato grezzo
1	America del Nord e Caraibi	11.0 (9.2-12.5)	13.0 (10.8-14.5)	11.1 (9.1-12.7)	14.8 (11.7-16.7)
2	Medio Oriente e Nord Africa	10.8 (7.5-14.2)	9.6 (6.7-12-7)	10.8 (7.4-14.3)	12.1 (8.4-15.9)
3	Asia del Sud-Est	10.1 (7.9-12.8)	8.5 (6.5-10.7)	10.1 (7.9-12.8)	11.1 (8.6-13-9)
4	Pacifico Occidentale	8.6 (7.6-11.0)	9.5 (8.4-12-0)	7.4 (5.8-9.2)	10.3 (7.8-12.8)
5	America del Sud e Centrale	7.6 (6.3-9.5)	8.0 (6.7-9.8)	7.6 (6.2-9.6)	10.1 (8.3-12.4)
6	Europa	6.8 (5.4-9.9)	8.8 (7.0-12.0)	6.9 (5.5-9.9)	10.2 (8.2-13.7)
7	Africa	4.4 (2.9-7.8)	3.3 (2.1-6.0)	4.3 (2.9-7.7)	3.9 (2.6-6.8)

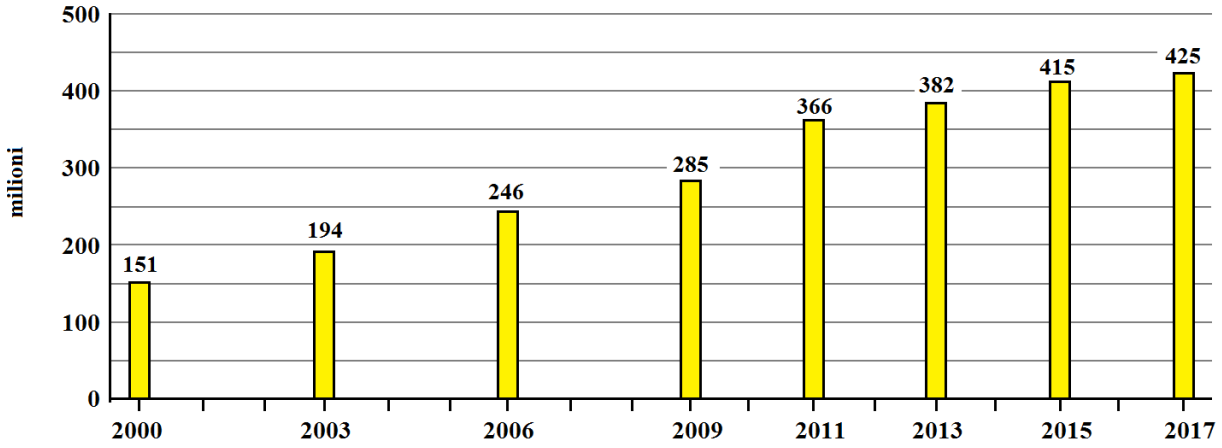


Figura 3.15 - Numero totale di adulti (20-79 anni) con diabete mellito nel periodo 2000-2017 (dalla Fig. 3.2 in [Cho et al. 2018], modificata e ridisegnata)

3.6 - Malattie causate da alterazioni del genotipo

Il genoma di un organismo è simile a un programma per computer molto sofisticato che determina lo sviluppo dell'organismo e tutte le sue funzioni. Sappiamo già che una modifica casuale in una struttura altamente complessa, se non neutra, come evento più probabile provoca un'alterazione della struttura e quindi determina disfunzioni.

Il trasferimento di copie conservate del genoma da una generazione all'altra è essenziale e la selezione naturale cerca di contrastare la diffusione di alterazioni genetiche. Tuttavia, le modifiche del genoma non sono del tutto evitabili e in effetti l'esistenza di una varietà genetica è fondamentale per i meccanismi di selezione ed evoluzione naturali. Pertanto, in un genoma ci saranno molte alterazioni genetiche, ognuna con una frequenza che è minimizzata dalla selezione naturale.

Il calcolo delle frequenze di equilibrio tra l'insorgenza di nuove mutazioni dannose e la loro eliminazione per azione della selezione naturale è stato esposto altrove [Libertini 1983, 2009b]. Qui

viene fornito un breve riepilogo e l'Appendice dovrebbe essere letta per i dettagli relativi allo sviluppo delle formule da 3.1 a 3.7.

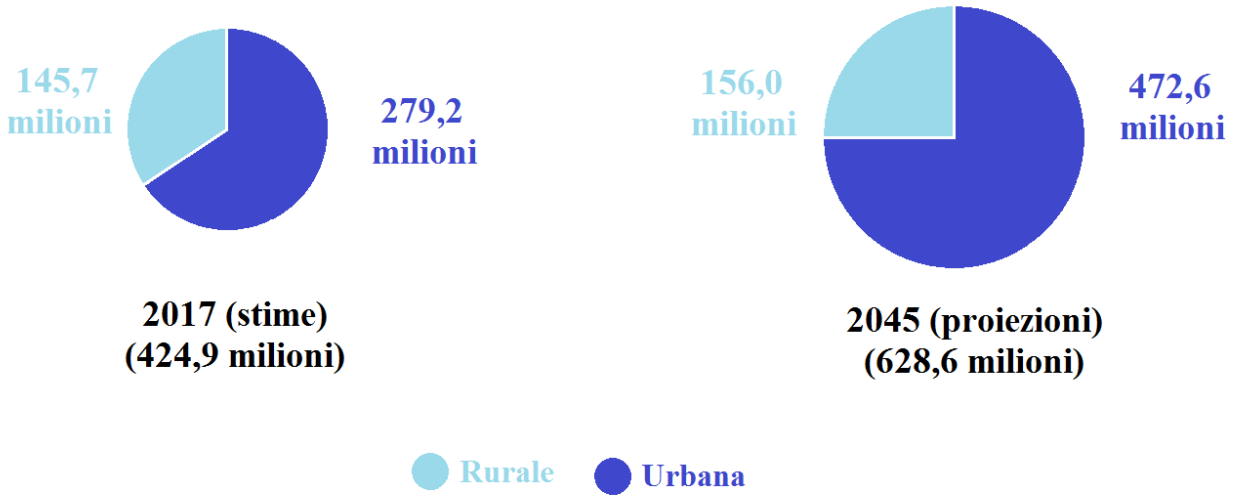


Figura 3.16 - Numero di persone con diabete (20-79 anni) in contesti rurali e urbani, nel 2017 (stime) e nel 2045 (proiezioni) (dalla Fig. 3.3 in [Cho et al. 2018], ridisegnata).

Per un gene recessivo dannoso C, la sua frequenza di equilibrio (C_e) sarà data dalla formula:

$$C_e = \sqrt{-v/(-s)} = \sqrt{v/[s]} \qquad (3.1)$$

dove v = tasso di mutazione da un allele inattivo (C') a C; $-s$ = danno causato da C (il valore è negativo poiché C è dannoso); $[s]$ = valore assoluto di s.
Se utilizziamo la formula di Hardy-Weinberg (CC + 2 CC'+ C'C'= 1), la frequenza di equilibrio del fenotipo che esprime la condizione svantaggiosa (P_e) sarà:

$$P_e = C_e^2 = v/[s] \qquad (3.2)$$

Per un gene dominante dannoso C, la sua frequenza di equilibrio sarà data dalla formula:

$$C_e = (1 - \sqrt{1 - 3\,v/[s]}) / 3 =$$

$$= \{(1 - \sqrt{1 - 3\,v/[s]})(1 + \sqrt{1 - 3\,v/[s]})\} / \{3\,(1 + \sqrt{1 - 3\,v/[s]})\} =$$

$$= (1 - 1 + 3\,v/[s]) / \{3 + (3\sqrt{1 - 3\,v/[s]})\} \approx (3\,v/[s]) / (3 + 3) = 0.5\,v/[s] \qquad (3.3)$$

Pertanto la frequenza di equilibrio del fenotipo che esprime la condizione svantaggiosa (P_e) sarà:

$$P_e = C_e^2 + 2\,C_e\,(1-C_e) = 2\,C_e - C_e^2 = \approx 2\,(0.5\,v/[s]) - (0.5\,v/[s])^2 \approx v/[s] \qquad (3.4)$$

Queste frequenze di equilibrio sono illustrate nelle Figg. 3.17 e 3.18. Le frequenze fenotipiche di equilibrio dei geni recessivi e dominanti sono praticamente identiche se *v* e *s* sono uguali.
Per le alterazioni cromosomiche, se *v* è descritta come la frequenza di insorgenza di un'alterazione cromosomica, la sua frequenza di equilibrio, che in questo caso coincide con la frequenza fenotipica, sarà:

$$P_e = C_e = v/[s] \qquad (3.5)$$

Se n tipi di mutazioni, che ipotizziamo con un tasso di mutazione medio uguale a *v*, possono trasformare gli alleli neutrali in C, la frequenza fenotipica di equilibrio di C sarà:

$$P_e = n\,(v/[s]) \qquad (3.6)$$

Queste formule indicano che con piccoli valori di *v* (ad es. *v* <0,00001), se [*s*] non è molto piccolo, la frequenza prevista di una malattia causata da particolari alterazioni del genotipo, cioè la frequenza della sua manifestazione fenotipica (P_e), sarà molto piccola. Ciò significa che gli alleli dannosi vengono efficacemente rimossi dalla selezione naturale.
Tuttavia, se il valore di [*s*] è molto piccolo, ad esempio, quando l'espressione svantaggiosa del gene si verifica in età tardive quando sopravvivono solo pochi individui e quindi la rimanente aspettativa di vita e il valore riproduttivo è minima, P_e non sarà piccolo . La teoria dell'invecchiamento per accumulo di mutazioni (*mutation accumulation hypothesis*) sostiene che l'invecchiamento è causato da questa ridotta efficienza della selezione naturale in età avanzata, ma questo argomento può essere facilmente invalidato (vedi più avanti).

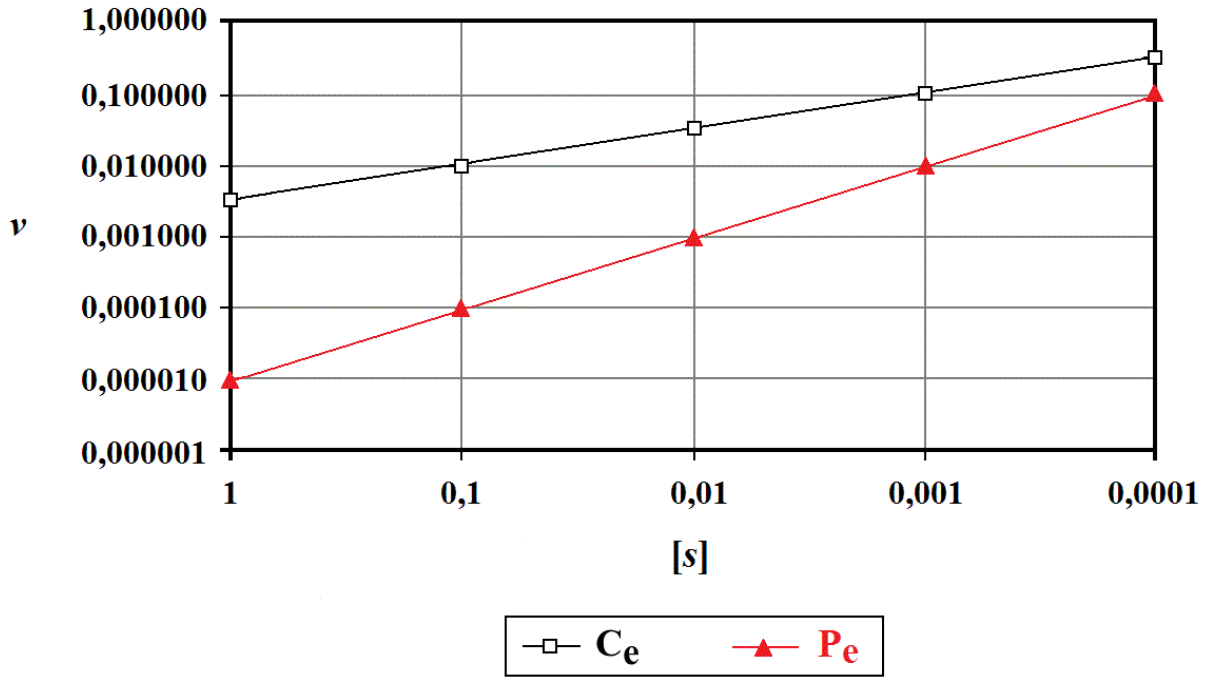


Figura 3.17 - Gene recessivo nocivo: C_e = frequenza di equilibrio del gene; P_e = frequenza di equilibrio del fenotipo.

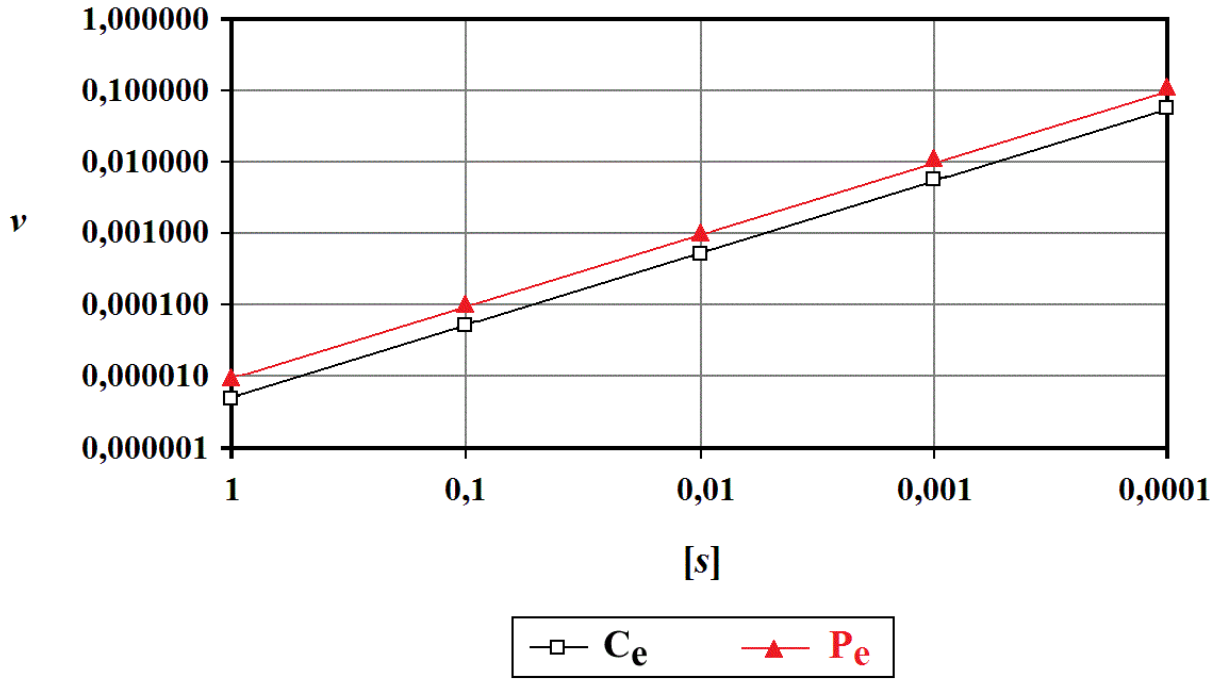


Figura 3.18 - Gene dominante dannoso: C_e = frequenza di equilibrio del gene; P_e = frequenza di equilibrio del fenotipo.

Un caso particolare è quando C è svantaggioso nella condizione omozigote (s <0) e vantaggioso nella condizione eterozigote (s' > 0), dove la sua frequenza di equilibrio sarà data dalla formula:

$$C_e = -\frac{2s'}{s - 4s'} = \frac{2s'}{[s] + 4s'} \qquad (3.7)$$

Alcune anemie geneticamente determinate (talassemia, anemia falciforme, carenza di G6PD, etc.) sono lievemente dannose nella condizione eterozigote e mortali nella condizione omozigote. La loro alta frequenza è spiegata dalla resistenza contro la malaria nello stato eterozigote [Trevathan et al. 2008a].
Tuttavia, trascurando questi casi particolari, la previsione teorica è che gli individui di una specie soffriranno di molte malattie causate da alterazioni del genotipo, ognuna con una frequenza molto bassa (maggiore quando molte mutazioni diverse alterano lo stesso gene o la stessa via metabolica) ma con una frequenza complessiva non piccola, come confermato dalla evidenza empirica [GARD 2019].

3.7 - Il concetto di olobionte

Abbiamo già visto che nella descrizione classica dell'evoluzionismo è stata presa in considerazione solo la selezione a livello individuale, mentre la spiegazione di fenomeni definiti fenoptotici o che coinvolgono più individui richiede anche la considerazione della selezione a livelli sopraindividuali. Tuttavia, esiste un insieme di fenomeni, o meglio un intero mondo, per il quale questo non è sufficiente. Di solito, un individuo di una specie viene considerato semplicisticamente come qualcosa di autonomo che vive e prospera indipendentemente dalle relazioni con individui di altre specie. Limitando per semplicità la discussione alla nostra specie, certamente ogni singolo individuo ospita, all'interno del corpo e sulle superfici del corpo, o comunque ha strette interazioni con innumerevoli batteri, virus, funghi, parassiti intestinali, altri macroparassiti, etc. Tenendo conto dei soli batteri, il loro il numero è stato stimato essere $3{,}8*10^{13}$, un po' più grande del numero

stimato delle nostre cellule del corpo, che è approssimativamente $3*10^{13}$ [Sender et al. 2016] (una vecchia stima proponeva un rapporto 10:1 [Savage 1977]). Spesso le nostre cellule ospitano virus e siamo soggetti a morsi e punture di molti insetti (oggi molto meno che in passato).
"Almeno altrettante cellule e la stragrande maggioranza di geni univoci nel corpo umano sono pertinenti a microbi ... In quanto tali, possiamo considerarci come olobionti ..." [Charbonneau et al. 2016]

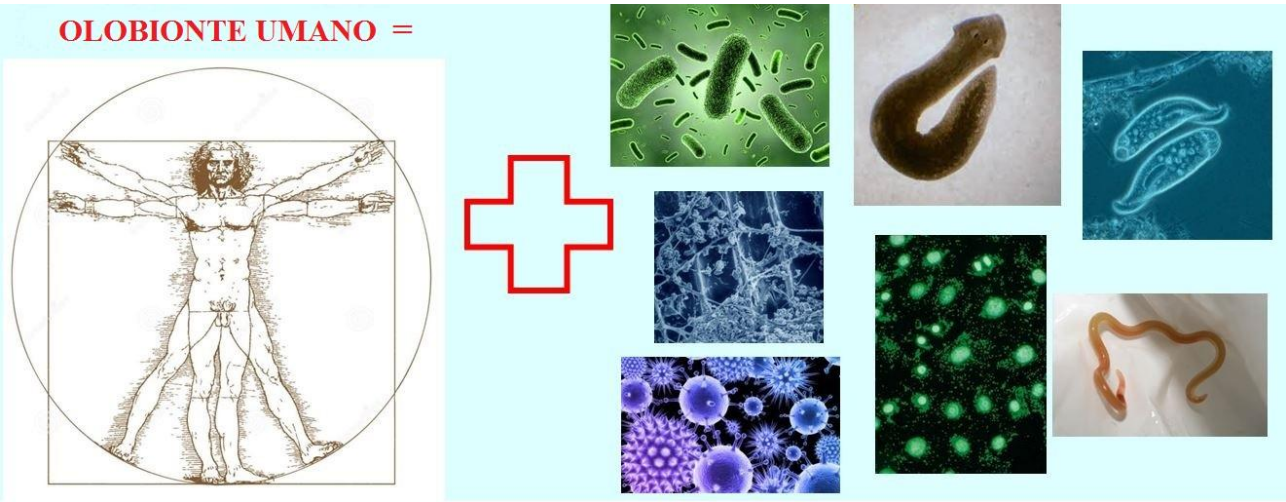


Figura 3.19 – L'olobionte umano.

Noi e le specie con cui siamo coevoluti e ora viviamo costituiamo un olobionte (o superorganismo/sopraorganismo [Glendinning e Free 2014] (Fig. 3.19). Ciò costituisce un insieme di ecosistemi incredibilmente complessi sia in termini di numero di specie che per il groviglio equilibrato di innumerevoli interazioni. "Il contributo meglio definito dei microbiomi del tratto gastrointestinale è di tipo metabolico: questi microrganismi hanno una capacità metabolica combinata equivalente a quella del fegato, giustificando la loro descrizione come ulteriore organo umano ..." [Glendinning e Free 2014]
È opinione popolare che queste relazioni siano generalmente dannose o inutili. Inoltre, anche i microbi che sembrano innocui possono causare malattie o persino la morte in particolari condizioni di vulnerabilità. Seguendo questa concezione popolare, la condizione "ideale" sarebbe quella di vivere senza questa miriade di parassiti o commensali potenzialmente pericolosi.
Tuttavia, ci siamo coevoluti con innumerevoli specie per lungo tempo, anche prima che la nostra specie prendesse la sua forma attuale. È difficile credere che queste relazioni ancestrali non abbiano creato una serie di equilibri molto complessi e delicati, in particolare per quanto riguarda il sistema immunologico.
Per la descrizione delle malattie causate da discrepanze (*mismatches*) o da alterazioni del genotipo, abbiamo già visto che la modifica casuale di qualsiasi sistema complesso (ad es. macchine, organismi biologici, ecosistemi ...) è una probabile causa di disfunzione [Libertini 1983]. Quindi, è probabile che qualsiasi alterazione di questi equilibri possa portare a condizioni patologiche e, come vedremo presto, questo è ciò che accade in misura enorme e sconvolgente (ad esempio: l'eradicazione dei vermi intestinali - vedi sotto -, e le alterazioni del microbioma intestinale causano malattie autoimmuni [Vieira et al. 2014], tra cui il diabete di tipo 1 [Boerner e Sarvetnick 2011]).

3.8 – I disturbi immunologici nell'interpretazione della medicina evoluzionistica

Esistono due categorie principali di disturbi immunologici, malattie allergiche e malattie autoimmuni, la cui frequenza è enormemente aumentata nei tempi moderni mentre erano praticamente sconosciuti nei periodi precedenti e sono rari o inesistenti nelle persone che vivono in condizioni primitive (ad es., gli Ache del Paraguay [Hill e Hurtado 1996]).

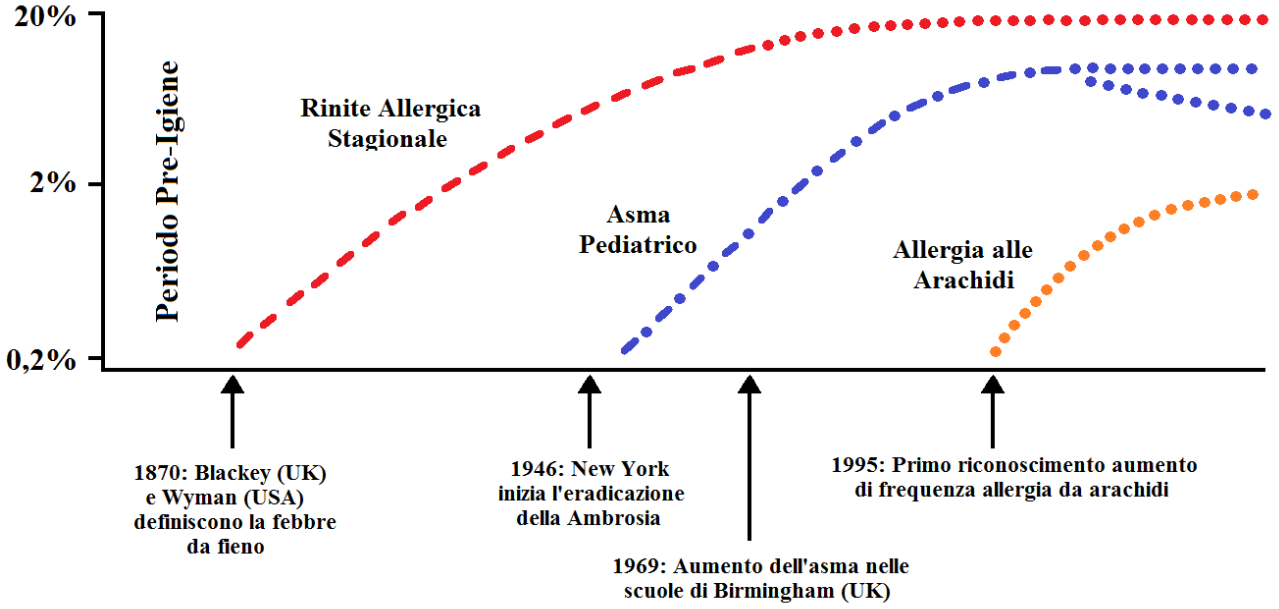


Figura 3.20 - Aumenti sequenziali di tre diverse malattie allergiche (da [Platt-Mills 2015], modificata e ridisegnata).

3.8.1 - L'attuale "epidemia" di malattie allergiche

Le malattie allergiche comprendono un gruppo di malattie immunomediate croniche molto comuni:

- L'asma allergico persistente si riscontra in circa il 10% di tutti i bambini e nel 5% degli adulti, con grandi variazioni tra le regioni geografiche [Asher et al. 2006];
- La febbre da fieno (rinocongiuntivite allergica) si verifica in circa il 20% degli individui delle popolazioni occidentali [Eriksson et al. 2012];
- "In tutto il mondo, le sole malattie allergiche respiratorie, in particolare l'asma e la rinite allergica, colpiscono quasi 700 milioni di soggetti." [Hendaus et al. 2016];
- "Circa il 20% di tutti i bambini sviluppa sintomi di dermatite atopica a un certo punto della loro vita." [Thomsen 2015];
- "L'allergia alimentare associata alle IgE colpisce circa il 3% della popolazione." [Valenta et al. 2015];
- "L'impatto delle malattie allergiche è enorme sugli individui colpiti, sulle loro famiglie e società. Influiscono negativamente sulla qualità della vita e aumentano il tasso di comorbidità e il rischio di morte, come notato nell'asma. Inoltre, l'onere economico di queste malattie è considerevole." [Hendaus et al. 2016]

Sebbene le malattie allergiche siano molto comuni, rappresentano un'epidemia abbastanza recente: "Precedentemente alla prima descrizione della febbre da fieno nel 1870 vi era una scarsa consapevolezza delle malattie allergiche, il che in realtà è simile alla situazione dei villaggi pre-igiene in Africa oggi. ... non ci sono state notizie chiare di un aumento dell'asma pediatrico fino al 1970. Inoltre l'attuale 'epidemia' di allergia alimentare non sembra essere iniziata fino a dopo il 1990." [Platt-Mills 2015] (Fig. 3.20)

3.8.2 - L'attuale "epidemia" di malattie autoimmuni

Esistono molte malattie autoimmuni, definite come una risposta immunitaria anormale a una parte normale del corpo:

Acalasia, Morbo di Addison, Malattia dell'adulto di Still, Agammaglobulinemia, Alopecia areata, Amiloidosi, Spondilite anchilosante, Nefrite anti-GBM/Anti-TBM, Sindrome antifosfolipidica, Angioedema autoimmune, Disautonomia autoimmune, Encefalomielite autoimmune, Epatite

autoimmune, Malattia dell'orecchio interno autoimmune (AIED), Miocardite autoimmune, Ooforite autoimmune, Orchite autoimmune, Pancreatite autoimmune, Retinopatia autoimmune, Orticaria autoimmune, Neuropatia assonale e neuronale (AMAN), Malattia di Baló, Morbo di Behcet, Pemfigoide mucoso benigno, Pemfigoide bolloso, Malattia di Castleman (CD), Malattia celiaca, Malattia di Chagas, Polineuropatia infiammatoria demielinizzante cronica (CIDP), Osteomielite multifocale ricorrente cronica (CRMO), Sindrome di Churg-Strauss (CSS) o Granulomatosi eosinofila (EGPA), Pemfigoide cicatriziale, Sindrome di Cogan, Malattia dell'agglutinina fredda, Blocco cardiaco congenito, Miocardite da Coxsackie, Sindrome CREST, Morbo di Crohn, Dermatite erpetiforme, Dermatomiosite, Malattia di Devic (neuromielite ottica), Lupus discoide, Sindrome di Dressler, Endometriosi, Esofagite eosinofilica (EoE), Fascite eosinofilica, Eritema nodoso, Crioglobulinemia essenziale mista, Sindrome di Evans, Fibromialgia, Alveolite fibrosante, Arterite a cellule giganti (arterite temporale), Miocardite a cellule giganti, Glomerulonefrite, Sindrome di Goodpasture, Granulomatosi con poliangioite, Malattia di Graves, Sindrome di Guillain-Barré, Tiroidite di Hashimoto, Anemia emolitica, Porpora di Henoch-Schonlein (HSP), Herpes gestationis o pemfigoide gravidico (PG), Idrosoadenite suppurativa (HS) (Acne Inversa), Ipogammaglobulinemia, Nefropatia da IgA, Malattia sclerosante IgG4 correlata, Porpora trombocitopenica autoimmune (ITP), Miosite da corpi inclusi (IBM), Cistite interstiziale (IC), Artrite giovanile, Diabete giovanile (diabete di tipo 1), Miosite giovanile (JM), Malattia di Kawasaki, Sindrome di Lambert-Eaton, Vasculite leucocitoclastica, Lichen planus, Lichen sclerosus, Congiuntivite lignea, Malattia da IgA lineari (LAD), Lupus, Malattia di Lyme cronica, Malattia di Ménière, Poliangite microscopica (MPA), Malattia del tessuto connettivo misto (MCTD), Ulcera di Mooren, Malattia di Mucha-Habermann, Neuropatia motoria multifocale (MMN) o MMNCB, Sclerosi multipla, Miastenia grave, Miosite, Narcolessia, Lupus neonatale, Neuromielite ottica, Neutropenia, Pemfigoide cicatriziale oculare, Neurite ottica, Reumatismo palindromico (PR), PANDAS, Degenerazione cerebellare paraneoplastica (PCD), Emoglobinuria parossistica notturna (PNH), Sindrome di Parry Romberg, Pars planitis (uveite periferica), Sindrome di Parsonage-Turner, Pemfigo, Neuropatia periferica, Encefalomielite perivenosa, Anemia perniciosa (PA), Sindrome POEMS, Poliarterite nodosa, Sindromi polighiandolari di tipo I, II, III, Polimialgia reumatica, Polimiosite, Sindrome post-infarto miocardico, Sindrome post-pericardiotomia, Cirrosi biliare primaria, Colangite sclerosante primaria, Dermatite da progesterone, Psoriasi, Artrite psoriasica, Aplasia acquisita pura dei globuli rossi (PRCA), Pioderma gangrenoso, Fenomeno di Raynaud, Artrite reattiva, Distrofia simpatica riflessa, Policondrite recidivante, Sindrome delle gambe senza riposo (RLS), Fibrosi retroperitoneale, Febbre reumatica, Artrite reumatoide, Sarcoidosi, Sindrome di Schmidt, Sclerite, Sindrome sclerodermica, Sindrome di Sjögren, Autoimmunità spermatica e testicolare, Sindrome della persona rigida (SPS), Endocardite batterica subacuta (SBE), Sindrome di Susac, Oftalmia simpatica (SO), Arterite di Takayasu, Sindrome di Tolosa-Hunt (THS), Mielite trasversa, Colite ulcerosa (UC), Malattia del tessuto connettivo indifferenziato (UCTD), Uveite, Vasculite, Vitiligine, Malattia di Vogt-Koyanagi-Harada [AARDA 2020] (Figg. 3.21 e 3.22).

"Circa 50 milioni di americani, il 20% ovvero uno su cinque, soffrono di malattie autoimmuni. Le donne hanno maggiori probabilità di essere colpite rispetto agli uomini; alcune stime affermano che il 75% delle persone colpite - circa 30 milioni di persone - sono donne. Tuttavia, con queste statistiche, l'autoimmunità viene raramente discussa come un problema di salute delle donne." [AARDA 2019]

L'incidenza delle malattie autoimmuni è aumentata rapidamente negli ultimi decenni nei paesi industrializzati occidentali, in particolare negli Stati Uniti [Nakazawa 2009].

"Prima degli anni '50, nella letteratura medica erano stati segnalati in totale quattro casi [di mielite trasversa]. Attualmente, i miei colleghi del Johns Hopkins Hospital e io sentiamo parlare o curiamo centinaia di nuovi casi ogni anno. Nella clinica della sclerosi multipla, dove anche io vedo pazienti, il numero di casi parimenti continua a salire." [Kerr 2009]

In Finlandia, ci sono 62,3 nuovi casi di diabete di tipo 1 all'anno ogni 100.000 bambini, rispetto a soli 6,2 in Messico e 0,5 in Pakistan [Platt-Mills 2015].
L'aumento della frequenza di tre malattie autoimmuni (sclerosi multipla, diabete di tipo 1 e morbo di Crohn) è mostrato nella Fig. 3.23.

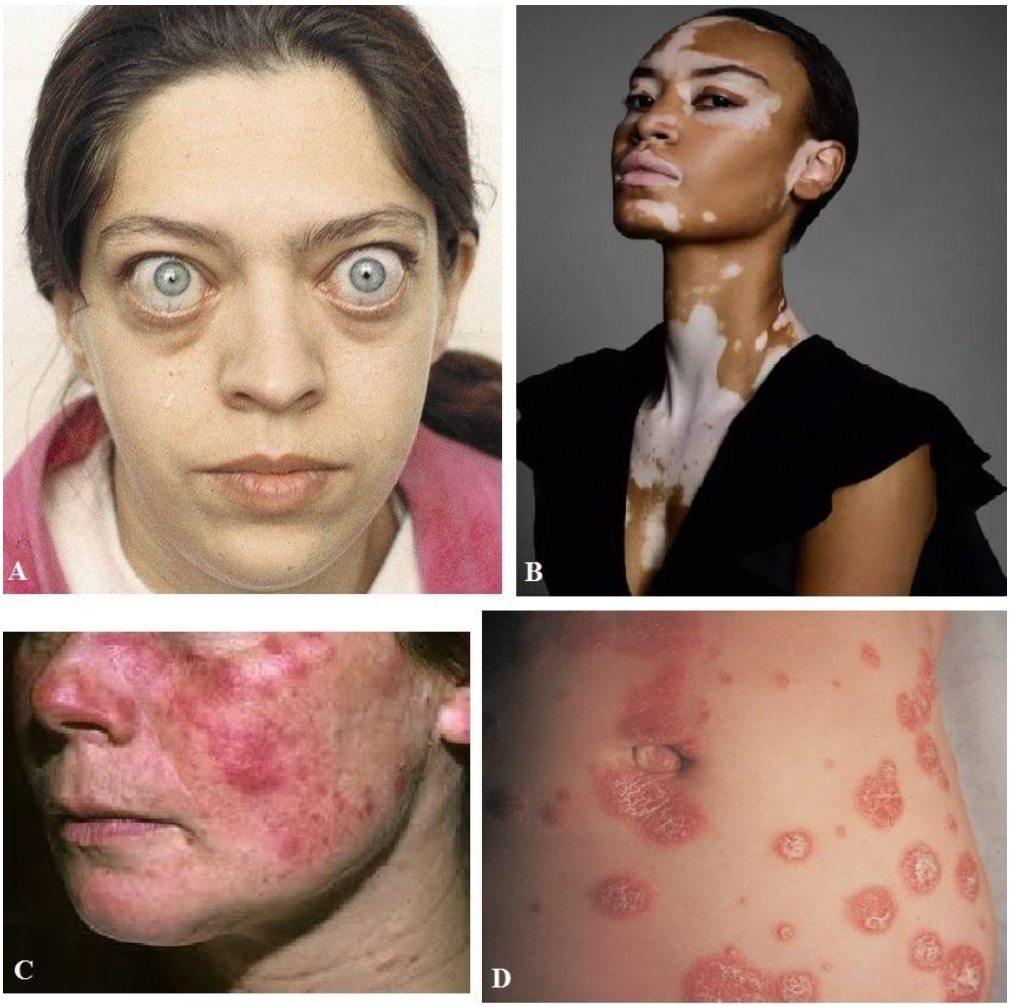


Figura 3.21 - Alcune immagini di malattie autoimmuni: (A) malattia di Graves; (B) vitiligine; (C) lupus; (D) psoriasi.

"Il NIH [National Institutes of Health] stima che fino a 23,5 milioni di Americani* abbiano una AD [malattia autoimmune]. In confronto, il cancro colpisce fino a 9 milioni e le malattie cardiache fino a 22 milioni.
Il NIH stima che i costi annuali dell'assistenza sanitaria diretta per le AD siano dell'ordine di $ 100 miliardi (fonte: presentazione NIH del Dr. Fauci, NIAID [National Institute of Allergy and Malattie infettive]). In confronto, i costi del cancro sono $ 57 miliardi (fonte: NIH, ACS [American Cancer Society]), e i costi delle malattie cardiache e dell'ictus sono $ 200 miliardi (fonte: NIH, AHA [American Heart Association]).
Il finanziamento della ricerca NIH per le AD nel 2003 è stato di $ 591 milioni. In confronto, il finanziamento del cancro è stato di $ 6,1 miliardi; e per cuore e ictus di $ 2,4 miliardi (fonte: NIH).
* Noi dell'AARDA (American Autoimmune Related Diseases Association) affermiamo che 50 milioni di americani soffrono di malattie autoimmuni. Perché la differenza? I numeri del NIH includono solo 24 malattie per le quali erano disponibili buoni studi epidemiologici. [AARDA 2019]"
Inoltre, vi sono prove crescenti che i disturbi dello spettro autistico ("autismo"), per i quali è in corso un'altra terribile epidemia, dovrebbero essere classificati tra le malattie autoimmuni [Careaga

e Ashwood 2012; Velasquez-Manoff 2012; Gesundheit et al. 2013; Mead e Ashwood 2015]. Negli Stati Uniti, nei bambini di 8 anni, la frequenza dell'autismo per il 2010 è stata di 1:68 e la frequenza è aumentata del 78% dal 2002 al 2008 [Forrester et al. 2008]. "L'organizzazione *Autism Speaks* stima che negli Stati Uniti i costi attuali dell'ASD [disturbo dello spettro autistico] raggiungono $ 137 miliardi all'anno, un numero che è aumentato di oltre tre volte dal 2006." [Gottfried et al. 2015] Gli enormi costi economici qui riportati per l'autismo ($ 137 miliardi/anno) dovrebbero essere confrontati con quelli precedentemente riportati per tutte le altre malattie autoimmuni ($ 100 miliardi), per il cancro ($ 57 miliardi), e per malattie cardiache e ictus ($ 200 miliardi).

Figura 3.22 - Altre immagini di malattie autoimmuni: (A) porpora trombocitopenica; (B) sclerodermia; (C) mielite trasversa; (D) artrite reumatoide.

3.8.3 - Cause dell'epidemia di disturbi immunologici

Esaminiamo ora il caso delle malattie allergiche e autoimmuni nell'ambito della medicina evoluzionistica. Poiché questi disturbi immunitari sono sconosciuti o molto rari in condizioni naturali, e prima del XIX secolo anche nelle società occidentali, e la loro frequenza è aumentata in modo sorprendente in 1-2 generazioni, non possono avere, in generale, difetti genetici come cause primarie: solo forti cambiamenti nella nicchia ecologica a cui è adattata la nostra specie e le conseguenti discrepanze possono essere le loro cause primarie. Ci sono molte discrepanze tra il nostro adattamento e le moderne condizioni di vita che possono essere queste cause primarie. In particolare, le modifiche della nostra nicchia ecologica possibili cause di queste malattie sono: (i) alterazioni dei nostri microbiomi; (ii) eradicazione dei vermi intestinali; (iii) ridotta esposizione a stimoli antigenici biologici; e (iv) contatti con nuove sostanze chimiche artificiali.

--- Alterazioni dei nostri microbiomi

Il nostro microbioma intestinale è cambiato enormemente rispetto a quello dei popoli primitivi per effetto del moderno uso di sostanze antibiotiche [Blaser 2014]. Ad esempio, confrontando il microbioma intestinale di individui del popolo Hadza (Tanzania) con quelli di una popolazione che ha uno stile di vita moderno (Italiani delle città), è evidente la grande ricchezza del microbioma di Hadza e l'estremo impoverimento della popolazione moderna [Schnorr 2015] (Fig. 3.24).

Gli individui delle popolazioni moderne non sono considerati malati nonostante le gravi alterazioni del loro microbioma intestinale. La definizione di "disastro ecologico" è generalmente riferita, ad esempio, alla distruzione che si verifica in vaste aree dell'Amazzonia (Fig. 3.25). Spesso, c'è un notevole contrasto tra l'enorme preoccupazione per tali disastri ecologici esterni e la considerevole sottovalutazione, se non la totale trascuratezza, del disastro ecologico interno che si verifica all'interno dei nostri corpi e della gravità della situazione.

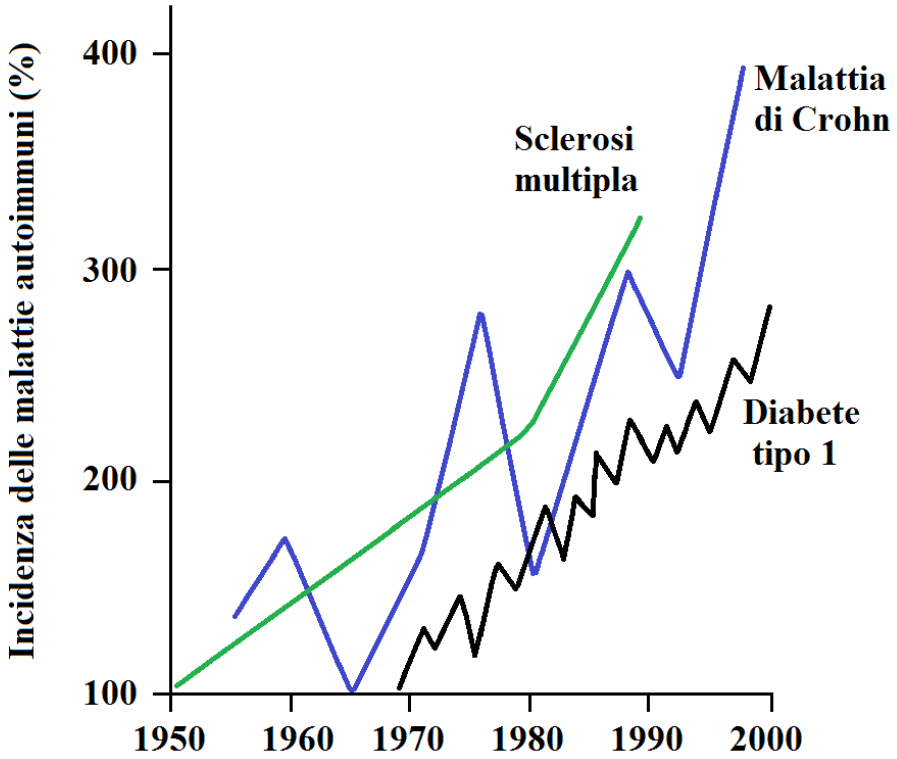


Figura 3.23 - Aumento della frequenza di sclerosi multipla, diabete di tipo 1 e morbo di Crohn nel periodo 1950-2000 (figura da [Bach 2002], modificata e ridisegnata).

Le alterazioni del nostro olobionte non si limitano all'ecosistema intestinale o alle patologie del sistema immunitario. Esistono varie malattie causate da alterazioni dei nostri ecosistemi locali, generalmente dovute all'uso di sostanze antibatteriche topiche (saponi, shampoo, creme battericide, etc.): dermatite seborroica e forfora, candidosi perineale, intertrigine da *Candida albicans*, micosi della lingua, pitiriasi versicolor, micosi sottomammaria e ascellare, etc. [Griffiths et al. 2016] (Fig. 3.26). Alterazioni dei microbiomi possono causare altre malattie non dermatologiche, ad esempio l'obesità [Turnbaugh et al. 2006], corioamnionite e parto pretermine spontaneo [Charbonneau et al. 2016].

Le alterazioni degli ecosistemi del nostro olobionte iniziano dalla nascita. In condizioni normali, il microbioma dei neonati umani deriva dai microbiomi fecali, vaginali e cutanei della madre [Palmer et al. 2007]. Il parto in condizioni asettiche o per taglio cesareo ostacola la normale colonizzazione dell'intestino privo di germi del neonato (Fig. 3.27) e questa è causa di gravi malattie [Blaser 2014].

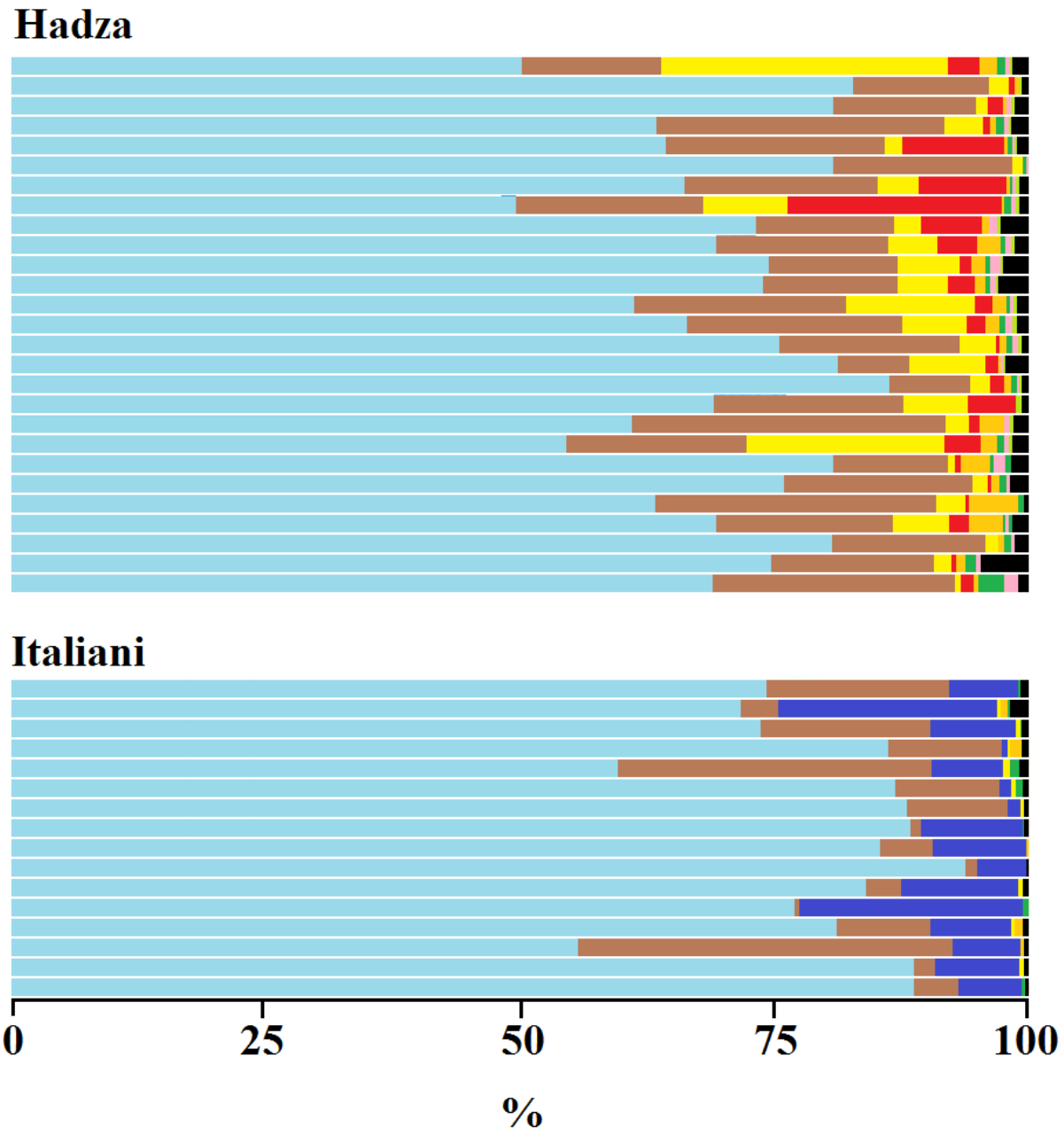


Figura 3.24 - L'estremo impoverimento del microbioma di una popolazione moderna (Italiani delle città) rispetto a quella di un popolo di cacciatori-raccoglitori (Hadza della Tanzania). Ogni barra orizzontale rappresenta il microbioma intestinale nei campioni fecali di un individuo e colori diversi rappresentano diversi phyla microbici (figura da [Schnorr 2015], modificata e ridisegnata).

Tuttavia, gli ecosistemi interni ed esterni della madre e del bambino sono seriamente e continuamente modificati, prima e dopo la nascita, dall'uso di antibiotici e sostanze battericide per uso topico [Blaser 2014]. Dopo la nascita, il neonato viene spesso separato da sua madre e portato in un asilo nido dove i suoi ecosistemi sono colonizzati in modo anomalo. Anche l'allattamento al seno è spesso mancante a causa di questa separazione. Negli anni seguenti la salute del bambino viene "difesa" da ripetuti trattamenti antibiotici. Nei paesi sviluppati, un bambino medio subisce 10-12 cicli di antibiotici prima di avere 18 anni [Sharland and SACAR Paediatric Subgroup 2007].
Ciò è dannoso per la salute perché l'esposizione ai microbi in forme fisiologiche è essenziale per il corretto sviluppo del bambino [Charbonneau et al. 2016]. Esiste una straordinaria prova dell'utilità

di alcuni batteri. Esistono speciali oligosaccaridi del latte umano (HMO) che possono essere metabolizzati da batteri specifici e non dal neonato. Nel latte materno ci sono circa 100 tipi diversi di queste sostanze [Wu et al. 2010; Wu et al. 2011]. Pertanto, attraverso il suo latte, una madre nutre specifici tipi di batteri che devono essere in qualche modo utili al neonato, altrimenti la loro esistenza non sarebbe giustificabile in termini evoluzionistici.
Nel nostro olobionte, esistono innumerevoli equilibri che sono davvero pericolosi da modificare: "Il microbioma umano indigeno è essenziale per la salute dell'ospite." [Dethlefsen e Relman 2011]
Gli antibiotici causano il caos nei nostri ecosistemi. Ad esempio: "L'effetto di [due cicli di] ciprofloxacina sul microbioma intestinale è stato profondo e rapido, con una perdita di diversità e un cambiamento nella composizione della comunità che si verificano entro 3-4 giorni dall'inizio del farmaco. Entro una settimana dalla fine di ogni ciclo, le comunità hanno iniziato a tornare al loro stato iniziale, ma il ritorno era spesso incompleto." [Dethlefsen e Relman 2011]

Figura 3.25 - In alto: un'area vergine della foresta amazzonica; in basso: un'area disboscata dell'Amazzonia.

--- ***Eradicazione dei vermi intestinali***
I vermi intestinali sono quasi universalmente visti come parassiti inaccettabili. La loro eradicazione è la regola nella pratica medica ed è fortemente richiesta dalle persone infestate da vermi o dai loro parenti stretti. Tuttavia, ciò altera equilibri ancestrali e causa malattie gravi o addirittura letali per i

pazienti in cui vengono eradicati i vermi. La presenza di elminti frena le difese immunitarie e previene le malattie allergiche e autoimmuni.

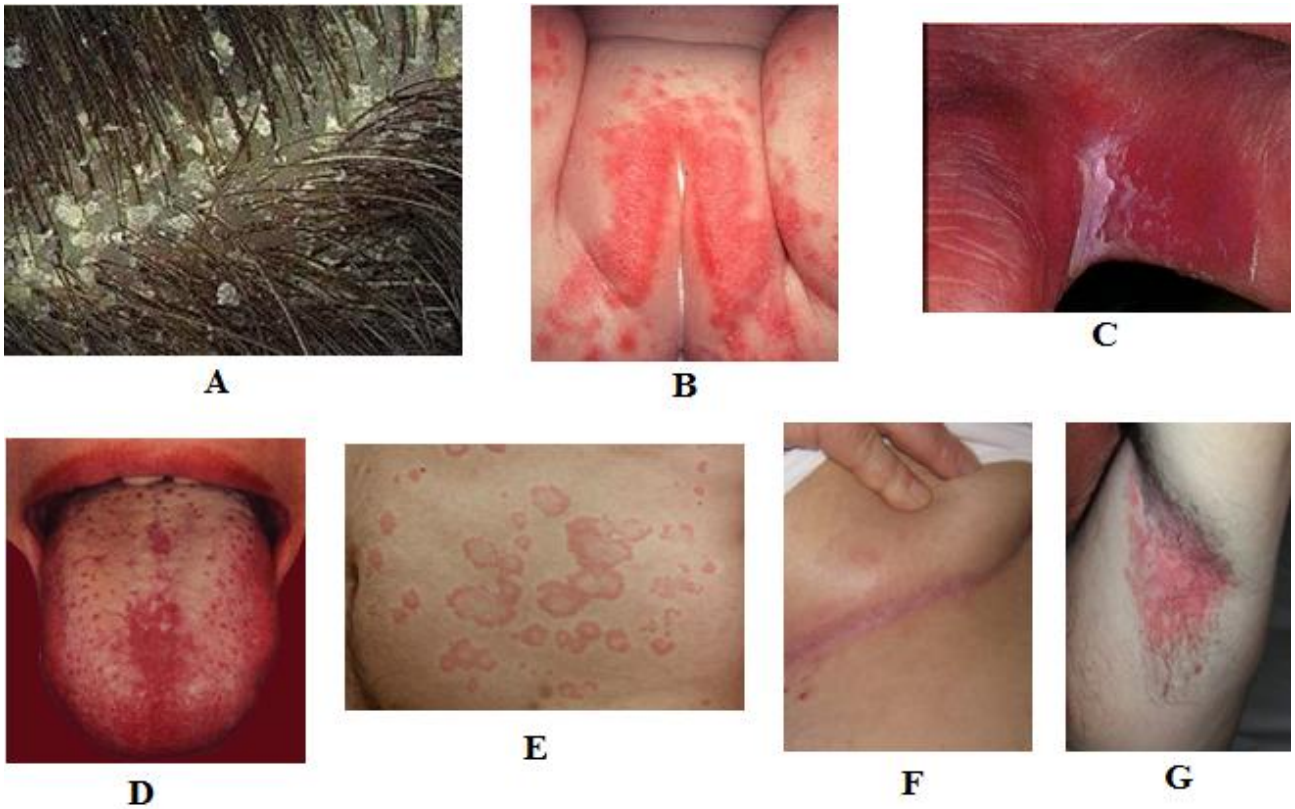


Figura 3.26 - Alcune patologie dermatologiche causate da alterazioni del microbioma cutaneo. A: dermatite seborroica e forfora; B: candidosi perineale; C: intertrigo da *Candida albicans*; D: micosi della lingua; E: pitiriasi versicolor; F: micosi sottomammaria; F: micosi ascellare.

Figura 3.27 - La normale colonizzazione dell'intestino privo di germi di un neonato inizia durante il parto, in particolare se le condizioni asettiche non vengono rispettate.

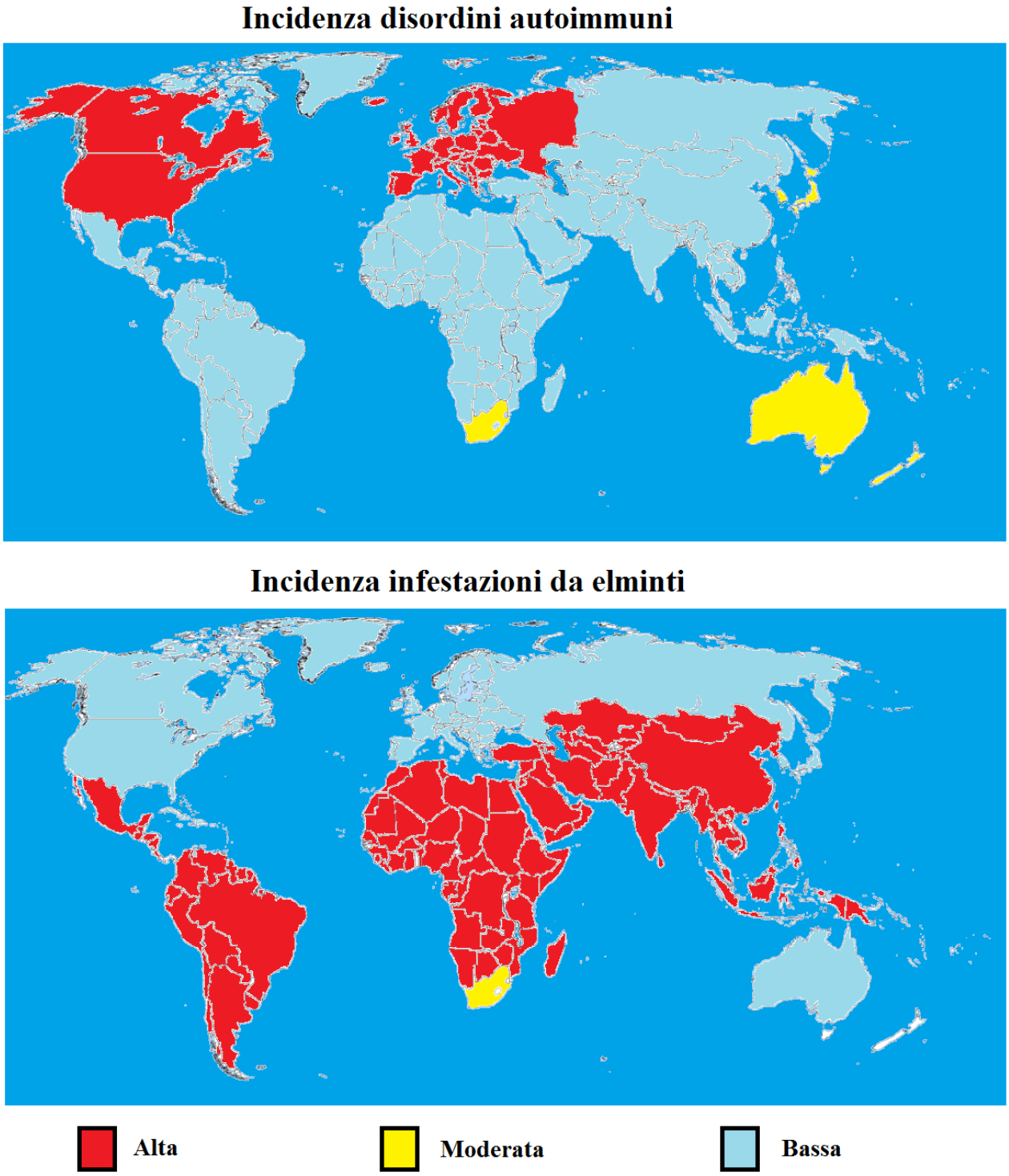


Figura 3.28 - Distribuzione delle malattie autoimmuni e incidenza di infestazione da elminti. "I dati epidemiologici dimostrano: - Varie malattie immunologiche e autoimmuni sono molto meno comuni nei paesi in via di sviluppo rispetto al mondo industrializzato; - Gli immigrati nel mondo industrializzato dal mondo in via di sviluppo manifestano sempre più disturbi immunologici in relazione al periodo di tempo trascorso dall'arrivo nel mondo industrializzato" (testo e figura, ridisegnato, da [The Environmental Illness Resource 2019]).

L'infestazione da elminti è una valida spiegazione della bassa incidenza di malattie autoimmuni e allergie nei paesi meno sviluppati, mentre le stesse malattie mostrano una maggiore incidenza nei

paesi industrializzati [Pugliatti et al. 2002; Weinstock et al. 2004; Leonardi-Bee et al. 2006; Zaccone et al. 2006]: "Studi epidemiologici suggeriscono che le malattie autoimmuni, come la sclerosi multipla (SM), sono meno frequenti negli individui portatori di elminti. Questa osservazione è stata testata su modelli murini di colite, SM, diabete di tipo 1 e asma. In ogni caso, i topi colonizzati con elminti mostrano protezione dalle malattie. Questa apparente modulazione verso il basso della risposta infiammatoria derivante dall'infezione da elminti ha suscitato interesse nell'esplorazione della potenziale efficacia clinica dell'infezione da elminti controllata in pazienti affetti da malattie autoimmuni." [Correale 2014] (Fig. 3.28).
La terapia elmintica è definita come il trattamento di malattie autoimmuni e altri disturbi immunitari mediante infestazione deliberata con un elminto o i suoi ovuli. Gli attuali obiettivi di ricerca sperimentale sono: sclerosi multipla, colite ulcerosa, malattia infiammatoria intestinale, morbo di Crohn e asma allergico [Fleming et al. 2011; Finlay et al. 2014; Broadhurst et al. 2010]. Alcuni vermi usati nella terapia elmintica (*Necator americanus*, *Trichuris suis*, *Hymenolepis diminuta*) sono mostrati in Fig. 3.29.

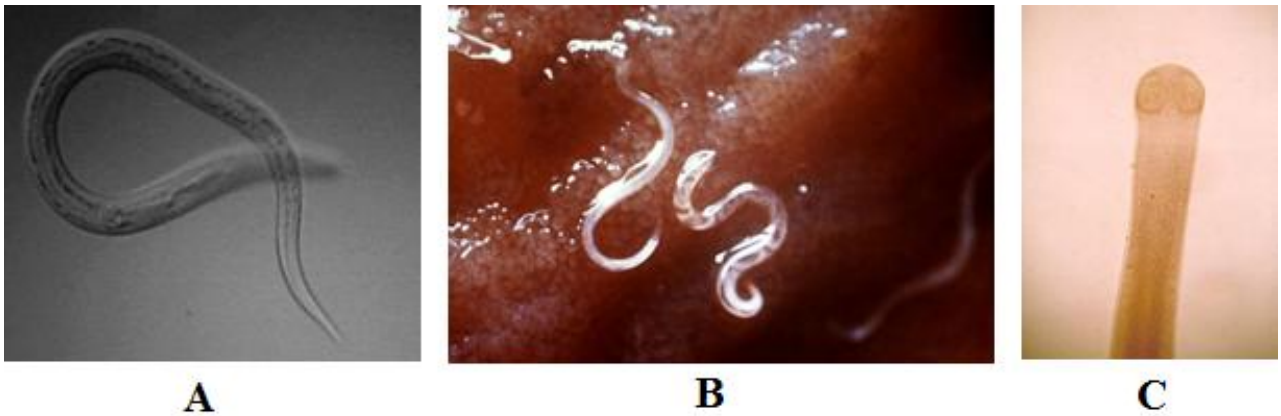


Figura 3.29 - Alcuni vermi utilizzati nella terapia elmintica. A: *Necator americanus*; B: *Trichuris suis*; C: *Hymenolepis diminuta* (scolice).

--- Il caso dell'*Helicobacter pylori*
Per la sua complessità e per le implicazioni, un caso interessante è quello del famoso batterio *Helicobacter pylori*, che, all'inizio del XX secolo, era ritrovato nello stomaco di quasi tutte le persone mentre ora, a causa dell'uso massiccio di antibiotici, si trova in meno del 6% dei bambini negli Stati Uniti, in Svezia e in Germania [Blaser 2011].
Le persone con il batterio mostrano una maggiore incidenza di gastrite e cancro allo stomaco, mentre le persone senza il batterio hanno maggiori probabilità di sviluppare asma, febbre da fieno e allergie cutanee durante l'infanzia [Chen e Blaser 2007]. Poiché *H. pylori* è scomparso dallo stomaco delle persone, c'è stato anche un aumento del reflusso gastroesofageo e delle malattie ad esso correlate come l'esofago di Barrett e il cancro esofageo [Blaser 2011].
Tuttavia, è stato osservato che nelle popolazioni dell'Africa sub-sahariana *H. pylori* era presente nella grande maggioranza degli individui ed era associato a gastrite ma non a ulcera gastrica e cancro: "La gastrite è molto comune in tutta l'Africa e mostra una forte correlazione con l'infezione da *H. pylori* ... L'ulcera gastrica è una malattia rara in Africa ... Nel nord della Nigeria l'ulcera duodenale è rara, ma l'ulcera gastrica è sei volte meno comune ... In Nigeria la gastrite da *H. pylori* è comune, ma il cancro allo stomaco è raro" ("l'enigma africano") [Holcombe 1992]. Osservazioni simili sono state fatte per l'Asia ("enigma asiatico"), per l'India ("enigma indiano") e per l'Europa nel passaggio tra il diciottesimo e il diciannovesimo secolo ("enigma europeo") [Velasquez-Manoff 2012, p. 157].
Una possibile spiegazione è che la concomitante infestazione da vermi intestinali modula l'infiammazione e le risposte immunitarie gastriche e quindi protegge l'organismo dagli effetti

ulcerogenici e cancerogeni di *H. pylori* [Fox et al. 2000; Whary et al. 2005; Velasquez-Manoff 2012]. È stato anche osservato che le persone che avevano *H. pylori* nello stomaco avevano meno probabilità di sviluppare la tubercolosi attiva [Perry et al. 2010]. Questo complesso insieme di relazioni è riassunto nella Tabella 3.4.

Tabella 3.4 - Rapporti tra infezione da *H. pylori*, infestazione da vermi intestinali e alcune malattie.

Condizione	La regola in:	Effetti
H. pylori + vermi intestinali	Popolazioni primitive (condizione normale)	Gastrite asintomatica, nessuna maggiore incidenza di carcinoma gastrico ed esofageo; maggiore resistenza alla tubercolosi attiva
H. pylori e nessun verme	Popolazioni europee nella prima metà del XIX secolo	Aumentata incidenza di ulcera gastrica e cancro allo stomaco
Niente *H. pylori* e nessun verme	Popolazioni moderne civilizzate	Aumento dell'incidenza di reflusso gastroesofageo, esofagite, esofago di Barrett, cancro esofageo, asma, febbre da fieno e allergie cutanee

--- ***Ridotta esposizione agli stimoli antigenici biologici***

Le malattie autoimmuni e allergiche hanno una spiegazione complementare o migliore nell' "ipotesi igienica" [Strachan 1989, 2000], ovvero che l'esposizione anormalmente ridotta agli stimoli antigenici a cui è adattata la nostra specie determina uno sviluppo anormale del sistema immunitario. Ciò provoca reazioni immunologiche patologiche contro sostanze estranee normalmente presenti nell'ambiente (polline, cibo, etc.) o contro i nostri antigeni corporei [Velasquez-Manoff 2012].

--- ***Contatti con nuove sostanze chimiche artificiali***

Parte dei disturbi del sistema immunitario deriva sicuramente da altri fattori. Ad esempio, molte allergie sono causate dall'esposizione a innumerevoli sostanze chimiche sintetizzate artificialmente [Kirchner 2002], il che è un altro grande insieme di modifiche della nostra nicchia ecologica.

Questi concetti sono riassunti nella Fig. 3.30.

Figura 3.30 - I meccanismi primari che causano disturbi immunologici e altre malattie in cui viene alterato l'olobionte.

L'assistenza medica per allergie e malattie autoimmuni cerca di frenare le reazioni immunologiche anormali mediante antistaminici, corticosteroidi, immunosoppressori, anticorpi monoclonali, e di contrastare i loro effetti negativi sulle funzioni del corpo. Questi trattamenti agiscono sui

meccanismi patogeni e sugli effetti dei disturbi immunologici, ma non cancellano né limitano le cause primarie, vale a dire le alterazioni gravi e multiple del nostro olobionte. Al contrario, un importante obiettivo della medicina evoluzionistica è prevenire e contrastare queste alterazioni (Fig. 3.31). Finché non agiamo su queste cause primarie, le malattie allergiche e autoimmuni continueranno a causare sofferenza e persino la morte di centinaia di milioni di persone.
Per la medicina tradizionale, ogni batterio, virus, fungo, verme o qualsiasi contatto con un altro organismo costituisce, in misura maggiore o minore, un pericolo che deve essere eliminato, limitato o, al massimo, tollerato se chiaramente non pericoloso.
Per la medicina evoluzionistica ognuno di noi è un insieme complesso di ecosistemi, di cui batteri, virus, funghi, vermi e contatti con altre specie costituiscono parte integrante. Questi ecosistemi, definiti nel complesso come un olobionte, sono il risultato di una coevoluzione che è più antica dell'origine della nostra specie. Qualsiasi modifica di questi ecosistemi è una potenziale alterazione, cioè una fonte di malattia o addirittura di morte.

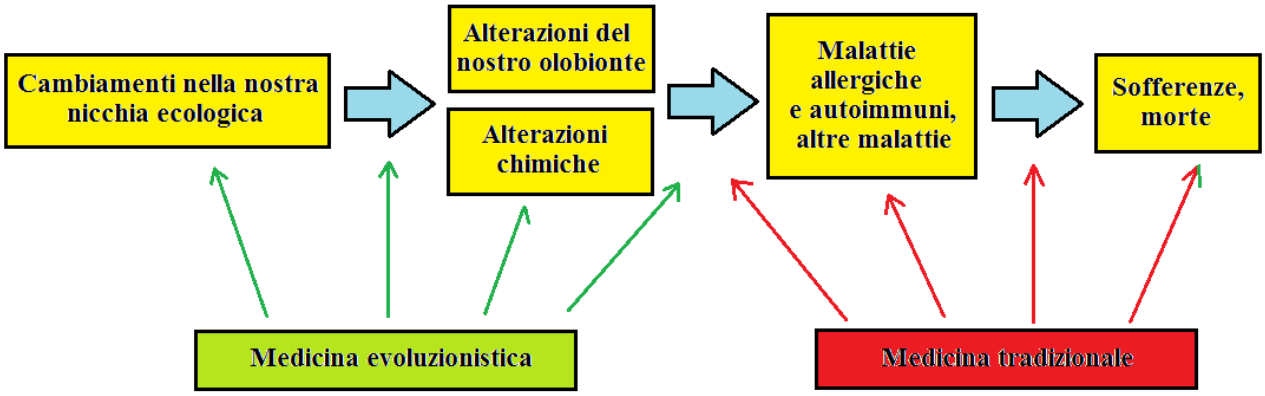


Figura 3.31 - Le diverse strategie principali della medicina evoluzionistica e della medicina tradizionale.

Attualmente questi ecosistemi vengono continuamente e gravemente alterati. Queste modifiche della nostra nicchia ecologica sono la causa principale della diffusione di interi gruppi di malattie, in particolare allergie e malattie autoimmuni, che sono rare o sconosciute nelle popolazioni primitive.
Di certo non possiamo tornare alle condizioni di vita primitive. Ma i cambiamenti apportati allo stile di vita primordiale a cui siamo adattati e le alterazioni del nostro olobionte devono essere attentamente studiati e corretti nel modo e con i mezzi che sono possibili e utili. Il primo passo è capire il problema ma, sfortunatamente, la medicina di oggi non ha in generale alcuna conoscenza dei meccanismi evoluzionistici e nessuna consapevolezza del fatto che ogni individuo è un insieme complesso di ecosistemi. Allo stesso tempo, i biologi evoluzionisti non sembrano essere consapevoli del fatto che i principali cambiamenti negli ecosistemi non avvengono in terre o mari distanti ma nei nostri corpi e che ciò ha causato, per decenni, sofferenze e morti indicibili.

3.9 - Classificazione non evoluzionistica delle malattie

L'attuale classificazione internazionale delle malattie (*International Classification of Diseases*) (ICD-11) [OMS 2018], come le precedenti (ad esempio, ICD-10 [OMS 2016]), classifica empiricamente le malattie e vari fenomeni simili:

--- Secondo i sistemi organici interessati (ad es.: circolatorio, respiratorio, digestivo, etc. Codici 3-16)

--- Secondo determinati codici che seguono, come quelli del primo gruppo, i rami delle attuali specializzazioni mediche (codici 1, 2, 17-20)

--- Includendo in particolare codici tutto ciò che non è incluso negli altri (codici 21-24).

L’attuale classificazione delle malattie, riportata nelle sue categorie o codici generali nella Tabella 3.5, rispecchia, come le precedenti, lo sviluppo storico della medicina e la sua graduale suddivisione in varie specializzazioni e non ha giustificazioni razionali, cioè non si basa su criteri scientifici.
La ICD si basa anche sul concetto che “l’invecchiamento” non esiste come entità indipendente. L’invecchiamento è implicitamente considerato solo come un termine di convenienza per raggruppare una serie ampia ed eterogenea di disturbi e fenomeni degenerativi uniti solo dal fatto che aumentano in frequenza e gravità in relazione all’età. Di conseguenza, nelle ICD [OMS 2016, 2018] non esiste un codice per l’invecchiamento. Questa assenza è conforme alle ipotesi tradizionali sulle cause dell’invecchiamento e come effetto paradossale determina che nelle statistiche ufficiali nessuno può morire per invecchiamento [World Ranking Total Deaths 2017]: anche un centenario può morire per il fatale venir meno di un organo o di una funzione ma mai come conseguenza dell’invecchiamento.
La ICD omette di considerare sia l’invecchiamento che alcuni fenomeni fenoptotici che per completezza non dovrebbero essere esclusi da una classificazione globale delle malattie e di fenomeni similari.

Tabella 3.5 - Classificazione internazionale delle malattie (ICD) -11 (dicembre 2018) (https://icd.who.int/browse11/l-m/en)

01 - Alcune malattie infettive o parassitarie
02 - Neoplasie
03 - Malattie del sangue o degli organi che formano il sangue
04 - Malattie del sistema immunitario
05 - Malattie endocrine, nutrizionali o metaboliche
06 - Disturbi mentali, comportamentali o dello sviluppo neurologico
07 - Disturbi del sonno-veglia
08 - Malattie del sistema nervoso
09 - Malattie del sistema visivo
10 - Malattie dell’orecchio o del processo mastoideo
11 - Malattie del sistema circolatorio
12 - Malattie dell’apparato respiratorio
13 - Malattie dell’apparato digerente
14 - Malattie della pelle
15 - Malattie dell’apparato muscolo-scheletrico o del tessuto connettivo
16 - Malattie del sistema genito-urinario
17 - Condizioni relative alla salute sessuale
18 - Gravidanza, parto o puerperio
19 - Alcune condizioni che si originano nel periodo perinatale
20 - Anomalie dello sviluppo
21 - Sintomi, segni o risultati clinici, non classificati altrove
22 - Lesioni, avvelenamenti o alcune altre conseguenze di cause esterne
23 - Cause esterne di morbilità o mortalità
24 - Fattori che influenzano lo stato di salute o il contatto con i servizi sanitari

La suddivisione interna di ciascun codice segue una logica simile. Un esempio è mostrato nella Tabella 3.6, in cui la suddivisione per il Codice 12 si basa chiaramente su distinzioni anatomiche e altri criteri empirici.

Tabella 3.6 - Suddivisione interna del Codice 12

- Disturbi del tratto respiratorio superiore
- Alcune malattie del tratto respiratorio inferiore
- Infezioni polmonari

- Malattie polmonari dovute ad agenti esterni
- Malattie respiratorie che colpiscono principalmente l'interstizio polmonare
- Patologie pleuriche, del diaframma o mediastiniche
- Alcune malattie dell'apparato respiratorio
- Insufficienza respiratoria
- Disturbi post-intervento del sistema respiratorio
- Neoplasie dell'apparato respiratorio
- Malattie respiratorie dello sviluppo
- Sintomi, segni o risultati clinici dell'apparato respiratorio
- Cardiopatia polmonare o malattie della circolazione polmonare
- Disturbi respiratori correlati al sonno

3.10 - Classificazione evoluzionistica delle malattie

Con queste premesse, come già proposto nel 1983 [Libertini 1983], in questo lavoro si ripropone, con alcune modifiche, che la classificazione tradizionale delle malattie debba essere sostituita da una classificazione evoluzionistica razionale delle malattie e dei relativi fenomeni in base alle cause primarie delle malattie in termini evoluzionistici.
La classificazione proposta delle malattie e di fenomeni simili è mostrata nella Tabella 3.7. Il termine "fenomeni simili" indica un insieme disparato di fenomeni che non sono malattie ma causano dolore/sofferenza/disabilità/morte.

Tabella 3.7 - Classificazione evoluzionistica delle malattie e di fenomeni simili.

I - Malattie derivanti da alterazioni del genotipo
(A) causate da: anomalie del DNA; anomalie cromosomiche; anomalie mitocondriali; geni dannosi che sono utili in determinate condizioni;
II - Malattie derivanti da alterazioni della nicchia ecologica
(A) causate da: alterazioni della dieta; attività fisica ridotta e/o anormale; abuso di sostanze particolari; rapporti sociali alterati e altri problemi che causano malattie mentali; eccessivo affollamento; eccessivo rumore; altre alterazioni dello stile di vita; aumento della densità demografica;
(B) causate da: alterazioni dell'olobionte; alterazioni delle relazioni con altri esseri viventi;
III - Malattie derivanti da "estremi" della nicchia ecologica
(A) causate da: traumi; ustioni; annegamento e asfissia; etc.
IV - Malattie derivanti da relazioni con altri esseri viventi
(A) causate da: batteri; virus; funghi; protozoi; vermi; insetti, ragni, ectoparassiti e altri esseri viventi;
V - Fenomeni fisiologici che causano problemi e sofferenze
(A) Difese contro traumi, infezioni, sostanze tossiche, etc. (dolore, febbre, tosse, starnuti, nausea, vomito, diarrea, etc.);
(B) manifestazioni mentali e comportamentali (ansia, paura, depressione, gelosia, dolore psicologico, tristezza, etc.) come adattamenti a situazioni particolari [Nesse 2019];
(C) Gravidanza, parto e puerperio;
(D) Fenomeni fenoptotici, esclusa la fenoptosi lenta;
(E) Fenoptosi lenta o invecchiamento

Alcune spiegazioni possono essere utili.
--- I e II: Queste categorie di malattie sono già state discusse nelle sezioni precedenti;
--- III: Questa categoria non richiede particolari chiarimenti;
--- IV: queste malattie non devono essere confuse con le condizioni in cui alterazioni della nicchia ecologica causano una virulenza e una diffusione anomale di un'infezione o di un'infestazione

(ad esempio, aumento della densità di popolazione che provoca lo scoppio di un'epidemia, codice II). In condizioni normali, batteri, virus e altri microbi non causano malattie rilevanti ma diventano patogeni e anche una causa secondaria di morte quando il corpo è indebolito. In effetti, in determinate condizioni la relazione tra l'uomo e questi microbi è analoga a quella tra preda e predatore: di norma, il predatore non riesce a uccidere una preda in buona salute ma cattura e uccide facilmente individui indeboliti, malati o più vulnerabili a causa dell'età.

--- V-A: Alcuni fenomeni (dolore, febbre, tosse, starnuti, nausea, vomito, diarrea, etc.) sono difese dell'organismo e non devono essere considerati malattie. Il loro trattamento dovrebbe essere raccomandato solo per frenarli quando sono considerati eccessivi o troppo fastidiosi. Come esempio di questa categoria di fenomeni, nelle donne in gravidanza è comune osservare, in particolare nei primi mesi di gestazione, nausea e rifiuto di alcuni alimenti (pesce, pollame, carne, uova, verdure dal gusto forte, caffeina, alcool e in generale alimenti con gusto o odore insoliti).

Questo disturbo, noto come nausea mattutina, è stato proposto come adattivo nel 1992 [Profet 1992] perché difende da possibili danni al feto derivanti da agenti infettivi o sostanze potenzialmente teratogene che potrebbero essere presenti in particolari alimenti [Flaxman e Sherman 2000]: "(i) i sintomi sono al massimo quando l'organogenesi embrionale è più suscettibile all'interruzione chimica (settimane 6-18), (ii) le donne che soffrono di nausea mattutina hanno significativamente meno probabilità di abortire rispetto alle donne che non ne soffrono (9 su 9 studi), (iii) le donne che vomitano subiscono meno aborti rispetto a quelle che soffrono di nausea soltanto ... I prodotti di origine animale possono essere pericolosi per le donne in gravidanza e i loro embrioni perché spesso contengono parassiti e agenti patogeni, soprattutto se conservati a temperatura ambiente in climi caldi. Evitare i microrganismi di origine alimentare è particolarmente importante per le donne in gravidanza perché sono immunosoppresse, presumibilmente per ridurre le possibilità di rigetto dei tessuti della propria prole ... Di conseguenza, le donne in gravidanza sono più vulnerabili a infezioni gravi, spesso mortali." [Flaxman e Sherman 2000]

Un altro caso particolare è la carenza di ferro e la conseguente anemia osservata in molte malattie infettive. Tale condizione viene "razionalmente" trattata con una supplemento di ferro, ma l'evidenza mostra che ciò aumenta la gravità di alcune malattie e la probabilità di possibili complicazioni mortali:

- "L'acquisizione del ferro è un passo fondamentale nello sviluppo di un agente patogeno e la complessità e la ridondanza dei meccanismi sia dell'ospite che del patogeno per acquisire ferro e controllarne il flusso e la disponibilità illustrano la battaglia di lunga data e in corso per il ferro." [Doherty 2007]
- "Esistono prove convincenti che la carenza di ferro protegge da molte malattie infettive come la malaria, la peste e la tubercolosi, come dimostrato da diversi studi medici, storici e antropologici." [Denic e Agarwal 2007]
- In Polinesia, nei neonati con deficit di ferro, la somministrazione di integratori di ferro aumentò i casi di sepsi neonatale da batteri gram-negativi. Questi casi diminuirono quando furono interrotti gli integratori di ferro [Barry e Reeve 1977].
- "In una popolazione con malaria endemica di Zanzibar, aumenti significativi di eventi avversi gravi sono stati associati alla supplementazione di ferro ..." [Iannotti et al. 2006]
- "Recenti prove da un ampio studio randomizzato e controllato hanno suggerito che la somministrazione universale di ferro ai bambini nelle aree endemiche della malaria è associata ad un aumento di esiti avversi per la salute." [Prentice et al. 2007]
- "Nel nord-est della Tanzania, dove sono comuni la malaria e la carenza di ferro, abbiamo riscontrato che la malaria placentare era meno diffusa (8,5% vs. 47,3% delle donne; P <0,0001) e meno grave (densità media dei parassiti, 4,2% vs. 6,3 % dei globuli rossi della placenta; P <.04) tra le donne con carenza di ferro rispetto alle donne con sufficienti riserve di ferro, specialmente durante la prima gravidanza. L'analisi multivariata ha rivelato che la

carenza di ferro (P <.0001) e la multigravidità (P <.002) hanno ridotto significativamente il rischio di malaria placentare." [Kabyemela et al. 2008]

- "Il ferro orale è stato associato ad un aumento dei tassi di malaria clinica (5 su 9 studi) e ad un aumento della morbilità da altre malattie infettive (4 su 8 studi). Nella maggior parte dei casi, sono state utilizzate dosi terapeutiche di ferro per via orale. Nessun studio nelle regioni della malaria ha mostrato benefici ... Gli studi sperimentali sugli animali da laboratorio mostrano uniformemente effetti deleteri reversibili della somministrazione di ferro sui test di immunità funzionale. Questi possono verificarsi anche in lieve carenza. ... Studi sperimentali e in vitro su animali suggeriscono che gli organismi che trascorrono parte del loro ciclo vitale intracellulare, come plasmodi, micobatteri e salmonelle invasive, possono essere rafforzati dalla terapia con ferro." [Oppenheimer 2001]
- Negli anni '80, in uno studio randomizzato, in doppio cieco e controllato con placebo, l'integrazione di ferro nei neonati in Papua Nuova Guinea era correlata a malaria clinica più frequente, infezioni delle vie respiratorie inferiori gravi, morbillo e otite media acuta [Oppenheimer 2001]
- "A meno che la risposta immunitaria dell'ospite non sia compromessa da una grave carenza di ferro, raramente c'è un'urgenza di integrare il ferro ed è probabile che ciò contribuisca poco a livelli di sideremia dell'ospite a causa del blocco dell'assorbimento associato all'infiammazione. In presenza di infezioni intracellulari come la tubercolosi o malattie infiammatorie croniche o immunosoppressive (ad esempio l'HIV), la decisione di integrare il ferro deve essere considerata su base individuale, poiché esiste il potenziale di beneficiare un agente patogeno piuttosto che l'ospite." [Doherty 2007]
- "I nostri corpi hanno un meccanismo di difesa correlato, di cui la maggior parte delle persone non è a conoscenza e che i medici a volte inconsapevolmente tentano di vanificare. Ecco alcuni indizi su come funziona. Un paziente con tubercolosi cronica ha un basso livello di ferro nel sangue. Un medico conclude che la correzione dell'anemia può aumentare la resistenza del paziente, quindi gli dà un integratore di ferro. L'infezione del paziente peggiora." [Nesse e Williams 1994, pag. 29]

Le prove dimostrano che i livelli di ferro nel sangue sono attivamente ridotti dall'organismo ospite in caso di infezioni allo scopo di ridurre il ferro disponibile per gli agenti patogeni.

--- V-B: Alcune condizioni psicologiche (ad esempio, ansia e depressione dell'umore) sono una difesa utile in particolari condizioni. Spesso, tuttavia, a causa di alterazioni della nicchia ecologica, queste condizioni diventano vere malattie [Nesse 2019].

--- V-C: Gravidanza, parto e puerperio comportano varie forme di indisposizione e disturbo che sono fisiologici e correlati a tali stati. Tuttavia, l'attuale gestione di questi stati è tutt'altro che normale ed è fonte di sofferenza e patologie. Per esempio, la carenza di ferro in gravidanza è fisiologica e rappresenta una difesa contro le infezioni e la "cura" mediante la somministrazione di forti supplementi di ferro a volte non è razionale (vedi sopra).

--- V-D: Come spiegato nel *Capitolo 2 - Evoluzione e fenoptosi*, vi sono vari casi in cui l'aborto è fisiologico e costituisce una forma di fenoptosi indiretta che non deve essere considerata una malattia.

--- V-E: L'invecchiamento è incluso in questa sottocategoria come possibile importante causa di morte.

La classificazione proposta si basa sulle cause primarie delle malattie interpretate mediante la chiave dell'interpretazione evoluzionistica. La classificazione è razionale, in quanto si basa su un criterio scientifico esplicitamente dichiarato. Il vantaggio principale è che un'interpretazione razionale delle cause primarie delle malattie fornisce una strategia per la loro prevenzione, laddove possibile e necessaria, e una base razionale per il trattamento delle loro manifestazioni.

Al contrario, l'attuale classificazione è interamente focalizzata sul trattamento della malattia da parte dello specialista (o degli specialisti) che sono maggiormente pertinenti agli organi/sistemi interessati.

--- ***Malattie con cause multiple***
I casi in cui una classificazione semplice e inequivocabile di una malattia è impossibile sono molto comuni nell'attuale classificazione delle malattie.
Ad esempio, se una malattia colpisce più di un sistema, di norma, la classificazione in questa o quella categoria è arbitraria e spesso riflette la storia di quale categoria di specialisti ha principalmente affrontato quella malattia.
La proposta classificazione evoluzionistica delle malattie presenta anche potenziali ambiguità. Tuttavia, essendo basata sul criterio della causa primaria della malattia, tali ambiguità possono essere risolte secondo un criterio razionale, la definizione della causa primaria, e non seguendo scelte arbitrarie o basate sulla tradizione.

Analizziamo un caso specifico.
Le manifestazioni ansiose e depressive entro certi limiti hanno una funzione adattativa e non devono essere considerate come malattie ma appartenenti alla categoria *V - Fenomeni fisiologici che causano problemi e sofferenze*, sottocategoria B.
Quando condizioni di stile di vita alterate determinano la comparsa di queste manifestazioni in casi per i quali non vi è alcun valore adattativo o le aumentano al di sopra di determinati livelli, avremo malattie che rientrano nella categoria *II - Malattie derivanti da alterazioni della nicchia ecologica*, sottocategoria A.
In casi particolari, quando queste manifestazioni non hanno alcun valore adattativo e in assenza di particolari alterazioni dello stile di vita ad esse correlate, è possibile avere questi disturbi a livello patologico. In questi casi, soprattutto se presenti in più soggetti della stessa famiglia, avremo malattie che verosimilmente rientrano nella categoria *I - Malattie derivanti da alterazioni del genotipo*.

3.11 - Significato e scopi della medicina evoluzionistica

La medicina evoluzionistica è una nuova disciplina medica o una nuova medicina?
- "Poche scuole di medicina hanno biologi evoluzionisti nelle loro facoltà e nessuna insegna la biologia evoluzionistica come una disciplina medica di base. Alcuni medici e ricercatori medici apprendono qualcosa sull'evoluzione prima della scuola medica, ma dappertutto pochi sono vicini al livello di conoscenza che richiediamo per altre discipline di base. ... una educazione evoluzionistica sostanzialmente migliorata è necessaria prima dell'insegnamento medico, e sono anche essenziali specifici rinnovamenti del curriculum medico." [Stearns et al. 2010].
- "… la biologia evoluzionistica è una disciplina di base cruciale per la medicina. ... Come altre discipline di base, la biologia evoluzionistica deve essere insegnata sia prima che durante la scuola medica. ... A scuola di medicina, la biologia evoluzionistica dovrebbe essere insegnata come una delle scienze mediche di base. Ciò richiederà un corso che riveda i principi di base e le applicazioni mediche specifiche, seguito da una presentazione integrata degli aspetti evoluzionistici che si applicano a ciascuna malattia e sistema di organi. La biologia evoluzionistica non è solo un altro argomento in lizza per l'inclusione nel curriculum; è una base essenziale per una comprensione biologica della salute e delle malattie." [Nesse et al. 2010]

Queste citazioni autorevoli esprimono il punto di vista di alcuni dei principali studiosi nel campo della medicina evoluzionistica. Può essere sintetizzato come segue:
- La medicina evoluzionistica dovrebbe essere considerata una disciplina di base per lo studio, lo sviluppo e le applicazioni della medicina;

- Per questi motivi, deve essere inclusa nel curriculum di base della medicina e non considerata una disciplina marginale;
- L'utilità della medicina evoluzionistica è chiaramente dimostrata da una lunga serie di studi e dalle conseguenti "applicazioni mediche specifiche" [Nesse et al. 2010].

Sebbene questo punto di vista sia autorevole e degno della massima considerazione, non è sufficiente per definire il significato e gli obiettivi della medicina evoluzionistica. La medicina attuale non dovrebbe essere semplicemente migliorata, migliorata e rafforzata dalla disciplina accessoria della medicina evoluzionistica. Al contrario, l'intera struttura della medicina dovrebbe essere ridefinita e rifondata come medicina evoluzionistica.
Ciò potrebbe sembrare un semplice gioco verbale o una posizione miope a favore di una singola disciplina. Inoltre, è una vecchia storia che gli studiosi di una singola materia vorrebbero che tutto fosse incentrato su tale materia. Tuttavia, la suddetta tesi si basa su considerazioni razionali:
- Tutta la biologia è ora focalizzata attorno e sull'evoluzione. La classificazione delle specie viventi, la comprensione della loro fisiologia e di ogni altra loro caratteristica si basano sui concetti dell'evoluzionismo. La medicina, che è un ramo applicativo della biologia, dovrebbe anche essere basata sull'evoluzione. Come già detto, se è vero che "Niente in biologia ha senso, tranne che alla luce dell'evoluzione" [Dobzhansky 1973], perché non dovrebbe essere vero che "Nulla in medicina ha un senso, se non alla luce dell'evoluzione"? [Varki 2012]
- Varie categorie di malattie e fenomeni correlati sono perfettamente prevedibili con ragionamenti deduttivi basati sulla logica dell'evoluzione. Una classificazione evoluzionistica completa di tutte le malattie e i relativi fenomeni è perfettamente possibile [Libertini 1983]. Questa classificazione è fondata su una base razionale mentre la classificazione attuale è empirica e piuttosto illogica (vedere la sezione precedente di questo capitolo).
- La definizione di malattie in termini evoluzionistici, che si basa sulle loro cause primarie, è un prerequisito per una scienza medica incentrata principalmente sulla prevenzione delle malattie. Attualmente la medicina è focalizzata sul trattamento delle malattie e non sulla prevenzione, ma questo approccio sta diventando sempre più inefficace e costoso.
- Il concetto principale della medicina evoluzionistica è che molte malattie, tra cui le affezioni più comuni, sono causate da cambiamenti della nostra nicchia ecologica a cui la nostra specie non è adattata. Nel passaggio dalla medicina attuale alla medicina evoluzionistica, gran parte della medicina dovrebbe essere riformulata in base a questo fatto. Ciò implica una profonda riorganizzazione dei sistemi sanitari che non sarebbe possibile se la medicina evoluzionistica fosse intesa semplicemente come una disciplina accessoria alla medicina attuale.
- Nella medicina attuale e anche per molti biologi evoluzionisti, l'invecchiamento viene interpretato come una somma di processi degenerativi casuali insufficientemente frenati dalla selezione naturale per vari motivi. L'interpretazione dell'invecchiamento come processo fisiologico favorito dalla selezione naturale in termini di selezione sopraindividuale è un elemento chiave della medicina evoluzionistica con forti implicazioni per la classificazione di malattie e fenomeni correlati, per l'interpretazione di molte di esse e per le prospettive di intervento. Vale la pena sottolineare che, sebbene i dati sulla salute mondiale dimostrino che circa due terzi dei decessi possono essere attribuiti a malattie legate all'età [Lopez et al. 2006], l'invecchiamento come causa di morte non è considerato nelle statistiche moderne [WorldLifeExpectancy 2017] coerentemente con il fatto che nell'attuale classificazione delle malattie non vi è alcuna codifica per l'invecchiamento.
- Gli studiosi di medicina evoluzionista hanno approfondito una serie di argomenti specifici (ad esempio: vincoli e compromessi per la selezione naturale; difese contro vari fattori, etc.), che sono molto interessanti e spesso utili, ma limitare la medicina evoluzionistica a questi argomenti è una restrizione irrazionale.
- La medicina evoluzionistica evidenzia l'importanza del concetto di discrepanza e delle molte malattie che sono causate da questa categoria di fenomeni. Non si tiene sufficientemente conto

delle implicazioni del fatto che la maggior parte delle malattie più comuni è causata da fenomeni di discrepanza. Lo studio, la prevenzione e il trattamento di queste malattie devono essere razionalmente fondati su basi evoluzionistiche, il che significa che la maggior parte delle malattie deve essere affrontata in termini evoluzionistici principalmente dalle organizzazioni sanitarie nazionali e non da singoli medici o ospedali.

L'integrazione e la somma di questi fatti e argomentazioni implicano che la trasformazione dell'intera medicina in medicina evoluzionistica non è un'affermazione infondata basata su un approccio unilaterale ma piuttosto un'esigenza razionale, nell'ottica di enormi benefici prevedibili. La sua attuazione, tuttavia, si scontra con l'inerzia culturale e organizzativa e contro interessi di parte.

Capitolo 4
Il confronto tra i due paradigmi

4.1 - Introduzione
4.2 - Il paradigma dell'invecchiamento come fenomeno non adattativo
4.3 - Il paradigma dell'invecchiamento come fenomeno adattativo
4.4 – Argomentazioni e evidenze empiriche a sostegno o contro i due paradigmi
4.4.1 - Assenza di postulati improbabili
4.4.2 - Non universalità dell'invecchiamento
4.4.3 - Variazione dei ritmi di invecchiamento nel confronto tra specie
4.4.4 - Considerazione della selezione naturale sopraindividuale e dei fenomeni fenoptotici
4.4.5 - Effetti della restrizione calorica sulla durata della vita
4.4.6 - Esistenza di mortalità crescente correlata all'età in condizioni naturali
4.4.7 - Nel confronto tra specie, relazione inversa tra mortalità estrinseca e proporzione di morti dovute a mortalità intrinseca
4.4.8 - Impossibilità di spiegare il declino correlato all'età della capacità di sopravvivenza come conseguenza di geni dannosi a una certa età
4.4.9 - Declino progressivo correlato all'età delle capacità di turnover cellulare
4.4.10 – Il programma della senescenza cellulare
4.4.11 – La senescenza cellulare graduale
4.4.12 - Valutazione generale degli anzidetti argomenti e evidenze empiriche
4.5 – Teoria dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione
4.6 - Teoria dell'invecchiamento mediante meccanismo di selezione di parentela
4.6.1 -Definizioni
4.6.2 -Il vantaggio evoluzionistico di una ML più breve
4.6.3 - Effetti dell'IMICAW sulla ML
4.6.4 - Stabilità evoluzionistica di un gene che causa IMICAW
4.6.5 - Le condizioni preliminari
4.6.6 - Due possibili obiezioni
4.6.7 - L'effetto Matusalemme
4.6.8 - IMICAW, IMICAC e geni t

4.1 - Introduzione

L'invecchiamento, definito precisamente come "aumento della mortalità in relazione all'aumento dell'età cronologica in condizioni naturali" [Libertini 1988], o in breve come "aumento progressivo della mortalità (= declino della capacità di sopravvivenza) correlato all'età in condizioni naturali", è stato ed è "spiegato" da un gran numero di teorie [Comfort 1979; Medvedev 1990; Weinert e Timiras 2003; Libertini 2015b].

Queste teorie, nonostante il loro numero e le loro differenze, sono in realtà divisibili in solo due tipi di interpretazioni [Libertini 2008], che per i diversi principi generali su cui si basano e per le contrastanti implicazioni meritano giustamente la definizione di paradigmi opposti nel significato suggerito da Kuhn [Kuhn 1962].

Il primo paradigma, qui descritto come "paradigma dell'invecchiamento non adattativo", interpreta l'invecchiamento come qualcosa che è certamente dannoso perché danneggia gradualmente e poi uccide l'individuo. Secondo questo paradigma, l'invecchiamento è causato da un insieme eterogeneo di fattori nocivi a cui la selezione naturale cerca di opporsi, diventando però progressivamente meno efficace con l'aumentare dell'età. Per alcune teorie la selezione naturale è frenata da esigenze fisiologiche o biochimiche più pressanti o dalle azioni contrastanti di alcuni geni, definiti pleiotropici. L'invecchiamento è considerato qualcosa che sempre è negativo e in varia misura contrastato dalla selezione naturale, la quale alla fine risulta insufficiente a contrastare

l'invecchiamento. In breve, in questo paradigma, l'invecchiamento è interpretato come un fenomeno non adattativo, e quindi non programmato, e rappresenta sia un limite per le capacità della selezione naturale sia un fallimento dell'evoluzione. Le teorie appartenenti a questo paradigma differiscono tra loro per il fattore, o i fattori, che causano i danni dell'invecchiamento e per i meccanismi attraverso i quali questi danni vengono esplicati. Va inoltre sottolineato che molte teorie attribuibili a questo paradigma, in particolare quelle più vecchie, non pongono il problema degli effetti della selezione naturale e della sua incapacità di opporsi al fattore o ai fattori che determinano l'invecchiamento.
Il secondo paradigma, qui descritto come "paradigma dell'invecchiamento adattivo", spiega l'invecchiamento come qualcosa che da un lato è contrastato dalla selezione naturale a livello individuale e dall'altro, in particolari condizioni, può essere favorito dalla selezione naturale a livello sopraindividuale. Ciò determina lo sviluppo di meccanismi fisiologici specifici che determinano l'invecchiamento, pur essendo dannosi per l'individuo. In breve, l'invecchiamento è interpretato come un fenomeno adattativo, e quindi programmato, e rappresenta sia una conferma delle capacità della selezione naturale sia una conquista dell'evoluzione.
Nelle seguenti due sezioni, 4.2 e 4.3, verranno spiegate brevemente le principali teorie o gruppi di teorie che supportano l'uno o l'altro paradigma.
Nella *Sezione 4.4 - Argomenti a sostegno o contro i due paradigmi*, saranno discusse le argomentazioni e l'evidenza che sostengono o sono contrarie alle due tesi.

4.2 - Il paradigma dell'invecchiamento come fenomeno non adattativo

Secondo questo paradigma, l'invecchiamento, essendo sicuramente svantaggioso per l'individuo, può solo essere contrastato dalla selezione naturale, mentre è esclusa la possibilità opposta che l'invecchiamento sia favorito dalla selezione naturale. L'invecchiamento è causato da vari eventi dannosi ed è il risultato dell'insufficienza della selezione naturale dovuta a varie cause. Le ipotesi di questo paradigma differiscono nei fattori in base ai quali l'invecchiamento sarebbe causato e che limiterebbero la selezione naturale. Le teorie o gruppi di teorie che saranno prese in considerazione sono le seguenti:

(1) *Damage Accumulation hypotheses* (Ipotesi dell'accumulo dei danni).

Per questo gruppo di teorie, l'organismo si logora e usura gradualmente, e viene costantemente danneggiato da vari fattori. Nella maggior parte di queste teorie, in particolare in quelle più antiche, la selezione naturale non è affatto considerata. In altre la selezione naturale agisce solo per frenare i fenomeni dannosi, che per loro natura possono essere contrastati solo parzialmente. Ciò porta inevitabilmente all'invecchiamento, con ritmi che variano a seconda della specie e delle condizioni di vita.

La gamma di fattori ipotetici che causerebbero l'invecchiamento è vasta e in effetti limitata solo dalla grande varietà dei fenomeni biologici e dall'inventiva dei proponenti. Per le teorie più antiche è possibile elencare tra le cause ipotetiche: fenomeni di "usura" non meglio specificati; logorio e alterazioni di organi e tessuti endocrini/nervosi/connettivi/vascolari/etc.; accumulo di vari metaboliti tossici; sostanze tossiche prodotte da batteri intestinali; effetti dei raggi cosmici [Comfort 1979].

Teorie meno datate e altre nuove propongono che l'invecchiamento è la conseguenza degli effetti ossidativi dei radicali liberi sui mitocondri [Miquel et al. 1980; Trifunovic et al. 2004; Balaban et al. 2005; Sanz e Stefanatos 2008], o sul DNA [Bohr e Anson 1995; Weinert e Timiras 2003] o su tutto il corpo [Harman 1956, 1972; Croteau e Bohr 1997; Beckman e Ames; Oliveira et al. 2010]. Un'altra teoria interpreta l'invecchiamento come il risultato dell'accumulo di danni chimici causati da errori nella trascrizione del DNA [Weinert e Timiras 2003].

(2) *Mutation Accumulation hypothesis* (Ipotesi dell'accumulo di mutazioni)

La selezione naturale rimuove dalle popolazioni gli alleli deleteri che sono continuamente originati da nuove mutazioni. La frequenza di equilibrio tra le insorgenze di un allele dannoso e

la sua eliminazione per selezione naturale è molto piccola se il danno ([*s*] come valore assoluto) causato dall'allele è grande, vale a dire quanto più il valore di [*s*] si avvicina 1, un valore che indica che la mutazione è mortale prima che l'individuo possa iniziare a riprodursi. Tuttavia, se il danno si esplica a un'età maggiore, quando è stata sfruttata gran parte della capacità riproduttiva, l'effetto di [*s*] sarà proporzionalmente ridotto e la frequenza di equilibrio aumenterà. L'aumento teorico della frequenza di equilibrio dell'espressione fenotipica di un allele dannoso è mostrato in Fig. 4.1.

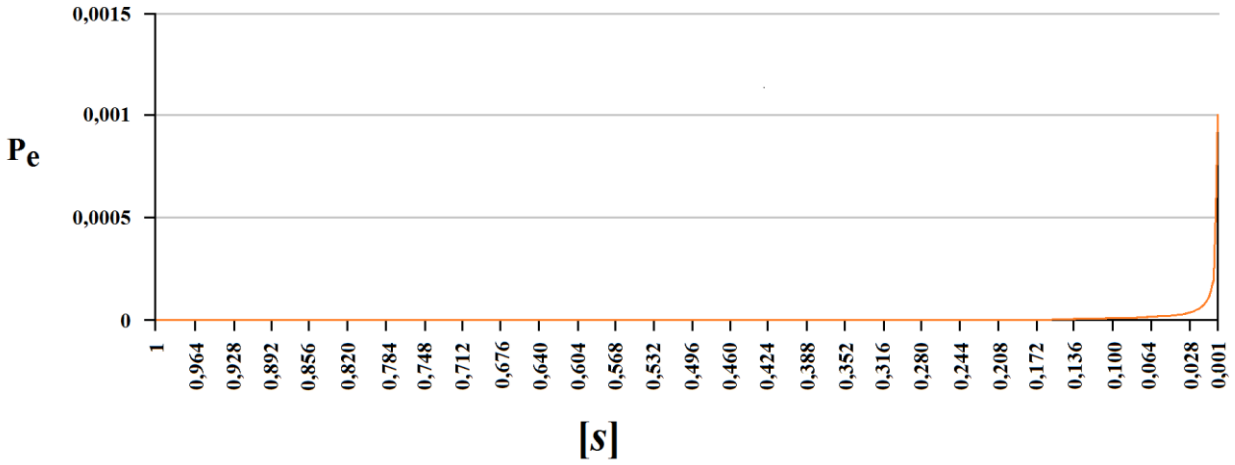


Figura 4.1 - Frequenza di equilibrio (P_e) dell'espressione fenotipica di un allele C dannoso (recessivo o dominante) in funzione del valore di [*s*]. La formula utilizzata è $P_e = v/[s]$, dove [*s*] = valore assoluto del danno causato da C; *v* = frequenza della mutazione in C dagli alleli neutrali (nei calcoli *v* = 0,000001).

La *Mutation accumulation hypothesis* propone che l'invecchiamento è causato dall'effetto cumulativo di molti alleli deleteri che agiscono alle età maggiori quando pochi individui sopravvivono e il potenziale riproduttivo è ridotto. Di conseguenza, la rimozione di questi alleli mediante selezione naturale è ridotta e non può evitare le conseguenze delle azioni di tali geni, vale a dire l'invecchiamento [Medawar 1952; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Mueller 1987; Charlesworth 1990; Partridge e Barton 1993]. Questa teoria ha il merito storico di essere la prima teoria sull'invecchiamento che tiene conto in modo concreto dell'azione della selezione naturale. Tuttavia, ha un grande difetto logico. Infatti, se il numero di sopravvissuti e il potenziale riproduttivo è una funzione dell'invecchiamento, avremo che lo svantaggio causato dall'allele deleterio è una funzione dell'invecchiamento e che l'invecchiamento è una funzione dello svantaggio, il che è una logica circolare che non può essere a sostegno della tesi. Variazioni di questa teoria (vedi sotto) sono state sviluppate per superare questa contraddizione fondamentale.

(3) *Antagonistic Pleiotropy hypothesis* (Ipotesi della pleiotropia antagonista).

La *Antagonistic Pleiotropy hypothesis* postula l'esistenza di geni che sono benefici per l'organismo nelle prime fasi della vita mentre sono deleteri nelle età più anziane. Pertanto sono solo parzialmente contrastati dalla selezione naturale e così i loro effetti determinano l'invecchiamento [Williams 1957; Rosa 1991]. Questa teoria è definita come "pleiotropia antagonista" perché questi geni ipotetici hanno molteplici effetti (pleiotropia) con valore opposto (antagonistico). Il problema principale di questa teoria è che richiede sia l'esistenza di geni pleiotropici antagonistici sia la non esistenza di altri geni con gli stessi effetti benefici nelle prime fasi della vita ma senza effetti dannosi nelle età più anziane. Inoltre, non spiega le grandi differenze nei ritmi di invecchiamento tra le specie o l'assenza di invecchiamento, a meno che non aggiungiamo un'ulteriore ipotesi *ad hoc*, vale a dire che i ritmi di invecchiamento, o

l'assenza di invecchiamento, sono una funzione del numero e degli effetti dei geni ipotizzati o della loro assenza.

(4) *Disposable Soma hypothesis* (Ipotesi del soma disponibile).

Il concetto base di questa teoria è che tutti gli organismi dipendono da risorse limitate (energia, sostanze biochimiche o altre risorse non meglio specificate) e devono ottimizzare la loro allocazione in modo da massimizzare la capacità di sopravvivenza e la riproduzione. Nell'organismo adulto la scelta principale è se dare priorità ai meccanismi di riparazione e mantenimento del corpo (cioè durata della vita più lunga) o ai meccanismi riproduttivi (cioè capacità riproduttiva più elevata). Poiché la riproduzione è essenziale per il trasferimento di geni alle generazioni successive mentre, una volta ottenuto questo trasferimento il corpo può essere sacrificato (cioè il soma è disponibile), l'organismo dà priorità ai bisogni di riproduzione e impiega meno risorse per i bisogni di riparazione e manutenzione del corpo. Pertanto, la conservazione di un'efficienza ottimale a età maggiori è compromessa e l'organismo invecchia. Questa teoria fu proposta nel 1977 [Kirkwood 1977] e poi approfondita e riproposta poco dopo con il nome con cui è nota [Kirkwood e Holliday 1979].

(5) *Cessation of Somatic Growth hypothesis*. (Ipotesi della cessazione della crescita somatica).

Secondo questa teoria, per gli organismi con una crescita fissa, ovvero una crescita che termina quando è stata raggiunta una determinata dimensione, l'invecchiamento inizia quando si ferma la crescita di nuovi tessuti. Al contrario, per le specie in cui la crescita è senza limiti, come per molti vertebrati inferiori, non vi è alcun declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età [Minot 1908; Carrel e Ebeling 1921b; Brody 1924; Bidder 1932; Lansing 1948, 1951].

In particolare, Bidder propose che, poiché la crescita senza limiti diventa incompatibile con una adeguata efficienza (ad esempio, si vedano i mammiferi terrestri), la selezione naturale ha favorito un meccanismo per mantenere dimensioni specifiche all'interno di un certo margine per non compromettere una adeguata efficienza. Questo meccanismo fu definito il "regolatore" e doveva essere fondamentale perché "alberi giganti, colture di cellule di pulcino e di paramecio, misure di platesse e spugne, indicano tutti che una crescita illimitata è naturale" [Bidder 1932]. Inoltre, secondo Bidder: (i) l'interruzione della crescita ha effetti negativi sul soma e riduce la capacità di sopravvivenza individuale; (ii) la "crescita negativa" determinata dal "regolatore" ha effetti benefici sulla popolazione ed è necessaria per il benessere della specie; e (iii) nonostante questa azione benefica per la popolazione, il declino funzionale e la successiva morte del soma non erano un effetto della selezione naturale, ma un "sottoprodotto non importante" di un meccanismo per raggiungere e mantenere una dimensione corporea ottimale per la sopravvivenza del organismo [Bidder 1932].

(6) *Quasi-Programmed Aging hypothesis* (Ipotesi dell'invecchiamento quasi programmato)

"Una volta completato un programma per lo sviluppo, questo non viene spento, anche se la sua continuazione è dannosa (ad es., senescenza). Un potenziale interruttore che disattiverebbe il programma di sviluppo non può essere selezionato, poiché la maggior parte degli animali muore per morte accidentale prima di avere la possibilità di morire per senescenza. Un programma per lo sviluppo non può essere disattivato, semplicemente perché non esiste una pressione selettiva contro l'invecchiamento. Faremo riferimento a una continuazione non indirizzata del programma come un quasi-programma." [Blagosklonny 2006]

"La riparazione è costosa e limitata dalle risorse energetiche e vorremmo assegnare risorse in modo razionale. Ma, sebbene elegante, questo progetto è immaginario. Invece, la natura seleziona alla cieca i benefici a breve termine di un forte accrescimento corporeo." Quasi programmato "dall'orologiaio cieco, l'invecchiamento è una continuazione dispendiosa e senza scopo dell'accrescimento corporeo, guidata da vie metaboliche sensibili ai nutrienti e che promuovono la crescita come MTOR (obiettivo del meccanismo della rapamicina). Una continua attività post-sviluppo di tali percorsi gerogenici porta a iperfunzioni (invecchiamento), perdita dell'omeostasi, malattie legate all'età, danno non casuale degli organi e morte. Questo modello è

coerente con l'idea che (1) il soma è disponibile; (2) l'invecchiamento e la menopausa non sono programmati ..." [Blagosklonny 2013]

Questa teoria potrebbe essere considerata una variante della *Disposable Soma hypothesis* ma contiene anche elementi di affinità con la *Cessation of Somatic Growth hypothesis*.

(7) *Hystorical hypothesis* (Ipotesi storica)

A riguardo della causa evoluzionistica del sesso, fu proposto che la determinazione della condizione sessuale o asessuata di una specie sia principalmente una conseguenza della sessualità o asessualità delle sue specie ancestrali ([Williams 1975]; "*historical hypothesis* [of sex]" [Bell 1982]). In analogia con l'ipotesi storica del sesso, è stato proposto che una specie potesse essere senza invecchiamento, o con un più o meno precocemente invecchiamento, in funzione della sua appartenenza a un *phylum*, o ad un gruppo di specie, dove esiste la stessa condizione [De Magalhães e Toussaint 2002].

4.3 - Il paradigma dell'invecchiamento come fenomeno adattativo

Alcuni concetti e teorie proposti in vari momenti sono importanti per comprendere lo sviluppo del paradigma che propone l'invecchiamento come fenomeno adattativo, determinato da meccanismi specifici favoriti dalla selezione naturale e quindi definibile come fenomeno programmato:

A) *Invecchiamento come fenomeno fenoptotico*

L'idea che l'invecchiamento abbia i tratti distintivi di un adattamento, vale a dire un fenomeno determinato e modulato dalla selezione naturale, è stata evidenziata da vari autori [Skulachev 1997; Bredesen 2004; Mitteldorf 2004; Longo et al. 2005]. Skulachev coniò il neologismo "fenoptosi" [Skulachev 1997] per indicare fenomeni diversificati in cui un individuo si sacrifica mediante meccanismi favoriti dalla selezione naturale [Skulachev 1997, 1999b]. La definizione è stata successivamente estesa a meccanismi analoghi in cui sono uccisi parenti stretti ed è stato sottolineato che solo la selezione naturale a livello sopraindividuale poteva giustificarli [Libertini 2012]. Questi innumerevoli fenomeni erano noti da molto tempo [Finch 1990] ma non erano definiti da un termine unificante. Skulachev ha definito specificamente l'invecchiamento come una sorta di "fenoptosi lenta" [Skulachev 2002a]. Esistono varie teorie che tentano di spiegare l'invecchiamento come fenomeno adattativo dovuto a vari motivi, ma per lo più esse propongono l'ipotesi senza discutere i meccanismi e le conseguenze, in particolare per spiegare i diversi ritmi dell'invecchiamento e i casi in cui non vi è un invecchiamento evidente. Le sottosezioni successive menzionano i concetti o le ipotesi principali proposti.

B) *L'invecchiamento è adattivo perché libera spazio per la prossima generazione*

Alfred Russel Wallace, autore di uno dei due primi articoli sull'evoluzione per selezione naturale, propose che gli individui eliminati per effetto dell'invecchiamento non erano più in competizione con la loro prole e quindi l'invecchiamento era favorito dalla selezione naturale [Wallace 1865-1870; Skulachev e Longo 2005]. Nel 1889, August Weissmann suggerì che l'invecchiamento fosse benefico perché la morte di vecchi individui liberava spazio per la generazione successiva e quindi era utile dal punto di vista evoluzionistico. Tuttavia, questo fu proposto senza una chiara esposizione o alcuna prova [Weismann 1889; Kirkwood e Cremer 1982] e alcuni anni dopo Weismann rinnegò la sua proposta [Weismann 1892, Kirkwood e Cremer 1982].

C) *Invecchiamento come fattore di una accresciuta evolubilità*

Seguendo l'intuizione di Weismann, è stato proposto che l'invecchiamento è favorito dalla selezione naturale perché aumenta la velocità di evoluzione o evolubilità [Goldsmith 2004, 2008].

D) *Red Queen hypothesis for aging* (Ipotesi della Regina Rossa per l'invecchiamento)

Vi è una teoria popolare, l'ipotesi della Regina Rossa [van Valen 1973; Hamilton 1975; Levin 1975; Charlesworth 1976; Glesener e Tilman 1978; Glesener 1979; Bell 1982; Bell e Maynard Smith 1987; Ridley 1993; Peters e Lively 1999, 2007; Otto e Nuismer 2004; Kouyos et al. 2007;

Salathé et al. 2008; Liow et al. 2011; Brockhurst et al. 2014; Voje et al. 2015], che cerca di spiegare la riproduzione sessuale sostenendo che si è evoluta "in risposta al mutevole paesaggio adattativo causato dall'evoluzione delle specie interagenti." [Otto e Nuismer 2004]; "L'ipotesi della Regina Rossa (RQH) suggerisce che la dinamica coevolutiva dei sistemi ospite-parassita può generare selezione per una maggiore ricombinazione dell'ospite. Poiché le interazioni ospite-parassita hanno spesso una forte base genetica, la ricombinazione tra diversi ospiti può aumentare la frazione di genotipi della prole che sono nuovi e potenzialmente resistenti. Un prerequisito per questo meccanismo è che le interazioni ospite-parassita generino persistenti oscillazioni degli squilibri dei linkage ..." [Kouyos et al. 2007]) (Fig. 4.2). In analogia con questa teoria del sesso, è stato proposto che l'invecchiamento limiterebbe la diffusione di malattie causate da altri esseri viventi, in una dinamica perenne della competizione ospite-parassiti [Mitteldorf e Pepper 2009].

Figura 4.2 - La Regina Rossa disse ad Alice: "... ci vuole tutta la corsa che puoi fare, per rimanere nello stesso posto." ([Carroll 1871], illustrazione di John Tenniel). Questo concetto secondo cui gli esseri viventi devono modificare continuamente il loro adattamento, cioè evolversi, proprio per evitare di estinguersi, ha ispirato la teoria chiamata ipotesi della Regina Rossa sulla causa del sesso. Per possibili obiezioni contro questa teoria, si veda [Bell 1982; Libertini 2017a].

E) *Ipotesi dell'invecchiamento causato da sostanze ossidative mitocondriali*

Il danno indotto dalle forme di ossigeno reattivo mitocondriale (ROS) è stato proposto come la principale causa dell'invecchiamento concepito come un particolare tipo di fenoptosi ("fenoptosi lenta"), cioè come fenomeno favorito dalla selezione naturale [Skulachev e Longo 2005; Skulachev 1999a, 2001].

F) *Ipotesi dei "cronomeri" e "printomeri"*

È stata proposta l'esistenza di ipotetici "cronomeri" e "printomeri" che sarebbero le parti principali dei meccanismi dell'invecchiamento concepito come un fenomeno programmato [Olovnikov 2003, 2015].

G) *Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*

Nel 1961, un botanico, Aldo Carl Leopold, ribadì l'intuizione di Weismann secondo cui l'invecchiamento favorisce l'evoluzione perché accelera il ricambio generazionale e quindi la diffusione dei geni favorevoli: "... nelle piante la senescenza è un catalizzatore per l'adattabilità evoluzionistica" [Leopold 1961]. Nel 1983 (in un libro senza peer review) e, nel 1988 (in un articolo con peer review), e successivamente in altri articoli, osservando che un aumento del

vantaggio di un gene o una riduzione equivalente della durata della vita hanno lo stesso effetto sulla diffusione di un gene all'interno di una specie, fu proposto che l'invecchiamento fosse vantaggioso in termini di selezione di parentela in popolazioni strutturate nello spazio [Libertini 1983, 1988, 2006, 2009a, 2013]. Teorie simili che hanno mostrato un vantaggio evoluzionistico per l'invecchiamento, e cioè per una forma di morte programmata, in popolazioni strutturate nello spazio sono state proposte negli anni tra il 2004 e il 2014 usando modelli complessi [Travis 2004; Martins 2011; Mitteldorf e Martins 2014].

H) Nel 2008, è stato messo in evidenza che c'erano alcune previsioni comuni per tutte le teorie che proponevano un significato adattativo per l'invecchiamento: (i) la necessità dell'esistenza di specie senza invecchiamento, cioè di specie senza un aumento della mortalità correlato all'età in condizioni naturali; (ii) tra le specie che invecchiano, la previsione non di una relazione diretta tra mortalità estrinseca e la proporzione di morti dovute alla senescenza, come proposto dalle teorie sull'invecchiamento non adattativo, ma di una relazione inversa; e (iii) la necessità dell'esistenza di meccanismi specifici, determinati e regolati dai geni, che dovrebbero determinare l'invecchiamento. È stato sottolineato che molte teorie sull'invecchiamento non adattativo avrebbero avuto grandi o insormontabili difficoltà a spiegare (i) e che (ii) e (iii), se confermate dall'evidenza, sarebbero state in totale contrasto con le teorie del paradigma dell'invecchiamento non adattativo [Libertini 2008].

Nella successiva *Sezione 4.4 - Argomenti e evidenze empiriche a sostegno o contro i due paradigmi*, considereremo le argomentazioni e le prove empiriche a sostegno o contro le sette teorie precedentemente menzionate appartenenti al paradigma dell'invecchiamento non adattativo e, per quanto riguarda l'opposto paradigma, solo le teorie riportate in D (Ipotesi della regina rossa per l'invecchiamento) e G (*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*). Questa limitazione ha i seguenti motivi:
(A) e (B) esprimono concetti che possono essere considerati preliminari e intrinseci a (G) e non costituiscono teorie distinte.
Ciò che è affermato in (C), vale a dire che l'invecchiamento porta ad una maggiore velocità di evoluzione, esprime un effetto dell'invecchiamento che è lo stesso proposto in (G).
(E) e (F) sono ipotesi riguardanti i meccanismi che determinerebbero l'invecchiamento e non rappresentano teorie specifiche sulle cause dell'invecchiamento.
(H) esprime solo previsioni plausibili comuni a tutte le teorie del paradigma dell'invecchiamento adattivo.
Va anche sottolineato che all'interno di (G) si può distinguere tra i vari modi in cui appare possibile proporre e valutare i meccanismi di selezione naturale che favorirebbero l'invecchiamento. Il meccanismo basato sulla selezione di parentela [Libertini 1988], che è più facile da spiegare e non comporta la costruzione di modelli elaborati basati su popolazioni strutturate nello spazio, sarà descritto nella *Sezione 4.5 – Teoria dell'invecchiamento come fattore acceleratore dell'evoluzione.* Per quanto riguarda gli altri modelli, è consigliabile leggere i rispettivi articoli [Travis 2004; Martins 2011; Mitteldorf e Martins 2014].
I possibili meccanismi dell'invecchiamento saranno presentati nel prossimo *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento.*

4.4 – Argomentazioni e evidenze empiriche a sostegno o contro i due paradigmi

Ci sono alcuni argomenti (considerazioni teoriche) e prove (fenomeni documentati) che dovrebbero essere valutati come elementi a supporto o contro le teorie sull'invecchiamento che sono state brevemente menzionate in precedenza. La seguente discussione è già stata proposta in un altro lavoro [Libertini 2015a] ed è presentata qui con alcune importanti modifiche e arricchimenti.

4.4.1 - Assenza di postulati improbabili

Una teoria deve certamente avere come punto di partenza ipotesi da cui derivano deduzioni che poi richiedono conferme empiriche. Però una teoria non dovrebbe mai avere come ipotesi di partenza postulati improbabili, che renderebbero altrettanto improbabile qualsiasi deduzione ricavata da essi. Ovviamente, la valutazione della verosimiglianza o non verosimiglianza di un'ipotesi di partenza può essere discutibile. Con questa riserva, va sottolineato che per varie teorie ci sono alcune ipotesi di partenza che appaiono inaffidabili, non facilmente giustificabili e comunque non basate su prove empiriche, e che pertanto dovrebbero essere considerate postulati non verosimili. È importante considerare che la presenza di un postulato non verosimile rende invalida o almeno inaffidabile la teoria fondata su questo postulato.

--- Le *Damage Accumulation hypotheses* postulano implicitamente che la selezione naturale non è in grado di elaborare meccanismi che possono opporsi ai vari fattori dannosi ipotizzati da ciascuna teoria come causa dell'invecchiamento. Secondo tale postulato, la selezione naturale, sebbene con comprovato potere di forgiare meraviglie di ogni tipo, non sarebbe in grado di sviluppare meccanismi efficaci che si oppongano a un fattore dannoso e ne riparano il danno.

--- La *Mutation Accumulation h.* postula implicitamente che gli alleli dannosi ipotizzati come causa dell'invecchiamento perché insufficientemente eliminati dalla selezione naturale sono presenti in varia misura correlata alla rapidità dell'invecchiamento mostrata da ciascuna specie. Inoltre, come parte di questo postulato, gli alleli dannosi non dovrebbero esistere o avere conseguenze nelle specie che non invecchiano.

--- La *Antagonistic Pleiotropy h.* postula implicitamente che gli ipotizzati geni pleiotropici non possono avere, in alternativa, alleli equivalenti con gli stessi effetti benefici nelle prime fasi della vita ma senza azioni dannose nelle età maggiori. Inoltre postula implicitamente che il numero e gli effetti di questi geni pleiotropici sono correlati ai ritmi dell'invecchiamento di ciascuna specie e che questi geni sono assenti in specie che non invecchiano.

--- La *Disposable Soma h.* postula esplicitamente che, poiché le risorse specifiche sono limitate, l'organismo è obbligato a fare una scelta per la loro allocazione, in particolare tra le esigenze di riproduzione e quelle dei meccanismi di riparazione e manutenzione del corpo. Inoltre, il postulato esclude la possibilità che l'organismo possa disporre di risorse in quantità tale da soddisfare entrambe queste esigenze contemporaneamente.

--- La *Cessation of Somatic Growth h.* postula esplicitamente che il meccanismo bloccante la crescita quando è stata raggiunta una certa dimensione (il "regolatore" di Bidder) deve necessariamente avere effetti negativi e progressivamente dannosi sulla capacità di sopravvivenza dell'organismo, vale a dire deve determinare l'invecchiamento. Inoltre, la teoria postula che non può esistere un meccanismo regolatore senza questi ipotetici effetti dannosi.

--- La *Quasi-Programmed Aging h.* si basa su tre postulati espliciti:

(i) esistenza di un programma di sviluppo che non è spento e la cui continuazione è dannosa ("Una volta che un programma per lo sviluppo è completato, non è spento, anche se la sua continuazione è dannosa [ad es., senescenza]." [Blagosklonny 2006]);

(ii) impossibilità di disattivare questo dannoso programma di sviluppo ("... Un potenziale interruttore che spegne il programma di sviluppo non può essere selezionato ..." [Blagosklonny 2006]);

(iii) limitazioni nelle funzioni di riparazione causate da limiti nelle risorse energetiche ("La riparazione è costosa e limitata dalle risorse energetiche" [Blagosklonny 2013]).

I primi due postulati sono l'opposto del postulato proposto dalla *Cessation of Somatic Growth h.*: mentre per questa teoria invecchiamo perché il programma di sviluppo viene interrotto, secondo la *Quasi-Programmed Aging h.* il programma di sviluppo non può essere interrotto e la sua continuazione è dannosa e causa l'invecchiamento. Il terzo postulato è simile a quello richiesto dalla *Disposable soma h.*

--- La *Historical h.* propone che i ritmi dell'invecchiamento e la condizione di non invecchiamento, siano una funzione delle caratteristiche degli antenati. Questa teoria postula implicitamente che la selezione naturale nel corso dell'evoluzione non è in grado di modificare le caratteristiche di

invecchiamento degli antenati. Analogamente a quanto è stato detto riguardo al postulato implicito delle *Damage Accumulation hypotheses*, la selezione naturale, che si è dimostrata capace di prodigi di ogni tipo, quando si tratta delle caratteristiche dell'invecchiamento diventerebbe inefficace e inadeguata per loro possibili modifiche.

--- La *Red Queen h.* postula implicitamente che al di fuori delle pressioni selettive derivanti dalle relazioni tra diverse specie viventi (relazioni che sono certamente di estrema importanza e da non sottovalutare), le pressioni selettive derivanti da altri fattori possono essere ignorate. Va notato che se questo postulato non necessario viene eliminato, la *Red Queen h.* diventa indistinguibile dalla *Ipotesi dell'invecchiamento come fattore acceleratore dell'evoluzione*. Allo stesso modo, se tale seconda ipotesi fosse indebitamente limitato solo alle pressioni selettive derivanti dalle relazioni tra le specie viventi, diventerebbe identica alla *Red Queen h*.

4.4.2 - Non universalità dell'invecchiamento

È noto e documentato che molte specie (comprese molte piante vascolari, invertebrati e vertebrati) in condizioni naturali non mostrano alcun aumento della mortalità correlato all'età e non hanno una durata di vita determinabile ("Longevità indeterminate e *negligible senescence* [senescenza non rilevabile]" [Finch 1990, p. 202]).

Per alcune specie, addirittura il tasso di mortalità mostra una diminuzione legata all'età [Vaupel et al. 2004]. In effetti, in questi casi vi è un aumento correlato all'età delle dimensioni del corpo e questo riduce il rischio di predazione da parte di altre specie e quindi la mortalità. Pertanto, invece di definire questo fenomeno "senescenza negativa" [Vaupel et al. 2004], tali casi dovrebbero essere considerati esempi di senescenza non rilevabile con la sovrapposizione di un altro differente fenomeno, l'aumento delle dimensioni del corpo, che riduce la mortalità.

L'esistenza di specie che non invecchiano è prevista da alcune teorie:

--- Per quanto riguarda la *Cessation of Somatic Growth h.*, Bidder propose che esistesse "un meccanismo per fermare la crescita naturale non appena viene raggiunta la dimensione specifica. Questo meccanismo può essere chiamato il regolatore ... la senescenza è il risultato della continua azione del regolatore dopo l'interruzione della crescita" e, nei casi in cui non esisteva un meccanismo che bloccasse la crescita, come per molti invertebrati e vertebrati inferiori, non vi era alcuna senescenza [Bidder 1932].

--- La possibilità di specie che non invecchiano è anche compatibile con la *Historical h.* In effetti, per spiegare che non c'è invecchiamento in una specie o in un gruppo di specie, basterebbe supporre che i loro antenati avessero la stessa caratteristica.

--- L'esistenza di specie che non invecchiano è anche perfettamente compatibile con l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*. In effetti la previsione generale di questa teoria è che, al di fuori di particolari condizioni ecologiche, una specie non dovrebbe mostrare il fenomeno dell'invecchiamento. Oppure, per dirla in altro modo, la condizione più semplice e ancestrale è il non invecchiamento, mentre l'invecchiamento è una condizione adattativa evoluta che è favorita dalla selezione naturale in particolari casi.

Per quanto riguarda le altre teorie:

--- Per la *Red Queen h.*, poiché le condizioni che favorirebbero l'invecchiamento sono le pressioni selettive derivanti dalle relazioni con altre specie, non essendo concepibile una specie che non ha relazioni con altre specie, sembra difficile spiegare la condizione di non invecchiamento.

--- La *Mutation Accumulation h*. e la *Antagonistic Pleiotropy h.* potrebbero spiegare l'esistenza di specie che non invecchiano solo con ulteriori postulati inammissibili secondo i quali geni dannosi a un certa età o geni pleiotropici causanti l'invecchiamento non esisterebbero, o sarebbero insufficienti nelle loro azioni dannose, nelle specie che non invecchiano.

--- Allo stesso modo, la *Disposable Soma h.* e la *Quasi-Programmed Aging h.* dovrebbero negare la validità dei loro postulati, o modificarli opportunamente, per le specie che non invecchiano.

--- A riguardo delle teorie appartenenti alle *Damage Accumulation hypotheses*, certamente per le più vecchie, esse non sembrano considerare o giustificare l'assenza di aumento della mortalità correlata all'età mostrato in natura da molte specie [Comfort 1979].

--- In generale, almeno per le teorie che vogliono essere compatibili con i meccanismi della selezione naturale, la mancanza di spiegazioni soddisfacenti per la condizione delle specie non invecchianti è stata sottolineata come un punto critico: "La possibilità di *negligible senescence* non è stata ampiamente discussa e potrebbe essere in conflitto con le deduzioni matematiche dalla teoria della genetica delle popolazioni" [Finch e Austad 2001].

4.4.3 - Variazione dei ritmi di invecchiamento nel confronto tra specie

Per le specie che mostrano il fenomeno dell'invecchiamento, è possibile osservare un'ampia variazione dei ritmi di invecchiamento anche tra specie dello stesso *phylum* [Comfort 1979].

--- Per le teorie del paradigma dell'invecchiamento non adattativo, il tasso di invecchiamento dovrebbe dipendere dalla causa ipotizzata del fenomeno, non trascurando che fattori come le dimensioni del corpo e il peso del cervello dovrebbero avere un'azione modulante sul tasso di invecchiamento. Tuttavia, non c'è sempre la conferma della relazione ipotizzata da una teoria e talvolta si osserva persino il contrario [Comfort 1979]. Ad esempio, le teorie che collegano i ritmi dell'invecchiamento ai tassi metabolici sono contraddette dalla mancanza di una relazione inversa tra il tasso del metabolismo e i ritmi dell'invecchiamento. Il caso più eclatante è quello di molte specie di uccelli che, sebbene con un alto tasso metabolico, mostrano una notevole longevità [Comfort 1979] .

--- La *Mutation Accumulation h.* e la *Antagonistic Pleiotropy h.*. non giustificano in alcun modo le differenze nei tassi di invecchiamento.

--- La *Disposable Soma h.* e la *Quasi-Programmed Aging h*. ci indurrebbero a ritenere che i tassi di invecchiamento e le capacità di riproduzione debbano essere inversamente correlati, ma non ci sono evidenze riguardo a questa correlazione.

--- Il postulato della *Historical h.* è contraddetto dalla grande variazione dei tassi di invecchiamento fra specie all'interno dello stesso gruppo (ad es., fra i mammiferi e fra gli uccelli).

--- La *Cessation of Somatic Growth h.* potrebbe giustificare alcune variazioni del tasso di invecchiamento come correlate alle differenze di accrescimento.

--- Per l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*, i ritmi di invecchiamento sono in funzione delle condizioni ecologiche che favoriscono o non favoriscono l'invecchiamento e quindi le variazioni dei ritmi di invecchiamento sono pienamente compatibili con la teoria. Inoltre, una maggiore massa corporea e una maggiore capacità di apprendimento aumentano i vantaggi di una durata della vita più lunga. Pertanto, è prevista e giustificata [Libertini 1988] la relazione positiva osservata tra longevità e dimensioni del corpo adulto nei vertebrati [Bourlière 1957, 1960; Sacher 1959] e quella tra longevità e peso del cervello degli adulti nei mammiferi (verosimilmente correlata alla capacità di apprendimento) [Comfort 1979; Sacher 1959].

Comunque vi sono di certo altri fattori, non sempre ben conosciuti o approfonditi, che influenzano la selezione naturale a riguardo della longevità della specie. Implicitamente questa capacità dell'evoluzione di modulare la longevità delle specie dimostra la priorità dei determinanti della selezione naturale rispetto ai vari limiti intrinseci postulati dalle teorie del paradigma dell'invecchiamento non programmato.

Un esempio di questa capacità è dato da alcune specie correlate di ricci di mare, con condizioni di vita abbastanza simili, ma differenze significative nella durata della vita [Ebert e Southon 2003; Amir et al. 2020]. Pertanto, il riccio verde di mare (*Lytechinus variegatus*) vive circa 4-5 anni, il riccio viola di mare (*Strongilocentrotus purpuratus*) vive circa 50 anni e il riccio rosso di mare (*Mesocentrotus franciscanus*) appare praticamente "immortale" e può vivere più di 200-300 anni senza alcuna riduzione nelle capacità di riproduzione e rigenerazione, e non mostrando alcuna apparente caratteristica dell'invecchiamento [Ebert e Southon 2003; Amir et al. 2020;

Bodnar 2015; Bodnar e Coffman 2016]. Le principali differenze tra queste specie, che probabilmente determinano longevità così diverse, risiedono nei loro cicli di vita. Le due specie con una durata di vita più lunga (*S. purpuratus* e *M. franciscanus*) hanno uno stadio planctonico più prolungato e raggiungono la maturità sessuale in età superiore rispetto a *L. variegatus* [Albright et al. 2012; Kato e Schroeter 1985; Gaitán-Espitia e Hofmann 2017]. Tuttavia, l' "utilità" di un'ulteriore estensione della durata della vita osservata in *M. franciscanus*, sembra essere correlata alle interazioni sociali. La singolarità di *M. franciscanus* consiste nel fatto che i ricci di mare adulti consentono ai giovani ricci, appena passati allo stadio bentonico, di nascondersi dai predatori tra le loro spine [Nishizaki e Ackerman 2005]. L'efficienza della difesa giovanile è positivamente correlata alle dimensioni e all'età del riccio adulto [Nishizaki e Ackerman 2005]. In questo contesto, i ricci rossi di mare adulti mostrano un evidente comportamento altruistico, dedicato ai giovani individui della specie con una probabilità molto bassa di essere la propris progenie, considerando le distanze di migrazione della planula e le variazioni genetiche osservate [Moberg e Burton 2000]. Ciò comporta comprensibili inconvenienti legati alla necessità di condividere il cibo con i giovani, l'adeguamento della locomozione alle esigenze dei più piccoli e l'attenzione a non perderli prima che arrivi il momento opportuno. In cambio di tutti questi "problemi", *M. franciscanus* ottiene l'immortalità virtuale, che non è "l'obiettivo finale della vita", ma solo un mezzo per assicurare una migliore sopravvivenza di altri individui all'interno della popolazione, ed è favorita dalla selezione naturale. I cambiamenti molecolari associati al comportamento, alla socialità e al controllo della durata della vita nei ricci rossi di mare sono piuttosto complessi e coinvolgono molte vie molecolari, incluso il controllo della lunghezza dei telomeri [Polinski et al. 2020; Bodnar 2015].

Per quanto riguarda i mammiferi superiori, che hanno comportamenti e schemi di interazione molto più complessi tra gli individui all'interno delle comunità rispetto a quelli sviluppati all'inizio dell'evoluzione dei metazoi (come nei ricci rossi di mare), la regolamentazione della durata della vita appare notevolmente più complicata e meno univoca. Tuttavia, rimane ancora un oggetto di selezione naturale. Con l'aumento della complessità dello sviluppo individuale durante l'evoluzione, la formazione di meccanismi che la regolano accuratamente diventa ancora più rilevante.

Sullo sfondo di alcuni tipi di organizzazione sociale in natura, appare persino la necessità di regolare la durata della vita dell'individuo e di ritirare alcuni individui dalla riproduzione, pur preservandoli ancora nella popolazione. Ad esempio, ciò accade nelle orche, dove le femmine in postmenopausa hanno di solito un ruolo di primo piano nel gruppo familiare e sono coinvolte nella propagazione della tradizione [Brent et al. 2015; Foster et al. 2012]. Allo stesso tempo, tali femmine guadagnano la possibilità di ridistribuire il tempo e l'energia per l'allevamento della prole nelle fasi della sua massima vulnerabilità, prendendosi cura di tutti i membri del gruppo e condividendo prontamente la loro unica esperienza. Inoltre ottengono più libertà in ogni azione, meno preoccupati per i loro interessi e bisogni immediati (mentre non sono in gravidanza o nutrono la prole), e inoltre - per il bene della comunità -, migliorandone la sopravvivenza complessiva. In una certa misura, cose simili riguardano il comportamento di molti primati, con le vaste implicazioni degli adulti anziani (sia maschi che femmine) nella vita della comunità, spesso come portatori di cultura [Yamamoto et al. 2013; Schofield et al. 2018]. Inoltre, in tali comunità, l'efficienza dell'apprendimento da parte di individui più giovani aumenta molto non solo se un individuo con alta posizione sociale condivide con loro la propria esperienza, ma anche quando ha alcuni tratti associati all'invecchiamento (come i capelli grigi nelle grandi scimmie) [Kendal et al. 2015; Estienne et al. 2019; Horner e de Waal 2009].

Alla luce di ciò, l'estensione della durata della vita appare strettamente correlata alla socialità e all'utilità dell'individuo per l'intera comunità. Pertanto, è probabile che i meccanismi molecolari previsti per il controllo della vita sono condizionati dai segnali di tale utilità.

--- La *Red Queen h.* non esprime previsioni particolari sulla variazione dei ritmi dell'invecchiamento e anche per le evidenze empiriche esposte nelle sottosezioni seguenti.

Tuttavia, se consideriamo questa teoria come identica all'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione* con l'aggiunta di una restrizione non necessaria, possiamo attribuire alla *Red Queen h.* sempre le stesse previsioni dell'altra teoria, evitando inutili ripetizioni.

4.4.4 - Considerazione della selezione naturale sopraindividuale e dei fenomeni fenoptotici

--- Per i sostenitori del paradigma dell'invecchiamento non adattivo, è inverosimile che qualcosa di dannoso per l'individuo, come è sicuramente l'invecchiamento, possa essere favorito dalla selezione naturale: "qualsiasi ipotetico 'gene dell'invecchiamento accelerato' sarebbe svantaggioso per l'individuo. È quindi difficile vedere come i geni per un invecchiamento accelerato possano essere mantenuti in equilibrio stabile, poiché gli individui in cui i geni sono stati inattivati per mutazione godrebbero di un vantaggio selettivo" [Kirkwood e Austad 2000]; "La natura anomala dell'invecchiamento come ipotetico adattamento è che è dannoso per l'individuo in cui il processo si manifesta. Un animale che cresce fino alla maturità e che successivamente si riproduce indefinitamente ha, a parità di altre condizioni, una maggiore capacità di sopravvivenza darwiniana rispetto a quello che cresce fino alla maturità e poi sopravvive e si riproduce solo per un periodo di tempo fisso." [Kirkwood e Melov 2011]

--- Comunque, come discusso nel *Capitolo 2 - Evoluzione e fenoptosi*, ci sono innumerevoli casi in cui un individuo sacrifica la propria vita, o la mette in grave pericolo, o uccide i propri consanguinei [Finch 1990]. Questi fenomeni, definiti come "fenoptosi" [Skulachev 1997, 1999b; Libertini 2012], dimostrano che la selezione naturale può certamente favorire fenomeni svantaggiosi a livello individuale ma in qualche modo vantaggiosi in termini sopraindividuali [Libertini 2012]. L'idea che un carattere dannoso per l'individuo non possa mai essere favorito dalla selezione naturale rappresenta una concezione della selezione naturale che esclude erroneamente la possibilità che un gene dannoso per l'individuo possa essere favorito da meccanismi di selezione sopraindividuale [Libertini 2012, 2014a]. La considerazione della selezione naturale sopraindividuale e dei fenomeni fenoptotici è il concetto fondamentale che consente di proporre l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*.

--- La *Cessation of Somatic Growth* e la *Historical h.* non esprimono alcuna considerazione su questo argomento.

4.4.5 - Effetti della restrizione calorica sulla durata della vita

È stato dimostrato da molto tempo [McCay et al. 1935] e confermato in tempi recenti [Masoro 2005; Speakman e Mitchell 2011; Mattison et al. 2012; Ribarič 2012; Lee e Min 2013; Longo e Mattson 2014] che animali di diversa origine allevati in condizioni di restrizione calorica (CR) mostrano una durata di vita più lunga rispetto agli animali nutriti *ad libitum*.

Per molti studiosi, ciò dimostra una chiara relazione tra CR e aumento della durata della vita. Tuttavia, sono state proposte altre interpretazioni: (i) l'alimentazione *ad libitum* è un fenomeno artificiale mentre la condizione normale (cioè quella esistente in natura) è la CR: "invece di confrontare animali di controllo con animali soggetti a restrizioni, stiamo in effetti confrontando animali eccessivamente nutriti con altri adeguatamente nutriti e, non a caso, quelli troppo nutriti muoiono più giovani." [Austad 2001]; (ii) L'alimentazione *ad libitum* è iperalimentazione, che riduce la possibilità di una lunga durata della vita perché induce varie condizioni patologiche [Ribarič 2012; Masoro 2005]; e (iii) la maggiore durata della vita è un artefatto di laboratorio perché la CR in natura non aumenterebbe la longevità [Adler e Bonduriansky 2014].

In effetti, in due studi controllati sull'uomo, (i) la restrizione calorica proteggeva dallo sviluppo di obesità, ipertensione, malattie cardiovascolari e cancro [Al-Regaiey 2016]; e (ii) la restrizione calorica unita ad alti livelli di attività fisica ha determinato una diminuzione della pressione sanguigna, dei livelli di colesterolo nel siero e dell'insulina, del peso corporeo e di altri parametri fisiologici [Walford et al. 1992]. Tuttavia, queste alterazioni o malattie contro le quali era efficace

la restrizione calorica erano il risultato di stili di vita insalubri ai quali la nostra specie non è adattata. Pertanto, questi studi hanno dimostrato che una restrizione calorica si opponeva agli effetti dannosi di stili di vita insalubri, ma non erano affatto sufficienti per dimostrare che potevano determinare una riduzione dei ritmi dell'invecchiamento in condizioni di vita sane.

--- Per la *Disposable Soma h.* l'invecchiamento è la conseguenza di risorse limitate che impongono una scelta evoluzionistica nell'allocazione delle risorse, le quali debbono essere divise tra le necessità della riproduzione e quelle di riparazione e manutenzione del corpo. Una facile deduzione è che una riduzione della disponibilità delle risorse dovrebbe determinare una riduzione della durata della vita. Tuttavia, gli effetti della CR sono interpretati come un aumento o come una non riduzione della durata della vita e, in ogni caso, l'evidenza contraddice la previsione della *Disposable Soma h.* di una riduzione della durata della vita. Nel tentativo di risolvere questa contraddizione è stata proposta una speciale variante della teoria [Kirkwood et al. 2000], ma questa soluzione è stata fortemente criticata in quanto inadeguata e insufficiente [Mitteldorf 2001].

--- Al contrario, per l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore di accelerazione dell'evoluzione*, l'invecchiamento non è determinato dalla disponibilità di risorse metaboliche e, quindi, gli effetti della CR non contraddicono questa ipotesi. Ciò non esclude che le condizioni ecologiche a cui una specie non è adattata (ad es., alimentazione eccessiva) possano indurre condizioni patologiche e quindi ridurre la durata della vita [Libertini 2009b].

4.4.6 - Esistenza di mortalità crescente correlata all'età in condizioni naturali

Per molte specie animali esiste un aumento ben documentato della mortalità correlata all'età in età esistenti in condizioni naturali [Libertini 1983; Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013] (Fig. 4.3). In particolare, Nussey et al. hanno sottolineato che l'invecchiamento è comunemente rilevato in condizioni naturali, come evidenziato in 340 studi su 175 specie animali [Nussey et al. 2013].

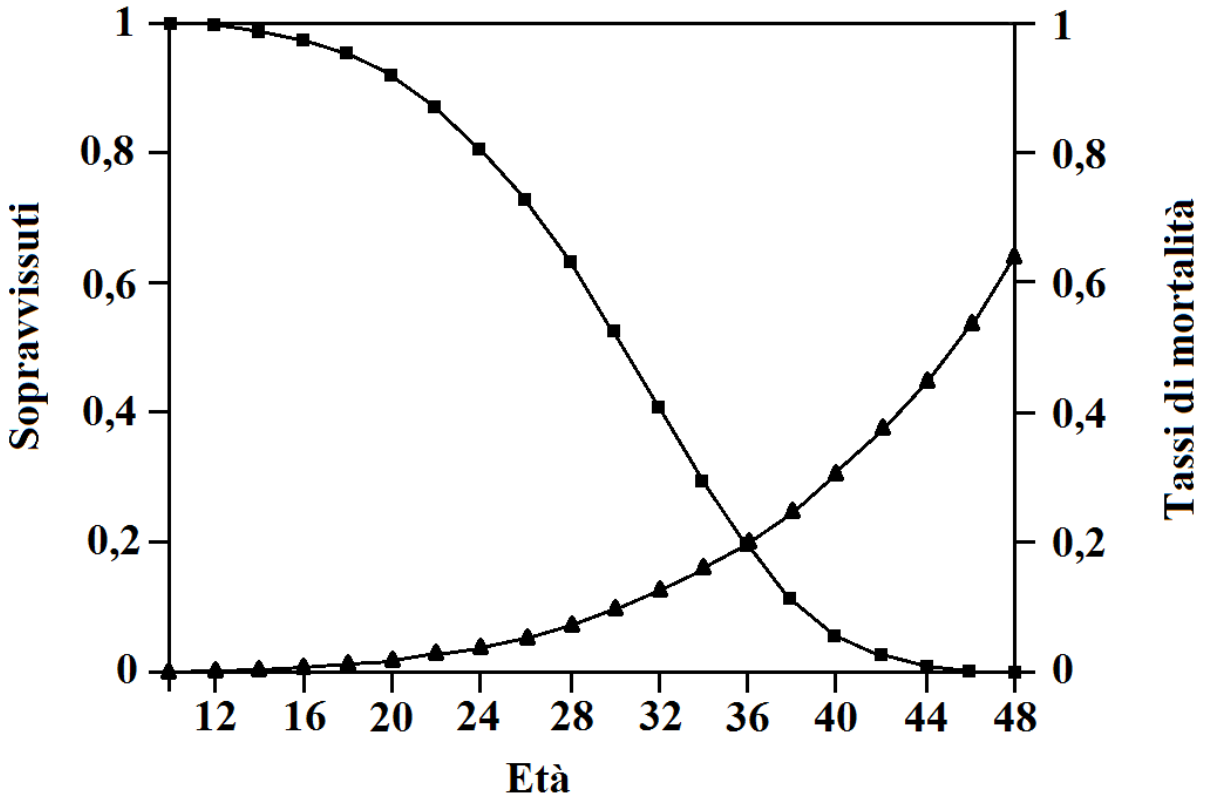


Figura 4.3 – Tabella di sopravvivenza dell'ippopotamo (*Hippopotamus amphibius*) in condizioni naturali. I primi anni di vita, in cui la mortalità è più elevata, sono stati esclusi (dati da [Ricklefs 1998]).

Per la nostra specie, ciò è stato documentato dallo studio di una popolazione umana (il popolo Ache del Paraguay) in condizioni naturali. Le frazioni di individui sopravvissuti alle età di 65, 70 e 75 anni furono rispettivamente del 27%, 20% e 12% (Fig. 4.4) e, tra gli individui non morti prima dei vent'anni, i sopravvissuti alle stesse età furono rispettivamente del 42%, 32% e 18% (Fig. 4.5) (dati da [Hill e Hurtado 1996]).

--- L'esistenza di un aumento della mortalità correlata all'età in natura è una condizione preliminare essenziale per qualsiasi teoria che voglia proporre un significato adattativo per l'invecchiamento. Infatti, nel lavoro che propose la prima teoria dell'invecchiamento adattivo, una necessaria attenzione fu dedicata a documentare, sulla base di studi preesistenti a riguardo di popolazioni animali allo stato selvatico, che un aumento della mortalità correlato all'età era evidente in condizioni naturali [Libertini 1988]. Di conseguenza, l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione* riconosce senza esitazione l'esistenza del fenomeno dell'invecchiamento in natura.

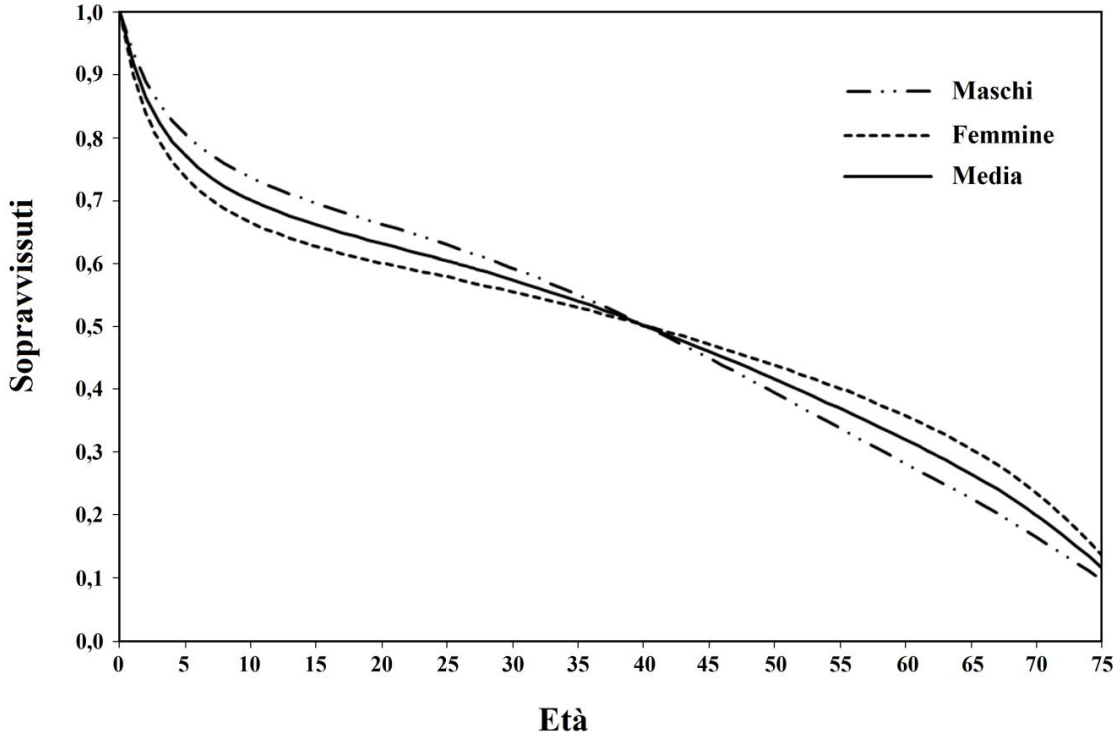


Figura 4.4 - Tabella di sopravvivenza di una popolazione umana (popolo Ache del Paraguay) in condizioni naturali. Dati da [Hill e Hurtado 1996].

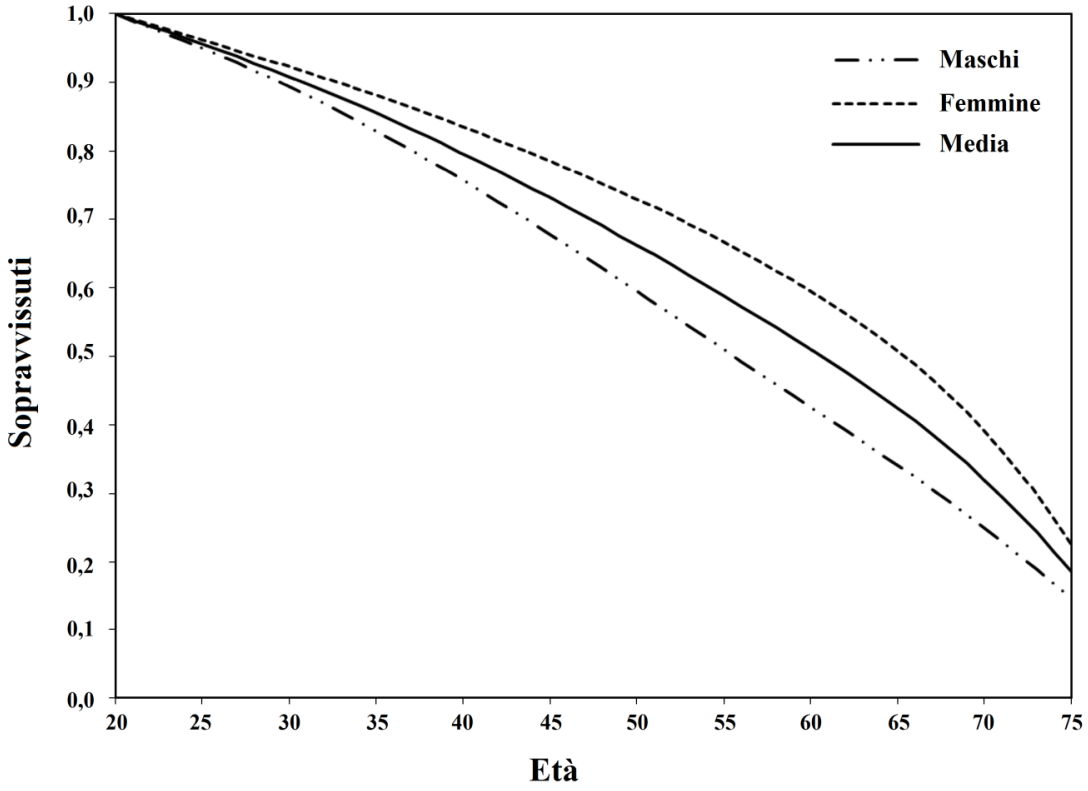


Figura 4.5 - Lo stesso della figura precedente, limitata ai sopravvissuti all'età di 20 anni. Dati da [Hill e Hurtado 1996].

--- Al contrario, da parte di alcuni sostenitori del paradigma dell'invecchiamento non adattativo, la possibilità di un aumento della mortalità correlato all'età in condizioni naturali è minimizzata o negata nella sua possibilità di essere di entità sufficiente da consentire efficacia alla selezione naturale. Per Kirkwood e Austad la senescenza non appare contribuire in modo significativo alla mortalità in condizioni naturali e pertanto la selezione naturale non può influenzare direttamente il fenomeno senescenza [Kirkwood e Austad 2000] (È interessante notare che Austad è fra gli autori di un altro articolo citato [Nussey et al. 2013], che 13 anni dopo ha documentato e sottolineato esattamente il contrario); "I dati sui modelli di mortalità correlati all'età nelle popolazioni di animali selvatici rivelano che, in molte specie, gli individui raramente sopravvivono alle età quando il deterioramento della senescenza diventa evidente [Medawar 1952; Mancanza del 1954; Fringillide 1990]." [Kirkwood 2005]; "Gli aumenti associati alla senescenza nella mortalità correlata all'età sono tutt'altro che onnipresenti e ... anche dove sono stati osservati [Finch 1990; Jones et al. 2008], contribuiscono solo a una percentuale relativamente piccola di morti all'interno della popolazione, ..." [Kirkwood e Melov 2011]. La negazione o la sottovalutazione dell'esistenza dell'invecchiamento in condizioni naturali deriva forse da un grave malinteso. È chiaro e indiscutibile che gli individui in uno stato avanzato di invecchiamento (ad esempio l'equivalente di un centenario o di un uomo di novant'anni) non sono praticamente in grado di sopravvivere in condizioni naturali e pertanto gli individui così anziani sono raramente o mai osservabili in natura. Il fraintendimento è considerare la condizione di questi individui come sinonimo di invecchiamento e dimenticare che l'invecchiamento è definito come il declino progressivo correlato all'età nella capacità di sopravvivenza (vale a dire la crescente mortalità) e non è sinonimo delle manifestazioni più avanzate di tale declino.

--- L'esistenza di specie che mostrano un aumento della mortalità correlata all'età in condizioni selvatiche non è negata dalla *Cessation of Somatic Growth h.* e dalla *Historical h.*

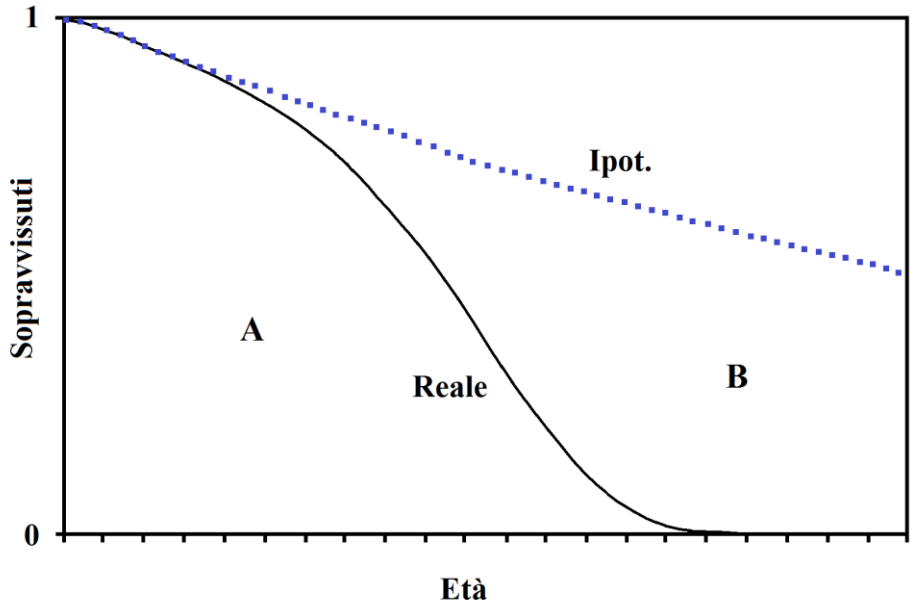


Figura 4.6 - La curva "Reale" indica la tabella di sopravvivenza reale di una specie che mostra un aumento della mortalità correlata all'età. La mortalità complessiva di questa tabella di sopravvivenza è data dalla somma della mortalità estrinseca (m_0), considerata costante a tutte le età (sono escluse le prime età con maggiore mortalità) e mortalità intrinseca (m_i) dovuta all'invecchiamento e che quindi mostra aumento correlato all'età. La curva "Ipot." indica una ipotetica tabella di sopravvivenza con lo stesso m_0 mentre m_i è uguale a zero (cioè, non vi è aumento della mortalità correlata all'età). La curva Reale delimita l'area A, l'area B è lo spazio tra le curve Reale e Ipot., e la curva Ipot. delimita la somma delle aree A e B. Il termine P_s, porzione di decessi dovuti all'invecchiamento, indica il rapporto B/(A+B).

4.4.7 - Nel confronto tra specie, relazione inversa tra mortalità estrinseca e proporzione di morti dovute a mortalità intrinseca

Tra le specie che in natura mostrano un aumento della mortalità correlata all'età (cioè l'invecchiamento), una relazione inversa tra mortalità estrinseca (o ambientale) (m_0) e porzioni di decessi dovuta all'aumento della mortalità correlata all'età (*proportion of senescent deaths*, P_s [Ricklefs 1998]) è nota [Ricklefs 1998]. Il concetto è illustrato nella Fig. 4.6). L'inclusione di dati provenienti da una popolazione umana studiata in condizioni naturali [Hill e Hurtado 1996] è conforme a questa relazione inversa [Libertini 2013] (Fig. 4.7).

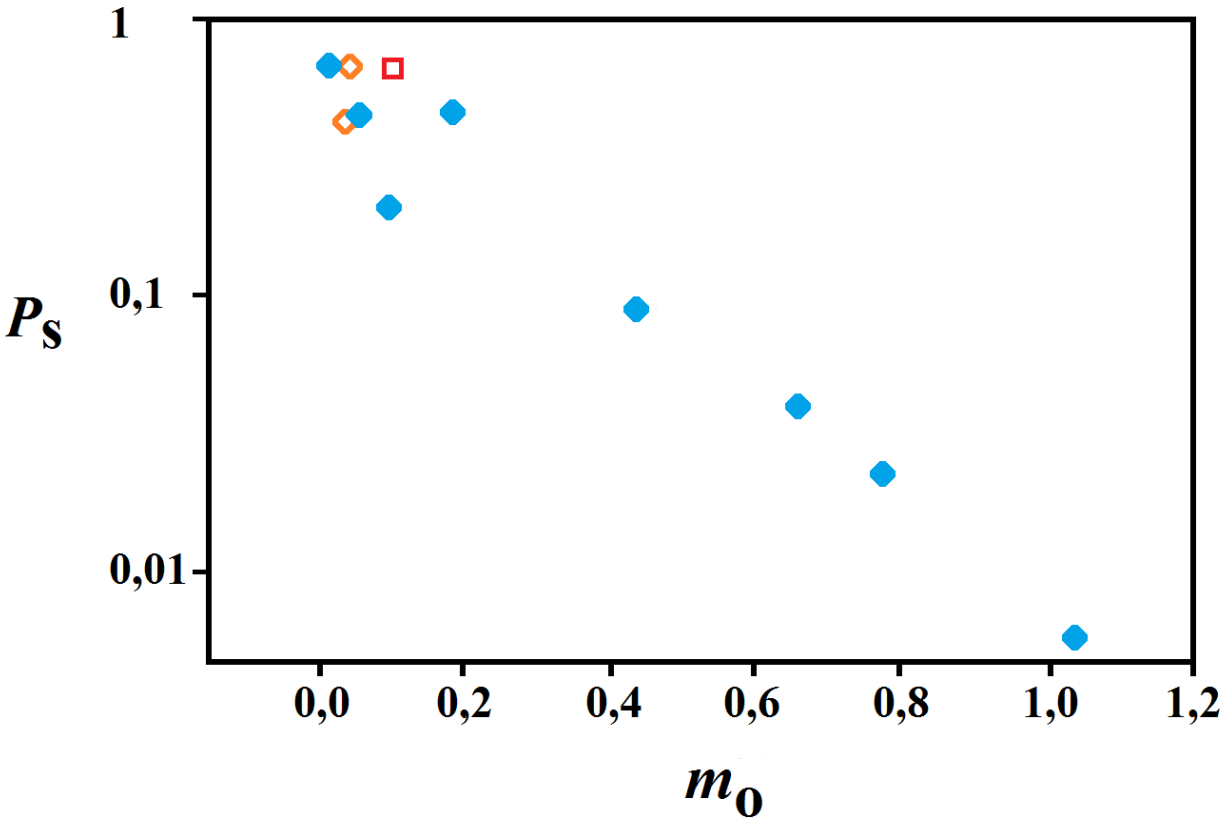


Figura 4.7 - La figura mostra la relazione inversa, nei dati da alcune specie di mammiferi e uccelli, tra la mortalità estrinseca (m_0) e la porzione di decessi (P_s) dovuta alla mortalità intrinseca (m_i), vale a dire i decessi dovuti all'invecchiamento. Ordinate in scala logaritmica; rombi aperti = specie di mammiferi; rombi solidi = specie di uccelli; quadrati aperti = il popolo Ache in condizioni naturali (dati per le specie di mammiferi e uccelli da [Ricklefs 1998], dati per il popolo Ache da [Hill e Hurtado 1996]; figura di [Libertini 2013], ridisegnata).

--- La prima teoria che propose un significato adattativo per l'invecchiamento, suggeriva anche che un'alta mortalità ambientale avrebbe ridotto il vantaggio ipotizzato di una durata media della vita più breve causata dall'invecchiamento. Pertanto, nel confronto tra le specie, si prevedeva che la maggiore mortalità ambientale sarebbe stata associata a una minore riduzione della durata della vita dovuta all'invecchiamento ("effetto Matusalemme" [Libertini 1983, 1988]). Questo effetto paradossale fu proposto sulla base di argomentazioni teoriche senza sufficienti prove empiriche. Solo alcuni anni dopo, nel 1998, Ricklefs, mentre cercava di documentare la relazione diretta tra mortalità estrinseca e la "proporzione di morti senescenti" (P_s) predetta dalle teorie dell'invecchiamento non adattativo, documentò inaspettatamente la relazione inversa prevista dall'anzidetta teoria dell'invecchiamento adattativo (Fig. 4.7): "La senescenza riduce la durata media della vita solo del 2% quando m_0 = 1,0 anni^{-1} ma di quasi l'80% quando m_0 = 0,01 anni^{-1}" [Ricklefs 1998]. Il fatto che Ricklefs stesse cercando di documentare una relazione diretta per sostenere la previsione delle teorie dell'invecchiamento non adattativo, ma trovò il contrario di quello che stava cercando, è chiaramente dimostrato dalla contraddizione tra il titolo del suo articolo ("Teorie evoluzionistiche dell'invecchiamento: conferma di una previsione fondamentale, con implicazioni per la base genetica e l'evoluzione della durata della vita") e quanto l'autore dichiara poi nel testo: "Pertanto, l'osservazione qui riportata dell'aumento della mortalità correlata alla senescenza in popolazioni con struttura progressivamente più anziana (inferiore tasso di mortalità iniziale, o m_0) contraddice due ipotesi popolari (mutation accumulation e antagonistic genetic pleiotropy) per la base genetica dell'invecchiamento negli

uccelli e nei mammiferi. L'ipotesi di riparazione della senescenza [vale a dire, la *Disposable Soma h.*] potrebbe essere coerente con i modelli osservati di mortalità correlata all'invecchiamento se le variazioni genetiche per le capacità di riparazione diminuissero con l'aumentare dell'età di espressione del deterioramento fisiologico." [Ricklefs 1998] In effetti, Ricklefs cercò di salvare solo la *Disposable Soma h.* suggerendo la necessità di un'ipotesi *ad hoc* che ha il sapore di un rappezzo di emergenza.

La stessa relazione inversa tra mortalità estrinseca e P_s fu predetta diversi anni dopo da un modello il quale mostrava che l'invecchiamento era vantaggioso in popolazioni strutturate nello spazio [Mitteldorf e Martins 2014]. Come già suggerito in un precedente articolo ("l'ipotesi adattativa ... appare indispensabile per spiegare la correlazione inversa osservata tra mortalità estrinseca e la proporzione di morti dovute alla mortalità intrinseca" [Libertini 2008]), fu osservato nello stesso lavoro di Mitteldorf e Martins che questa relazione inversa, in chiara contraddizione con le previsioni delle ipotesi dell'invecchiamento non adattativo, era necessariamente una previsione comune di tutte le teorie dell'invecchiamento adattativo: "questa relazione complementare tra mortalità di fondo e senescenza determinata dall'evoluzione è caratteristica delle teorie adattative dell'invecchiamento. Un alto tasso di mortalità di fondo porta a una *più lunga* durata della vita determinata dall'evoluzione. Ciò contrasta con le teorie classiche, in cui un alto tasso di mortalità di fondo porta a una *più breve* durata della vita determinata dall'evoluzione." [Mitteldorf e Martins 2014]

--- Le teorie del paradigma dell'invecchiamento non adattativo sostengono che: "Il principale determinante nell'evoluzione della longevità è previsto essere il livello di mortalità estrinseca. Se questo livello è alto, l'aspettativa di vita in natura è breve, la forza della selezione si indebolisce rapidamente, gli effetti genetici deleteri si accumulano nelle età precedenti e c'è poca selezione per un alto livello di manutenzione del soma. Di conseguenza, si prevede che l'organismo abbia vita breve anche se studiato in un ambiente protetto. Al contrario, se il livello di mortalità estrinseca è basso, si prevede che la selezione posticiperà gli effetti genetici deleteri e indirizzerà maggiori investimenti nello sviluppo e nella manutenzione di un soma duraturo" [Kirkwood e Austad 2000]. Pertanto, esiste una chiara contraddizione tra la previsione del paradigma dell'invecchiamento non adattativo e la relazione inversa osservata tra la mortalità estrinseca e la proporzione di morti dovute all'invecchiamento. Tuttavia, nessuna spiegazione compatibile con l'ipotesi dell'invecchiamento non adattativo è stata mai proposta per la suddetta relazione inversa.

--- La *Cessation of Somatic Growth h.* e la *Historical h.* non prevedono l'anzidetta relazione inversa e non appaiono compatibili con essa.

4.4.8 - Impossibilità di spiegare il declino correlato all'età della capacità di sopravvivenza come conseguenza di geni dannosi a una certa età

La *Mutation Accumulation h.* propone che il decadimento generale delle funzioni fisiologiche (vale a dire l'invecchiamento) è determinato da molti geni dannosi che esprimono i loro effetti nocivi nelle età maggiori quando pochi individui sopravvivono e quindi il valore riproduttivo è piccolo. Di conseguenza, poiché l'eliminazione di questi geni per selezione naturale è insufficiente, gli effetti delle loro azioni non possono essere evitati e l'organismo invecchia. Un forte argomento teorico contro questa ipotesi fu formulato nello stesso articolo in cui fu proposta la prima teoria adattativa dell'invecchiamento [Libertini 1988] e fu confermato in lavori successivi [Libertini 2015a; Libertini et al. 2017]. Poiché questo argomento non è mai stato invalidato ed è importante per una valutazione dell'accettabilità della *Mutation Accumulation h.*, è opportuno menzionarlo brevemente qui.

Come premessa è necessario ricordare che la frequenza di equilibrio dell'espressione fenotipica di un gene (P_e) tra un allele dannoso (C) e il suo allele neutro (C') è data dalle formule:

$$P_e = v/[s] \qquad (4.1)$$

se C è recessivo, e

$P_e \approx v/[s]$ (4.2)
se C è dominante (dove: v = frequenza di mutazione di C'-> C, mentre la mutazione inversa, C -> C', viene ignorata; per queste formule, si veda l'Appendice).
Definiamo come "gene t" un ipotetico gene che porta un danno -s al tempo t ed è neutro prima dell'età t. Poiché ogni gene t è dannoso solo per i sopravvissuti al tempo t (Y_t), la selezione naturale è efficace in funzione di (s Y_t) e le formule (4.1) e (4.2) diventano:
$P_e \approx v/([s]\ Y_t)$ (4.3)

Ora, data una specie con un tasso di mortalità costante (λ) a qualsiasi età (vale a dire che non invecchia), la domanda è se un gran numero di geni t potrebbe determinare una tabella di sopravvivenza simile a quella di una specie con un aumento della mortalità correlata all'età.

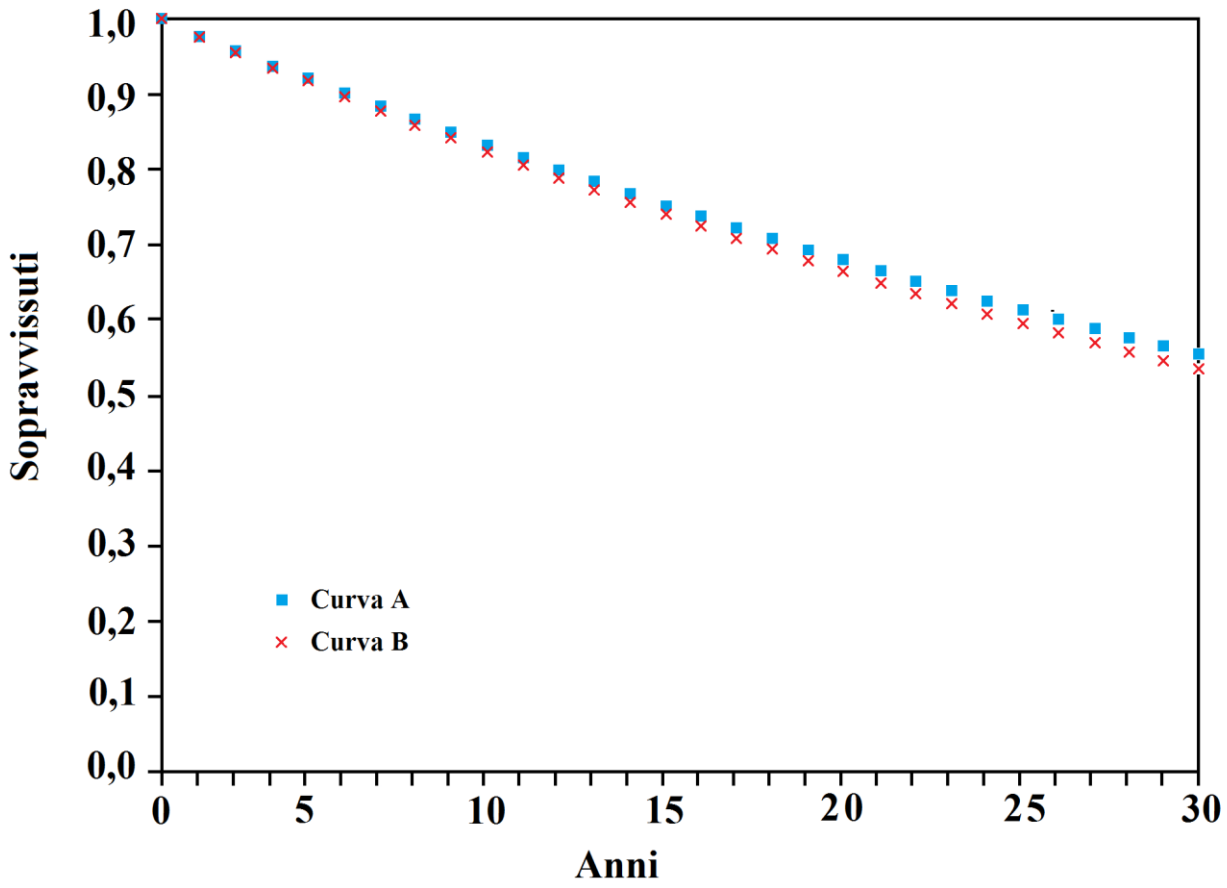


Figura 4.8 - Curva A: tabella di sopravvivenza ideale ottenuta con la formula 4.4 (λ = 0,02). Curva B: effetti sulla curva A di molti geni t ottenuta con la formula 4.5, con i valori λ = 0,02; m = 1000; v = 0,000001.

La tabella di sopravvivenza della specie senza gli effetti dei geni t è data dall'equazione:
$Y_{t+1} = Y_t\ (1 - \lambda)$ (4.4)

Se vi sono m t-geni che agiscono al momento 1, altrettanti geni al tempo 2 e così via, ognuno dei quali causa un danno pari a -s (per semplicità si presume che tutti i geni t siano ugualmente dannosi), i sopravvissuti a qualsiasi tempo t + 1 saranno:
$Y_{t+1} = Y_t\ (1 - \lambda - m\ s\ P_e) \approx Y_t\ (1 - \lambda - m\ v/Y_t)$ (4.5)

Va notato che nell'equazione (4.5) *s* è assente ed è quindi irrilevante per il calcolo di Y_{t+1}. Inoltre, poiché la frequenza della mutazione (*v*) è presumibilmente molto piccola, la diminuzione di Y_t in ciascuna unità di tempo sarà minima fino a quando il valore di Y_t non diventa piuttosto piccolo.
Le Figg. 4.8 e 4.9 illustrano le modifiche causate da un gran numero di geni t su una tabella di sopravvivenza ipotetica con una mortalità costante. La Fig. 4.10 mostra: A) la tabella di sopravvivenza reale in condizioni naturali di una specie che invecchia (*Panthera leo*); B) la stessa tabella di sopravvivenza senza l'aumento della mortalità dovuta all'invecchiamento, ovvero solo con una mortalità estrinseca costante; C) la curva B più gli effetti di molti ipotetici geni t (1.000 per ciascun anno). Le cifre mostrano che gli effetti di un gran numero di geni t non determinerebbero una tabella di sopravvivenza simile a quella di una specie che invecchia.

--- La *Mutation Accumulation h*. spiega l'invecchiamento come l'effetto di molti geni t, ma l'argomento precedentemente descritto mostra che anche un gran numero di geni t non determinerebbe una tabella di sopravvivenza simile a quella di una specie che invecchia.

--- Nessun'altra teoria ipotizza i geni t come causa dell'invecchiamento e quindi l'argomento è indifferente per loro.

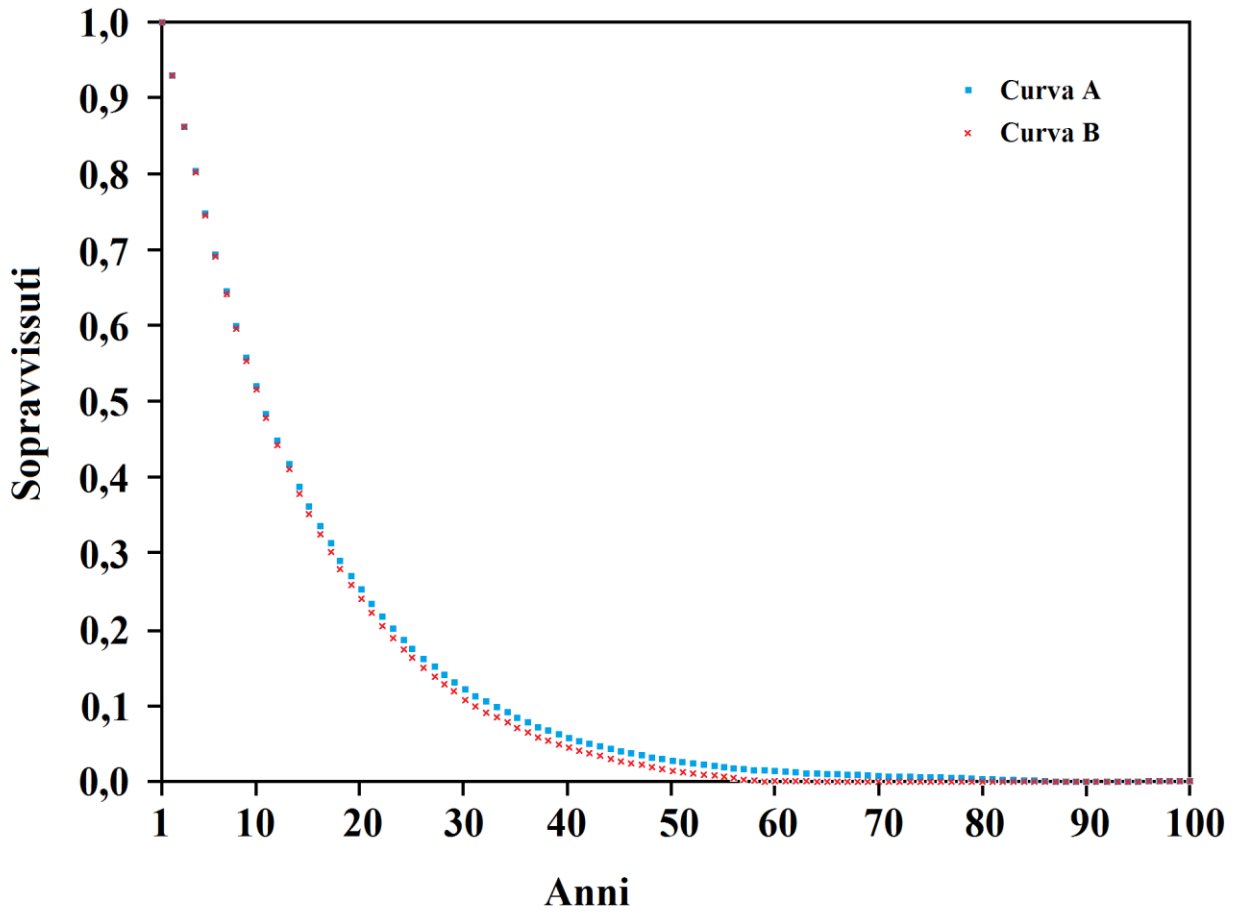


Figura 4.9 - Curva A: tabella di sopravvivenza ideale ottenuta con la formula 4.4 (λ = 0,07). Curva B: effetti sulla curva A di molti geni t, ottenuti con la formula 4.5, con i valori λ = 0,07; m = 1000; *v* = 0,000001.

In breve, la proposta della *Mutation Accumulation h.* che l'invecchiamento è causato da molti geni t appare del tutto inaccettabile. Tuttavia, c'è un corollario interessante. Poiché la selezione naturale non può eliminare un gene t che esercitasse la sua azione ad età non esistenti in natura, una specie che non mostra alcun aumento di mortalità in condizioni naturali, in condizioni artificiali e in età successive a quelle esistenti in natura, potrebbe mostrare un aumento della mortalità correlata all'età a causa di geni t che in nessun modo possono essere eliminati dalla selezione naturale. Comunque, la previsione teorica di una "increasing mortality with increasing chronological age in captivity

(IMICAC)" (aumento della mortalità con l'aumento dell'età cronologica in cattività), riguarda un fenomeno che è diverso dall'invecchiamento e non deve essere confuso con esso [Libertini 1988].

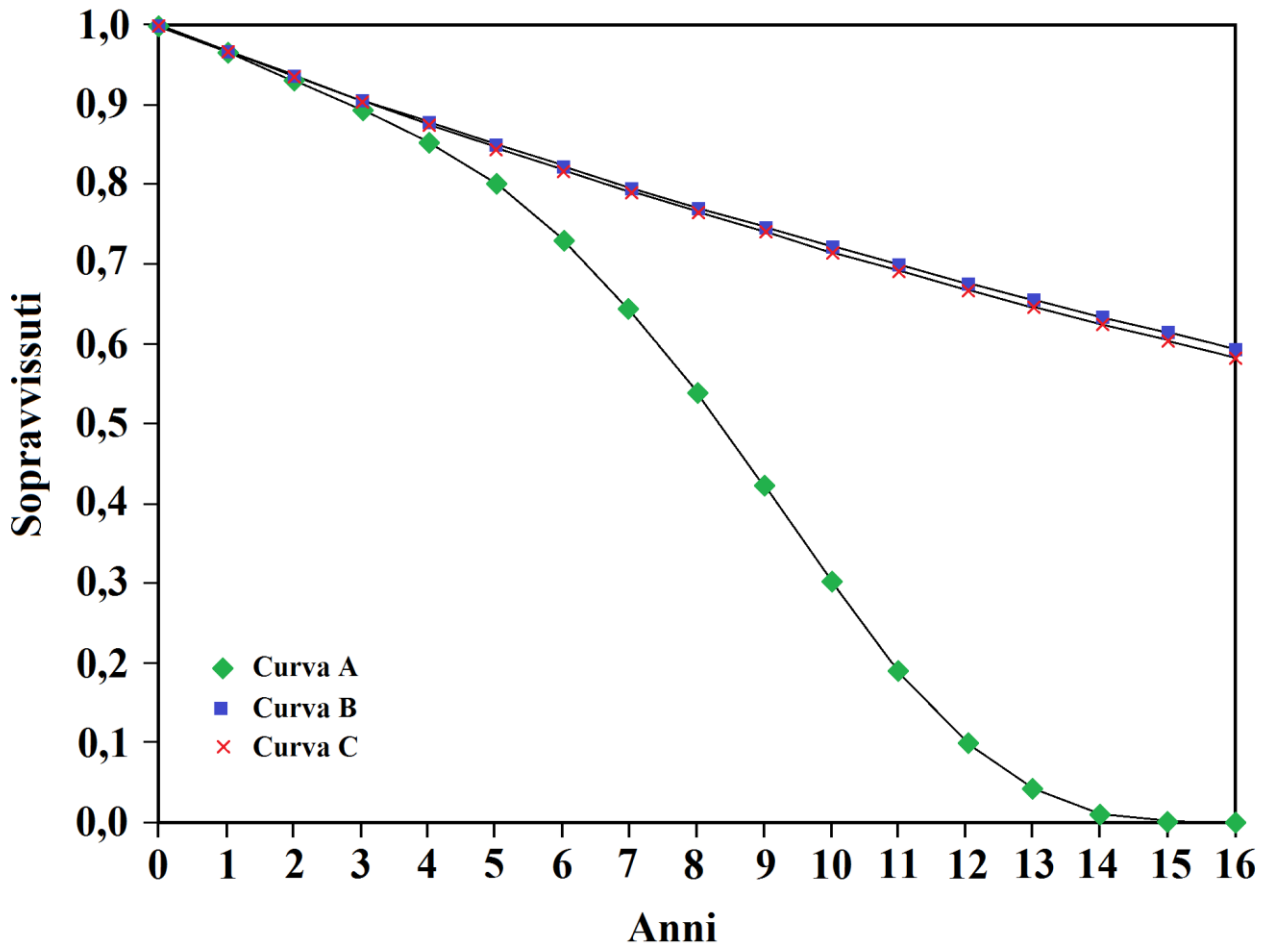


Figura 4.10 - Effetti ipotetici di molti geni t sulla tabella di sopravvivenza di una specie reale. Curva A = tabella di sopravvivenza allo stato selvatico di *Panthera leo*, con i tassi di mortalità descritti dall'equazione di Weibull ($m_t = m_0 + \alpha\ t^{\beta}$) e i valori $m_0 = 0{,}032$; $\alpha = 0{,}000252$; $\beta = 3$; ottenuti da Ricklefs [Ricklefs 1998]; Curva B = tabella di sopravvivenza ipotetica che mostra la curva A senza alcun aumento della mortalità correlata all'età, ovvero solo con una mortalità estrinseca costante ($m_0 = 0{,}032$); Curva C = tabella di sopravvivenza ipotetica che mostra gli effetti sulla curva B di molti geni t (m = 1000; $v = 0{,}000001$).

4.4.9 - Declino progressivo correlato all'età delle capacità di turnover cellulare

Per questa e le seguenti due sottosezioni, a riguardo dell'evidenza empirica ivi menzionata, verrà proposta solo una breve esposizione, facendo riferimento al prossimo *Capitolo 5 – Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento* per una discussione più precisa.

Le cellule possono morire per necrosi (causata da vari eventi quali traumi, ischemia, infezione, etc.) o per vari tipi di morte cellulare programmata (*programmed cell death*, PCD), ad es.: (i) cheratinizzazione delle cellule dell'epidermide e dei capelli; (ii) distacco di cellule dalle mucose delle cavità corporee; (iii) trasformazione degli eritroblasti in eritrociti successivamente rimossi da macrofagi; e (iv) apoptosi, un processo ordinato di autodistruzione in cui le parti cellulari non sono dannose ma vengono utilizzate da altre cellule. L'apoptosi, a volte erroneamente usata come sinonimo di PCD, fu differenziata dalla necrosi osservando epatociti normali [Kerr et al. 1972]. Questo fenomeno è essenziale per il ricambio cellulare in organi adulti sani ed è documentato per molti tessuti e organi [Libertini 2009a].

Vi è una continua eliminazione delle cellule per azione di fenomeni di PCD, che in un normale organismo giovane è perfettamente bilanciata dalla proliferazione di cellule staminali specifiche: "Ogni giorno, nell'adulto medio, circa 50-70 miliardi di cellule muoiono a causa della morte cellulare programmata (PCD) [vale a dire circa 690.000 cellule al secondo!]. La morte cellulare nei tessuti autorinnovantesi, come la pelle, l'intestino e il midollo osseo, è necessaria per fare spazio ai miliardi di nuove cellule prodotte quotidianamente. Il flusso di cellule attraverso i nostri corpi è così massiccio che, in un anno tipico, ognuno di noi produrrà e, in parallelo, sradicherà una massa di cellule pari a quasi tutto il nostro intero peso corporeo." [Reed 1999]
La velocità del turnover cellulare varia notevolmente a seconda del tipo di cellula e dell'organo: "... l'osso ... ha un tempo di turnover di circa dieci anni nell'uomo ..." [Alberts et al. 2014] e, per il cuore, se "i miociti morenti non venissero costantemente sostituiti, l'intero organo scomparirebbe in ≈4,5 anni" [Anversa et al. 2006] mentre per "l'epitelio intestinale, ... le cellule vengono sostituite ogni 3-6 giorni". [Alberts et al. 2014] (per altri tipi di cellule si veda [Richardson et al. 2014]).
Il turnover cellulare è la regola nei vertebrati, ma non è così per tutti gli animali (ad esempio, lo stadio adulto del verme *Caenorhabditis elegans* non mostra ricambio cellulare e ha un numero fisso di cellule) [Finch 1990].
Il turnover cellulare è frenato dai limiti delle capacità di replicazione cellulare, per la prima volta dimostrati da Hayflick [Hayflick e Moorhead 1961, Hayflick 1965]. Olovnikov e poi Watson suggerirono che il numero finito di duplicazioni poteva essere spiegato dal fatto che la molecola di DNA si accorcia ad ogni duplicazione il che avrebbe limitato le replicazioni possibili [Olovnikov 1971; Watson 1972]. Inoltre, Olovnikov ipotizzò un enzima indispensabile (in seguito chiamato telomerasi) che avrebbe ripristinato la lunghezza dei telomeri e permesso infinite duplicazioni [Olovnikov 1973].
Successivamente fu dimostrato che la parte terminale della molecola di DNA (telomero) era una semplice sequenza ripetuta di nucleotidi [Blackburn e Gall 1978]. Come previsto da Olovnikov, la scoperta della telomerasi, che aggiungeva altre sequenze nucleotidiche, fu una spiegazione necessaria per le cellule, come quelle della linea germinale, capaci di innumerevoli divisioni [Greider e Blackburn 1985].
Fu anche dimostrata la regolazione della telomerasi da parte di proteine particolari [van Steensel e de Lange 1997] e, per molti tipi di cellule, un accorciamento dei telomeri legato all'età [Takubo et al. 2010].
Inoltre, fu osservato che i tipi cellulari senza turnover cellulare (ad es., i fotorecettori della retina e i neuroni del sistema nervoso centrale) dipendono da altre cellule con turnover che rinnovano attivamente le loro parti critiche. Il declino di queste cellule satelliti spiegherebbe bene il decadimento delle celle servite [Libertini 2009a].
L'invecchiamento può essere descritto come il risultato del graduale declino del ricambio cellulare, con conseguente atrofia progressiva di tutti i tessuti e organi [Libertini 2009a; Libertini 2014b], associato all'aumento percentuale delle cellule (i) in senescenza cellulare o (ii) in senescenza cellulare graduale (vedi sotto). In ogni caso, il ricambio cellulare e il suo progressivo declino sono chiaramente soggetti a una regolazione genetica che è certamente molto complessa e sofisticata.

--- Qualsiasi teoria che suggerisca un significato adattativo per l'invecchiamento deve prevedere e, in effetti, richiedere che l'invecchiamento sia determinato e regolato geneticamente. Ciò significa la previsione di meccanismi specifici che riducono progressivamente l'efficienza dell'organismo e causano una mortalità crescente correlata all'età. Pertanto, i suddetti fenomeni non contraddicono le ipotesi di invecchiamento adattivo e, al contrario, sono essenziali per la loro plausibilità [Libertini 2008].

--- Per le ipotesi di invecchiamento non adattativo l'esistenza di meccanismi, chiaramente determinati geneticamente e modulati, che alterano progressivamente le funzioni dell'organismo e aumentano la mortalità non può avere come spiegazione l'accumulo casuale di effetti dannosi di qualsiasi tipo. Pertanto una diversa e plausibile interpretazione è assolutamente necessaria per la possibile validità di queste teorie.

È stato proposto che i limiti delle capacità di replicazione cellulare siano una difesa generale dell'organismo contro il cancro [Campisi 1997, 2003; Troen 2003; Wright e Shay 2005].
Tuttavia, questa ipotesi non spiega le specie che non mostrano alcun declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età (specie con senescenza trascurabile, *negligible senescence* [Finch 1990]) e contemporaneamente, in correlazione all'età, nessun declino nell'attività della telomerasi e nessun aumento della mortalità per cancro [Klapper, Heidorn et al. 1998; Klapper, Kühne et al. 1998; Libertini 2008]. Inoltre, per la nostra specie studiata in condizioni naturali, poiché l'aumento della mortalità legata all'età, cioè l'invecchiamento, uccide quasi tutti gli individui prima che il cancro possa essere una causa significativa di morte, è insostenibile che una possibile difesa contro il cancro uccida prima che la malattia inizi a essere una causa significativa di morte [Libertini 2013]. Altre forti obiezioni a questa spiegazione sono state evidenziate con la chiara conclusione che l'ipotesi della restrizione della telomerasi per prevenire il cancro e quindi aumentare la durata della vita è "certamente falsa" [Mitteldorf 2013].

Per questo e i seguenti due argomenti:

--- La *Cessation of Somatic Growth h.* propone un meccanismo alquanto diverso (il "regolatore" di Bidder, che agirebbe quando la crescita si ferma), ma non vi è alcuna conferma empirica.

--- La *Quasi-Programmed Aging h.* proporre un meccanismo opposto (un programma di sviluppo che non può essere disattivato e la cui continuazione è dannosa), per il quale non esistono prove.

--- La *Historical h.* non fa previsioni e qualsiasi meccanismo potrebbe essere compatibile con questa ipotesi.

4.4.10 – Il programma della senescenza cellulare

Le cellule passano dalla condizione in cui possono duplicarsi ("stato ciclico"), a una condizione in cui la duplicazione non è consentita ("stato non ciclico"), mediante un meccanismo che viene attivato con una probabilità che aumenta proporzionalmente all'accorciamento dei telomeri [Blackburn 2000]. Questo blocco della capacità replicativa insieme a un'alterazione generale della funzionalità cellulare costituisce uno specifico complesso meccanismo caratterizzato da modifiche stereotipate, un "programma cellulare fondamentale" definito come senescenza cellulare [Ben-Porath e Weinberg 2005].

Le cellule senescenti mostrano complesse modifiche del trascrittoma, che causano alterazioni di molte funzioni cellulari. Anche le secrezioni cellulari nell'ambiente intercellulare sono compromesse (fenotipo secretorio associato alla senescenza, *senescence-associated secretory phenotype*, SASP) e questo è dannoso per altre cellule e per le funzioni dei tessuti e organi a cui appartengono le cellule [Campisi e d'Adda di Fagagna 2007]. Inoltre, "... le cellule umane indotte a senescere dallo stress genotossico secernono una miriade di fattori associati a infiammazione e malignità." [Coppé et al. 2008] e, nei topi, l'eliminazione selettiva delle cellule senescenti ha determinato: (i) un aumento della durata della vita; (ii) meno cambiamenti dipendenti dall'età; e (iii) una progressione ritardata del cancro [Baker et al. 2016].

La senescenza cellulare induce anche un accumulo di danno ossidativo e una minore resistenza alle sostanze ossidanti. Tuttavia, il danno causato dall'ossidazione è chiaramente una conseguenza e non la causa della senescenza cellulare [Fossel 2004]. Inoltre, l'innesco del programma della senescenza cellulare e delle sue manifestazioni, incluso il danno ossidativo, è inibito se viene attivato l'enzima telomerasi [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998].

--- Per le ipotesi sull'invecchiamento non adattativo, l'esistenza del programma della senescenza cellulare, che è sicuramente determinato e regolato da geni specifici e contribuisce fortemente alle manifestazioni dell'invecchiamento, non ha spiegazioni plausibili. L'azione oncogenica della senescenza cellulare [Coppé et al. 2008; Baker et al. 2016] rende insostenibile la possibile ipotesi che il fenomeno faccia parte di una difesa contro il cancro. Le obiezioni prima presentate contro il progressivo declino legato all'età delle capacità di turnover cellulare come difesa contro il cancro dovrebbero essere aggiunte a questo argomento. L'assenza di una giustificazione

accettabile per la senescenza cellulare compatibile con le ipotesi di invecchiamento non adattativo è un argomento forte contro la loro validità.

--- Al contrario, la senescenza cellulare, come parte di un macchinario complesso che riduce progressivamente capacità di sopravvivenza, è perfettamente compatibile con il paradigma dell'invecchiamento adattivo.

4.4.11 – La senescenza cellulare graduale

Negli organismi eucariotici multicellulari, l'accorciamento progressivo dei telomeri determina lo scivolamento di un "cappuccio" eterocromatinico che copre il telomero nella porzione cromosomica adiacente, definita subtelomero. Ciò provoca "un'alterazione della trascrizione da porzioni del cromosoma immediatamente adiacente al complesso telomerico, causando di regola un silenziamento della trascrizione, ... Questi geni silenziati possono a loro volta modulare altri geni (o insiemi di geni) più distanti." [Fossel 2004, pag. 50]

Nel lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), un eucariota unicellulare, esiste un meccanismo analogo. In questa specie, dove la telomerasi è sempre attiva, nelle cellule della linea madre ad ogni duplicazione si accumulano circoli di DNA ribosomiale extracromosomiale (*extrachromosomal ribosomal DNA circles*, ERC) sul subtelomero [Sinclair e Guarente 1997]: "... diverse linee di evidenza suggeriscono che l'accumulo di ERC è un fattore determinante per la durata della vita ..." e, proporzionalmente al numero di duplicazioni, sono evidenti crescenti alterazioni metaboliche [Lesur e Campbell 2004]. Inoltre, nei lieviti mutanti *tlc1Δ*, che sono carenti di telomerasi, i telomeri si accorciano ad ogni duplicazione e le cellule della linea figlia, le quali non mostrano accumulo di ERC, hanno un trascrittoma simile a quello degli individui non mutanti della linea madre [Robin et al . 2014].

Questo fenomeno, definito come "effetto telomerico di posizione" (*telomere position effect* [Gottschling et al. 1990]), o meglio come "senescenza cellulare graduale" (*gradual cell senescence* [Libertini 2015a], sarà discusso in dettaglio nel prossimo *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento*.

--- Per le teorie dell'invecchiamento non adattativo, poiché l'invecchiamento è considerato sempre come contrastato dalla selezione naturale, è inspiegabile e inverosimile che sequenze nucleotidiche con importanti funzioni regolatorie generali siano nella posizione subtelomerica dove sono maggiormente esposte alla repressione conseguente all'accorciamento dei telomeri con disregolazione di geni essenziali per la cellula. Analogamente al progressivo declino correlato all'età delle capacità di turnover cellulare e alla senescenza cellulare, non esiste una giustificazione accettabile per la senescenza cellulare graduale che sia compatibile con le teorie dell'invecchiamento non adattativo.

--- Al contrario, la senescenza cellulare graduale, analogamente al declino progressivo correlato all'età delle capacità di turnover cellulare e alla senescenza cellulare, è perfettamente compatibile con il paradigma dell'invecchiamento adattivo, essendo parte di un complesso meccanismo che riduce progressivamente la capacità di sopravvivenza.

4.4.12 - Valutazione generale degli anzidetti argomenti e evidenze empiriche

La corrispondenza tra le ipotesi considerate a riguardo dell'invecchiamento e le varie argomentazioni teoriche o i dati empirici prima presentati è riassunta nella Tabella 4.1.

--- La *Red Queen h.* può essere considerata una variante dell'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione* con l'aggiunta di un postulato non necessario (vedi argomento 1). Pertanto, verrà presa in considerazione solo per gli argomenti 1 (Assenza di postulati improbabili) e 2 (Universalità dell'invecchiamento) in cui vi sono importanti differenze tra le due ipotesi.

--- Tutte le ipotesi, esclusa l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*, richiedono postulati improbabili. Questo è un forte argomento contro la loro plausibilità.

--- La maggior parte delle ipotesi, escluse la *Cessation of Somatic Growth h.*, la *Historical h.* e l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*, non offrono una valida spiegazione per l'esistenza di specie che non invecchiano.

--- La maggior parte delle ipotesi, esclusa l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*, e forse alcune *Damage Accumulation hypotheses*, non offrono una valida spiegazione per la variazione dei tassi di invecchiamento nel confronto tra le specie. La *Cessation of Somatic Growth h.* potrebbe giustificare alcune variazioni del tasso di invecchiamento sulla base delle differenze di accrescimento.

--- Le seguenti teorie: *Damage Accumulation Hypotheses*, *Mutation Accumulation h.*, *Antagonistic Pleiotropy h.*, *Disposable Soma h.*, *Quasi-Programmed Aging h.*, *Cessation of Somatic Growth h.* e *Historical h.* non prendono in considerazione la selezione naturale sopraindividuale e i fenomeni fenoptotici.

--- Gli effetti della restrizione calorica sulla durata della vita contraddicono le previsioni della *Disposable Soma h.*

--- Dalla maggior parte delle ipotesi, escluse la *Cessation of Somatic Growth h.*, la *Historical h.* e l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*, l'esistenza di una crescente mortalità correlata all'età in condizioni naturali è minimizzata o considerata troppo debole per influenzare l'invecchiamento.

--- La relazione inversa (nel confronto tra le specie) tra mortalità estrinseca e proporzione di morti dovute a mortalità intrinseca contraddice la previsione opposta delle teorie *Damage Accumulation Hypotheses*, *Mutation Accumulation h.*, *Antagonistic Pleiotropy h.*, *Disposable Soma h.* e *Quasi-Programmed Aging h.*. Per altre due teorie, la *Cessation of Somatic Growth h.* e la *Historical h.* non esiste una previsione opposta ma esse non appaiono compatibili con la relazione inversa osservata. Solo l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione* predice l'anzidetta relazione inversa.

--- L'impossibilità di spiegare il declino correlato all'età della capacità di sopravvivenza come conseguenza di geni che sono dannosi a una certa età è un forte argomento forte contro la *Mutation Accumulation h.*

--- L'esistenza di fenomeni quali: (i) declino progressivo correlato all'età delle capacità di turnover cellulare; (ii) programma di senescenza cellulare; e (iii) senescenza cellulare graduale; che causano un progressivo declino della capacità di sopravvivenza, è contraria alle previsioni delle teorie *Damage Accumulation Hypotheses*, *Mutation Accumulation h.*, *Antagonistic Pleiotropy h.*, *Disposable Soma h.*, *Quasi-Programmed Aging h.* e *Cessation of Somatic Growth h.* Meccanismi che causano un declino della fitness correlato con l'età sono previsti dall'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione* e sono essenziali per questa tesi. Inoltre, essi non sono previsti dalla *Historical h.*, sebbene non siano chiaramente incompatibili con questa ipotesi.

Nel complesso, come valutazione generale, solo l'*Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione* appare una teoria sostenibile, confermata da prove empiriche e non invalidata da argomentazioni teoriche (v. Tabella 4.1). Essa sarà esposto nella prossima *Sezione 4.5 – Teoria dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione*.

Tabella 4.1 - Corrispondenza tra le ipotesi considerate e l'evidenza empirica o argomentazioni teoriche

	DA	**MA**	**AP**	**DS**	**CSG**	**QPA**	**H**	**RQ**	**AFE**
1) Assenza di inverosimili postulati	N	N	N	N	N	N	N	N	S
2) Non universalità dell'invecchiamento	N	N	N	N	S	N	S	N	S
3) Variazione dei ritmi di invecchiamento nel confronto tra le specie	N/-	N	N	N	S/-	N	N	(S)	S
4) Considerazione della selezione naturale sopraindividuale e dei fenomeni	N	N	N	N	N	N	N	(S)	S

fenoptotici									
5) Effetti della restrizione calorica sulla durata della vita	-	-	-	N	-	-	-	(S)	S
6) Esistenza di mortalità crescente correlata all'età in condizioni naturali	N	N	N	N	Y	N	S	(S)	S
7) Nel confronto fra specie, relazione inversa tra mortalità estrinseca e proporzione di morti dovute a mortalità intrinseca	N	N	N	N	N	N	N	(S)	S
8) Impossibilità di spiegare il declino correlato all'età della capacità di sopravvivenza come conseguenza di geni dannosi a una certa età	-	N	-	-	-	-	-	(S)	S
9) Declino progressivo correlato all'età della capacità di turnover cellulare	N	N	N	N	N	N	-	(S)	S
10) Programma di senescenza cellulare	N	N	N	N	N	N	-	(S)	S
11) Senescenza cellulare graduale	N	N	N	N	N	N	-	(S)	S

Abbreviazioni: DA=*Damage Accumulation hypotheses*; MA=*Mutation Accumulation h.*; AP=*Antagonistic Pleiotropy h.*; DS=*Disposable Soma h.*; CSG = *Cessation of Somatic Growth h.*; QPA=*Quasi-Programmed Aging h.*; H=*Historical h.*; RQ=*Red Queen h.*; AFE= *aging as an accelerating factor of evolution h.* (Ipotesi dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione)
N = non spiegato o previsto dall'ipotesi o in contrasto con le sue previsioni;
- = irrilevante per accettare o rifiutare l'ipotesi;
S = previsto dall'ipotesi o compatibile con essa.

4.5 – Teoria dell'invecchiamento come fattore accelerante dell'evoluzione

L'ipotesi che l'invecchiamento è favorito dalla selezione naturale in quanto accelera il ricambio generazionale e di conseguenza il ritmo dell'evoluzione è stata proposta più volte.
A parte le intuizioni di Weissmann [Weismann 1889, 1891] e Leopold [Leopold 1961] che in qualche modo anticiparono l'ipotesi, la prima teoria finita che propose un valore adattativo dell'invecchiamento fu formulata negli anni '80 e si basava sul meccanismo di selezione di parentela [Libertini 1983 , 1988].
Nel 2004 [Travis 2004] e nel 2011 [Martins 2011], l'ipotesi fu riproposta in forme diverse e utilizzando complessi modelli.
Travis scrisse: "Riporto i risultati di un modello spaziale basato sull'individuo in cui un'età programmata per la morte può evolversi. In una popolazione che si mescola liberamente con dispersione globale, l'evoluzione seleziona per gli individui con una durata della vita sempre crescente. Tuttavia, in una popolazione spazialmente strutturata con dispersione localizzata, si evolve un'età programmata per la morte. L'evoluzione dell'età esatta della morte dipende in modo critico dalla scala di dispersione. All'interno di questo modello, gli individui sono geneticamente programmati per morire, anche se sono ancora in grado di riprodursi. Questi risultati suggeriscono che la morte può essere adattativa e offrono una spiegazione per l'evoluzione di 'geni della morte'." [Travis 2004]
Inoltre l'autore aggiunge: "Il risultato è dovuto alla strutturazione nello spazio della popolazione che si presenta quando la dispersione è localizzata. Suggerisco che la teoria della selezione di parentela (KS) e il concetto di inclusive fitness forniscano il probabile meccanismo, sebbene, come discusso di seguito, saranno necessari ulteriori lavori per verificarlo." [Travis 2004]
Va notato che il precedente modello di Libertini non è menzionato in questo lavoro e che quindi l'idea è stata probabilmente sviluppata in modo indipendente. Va anche notato che l'autore non sembra essere consapevole delle differenze radicali fra la teoria proposta e la *Mutation Accumulation h.* e la *Antagonistic Pleiotropy h.* e la considera anzi come uno "sviluppo naturale" di queste ipotesi: "Questa teoria della popolazione spazialmente strutturata per l'evoluzione dell'invecchiamento non dovrebbe essere considerata un'alternativa alla teoria della *mutation*

accumulation di Peter Medawar [Medawar 1946, 1952] o alla teoria della *antagonistic pleiotropy* di George Williams [Williams 1957], ma piuttosto come un loro sviluppo naturale. In effetti, entrambe queste teorie ben affermate prevedono il declino della fecondità con l'età che è necessario per far evolvere un gene della morte attraverso il meccanismo descritto in questo articolo. Un lavoro futuro che cerchi di unificare le teorie *mutation accumulation* e *antagonistic pleiotropy* e le teorie KS a riguardo dell'invecchiamento e della morte dovrebbe rivelarsi prezioso." [Travis 2004]
Nel 2011, Martins propose un significato adattativo per l'invecchiamento, in quanto esso permetteva una maggiore velocità di adattamento, attraverso un modello basato su popolazioni strutturate nello spazio: "Qui proporrò un modello per l'invecchiamento basato su ipotesi compatibili con la teoria evoluzionistica: i) la concorrenza è tra individui; ii) esiste un certo grado di località, quindi molto spesso ci sarà competizione tra i genitori e la loro discendenza; iii) le condizioni ottimali non sono stazionarie e la mutazione aiuta ogni specie a rimanere competitiva. Quando le condizioni cambiano, una specie senescente può spingere all'estinzione i concorrenti immortali. Questo risultato controintuitivo deriva dalla potatura causata dalla morte delle persone anziane." [Martins 2011]
Questo autore cita il modello precedente di Travis ma non sembra conoscere il modello proposto da Libertini 23 anni prima. Qualche anno dopo il modello di Martins fu riproposto dallo stesso autore insieme a Mitteldorf e fu osservato tra l'altro che: "Nel 2011, uno di noi ha proposto il primo modello quantitativo basato su questo meccanismo che fa evolvere in modo robusto una durata della vita finita e programmata. Quel modello era basato su una popolazione viscosa in un ambiente in rapido cambiamento. Qui riduciamo questo modello alla sua essenza ed eliminiamo l'assunto del cambiamento ambientale. Concludiamo che non esiste una condizione ovvia in cui questo modello sia irrealistico e che può effettivamente cogliere un importante principio del funzionamento della natura. Suggeriamo che l'invecchiamento può essere compreso nel contesto della emergente scienza dell'evolubilità." [Mitteldorf e Martins 2014]
Queste ultime tre teorie, a parte le differenze nei modelli e nelle conclusioni, presentano alcuni tratti comuni: (i) l'invecchiamento è mostrato come un fenomeno adattativo; (ii) i modelli richiedono popolazioni strutturate spazialmente; e (iii) è prevista una correlazione inversa tra mortalità estrinseca e proporzione di morti dovute all'invecchiamento.
Questa relazione inversa, già prevista nella prima teoria e definita come "effetto Matusalemme" [Libertini 1983, 1988], ebbe nel 1998 la sua prima conferma nei dati di Ricklefs dall'osservazione naturale [Ricklefs 1998], come giustamente sottolineato alcuni anni dopo [Libertini 2006, 2008]. È stata anche prevista nel modello di Travis: "L'evoluzione seleziona per una più precoce morte programmata quando la probabilità di morte è inferiore" [Travis 2004] (Fig. 4.11), e nel modello di Martins, come discusso nel 2014 [Mitteldorf e Martins 2014] (Fig 4.12).
Nell'ultimo articolo fu osservato che questa relazione inversa è una deduzione logica di qualsiasi teoria che propone un significato adattativo per l'invecchiamento: "Abbiamo scoperto che nell'evoluzione la durata della vita varia direttamente con la mortalità *m*, in modo che la mortalità da senescenza tende a integrare la mortalità di fondo. Entrambe contribuiscono al tasso di turnover della popolazione e quindi all'evoluzione (fig. 3). Si noti che questa relazione complementare tra il tasso di mortalità di base e il ritmo di senescenza determinato dall'evoluzione è caratteristica delle teorie adattative dell'invecchiamento. Un alto tasso di mortalità di fondo porta nell'evoluzione a una *più lunga* durata della vita. Ciò contrasta con le teorie classiche, in cui un alto tasso di mortalità di fondo porta nell'evoluzione a una *più breve* durata della vita." [Mitteldorf e Martins 2014].

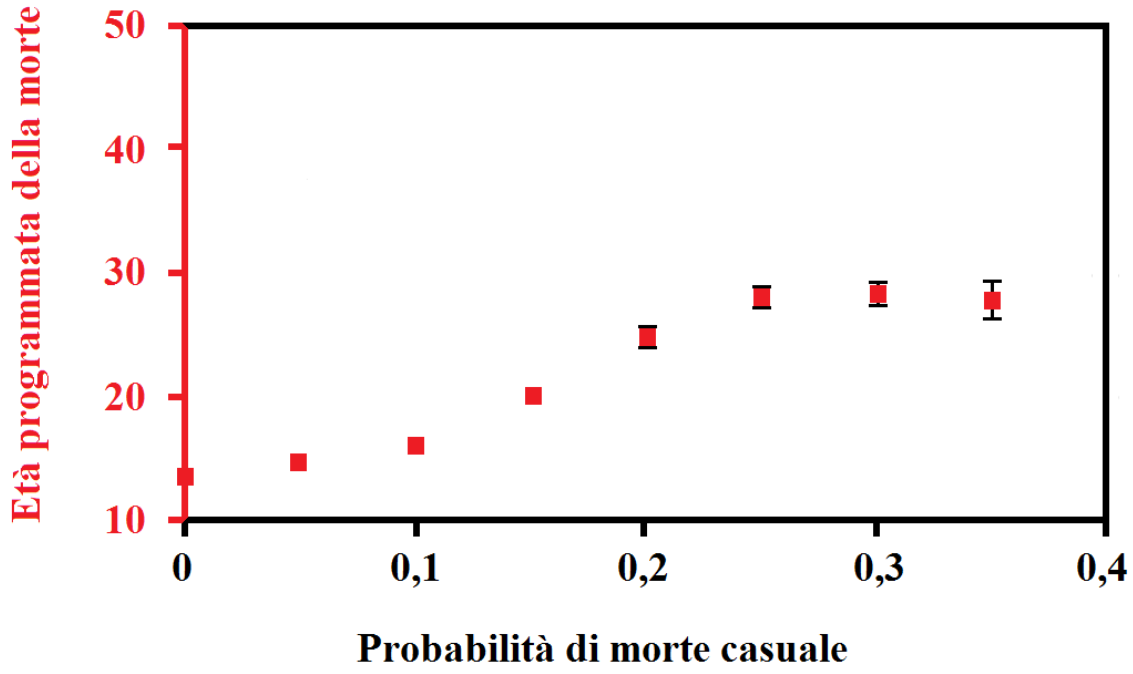


Figura 4.11 - Dalla Fig. 3-B di [Travis 2004], modificata e ridisegnata.

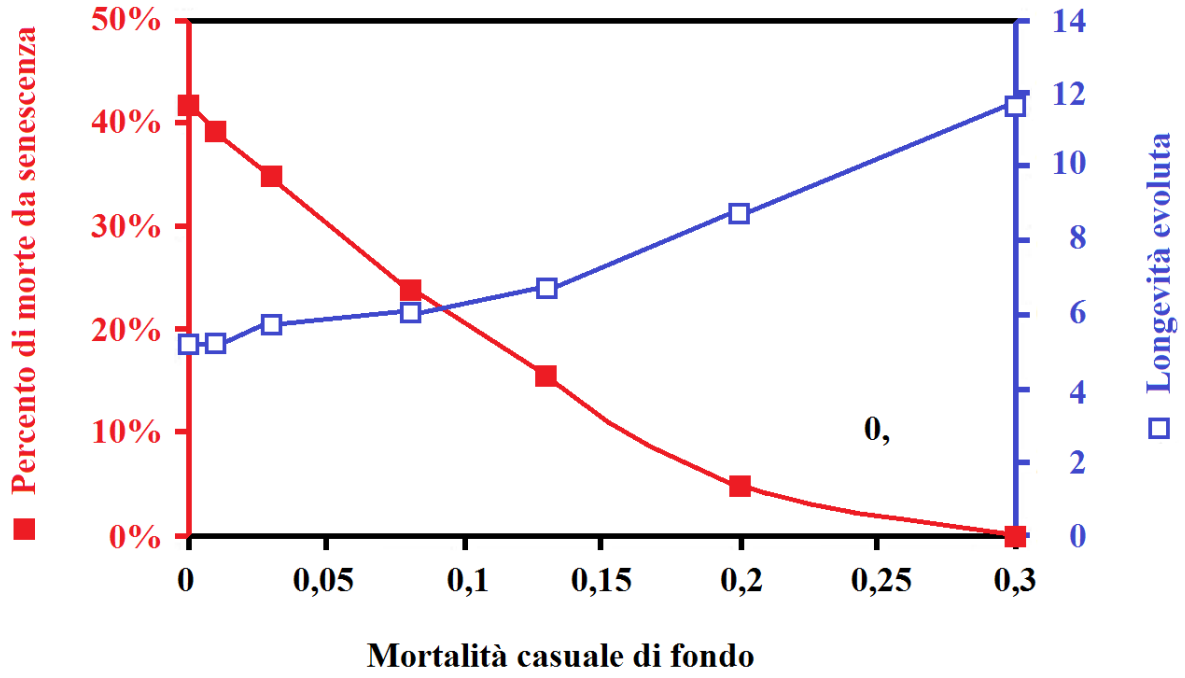


Figura 4.12 - Dalla Fig. 3 di [Mitteldorf e Martins 2014], modificata e ridisegnata. L'intestazione della figura originale dice "Evolved Senescence Falls as Background Death Rate Rises" ("Nell'evoluzione il ritmo della senescenza cade all'aumentare del tasso di mortalità di fondo"), il che significa: la proporzione di morti da senescenza diminuisce con l'aumentare della mortalità estrinseca.

Sia il modello proposto da Travis [Travis 2004] che quello proposto da Martins [Martins 2011] con il successivo più attento esame insieme a Mitteldorf [Mitteldorf e Martins 2014] sono piuttosto

complessi, non facili da descrivere e richiedono specifici programmi di simulazione. Al contrario, il primo modello [Libertini 1988] è facile da descrivere e non richiede complicati programmi di simulazione, poiché anche con un foglio di calcolo è possibile ripetere e verificare i meccanismi proposti. Di conseguenza, solo il primo modello sarà descritto in dettaglio nella prossima *Sezione 4.6 - Teoria dell'invecchiamento mediante meccanismo di selezione di parentela*, mentre per gli altri modelli è consigliabile leggere i lavori originali. Tuttavia, il modello di Travis e il modello di Martins, nonostante le differenze e i suggerimenti di improbabili affinità o di una fusione con alcune popolari teorie non adattative, hanno importanti caratteristiche in comune con la prima teoria proposta nel 1988 [Libertini 1988], come sottolineato sopra.

4.6 - Teoria dell'invecchiamento mediante meccanismo di selezione di parentela

Nell'esposizione di quella che qui viene definita "teoria dell'invecchiamento mediante selezione di parentela" (*kin selection aging theory*), verrà seguito l'ordine logico di come la teoria fu proposta nel 1988 [Libertini 1988].

4.6.1 -Definizioni

Trascurando le prime fasi della vita (sviluppo e crescita dell'individuo), che per varie ragioni di solito hanno un alto tasso di mortalità, il fenomeno di "mortalità crescente con l'aumentare dell'età cronologica in condizioni naturali" è definito come "IMICAW" (da "increasing mortality with increasing chronolagical age in the wild" [Libertini 1988]), o anche come "invecchiamento". Tuttavia, nella seguente esposizione, il termine IMICAW sarà preferito in quanto è puramente descrittivo ed evita possibili equivoci legati al diverso significato a volte attribuito al termine "invecchiamento".

La IMICAW è un fenomeno reale già ben documentato nel 1988 (ad es., tabelle di sopravvivenza di popolazioni studiate in condizioni naturali riportate da [Deevey 1947; Beverton e Holt 1959; Laws 1966, 1968; Laws e Parker 1968; Spinage 1970, 1972]) e che è stato successivamente documentato in misura molto più ampia [Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013].

Se escludiamo le prime fasi della vita, l'incremento del tasso di mortalità di una popolazione IMICAW è approssimativamente descritto dall'equazione di Gompertz-Makeham (vedi [Comfort, 1979]):

$$\lambda_t = \lambda_o \cdot e^{\alpha t} + B \qquad (4.6)$$

dove λ_t = tasso di mortalità al tempo t; λ_o = mortalità al tempo 0; α = costante di pendenza; B = mortalità non specifica per età ("mortalità estrinseca", μ_e) Il termine $\lambda_o \cdot e^{\alpha t}$ è la mortalità specifica per l'età ("mortalità intrinseca", μ_i), che per brevità sarà indicata come "A" .

Quando la derivata del tasso di mortalità supera un valore soglia arbitrario, il tempo (τ*) in cui ciò si verifica sarà definito come l'inizio del periodo di invecchiamento. Il tempo, dopo le prime fasi della vita e prima di τ*, quando il tasso di mortalità è al suo valore più basso (λ_{min} o λ_0) è definito come "τ". La Fig. 4.13 illustra queste definizioni.

Un gene che provoca uno spostamento a sinistra della curva di sopravvivenza e di τ* è detto causare un più precoce IMICAW. Le specie che non mostrano il fenomeno IMICAW (ad esempio, le specie riportate in [Deevey 1947; Beverton e Holt 1959; Bourlière 1957; Comfort 1979]) sono definite come "non IMICAW".

L'abbreviazione "ML" indica la "durata media della vita in condizioni naturali" ("mean duration of life in the wild") degli individui di una popolazione. Per definizione, una specie non IMICAW ha la ML in funzione solo della mortalità estrinseca (B nell'equazione di Gompertz-Makeham), mentre una specie IMICAW ha la ML in funzione sia della mortalità intrinseca ($\lambda_o \cdot e^{\alpha t}$, ovvero, in breve, A nell'equazione di Gompertz-Makeham) che di B. Una specie non IMICAW potrebbe essere considerata una specie IMICAW con $\tau^* = \infty$. La ML di una specie non IMICAW ($\tau^* = \infty$) non è

necessariamente maggiore della ML di una specie IMICAW ($\tau^* << \infty$). Ad esempio, la ML del pettirosso (*Turdus migratorius*), una specie non IMICAW, è stata riscontrata essere 1,01 anni [Deevey 1947], mentre la ML dell'impala (*Aepyceros melampus*), una specie IMICAW, è di 5,8 anni [Spinage, 1972].
Tuttavia, in due specie IMICAW con uguale mortalità estrinseca, quella specie con mortalità intrinseca inferiore, cioè con maggiore τ^*, ha una ML più lunga.

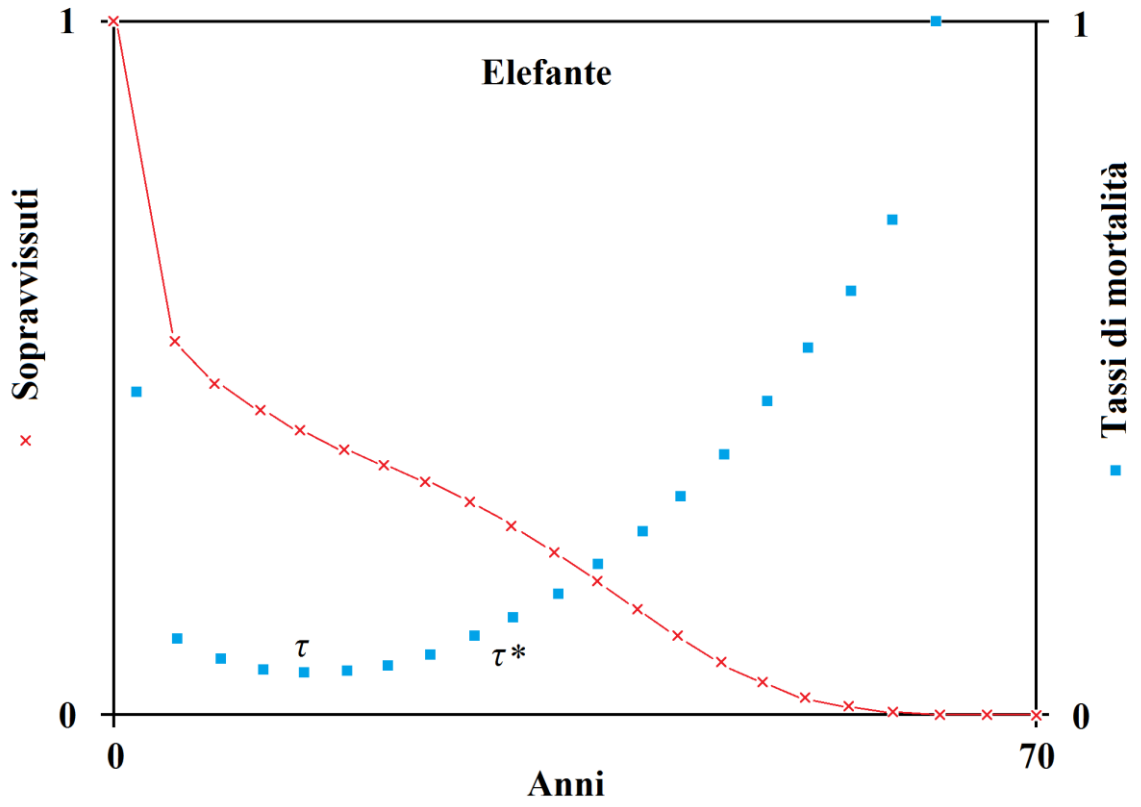


Figura 4.13 - Tabella di sopravvivenza reale in condizioni naturali per l'elefante (*Loxodonta africana*) (dati da [Laws 1966]) e indicazione di τ e τ^*.

Se una specie non IMICAW in cattività, in condizioni artificiali di mortalità inferiore a quella dello stato selvatico, a partire da età mai o assai raramente osservabili in natura, mostra una mortalità crescente correlata all'età, questo fenomeno è definito come "aumento della mortalità con aumento dell'età cronologica in cattività", o in breve"IMICAC" (da "increasing mortality with increasing chronological age in captivity" [Libertini 1988]). Per definizione, la IMICAC è inesistente in natura e, poiché la selezione naturale, per definizione, agisce solo in condizioni naturali, la IMICAC non è soggetta alla selezione naturale e non può avere un valore adattativo. Parimenti, se una specie IMICAW in condizioni artificiali di mortalità inferiore a quella selvatica mostra uno spostamento a destra della curva di sopravvivenza, né lo spostamento né le possibili alterazioni fisiologiche o morfologiche riscontrate negli individui sopravvissuti a età mai o molto raramente osservabili in condizioni naturali possono avere un valore adattativo.

4.6.2 -Il vantaggio evoluzionistico di una vita media (ML) più breve

È possibile descrivere l'evoluzione come la continua diffusione all'interno di una specie di alleli che in qualche modo presentano un vantaggio selettivo. Se consideriamo due specie con ML diversa, le specie con ML più piccola, a parità di ogni altra condizione, mostreranno una maggiore

velocità di diffusione di qualsiasi allele favorevole e si potrebbe ipotizzare che tale specie abbia un "vantaggio". Questo è spiegato in dettaglio come segue.
Per il cambio di frequenza di un allele la successione di un certo numero di generazioni è necessario. Nel caso di allele vantaggioso, favorito dalla selezione naturale, il passaggio da una frequenza x a una frequenza x' (con x < x'), può verificarsi più velocemente per specie con ML più breve. Lo stesso vale nel caso di un allele svantaggioso per il passaggio da una frequenza y a una frequenza y' (con y > y').
Poiché il numero di generazioni in un periodo è inversamente proporzionale alla ML, e poiché la ML è in funzione (in varie proporzioni) sia di A (cioè di τ^*) che di B, si può facilmente dedurre che quando B è uguale per entrambe le specie, la specie con un τ^* più piccolo, avendo un ricambio più rapido di generazioni gode del vantaggio di una diffusione più rapida degli alleli favorevoli e di una più rapida eliminazione degli alleli svantaggiosi, rispetto alla specie con un τ^* maggiore.
La Fig. 4.14 illustra la variazione della velocità di diffusione all'interno di una specie, con un numero costante di individui, di un gene C con vantaggio *s* in base alla variazione del valore di *s*, in confronto con un allele neutro C'. Il valore di ML è costante per tutte le curve (ML = 1). La formula utilizzata è:

$$C_{n+1} = \frac{C_n \cdot (1 + s)}{C_n \cdot (1 + s) + C'_n} = \frac{C_n \cdot (1 + s)}{1 + C_n \cdot s} \qquad (4.7)$$

dove C_n indica la frequenza di C all'ennesima generazione e il denominatore ha la funzione di mantenere costante la somma delle frequenze: $C_n + C'_n = 1$ (per i dettagli su questa e altre formule si veda Appendice - Parte A).

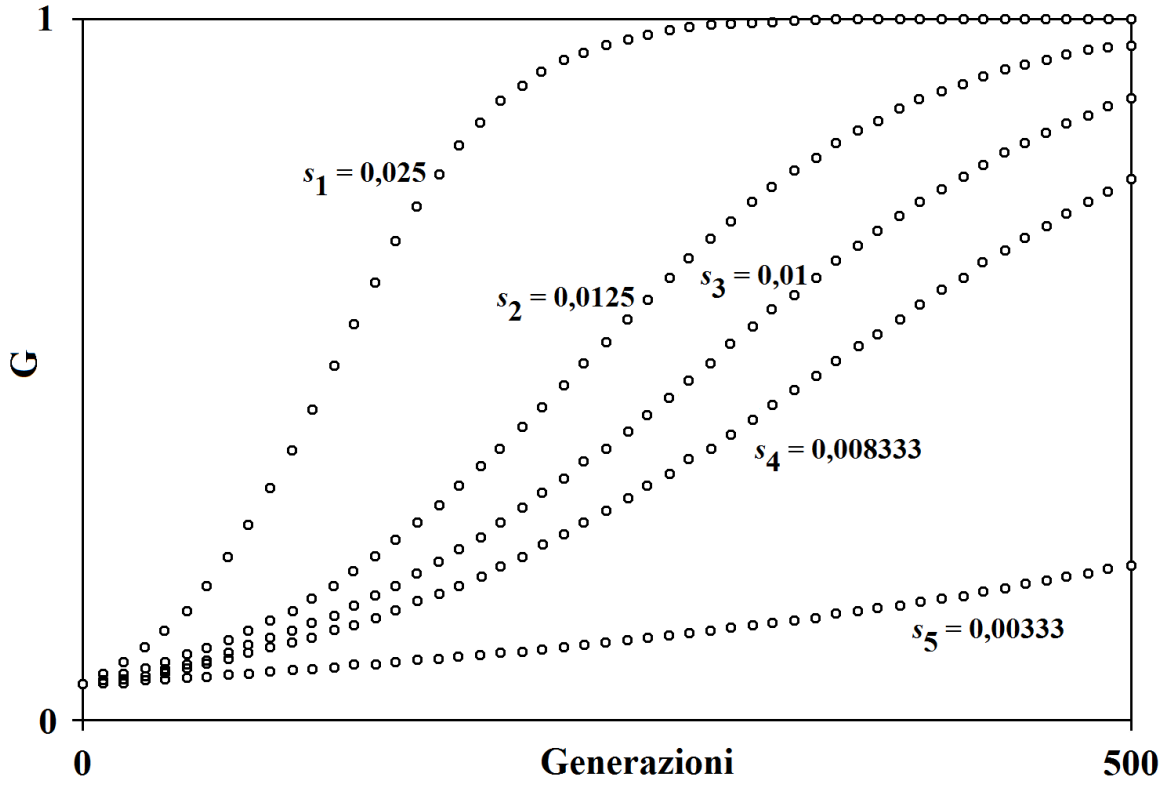


Figura 4.14 - Diffusione di un gene (C) secondo la variazione di *s* (mentre ML è costante, cioè sempre uguale a 1). I valori di *s* sono indicati vicino a ciascuna curva.

Nella Fig. 4.15, la formula utilizzata è la stessa (4.7), ma le ascisse indicano il tempo e non le generazioni. Il vantaggio *s* ha un valore costante, scelto arbitrariamente (*s* = 0,01), per tutte e cinque

le curve, mentre ML ha i valori indicati in figura. Le curve sono morfologicamente uguali a quelle della Fig. 4.14.
Osservando che i valori di *s* nella prima figura seguono la relazione:

$$s_z = 0.01 / ML_z \qquad (4.8)$$

dove ML_z è il valore di ML della curva con lo stesso indice z nella seconda figura, ciò mostra che una ML più piccola o una *s* proporzionalmente maggiore hanno gli stessi effetti sulla velocità di diffusione di un gene favorevole (per i dettagli matematici, si veda Appendice - parte B).
L'ipotesi che una mortalità crescente con l'aumentare dell'età cronologica potrebbe avere un valore adattativo in quanto aumenta il turnover di generazioni, era stata chiaramente espressa alcuni anni prima, sebbene solo in termini qualitativi e per le piante [Leopold 1961].

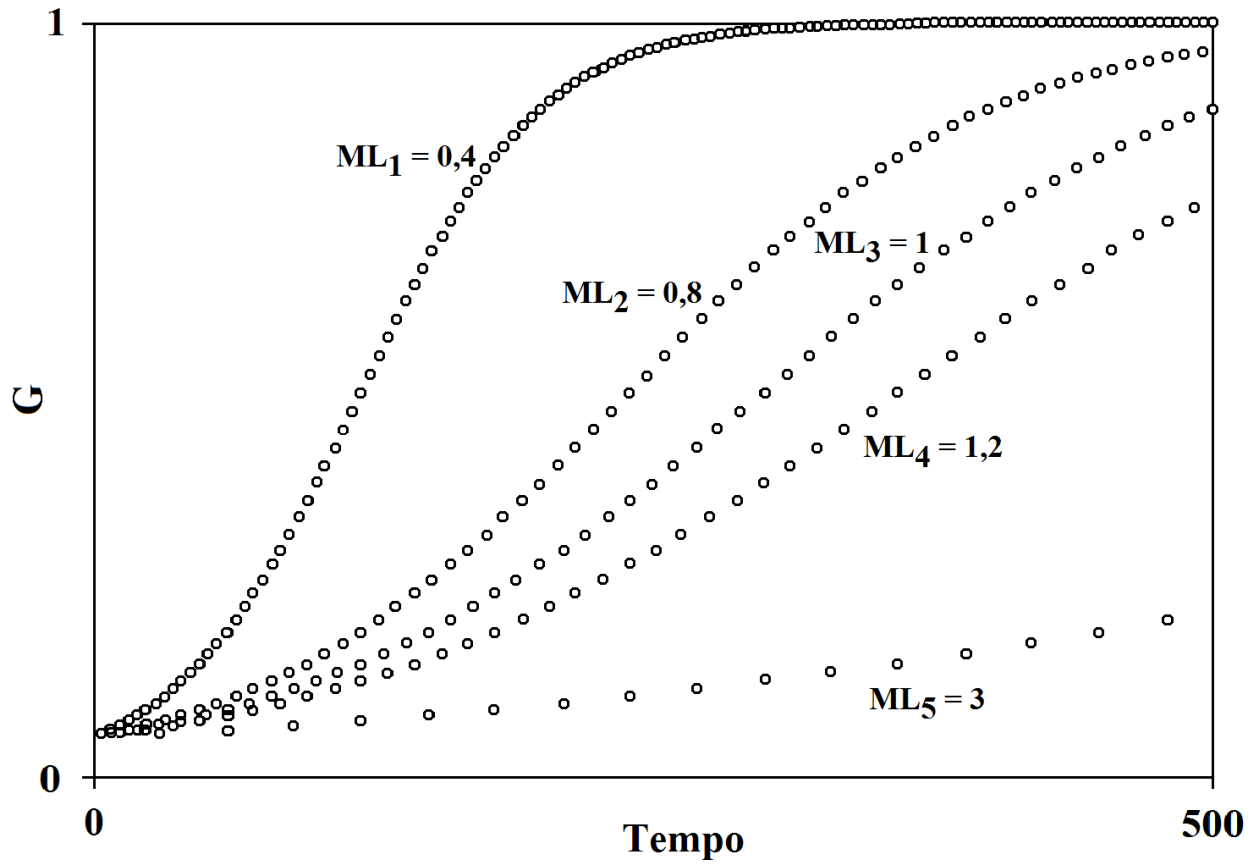


Figura 4.15 - Diffusione di un gene secondo la variazione di ML (mentre *s* è costante, ovvero sempre uguale a 0,01). I valori di ML sono indicati vicino a ciascuna curva.

4.6.3 - Effetti dell'IMICAW sulla ML

Gli effetti del fenomeno IMICAW, o invecchiamento, sui valori della durata media della vita (ML) sono forti e ben documentati dagli studi sulle popolazioni in natura. La tabella 1.1 (*Capitolo 1 - Introduzione*) mostra alcuni dati disponibili già nel 1988 per quanto riguarda le specie studiate in condizioni naturali.
Nella tabella, il rapporto B/A tra una ipotetico ML in assenza di mortalità intrinseca e la ML osservata in natura varia da 1,55 a 3,21 (valore medio = 2,34).
Escludendo poi le prime età della vita (che hanno una mortalità più elevata, non esprimono valore riproduttivo e non sono influenzate dalla mortalità intrinseca), il rapporto D/C tra l'ipotetica ML

rimanente in assenza di mortalità intrinseca e la ML rimanente osservata in natura varia da 2,42 a 5,09 (valore medio = 3,67).
Ciò significa che la mortalità intrinseca, o invecchiamento, dimezza approssimativamente la ML in condizioni naturali (1/2,34 = 0,427). Inoltre, considerando la vita residua degli individui sopravvissuti al tempo τ, l'invecchiamento la riduce a meno di un terzo (1/3,67 = 0,272).
In breve, il fenomeno IMICAW per molte specie riduce notevolmente la ML ed è certamente influenzato in qualche modo dalla selezione naturale.
Le Figure 4.16 e 4.17 illustrano i dati disponibili nel 1988 rispettivamente per la zebra (*Equus burchelli boehmi*) e per il bufalo (*Syncerus caffer*).

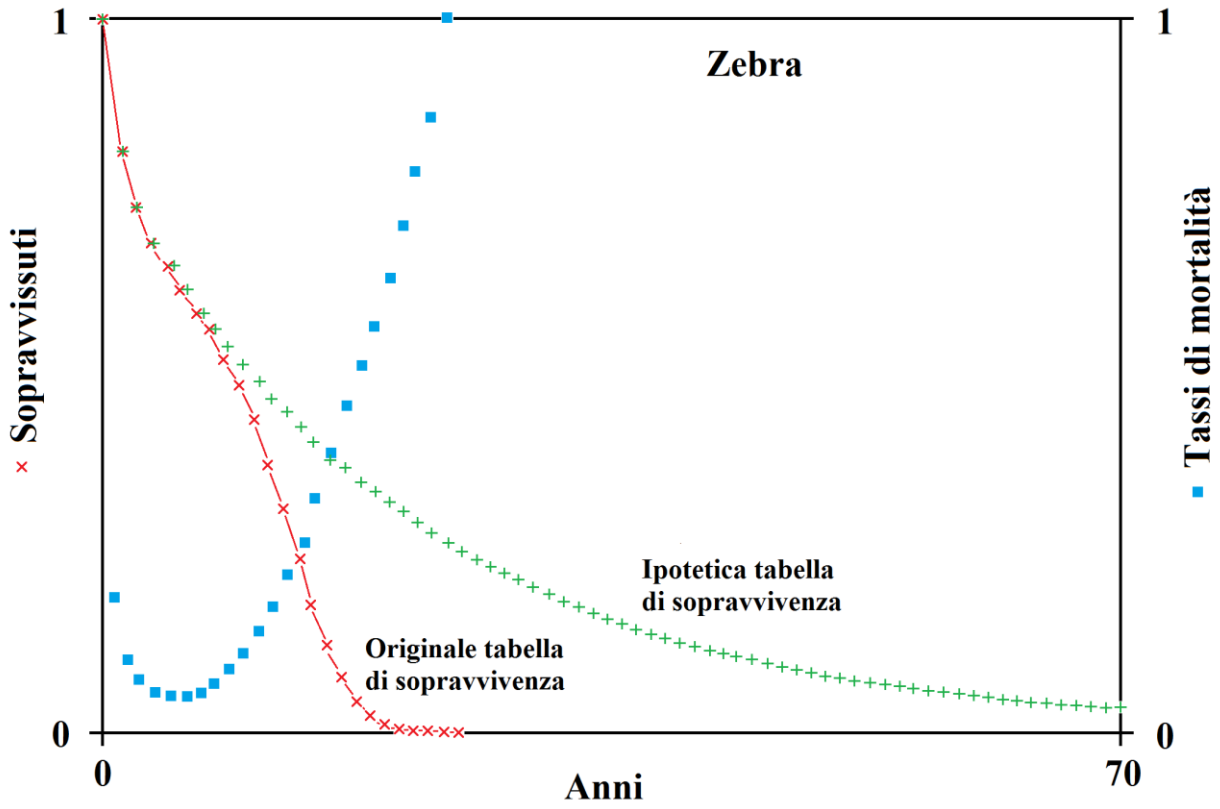


Figura 4.16 - Tabella di sopravvivenza reale in natura per la zebra (*Equus burchelli boehmi*) (dati da [Spinage 1972]) e ipotetica tabella di sopravvivenza in assenza di mortalità intrinseca: τ = 6 anni; mortalità minima (λ_{min}) al tempo τ = 4.63%/anno; ML (A) = 8,48 a.; HML (B) = 17,23 a.; rapporto B/A = 2,03; ML_{τ} - τ (C) = 6,73 a.; HML_{τ} - $_{\tau}$ (D) = 21,55 a.; rapporto D/C = 3,20.

4.6.4 - Stabilità evoluzionistica di un gene che causa IMICAW

La frequenza di un gene è qui definita come evoluzionisticamente stabile quando sono bilanciati gli effetti sulla sua frequenza da parte dell'insorgenza di nuove mutazioni e della selezione naturale in merito a vantaggi e svantaggi dovuti al gene.
Nelle precedenti sottosezioni 4.6.2 e 4.6.3, per il gene C, che determina una ML più breve, abbiamo ignorato gli effetti delle mutazioni e della selezione naturale sulla variazione della sua frequenza all'interno di ciascuna delle due specie. Con questa condizione arbitraria e inverosimile, tra due specie con ML diversa, quella con ML più breve, a parità di altre condizioni, avrà una maggiore velocità di evoluzione e quindi sarà favorita. Tuttavia, questo è un argomento di selezione di gruppo e non dimostra affatto la stabilità evoluzionistica all'interno di una specie di un gene che causa il fenomeno IMICAW.

In effetti, per gli individui con una ML più lunga c'è il sicuro vantaggio di un periodo riproduttivo più lungo e quindi di una maggiore capacità riproduttiva, e questo significa una selezione naturale certamente forte contro qualsiasi gene che causa l'IMICAW.
Una giustificazione per la stabilità di un gene che causa l'IMICAW appare a prima vista un obiettivo difficile o impossibile. Mentre il vantaggio di una maggiore velocità di evoluzione dovuta a un ricambio più rapido delle generazioni sembrerebbe valido solo in un periodo di molte generazioni e per l'intera popolazione, i vantaggi di una ML più lunga, per gli individui non IMICAW o con un IMICAW più tardivo, certamente sono per l'individuo presente. È indiscusso che la selezione naturale è determinata dai vantaggi presenti e non futuri. Inoltre, gli argomenti di selezione di gruppo sembrerebbero insostenibili [Maynard Smith 1964, 1976]. Quindi, in assenza di un vantaggio immediato per un gene che causa l'IMICAW, la selezione naturale eliminerebbe sicuramente un gene che limita in qualche modo la ML e, di conseguenza, l'IMICAW come fenomeno adattativo dovrebbe essere considerato impossibile.

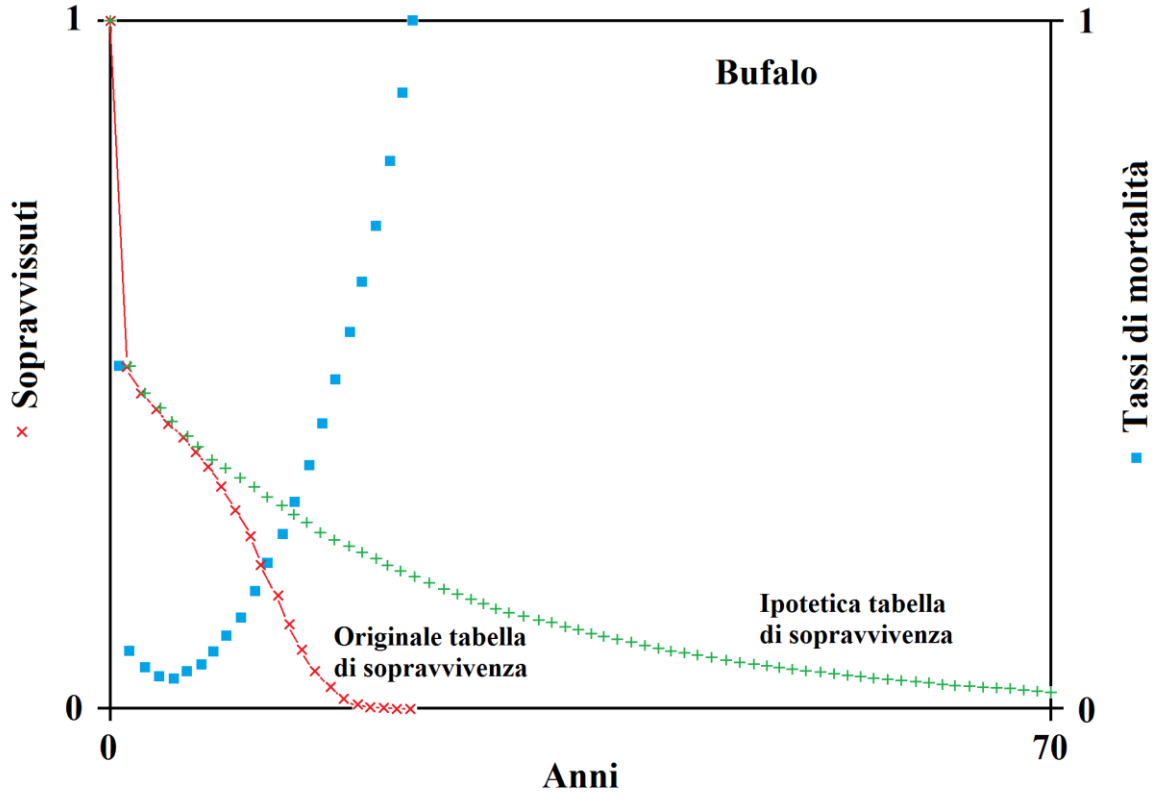


Figura 4.17 – Tabella di sopravvivenza reale in condizioni naturali per il bufalo (*Syncerus caffer*) (dati da [Spinage 1972]) e ipotetica tabella di sopravvivenza in assenza di mortalità intrinseca: τ = 5 anni; mortalità più bassa (λ_{min}) al tempo τ = 4,23%/anno; ML (A) = 5,50 a.; HML (B) = 12,16 a.; rapporto B/A = 2,21; ML_τ - τ (C) = 6.80 a; HML_τ - τ (D) = 23,61 y; rapporto D/C = 3,46.

Una verosimile risposta per questa problematica potrebbe essere data da un concetto fondamentale della moderna sociobiologia evoluzionistica, vale a dire la distinzione nella selezione naturale tra il vantaggio per l'individuo e il vantaggio per il gene [Hamilton 1964, 1970, 1971; Trivers 1971; Wilson 1975; Trivers e Hare 1976]. In breve, se gli effetti di un gene C sono dannosi per l'individuo I_1, dove è presente C, ma sono vantaggiosi per altri individui (I_2, I_3, ... I_n) geneticamente correlati a I_1, cioè con una frazione r_x di geni identica a quella dell'individuo I_1 (e quindi una probabilità r_x di avere C), la diffusione o l'eliminazione di C è soggetta a due azioni selettive contrastanti. Se la somma di tutte queste azioni è positiva, C è favorito, sebbene dannoso per l'individuo I_1 in cui il gene "altruista" è presente e agisce.

Una formula generale che descrive questo calcolo dell'idoneità complessiva o "inclusiva" (inclusive fitness) di un gene G, in particolare la variazione della frequenza di G da una generazione alla successiva (Δ_G) potrebbe essere la seguente:

$$\Delta_G \propto \sum_{x=1}^{n} (s_x \cdot P_x \cdot r_x) \qquad (4.9)$$

dove: s_x = svantaggio o vantaggio per il singolo I_x determinato dalle azioni di G; P_x = valore riproduttivo di I_x; r_x = coefficiente di relazione tra I_1 e I_x (chiaramente, $r_1 = 1$). Va notato che se G non ha alcun effetto su altri individui (cioè n = 1) la (4.9) diventa:

$$\Delta_G \propto s \cdot P \qquad (4.10)$$

che è la formula darwiniana della fitness individuale.
Questo meccanismo di "selezione di parentela" (kin selection) è illustrato nella Figura 4.18, che è stata ottenuta con la seguente formula:

$$C_{n+1} = \frac{C_n \cdot [1 + \Sigma(r_x \cdot s_x) - s']}{1 + C_n \cdot \Sigma(r_x \cdot s_x)} \qquad (4.11)$$

dove per semplicità P_x è stato ignorato, e: s' = svantaggio per I_1; s_x = vantaggio per I_x; r_x = coefficiente di relazione tra I_x e I_1; e Σ (rx · sx) è un'abbreviazione di:

$$\sum_{x=2}^{n}(r_x \cdot s_x) \qquad (4.12)$$

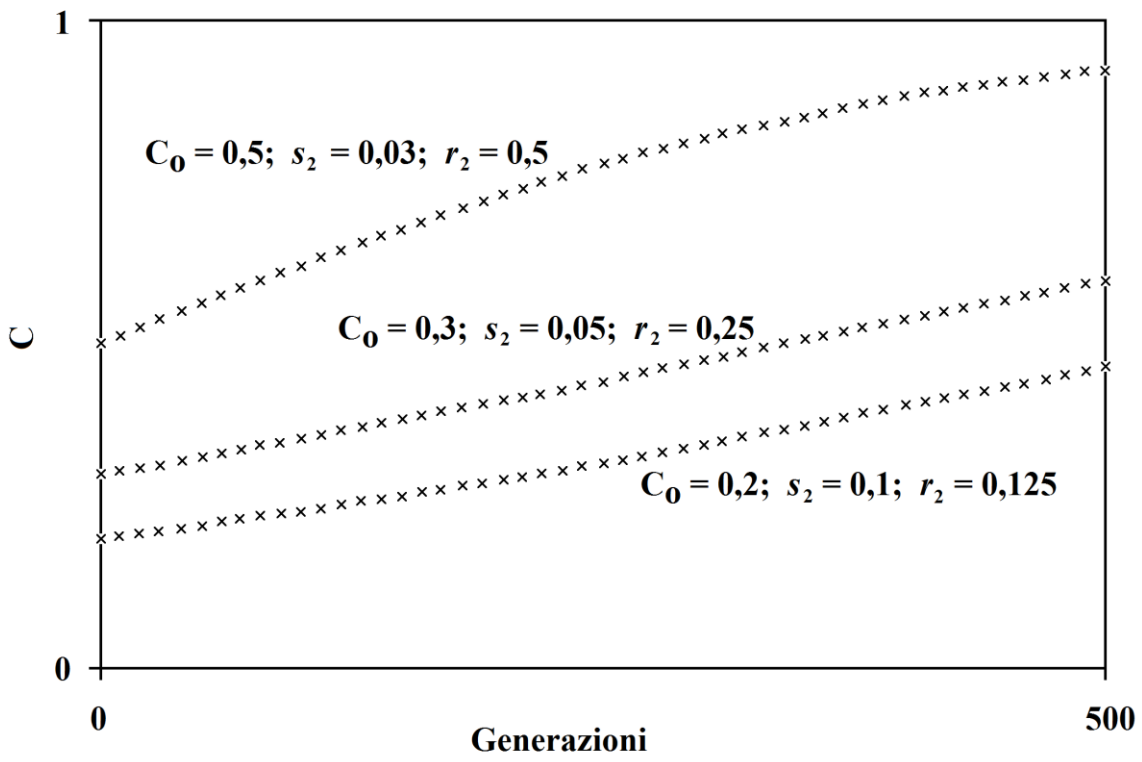


Figura 4.18 - Diffusione di un gene "altruista" in base alla variazione di s_2 e r_2. Vengono considerati solo gli individui I_1 e I_2 (cioè n = 2) e i valori riproduttivi vengono ignorati (cioè $P_x = 1$). I valori di C_0, s_2 e r_2 sono indicati vicino a ciascuna curva. Per tutte le curve, s' (cioè s_1) = 0,01.

Ora, se vogliamo applicare il concetto di selezione di parentela a un gene C che in qualche modo riduce la durata media della vita (*mean duration of life*, ML), è necessario stimare la *inclusive fitness* di C. Sono necessarie due condizioni preliminari:

1) Popolazione numericamente stabile. La popolazione deve essere stabile, come conseguenza di uno spazio vitale limitato, in modo che solo quando un individuo muore c'è posto per un nuovo individuo;
2) Sostituzione preferenziale degli individi morti prematuramente. Quando un individuo (I_1) muore prematuramente a causa degli effetti di C, viene sostituito da individui (I_2, I_3, ... I_n), che hanno in media una frazione *r* (coefficiente di relazione) di geni eguali a quelli di I_1.

Queste condizioni saranno discusse nella prossima sottosezione.
Con queste condizioni, abbiamo:
(i) C e l'allele inattivo C' causano una ML uguale rispettivamente a ML_C e $ML_{C'}$, con $ML_{C'} = 1$ unità di tempo e $ML_C < ML_{C'}$. Una ML più breve causa uno svantaggio s' per I_1.
(ii) Per un gene che si sta diffondendo all'interno della specie, una riduzione della ML equivale ad un aumento proporzionale dei vantaggi causati dal gene (vedere la sottosezione *4.6.2 - Il vantaggio evoluzionistico di una vita media (ML) più breve* e le figure 4.14 e 4.15). Quindi, per le persone con C', poiché $ML_{C'} = 1$:

$$s_{C'} = s/ML_{C'} = s \qquad (4.13)$$

mentre per gli individui con C, essendo $ML_C < ML_{C'}$:

$$s_C = s/ML_C > s \qquad (4.14)$$

Se consideriamo m geni che si stanno diffondendo all'interno della specie (per semplificare il calcolo, ipotizziamo che per qualsiasi di questi geni $s_x = s$), il vantaggio complessivo ($S_{C'}$) per gli individui con i geni C sarà:

$$S_{C'} = \sum_{x=1}^{m} [r \cdot s_x \cdot (1/ML_{C'})] = r \cdot m \cdot s \qquad (4.15)$$

mentre per gli individui con il gene C sarà:

$$S_C = \sum_{x=1}^{m} [r \cdot s_x/ML_C)] = r \cdot m \cdot s/ML_C > S_{C'} \qquad (4.15)$$

Pertanto, C sarà favorito dalla selezione di parentela e si diffonderà all'interno della specie se:

$$S_C - S_{C'} = r \cdot m \cdot s \cdot (1/ML_C - 1) > s' \qquad (4.16)$$

La diffusione, o il decadimento, all'interno di una popolazione di un gene C che causa una ML ridotta, può ora essere espressa con la formula ricorsiva:

$$C_{n+1} = \frac{C_n \cdot [1 + S_C - s']}{1 + C_n \cdot [S_C - s']} \qquad (4.17)$$

La Figura 4.19 è stata ottenuta da questa formula. Nelle simulazioni, è stato ipotizzato $S_C \gg s'$, poiché S_C somma i vantaggi degli m geni che si stanno diffondendo all'interno della specie (nel lavoro originale: "S » S', poiché S riassume i vantaggi degli m geni che si stanno diffondendo

all'interno della specie"[Libertini 1988]). In breve, secondo questa teoria, un gene C sarebbe un particolare gene altruista favorito da una sorta di meccanismo di "autostop" [Hill e Robertson 1966; Felsenstein 1974] (("hitchhiking effect" [Strobeck et al. 1976]).
Il fatto che S_C somma i vantaggi di molti geni è stato ignorato in un articolo che criticava questo modello e pertanto erroneamente lo considerava inverosimile: "L'equazione dipende dal vantaggio selettivo, *S*, del gene benefico sul quale C fa l'autostop, .. Se si usano valori più realistici, il gene C che causa l'invecchiamento scompare" [Kowald e Kirkwood 2016].

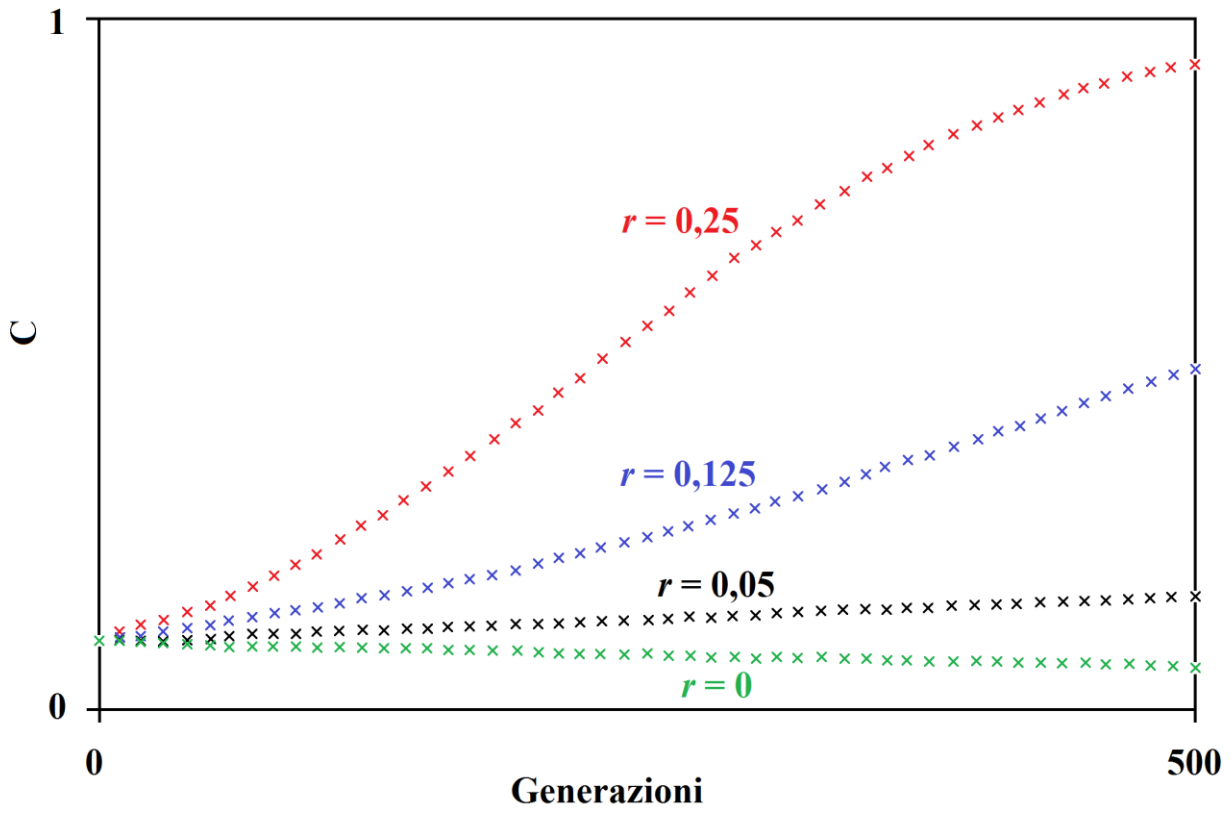


Figura 4.19 - Diffusione di un gene che causa l'IMICAW se l'individuo morto (I_1) è sostituito da un individuo consanguineo, cioè con $r > 0$. Il valore di *r* per ciascuna curva è indicato nella figura. Per tutte le curve: $S_C = 0{,}1$, $s' = 0{,}001$, $ML_C = 0{,}7$; $C_0 = 0{,}1$.

4.6.5 - Le condizioni preliminari

Il modello proposto nella sottosezione precedente a vantaggio del fenomeno IMICAW è limitato da due condizioni preliminari.

1) Popolazione numericamente stabile

Secondo la classificazione di Pianka [Pianka 1970], vi sono due tipi principali di popolazioni, con selezione K e con selezione r. La condizione di una popolazione numericamente stabile è in generale vera in una popolazione con selezione K [Leopold 1961]. Al contrario, per le specie con selezione r questa condizione non è realistica e i limiti dello spazio vitale per i nuovi individui sono di secondaria importanza rispetto alla capacità riproduttiva, che è il fattore chiave per il successo evoluzionistico di tali specie.

2) Sostituzione preferenziale dei soggetti morti prematuramente.

Questo è possibile per le specie divise in piccole popolazioni (demi) con un limitato flusso genetico interdemico. È probabile che tra gli individui di un deme, il coefficiente di relazione (*r*) sia maggiore della media *r* dell'intera popolazione e che un individuo morto liberi lo spazio

vitale per individui consanguinei dello stesso deme. Questa seconda condizione è verificata con specie territoriali, animali sessili e piante, perché per queste popolazioni è probabile che un individuo morto venga sostituito più frequentemente da individui geneticamente correlati. Questa seconda condizione, come l'altra, è probabile per le specie con selezione K.

Queste condizioni sono essenziali per il modello e quindi le specie che possono presentare il fenomeno IMICAW dovrebbero essere con selezione K, divise in piccoli demi, territoriali o non mobili. Al contrario, per le specie con selezione r è improbabile che siano IMICAW. "Credo che tali previsioni siano conformi ai dati dell'osservazione naturale. Cioè, solo per le specie con selezione K avremo curve di sopravvivenza di tipo I [caratteristiche delle specie che invecchiano] (vedi [Pianka 1970]). Inoltre, si deve osservare un certo parallelismo tra IMICAW e comportamenti altruistici e sociali ([Wilson 1975], in particolare la tabella di Pianka come modificata nel capitolo IV). Questo parallelismo non è casuale poiché nella nostra teoria un gene che causa IMICAW è una sorta di gene altruista." [Libertini 1988]

Tuttavia, per le specie IMICAW, ci sono sicuramente alcuni fattori che causano un IMICAW più precoce o più tardivo. In effetti, gli individui con una ML più lunga hanno: (i) una minore incidenza sulla durata totale della vita del periodo di vita più vulnerabile, cioè le prime fasi della vita (sviluppo e crescita); (ii) un migliore sviluppo e sfruttamento delle capacità di apprendimento. Per (i) e (ii), sia nel caso di un significato adattivo che non adattivo dell'IMICAW, tali vantaggi dovrebbero causare una correlazione positiva tra massa corporea e ML [Bourlière 1957, 1960; Sacher 1959], nonché tra il peso del cervello nei mammiferi (probabilmente correlato alla capacità di apprendimento) e ML [Sacher 1959; Comfort 1979].

4.6.6 - Due possibili obiezioni

A riguardo dell'ipotesi che l'invecchiamento sia determinato da una sorta di geni altruisti favoriti dalla selezione di parentela nelle specie con selezione K, vi sono due possibili immediate obiezioni.

--- La prima è che, in un deme, per il primo individuo (o per i primi individui) con un gene C che determina l'IMICAW non ci sono abbastanza copie di C in consanguinei che potrebbero trarre vantaggio dalla sua azione. Tuttavia, lo stesso problema esiste per l'origine di qualsiasi gene "altruista" e la risposta opportuna appare essere la stessa proposta per i geni altruisti, vale a dire, meccanismi casuali e non selettivi sono importanti fino a una frequenza critica [Boorman e Levitt 1973] . Poiché un aumento casuale della frequenza di un gene C è plausibile in una piccola popolazione ma improbabile in una grande popolazione, la divisione di una specie in piccoli demi, vale a dire la sua territorialità, è una condizione necessaria per la diffusione di un gene C nelle sue fasi iniziali.

--- La seconda obiezione è che gli individui di molte specie IMICAW (ad es., cetacei, uccelli migratori, molte specie di erbivori, etc.) emigrano ogni anno da un'area a un'altra zona distante, e successivamente ritornano alla prima area. Nella fase della migrazione e almeno in una delle due zone in cui vivono, non c'è territorialità, cioè non ci sono le condizioni che potrebbero favorire un gene che causa l'IMICAW. Tuttavia, se gli individui della specie, in periodi particolari, ad es. in periodi di accoppiamento e riproduzione, vivono in aree ben definite, che sono distinte e costanti per ogni gruppo e quindi con caratteri di territorialità, e se l'habitat è saturo in questa fase di territorialità, allora in questi periodi ci sono condizioni di selezione K che può favorire la diffusione e la stabilità dei geni che causano l'IMICAW.

4.6.7 - L'effetto Matusalemme

Il fenomeno di una relazione inversa, nel confronto tra specie, tra mortalità estrinseca e porzione di decessi dovuti alla mortalità intrinseca, brevemente definito come "effetto Matusalemme", è già stato discusso nella *Sottosezione 4.4.7 - Nel confronto tra specie, relazione inversa tra mortalità estrinseca e porzione di decessi dovuti a mortalità intrinseca*, e qui verranno aggiunte solo alcune informazioni a riguardo delle sue prime proposizioni.

Questo fenomeno paradossale fu proposto nel 1988 nel primo articolo peer-reviewed in cui si ipotizzava un significato adattativo per l'invecchiamento [Libertini 1988]:
"6. L'«Effetto Matusalemme»
... Poiché la ML è determinata dal valore sia di A che di B (rispettivamente la mortalità specifica per l'età e quella non specifica per l'età), se B è grande, la ML sarà piccola, anche il termine S' [*s'* in questo testo] sarà ampio e di conseguenza il gene C non sarà avvantaggiato nella diffusione. Il risultato paradossale è che le specie con un alto valore di B, dove B è imprecisamente chiamato 'mortalità ambientale', dovrebbero essere non IMICAW ('effetto Matusalemme'). Comfort [Comfort 1979, pag. 92] afferma:

> «... popolazioni di molte specie di pesci, studiate in condizioni naturali, mostrano una struttura per età e un modello di morte simile a quello riscontrato negli uccelli, ovvero un'alta mortalità costante non correlata all'età e un'aspettativa di vita praticamente costante. .:.»

Come esempi di specie non IMICAW con alto valore di B citiamo: *Callionymus lyra*, *Leuresthes tenuis*, *Leucichthys kiyi*, *Cottus gobio*, *Clupea sprattus*, *Clupea pallasi* [Beverton e Holt 1959], il merlo, il tordo canoro, il pettirosso, lo storno e la pavoncella [Deevey 1947].
...
9. Discussione
... Una spiegazione alternativa per l' 'invecchiamento' è la teoria del 'disposable soma' [Kirkwood 1977, 1981; Kirkwood e Holliday 1979]. Con le stesse osservazioni espresse per la teoria di Medawar et al., secondo questa ipotesi [Kirkwood e Cremer 1982]:

> «... una specie soggetta ad alta mortalità ambientale farà meglio a non investire troppo pesantemente in ogni soma individuale, che invecchierà quindi relativamente presto ...»,

che, nella nostra interpretazione, è la stessa previsione di Williams. Riteniamo che questa previsione comune non sia sufficientemente rafforzata dalle osservazioni naturali, mentre l'«effetto Matusalemme» ha conferme chiare, sebbene incomplete."

Tuttavia, l'effetto Matusalemme, insieme all'ipotesi dell'invecchiamento come fenomeno adattativo, fu proposto per la prima volta cinque anni prima, nel 1983, in un libro senza peer review [Libertini 1983]:
"*L'effetto Matusalemme*
Un nome di sapore leggendario può essere di notevole aiuto per ricordare un particolare fenomeno. Il nome tecnico, alquanto più lungo, potrebbe essere: 'effetto evoluzionistico di aumento della longevità ad opera dell'aumento della mortalità derivante da cause lesive ad ogni età'. E' dimostrabile da un punto di vista teorico che la mortalità per le cause suddette concorre nel determinare la longevità di una specie.

* * *

Un certo grado di variabilità della nicchia ecologica di una specie richiede una adeguata velocità d'evoluzione della specie. La velocità d'evoluzione è stato detto essere inversamente proporzionale alla ML [nel testo originale: VM, abbreviazione di Vita Media] della specie. Sottolineiamo ora che la ML è a sua volta funzione di:
1) la rapidità del sopraggiungere dell'età senile;
2) i tassi di mortalità per cause lesive ad ogni età.
In altri termini sia 1) che 2) contribuiscono a limitare la ML con il vantaggio discusso nei precedenti paragrafi di una proporzionale maggiore velocità di diffusione dei geni.
Consideriamo ora una specie in cui 2) vada acquistando un'importanza maggiore nel limitare la ML: in tal caso 1), cioè la senescenza, dovrebbe ritardare sempre più se si vuole che la ML rimanga costante. Vale a dire la velocità d'evoluzione è sempre più procurata dall'aumentata mortalità per cause lesive ad ogni età piuttosto che da una limitata longevità. Ciò sarebbe una efficace spiegazione della longevità piuttosto alta che si riscontra per molti piccoli animali, che vivono in condizioni di alta mortalità ambientale. Molti uccelli di piccola taglia in cattività sopravvivono

anche 15-20 anni, mentre nella nicchia ecologica originaria la ML è di molto inferiore giacché pochissimi raggiungono l'età della morte 'naturale'.
Dati analoghi fornisce lo studio di un gran numero di anfibi, pesci, invertebrati, etc. (Comfort, A., 1966a e 1979).
E' quasi sovrabbondante sottolineare che l'effetto Matusalemme se realmente esistente sarà osservabile solo sulla scala di un sufficiente numero di generazioni; assolutamente non è da intendersi che un variare della mortalità da cause indipendenti dalla senescenza modifichi apprezzabilmente la longevità nello spazio di una o poche generazioni.
Per una migliore espressione dell'effetto Matusalemme si guardino le Figg. II 5-1 e -2 [Figg. 4.20 e 4.21 in questo testo]."

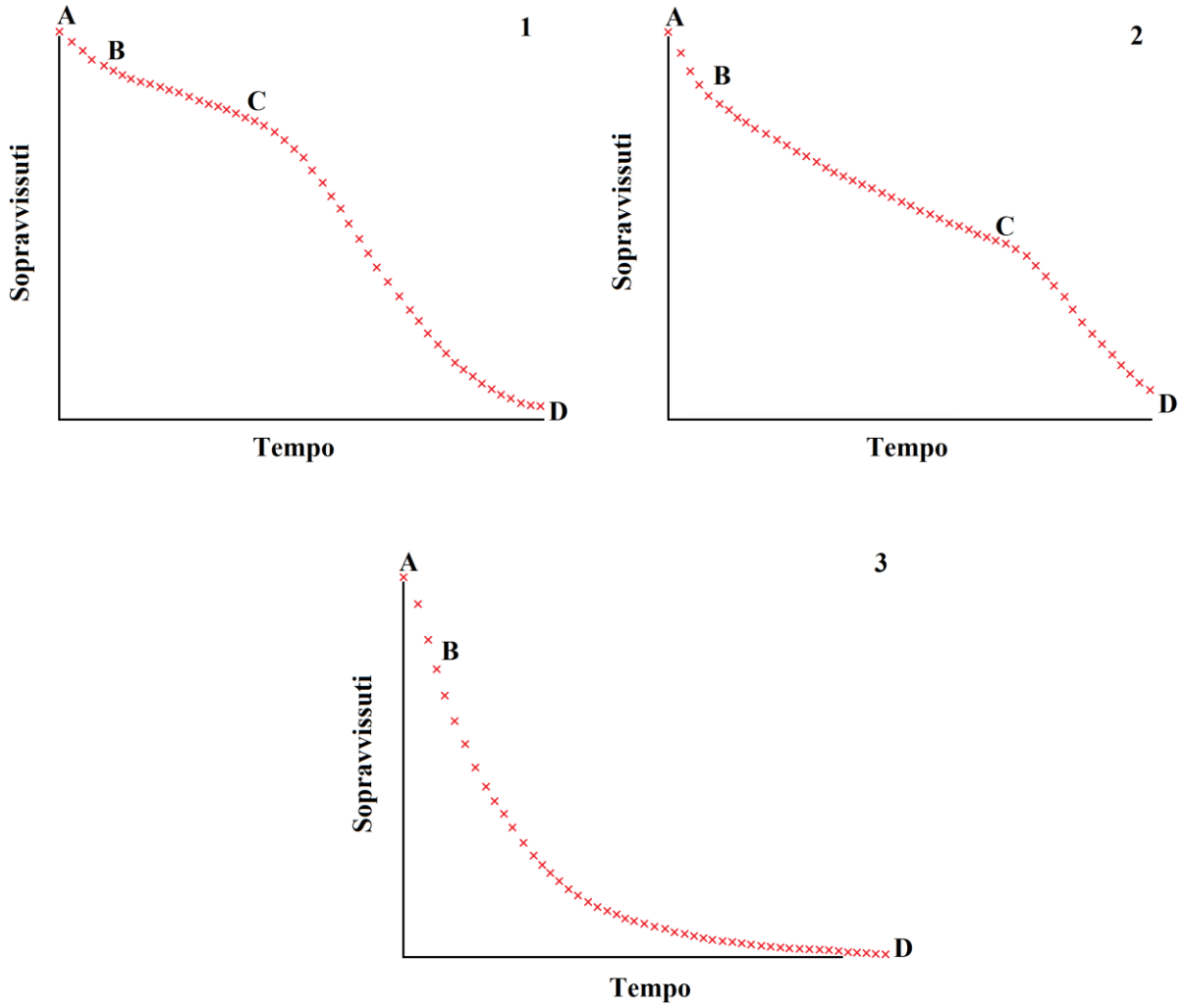


Figura 4.20 - Illustrazione grafica dell'effetto Matusalemme. 1) Tabella di sopravvivenza di una specie che invecchia. Vi è un periodo iniziale AB con elevata mortalità, seguito da un segmento BC con mortalità quasi costante determinata dalle condizioni ecologiche (mortalità estrinseca), e quindi un segmento CD con mortalità che è alta e in aumento per effetto dell'invecchiamento. Per la tabella di sopravvivenza esiste un valore ottimale (z) della ML che rappresenta il miglior equilibrio tra i vantaggi (maggiore velocità di evoluzione) e gli svantaggi (s') causati da una ML più breve; 2) In questa seconda tabella di sopravvivenza, a parità di altre condizioni, vi è una maggiore mortalità estrinseca (inclinazione del segmento BC). Ciò provocherebbe una riduzione di z se non fosse compensata dallo spostamento del punto C verso destra, vale a dire invecchiamento ritardato; 3) Un forte aumento della mortalità estrinseca determina uno spostamento illimitato a destra del punto C, cioè una longevità illimitata.

Spiegazione della Fig. II 5-2 [qui Fig. 4.21]:
"Nel modello il tasso di mortalità (K) per ogni curva è costante dalla nascita fino ad un istante L in cui tutti gli individui sopravvissuti muoiono contemporaneamente. L è l'equivalente ideale della longevità e la definizione è tale da permettere una agevole trattazione matematica. Le curve sono date dalla formula:

$$Y_t = Y_o (1 - K)^t \qquad \text{(II-33)}$$

con: $0 \leq t \leq L$.

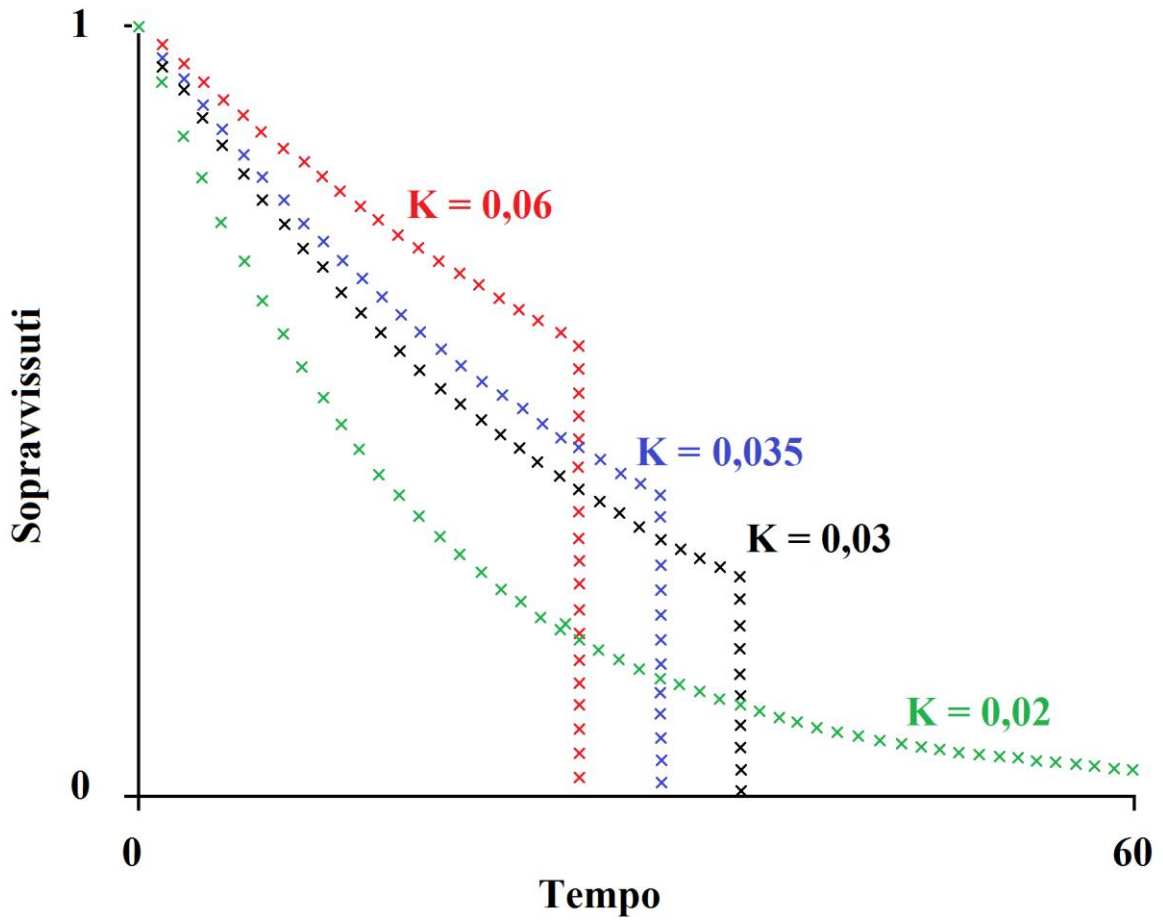


Figura 4.21 - Effetto Matusalemme (modello teorico). Nella figura sono mostrate quattro tabelle di sopravvivenza teoriche. Il valore di ML è pari a 20 unità di tempo. I valori per K sono vicini a ciascuna curva. K_l è ottenuto dalla formula II-36 ed è uguale a: 0,0487705755.

Y_t indica la frazione dei sopravviventi al tempo t. Dall'istante L ogni curva scende parallela all'ordinata fino ad incontrare l'ascissa. Calcoliamo la ML:

$$ML = \frac{{}_0^L\int Y_o (1 - K)^t \, dt}{Y_0} = {}_0^L\int (1 - K)^t \, dt$$

$$= [(1 / \mathrm{Log}_e (1 - K)) (1 - K)^t]_0^L = \frac{(1 - K)^L - 1}{\mathrm{Log}_e(1-K)} \qquad \text{(II-34)}$$

Si noti che se $L \rightarrow \infty$, poiché $K < 1$, ne consegue $(1 - K)^L \rightarrow 0$ e si ha l'equazione:

$$ML = -\frac{1}{\mathrm{Log}_e(1 - K)} \qquad \text{(II-35)}$$

da cui si ricava:

$$K_1 = 1 - e^{-1/ML} \qquad \text{(II-36)}$$

dove K_l indica il valore limite di K oltre il quale l'equazione perde di significato.
Se vogliamo che variando K rimanga costante la ML, occorre necessariamente che vari anche L. Vale a dire, essendo:

$$ML = \frac{(1 - K)^L - 1}{\mathrm{Log}_e(1 - K)} = \frac{(1 - K')^{L'} - 1}{\mathrm{Log}_e(1 - K')} \qquad \text{(II-37)}$$

risolvendo rispetto a L (o, è lo stesso, rispetto a L'), si ottiene:

$$ML\ \mathrm{Log}_e(1 - K) + 1 = (1 - K)^L$$

$$L = \frac{\mathrm{Log}_a(ML\ \mathrm{Log}_e(1 - K) + 1)}{\mathrm{Log}_a(1 - K)} \qquad \text{(II-38)}$$

dove <a> è una base qualsiasi.
Anche questa equazione, come si può verificare, perde significato per valori di $K > K_l$. Le equazioni mostrano che volendo ML costante, ad una aumento di K corrisponde un aumento di L. Ciò fino al valore di $K = K_l$, allorché L raggiunge il suo valore massimo ($= \infty$) e non può aumentare ulteriormente." [Libertini 1983, pp. 42-6]

4.6.8 – IMICAW, IMICAC e geni t

Nella *Sottosezione 4.4.8 - Impossibilità di spiegare il declino correlato all'età della capacità di sopravvivenza come conseguenza di geni dannosi a una certa età*, è stato dimostrato che IMICAW non può essere spiegato dall'effetto di geni t, vale a dire geni che sono dannosi solo a una certa età. Questo argomento dimostra che la *Mutation accumulation h.* non può essere una giustificazione plausibile per il fenomeno IMICAW.
Ora, può essere interessante indagare cosa accade per una specie non-IMICAW in condizioni artificiali di ridotta di mortalità, cioè λ' invece di λ, il tasso di mortalità in condizioni naturali (con $\lambda' < \lambda$).
La frequenza di equilibrio dell'espressione fenotipica di un gene C (C_e) è data dall'equazione (4.3): $P_e \simeq v/([s]\ Y_t)$
In ogni caso una frequenza di equilibrio può essere raggiunta solo dopo che la selezione ha funzionato per molte generazioni. Se la mortalità cambia improvvisamente, come in condizioni artificiali protette, nella formula (4.3) Y_t rappresenta i sopravvissuti in condizioni naturali al momento *t* e non i sopravvissuti *nelle nuove condizioni di mortalità inferiore a cui la specie non è adattata.*
Questa differenza modifica significativamente gli effetti dei geni t. La Fig. 4.22 mostra le stesse curve della Fig. 4.9, più la curva originale in condizioni di mortalità inferiore ($\lambda' = 0{,}03$) senza e con gli effetti dei geni t. Questa potrebbe essere una base teorica per la spiegazione dell'ipotizzato fenomeno IMICAC.

La distinzione tra IMICAW, un fenomeno che è stato ipotizzato come adattativo, e IMICAC, un fenomeno che non può essere adattativo, è importante. Infatti, se poniamo individui di una specie non-IMICAW in condizioni artificiali di bassa mortalità e osserviamo un aumento della mortalità correlato all'età, cioè il fenomeno IMICAC, è completamente irrazionale e improprio trarre deduzioni dal fenomeno IMICAC e applicarlo al fenomeno IMICAW osservabile in altre specie.

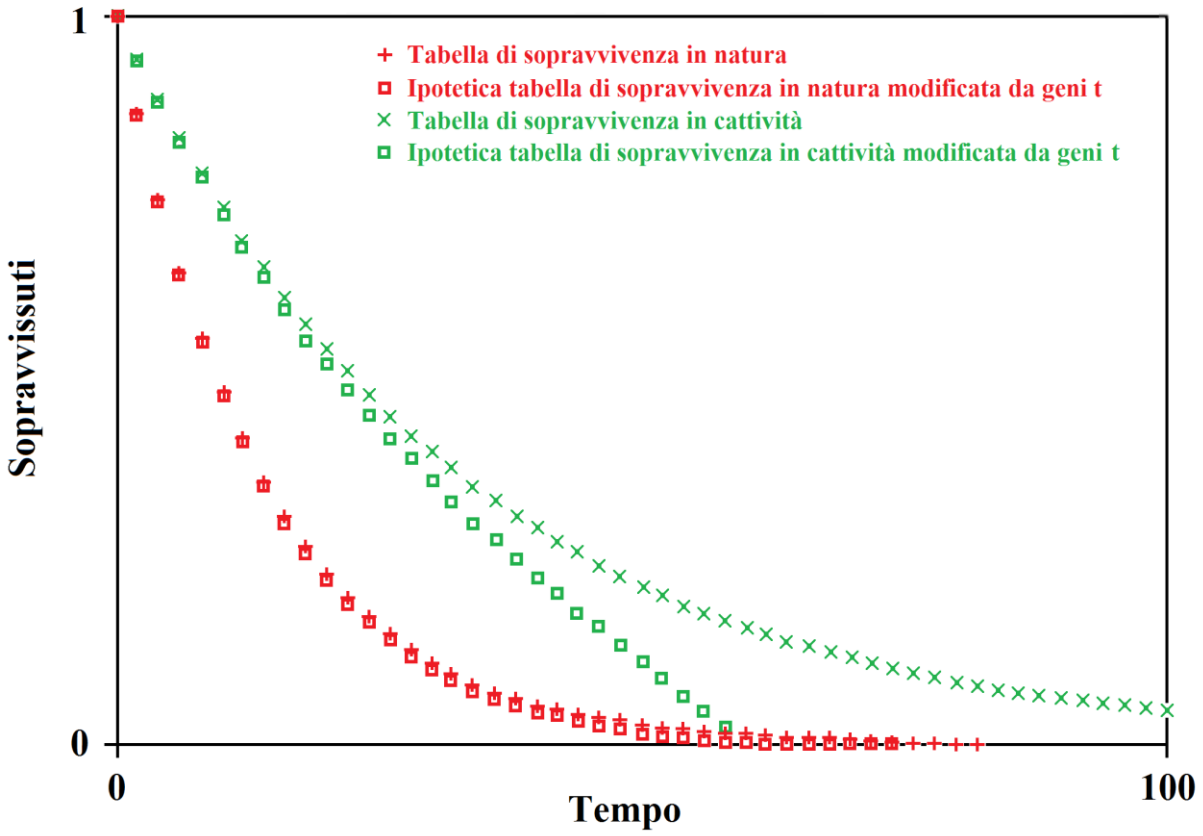


Figura 4.22 - Effetti dei geni t sulla tabella di sopravvivenza di una specie non-IMICAW in cattività e con una mortalità inferiore (λ = 0,07; λ'= 0,03; m = 1000; v = 0,000001).

Capitolo 5
Teoria “subtelomerica-telomerica” dell’invecchiamento

5.1 - Descrizione della teoria “subtelomerica-telomerica”
5.1.1 - Limiti nelle capacità di duplicazione cellulare
5.1.2 - Relazione probabilistica tra accorciamento dei telomeri e senescenza replicativa
5.1.3 - Suggerimenti dal lievito
5.1.4 - Senescenza cellulare graduale e senescenza cellulare
5.1.5 - Assenza di relazione tra longevità e lunghezza iniziale dei telomeri
5.2 - Cambiamenti metabolici nelle cellule che invecchiano
5.3 - La sindrome atrofica
5.4 - Limiti nelle capacità di duplicazione cellulare e altri effetti del sistema telomero-subtelomero-telomerasi spiegati come una difesa generale contro il cancro
5.5 - Il telomero
5.6 - L’enzima telomerasi
5.7 - Il subtelomero
5.8 - Il cappuccio eterocromatinico sul telomero

Si suggerisce di leggere le definizioni di Telomero, Telomerasi e Subtelomero nella sezione Terminologia prima di iniziare questo capitolo.

5.1 - Descrizione della teoria “subtelomerica-telomerica”

Come già discusso nel precedente *Capitolo 4 - Il confronto tra i due paradigmi*, le teorie che propongono una spiegazione per l’invecchiamento possono essere divise in due gruppi: teorie dell’invecchiamento non adattativo e teorie dell’invecchiamento adattivo.
Questi due tipi di teorie, che sono del tutto incompatibili tra loro, si basano su ipotesi diverse e comportano diverse implicazioni. Per questi motivi meritano la definizione di paradigmi opposti [Libertini 2015a], nel significato del termine paradigma definito da Kuhn [Kuhn 1962].
A parte altre differenze, la principale distinzione tra questi due paradigmi è la seguente:

- per il paradigma dell’invecchiamento non adattativo (o non programmato), la senescenza è l’effetto cumulativo casuale di molti distinti processi degenerativi. Pertanto in base a tali concetti è completamente escluso che l’invecchiamento possa essere causato da meccanismi determinati e regolati da geni specifici;
- per il paradigma dell’invecchiamento adattivo (o programmato), la senescenza è un fenomeno fenoptotico fisiologico che deve necessariamente essere causato da meccanismi determinati e regolati da geni specifici [Libertini 2015a].

In breve, per il primo paradigma i suddetti meccanismi non esistono né possono esistere mentre per il secondo paradigma tali meccanismi esistono e devono assolutamente esistere per ammettere la validità del paradigma.
Spesso le teorie del paradigma dell’invecchiamento non adattativo sono ancora presentate oggi come le uniche che possono spiegare correttamente l’invecchiamento [Olshansky et al. 2002; Hayflick 2007b; Kirkwood e Melov 2011; De Grey 2015; Gladishev 2016]. Eppure vi sono molti validi lavori a riguardo di meccanismi geneticamente determinati e modulati che in vari modi certamente compromettono progressivamente la funzionalità delle cellule e degli organismi e falsificano così l’ipotesi dell’invecchiamento derivante dall’accumulo accidentale di eventi dannosi (per una rassegna si veda [Fossel 2004; Libertini 2015a, 2015b]). Va notato che gli autori di questi studi non discutono affatto se l’invecchiamento è adattivo o non adattivo: tuttavia, nei fatti, i risultati dei loro studi mostrano che ci sono meccanismi specifici determinati e regolati da geni che causano le alterazioni dell’invecchiamento e quindi sono implicitamente a sostegno del paradigma dell’invecchiamento adattivo.

L'esistenza di meccanismi altamente regolati che determinano la morte programmata delle cellule, se opportuna, e capaci di propagarsi nelle generazioni successive, sembra apparire all'inizio dell'evoluzione. Tali meccanismi sono osservati molto prima dell'emergere degli organismi eucarioti e dello sviluppo di cromosomi lineari e telomeri, anche in alcuni procarioti, con l'inizio della segnalazione intercellulare e dell'organizzazione in comunità. I mixobatteri possono servire da esempio di tale "prosocialità", in una certa misura preservando l'indipendenza delle cellule (e degli organismi), con l'emergere della morte cellulare regolata che occorre non a seguito di "alcuni eventi stocastici" ma solo se fortemente richiesto per assicurare la propagazione di almeno alcuni individui della comunità [Muñoz-Dorado et al. 2016; Nariya e Inouye 2008].
Per molti organismi eucariotici, la descrizione che appare più coerente e soddisfacente a riguardo dei meccanismi dell'invecchiamento è quella definita come "teoria telomerica dell'invecchiamento" ("Telomere Theory of Aging" [Fossel 2015, p. 19]) o, più precisamente, come "teoria subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento [Libertini et al. 2018], che si basa sul sistema Telomero-Subtelomero-Telomerasi (sistema TST).
Questa teoria verrà brevemente descritta nelle sezioni seguenti di questo paragrafo 5.1 e poi discussa, nei paragrafi seguenti di questo capitolo, per quanto riguarda i componenti principali del sistema TST e per alcune questioni particolari. In breve, il sistema TST determina i fenomeni che costituiscono il substrato dell'invecchiamento, in particolare: (i) la senescenza cellulare graduale; (ii) la senescenza cellulare; (iii) il rallentamento del turnover cellulare; e (iv) la sindrome atrofica di tutti i tessuti e gli organi [Fossel 2004; Libertini 2009a, 2015a, 2015b].
Sono state proposte altre descrizioni dei meccanismi dell'invecchiamento, che i loro autori dichiarano coerenti con il paradigma dell'invecchiamento programmato (ad esempio: [Olovnikov 2003, 2015; Goldsmith 2008, 2012; Skulachev 2012; Skulachev e Skulachev 2014]). Tuttavia, in questo lavoro verrà presa in considerazione solo la teoria subtelomerica-telomerica, poiché l'evidenza empirica appare confermarla concretamente e ha alcune verificate convalide molecolari al momento.

5.1.1 - Limiti nelle capacità di duplicazione cellulare

Prima degli anni '60, si credeva che le cellule non germinali di un organismo multicellulare fossero in grado di duplicarsi senza limiti. Questa idea si basava su esperimenti apparentemente indiscutibili condotti principalmente dal premio Nobel Alexis Carrel [Ebeling 1913; Carrel e Ebeling 1921a, 1921b; Parker 1961]. Gli esperimenti di Hayflick (Fig. 5.1) dimostrarono *in vitro* che vi erano limiti nelle capacità di duplicazione cellulare di cellule normali [Hayflick e Moorhead 1961; Hayflick 1965], e in seguito tali limiti furono anche dimostrati *in vivo* [Schneider e Mitsui 1976]. La limitata capacità di duplicazione cellulare, in seguito denominata limite di Hayflick, fu dimostrata per molti diversi tipi di cellule normali (ad es. cheratinociti epidermici umani [Rheinwald e Green 1975], cellule muscolari lisce arteriose [Bierman 1978], cellule epiteliali del cristallino dell'uomo [Tassin et al. 1979]).
Fu anche dimostrato che la capacità di duplicazione delle celle era:
(i) ridotta nella progeria (sindrome di Hutchinson-Gilford) [Goldstein 1969; Martin et al. 1970; Hayflick 1977] e nella sindrome di Werner [Martin et al. 1970];
(ii) inversamente correlata con l'età degli individui da cui le cellule sono state ottenute. Le cellule fetali umane diploidi fibroblasto-simili (cellule HDF) mostrarono un numero consistentemente maggiore di raddoppiamenti della popolazione rispetto alle cellule derivate da tessuti adulti normali (rispettivamente circa 50 e 20-30) [Hayflick e Moorhead 1961] e le cellule HDF cutanee da donatori di età diverse mostrarono una riduzione dei potenziali raddoppi di 0,2 raddoppi/anno di vita [Martin et al. 1970];
(iii) direttamente correlata, sebbene approssimativamente, alla longevità della specie [Röhme 1981]. "I topi hanno una durata della vita di tre anni e un limite di Hayflick di quindici divisioni [per i fibroblasti], mentre la tartaruga delle Galapagos, che vive per 200 anni, ha un limite Hayflick di

circa 110 divisioni. I fibroblasti umani hanno un limite di Hayflick compreso tra quaranta e sessanta divisioni.” [Fossel 2015, p. 22].

Figura 5.1 - Leonard Hayflick.

La scoperta di limiti fisiologici nella capacità di duplicazione delle cellule non germinali aveva importanti implicazioni, come evidenziato dallo stesso Hayflick: “L’importanza di una corretta interpretazione di questo fenomeno non può essere esagerata poiché l’apparente moltiplicazione indefinita di cellule isolate normali di vertebrati in coltura, come presumibilmente dimostrato da Carrel, è stata spesso citata come prova della tesi secondo cui la senescenza negli animali superiori è un fenomeno derivante dagli effetti di eventi a livello sopracellulare [Pearl 1922; Bidder 1925; Medawar 1940; Cowdry 1952; Comfort 1964; Maynard-Smith 1962]. Ne consegue quindi che se le normali cellule animali hanno effettivamente solo una limitata capacità di divisione in coltura cellulare, le manifestazioni dell’invecchiamento potrebbero benissimo avere una base intracellulare. Di conseguenza, gli argomenti avanzati contro le teorie cellulari sull’invecchiamento che si basano sul mito delle colture cellulari ‘immortali’ devono essere rivalutati poiché quelle cellule che proliferano indefinitamente *in vitro* sono anormali e spesso si comportano come cellule cancerose.

Figura 5.2 - Alexey M. Olovnikov.

Al contrario, le cellule normali *in vitro* hanno una durata della vita limitata, così come l'animale da cui sono state prelevate tali cellule ...” [Hayflick 1977, p. 163].
Tuttavia, per qualche tempo la causa del limite di Hayflick non fu nota.
Nel 1975, il meccanismo che limitava il numero di duplicazioni fu dimostrato essere nel nucleo [Wright e Hayflick 1975], ma, ben prima di questo lavoro, nel 1971, Olovnikov (Fig. 5.2) predisse che l'enzima capace di duplicare la molecola di DNA (DNA polimerasi) non era in grado di replicare una piccola parte dell'estremità della molecola, che pertanto si sarebbe persa ad ogni duplicazione, e ipotizzò questa replicazione parziale come causa del limite di Hayflick [Olovnikov 1971]. Nell'anno seguente l'ipotesi fu nuovamente proposta da Watson senza citare il precedente articolo di Olovnikov [Watson 1972] e solo per le parti terminali della molecola di DNA dei fagi, senza discutere dei telomeri delle cellule eucariotiche.

Figura 5.3 - Cristopher M. Counter.

Inoltre, lo stesso Olovnikov, poiché le cellule staminali e le cellule germinali erano in grado di replicarsi rispettivamente moltissime o illimitate volte, predisse l'esistenza di un enzima che doveva essere in grado di ripristinare la parte non duplicata del telomero [Olovnikov 1973].
Nel 1978, in una specie di protozoi, ogni estremità della molecola di DNA, definita come telomero, fu dimostrata essere una semplice sequenza di nucleotidi (TTGGGG) ripetuta molte volte [Blackburn e Gall 1978]. Alcuni anni dopo, fu dimostrato che i telomeri dei mammiferi avevano la stessa sequenza ripetuta con una piccola differenza (TTAGGG) [Moyzis et al. 1988] e che questa sequenza era la stessa per tripanosomi, muffe e altri vertebrati non mammiferi e organismi [Blackburn 1991].
La sua grande conservazione nel corso dell'evoluzione, condivisa anche tra organismi con antenati comuni antichissimi indicava con certezza che la struttura aveva un'importanza fondamentale.
Nel 1985, l'enzima predetto da Olovnikov nel 1973 e in grado di ripristinare la parte non duplicata della molecola di DNA fu isolato e chiamato telomerasi da Greider e Blackburn [Greider e Blackburn 1985].
Altri lavori hanno confermato e arricchito questi risultati. Per esempio:
(i) come ipotizzato, è stato dimostrato che i telomeri si accorciano durante l'invecchiamento in proporzione al numero di duplicazioni dei fibroblasti umani [Harley et al. 1990];
(ii) con telomerasi inattiva in *Tetrahymena* mutati, la coltura cellulare mostrò una riduzione della capacità di duplicazione [Yu et al. 1990];

(iii) l'attivazione della telomerasi dava alla cellula la capacità di duplicazioni illimitate [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999] (Fig. 5.3).
(iv) fu dimostrata la regolazione dell'attività della telomerasi da parte di proteine specifiche [van Steensel e de Lange 1997];
(v) l'attività della telomerasi senza restrizioni fu dimostrata nelle linee cellulari umane immortali [Morin 1989].

5.1.2 - Relazione probabilistica tra accorciamento dei telomeri e senescenza replicativa

Mentre vi era una chiara relazione tra il numero di duplicazioni precedenti e da un lato l'accorciamento dei telomeri e dall'altro l'insorgenza del blocco delle capacità di duplicazione (senescenza replicativa), il fenomeno sollevò un'importante questione che fu evidenziata criticamente da Blackburn: "La senescenza cellulare è comunemente descritta come cellule in grado di dividersi un numero finito di volte, con la senescenza che si verifica solo quando i telomeri raggiungono una lunghezza criticamente breve. Solitamente è implicita l'idea che le cellule 'giovani', che si dividono tutte all'inizio della coltura, siano prive di fenotipi 'invecchiati' fino a quando, dopo un periodo di accorciamento dei telomeri durante la coltura, compaiono telomeri criticamente corti nelle cellule 'vecchie'. Implicita è l'idea di un ritardo intrinseco prima che la senescenza sia raggiunta. Ma un insieme significativo di lavori (sebbene citati raramente) discutendo del comportamento delle singole cellule rivela un quadro diverso (ad esempio [Pontèn et al. 1983; Jones et al. 1985]; rivisto in [Holliday 1996])." [Blackburn 2000]
Come evidenziato da Blackburn, la descrizione semplicistica del fenomeno era fortemente contraddetta dagli studi sul potenziale di crescita delle popolazioni cellulari in cui in qualsiasi momento tutte le cellule avevano lo stesso numero di replicazioni precedenti. Il declino del potenziale di crescita non era improvviso dopo un certo numero di duplicazioni, ma mostrava una progressiva crescente riduzione della capacità di duplicazione [Pontèn et al. 1983; Jones et al. 1985]. Ciò indicava che la probabilità di senescenza replicativa aumentava progressivamente in relazione all'accorciamento dei telomeri, ma che persino per una cellula con telomeri di lunghezza massima, il passaggio dallo "stato ciclico" (duplicazione possibile) allo "stato non ciclico" (duplicazione impossibile, cioè, senescenza replicativa) era possibile.
Una verosimile brillante soluzione fu proposta da Blackburn nello stesso lavoro prima menzionato [Blackburn 2000]. Secondo questa ipotesi il telomero forma con particolari molecole ("proteine che si legano con sequenze specifiche del DNA") un "complesso DNA-proteina" telomerico [Blackburn 2000]. Questo complesso nucleoproteico oscilla tra due stati:
1) telomero "incappucciato" (*capped*), quando le proteine e i componenti nucleici sono legati, il telomero è protetto e la cellula è resistente al passaggio allo stato non ciclico;
2) telomero "non incappucciato" (*uncapped*), quando le proteine e i componenti nucleici sono almeno in parte non legati, il telomero diventa non protetto e la cellula diventa vulnerabile al passaggio allo stato non ciclico.

Inoltre, la porzione di tempo in cui il telomero non è coperto doveva essere proporzionale all'accorciamento dei telomeri [Blackburn 2000]. Blackburn indicò anche che la porzione proteica del complesso nucleoproteico, cioè del cappuccio che protegge il telomero, doveva essere un insieme complesso di proteine [Blackburn 2000]. Infine, era implicito che la capacità di questo cappuccio di legarsi al telomero dovesse essere necessariamente soggetta ad una regolazione dipendente dalla lunghezza del telomero, cioè una maggiore lunghezza del telomero implicava una maggiore capacità di legarsi al telomero e viceversa (Fig. 5.4).
Sicuramente tali fenomeni sono più complessi di come qui prospettato.
L'accumulo di prove riguardanti la composizione e la stechiometria dei componenti del complesso proteico shelterin e di altre proteine e ribonucleoproteine, legate a regioni telomeriche e subtelomeriche in momenti temporali specifici, la regolazione della lunghezza dei telomeri e il funzionamento appaiono sempre più complessi [Cech 2004; Nandakumar e Cech 2013]. Allo stesso

tempo, negli organismi viventi e nelle colture cellulari, le decisioni tra proliferazione, arresto del ciclo cellulare e passaggio al fenotipo senescente non dipendono direttamente dalla lunghezza dei telomeri, essendo, al contrario, un'integrazione di più segnali [Victorelli e Passos 2017]. I dettagli e i regolatori critici di queste interpretazioni decisionali, dai livelli cellulari a quelli tissutali e organici, e i contesti particolari che influenzano la realizzazione di scenari così diversi, devono ancora essere rivelati [Victorelli e Passos 2017; Fujimaki et al. 2019].

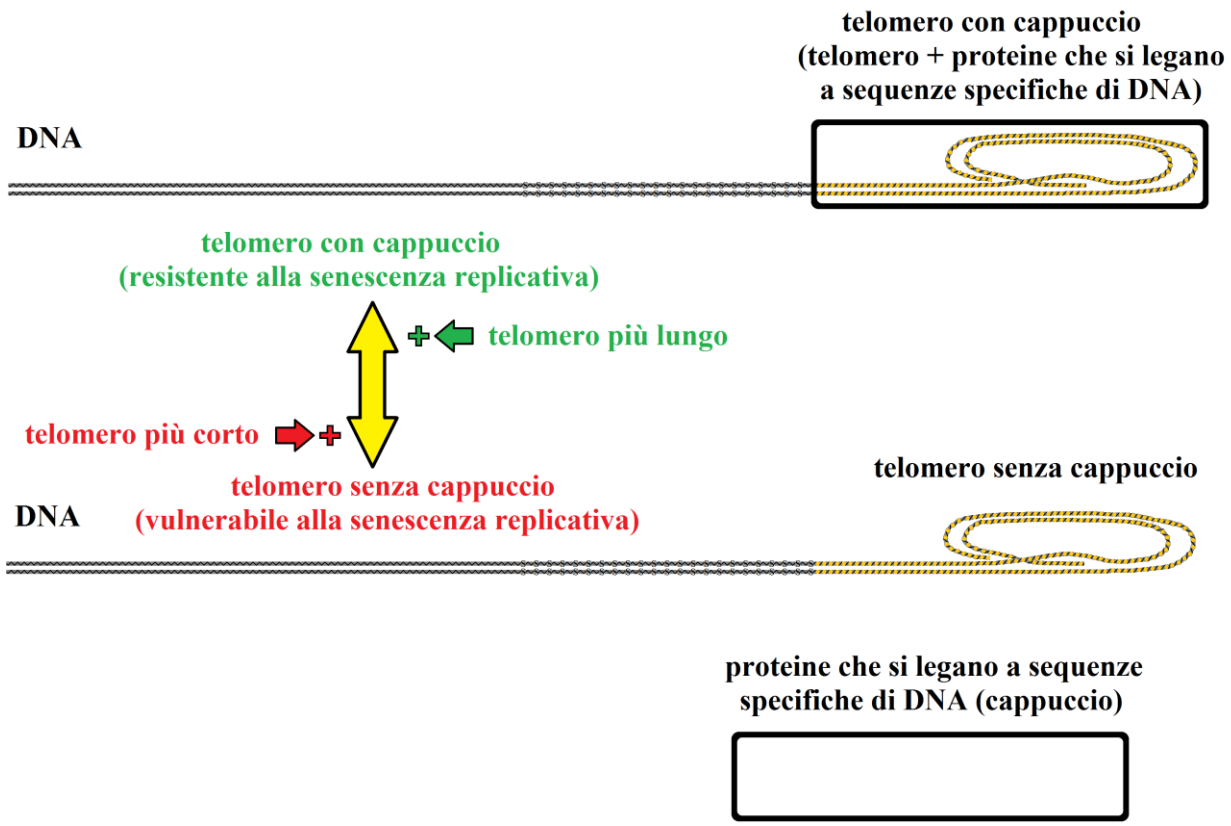


Figura 5.4 - Secondo l'ipotesi di Blackburn [Blackburn 2000], il telomero oscilla tra le condizioni "capped" e "uncapped". La probabilità dello stato "uncapped" aumenta in relazione all'accorciamento dei telomeri e in questa condizione il telomero, visto come una capo rotto della molecola di DNA, è vulnerabile alla senescenza replicativa (Fig. 6 da [Libertini 2009a], modificata e ridisegnata). Sono necessarie due annotazioni: (i) a riguardo del telomero più lungo o più corto, non si fa riferimento alla lunghezza iniziale assoluta del telomero ma al suo accorciamento relativo (questo argomento è discusso nella *Sottosezione 5.1.5 - Assenza di relazione tra longevità e lunghezza iniziale dei telomeri*); e (ii) lo stato "uncapped" non dovrebbe essere inteso come la completa separazione tra telomero e cappuccio come rappresentato nella figura (questo argomento è brevemente discusso alla fine della *Sezione 5.8 - Il cappuccio eterocromatinico sul telomero*).

5.1.3 - Suggerimenti dal lievito

Altre domande nascono dalla precedente descrizione del sistema telomero-telomerasi:

(i) l'accorciamento dei telomeri è correlato a una compromissione progressiva delle funzioni cellulari ed è necessario spiegare come viene determinato questo fenomeno;

(ii) nel confronto tra le specie (e tra diversi ceppi della stessa specie), non vi è alcuna relazione tra longevità e lunghezza iniziale del telomero. È necessario spiegare l'assenza di una relazione la quale potrebbe anche sembrare una conseguenza logica del verosimile meccanismo che collega il limite della capacità di duplicazione cellulare all'accorciamento dei telomeri.

Prima di descrivere queste problematiche in dettaglio e, con le dovute evidenze empiriche, di proporre una possibile soluzione, è utile e necessario descrivere ciò che viene osservato in una particolare specie eucariotica unicellulare, il lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), che manifesta un fenomeno definito come invecchiamento.
Sono utili due premesse:

1) Nel lievito, un fenomeno molto simile all'apoptosi degli eucarioti multicellulari fu una scoperta relativamente recente [Madeo et al. 1997] (Fig. 5.5). Tale fenomeno era provocato dalla sovraespressione di un fattore (BAX dei mammiferi) che negli eucarioti multicellulari innescava l'apoptosi [Ligr et al. 1998], mentre la sovraespressione di un altro fattore che negli eucarioti multicellulari inibiva l'apoptosi (Bcl-2 umana) determinava il ritardo dei processi che conducevano ad essa [Longo et al. 1997] (Fig. 5.6). Inoltre, vi era una notevole quantità di prove che mostravano la somiglianza tra questo fenomeno e l'apoptosi negli eucarioti multicellulari. Ciò suggeriva un'origine filogenetica comune [Madeo et al. 1999; Longo et al. 2005; Kaeberlein et al. 2007]. Nel lievito, vi sono diversi ortologhi di proteine apoptotiche di mammiferi e vie metaboliche apoptotiche mitocondriali, proteasomiche e regolate da istoni che risultano conservate nel corso dell'evoluzione [Büttner et al. 2006], e quindi risultò corretto definire questo fenomeno come apoptosi.
2) Nei ceppi selvatici di lievito, la telomerasi è sempre attiva e quindi la lunghezza dei telomeri rimane la stessa dopo ogni duplicazione [D'Mello e Jazwinski 1991; Smeal et al. 1996; Maringele e Lydall 2004].

Figura 5.5 – Frank Madeo.

Figura 5.6 – Valter D. Longo.

Il lievito si riproduce per divisione di una cellula "madre" in una cellula "figlia" e un'altra cellula "madre". Esistono differenze tra questi due tipi di cellule:

- Le cellule della linea figlia possono riprodursi un numero illimitato di volte [Maringele e Lydall 2004].
- Le cellule della linea madre possono riprodursi solo un numero limitato di volte (vale a dire 25-35 duplicazioni in circa 3 giorni [Jazwinski 1993] (Fig. 5.7), e mostrano, in relazione al numero di duplicazioni, crescenti alterazioni funzionali e suscettibilità alla senescenza replicativa e all'apoptosi [Laun et al. 2001; Lesur e Campbell 2004; Herker et al. 2004; Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008] con una declino della resistenza a sostenere gli stress [Jazwinski 1993]. Il conseguente aumento del tasso di mortalità correlato all'età mostra una dinamica esponenziale [Laun et al. 2007], che è simile a quella seguita da individui delle specie che invecchiano [Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013]. Quando viene raggiunto il numero limitato di duplicazioni, le cellule della linea madre terminano la loro vita mediante apoptosi [Laun et al. 2001].

L'apoptosi è anche innescata in condizioni difficili [Kaeberlein et al. 2007], ad esempio: (i) una disponibilità declinante di nutrienti [Granot et al. 2003]; (ii) alterazioni chimiche dannose [Madeo et al. 1999]; e (iii) fallito accoppiamento [Büttner et al. 2006]. L'apoptosi del lievito, analogamente a quanto accade negli eucarioti multicellulari, è la demolizione ordinata della cellula in parti che non sono dannose per gli altri individui: le altre cellule fagocitano o assorbono utilmente queste parti e, di conseguenza, utilizzando le sostanze rilasciate dagli individui morti per apoptosi risultano in grado di sopravvivere più a lungo [Herker et al. 2004].

Figura 5.7 – S. Michal Jazwinski.

Per quanto riguarda il meccanismo che, nelle cellule di lievito, determina il declino cellulare funzionale e la crescente vulnerabilità all'apoptosi, le cellule madri, in proporzione al numero di duplicazioni precedenti, mostrano un progressivo accumulo di molecole particolari, note come circoli di DNA ribosomiale extracromosomiale (*extrachromosomal ribosomal DNA circles*, ERC), sul subtelomero, cioè su quella parte di DNA adiacente al telomero [Sinclair e Guarente 1997]: "... diverse linee di evidenza suggeriscono che l'accumulo di ERC è una delle determinanti della durata della vita ..." e, in proporzione al numero di duplicazioni, si evidenziano crescenti alterazioni metaboliche, definibili come senescenza cellulare [Lesur e Campbell 2004]. Queste alterazioni sono una probabile conseguenza dell'accumulo di ERC, che interferisce con l'espressione genica di parti critiche del DNA subtelomerico. Un dato che conferma questa interpretazione, è che i mutanti di lievito *dna2-1* mostrano anomalie nella duplicazione del DNA, aumento dell'accumulo di ERC e alterazioni precoci dell'espressione genica. In particolare, per le cellule della linea madre, il trascrittoma di giovani individui di mutanti *dna2-1* è simile a quello degli individui più anziani di tipo selvatico [Lesur e Campbell 2004].
Inoltre fu osservato un fatto molto interessante. Un particolare ceppo mutante di lievito (mutanti *tlc1Δ*) era caratterizzato da una carente attività della telomerasi e, quindi, sia per le cellule madri che per le figlie, vi era un accorciamento dei telomeri ad ogni duplicazione. Inoltre, le cellule della linea figlia, pur non mostrando accumulo di ERC (come i ceppi selvatici), manifestavano, in proporzione al numero di duplicazioni precedenti, una declinante resistenza a sostenere lo stress e un trascrittoma simile a quello delle cellule madri del ceppo selvatico con lo stesso numero di duplicazioni [Lesur e Campbell 2004].
Se, nelle cellule madri del ceppo selvatico, l'accumulo di ERC reprimeva il subtelomero causando una serie di alterazioni cellulari, le analoghe alterazioni osservate nelle cellule figlie di mutanti *tlc1Δ* erano verosimilmente causate da una simile repressione del subtelomero, sebbene non ci fosse accumulo di ERC. Una possibile spiegazione era che il progressivo accorciamento del telomero nei

mutanti *tlc1Δ*, dovuto alla scarsa attività della telomerasi, causava lo scorrimento sul subtelomero di una sorta di "cappuccio" eterocromatinico che copriva il telomero e che gradualmente reprimeva l'attività del subtelomero [Fossel 2004; Libertini 2009a] (Fig. 5.8).

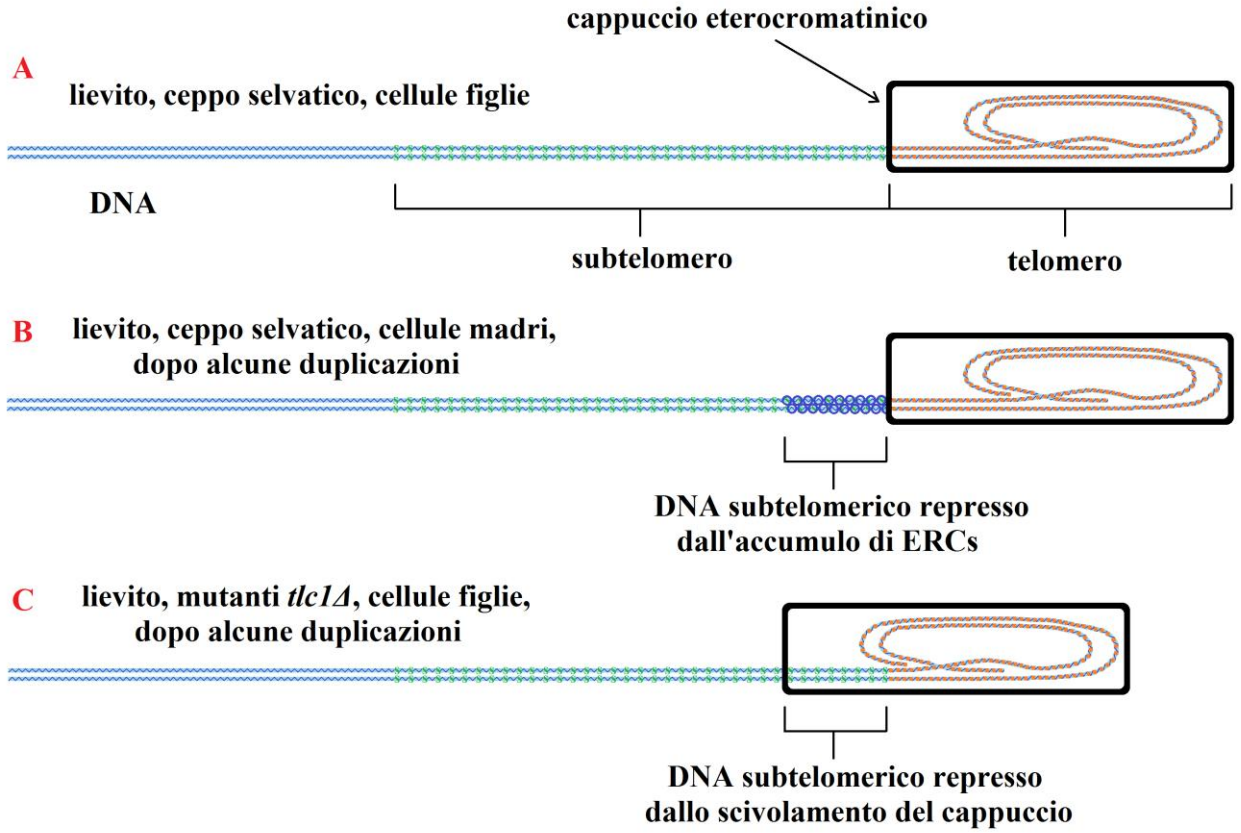


Figura 5.8 - A: nelle cellule figlie dei ceppi selvatici, non vi è accumulo di ERC e nessuna alterazione cellulare; B: nelle cellule madri dei ceppi selvatici, vi è accumulo di ERC e alterazioni cellulari dovute alla repressione dei subtelomeri; C: nelle cellule figlie dei mutanti *tlc1Δ*, non vi è accumulo di ERC ma accorciamento dei telomeri e le stesse alterazioni cellulari dovute alla repressione dei subtelomeri mostrate in B, presumibilmente a causa dello scorrimento di un cappuccio eterocromatinico che copre il telomero accorciato.

5.1.4 - Senescenza cellulare graduale e senescenza cellulare

Nel 1990, nel lievito, fu dimostrata che la vicinanza di un gene inserito artificialmente al telomero determinava una repressione reversibile del gene [Gottschling et al. 1990] (Fig. 5.9). Questo fenomeno, chiamato "effetto telomerico di posizione" (*telomere position effect* [Gottschling et al. 1990], è stato riportato per altre specie [Baur et al. 2004] (Fig. 5.10), compresa la nostra [Baur et al. 2001], ed è stato provato essere correlato all'accorciamento dei telomeri [Surace et al. 2014].
È stato inoltre dimostrato che, in particolari condizioni, "un ripiegamento del cromosoma avvicina il telomero a geni fino a 10 Mb di distanza dal telomero quando i telomeri sono lunghi e che gli stessi loci si separano quando i telomeri sono corti" [Robin et al. 2014]. Questo fenomeno, descritto come "effetto telomerico di posizione su lunghe distanze", è stato proposto come "un potenziale nuovo meccanismo per come l'accorciamento dei telomeri possa contribuire all'invecchiamento e all'inizio o progressione della malattia nelle cellule umane molto prima dell'induzione di una risposta critica al danno del DNA" [Robin et al. 2014]. Tuttavia, questo meccanismo sembra troppo semplicistico per spiegare i numerosi cambiamenti graduali nell'espressione del DNA dipendenti dall'accorciamento dei telomeri e dalla correlata repressione delle sequenze subtelomeriche, come è

evidenziato nello stesso lavoro: “I nostri risultati dimostrano che l’espressione di un sottoinsieme di geni subtelomerici dipende dalla lunghezza dei telomeri e che i cambiamenti diffusi nell’espressione genica sono indotti dall’accorciamento dei telomeri molto prima che i telomeri diventino limitatori di velocità per la divisione o prima che i telomeri brevi inizino a segnalare danno del DNA. Questi cambiamenti includono la sovraregolazione e la sottoregolazione dei livelli di espressione genica.” [Robin et al. 2014]

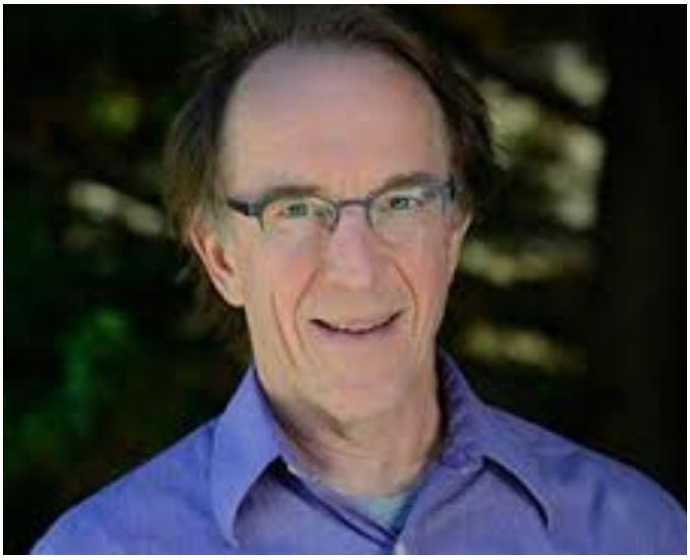


Figura 5.9 – Daniel E. Gottschling.

Figura 5.10 – Joseph A. Baur.

Figura 5.11 - Michael Fossel.

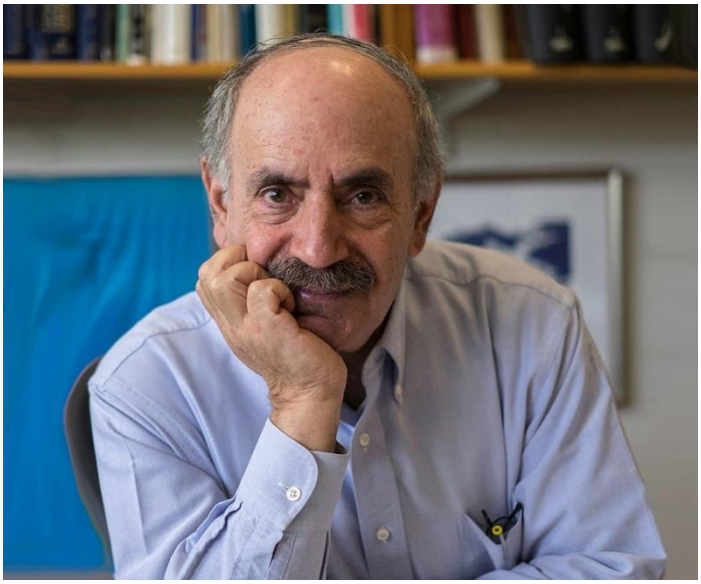


Figura 5.12 – Robert A. Weinberg.

Comunque, la repressione dei subtelomeri determina alterazioni progressive delle funzioni cellulari, comprese le secrezioni extracellulari, ed è stato proposto il nome di “senescenza cellulare graduale”, che descrive meglio il suo effetto a riguardo delle manifestazioni dell’invecchiamento [Libertini 2014b, 2015b].

Un diverso meccanismo fu proposto per spiegare la progressiva repressione del DNA subtelomerico. In breve, Michael Fossel (Fig. 5.11) suggerì che il telomero era coperto da un “cappuccio” eterocromatinico di lunghezza fissa e che l’accorciamento progressivo del telomero causava uno scorrimento proporzionale del cappuccio e di conseguenza la repressione della sequenza subtelomerica: “Un modello del legame fra telomero ed espressione del gene è una

struttura cromosomica alterata [Ferguson et al. 1991], come un ‘cappuccio’ eterocromatinico che copre il telomero e una lunghezza variabile del cromosoma subtelomerico [Fossel 1996; Villeponteau 1997; Wright et al. 1999]. Man mano che il telomero si accorcia, il cappuccio scivola sempre più giù lungo il cromosoma (il cappuccio eterocromatinico rimane invariante nelle dimensioni e si sposta semplicemente con l’accorciamento della parte terminale del cromosoma) ... il risultato è un’alterazione della trascrizione da porzioni del cromosoma immediatamente adiacenti al complesso telomerico, di solito causando il silenziamento trascrizionale, sebbene il controllo sia senza dubbio più complesso di un semplice effetto telomerico con il meccanismo della vicinanza [Aparicio e Gottschling 1994; Singer et al. 1998; Stevenson e Gottschling 1999]. Questi geni messi a tacere possono a loro volta modulare altri geni (o gruppi di geni) più distanti. Vi sono alcune prove dirette per tale modulazione nel subtelomero ...” [Fossel 2004, p. 50].
Come suggerito da Fossel, questo modello richiede un cappuccio di lunghezza fissa, che viene definita nella prima cellula di un organismo e che poi deve rimanere invariata in tutte le successive duplicazioni [Libertini e Ferrara 2016a].
Se è vera l’ipotesi di un cappuccio di dimensioni fisse, e se il cappuccio è costituito dalle proteine dei complessi *shelterin*, la quantità totale di tali proteine dovrebbe essere la stessa nel confronto tra cellule germinali e cellule con telomeri accorciati.
Al contrario, se l’ipotesi è falsa e la dimensione del cappuccio si adatta alla lunghezza dei telomeri, la quantità totale di proteine nei complessi *shelterin* dovrebbe diminuire in proporzione all’accorciamento dei telomeri.
L’ipotesi di Fossel appare compatibile con i risultati di un lavoro del team di Titia de Lange, in cui sono state confrontato linee cellulari con diversa lunghezza dei telomeri [Takai et al. 2010]: “Abbiamo utilizzato l’immunoblotting quantitativo per determinare l’abbondanza e la stechiometria delle proteine *shelterin* nella frazione proteica legata alla cromatina delle cellule umane. L’abbondanza di componenti *shelterin* era simile nelle cellule primarie e trasformate e non era correlata alla lunghezza dei telomeri.” Questo risultato è stato citato come affidabile in un recente lavoro [Li et al. 2017a]: “La quantificazione dei livelli proteici di *shelterin* mostra che l’abbondanza di questo complesso non cambia in relazione alla lunghezza dei telomeri [Takai et al. 2009].”
Nella stessa opera [Li et al. 2017a], l’azione di una particolare proteina (TZAP) nella rimozione di porzioni in eccesso di telomero appare condizionata da una quantità necessariamente costante di complessi *shelterin*. Anche questa azione è compatibile con le funzioni previste per un cappuccio di dimensioni fisse (v. *Sezione 5.8 – Il cappuccio eterocromatinico sul telomero*).
Un altro fenomeno legato all’accorciamento dei telomeri, e quindi, probabilmente, alla progressiva repressione dei subtelomeri e all’aumento delle manifestazioni della senescenza cellulare graduale, è una crescente probabilità del passaggio alla senescenza replicativa, lo stato “non ciclico” nella definizione di Blackburn [Blackburn 2000], o, per dirla in termini più recenti proposti da Ben-Porath e Weinberg (Fig. 5.12), una crescente probabilità di attivare un particolare programma, definito come “senescenza cellulare”, un “programma cellulare fondamentale” [Ben- Porath e Weinberg 2005]. Esso è caratterizzato da: (i) blocco delle capacità di duplicazione (senescenza replicativa); (ii) manifestazioni della senescenza cellulare graduale ai massimi livelli; e (iii) resistenza all’apoptosi [Kirkland e Tchkonia 2017].
Esiste una correlazione tra (i) accorciamento del telomero; (ii) repressione del subtelomero; (iii) percentuale di tempo in cui il telomero non è coperto e vulnerabile; e: (iv) manifestazioni progressive della senescenza cellulare graduale; e (v) probabilità di attivazione del programma di senescenza cellulare. Pertanto, poiché (iv) e (v) sembrano essere in funzione della porzione di sequenza subtelomerica che è inibita, è stato suggerito che sono in qualche modo influenzati e regolati da sequenze subtelomeriche, definite come sequenze “r”, che avrebbero un’azione regolatrice generale e importante sulla funzionalità cellulare, in particolare le funzioni alterate nella senescenza cellulare graduale, e sulla resistenza/vulnerabilità all’attivazione del programma di senescenza cellulare [Libertini e Ferrara 2016a] (Fig. 5.13).

Se le postulate sequenze “r” esistono davvero, dovremmo trovarle nelle sequenze subtelomeriche la cui repressione progressiva provocherebbe le alterazioni caratteristiche della senescenza cellulare graduale e la crescente vulnerabilità all’attivazione del programma di senescenza cellulare. Questo argomento cruciale sarà discusso nella *Sezione 5.7 - Il subtelomero*.

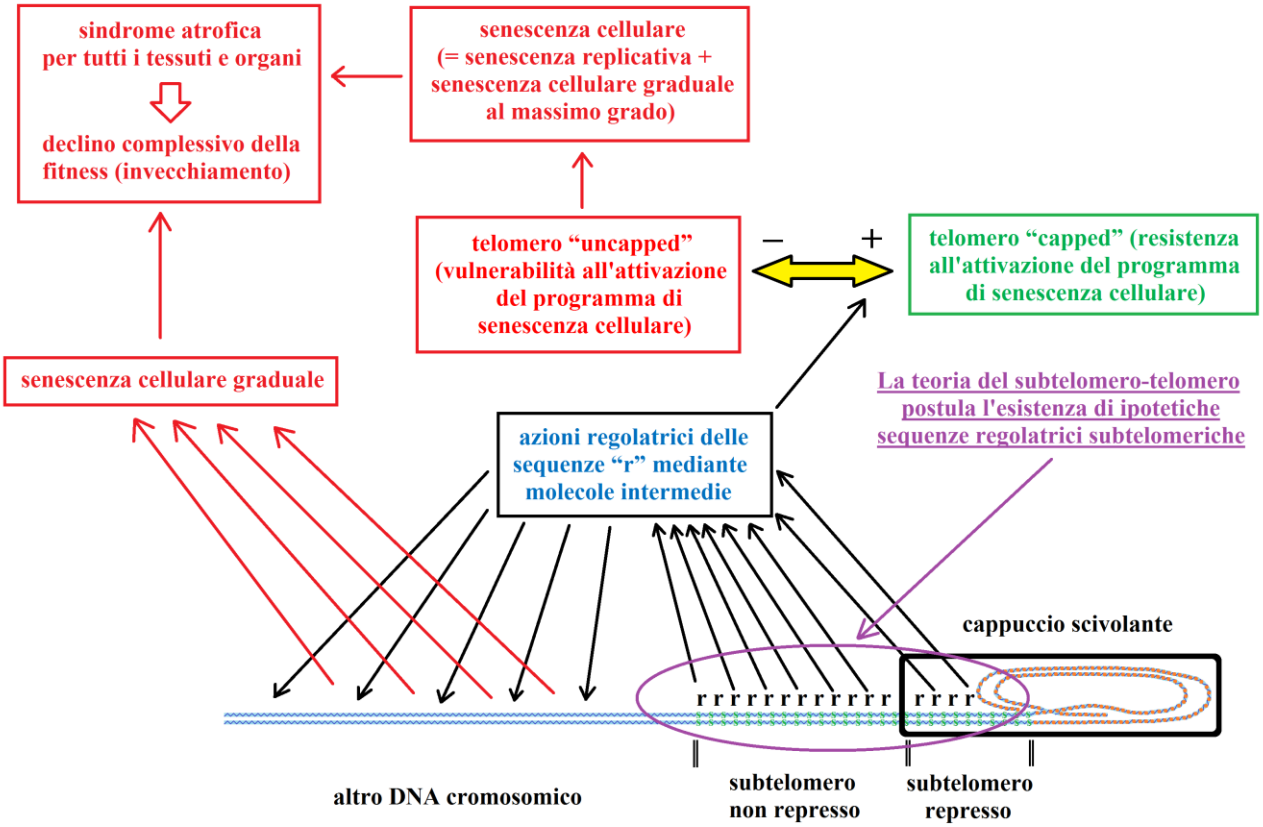


Figura 5.13 - Sequenze subtelomeriche (“r”), che avrebbero azioni regolatrici generali mediante verosimili sostanze intermedie, e loro repressione per lo scorrimento del cappuccio telomerico (o per l’accumulo di ERC nel lievito) (Fig. 3 da [Libertini 2017b], modificata e ridisegnata).

5.1.5 - Assenza di relazione tra longevità e lunghezza iniziale dei telomeri

Se le manifestazioni dell’invecchiamento sono una conseguenza dell’accorciamento dei telomeri, sembra razionale prevedere, nel confronto tra le specie, che la longevità debba essere proporzionale alla lunghezza iniziale dei telomeri, cioè a quella delle cellule della linea germinale, e analogamente alla media dell’attività telomerasica. Tuttavia, questa previsione è chiaramente contraddetta dall’evidenza:

(i) nei roditori non esiste alcuna relazione tra l’attività della telomerasi e la longevità [Gorbunova et al. 2008] (Fig. 5.14);

(ii) topi e criceti, sebbene con telomeri più lunghi della nostra specie, invecchiano in pochi anni e hanno una durata della vita molto più breve [Slijepcevic e Hande 1999];

(iii) due ceppi di *Mus*, con una lunghezza dei telomeri piuttosto diversa (20 kb e 10 kb), mostrano schemi temporali analoghi di senescenza cellulare e pari longevità [Fossel 2004, p. 60];

(iv) animali clonati derivati da cellule somatiche, che hanno telomeri più corti delle cellule germinali degli animali donatori, mostrano gli stessi ritmi di invecchiamento [Kubota et al. 2000; Lanza et al. 2001; Fossel 2004, pag. 60];

(v) nei ceppi di topi con telomerasi knockout (mTR -/-) caratterizzati da telomerasi inattivata, solo quando i telomeri sono molto accorciati, cioè dopo un intervallo fra quattro [Herrera et al. 1999]

e sei [Blasco et al. 1997] (Fig. 5.15) generazioni, è possibile osservare, in condizioni protette di laboratorio, che la vitalità e la fertilità sono compromesse;

(vi) i topi, sebbene con una durata della vita limitata, hanno un'attività di fondo della telomerasi nella maggior parte delle cellule somatiche [Prowse e Greider 1995].

Figura 5.14 – Vera Gorbunova.

Figura 5.15 – Maria Antonia Blasco Marhuenda.

Questi fenomeni, in chiara contraddizione con la predetta previsione, non possono essere spiegati se la determinazione della longevità è in funzione della lunghezza iniziale dei telomeri.

Una semplice spiegazione è possibile se ipotizziamo che nella prima cellula di un organismo pluricellulare, antecedentemente alla prima duplicazione e in una fase che potrebbe essere definita come fase di "reset", vi è la formazione di un cappuccio eterocromatinico (*telomere cap*), con una dimensione proporzionale alla lunghezza del telomero. Ciò sarebbe anche necessario se, come osservato [Londoño-Vallejo et al. 2001], nelle stesse cellule ci sono differenze nella lunghezza dei telomeri tra i cromosomi e anche tra le due estremità di un singolo cromosoma. Inoltre, è necessario supporre che, in tutte le successive replicazioni cellulari, "il cappuccio eterocromatinico rimane invariante nelle dimensioni" [Fossel 2004, p. 50]. Una lunghezza fissa del cappuccio è anche utile per spiegare come, nelle cellule in cui è attiva la telomerasi, l'enzima ripristina la lunghezza iniziale del telomero (verosimilmente utilizzando il cappuccio come segnale di delimitazione) e non lo allunga illimitatamente.

Con queste condizioni, dopo ogni duplicazione e se il telomero non è allungato dall'enzima telomerasi, vi è un accorciamento progressivo del telomero che determina lo scorrimento del cappuccio sulla sequenza subtelomerica e tutti gli anzidetti fenomeni determinati dalla repressione progressiva del subtelomero.

Pertanto, per la longevità, la "lunghezza [assoluta iniziale] del telomero è irrilevante; l'accorciamento del telomero è cruciale"[Fossel 2004, p. 36] (ovviamente escluso il caso di una lunghezza del telomero inferiore a una dimensione critica [Fossel 2004]; "Una lunghezza minima delle ripetute sequenze telomeriche è necessaria per il legame e la protezione delle proteine *shelterin* [Blackburn 2001; de Lange 2005]." [Whittemore et al. 2019], si veda anche [Blackburn 2001; de Lange 2005]), mentre è decisivo l'accorciamento dei telomeri, in termini di coppie di basi

nucleiche (bps) perse, e la conseguente inibizione progressiva del subtelomero, la cui lunghezza è di importanza critica [Fossel 2004 ; Libertini 2015b].
I suddetti fenomeni, (i)-(vi), sono illustrati e interpretati nella Fig. 5.16 per i fenomeni (i), (ii) e (vi); nella Fig. 5.17 per (iii) e (iv); e nella Fig. 5.18 per (v).

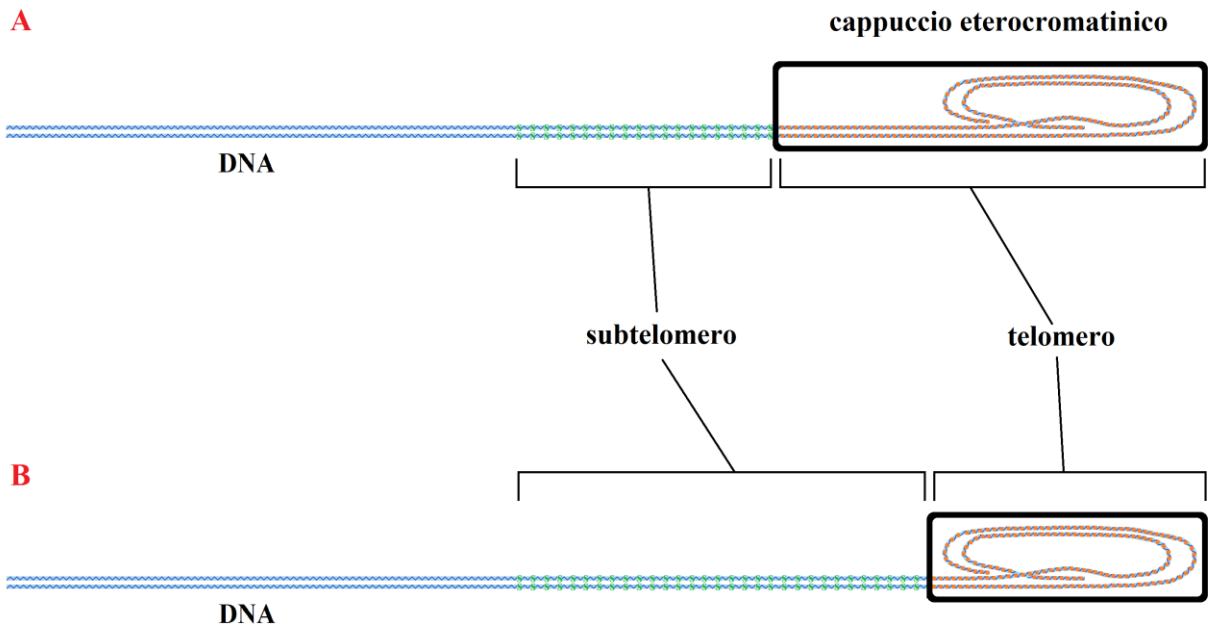


Figura 5.16 - In A, il subtelomero è più corto e il telomero più lungo rispetto a B. Se i telomeri, dopo un certo numero di duplicazioni sono ugualmente accorciati (cioè, vi è la stessa riduzione del numero di coppie di basi nucleiche), si ha un uguale scorrimento del cappuccio eterocromatinico sul subtelomero, ma una porzione repressa maggiore (in percentuale) del subtelomero più corto in A rispetto alla porzione repressa del subtelomero in B, e questo dovrebbe portare a un invecchiamento più precoce. Se per A vi è anche una maggiore attività basale della telomerasi, che riduce l'accorciamento dei telomeri, ciò può essere insufficiente per compensare la maggiore porzione di subtelomero repressa. Questo potrebbe essere un modello semplice per spiegare i fenomeni (i), (ii) e (vi) (Fig. 5 da [Libertini e Ferrara 2016a], modificata e ridisegnata).

A proposito del fenomeno descritto in (v), è necessario sottolineare che per i tessuti e gli organi con rapido turnover cellulare, vi sono alterazioni nelle prime generazioni: "I risultati successivi pongono i dati iniziali sotto una luce diversa [Lee et al. 1998; Rudolph et al. 1999; Blasco 2002]. I topi di prima generazione erano sottilmente anormali e le anomalie aumentavano con l'età [Herrera et al. 1999]. Alcuni topi di prima generazione avevano dermatite erosiva. I problemi di fertilità diventavano evidenti dalla quinta generazione e non vi furono discendenti dalla sesta generazione. Ciò era in parte attribuibile alle perdite cellulari e ai cambiamenti degli organi nei sistemi riproduttivi, ma anche altri organi con cellule altamente proliferative furono colpiti in modo simile [Blasco 2002]. Il rinnovo delle cellule staminali ematopoetiche diminuiva in vitro, sebbene non in modo dimostrabile nell'istologia periferica o del midollo. Le risposte alla perdita di sangue [Samper et al. 2002], alla guarigione delle ferite [Rudolph et al. 1999], alla funzione immunitaria [Blasco 2002], alla angiogenesi e alla vascolarizzazione [Franco et al. 2002] risultavano compromesse. ..." [Fossel 2004, p. 35]. Quindi, allo stato selvatico, cioè in condizioni naturali non protette, è verosimile che la capacità di sopravvivenza sia significativamente ridotta dall'inattività della telomerasi.

Va inoltre considerato che, nel confronto fra le specie, esiste: (i) una relazione diretta tra la lunghezza iniziale dei telomeri e la velocità di accorciamento dei telomeri misurata in bps (*base pairs*) persi ogni anno nelle cellule mononucleate del sangue periferico; e (ii) una relazione inversa tra questo tasso di accorciamento e la durata della vita [Whittemore et al. 2019] (Fig. 5.19).

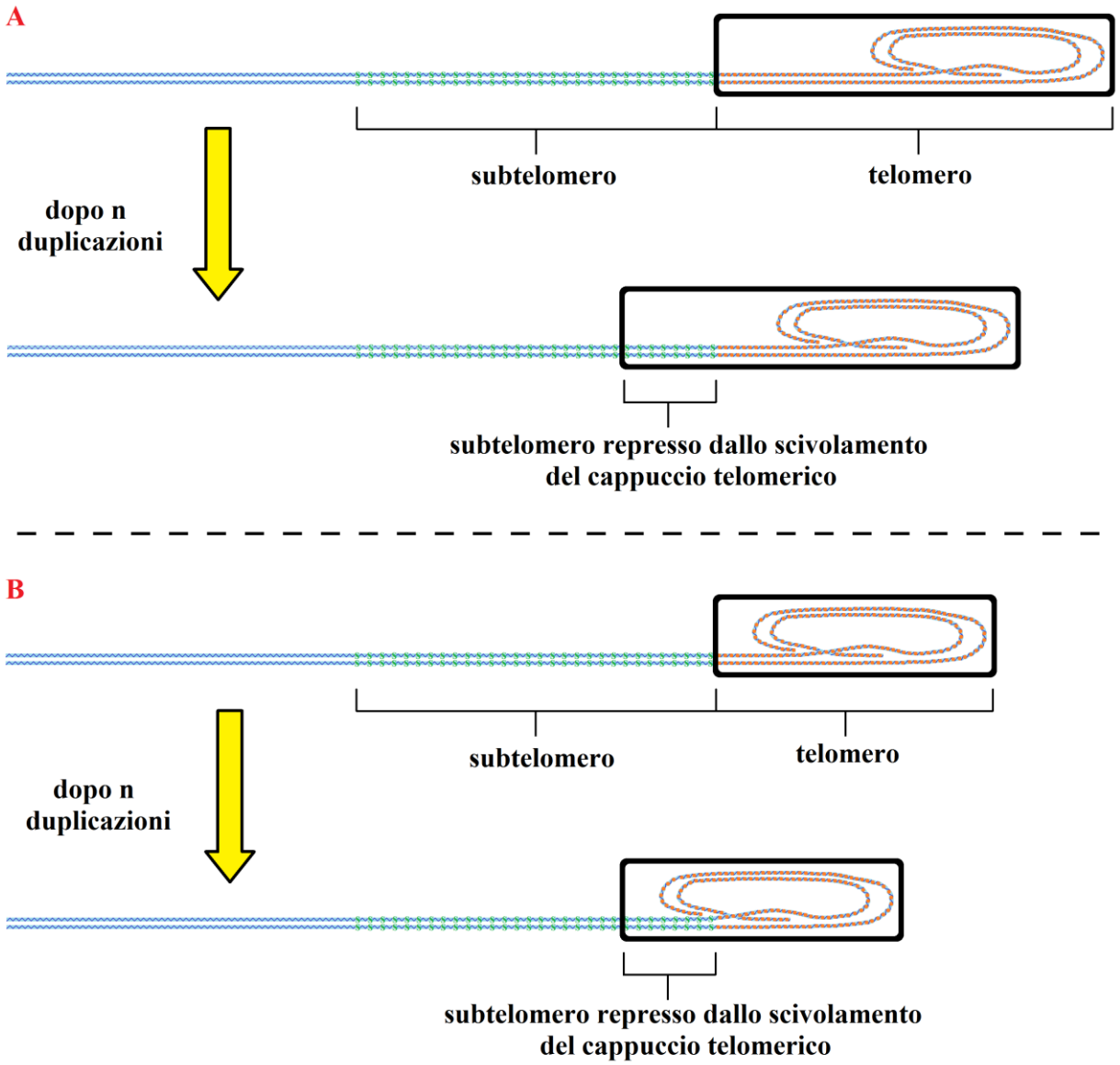


Figura 5.17 - A e B: due ceppi di *Mus* con lunghezza dei telomeri rispettivamente di 20 kb e 10 kb, mentre i subtelomeri sono identici. Nel caso A, i telomeri e i loro cappucci sono più lunghi rispetto al caso B, ma la progressività della senescenza cellulare graduale e l'incremento della probabilità di attivazione della senescenza cellulare sono gli stessi perché sono in funzione della progressiva repressione percentuale del subtelomero, che è la stessa, e non della lunghezza iniziale del telomero. A e B possono anche rappresentare un donatore animale e i suoi cloni con telomeri rispettivamente più lunghi e più corti. Questo modello può spiegare i fenomeni (iii) e (iv) (Fig. 5 da [Libertini 2015b], modificata e ridisegnata).

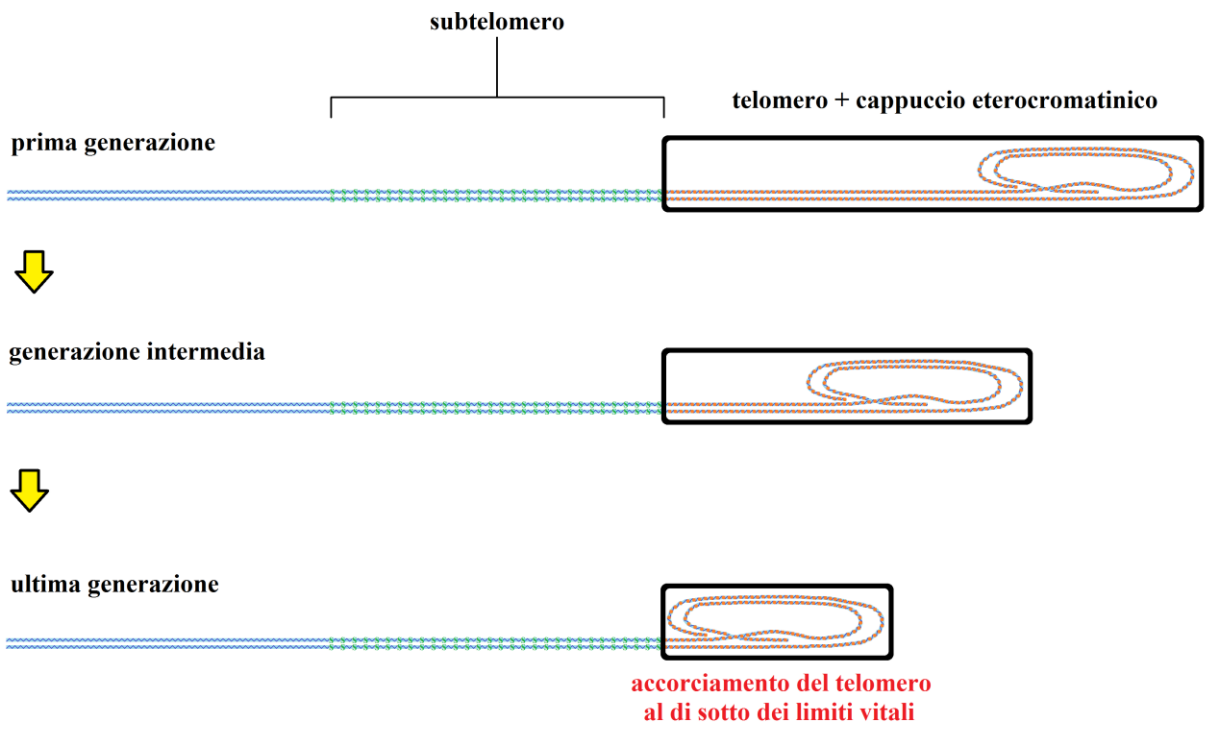


Figura 5.18 - Nei topi con telomerasi *knockout* (mTR-/-), nella prima generazione la lunghezza dei telomeri e dei loro cappucci è uguale a quella dei ceppi normali. Poiché la telomerasi è inattiva, nelle generazioni successive i telomeri e i loro cappucci diventano più corti (dopo 4-6 generazioni i telomeri diventano troppo corti per consentire la vitalità). Ad ogni generazione, la lunghezza del subtelomero è costante, in quanto non è influenzata dalla telomerasi. Per ogni generazione, ad ogni replicazione cellulare, il telomero si accorcia e il subtelomero viene progressivamente inibito dallo scorrimento del cappuccio del telomero. Quindi, come per la figura precedente, la repressione dei subtelomeri è in funzione dell'accorciamento dei telomeri (cioè del numero di bps persi) e non della lunghezza iniziale dei telomeri [Fossel 2004]. Questo spiega il fenomeno (v) (Fig. 6 da [Libertini 2015b], modificata e ridisegnata)

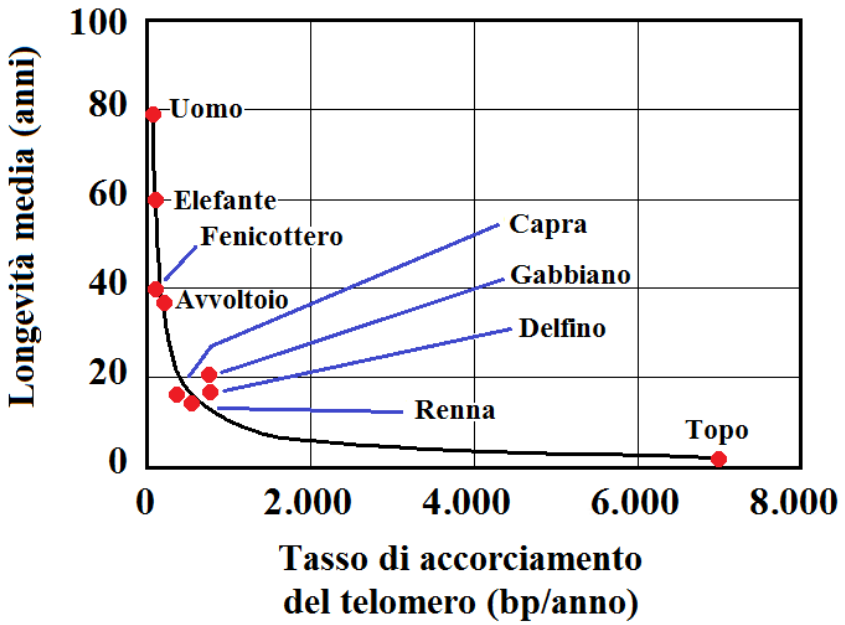


Figura 5.19 - Relazione inversa tra durata della vita e tasso di accorciamento dei telomeri (Fig. 5-G da [Whittemore et al. 2019], modificata e ridisegnata).

5.2 - Cambiamenti metabolici nelle cellule che invecchiano

Una serie di alterazioni caratteristiche delle cellule invecchiate è nota da tempo. Hayflick nel 1977 riportava già il seguente elenco di cambiamenti metabolici osservati nei normali fibroblasti umani invecchiati *in vitro* [Hayflick 1977, pp. 169-71, Tabella 4, riferimenti omessi]:

Parametri che aumentano Contenuto di glicogeno; Contenuto lipidico; Sintesi lipidica; Contenuto proteico; Contenuto di RNA; turnover dell'RNA; Lisosomi ed enzimi lisosomiali; Eterogeneità nella lunghezza del ciclo di divisione; Labilità termica del G6PD e della 6-fosfogluconato deidrogenasi; Proporzione di RNA e istone nella cromatina; Attività di "enzimi associati alla cromatina" (RNAasi, DNAasi, proteasi, trifosfatasi nucleosidica, DPN pirofosforilasi); Attività della 5'-MNasi; Attività dell'esterasi; Banda 3 della fosfatasi acida; Fosfatasi acida; Attività della β-glucuronidasi; Attività dell'ATPasi associata a membrana; Dimensione e volume delle celle; Numero e dimensioni dei lisosomi; Utilizzo del glucosio; Prolungamento del tempo di raddoppio; Numero di corpi residui; Microfibrille citoplasmatiche, ristrette e "vuote"; Reticolo endoplasmatico; Livello dell'AMP ciclico/mg di proteina; Componente proteica P8; Fluorescenza intracellulare del particolato; Tolleranza al danno subletale da radiazioni
Parametri che diminuiscono Enzimi glicolitici; Shunt pentoso fosfato; Sintesi di mucopolisaccaridi; Transaminasi; Sintesi di collagene; Contenuto di DNA; Sintesi di DNA; Sintesi di acido nucleico; Sintesi di collagene e attività collagenolitica; Pattern dell'isoenzima lattico deidrogenasi; Contenuto di RNA ribosomiale; Incorporazione di timidina tritata; Attività di sintesi dell'RNA della cromatina; Fosfatasi alcalina; Attività specifica della deidrogenasi lattica; Tasso di sintesi dell'RNA; Divisione sincrona, costanza del tempo di interdivisione e motilità; Tasso di acetilazione dell'istone; Numero di cellule nel pool proliferante; Densità di saturazione cellulare; Potenziale del raddoppio della popolazione in funzione dell'età dei donatori; Proporzione di mitocondri con creste completamente trasversali; Specificità HLA (cellule clonate); Aderenza alla fibrina polimerizzante e influenza sulla retrazione della fibrina; Livello dell'AMP ciclico (valori molari); Attività dello stampo di cromatina; Tasso di allungamento della catena del DNA; Tasso di ricongiungimento e riparazione del filamento di DNA
Parametri che non cambiano <Omesso>

Queste alterazioni metaboliche, il cui elenco è certamente incompleto (ad esempio, è necessario aggiungere le alterate secrezioni cellulari associate alla senescenza cellulare, note come fenotipo secretorio associato alla senescenza (*senescence-associated secretory phenotype*) o SASP [Xu et al. 2015a, 2015b; Coppé et al. 2006]), è stato aggiornato in epoche successive (ad es.: [Kirkland e Tchkonia 2017]). Esse sono le presumibili manifestazioni della senescenza cellulare graduale e della senescenza cellulare di parte delle cellule nella coltura. Comunque, l'interpretazione generale di queste alterazioni risulta essere molto più importante di quella di ogni singola alterazione.

Per le teorie dell'invecchiamento non adattativo, sono la conseguenza della causa primaria dell'invecchiamento proposta da ciascuna teoria e non sono reversibili nel loro insieme. Mediante azioni particolari, è possibile mirare a una reversibilità parziale di queste alterazioni o a frenare il progredire di tali alterazioni, ma in generale rappresentano modifiche che è inverosimile presumere come completamente reversibili.

Per il paradigma dell'invecchiamento adattativo, secondo la teoria del subtelomero-telomero, i meccanismi precedentemente discussi basati sul sistema telomero-subtelomero-telomerasi ("sistema TST") sono la causa di queste alterazioni. Inoltre, le alterazioni causate dalla senescenza cellulare graduale sono completamente reversibili attraverso l'attivazione o la riattivazione della telomerasi. Per quanto riguarda la senescenza cellulare, che appare essere reversibile solo nelle sue prime fasi [van Deursen 2014] e, successivamente, *in vitro* e mediante particolari artifici [Beauséjour CM et

al. (2003], l'eliminazione delle cellule senescenti (usando farmaci senolitici) e il ripristino dei livelli normali di ricambio cellulare in linea di principio dovrebbero eliminare le conseguenze di tali alterazioni (Fig. 5.20).

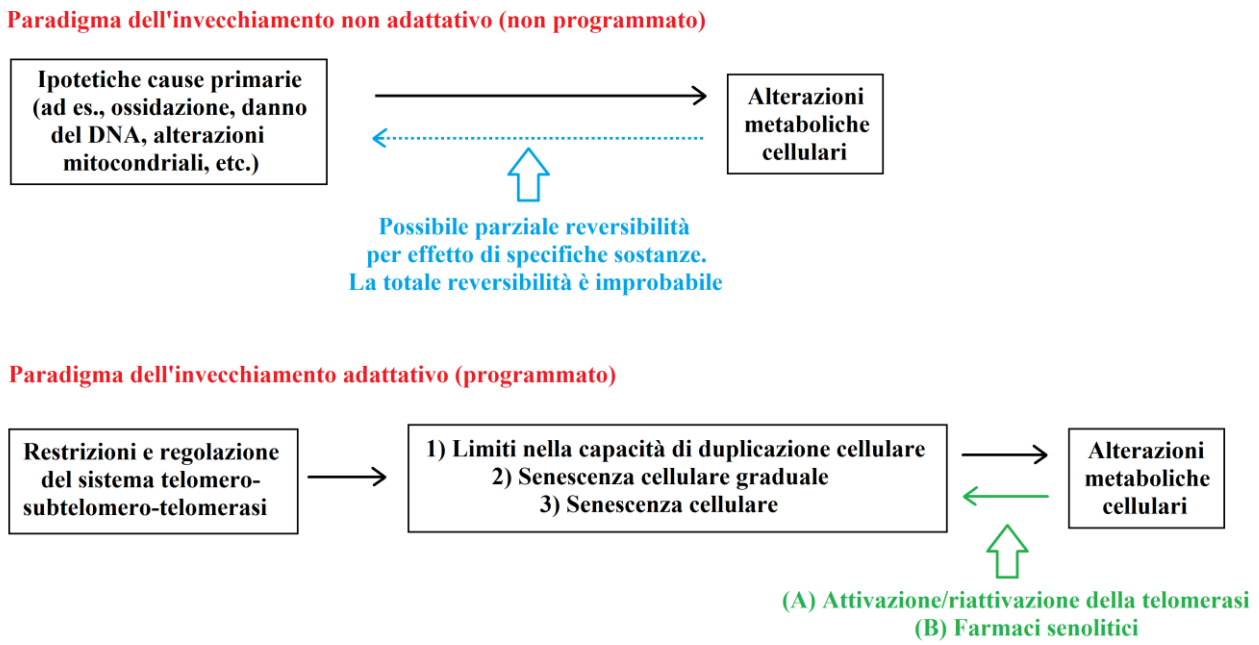


Figura 5.20 - Differenti interpretazioni delle alterazioni metaboliche nelle cellule invecchiate per i paradigmi dell'invecchiamento non adattativo e adattivo.

5.3 - La sindrome atrofica

Il sistema TST determina: (i) un aumento progressivo del numero di cellule con funzioni e secrezioni alterate dovute a senescenza cellulare graduale o a senescenza cellulare; (ii) limiti nella capacità di duplicazione cellulare con il conseguente progressivo rallentamento del turnover cellulare.

Le alterazioni dirette e secondarie causate da questi fenomeni determinano una progressiva compromissione di tutti i tessuti e gli organi, descritta con il termine generale di "sindrome atrofica" e caratterizzata da:

"a) ridotta capacità media di duplicazione cellulare e turnover cellulare rallentato;
b) numero ridotto di cellule (atrofia);
c) sostituzione delle cellule specifiche mancanti con cellule non specifiche;
d) ipertrofia delle cellule specifiche rimanenti;
e) funzioni alterate delle cellule con telomeri accorciati o definitivamente in stato di non replicazione;
f) alterazioni dell'ambiente cellulare circostante e delle cellule a seconda della funzionalità delle cellule senescenti o mancanti;
g) vulnerabilità al cancro dovuta all'instabilità indotta da telomeri disfunzionali ..." [Libertini 2014b]

L'argomento, appena menzionato qui, è estremamente importante in quanto è la radice di tutte le alterazioni delle persone anziane e pertanto sarà descritto più dettagliatamente nel successivo *Capitolo 6 – L'invecchiamento nella specie umana.*

5.4 - Limiti nelle capacità di duplicazione cellulare e altri effetti del sistema telomero-subtelomero-telomerasi spiegati come una difesa generale contro il cancro

Se l'invecchiamento è un fenomeno non adattativo causato dagli effetti cumulativi e casuali di molti fenomeni degenerativi, non sono necessari meccanismi che compromettano progressivamente la capacità di sopravvivenza (vale a dire che aumentano la mortalità). Pertanto, meccanismi di questo tipo, se esistenti, richiederebbero una giustificazione specifica.
Al contrario, se l'invecchiamento è un fenomeno adattativo e programmato, meccanismi di questo tipo sono giustificati e, inoltre, assolutamente necessari per la validità di questa tesi [Libertini 2008].
Pertanto, l'esistenza dei meccanismi prima descritti, che determinano la senescenza cellulare graduale (alterazione progressiva delle funzioni cellulari), la senescenza cellulare (senescenza replicativa + senescenza cellulare graduale al massimo livello) e i limiti crescenti nelle capacità di duplicazione cellulare, per il paradigma dell'invecchiamento non adattivo (non programmato) richiede una causa generale valida che deve essere diversa da quella proposta dal paradigma opposto (adattivo o programmato), cioè che sono meccanismi specificamente definiti e modellati dalla selezione naturale per determinare l'invecchiamento. La questione non è marginale o irrilevante. In assenza di una tale giustificazione generale, il paradigma dell'invecchiamento non adattativo diventerebbe insostenibile e di conseguenza molto di ciò che nel campo della gerontologia e della geriatria dalla maggior parte degli studiosi è considerato vero ed è accettato dovrebbe essere completamente riconsiderato.

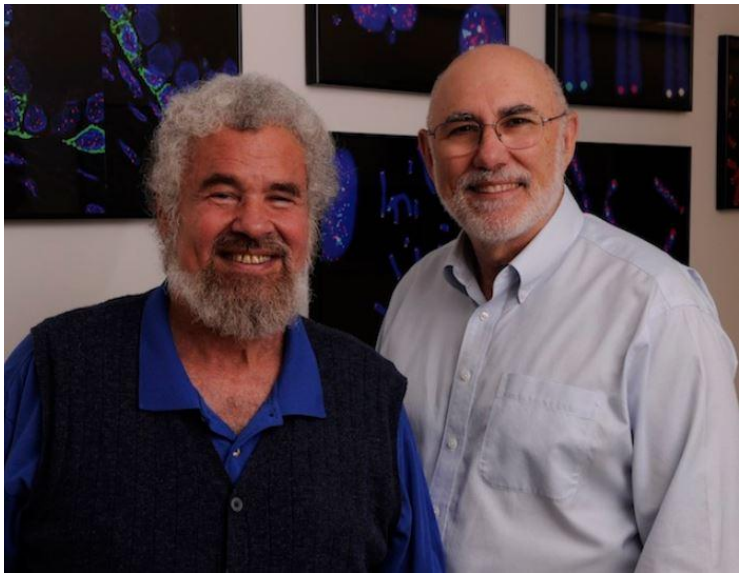


Figura 5.21 – Woodring Wright (1949-2019)
(a sinistra) e Jerry Shay.

L'unica spiegazione proposta dai sostenitori del paradigma dell'invecchiamento non adattativo per i meccanismi di cui sopra, o almeno per parte di essi, è che i limiti delle capacità di duplicazione e il declino delle funzioni cellulari in relazione al numero di duplicazioni sarebbe un'importante difesa generale contro la proliferazione incontrollata delle cellule, vale a dire contro le malattie oncologiche. Secondo questa tesi, l'invecchiamento sarebbe solo un danno collaterale spiacevole e dannoso causato da una difesa fondamentale e assolutamente necessaria dell'organismo [Campisi 1997; Wright e Shay 2005; Rodier e Campisi 2011] (Fig. 5.21). Questa ipotesi è stata descritta più precisamente come un drammatico compromesso evoluzionistico tra le manifestazioni dell'invecchiamento e la necessità di contrastare il cancro mediante misure drastiche [Campisi 2000; Stone et al. 2016; Young 2018]. Tale spiegazione sembra essere coerente con ciò che viene proposto da due teorie largamente diffuse del paradigma dell'invecchiamento non programmato, vale a dire la *antagonistic pleiotropy theory* [Williams 1957; Rose 1991] e la *disposable soma theory* [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979].

Inoltre, poiché la medicina moderna combatte il cancro mediante invalidanti amputazioni e devastanti cure radioterapiche e chemioterapiche, perché dovremmo esitare ad accettare la possibilità che la selezione naturale combatta il pericolo oncologico mediante i meccanismi dell'invecchiamento, che hanno un serio impatto di analoga gravità?
Tuttavia, varie obiezioni sono state formulate contro questa spiegazione e appaiono renderla del tutto insostenibile [Fossel 2004; Libertini 2008, 2009b, 2013, 2019a; Milewski 2010; Mitteldorf 2013].
Ora è opportuno descrivere, approfondire e considerare brevemente queste obiezioni, data l'importanza delle implicazioni derivanti dalla loro validità o infondatezza:

1) Esistono molte specie che non mostrano alcun aumento della mortalità correlata all'età in età esistenti in condizioni naturali (ad es. rockfish, storione, molluschi bivalvi, tartarughe, alcuni alberi perenni [Finch 1990]). Gli animali (o meglio, le specie) senza mortalità crescente correlata all'età sono noti come animali con "senescenza trascurabile" (*negligible senescence*, [Finch 1990, p. 206]). A parte il fatto che il paradigma dell'invecchiamento non programmato non spiega la loro esistenza, che non appare compatibile con esso [Libertini 2015a], si dovrebbe notare che per queste specie è inverosimile un crescente rischio oncogenico, come dimostrato indirettamente dalla loro costante mortalità a qualsiasi età. Se accettiamo una qualsiasi delle teorie sull'invecchiamento non programmato, dovremmo anche spiegare perché un rischio oncogenico costante (e basso) può coesistere con l'assenza di un invecchiamento rilevabile, mentre ciò non è vero per le specie che mostrano una mortalità crescente correlata all'età. Questa è una incoerenza forte e irrisolta della tesi dell'invecchiamento non programmato [Libertini 2008].
2) In condizioni naturali, giovani individui di animali con "senescenza trascurabile" come le specie di rockfish [Nero 2002], la trota arcobaleno e l'aragosta [Klapper, Heidorn et al. 1998; Klapper, Kühne et al. 1998], hanno gli stessi livelli di attività della telomerasi mostrati da individui della stessa specie con maggiori età. Poiché per queste specie, vi è un tasso di mortalità costante a qualsiasi età, è improbabile un crescente rischio oncogenico correlato all'età e quindi la possibilità che per queste specie l'attività della telomerasi sia oncogenica non è plausibile [Libertini 2008].
3) "La telomerasi non è un oncogene" [Harley 2002]: (i) L'aumentata attività della telomerasi, indotta artificialmente in topi normali, determinò una maggiore longevità senza un maggiore rischio oncogenico [Bernardes de Jesus et al. 2012]; (ii) Nei topi, il trattamento con AAV9-Tert, che induceva la riattivazione della telomerasi, non portò alla carcinogenesi [Whittemore et al. 2019]; e (iii) L'assenza di una relazione tra l'attività della telomerasi e il rischio oncogenico è dimostrata anche in altri lavori autorevoli [Tomás-Loba et al. 2008; Jaskelioff et al. 2011; Muñoz-Lorente et al. 2018].
4) I telomeri si accorciano ad ogni duplicazione se la telomerasi è inattiva. Quando la lunghezza dei telomeri raggiunge un valore criticamente basso c'è instabilità disfunzionale indotta da telomeri per la molecola di DNA cromosomico e questo aumenta la vulnerabilità al cancro [DePinho 2000; Artandi 2002; Wu et al. 2003; Artandi e DePinho 2010; Ma et al. 2011]. Nei soggetti affetti da discheratosi congenita, una sindrome genetica in cui l'attività della telomerasi è compromessa, si osserva un'alta incidenza di cancro [Dokal 2000]. Quindi, vi è evidenza che la telomerasi protegge dal cancro e non è un fattore oncogenico.
5) Dopo le prime fasi dell'oncogenesi, è comune osservare un'attività fuori controllo della telomerasi, ma questo viene dopo e non prima dell'inizio del cancro [Fossel 2004]: "Il ruolo del telomero nella stabilità cromosomica [Blagosklonny 2001; Campisi et al. 2001; Hackett et al. 2001] sostiene che la telomerasi protegge dalla carcinogenesi [Chang et al. 2001; Gisselsson et al. 2002], in particolare all'inizio della carcinogenesi quando la stabilità genetica è fondamentale [Elmore e Holt 2000; Kim e Hruszkewycz 2001; Rudolph et al. 2001], oltre a proteggere dall'aneuploidia e dalla speciazione secondaria [Pathak et al. 2002]. Il ruolo della telomerasi

dipende dallo stadio della malignità e da cofattori [Ohmura et al. 2000]; l'espressione è tardiva e permissiva, non causale [Seger et al. 2002]." [Fossel 2004, pag. 78].

6) Le alterazioni cellulari determinate dalla senescenza cellulare graduale e dalla senescenza cellulare (senescenza replicativa + senescenza cellulare graduale ai massimi livelli) indeboliscono le capacità del sistema immunitario [Fossel 2004]. In un lavoro abbastanza recente, sebbene gli autori proclamino che "La senescenza cellulare, uno stato di stabile arresto del ciclo cellulare in risposta allo stress cellulare, è un meccanismo indispensabile per contrastare la tumorigenesi arrestando la proliferazione delle cellule danneggiate", dichiarano anche che "Tuttavia, attraverso la secrezione di una serie di diverse citochine, chemochine, fattori di crescita e proteasi noti come fenotipo secretorio associato alla senescenza (SASP), le cellule senescenti paradossalmente possono promuovere la carcinogenesi. Coerentemente con ciò, la rimozione delle cellule senescenti ritarda l'insorgenza del cancro e prolunga la durata della vita *in vivo*, potenzialmente in parte attraverso la riduzione del SASP" [Ghosh e Capell 2016]. L'efficienza del sistema immunitario manifesta una relazione inversa con l'incidenza del cancro [Rosen 1985] e, a proposito del declino correlato all'età di questo sistema (immunosenescenza), si accetta che: "Molti cambiamenti nel sistema immunitario possono diminuire la sua capacità di combattere il tumore emergente o in progressione" [Fülöp et al. 2013]. È chiaramente illogico che i meccanismi spiegati come una difesa generale contro il cancro indeboliscano le difese contro di esso [Libertini e Ferrara 2016a]. L'immunosenescenza spiega molte caratteristiche dell'invecchiamento e dello sviluppo di malattie legate all'età [Fülöp et al. 2016], ma è improbabile che l'immunosenescenza sia la causa primaria dell'invecchiamento, come proposto da alcuni autori [Fülöp et al. 2014], e non una conseguenza dei meccanismi di invecchiamento.
7) La senescenza cellulare è caratterizzata dalle alterazioni della senescenza cellulare graduale al massimo grado e dalla senescenza replicativa [Fossel 2004]. Il blocco della capacità replicativa potrebbe supportare l'ipotesi che il fenomeno sia una difesa contro il cancro, ma il fenotipo secretorio associato alla senescenza (SASP) aumenta il rischio oncogenico [Parrinello et al. 2005; Coppé et al. 2008]. Comunque, nei topi, l'eliminazione selettiva delle cellule senescenti contrasta diversi cambiamenti dipendenti dall'età, aumenta la durata della vita e determina un ritardo nella progressione delle malattie maligne [Baker et al. 2016]. Inoltre, "Le cellule senescenti sono presenti nelle lesioni premaligne e nei siti di danno tissutale e si accumulano nei tessuti con l'età" [Biran et al. 2017]. Qui, i sostenitori della tesi secondo cui la senescenza cellulare contrasta il cancro dovrebbero spiegare perché, ben prima dell'insorgere del cancro, le cellule senescenti si accumulano nei tessuti degli anziani e nelle lesioni premaligne, con effetti infiammatori e un aumentato rischio di cancro. In un recente lavoro [Demaria et al. 2017], sebbene gli autori affermino che "la senescenza cellulare sopprime il cancro arrestando irreversibilmente la proliferazione cellulare", è dimostrato che, nelle terapie anticancro: "diversi farmaci chemioterapici inducono la senescenza [cellulare]" ma l'eliminazione di queste cellule senescenti indotte dalla terapia "ha ridotto diversi effetti a breve e lungo termine dei farmaci, tra cui ... la ricorrenza del cancro ..." [Demaria et al. 2017]. In breve, la senescenza cellulare è difficilmente giustificabile come difesa contro il cancro e, al contrario, è un fattore oncogenico, come ben sottolineato da Mitteldorf: "Se la senescenza cellulare è progettata per eliminare le linee cellulari cancerose, perché le cellule senescenti rimangono vive e velenose? Potrebbero invece essere programmate per essere buoni cittadini e smantellarsi attraverso l'apoptosi per facilitare il riciclo di proteine e nutrienti. Il fatto che le cellule senescenti emettano veleni è del tutto concorde con la teoria secondo cui la senescenza cellulare è una forma di morte organica programmata. Ma dal punto di vista della teoria del cancro, l'avvelenamento del corpo deve essere considerato un errore evoluzionistico inspiegabile." [Mitteldorf 2013]
8) In una popolazione umana (gli Ache del Paraguay) studiata nelle condizioni di vita esistenti prima del contatto con popolazioni moderne, i sopravvissuti all'età di 70 anni erano circa il 15-20% e prima di quell'età non fu osservato alcun caso di cancro [Hill e Hurtado 1996]. Solo per

pochissimi individui più anziani non uccisi da altre malattie identificate, una proliferazione maligna, sebbene non riportata, avrebbe potuto essere una causa di morte. Mentre il cancro è abbastanza comune nelle condizioni moderne, la rarità di questo tipo di malattia in popolazioni con stili di vita ancestrali è confermata da alcune testimonianze aneddotiche di Price [Price 1939]:

Il dott. J. Romig, "un chirurgo [di Anchorage] di grande capacità e con esperienza tra gli Eschimesi e gli Indiani, sia quelli primitivi che i modernizzati … dichiarò che nei suoi trentasei anni di relazioni con questi popoli non aveva mai visto un caso di malattia maligna tra gli Eschimesi e gli Indiani viventi veramente in condizioni primitive, sebbene ciò capiti frequentemente quando loro diventano modernizzati." [Price 1939, p. 83]

Il dottor J. R. Nimmo, il medico governativo responsabile per la popolazione delle Isole dello Stretto di Torres, disse al dott. Price che: "nei suoi tredici anni con loro non aveva visto un solo caso di tumori maligni, e visto solo una volta un caso in cui aveva sospettato vi fosse una neoplasia maligna, tra l'intera popolazione nativa di quattromila persone. Dichiarò che durante lo stesso periodo aveva operato su varie dozzine di tumori maligni per la popolazione bianca che annoverava circa trecento individui." [Price 1939, p. 179]

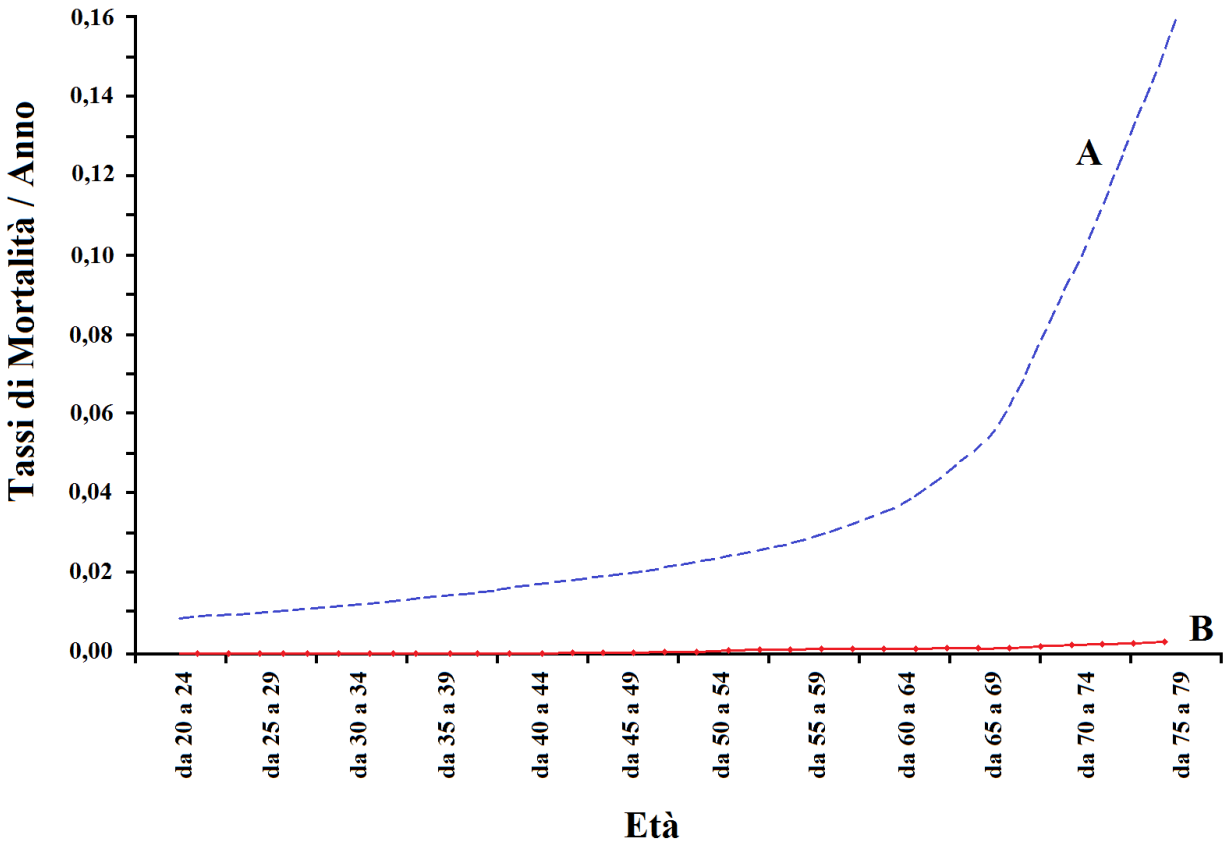


Figura 5.22 - A: tassi di mortalità totali per il popolo Ache in condizioni naturali [Hill e Hurtado 1996]; B: possibili tassi massimi di mortalità per cancro per la stessa popolazione (figura 8 da [Libertini 2013], modificata e ridisegnata). Le cause del forte incremento dei tassi di mortalità mostrato in A non possono essere una difesa contro le cause della mortalità molto più bassa mostrata in B.

Ora, nel confronto tra i tassi di mortalità totali del popolo Ache studiato in condizioni naturali con i possibili tassi di mortalità per cancro nella stessa popolazione (Fig. 5.22), è evidente che i tassi di mortalità causati dall'invecchiamento sono sempre molto maggiori dei tassi di mortalità causato dal cancro. Anche con il confronto fra i tassi di mortalità totali del popolo Ache in condizioni naturali con gli innaturali alti tassi di mortalità per cancro in popolazioni moderne

(Fig. 5.23), la stessa osservazione è vera. Pertanto, è fortemente inverosimile che un'ipotetica difesa contro il cancro causi la morte della maggior parte degli individui prima che essi siano colpiti da una malattia oncologica [Libertini 2013].

9) Per il lievito (*S. cerevisiae*), che è un organismo unicellulare, gli individui della linea madre mostrano una ridotta capacità di duplicazione (non più di circa 25-35 duplicazioni [Jazwinski 1993]) e, proporzionalmente al numero di duplicazioni: (i) aumento delle alterazioni metaboliche [Laun et al. 2001; Herker et al. 2004; Lesur e Campbell 2004; Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008]; e (ii) crescente vulnerabilità alla senescenza replicativa e all'apoptosi [Jazwinski 1993; Fabrizio e Longo 2007; Laun et al. 2007]. Questi fenomeni sono considerati equivalenti all'invecchiamento degli organismi pluricellulari e sono state descritte relazioni filogenetiche [Libertini 2015b]. Tuttavia, è impossibile che nel lievito questi fenomeni siano una difesa contro il cancro, perché questo è inesistente in una specie unicellulare [Libertini 2015b].

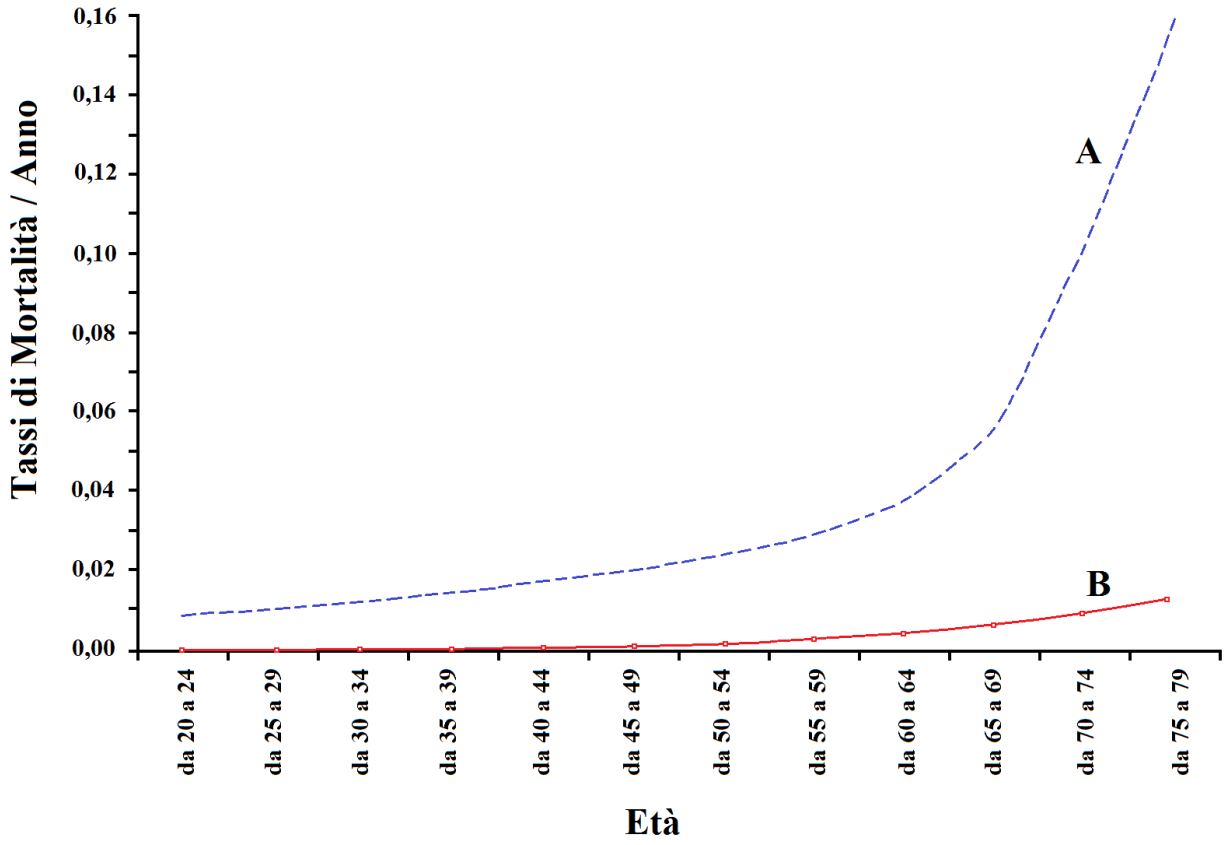


Figura 5.23 - A: tassi di mortalità totali per il popolo Ache in condizioni naturali [Hill e Hurtado 1996]; B: tassi di mortalità per cancro osservati in una popolazione moderna [General Register Office for Scotland 2010] (fig. 8 da [Libertini 2013]). Le cause del forte incremento della mortalità mostrato in A non possono essere una difesa contro le cause della mortalità molto più bassa mostrata in B. Sebbene i tassi di mortalità per cancro siano molto maggiori nelle popolazioni moderne che in condizioni naturali (a causa di molte alterazioni dello stile di vita e dell'ambiente) non potrebbero giustificare le molte persone decedute per effetto dell'invecchiamento concepito come una difesa contro il cancro.

In sintesi, l'ipotesi che i meccanismi dell'invecchiamento (limiti nella capacità di duplicazione cellulare, senescenza cellulare e senescenza cellulare graduale) siano una difesa generale contro il cancro è fortemente contraddetta dall'evidenza. Le implicazioni dell'insostenibilità dell'ipotesi per la plausibilità del paradigma dell'invecchiamento non adattativo sono sottovalutate o addirittura non discusse dai sostenitori di questo paradigma. Vi sono sporadici tentativi di mantenere viva questa ipotesi con argomenti dubbi:

(i) “La risposta della senescenza cellulare è ampiamente riconosciuta come un potente meccanismo di soppressione tumorale. Tuttavia, recenti prove rafforzano l’idea che essa accompagna anche patologie sia degenerative che iperplastiche [cioè il cancro], molto probabilmente promuovendo l’infiammazione cronica. Pertanto, la risposta della senescenza cellulare può essere il risultato di un’azione genetica antagonista pleiotropica” [Campisi 2013]. L’appello a fenomeni non dimostrati di antagonismo pleiotropico sembra essere una risorsa estrema per difendere ciò che è insostenibile.

(ii) In un altro lavoro, gli autori osservano, tra le altre cose, che: “A prima vista, sembra paradossale l’idea che la senescenza cellulare, un provato meccanismo antitumorale, possa far progredire il cancro. Tuttavia, la teoria evoluzionistica della pleiotropia antagonista stabilisce che un processo biologico può essere sia benefico che deleterio, a seconda dell’età dell’organismo ... recenti evidenze supportano l’idea che le cellule senescenti possano accrescere, almeno in linea di principio, il cancro e forniscono un potenziale meccanismo attraverso il quale ciò potrebbe accadere. ... le cellule senescenti sviluppano un fenotipo secretorio (SASP) che può influenzare il comportamento delle cellule vicine. Sorprendentemente, molti fattori SASP sono noti per stimolare i fenotipi associati alle cellule cancerose aggressive.” [Rodier e Campisi 2011] Anche in questo caso l’antagonismo pleiotropico è invocato per risolvere ovvie contraddizioni, senza nemmeno tentare di valutare in termini quantitativi l’equilibrio tra vantaggi (effetti antitumorali) e svantaggi (effetti cancerogeni, oltre ad altri svantaggi) dei meccanismi dell’invecchiamento.

Un duro commento sulla validità della suddetta tesi è il seguente: “L’ipotesi che la telomerasi sia inibita per ottenere un netto aumento della durata della vita mediante la prevenzione del cancro è certamente falsa. Se non fosse per l’impensabilità dell’alternativa – la morte programmata - la teoria sarebbe del tutto morta.” [Mitteldorf 2013].

A riguardo del possibile ruolo antitumorale primario dei meccanismi dell’invecchiamento dovrebbe essere analizzata la ragione della sua difesa testarda da parte dei sostenitori del paradigma dell’invecchiamento non adattativo. Ciò è stato spiegato come conseguenza di pregiudizi filosofici e dell’assenza di qualsiasi spiegazione alternativa compatibile con il paradigma dell’invecchiamento non adattativo [Milewski 2010].

5.5 - Il telomero

La maggior parte dei procarioti ha DNA circolare e non lineare nei propri cromosomi, e quindi non vi è una parte terminale per le loro molecole di DNA [Volff e Altenbuchner 2000] (Ciò risolve il problema della incompleta replicazione della parte terminale come evidenziato da Olovnikov [Olovnikov 1971, 1973].)

Al contrario, il DNA cromosomico delle cellule eucariotiche è lineare e quindi vi sono due estremità per ogni molecola di DNA. Esse furono definite telomeri [Muller 1938] (dalle parole greche τέλος [*telos*, fine] e μέρος [*meros*, parte]), e sono costituite da una specifica breve sequenza (motivo, *motif*) ripetuta più volte [Blackburn e Gall 1978; Moyzis et al. 1988; Blackburn 1991]. Questa sequenza è costante in ogni specie e piuttosto conservata nel corso dell’evoluzione. Infatti, il database delle sequenze telomeriche [Database Telomerase 2019] riporta che tutti i vertebrati hanno lo stesso *motif* (TTAGGG), identificato nel 1988 [Moyzis et al. 1988], il quale è anche comune a molte specie di invertebrati filogeneticamente distanti, ad es.:

Cassiopeidae sp. (meduse) [Ojimi et al. 2009];
Argopecten irradians (canestrello atlantico) [Sinclair et al. 2007];
Botryllus schlosseri (ascidia stella) [Laird e Weissmann 2004];
Leishmania major [Teixeira anf Gilson 2005];
Trypanosoma brucei [Blackburn e Challoner 1984];
Aspergillus fumigatus [Nierman et al. 2005];
Nicotiana tabacum (tabacco comune) [Weiss e Scherthan 2002];
Othocallis siberica (scilla siberiana) [Weiss-Schneeweiss et al. 2004].

Sequenze leggermente diverse sono molto diffuse. Ad esempio, il motivo TTAGG è presente in:
Stegobium paniceum (anobio del pane) [Frydrychová et al. 2004];
Bombyx mori (baco da seta domestico) [Okazaki et al. 1993];
Apis mellifera (ape europea) [Sahara et al. 1999];
Manica yessensis (un tipo di formica) [Okazaki et al. 1993];
Giardia lamblia [Morrison et al. 2007].

Al contrario, alcune specie hanno *motif* più lunghi e abbastanza diversi, ad esempio:
ACGGATGTCTAACTTCTTGGTGT per *Candida albicans* [McEachern e Blackburn 1994];
T (G) 2-3 (TG) 1-6 per *Saccharomyces cerevisiae* (lievito) [Shampay et al. 1984].
La grande conservazione del *motif* telomerico nel corso dell'evoluzione indica la grande importanza fisiologica del telomero.
A differenza della grande stabilità del *motif* telomerico, la lunghezza del telomero, che è in funzione del numero di volte che il *motif* è ripetuto, mostra una notevole varietà. Nel lievito il telomero ha una lunghezza di circa 450 coppie di basi [Runge e Zakian 1989], mentre tra i roditori [Seluanov et al. 2007] e, in generale, tra i mammiferi [Gomes et al. 2011] la lunghezza dei telomeri va da 8 a 50 kb con grandi differenze nella lunghezza dei telomeri.
Inoltre, anche tra individui della stessa specie e tra i cromosomi delle stesse cellule vi sono differenze: "... le lunghezze dei telomeri all'interno della stessa cellula sono eterogenee e alcuni bracci cromosomici hanno tipicamente telomeri corti o lunghi." [Londoño-Vallejo et al. 2001]

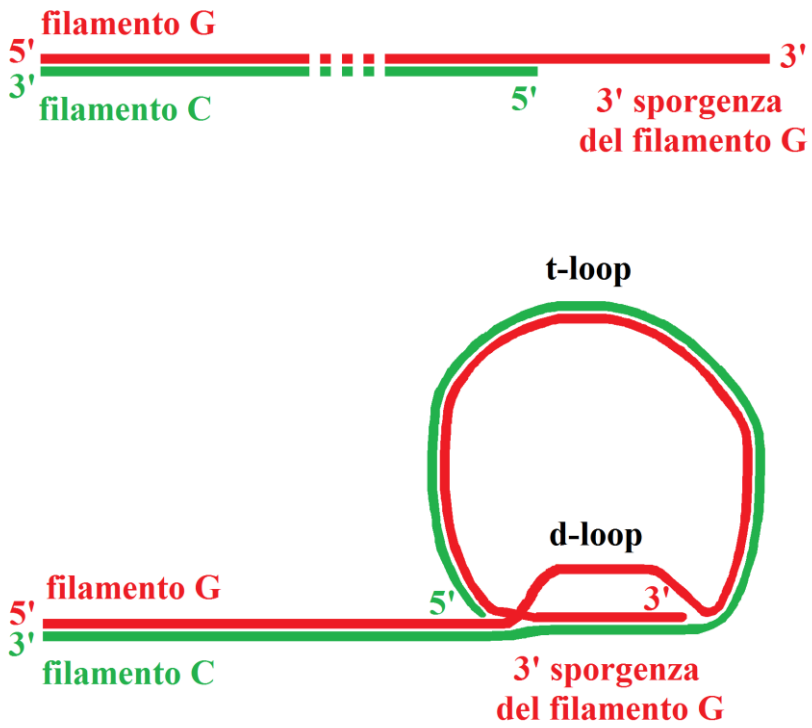


Figura 5.24 - Sopra, schema della parte terminale del telomero disegnata in forma estesa. Un filamento è ricco del nucleotide G ed è definito come filamento G, mentre l'altro filamento, essendo più ricco del nucleotide complementare, è definito filamento C. Il filamento G nella sua estremità 3' è più lungo dell'altro filamento e ciò è descritto dicendo che ha una sporgenza. Sotto, in uno schema bidimensionale, la parte terminale del telomero forma un particolare anello, definito come *t-loop*. La sporgenza del filamento G si insinua in una parte del doppio filamento accoppiandosi a un tratto del filamento C, mentre la parte dislocata di tale filamento forma quello che viene chiamato un *d-loop* (la parte inferiore della figura proviene da [Shubernetskaya e Olovnikov 2019a], Fig.1, modificata e ridisegnata).

Queste differenze nella lunghezza dei telomeri sono ereditate dai genitori: nei gemelli monozigoti, ci sono estremità cromosomiche molto simili mentre questa somiglianza non si trova nei gemelli dizigotici [Graakjaer et al. 2003; Hjelmborg et al. 2015].
La maggior parte del telomero è un doppio filamento, ma parte del filamento ricco di G ha una sporgenza sull'estremità 5', con una lunghezza da 50 a 280 nucleotidi nell'uomo e molto più corta (12-16 nucleotidi) negli eucarioti inferiori. La parte terminale del telomero forma una particolare struttura definita *t-loop* mentre la sporgenza 3' si allinea con una parte del filamento opposto, staccando la parte corrispondente di tale filamento e formando così una struttura definita *d-loop* [Lewis e Wuttke 2012; Doksani et al. 2013] (Fig. 5.24).
La sporgenza 3' appare avere due importanti funzioni: (i) interazione tra telomero e il complesso proteico (*shelterin*) che protegge l'estremità dei telomeri, il che si ottiene attraverso un dominio di pieghe oligosaccaridiche-oligonucleotidiche nel complesso *shelterin* [Lewis e Wuttke 2012]; e (ii) accessibilità del telomero per la telomerasi e altre proteine che legano i telomeri, in particolare per quelle che partecipano all'allungamento dei telomeri [de Lange 2005; Lewis e Wuttke 2012; Doksani et al. 2013].
Il complesso *shelterin* è composto da sei proteine. Tre di queste (TRF1, TRF2 e POT1) interagiscono direttamente con la sequenza telomerica, mentre le altre tre (TIN2, TPP1 e Rap1) sembrano collegare le prime tre proteine e/o avere funzioni regolatrici. Il complesso *shelterin* ha due ruoli essenziali: (i) protezione dell'estremità dei telomeri; e (ii) il reclutamento della telomerasi per il successivo allungamento del telomero; e per questi ruoli l'interazione tra le proteine del complesso shelterin e la sporgenza del 3' appare essenziale [de Lange 2005; Ishikawa 2013; Jones et al. 2016; Lim et al. 2017] (Fig. 5.25).
La CST è un altro complesso proteico essenziale per la protezione, la duplicazione e l'allungamento dei telomeri. Consiste in una grande subunità, CTC1 nell'uomo e Cdc13 nel lievito, e due subunità più piccole, STN1 e TEN1, e si lega al DNA a singolo filamento della sporgenza 3' nel filamento G [Price et al. 2010; Stewart et al. 2012, 2018; Rice e Skordalakes 2016].

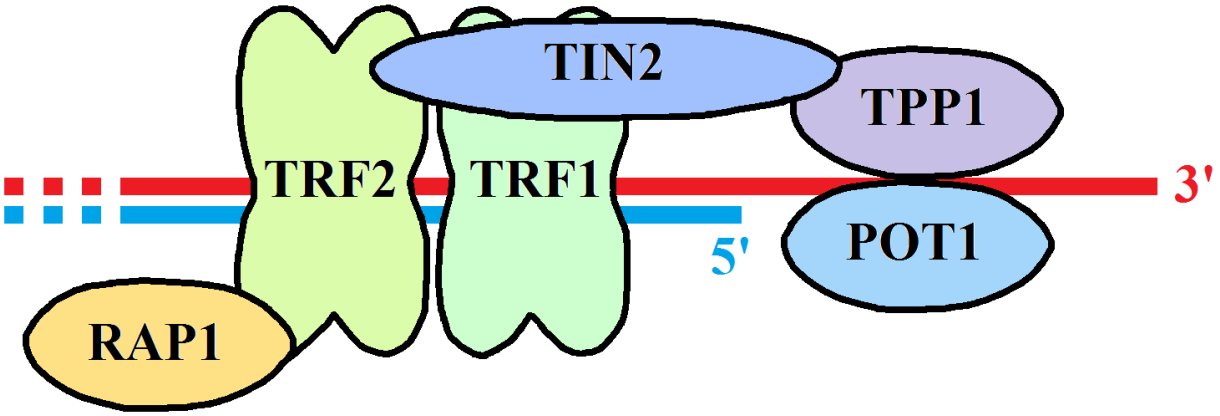


Figura 5.25 - Uno schema del complesso *shelterin* e della parte terminale del telomero come proposto in [Jones et al. 2016], Fig. 1, modificata e ridisegnata.

5.6 - L'enzima telomerasi

Nel 1971, Olovnikov evidenziò che la replicazione del DNA da parte dell'enzima DNA polimerasi era incompleta perché una piccola estremità del telomero era lasciata non duplicata e che ciò avrebbe portato al progressivo accorciamento del telomero [Olovnikov 1971], un problema che fu successivamente evidenziato anche da Watson senza citare il precedente articolo [Watson 1972].

Nel 1973, Olovnikov [Olovnikov 1973] evidenziò la necessità di un meccanismo cellulare in grado di compensare l'accorciamento della molecola di DNA. Questa felice previsione fu confermata - dodici anni dopo - dalla scoperta di un enzima, un complesso ribonucleoproteico definito come telomerasi, che era in grado di rimediare alla incompleta duplicazione della molecola di DNA aggiungendo ripetutamente il *motif* specifico della sequenza telomerica [Greider e Blackburn 1985]. In effetti, senza l'azione della telomerasi, nelle cellule somatiche umane, i telomeri si accorciano ad un tasso di 50-100 bps per ogni raddoppio della popolazione [Harley et al. 1990; Ohki et al. 2001].
Il complesso della telomerasi, o semplicemente la telomerasi, è composto da (i) una subunità catalitica trascrittasi inversa (*TElomerase Reverse Transcriptase*, TERT; hTERT per la TERT umana); (ii) una componente contenente un modello RNA (*TElomerase RNA*, TER; hTER per la TER umana), che fornisce un modello per l'aggiunta del *motif* (TTAGGG per mammiferi); e (iii) altre proteine, che assicurano il corretto riconoscimento dei telomeri e hanno ruoli regolatori [Blackburn et al. 2006; Nandakumar e Cech 2013; Ishaq et al. 2016; Armstrong e Tomita 2017; Schmidt et al. 2018].

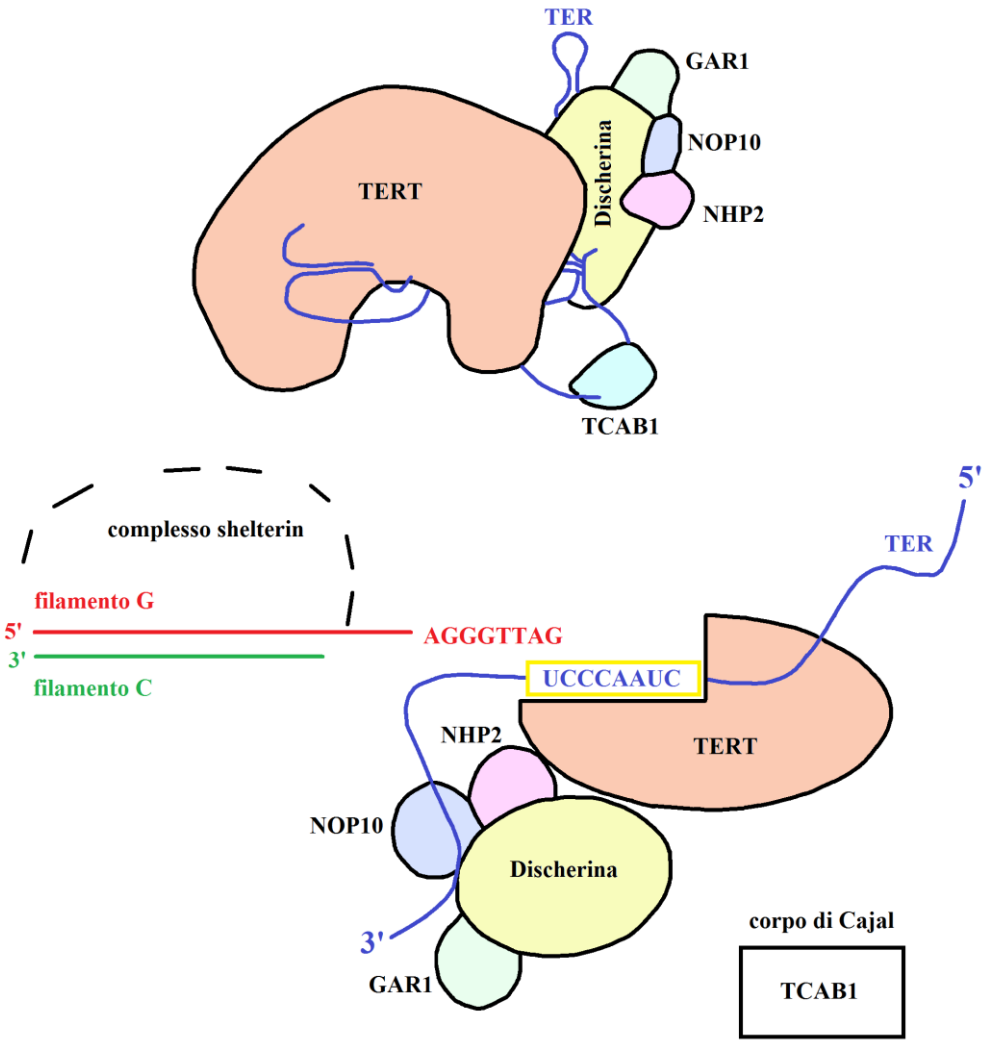


Figura 5.26 - Struttura del complesso della telomerasi umana nell'interpretazione di [Shubernetskaya e Olovnikov 2019b] (sopra) e di [Dey e Chakrabarti 2018] (sotto) (figure di questi articoli sono state modificate e ridisegnate). Il nucleo del complesso della telomerasi è costituito dalla subunità catalitica TERT e dal modello della telomerasi RNA (TER). I fattori associati, indispensabili per la funzionalità del complesso, sono le proteine discherina, NOP10, NHP2, TCAB1 e GAR1. Per la proteina TCAB1 come descritto da [Dey e Chakrabarti 2018], si veda il testo.

La differenza tra le specie nell'attività della TERT, il componente principale della telomerasi, dipende dalla sequenza specificata nella *telomerase RNA* (TER) e dalle azioni regolatrici delle altre componenti [Blackburn et al. 2006; Nandakumar e Cech 2013].
Alcune proteine (discherina, NOP10, NHP2, TCAB1 e GAR1) appaiono essere indispensabili per l'attività della telomerasi *in vivo* [Lu et al. 2013; Dey e Chakrabarti 2018; Shubernetskaya e Olovnikov 2019b] (Fig. 5.26). La proteina TCAB1 è descritta da [Dey e Chakrabarti 2018] come un fattore importante che è presente nei cosiddetti corpi di Cajal ed è essenziale per la completa maturazione dell'RNA telomerasi. Inoltre, per la formazione e l'attivazione del complesso attivo della telomerasi, altre proteine sembrano indispensabili e tra queste abbiamo i chaperoni P23 e HSP90 e alcune ATPasi DNA-dipendenti come pontina e reptina [Venteicher et al. 2008; Schmidt e Cech 2015].
La subunità catalitica della telomerasi, TERT, è una trascrittasi inversa che è omologa ad altri enzimi con funzione simile, come le trascrittasi inverse retrotrasposoniche, che sono diffuse nel mondo eucariotico, e le trascrittasi inverse retrovirali [Belfort et al. 2011]. Questa analogia ha una forte conferma funzionale. In effetti, in alcune specie prive dell'enzima telomerasi (come nel caso della *Drosophila*), esiste un meccanismo alternativo, basato su attività retrotrasposoniche, per compensare la mancanza di replicazione di parte della molecola di DNA [Pardue e DeBaryshe 2003; Belfort et al. 2011; Olovnikov et al. 2016; Kordyukova et al. 2018].

5.7 - Il subtelomero

La sequenza subtelomerica, o subtelomero, è quella parte della molecola di DNA cromosomico che precede immediatamente il telomero. Il numero di subtelomeri e telomeri è uguale (uno per ciascuna estremità di una molecola di DNA, moltiplicato per due e per il numero di cromosomi; cioè, per la nostra specie $2 \cdot 2 \cdot 23 = 92$).
La sequenza subtelomerica inizia dove finisce il telomero, ma non esiste una definizione esatta di dove finisce il subtelomero e quindi non esiste un'indicazione precisa per determinare la lunghezza del subtelomero. Quindi, gran parte di ciò che viene detto sul subtelomero ha qualche incertezza.
La definizione proposta da Olovnikov et al. è la seguente: "Il subtelomero è un dominio altamente variabile alla fine di un braccio cromosomico, che si trova tra il telomero e un corpo cromosomico arricchito di geni; il subtelomero ha un numero relativamente piccolo di geni, ma molte ripetizioni e duplicazioni segmentali e partecipa alle ricombinazioni intra e inter-subtelomeriche, che possono generare la diversità genetica delle specie." [Olovnikov et al. 2019]
Una definizione di tipo più funzionale potrebbe essere che il subtelomero è la parte del DNA cromosomico immediatamente adiacente al telomero che viene progressivamente repressa in relazione all'accorciamento dei telomeri. Come precedentemente discusso, è stato suggerito che il telomero è coperto da un cappuccio eterocromatinico di dimensioni fisse che, man mano che il telomero si accorcia, scivola sul subtelomero, reprimendo progressivamente particolari sequenze regolatrici [Fossel 2004; Libertini 2014b; Libertini 2015b], chiamate sequenze "r" [Libertini e Ferrara 2016a]. Secondo questa definizione il subtelomero dovrebbe avere una lunghezza non superiore al cappuccio eterocromatinico, che dovrebbe essere uguale alla lunghezza iniziale del telomero. Tuttavia, se si ipotizza che le sequenze "r" innescano ulteriori regolazioni su sequenze in una sezione adiacente al subtelomero come appena definito, la lunghezza della zona repressa - direttamente o indirettamente - in relazione all'accorciamento del telomero si espande e il subtelomero diventa di nuovo non definito con precisione.
Per il DNA adiacente al telomero, in generale definito semplicemente come subtelomero, sarebbe forse opportuno distinguere tra (i) una sezione, immediatamente vicino al telomero, con lunghezza limitata e dove esisterebbero le ipotizzate sequenze "r"; e (ii) una sezione successiva, di maggiore lunghezza (variabile da cromosoma a cromosoma e tra ciascuna estremità di una molecola di DNA cromosomico), dove potrebbero esserci ulteriori sequenze regolate dai trascritti della zona precedente. La distinzione tra due sezioni subtelomeriche, che per comodità di descrizione

potrebbero essere definite come sezione subtelomerica Regolatrice ("subtelomero R") e sezione subtelomerica Amplificatrice ("subtelomero A"), potrebbe sembrare inutile e troppo ipotetica, ma le prove riportate di seguito mostreranno che questa distinzione descrive e permette di interpretare ciò che viene osservato meglio che se questa distinzione è assente. La chiave per comprendere ciò che viene riportato di seguito è costituita dai seguenti concetti:

--- L'area immediatamente vicino al telomero in cui sono presenti le ipotizzate sequenze "r" (sequenze TERRA, o sequenze T, nella seguente esposizione; vedi sotto) è da intendersi come il subtelomero R;

--- La sezione adiacente, più lunga e molto variabile, che è influenzata dalle trascrizioni delle sequenze "r" (trascritti TERRA, o trascritti T, nella seguente esposizione; vedi sotto) deve essere intesa come il subtelomero A.

Con questi limiti e premesse, abbiamo una serie di dati e osservazioni generali. Il primo gruppo di essi descrive le sequenze subtelomeriche senza alcuna distinzione interna:

--- Le lunghezze e le sequenze dei subtelomeri differiscono tra i due bracci di un cromosoma e tra i cromosomi e variano a seconda della specie [Olovnikov et al. 2019].

--- I subtelomeri hanno una "... struttura insolita: mosaici di blocchi che sono duplicati ..." [Mefford e Trask 2002] e mostrano "... lunghe schiere di sequenze satelliti ripetute uno dopo l'altra." [Torres et al. 2011], che sono state riportate per numerose specie animali e di piante [Spence et al. 1998; Kojima et al. 2002; Sharma e Raina 2005].

--- I subtelomeri umani mostrano un mosaico di multiple sequenze comuni (più di 40 tipi), che contengono varie cornici di lettura aperte [Riethman et al. 2005; Riethman 2008; Stong et al. 2014;].

--- "I subtelomeri umani sono mosaici polimorfici di duplicazioni segmentarie intercromosomiche alle estremità dei cromosomi. ... Le analisi citogenetiche e di sequenza rivelano che pezzi del mosaico subtelomerico hanno cambiato posizione e numero di copie durante l'evoluzione dei primati con una frequenza senza precedenti. La metà della sequenza subtelomerica nota si è formata di recente attraverso trasferimenti e duplicazioni di sequenze specifiche dell'uomo. Le dinamiche subtelomeriche determinano un tasso di duplicazione genica significativamente superiore alla media del genoma e potrebbero avere conseguenze sia vantaggiose sia patologiche nella biologia umana." [Linardopoulou et al. 2005]

--- "Le regioni ripetitive subtelomeriche altamente variabili sono riempite con segmenti genomici mescolati di recente, molti dei quali contengono sequenze corrispondenti a trascritti e frammenti di trascritti; la rapida duplicazione e l'evoluzione combinatoria di queste regioni ha generato una serie estremamente diversificata di alleli subtelomerici nella specie umana, la cui complessità e il potenziale significato sta solo iniziando a essere compresa." [Riethman et al. 2005]

--- Nello studio dei subtelomeri umani, "fra i 20,66 Mb di DNA subtelomerico analizzati, 3,01 Mb sono sequenze ripetitive subtelomeriche (Srpt) e ulteriori 2,11 Mb sono duplicazioni segmentali." [Riethman et al. 2004]

--- I subtelomeri mostrano una bassa densità genica e in tutti i subtelomeri umani il numero di geni a copia singola non supera le trecento unità [Riethman et al. 2004; Riethman 2008].

--- Le sequenze subtelomeriche sono coinvolte in attività cellulari chiave, inclusa la regolazione del ciclo cellulare [Riethman et al. 2005; Podgornaya et al. 2018] e le interazioni con i processi di assorbimento del trasporto di nutrienti e ioni [Ames et al. 2010; Brown et al. 2010; Bergström et al. 2014; Louis e Becker 2014]. "Tutto ciò, messo insieme, sottolinea l'importante ruolo del subtelomero, in grado di funzionare come fattore che ottimizza il lavoro dei diversi sistemi cellulari." [Olovnikov et al. 2019]

Nel secondo gruppo di osservazioni, sono stati ottenuti dati molto importanti e chiarificatori dallo studio delle cosiddette sequenze TERRA (vedi sotto):

--- Le prime osservazioni sulla trascrizione di sequenze subtelomeriche/telomeriche risalgono al 1989 (per il *Trypanosoma brucei* [Rudenko e Van der Ploeg 1989]) e al 1994 (per i cromosomi a spazzola degli uccelli [Solovei et al. 1994]). Queste sequenze furono definite *TElomeric Repeat-containing RNA*, o, in breve, TERRA (per brevità, qui, "sequenze T") e descritte nella nostra specie [Azzalin et al. 2007; Schoeftner e Blasco 2008] (Fig. 5.27), nello Zebrafish [Schoeftner e Blasco 2008], nel topo [Schoeftner e Blasco 2008], nel lievito [Luke et al. 2008; Bah et al. 2012; Greenwood e Cooper 2012] e nelle piante [Vrbsky et al. 2010]. In particolare, è stato sottolineato che "... TERRA è evoluzionisticamente conservata nei vertebrati." [Azzalin e Lingner 2008].

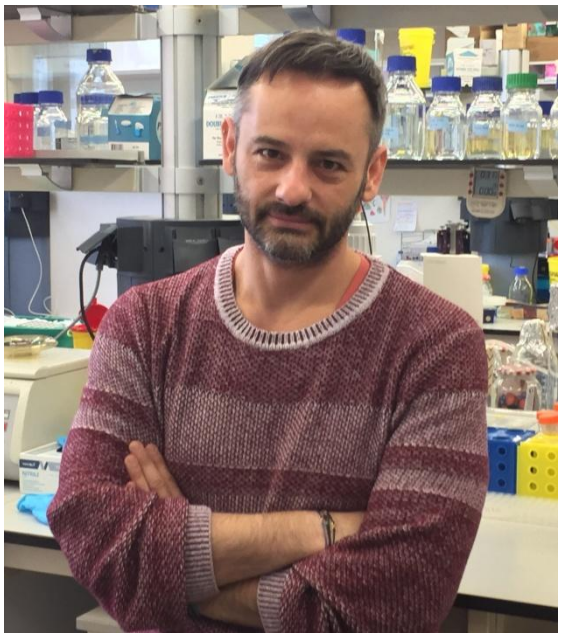


Figura 5.27 – Claus M. Azzalin.

Figura 5.28 – Anabelle Decottignies.

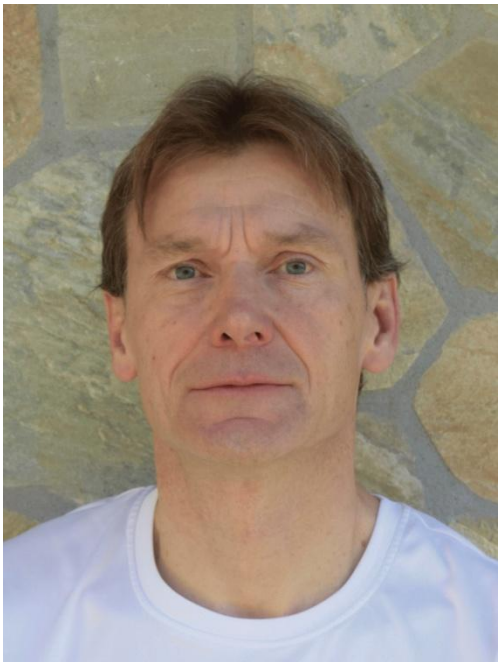


Figura 5.29 – Joachim Lingner.

Figura 5.30 – Hsueh-Ping Chu.

--- Nell'uomo, un trascritto TERRA (per brevità, qui, "trascritto T") è composto da ripetute sequenze UUAGGG (lo stesso del *motif* del DNA telomerico TTAGGG in cui T è sostituito da

U, come di regola per le sequenze di RNA), che è preceduto, alla sua estremità 5', da una specifica sequenza subtelomerica [Diman and Decottignies 2018] (Fig. 5.28). La lunghezza dei trascritti T dipende dalle diverse lunghezze delle estremità delle sequenze T subtelomeriche agli estremi 5' [Feuerhahn et al. 2010; Porro et al. 2010]. "I primi promotori subtelomerici umani che sono stati identificati comprendono isole di DNA ricchi di dinucleotide CpG condivise tra più estremità cromosomiche [Nergadze et al. 2009]. Queste isole CpG sono caratterizzate dalla presenza delle cosiddette sequenze ripetute 61-29-37 situate direttamente a monte del sito di inizio della trascrizione TERRA (TERRA *Transcription Start Site*, TSS) e a ~1 kb dal tratto telomerico [Brown et al. 1990; Nergadze et al. 2009]." [Diman and Decottignies 2018].

--- "Le sequenze di DNA pro-terminale associate ai telomeri a braccio lungo dei cromosomi umani X/Y (Xq/Yq) e 10 (10q) furono isolate quasi 20 anni fa e denominate rispettivamente TelBam3.4 e TelSau2.0 [Brown et al. 1990]. Le due sequenze condividono una regione ripetitiva conservata che si estende rispettivamente per circa 1,6 kb (nucleotidi 2110-3117) e circa 1,3 kb (nucleotidi 408-1789) fino a circa 280 nucleotidi (nt) a monte della schiera terminale in TelBam3.4 e TelSau2.0 .... Questa regione conservata contiene tre diversi tratti di DNA ripetitivi: il tratto più prossimale al centromero comprende unità di 61 coppie di basi (bp) ripetute una dopo l'altra (cinque ripetizioni in TelBam3.4 rispetto a sei ripetizioni in TelSau2.0); un secondo tratto più distale comprende ripetizioni una dopo l'altra di 29 bp (nove ripetizioni contro 18 ripetizioni); un terzo tratto comprende cinque unità di DNA di 37 bp ripetute una dopo l'altra in entrambe le sequenze ... Ci riferiamo alla regione contenente le ripetizioni una dopo l'altra come 'sequenze ripetute 61-29-37' e ai circa 280 nt compresi tra l'ultima ripetizione di 37 bp e gli esameri telomerici come 'pre-tel' " [Nergadze et al. 2009]

--- Nei mammiferi, i trascritti T, che si osservano solo nelle frazioni cellulari nucleari, mostrano ripetizioni dell'RNA telomerico 5′-UUAGGG-3 ′, con una lunghezza che va da circa 100 basi a più di 9 kilobasi [Azzalin et al . 2007; Schoeftner e Blasco 2008]. La trascrizione delle TERRA è operata dalla RNA polimerasi II (RNAPII), inizia dal DNA subtelomerico e procede verso le sequenze ripetitive telomeriche, incluse alcune di queste sequenze [Azzalin et al. 2007; Schoeftner e Blasco 2008].

--- I lunghi RNA non codificanti definiti come sequenze T sono una caratteristica generale delle cellule eucariotiche e "stanno emergendo come nuovi attori chiave in numerosi importanti processi biologici" [Diman ang Decottignies 2018]. La trascrizione delle sequenze T sembra essere originata da promotori subtelomerici situati su almeno i due terzi delle estremità cromosomiche [Nergadze et al. 2009; Deng et al. 2012; Porro et al. 2014; Diman et al. 2016; Feretzaki e Lingner 2017] (Fig. 5.29).

--- I siti di legame dei trascritti T si trovano al di fuori dei subtelomeri e dei telomeri (principalmente nelle sezioni intergeniche e introniche del genoma), dove i trascritti appaiono regolare l'espressione genica e svolgere un ruolo importante. Inoltre, nelle cellule staminali embrionali di topo, la deplezione dei trascritti T è associata a una ridotta protezione dei telomeri [Chu et al. 2017a, 2017b] (Fig. 5.30). "La copertura della lettura delle sequenze TERRA era elevata nelle regioni subtelomeriche di quasi tutti i cromosomi (Chr), in particolare Chr. 2, 9, 13, 18 e i cromosomi sessuali, con bersagli che sono a decine di kilobasi lontano dalla sequenza ripetuta telomerica ... le sequenze TERRA si legavano anche entro le regioni cromosomiche interne e entro i geni, dove favorisce gli introni ... le sequenze TERRA si legano a bersagli cromatinici in tutto il genoma. ... le sequenze TERRA si legano sia in *cis* ai telomeri che in *trans* all'interno o vicino ai geni." [Chu et al. 2017A]. Vi è la dimostrazione di "... cambiamenti significativi nell'espressione dei bersagli TERRA rispetto ai non bersagli dopo la deplezione dei trascritti TERRA ..., indicando che i geni bersaglio dei trascritti TERRA avevano maggiori probabilità di essere colpiti dall'esaurimento dei trascritti TERRA. ... È interessante notare che i geni target subtelomerici erano costantemente sottoregolati ... I geni target interni potevano essere sovra- o sottoregolati ... Nel genoma delle cellule ES [emrbionali staminali] di topo,

abbiamo identificato migliaia di siti di legame cromatinici *cis* e *trans*." [Chu et al. 2017A]. "I trascritti TERRA si legano a molti loci genomici esterni ai telomeri in cui il DNA non codificante sembra svolgere importanti funzioni regolatrici legate all'espressione genica [Chu et al. 2017a, 2017b]." [Diman e Decottignies 2018] "La stragrande maggioranza dei siti leganti TERRA sono stati trovati al di fuori dei telomeri, principalmente nelle regioni intergeniche e introniche distali del genoma in cui i trascritti TERRA regolano l'espressione genica. È tuttavia importante sottolineare che la deplezione dei trascritti TERRA nelle cellule ES era anche associato alla deprotezione dei telomeri, suggerendo che i trascritti TERRA sono nondimeno importanti per l'integrità telomerica del topo [Chu et al. 2017A]." [Diman e Decottignies 2018]

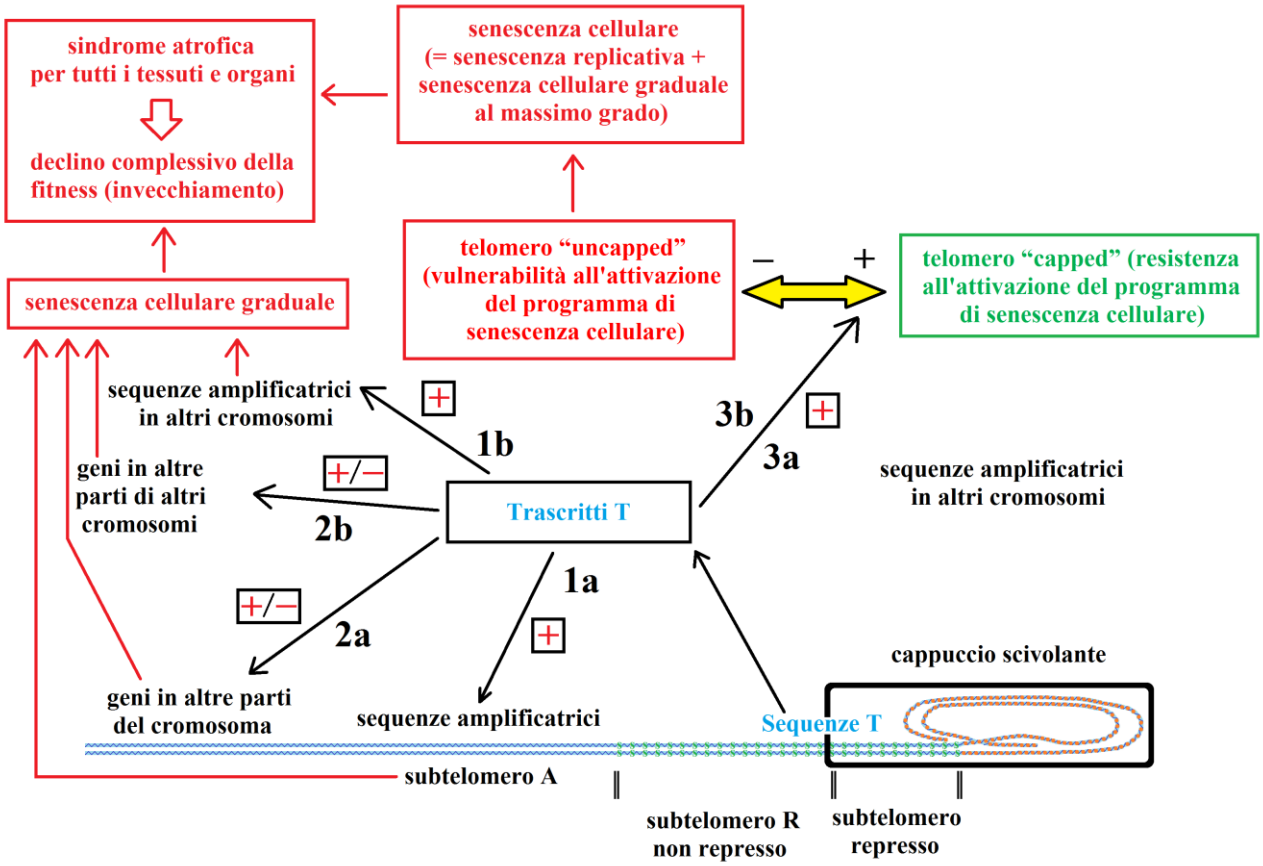


Figura 5.31 - Questa figura è una nuova interpretazione della Fig. 5.13. Le ipotizzate sequenze "r" sono ora le sequenze T (TelBam3.4, TelSau2.0 e altre possibili sequenze subtelomeriche), che fanno parte del subtelomero R; le molecole intermedie sono i trascritti T, che agiscono (sovraregolazione) sui geni che si trovano vicino al subtelomero (subtelomero A) (azioni 1), o in un'altra parte del cromosoma (sovra- o sottoregolazione) (azioni 2); l'effetto ipotizzato di molecole intermedie sullo stato capped/uncapped del telomero è mostrato essere un effetto dei trascritti T sulla protezione dei telomeri (azioni 3). Questi effetti sono sulla stessa molecola di DNA (azioni di tipo a) o su altre molecole di DNA della stessa cellula (azioni di tipo b). La repressione progressiva delle sequenze T provoca un'azione ridotta dei trascritti T e quindi senescenza cellulare graduale e una crescente probabilità di senescenza cellulare.

--- "L'esercizio di resistenza ciclistica, associato all'attivazione di AMPK, ha aumentato i livelli dei trascritti TERRA nelle biopsie muscolari scheletriche ottenute da 10 giovani volontari sani. I dati supportano l'idea che l'esercizio fisico può proteggere dall'invecchiamento." [Diman et al. 2016]

Alcuni di questi risultati sono riassunti nelle Figg. 5.31 e 5.32.
Dal momento che le sequenze T sono originate principalmente dalla sequenza subtelomerica, la loro definizione di *TElomeric Repeat-containing RNA* è imprecisa e sarebbe più accurato dire

subTElomeric-Repeat-containing RNA. Una definizione indirizzata alla descrizione e all'importanza di tali sequenze potrebbe essere "sequenze subtelomeriche cellulari regolatrici primarie".
La grande importanza delle sequenze T è stata evidenziata in una recente rassegna [Libertini et al. 2020].

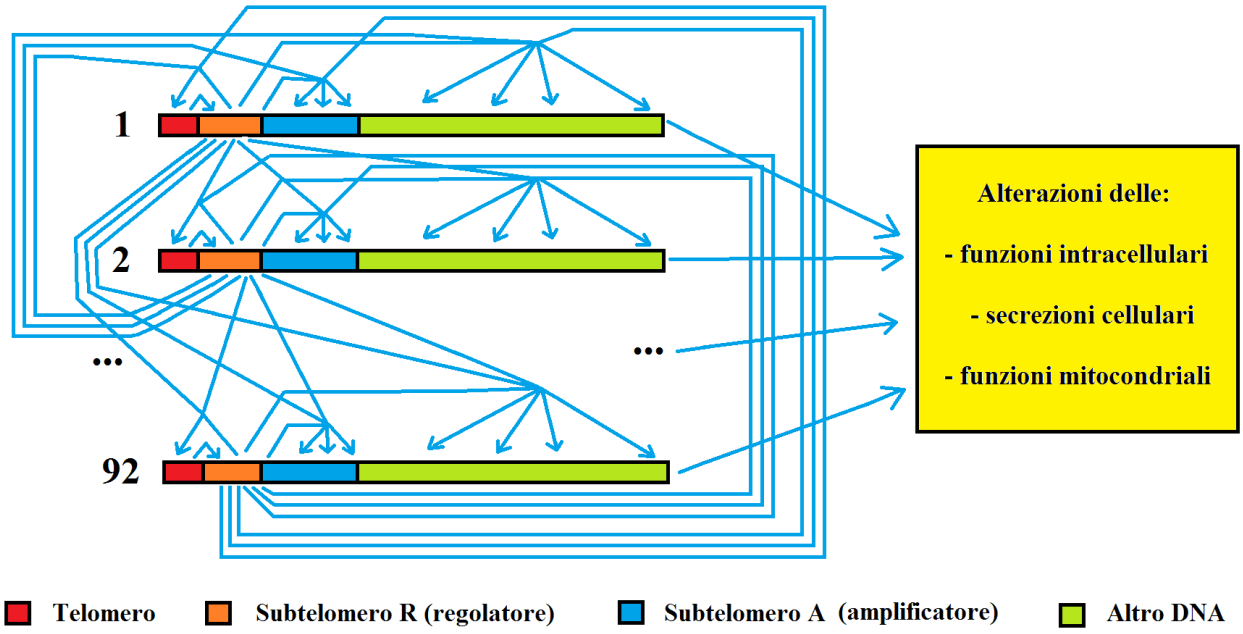


Figura 5.32 - Un diagramma molto semplificato delle azioni delle sequenze T (sono mostrati solo tre telomeri e poche azioni delle sequenze T).

5.8 - Il cappuccio eterocromatinico sul telomero

I fenomeni correlati all'accorciamento dei telomeri hanno alcune peculiarità che richiedono spiegazioni appropriate:

1) Il complesso della telomerasi, quando non represso, allunga il telomero aggiungendo più volte il *motif* che caratterizza il telomero. Ad esempio, in una specie con motivo TTAGGG (come nei vertebrati [Moyzis et al. 1988]), che ha una lunghezza di 6 bps, se la duplicazione della molecola di DNA provoca un accorciamento di 60 bps, la telomerasi dovrebbe aggiungere 10 volte il *motif* anzidetto per ripristinare la lunghezza preesistente. Ma come fa il complesso della telomerasi a riconoscere il numero esatto di *motif* che deve essere aggiunto per ripristinare la lunghezza originale e a non operare un allungamento illimitato del telomero?
2) Qualunque sia il meccanismo che limita l'attività della telomerasi, esso deve in qualche modo riconoscere la lunghezza precedente del telomero, la quale, oltre ad essere diversa a seconda della specie (ad esempio, per le differenze tra i mammiferi, si veda [Gomes et al. 2011]), è noto avere una lunghezza iniziale variabile da cromosoma a cromosoma, tra un braccio e l'altro della stessa molecola di DNA cromosomico e tra i corrispondenti telomeri di individui diversi [Londoño-Vallejo et al. 2001] (Fig. 5.33).
3) È noto che l'accorciamento dei telomeri è correlato a: (i) una crescente probabilità di senescenza replicativa [Blackburn 2000], che fa parte del programma di senescenza cellulare [Ben-Porath e Weinberg 2005]; (ii) la repressione di geni localizzati nelle immediate vicinanze del telomero (effetto telomerico di posizione) [Gottschling et al. 1990], come mostrato anche da [Surace et al. 2014]; e (iii) l'aumento delle alterazioni delle funzioni cellulari, che in pratica è un effetto telomerico di posizione [Robin et al. 2014] ed è stato definito "senescenza cellulare graduale" [Libertini 2014b, 2015b]. Se questi effetti causano parte o tutte le manifestazioni dell'invecchiamento, come è possibile spiegare che ci sono ritmi analoghi dell'invecchiamento in: (i) due ceppi di *Mus* con un'ampia differenza nella lunghezza iniziale media dei telomeri (10

e 20 kb) [Fossel 2004, pag. 60]; e (ii) animali donatori e animali ottenuti da cloni di cellule somatiche donatrici, che hanno telomeri più corti delle cellule germinali [Kubota et al. 2000; Lanza et al. 2001; Fossel 2004, pag. 60]? Gli effetti sopra menzionati e l'invecchiamento che è la loro probabile conseguenza sembrano essere correlati all'accorciamento dei telomeri (cioè il numero di bps persi) e non alla lunghezza iniziale media dei telomeri. Inoltre, l'assenza di una relazione tra longevità e lunghezza dei telomeri è stata evidenziata tra i roditori [Seluanov et al. 2007] e una correlazione inversa è stata persino dimostrata in una successiva ricerca estesa a 60 specie di mammiferi [Gomes et al. 2011].

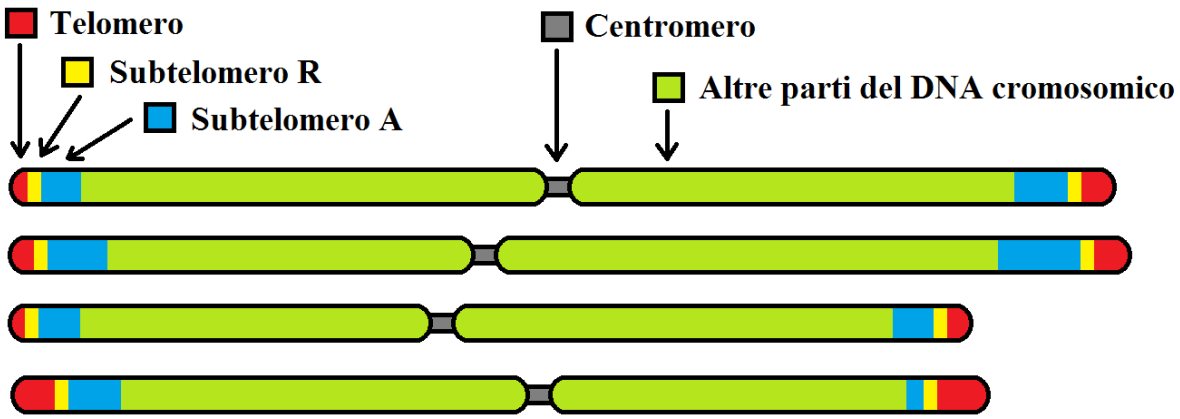


Figura 5.33 - In una cellula, la lunghezza del telomero può variare tra i due bracci dello stesso cromosoma e tra i cromosomi. La sezione del DNA adiacente al telomero e repressa in relazione all'accorciamento dei telomeri (subtelomero R, dove sono presenti le sequenze T) non dovrebbe essere più lunga del possibile accorciamento dei telomeri e, verosimilmente, di lunghezza abbastanza uniforme. La successiva sezione di DNA (subtelomero A, dove sono presenti sequenze amplificatrici attivate dai trascritti T) potrebbe essere di qualsiasi lunghezza e variare da braccio a braccio di un cromosoma e tra cromosomi.

4) Ai fenomeni sopra descritti, è importante aggiungere ciò che è stato osservato nel lievito. Per i normali (selvatici) ceppi di lievito, in cui la telomerasi è sempre perfettamente attiva e quindi non vi è alcun accorciamento dei telomeri, negli individui della linea madre, in relazione al numero di duplicazioni, c'è l'accumulo sul subtelomero di particolari complessi molecolari (circoli di DNA ribosomiale extracromosomiale, *extrachromosomal ribosomal DNA circles*, ERC) [Sinclair e Guarente 1997] e ciò appare determinare l'alterazione progressiva delle funzioni cellulari e una crescente probabilità di apoptosi [Lesur e Campbell 2004]. Pertanto, le suddette alterazioni sarebbero in relazione alla repressione del subtelomero operato dagli ERC. In particolari mutanti di lievito (mutanti *tlc1Δ*), la telomerasi è inattiva e il telomero si accorcia quindi ad ogni generazione. In individui della linea figlia di tali mutanti, in cui non vi è accumulo di ERC come per i ceppi normali, in proporzione al numero di duplicazioni precedenti, vi sono le stesse alterazioni osservate nelle cellule della linea madre di ceppi normali [Lesur e Campbell 2004]. Ciò è presumibilmente dovuto a una analoga repressione del subtelomero.

Tutti questi fenomeni richiederebbero un tipo di registro in cui siano annotate le lunghezze iniziali di tutti i telomeri nella prima cellula dell'organismo. Successivamente:

(A) per le cellule in cui la telomerasi è completamente attiva, poiché i telomeri si accorciano ad ogni replicazione, un particolare meccanismo dovrebbe contare il numero di bps persi da ciascun telomero e interagire con il complesso della telomerasi, distintamente per ciascun telomero, determinando quanti *motif* devono essere aggiunti per compensare totalmente i bps persi. Inoltre, se il telomero è eccessivamente allungato, l'ipotetico registro dovrebbe indicare quanti bps debbono essere rimossi;

(B) per le cellule in cui la telomerasi è inattiva o parzialmente attiva, lo stesso meccanismo (o un altro simile) dovrebbe contare il numero di bps persi da ciascun telomero e, in proporzione a questo numero, determinare (i) il grado di effetto telomerico di posizione o senescenza cellulare graduale; (ii) la probabilità di innescare il programma della senescenza cellulare e quindi la senescenza replicativa; e (iii) se la telomerasi è parzialmente attiva, quanti *motif* devono essere aggiunti per compensare parzialmente quelli persi.

Una possibile più semplice spiegazione di tutti questi fenomeni è la seguente.
Immaginiamo che:

1) nella prima cellula di un organismo multicellulare, in una fase che può essere definita "fase di reset", si forma una sorta di cappuccio molecolare per ciascun telomero della cellula, con una dimensione proporzionale alla lunghezza del telomero, che protegge e reprime il DNA sottostante a partire dalla fine del telomero e per una lunghezza proporzionale alla dimensione del cappuccio;
2) a ogni successiva divisione cellulare il suddetto cappuccio viene fedelmente duplicato e non è ridotto nelle sue dimensioni se il telomero si accorcia. Allo stesso tempo, se il telomero è eccessivamente allungato, la dimensione del cappuccio indicherebbe quanti bps debbono essere rimossi;
3) man mano che il telomero si accorcia, il cappuccio - che abbiamo ipotizzato essere di dimensioni fisse - scivola sul subtelomero e ne copre gradualmente una porzione crescente, causando pertanto una progressiva inibizione del subtelomero;
4) le porzioni di DNA adiacenti ai telomeri, ognuna definita come subtelomero A, hanno sequenze con azioni regolatrici generali per il complesso delle funzioni cellulari.

Queste condizioni consentirebbero di spiegare l'insieme degli anzidetti fenomeni.
Inoltre, nel caso del lievito: (i) per i ceppi normali, nelle cellule della linea madre, le sequenze regolatrici subtelomeriche sono represse dagli ERC; (ii) per i ceppi mutanti *tlc1Δ*, nelle cellule della linea figlia, il telomero si accorcia e il cappuccio reprime porzioni crescenti delle sequenze regolatrici subtelomeriche con effetti identici a quelli operati dagli ERC.

A riguardo dell'ipotizzato cappuccio (*cap* o *hood*) che ricopre il telomero:

1) Blackburn suggerì che il telomero forma con "proteine leganti sequenze specifiche di DNA" un "complesso proteine-DNA telomerico". Questo complesso oscilla tra due stati. Quando il telomero è incappucciato (*capped*), vale a dire quando le proteine e i componenti nucleici sono legati, è protetto dalla transizione alla senescenza replicativa e la cellula rimane nella condizione definita come "stato ciclico" (*cycling state*). Al contrario, quando il telomero è non incappucciato (*uncapped*), cioè quando proteine e componenti nucleici sono almeno parzialmente non legati, esso è vulnerabile alla senescenza replicativa (*non-cycling state*) [Blackburn 2000]. Inoltre, l'ipotesi di Blackburn richiedeva implicitamente che la stabilità del legame tra cappuccio e telomero dovesse essere direttamente correlata con la lunghezza dei telomeri, e che quindi ci fosse qualche regolazione influenzata dalla lunghezza del telomero.
2) Come già evidenziato nella *Sottosezione 5.1.4 - Senescenza cellulare graduale e senescenza cellulare*, nel 2004 Fossel propose l'esistenza di un "cappuccio eterocromatinico" che copre il telomero. Questa ipotetica struttura era "di dimensioni invarianti" e, quando il telomero si accorciava, scivolava su una parte della sequenza subtelomerica causando "un'alterazione della trascrizione" della sequenza coperta. Inoltre, nella sequenza subtelomerica, come già citato, i "geni silenziati possono a loro volta modulare altri geni (o insiemi di geni) più distanti. Vi sono alcune prove dirette per tale modulazione nel subtelomero ..." [Fossel 2004, p. 50]

In breve, vi sono varie argomentazioni teoriche, originate da osservazioni empiriche, che manifestano l'assoluta necessità di un cappuccio eterocromatinico, che tuttavia non è definito nella

sua reale struttura. In alternativa, sarebbe necessario ipotizzare una serie di elementi o meccanismi che svolgano le funzioni di cui sopra ipotizzate per questo cappuccio.
Al momento non vi è un'idea precisa della formazione e della struttura di questo ipotetico cappuccio. Tuttavia, dovrebbe avere alcune caratteristiche precise :

--- La prima formazione del cappuccio, nella fase di "reset" della prima cellula di un organismo, deve essere modellata in base alla lunghezza di ciascun telomero. Quindi il numero di cappucci in una cella è uguale al numero dei telomeri e la dimensione varia a seconda della lunghezza iniziale di ciascun telomero.

--- Nelle successive replicazioni, ogni cappuccio viene duplicato mantenendo le dimensioni iniziali;

--- Quando il telomero si accorcia, il cappuccio reprime progressivamente il subtelomero (precisamente il subtelomero R) inibendo l'attività delle sequenze "r" (cioè reprimendo le sequenze T e quindi la produzione di trascritti T);

--- Gli effetti della repressione delle sequenze T devono includere la riduzione del legame tra cappuccio e telomero, cioè la protezione del telomero, e quindi una crescente possibilità di attivare il programma della senescenza cellulare.

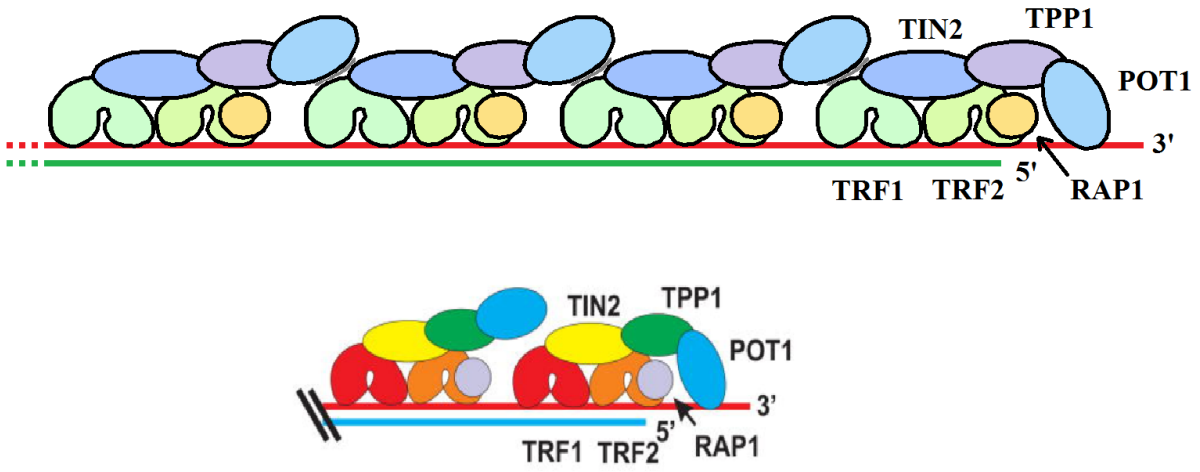


Figura 5.34 - Sopra: possibile schema del cappuccio eterocromatinico. Sotto: Fig. 1, parte B, da [Stewart et al. 2012], che ha ispirato questa ipotesi.

Un possibile indizio per la struttura del cappuccio eterocromatinico, potrebbe essere il fatto che il telomero è coperto da una serie di complessi *shelterin* (come già detto, composti dalle proteine TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1 e POT1 [Jones et al. 2016]).
La parte principale del cappuccio potrebbe essere una catena di complessi *shelterin* collegati dalla proteina POT1 di un complesso e dalle proteine TRF1-TIN2 del complesso successivo, mentre l'ultima proteina POT1 è collegata alla sporgenza 3' del filamento G (Fig. 5.34). Un fatto a supporto di questa ipotesi è che: "Il telomero che si stacca dal cappuccio attraverso il blocco della proteina TRF2 del complesso *shelterin* o l'esposizione agli oligonucleotidi del DNA del filamento G dei telomeri aumenta significativamente la trascrizione delle sequenze TERRA, ..." [Caslini et al. 2009]
A riguardo della dimensione fissa di un ipotetico cappuccio composto da una catena di complessi *shelterin*, nella *Sottosezione 5.1.4 – Senescenza cellulare graduale e senescenza cellulare*, è stata sottolineata l'evidenza empirica a sostegno di tale tesi proposta in un autorevole lavoro [Takai et al. 2010].
Comunque, questa copertura dovrebbe avere uno speciale meccanismo di duplicazione che non altera la lunghezza della catena.
Per quanto riguarda l'inibizione del subtelomero R, cioè delle sequenze T, è necessario considerare che:

--- Per quanto concerne la relazione tra accorciamento dei telomeri e repressione dei subtelomeri, è interessante notare che, nei topi, l'accorciamento dei telomeri è correlato ai cambiamenti nelle condizioni di metilazione del DNA subtelomerico e alle modifiche degli istoni sia dei subtelomeri che dei telomeri [Blasco 2007]. "Inoltre, il blocco dei regolatori epigenetici principali, come le istone metiltransferasi e le DNA metiltransferasi, è correlato alla perdita del controllo della lunghezza dei telomeri e l'accorciamento dei telomeri a una lunghezza critica influenza lo stato epigenetico dei telomeri e dei subtelomeri." [Blasco 2007]

--- Nei leucociti umani, allorché i telomeri si accorciano i livelli di metilazione di molti promotori genici nelle regioni subtelomeriche sembrano diminuire ("... i telomeri più corti sono associati a livelli di metilazione ridotti di più siti di citosina localizzati entro 4 Mb dai telomeri ... significativo arricchimento di siti positivamente associati CpG metilati in loci subtelomerici (entro 4 Mb dal telomero) (P <0,01)" [Buxton et al. 2014]), determinando modifiche nell'espressione genica e aumentando il rischio di malattie correlate all'età [Buxton et al . 2014].

--- "Sia soggetti sani di controllo che pazienti affetti da sarcoidosi mostrarono che i telomeri lunghi (>9,4 kb) diminuiscono e i telomeri corti (<4,4 kb) aumentano con l'invecchiamento, accompagnando i relativi aumenti dei telomeri lunghi con ipermetilazione subtelomerica e i telomeri corti con ipometilazione subtelomerica. Ciò ha suggerito che l'accorciamento dei telomeri correlato all'invecchiamento è associato a ipometilazione subtelomerica circostante." [Maeda et al. 2009]

--- "La metilazione del DNA subtelomerico è ... diminuita in congiunzione con l'accorciamento dei telomeri nei topi Terc (-/-)." [Benetti et al. 2007]

Pertanto, il possibile meccanismo è correlato al grado di metilazione e potrebbe essere il seguente. Quando le sequenze T sono metilate, mostrano una maggiore attività (cioè non sono inibite) e, viceversa, una minore metilazione comporta un'attività minore (cioè sono inibite). Se le sequenze T sono continuamente soggette a meccanismi di metilazione e demetilazione e i meccanismi di metilazione sono prevalenti in condizioni di non inibizione, l'inibizione delle sequenze T potrebbe derivare da un'interferenza prevalente del cappuccio con i meccanismi di metilazione (Fig. 5.35).
Infine, a riguardo della differenza tra le condizioni "capped" e "uncapped" del telomero secondo la definizione di Blackburn [Blackburn 2000], può essere utile un'altra osservazione. L'ipotesi che lo stato "uncapped" significhi un completo distacco tra i telomeri e i loro cappucci dovrebbe essere esclusa perché ciò causerebbe problemi per i successivi esatti riaccoppiamenti tra ciascun telomero e il suo cappuccio. È meglio supporre che ciascuna estremità di un cappuccio oscilli tra una condizione di stretto contatto con la molecola di DNA e un'altra condizione in cui vi è una separazione parziale. Nel secondo stato: (i) a una estremità, è consentita la metilazione dei subtelomeri; e (ii) dall'altra capo, diventano possibili le azioni della telomerasi e degli enzimi che iniziano la duplicazione delle molecole di DNA.
Va notato che molte delle funzioni di telomerasi, telomeri, subtelomeri e le loro interazioni con altri elementi genetici rimangono indefinite. Oggi si accumulano sempre più prove sulle funzioni non canoniche della telomerasi, non correlate al mantenimento della lunghezza dei telomeri [Ségal-Bendirdjian e Geli 2019; Cech 2004]. Si potrebbe supporre che l'ulteriore verifica sperimentale dell'azione del sistema telomero-subtelomere-telomerasi, discussa in questo capitolo, possa svelare ulteriormente il ruolo del complesso e dei suoi componenti nell'invecchiamento, il suo ruolo nell'evoluzione e i possibili modi per influenzare il processi controllati.

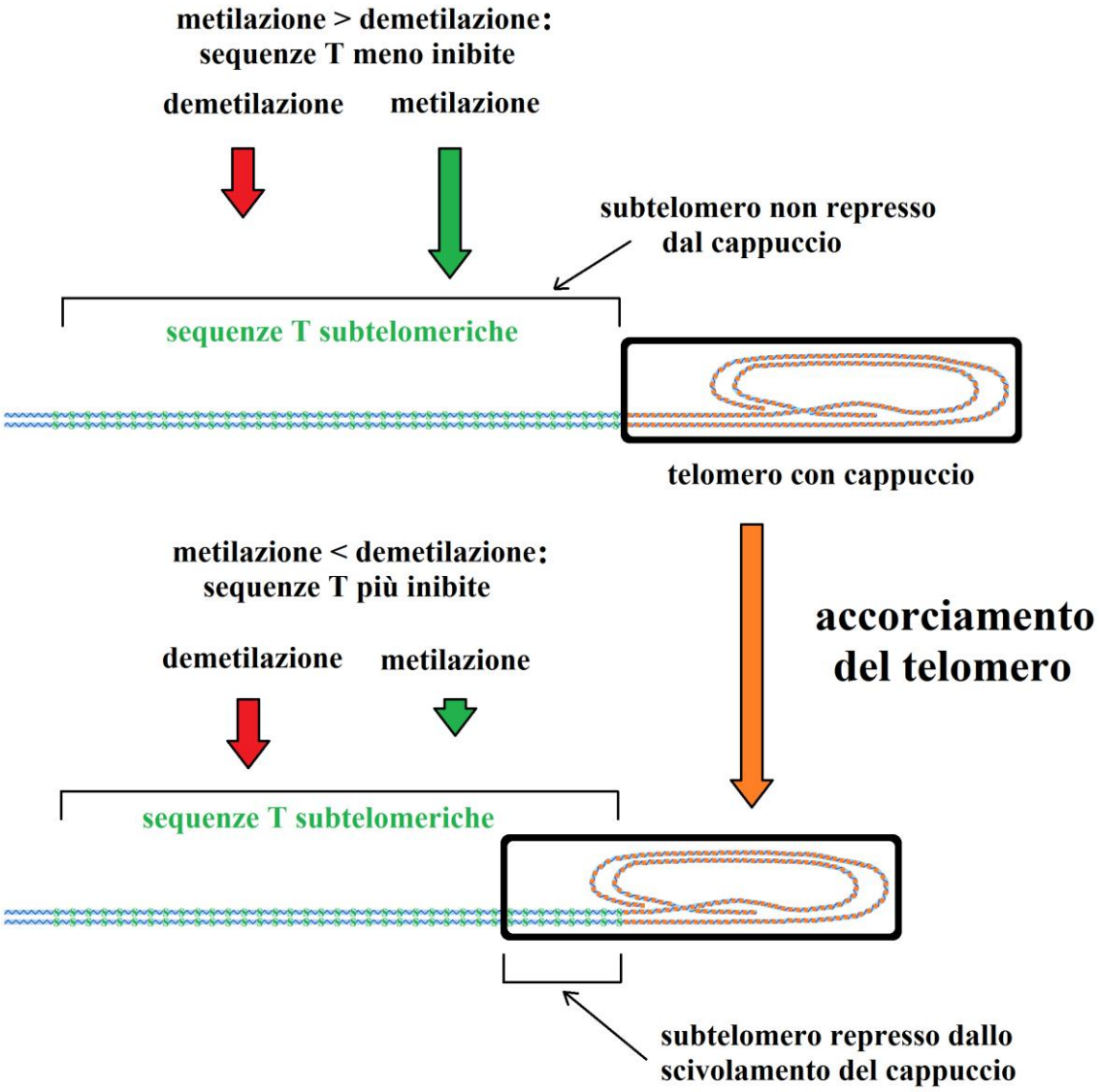


Figura 5.35 - Schema della possibile repressione delle sequenze subtelomeriche.

Capitolo 6
L'invecchiamento nella specie umana

6.1 - Alterazioni conseguenti alle azioni del sistema telomero-subtelomero-telomerasi
6.1.1 - Alterazioni del metabolismo cellulare
6.1.2 - Alterazioni del turnover cellulare
6.2 - Invecchiamento diretto
6.2.1 - Endotelio
6.2.2 - Pelle
6.2.3 - Cellule recettoriali olfattive
6.2.4 - Altre cellule neuronali sensoriali periferiche (escluse le cellule recettoriali olfattive)
6.2.5 - Muscolo scheletrico
6.2.6 - Cuore
6.2.7 - Sistema gastrointestinale
6.2.8 - Tessuti e organi orofacciali
6.2.9 - Polmoni
6.2.10 - Reni
6.2.11 - Cellule β pancreatiche
6.2.12 - Ossa e articolazioni
6.2.13 - Fegato
6.2.14 - Cellule ematopoietiche e midollo osseo
6.2.15 - Testicoli
6.3 - Invecchiamento indiretto
6.3.1 - Cellule fotorecettrici
6.3.2 - Neuroni del sistema nervoso centrale
6.3.3 - Neuroni uditivi
6.3.4 – Il cristallino
6.4 - Schemi generali

6.1 - Alterazioni conseguenti alle azioni del sistema telomero-subtelomero-telomerasi

Il risultato delle azioni del sistema TST, nella nostra specie e in molte specie simili, è la sindrome atrofica, già brevemente delineata nel precedente *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento*, che si manifesta progressivamente e in relazione alla età in tutti i tessuti e gli organi. Le caratteristiche della sindrome atrofica sono ora discusse con maggiori dettagli.
Senza alcuna intenzione di negare la loro unità complessiva, esse possono essere divise in due tipi fondamentali: (i) alterazioni del metabolismo cellulare, determinate dalla senescenza cellulare graduale e dalla senescenza cellulare; e (ii) alterazioni del turnover cellulare, conseguenti alla senescenza replicativa determinata dalla senescenza cellulare.

6.1.1 - Alterazioni del metabolismo cellulare

In relazione all'accorciamento dei telomeri (rispetto alle lunghezze iniziali dei telomeri nella prima cellula dell'organismo e non in relazione a "ideali" lunghezze telomeriche), vi è una progressiva inibizione delle sequenze subtelomeriche. In particolare, la repressione è sulle sequenze TERRA, o in breve sequenze T, che sono sequenze subtelomeriche regolatrici primarie poste nel "subtelomero R" (subtelomero regolatore; si veda il precedente *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento*). Le loro trascrizioni (trascritti T) hanno importanti azioni regolatrici: (i) per effetto di una sovraregolazione di altre sequenze regolatrici nella parte contigua del subtelomero [Chu et al. 2017a], definita nel capitolo precedente come "subtelomero A" (subtelomero amplificatore) e nelle altre sequenze di subtelomero A esistenti in altri cromosomi della stessa cellula [Cusanelli e Chartrand 2015]; (ii) per effetto - in alcuni casi di sovraregolazione e in altri

casi di sotto-regolazione - su ulteriori sequenze regolatrici che esistono in altre parti dello stesso cromosoma e in altri cromosomi [Chu et al. 2017A]; e (iii) per effetto di una sovraregolazione sulla protezione di qualsiasi cappuccio eterocromatinico sul rispettivo telomero [López de Silanes et al. 2014; Chu et al. 2017a, 2017b], riducendo così la probabilità che il telomero nella fase non protetta (*uncapped*) inneschi il programma di senescenza cellulare. L'inibizione progressiva delle sequenze T determina un'inibizione progressiva delle azioni determinate dai trascritti T con una proporzionale: (i) alterazione delle funzioni cellulari; (ii) in particolare, alterazioni delle secrezioni extracellulari (fenotipo secretorio associato alla senescenza, SASP); e (iii) una vulnerabilità cellulare progressivamente crescente all'attivazione del programma di senescenza cellulare. Una descrizione dettagliata delle alterazioni delle funzioni cellulari sarebbe troppo lunga e complessa. Una descrizione sommaria era già disponibile nel 1977 [Hayflick 1977] ed è stata riportata nel *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento* con alcuni riferimenti a descrizioni più moderne. Questa progressiva alterazione delle funzioni cellulari, che non è associata al blocco della capacità replicativa, è stata definita come senescenza cellulare graduale [Libertini 2015a]. Il fatto che queste alterazioni siano in funzione dell'accorciamento dei telomeri e non delle alterazioni metaboliche irreversibili determinate da altri fattori è dimostrato da esperimenti in cui l'attivazione della telomerasi ripristina sia la lunghezza iniziale dei telomeri sia le funzioni cellulari [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999].

Quando il programma di senescenza cellulare è attivato, abbiamo: (i) il blocco della capacità replicativa cellulare e le alterazioni della senescenza cellulare graduale al massimo grado [Ben-Porath e Weinberg 2005]; (ii) in particolare le modifiche definite come SASP [Tchkonia et al. 2013; Lebrasseur et al. 2015]; e, inoltre, (iii) una resistenza cellulare all'apoptosi [Kirkland e Tchkonia 2017]. In effetti, a proposito di quest'ultimo fenomeno, l'organismo invece di eliminare le cellule senescenti, non si oppone in alcun modo alla presenza crescente, correlata all'età, di cellule che sono diventate incapaci di duplicarsi e mostrano gravi alterazioni delle loro funzioni con effetti negativi su altre cellule causate dalla loro perdita di funzionalità e dalle loro secrezioni alterate. Questo è illogico e inspiegabile se ignoriamo l'ipotesi che queste alterazioni hanno lo scopo, favorito dalla selezione naturale, di determinare la senescenza dell'organismo. Se questa tesi viene ignorata, risulta anche abbastanza illogica e inspiegabile la presenza di sequenze regolatrici generali, le sequenze T, con un'importanza cruciale per l'intera funzionalità cellulare, in una posizione che è la più vulnerabile all'inibizione per effetto telomerico di posizione quando il telomero si accorcia [Libertini 2015b].

Le alterazioni delle funzioni cellulari descritte in questa sezione compromettono progressivamente l'efficienza dei tessuti e degli organi in cui tali cellule sono presenti e di altri tessuti e organi che dipendono da esse per la loro funzionalità o che possono soffrire per le loro secrezioni alterate.

6.1.2 - Alterazioni del turnover cellulare

Il nostro corpo non è una aggregazione immutabile di cellule, ognuna delle quali mostra progressivamente alterazioni della propria funzionalità e contribuisce al decadimento dell'intero organismo. Al contrario, il nostro organismo è in gran parte costituito da cellule che muoiono continuamente non solo a causa di eventi accidentali (lesioni, stress meccanico, ischemia, infezione, etc.), ma principalmente per meccanismi che appaiono essere geneticamente regolati e quindi possono essere definiti come tipi di "morte cellulare programmata" (*programmed cell death*, PCD). Queste celle vengono continuamente sostituite da nuove celle e la loro sostituzione è chiamata turnover cellulare. Il ricambio è veloce e completo negli individui giovani e sani mentre rallenta progressivamente e diventa incompleto negli individui più anziani. Per alcuni tipi di cellule, il loro particolare turnover è evidente e noto da molto tempo [Fox e Rompolski 2019]:

- Le cellule epidermiche si cheratinizzano, muoiono e poi desquamano e sono continuamente sostituite da nuove cellule;

- Le cellule che formano capelli e unghie sono cellule epidermiche altamente differenziate. Anche in questo caso le cellule cheratinizzano e successivamente vengono eliminate mediante distacco o usura delle strutture a cui appartengono;
- Le cellule mucose lasciano continuamente le mucose di cui fanno parte e sono sostituite da nuove cellule;
- Per le cellule dei villi intestinali, il ricambio cellulare è particolarmente rapido. Il distacco avviene nella parte superiore dei villi intestinali e le cellule sono sostituite da nuove cellule ottenute dalla riproduzione di cellule staminali che si trovano nelle cripte intestinali;
- Gli eritroblasti si trasformano in eritrociti, che sono cellule senza nucleo e rimangono vitali per circa tre mesi prima dell'eliminazione da parte dei fagociti e la loro sostituzione con nuovi eritrociti.

A parte questi casi molto evidenti di ricambio cellulare, altre cellule sembravano non essere soggetti a turnover cellulare. Per molti di questi tipi cellulari, tale concezione fu rivoluzionata nel 1972 dalla scoperta dell'apoptosi, una forma di PCD caratterizzata da un processo ordinato di autodistruzione cellulare che differiva nettamente dalla necrosi cellulare [Kerr et al. 1972] (Fig. 6.1). L'apoptosi apparve immediatamente come un processo fisiologico che non causava infiammazione e rilasciava parti cellulari che potevano essere utilizzate da altre cellule.

Figura 6.1 – John F. Kerr.

Figura 6.2 – Jonathan M. Hill.

L'apoptosi è filogeneticamente molto antica ed è mostrata anche da specie unicellulari eucariotiche (ad es., *Saccharomyces cerevisiae* [Laun et al. 2007; Kaeberlein et al. 2007]). Ignorando altre funzioni dell'apoptosi negli eucarioti pluricellulari (ad es., "... corretto sviluppo e funzionamento del sistema immunitario, atrofia dipendente da ormoni, sviluppo embrionale ..." [Elmore 2007]), una funzione essenziale nei vertebrati è quella di essere la forma di PCD che consente il turnover di molti tipi cellulari nei tessuti e negli organi sani degli adulti [Wyllie et al. 1980; Lynch et al. 1986; Medh e Thompson 2000]. Ciò è stato dimostrato per la maggior parte dei tipi di cellule, ad esempio: gliociti [Pontèn et al. 1983]; epatociti [Benedetti et al. 1988]; tireociti [Dremier et al. 1994]; cellule β pancreatiche [Finegood et al. 1995]; adipociti [Prins e O'Rahilly 1997]; miociti scheletrici [Migheli et al. 1997; Pollack e Leeuwenburgh 2001]; osteociti [Spelsberg et al. 1999]; condrociti [Héraud et al. 2000]; cellule epiteliali biliari [Harada et al. 2000]; cellule renali [Cardani e Zavanella 2000]; cellule epiteliali alveolari di tipo II [Sutherland et al. 2001]; cellule prostatiche [Xia et al. 2001]; e miociti cardiaci [Anversa et al. 2006].

L'apoptosi, che è la forma più comune di PCD, viene spesso utilizzata come sinonimo di PCD (ad es. [Jacobson et al. 1997]), ma ciò è inesatto in quanto esistono altri tipi di PCD (ad es., v. prima).

Comunque le cellule eliminate dalle varie forme di PCD sono sostituite mediante duplicazione di cellule staminali specifiche. Il turnover cellulare ottenuto dalla combinazione di PCD e sostituzione cellulare ha tassi molto diversi a seconda dei tipi di cellule [Richardson et al. 2014]. Per alcuni tipi di cellule, il ricambio cellulare avviene in pochi giorni (ad es.,. 3-6 giorni per l'epitelio intestinale [Alberts et al. 2014]). Al contrario, per altri tipi di cellule il turnover richiede anni (ad es., circa 10 anni per l'osso [Alberts et al. 2014] e circa 4,5 anni per i miociti cardiaci [Anversa et al. 2006]).
Il turnover cellulare rinnova costantemente e significativamente il nostro corpo. È stato calcolato che, in un anno, una massa di cellule approssimativamente uguale al peso del nostro corpo viene eliminata e sostituita con nuove cellule e che, in un adulto di peso medio, 50-70 miliardi di cellule vengono eliminate e sostituite ogni giorno [Reed 1999] (cioè circa 700.000 cellule al secondo).
Per quanto riguarda i meccanismi attraverso i quali si ottiene il turnover cellulare, un suggerimento interessante è offerto dallo studio del turnover delle cellule endoteliali. Nel 2003, fu evidenziato da Hill (Fig. 6.2) et al. [Hill et al. 2003] che le cellule endoteliali sono ottenute mediante duplicazione di particolari cellule progenitrici endoteliali (*endothelial progenitor cells*, EPC), originate dal midollo osseo e poi distribuite in tutti i vasi sanguigni. Il numero di EPC diminuiva in correlazione con l'età ma anche con vari noti fattori di rischio per le malattie cardiovascolari (fumo, ipertensione, diabete, sovrappeso e obesità). Inoltre, si scoprì che il punteggio di rischio di Framingham (*Framingham risk score* [Wilson et al. 1987]) e il declino del numero di EPC hanno un valore predittivo uguale per il calcolo del rischio cardiovascolare. Gli autori suggerirono che il declino numerico delle EPC correlato ai fattori di rischio era probabilmente determinato dai danni causati da questi fattori: "... il danno o la disfunzione endoteliale continua porta a una eventuale deplezione o esaurimento di una presumibile riserva finita di cellule progenitrici endoteliali ... il danno continuo indotto da fattori di rischio può portare a un esaurimento delle cellule endoteliali circolanti" [Hill et al. 2003].
È opportuno aggiungere che, in assenza di fattori di rischio, il declino correlato all'età del numero di EPC doveva necessariamente essere una conseguenza del declino fisiologico delle cellule staminali per le EPC nel midollo osseo. Presumibilmente questo declino non si originava da un accorciamento completo dei telomeri in tali cellule ma da un numero lentamente crescente di tali cellule in senescenza cellulare e quindi senza capacità replicative. Va ricordato che, secondo l'ipotesi di Blackburn, l'attivazione del blocco della capacità di replicazione non è qualcosa che accade quando la riduzione della lunghezza dei telomeri raggiunge un certo valore, ma un fenomeno probabilistico in relazione al grado di accorciamento dei telomeri [Blackburn 2000]. Di conseguenza, se le cellule staminali per un tipo specifico di cellula hanno telomerasi parzialmente attiva, devono mostrare una probabilità limitata ma continua di innesco della senescenza replicativa, e ciò riduce progressivamente la capacità di turnover del tipo di cellula specifica originato da esse.
Questo meccanismo spiegava l'effetto dannoso dei fattori di rischio e forniva una spiegazione plausibile per alcune malattie [Hill et al. 2003]. Ad esempio: (i) la patogenesi della distrofia muscolare, una malattia genetica in cui vi è la morte precoce di miociti nel muscolo scheletrico che esaurisce progressivamente la capacità di sostituire queste cellule per opera di cellule staminali muscolari [Webster e Blau 1990; Seale et al. 2001]; e (ii) altre disfunzioni correlate all'età che potrebbero essere spiegate dall'esaurimento precoce di specifiche cellule staminali [Geiger e Van Zant 2002; Tyner et al. 2002].

- Alterazioni del turnover cellulare e cellule e strutture perenni

Il declino delle funzioni cellulari e delle capacità di turnover cellulare, entrambi condizionati dal sistema TST e dai meccanismi correlati, consente un'interpretazione generale del decadimento legato all'età, vale a dire l'invecchiamento, dei tessuti e degli organi in cui le cellule mostrano turnover. Lo stesso meccanismo non sembra una spiegazione plausibile dell'invecchiamento di tessuti e organi in cui le cellule principali sono perenni e non soggette a turnover. Una soluzione a questa domanda è stata data in due recenti articoli [Libertini e Ferrara 2016b; Libertini 2018]. In generale, dove ci sono cellule o strutture perenni, esse sono subordinate per la loro funzionalità e

vitalità ad altre cellule che mostrano turnover. Queste cellule satelliti, poiché manifestano gli stessi fenomeni di invecchiamento delle altre cellule con turnover, con il loro declino determinano anche il declino delle cellule o delle strutture servite.
Esaminiamo ora in dettaglio alcune cellule e strutture perenni.

--- Fotorecettori della retina

La retina è in effetti una estroflessione del sistema nervoso centrale. Le cellule sensoriali fotorecettrici (coni e bastoncelli) rilevano i segnali luminosi e insieme ad altri neuroni retinici eseguono la prima elaborazione di questi segnali. Le cellule fotorecettrici sono neuroni altamente differenziati e, come la maggior parte dei neuroni, sono cellule perenni, cioè non mostrano alcun turnover. Tuttavia, anche se i fotorecettori non vengono sostituiti da nuove cellule, i loro organelli interni vengono continuamente rinnovati con l'aiuto di particolari cellule, le cellule pigmentate della retina (*retina pigmented cells*, RPC), che costituiscono l'epitelio pigmentato della retina e su cui poggiano gli apici dei coni e dei bastoncelli (Fig. 6.3). Le RPC non costituiscono una membrana che supporta passivamente le cellule dei fotorecettori né sono un tipo differenziato di epitelio. Al contrario, sono gliociti altamente differenziati e mostrano un'intensa attività metabolica. Infatti, la parte principale dei fotorecettori è costituita da particolari membrane (o dischi) su cui sono presenti molecole di fotopsina sensibili ai segnali luminosi ma anche soggette a forti fenomeni di ossidazione.

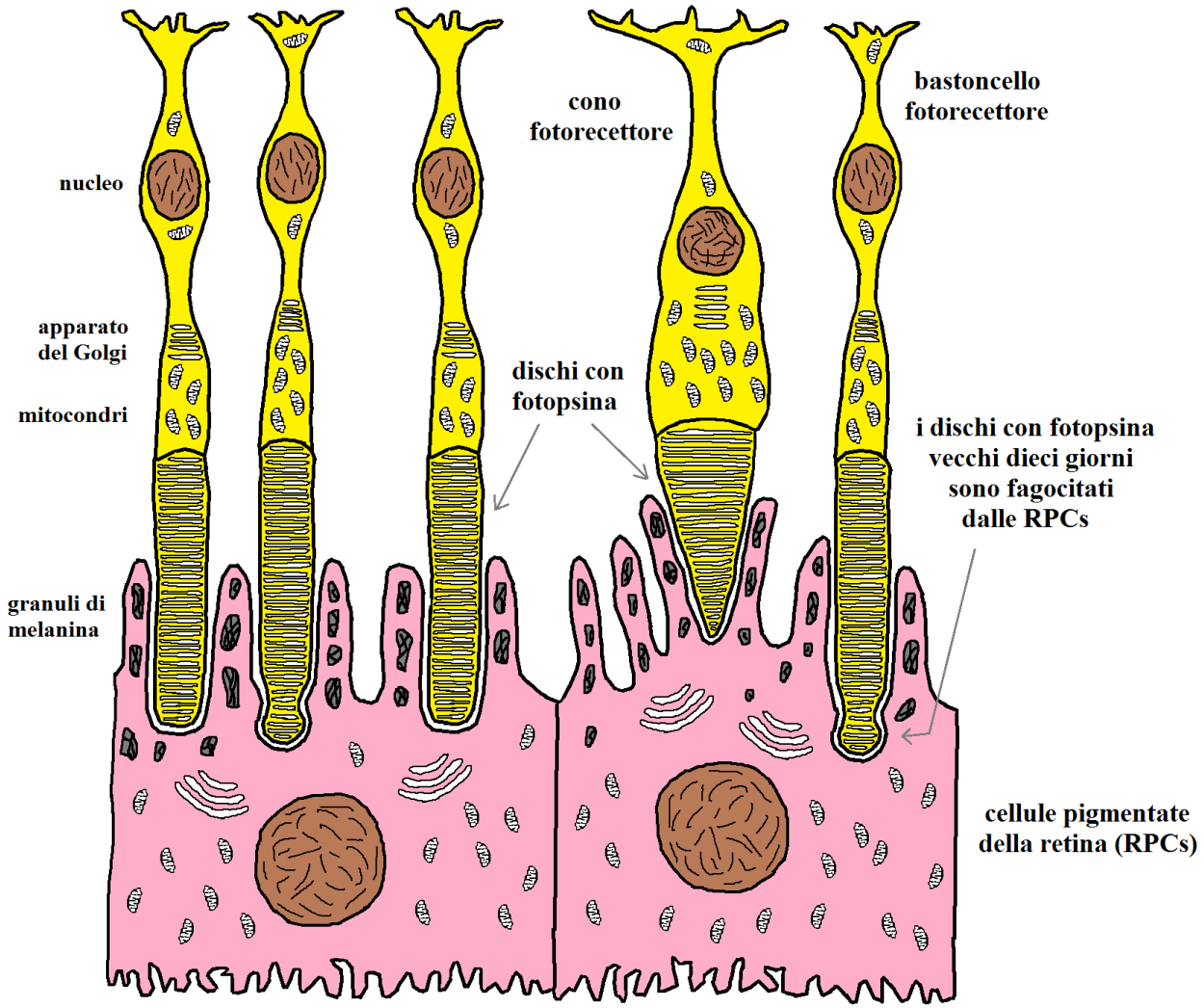


Figura 6.3 - Immagine schematica di alcuni fotorecettori e cellule pigmentate della retina (da [Libertini 2018], modificata e ridisegnata). In questa e nelle seguenti figure simili, il citoplasma delle cellule perenni è in giallo e quello delle cellule satelliti in rosa, mentre altre cellule o strutture sono di colori diversi.

I fotorecettori producono continuamente nuove membrane con nuove molecole di fotopsina mentre i dischi con "vecchie" molecole di fotopsina vengono eliminati attraverso la fagocitosi da parte della RPC su cui poggia il fotorecettore. Ogni giorno il 10% dei dischi viene eliminato e sostituito con nuove membrane e quindi potremmo definire "vecchio" un disco di dieci o più giorni. Ogni RPC serve circa 50 fotorecettori e quindi fagocita e metabolizza una quantità di dischi pari a quella presente in 5 fotorecettori, mostrando così un'elevata attività metabolica. Considerando che le RPC sono soggette al ricambio cellulare e che i fotorecettori non possono rimanere attivi e vitali senza l'attività trofica delle RPC [Fine et al. 2000], è evidente che cellule perenni come coni e bastoncelli sono totalmente condizionate per la loro funzionalità e vitalità da cellule specifiche con turnover.
Quando inizia il declino delle RPC, queste cellule si allargano e servono più cellule fotorecettrici e la loro insufficiente attività determina l'accumulo di particolari sostanze (specialmente A2E, un prodotto di decomposizione derivato dalla vitamina A [Crouch et al. 2015], ma anche lipofuscina [Crouch et al.2015] e proteina β-amiloide [Ermilov e Nesterova 2016]). Con l'ulteriore calo del turnover delle RPC, si formano buchi nell'epitelio pigmentato della retina e la mancanza della loro azione uccide i fotorecettori non serviti [Berger et al. 1999].
Da un punto di vista funzionale e clinico, ciò si manifesta principalmente nella parte più sensibile della retina, la macula, dove vi è una maggiore densità di cellule fotorecettrici e in cui l'accumulo di A2E si verifica con maggiore evidenza ("La maggiore capacità di l'assorbimento dei fotoni conferito dalla densità del pigmento visivo nella macula si traduce in una maggiore probabilità che il tutto-*trans*-retinale sia disponibile per la formazione di A2E. Di conseguenza, maggiori quantità di A2E sono accumulate dalle RPC sottostanti la macula." [Sparrow 2003]). Il nome "degenerazione maculare legata all'età" (AMD) deriva dai sintomi iniziali prevalenti che colpiscono la macula [Fine et al. 2000], sebbene in realtà il processo degenerativo colpisca l'intera retina (Fig. 6.4).

Figura 6.4 - Una rappresentazione di come la visione è alterata dalla AMD: visione normale a sinistra, visione alterata nel caso di AMD avanzata a destra.

--- Neuroni del sistema nervoso centrale

Le cellule fotorecettrici, che sono tipi specializzati di neuroni senza turnover, dipendono per la loro vitalità dalle RPC, che sono glioci specializzati con turnover. È possibile proporre che la maggior parte dei neuroni, ad esempio quelli di altre parti del sistema nervoso centrale (SNC) come corteccia cerebrale e nuclei basali, dipendano dalle azioni trofiche di tipi specializzati di glioci e che il

declino di queste cellule specializzate causi alterazioni e morte dei neuroni serviti [Libertini e Ferrara 2016b].

A) Malattia di Alzheimer

È noto che i neuroni del SNC sono cellule perenni servite da specifici glioci ti (ad es., cellule della microglia) che mostrano turnover cellulare. Le cellule di microglia degradano la proteina β-amiloide [Qiu et al. 1998; Vekrellis et al. 2000], una funzione alterata nella malattia di Alzheimer (AD) con il conseguente accumulo di questa proteina [Bertram et al. 2000].

È probabile che la senescenza cellulare graduale e la senescenza cellulare delle cellule trofiche per i neuroni dovrebbero causare patologie simili alla AMD. Fossel ipotizzò, senza citare il caso della AMD, che la AD fosse causata dal declino della funzione dei glioci ti satelliti determinato dall'accorciamento dei telomeri [Fossel 1996, 2004]:

- "Una funzione della microglia [Vekrellis et al. 2000] è la degradazione dell'amiloide mediante l'enzima degradante dell'insulina (IDE), una funzione che è nota essere indebolita nella malattia di Alzheimer [Bertram et al. 2000]" [Fossel 2004, pag. 233],
- "Le lunghezze dei telomeri dei monociti circolanti possono servire come indice predittore indipendente almeno nella demenza vascolare [von Zglinicki et al. 2000]" [Fossel 2004, pag. 235].

La stessa ipotesi fu riproposta nel 2009 [Flanary 2009] e, nello stesso libro, usando l'esempio di AMD [Libertini 2009a, 2009b].

I sintomi della AD potrebbero avere in parte un'eziologia vascolare dovuta al declino endoteliale correlato all'età [Fossel 2004]. Tuttavia, lo stesso Fossel osservò che "Un modello di senescenza cellulare potrebbe spiegare la demenza di Alzheimer senza un coinvolgimento vascolare primario" [Fossel 2004, pag. 235].

Le due diverse ipotesi (declino della funzione vascolare e declino della funzione dei glioci ti satelliti) hanno un meccanismo patogenetico comune. Nel primo caso, c'è il declino delle cellule progenitrici endoteliali [Hill et al. 2003] e nell'altro caso il declino delle verosimili cellule progenitrici delle microglia, ma in entrambi i casi i limiti dovuti al sistema telomero-telomerasi appaiono essere il principale fattore causale.

I telomeri appaiono essere significativamente più brevi nei pazienti con AD, o probabile AD, rispetto ai soggetti di controllo [von Zglinicki et al. 2000]. Inoltre, i fattori di rischio cardiovascolare aumentano il rischio di AD [Vogel et al. 2006; Rosendorff et al. 2007] e i farmaci, come gli ACE-inibitori, i sartani e le statine, che sono considerati "farmaci protettivi" per le malattie cardiovascolari mostrano effetti analoghi sulla AD [Vogel et al. 2006; Ellul et al. 2007].

Un'ipotesi diversa e largamente diffusa sulla causa della AD la spiega come dovuta all'accumulo di β-amiloide e proteina tau. Tuttavia, i farmaci o i vaccini che contrastano la formazione di β-amiloide o il suo accumulo sono stati un fallimento clinico [Gorelick 2004]: "Le analisi post-mortem hanno mostrato che quasi tutti i pazienti avevano ridotto le placche di amiloide, nonostante la maggior parte di loro avesse progredito verso una grave demenza prima della morte" [Abbott 2008].

I forti tentativi delle società farmaceutiche di contrastare l'accumulo di beta-amiloide e proteine tau hanno dato risultati clinici deludenti [Abbott 2008].

B) Morbo di Parkinson e disturbi correlati

Mentre, per l'accumulo di proteina tau che forma grovigli neurofibrillari, la AD è definita come una taupatia [Galpern e Lang 2006], vi sono alcune malattie classificate come sinucleinopatie perché caratterizzate dall'accumulo all'interno di neuroni di una proteina, la alfa-sinucleina (AS), che forma inclusioni note come corpi di Lewy [Davie 2008; Schulz-Schaeffer 2010]: (i) morbo di Parkinson (PD), che è un disturbo degenerativo relativamente comune del sistema nervoso centrale; (ii) Demenza con corpi di Lewy (*dementia with Lewy bodies*, DLB), classificata come sindrome Parkinson-plus [Nuytemans et al. 2010], un parkinsonismo primario con alcune caratteristiche aggiuntive [Samii et al. 2004]; e (iii) atrofia sistemica multipla (*multiple system atrophy*, MSA), una rara malattia genetica in cui la AS si accumula negli oligodendrociti [Sturm e Stefanova 2014].

Tuttavia, i sintomi e le manifestazioni cliniche si sovrappongono tra questi diversi tipi di neuropatie e una chiara distinzione tra AD e queste patologie è impossibile o arbitraria [Aarsland et al. 2009].
"PD e DLB sono malattie neurodegenerative comuni nella popolazione di età superiore ai 65 anni. Circa il 3% della popolazione generale sviluppa il PD dopo i 65 anni, mentre circa il 20% di tutti i pazienti con demenza diagnosticata ha la DLB [McKeith 2004; Dorsey et al. 2007]. In entrambi i disturbi il movimento e la cognizione, nonché l'umore e la funzione autonomica sono gravemente colpiti. La diagnosi per distinguere PD e DLB è molto difficile, a causa della sovrapposizione di sintomi e segni [Henchcliffe et al. 2011]." [Brück et al. 2016]

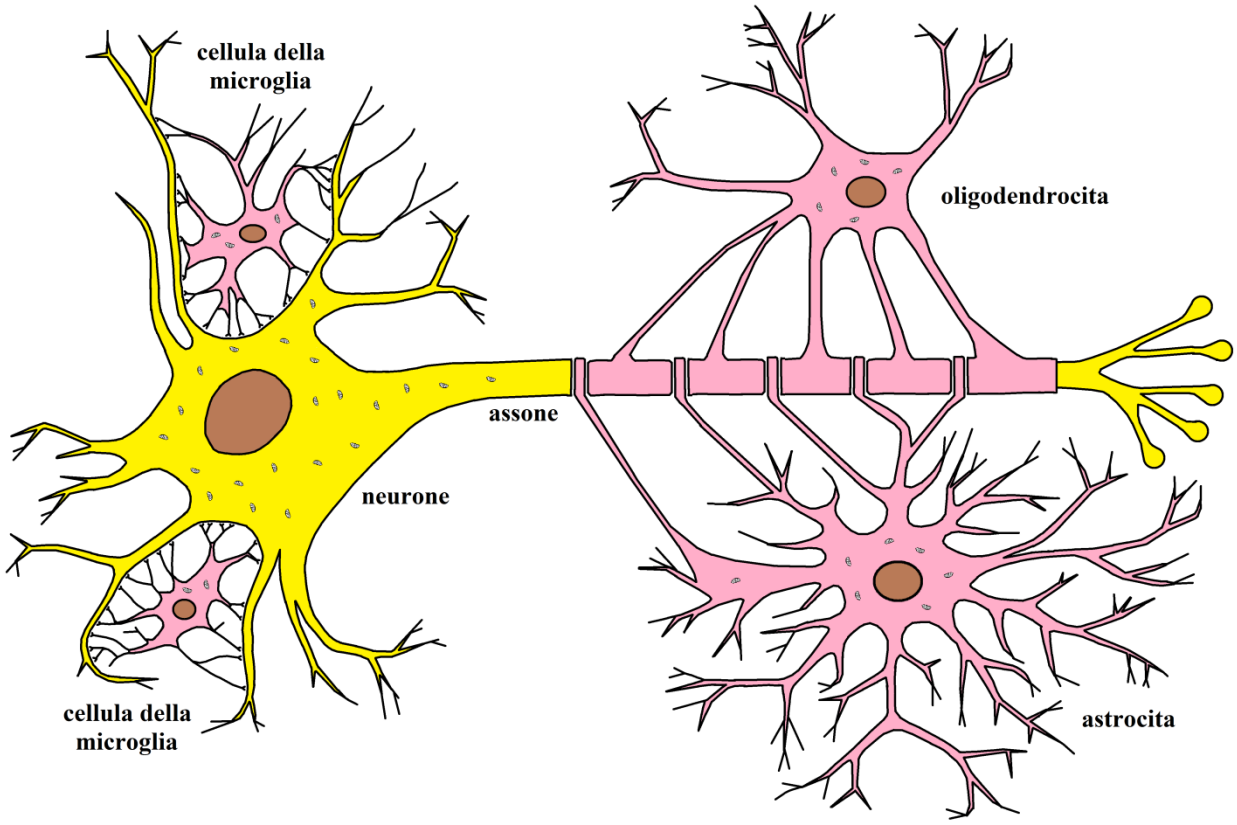


Figura 6.5 - Immagine schematica di un neurone con i suoi gliociti satelliti (da [Libertini 2018], modificata).

Il PD, per definizione clinica arbitraria, colpisce principalmente il sistema motorio e mostra tipici disturbi del movimento. Tuttavia, si manifesta anche con vari sintomi non motori (ad es., deficit sensoriali [Barnett-Cowan et al. 2010]). La demenza è la manifestazione tipica della AD, ma è presente anche nelle fasi avanzate di PD [Galpern e Lang 2006]. I grovigli neurofibrillari, che sono considerati una manifestazione della AD, sono presenti nei cervelli affetti da PD [Galpern e Lang 2006], sebbene placche senili e grovigli neurofibrillari, che sono frequenti nella AD, sono rari nei casi di PD senza demenza [Dickson 2007].
Nei pazienti con PD, il rischio di demenza è 2-6 volte quello dell'intera popolazione [Caballol et al. 2007; Jankovic 2008] e aumenta in relazione alla durata della malattia [Caballol et al. 2007].
Nei casi di PD, in presenza di demenza, alterazioni dell'umore e del comportamento (ad es. depressione, ansia, apatia, etc.) sono comuni e, in assenza di deficit cognitivo, sono più comuni che nella popolazione generale [Jankovic 2008].
I sintomi del PD sono considerati dovuti a morte neuronale nella regione *pars compacta* della *substantia nigra*, che determina una ridotta secrezione di dopamina, ma il meccanismo che provoca la perdita di neuroni è controverso [Obeso et al. 2008].
Nella fase preclinica dell'evoluzione del PD, si osservano corpi di Lewy nel bulbo olfattivo, nel *tegmentum* pontino e nella *medulla oblongata*. Successivamente, questi corpi sono descritti nella

substantia nigra, in alcune aree del cervello anteriore e del mesencefalo, e poi nella neocorteccia [Davie 2008]. In queste aree si osserva degenerazione neuronale, ma è stato suggerito che i corpi di Lewy sono una protezione contro i fattori nocivi e non la causa della morte neuronale [Obeso et al. 2010; Schulz-Schaeffer 2010]. Tuttavia, nei casi di AD con demenza, i corpi di Lewy sono ampiamente osservati nelle aree corticali e "una ridotta clearance della AS è coinvolta nella generazione di inclusioni di AS nella DLB e nel PD ..." [Brück et al. 2016]

"... l'accumulo di AS nelle cellule astrogliali può funzionare come fattore cruciale nell'avvio del PD [Halliday e Stevens 2011]. Inoltre, la progressione della malattia potrebbe essere guidata dal rilascio astrogliale di citochine o chemochine pro-infiammatorie, di ROS e dal reclutamento di cellule microgliali .... Però, le cellule astrogliali potrebbero anche supportare la sopravvivenza neuronale attraverso la secrezione e la produzione di fattori neurotrofici e antiossidanti indotti dalla morte cellulare neuronale." [Brück et al. 2016]

"Le cellule gliali sono importanti nel sostenere la sopravvivenza neuronale, le funzioni sinaptiche e l'immunità locale ... Tuttavia, le cellule gliali potrebbero essere cruciali per l'avvio e la progressione di diverse malattie neurodegenerative ..." [Brück et al. 2016]

"... le cellule della microglia contribuiscono alla rimozione di detriti, cellule morte e AS, sostenendo così la sopravvivenza neuronale. D'altra parte, le cellule della microglia possono essere iperattivate nel corso della malattia e potrebbero contribuire all'avvio e alla progressione della malattia accrescendo la neurodegenerazione attraverso elevati stress ossidativi e processi infiammatori" [Brück et al. 2016]

Il declino correlato all'età della rimielinizzazione neuronale è spiegabile mediante una riduzione del reclutamento e della differenziazione delle cellule progenitrici degli oligodendrociti [Sim et al. 2002; Segel et al. 2019].

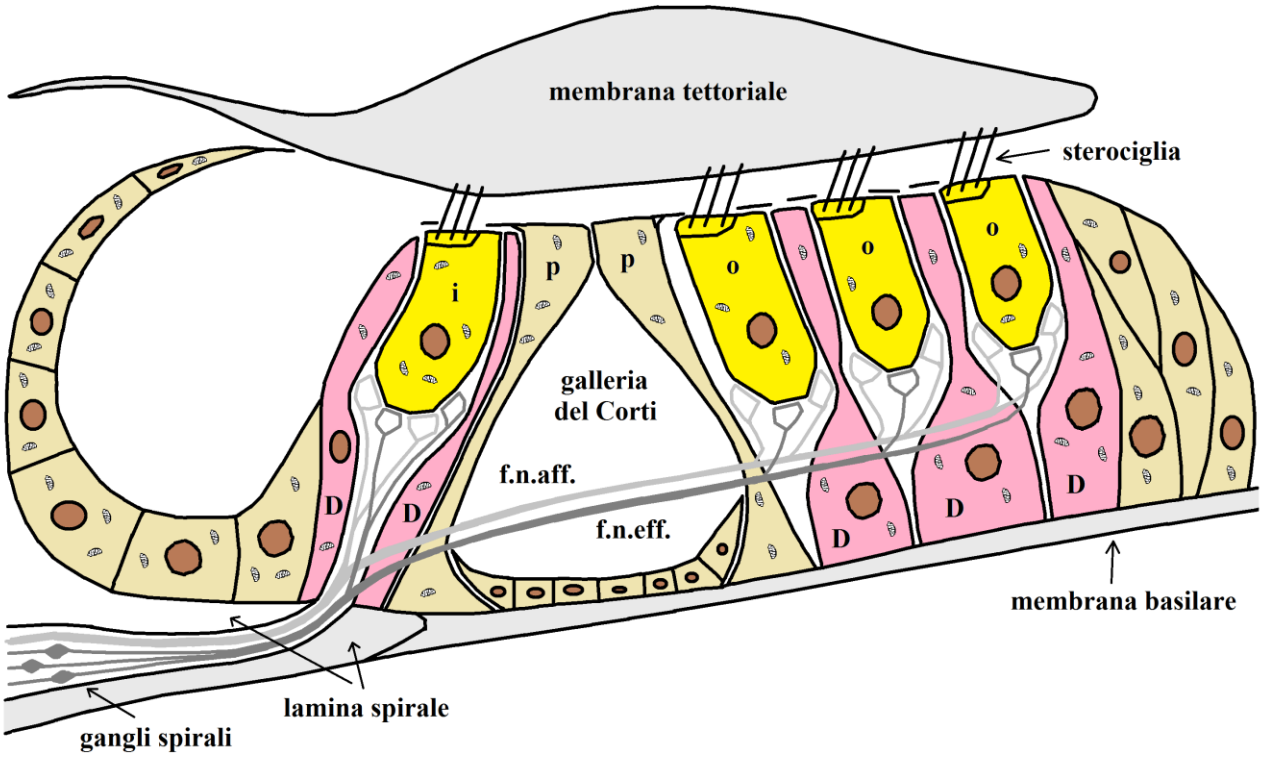


Figura 6.6 - Immagine schematica dell'organo del Corti; i/o = cellule ciliate interne/esterne; D = cellule di Deiters; p = cellule del pilastro; f.n.aff./f.n.eff. = fibre nervose afferenti/efferenti del nervo cocleare. Le cellule ciliate interne ed esterne, neuroni specializzati, sono le cellule neurosensoriali dell'organo uditivo e sono servite dalle cellule di Deiters (gliociti specializzati) (da [Libertini 2018], modificata).

Queste osservazioni suggeriscono che la perdita delle funzioni trofiche di specifici glioci, in particolare quelli dedicati al trofismo degli assoni, causerebbe l'accumulo della AS, che determina l'attivazione delle cellule microgliali e astrogliali. Questi glioci specifici potrebbero essere gli astrociti [Morales et al. 2015]. Il loro declino, sia in termini di funzione che di numero, sarebbe una conseguenza del declino del loro turnover e della loro funzionalità, analogamente al caso delle RPC e della successiva AMD. Uno schema di questi concetti è illustrato nella Fig. 6.5.

C) Cellule sensoriali dell'orecchio (cellule ciliate della coclea)
La parte fondamentale del sistema uditivo è l'organo del Corti (Fig. 6.6), nella coclea (orecchio interno), che ha neuroni altamente differenziati, i recettori uditivi o cellule ciliate della coclea. Sono divisi in due file (interni, o cellule ciliate interne, e esterni, o cellule ciliate esterne) e sono collegati ad altri neuroni specializzati (neuroni gangliari a spirale). In ogni coclea di un neonato, vi sono circa 15.500 cellule ciliate e 35.000 neuroni [Wong e Ryan 2015]. Sia le cellule ciliate che i neuroni gangliari a spirale sono cellule perenni, come la maggior parte dei neuroni [Wong e Ryan 2015]: "... nessuna sostituzione epiteliale è stata descritta per le cellule ciliate della coclea dei mammiferi, sebbene l'aggiunta e la riparazione delle cellule ciliate si verifichino nei vertebrati inferiori ..." [Maier et al. 2014].

--- Perché alcuni tipi di cellule non sono soggetti a turnover?
A questo punto è utile discutere brevemente perché alcuni tipi di cellule sono perenni, cioè non hanno un ricambio cellulare, a differenza della maggior parte delle cellule. Cominciamo con l'evidenza che la maggior parte dei neuroni non mostra il ricambio cellulare.
È necessario considerare che, secondo una stima, nel cervello umano ci sono circa 10^{11} neuroni collegati da 10^{14} sinapsi [Williams e Herrup 1988]. Ciò significa che in media un singolo neurone ha 1000 connessioni con altri neuroni. Volendo ipotizzare un meccanismo di rinnovamento dei neuroni, questo meccanismo dovrebbe ripristinare fedelmente le connessioni preesistenti per ciascun neurone se si devono evitare le alterazioni funzionali derivanti da connessioni alterate. La difficoltà di questo obiettivo spiega perché l'organismo non sostituisce la maggior parte dei neuroni, e tipi specifici di cellule satelliti, vale a dire glioci altamente differenziati, hanno l'importante compito di aiutare i neuroni nel continuo rinnovamento delle proprie parti, ciò facendo senza alterare le connessioni interneuronali esistenti e senza interrompere in alcun modo o tempo la funzione di ciascun neurone. Questa strategia non sembra derivare da qualche peculiarità delle cellule nervose ma dalle connessioni complesse e variabili della maggior parte dei neuroni con altri neuroni.
Ciò è dimostrato indirettamente dal fatto che per le cellule nervose senza connessioni complesse e variabili con altri neuroni questo problema non esiste e tali neuroni sono soggetti a turnover. Un esempio di queste cellule, le cellule recettoriali olfattive, è discusso nella sottosezione che segue la presente e nella *Sottosezione 6.2.3 - Cellule recettoriali olfattive*. Ulteriori esempi sono offerti da altre cellule neuronali sensoriali periferiche con verosimili semplici connessioni; v. *Sottosezione 6.2.4– Altre cellule neuronali sensoriali periferiche (escluse le cellule recettoriali olfattive)*.
Un esempio opposto, vale a dire una struttura non nervosa che non presenta il rinnovamento cellulare ma ha bisogno di cellule satelliti per la propria funzionalità, è il cristallino (v. la sottosezione senza numero che segue la successiva con il titolo "--- Il cristallino" e la *Sottosezione 6.3.4 - Il cristallino*).

--- Un esempio di neuroni con turnover cellulare: cellule recettoriali olfattive
La percezione degli odori si ottiene attraverso le cellule recettoriali olfattive (*olfactory receptor cells*, ORC), che sono neuroni altamente differenziati. Esse "hanno un singolo dendrite che si estende fino alla superficie apicale dell'epitelio e termina in una protuberanza terminale, che ha molte piccole ciglia le quali si estendono nella mucosa. Un singolo assone si proietta attraverso il lato basale dell'epitelio e attraverso la lamina cribrosa per terminare nel bulbo olfattivo. Ciascuno

dei neuroni recettoriali esprime nelle proprie ciglia una di una famiglia di oltre 1000 proteine recettoriali olfattive, molecole recettoriali accoppiati a proteine G ... I neuroni sono circondati da cellule di tipo gliale, chiamate cellule di sostegno. Altre cellule dell'epitelio contribuiscono alla produzione continua dei nuovi neuroni recettoriali ..." [Bermingham-McDonogh e Reh 2011] (Fig. 6.7).
Nei soggetti sani, le ORC mostrano un turnover continuo [Maier et al. 2014].
"La continua genesi di cellule recettoriali olfattive è comune a tutti i vertebrati" (vedi [Graziadei e Monti Graziadei 1978], per una rassegna) "e il tasso di produzione è piuttosto elevato. La produzione di nuove cellule recettoriali olfattive è fondamentale per il mantenimento di questo sistema, poiché le cellule recettoriali olfattive durano solo pochi mesi. Il tasso di produzione di nuove cellule recettoriali olfattive è bilanciato dalla loro perdita in modo da mantenere una popolazione relativamente stabile di questi recettori." [Bermingham-McDonogh e Reh 2011]

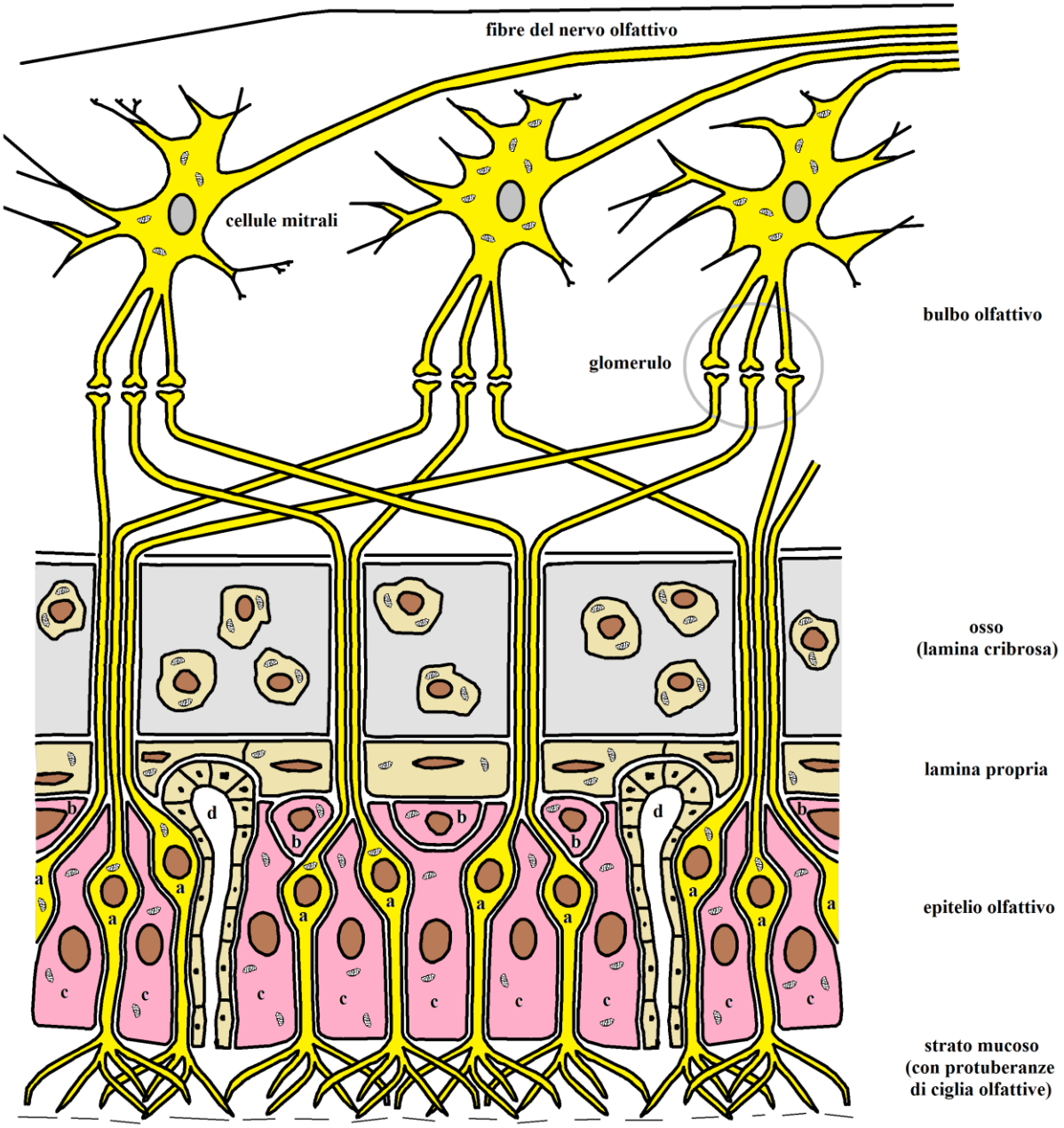


Figura 6.7 - Immagine schematica del sistema olfattivo periferico. Nell'epitelio olfattivo: a = cellule del recettore olfattivo, b = cellule basali rigenerative; c = cellule di sostegno (*sustentacular cells*,

glociti differenziati); d = ghiandole olfattive (ghiandole di Bowman) (da [Libertini 2018], modificata].

Il continuo ricambio delle ORC è assicurato da: (i) cellule basali globose, che sono cellule staminali in lenta duplicazione; e (ii) cellule basali orizzontali, che sono cellule progenitrici amplificatrici intermedie [Caggiano et al. 1994; Huard et al. 1998; Chen et al. 2004; Leung et al. 2007; Iwai et al. 2008]. Questo tipo di rinnovo cellulare in due fasi è analogo a quello di altre cellule (ad es., cellule epidermiche) [Watt et al. 2006].
Il rinnovo delle ORC è necessario, in quanto sono esposte a agenti esterni dannosi, e, inoltre, è facilmente possibile perché ogni cellula ha un singolo dendrite (con ramificazioni senza connessioni) e un singolo assone. Pertanto devono mostrare un rallentamento correlato all'età di questo turnover con progressiva compromissione della funzione olfattiva (v. *Sottosezione 6.2.3 - Cellule recettoriali olfattive*). Un rinnovamento cellulare come quello delle ORC non è possibile per la maggior parte dei neuroni, compresi i neuroni del bulbo olfattivo e di altre aree olfattive, che hanno connessioni complesse e variabili con altri neuroni e necessitano di glociti differenziati, soggetti a turnover, come cellule satelliti.

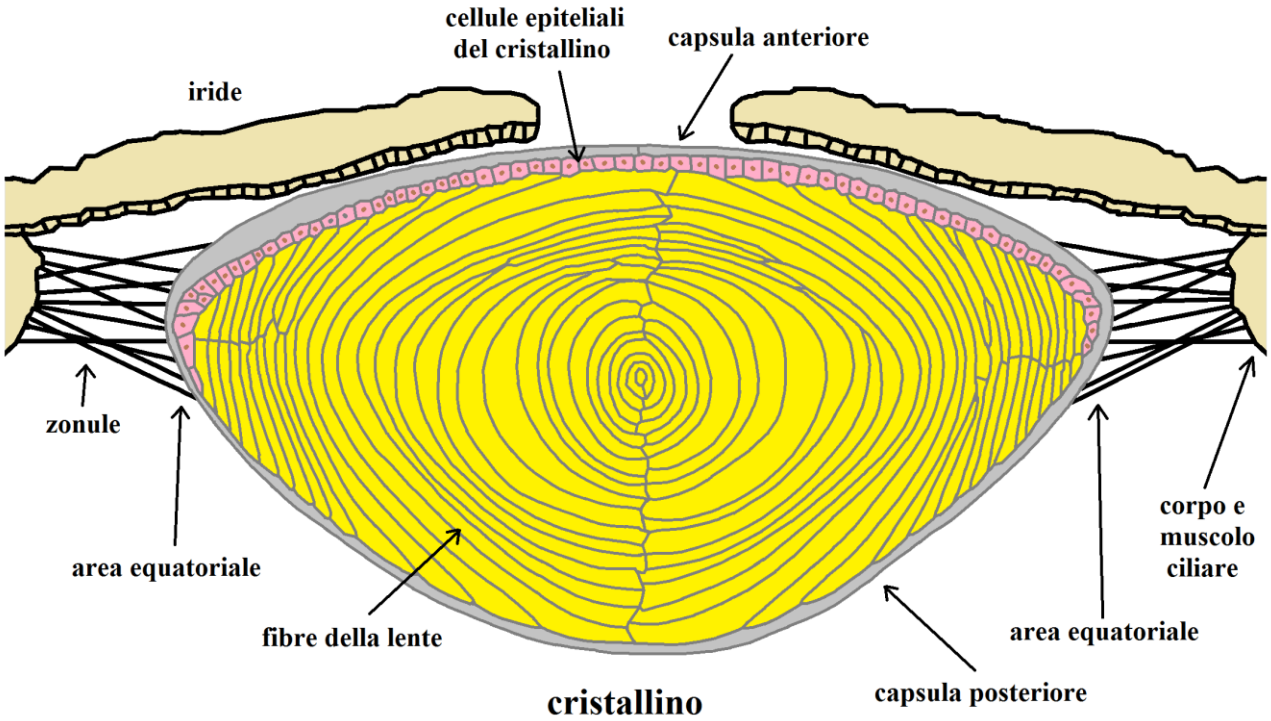


Figura 6.8 - Immagine schematica del cristallino. Per la funzionalità di questa struttura perenne, costituita dal citoplasma trasparente di cellule senza nucleo (fibre lenticolari), è essenziale l'attività trofica delle cellule epiteliali del cristallino, un tipo di cellula con turnover.

--- Il cristallino

Il cristallino è costituito da (i) capsula del cristallino; (ii) epitelio del cristallino; e (iii) fibre lenticolari (Fig. 6.8).
Le fibre lenticolari costituiscono l'interno e la maggior parte del cristallino. La capsula del cristallino, lo strato più esterno del cristallino, è una membrana elastica, liscia e trasparente che circonda completamente il cristallino ed è ricca di collagene sintetizzato dall'epitelio del cristallino [Forrester et al. 1996]. Le cellule dell'epitelio del cristallino si trovano solo sul lato anteriore del cristallino tra lo strato più esterno delle fibre lenticolari e la capsula del cristallino. Queste cellule epiteliali determinano e regolano la maggior parte delle funzioni del cristallino [Candia 2004].

In particolare, le cellule epiteliali del cristallino costituiscono le progenitrici di nuove cellule di fibre lenticolari che vengono costantemente prodotte nell'embrione, nel feto, nel bambino e nell'adulto. Dalla nascita, il cristallino continua a crescere e le nuove cellule delle fibre lenticolari vengono aggiunte come strati esterni nell'area equatoriale dell'epitelio del cristallino (zona germinativa). Dopo la trasformazione in cellule delle fibre lenticolari, le cellule epiteliali del cristallino si allungano, si staccano dalle cellule epiteliali, sintetizzano le proteine cristalline e quindi, con la perdita del loro nucleo, diventano cellule mature delle fibre lenticolari [Forrester et al. 1996].

Il cristallino, in particolare la sua capacità di accomodazione, soffre di tre tipi di alterazioni correlate all'età, di cui le prime due dipendono dal turnover delle cellule epiteliali del cristallino:

1) *Declino del turnover delle cellule epiteliali del cristallino*

   Poiché le fibre lenticolari non hanno cellule nucleate, le loro caratteristiche chimiche e la loro funzionalità, in particolare la trasparenza, dipendono dalle cellule epiteliali del cristallino che manifestano turnover [Tassin et al. 1979]. "Molti ricercatori hanno sottolineato le alterazioni post-translazionali delle proteine cristalline di lunga durata come base per la cataratta oculare senile. È evidente nella sindrome di Werner che la cataratta deriva da alterazioni delle cellule epiteliali del cristallino" [Martin e Oshima 2000]. Ciò è spiegato dal declino legato all'età della capacità di duplicazione delle cellule epiteliali del cristallino osservato in soggetti umani sani [Tassin et al. 1979].

2) *Ingrandimento del cristallino con progressiva perdita della sua capacità di accomodazione*

   Il cambiamento della forma del cristallino, che determina il suo potere diottrico e consente così la corretta messa a fuoco dell'immagine, è in funzione della contrazione del muscolo ciliare [Motlagh e Geetha 2019]. Tuttavia, l'ingrandimento progressivo del cristallino correlato all'età, determinato dalla continua lenta proliferazione delle cellule epiteliali del cristallino nell'area equatoriale, e "... un marcato aumento della rigidità del cristallino a partire dalla terza fino alla quinta decade di vita, che è all'incirca l'età in cui la perdita di accomodazione diventa evidente nelle prime fasi della presbiopia." [Petrash 2013], un'alterazione che potrebbe essere correlata alla dimensione crescente del cristallino [Petrash 2013] o alla diminuzione della capacità trofica delle cellule epiteliali del cristallino, provoca una perdita correlata all'età della capacità di accomodazione del cristallino per la visione da vicino. Questa riduzione della vista, nota come presbiopia, compromette la capacità di sopravvivenza ad età, per la nostra specie, esistenti in condizioni naturali: all'età di 50 anni, la presbiopia è la condizione normale e gli individui sopravvissuti sono circa il 40% in condizioni naturali [Hill e Hurtado 1966]. Poiché un tasso di crescita più alto o più basso delle dimensioni del cristallino e la declinante funzione trofica delle cellule epiteliali del cristallino devono essere geneticamente regolate, la presbiopia, che riduce chiaramente la capacità di sopravvivenza, dovrebbe essere considerata una caratteristica del processo di invecchiamento determinata indirettamente dal rallentamento del turnover cellulare, e, allo stesso tempo, non causata da inevitabili e immodificabili fenomeni di "usura e danno".

3) *Alterazioni delle proprietà chimiche delle proteine del cristallino*

   "Nelle proteine del cristallino (cristalline) delle grandi balene, l'isomerizzazione spontanea di L-aminoacidi in D-aminoacidi si verifica a qualsiasi età. Le cristalline vengono sintetizzate durante la formazione del cristallino e originariamente contengono, come qualsiasi altra proteina, solo L-aminoacidi. Le proteine cristalline non vengono praticamente sostituite durante l'intera vita della balena. L'isomerizzazione L-D non è codificata dai genomi ed è una proprietà chimica degli aminoacidi. Fortunatamente, questo processo è molto lento (2% ogni 10 anni). Tuttavia, dopo 200 anni, il 40% di L-aminoacidi è già isomerizzato in D-aminoacidi nelle proteine cristalline, un evento che influenza fortemente la struttura spaziale di queste proteine e apparentemente la loro capacità unica di essere assolutamente trasparenti per la luce visibile. Se un tale processo provoca la formazione di cataratta, può portare alla cecità che dovrebbe rendere impossibile la vita di una vecchia balena nell'oceano. Dovrebbe morire, tale morte essendo dipendente dall'età. Eppure non può essere considerata una lenta fenoptosi." (Vladimir Skulachev, osservazione

come redattore capo per [Libertini 2012]). Questa alterazione biochimica spontanea correlata all'età deve essere considerata nell'ambito dei fenomeni di "usura e danno". Tuttavia, la possibile conseguenza dopo molti anni, vale a dire una forma di cataratta, una condizione mortale in condizioni naturali, potrebbe verificarsi solo in età avanzate non esistenti in condizioni naturali e quindi non può essere contrastata dalla selezione naturale.

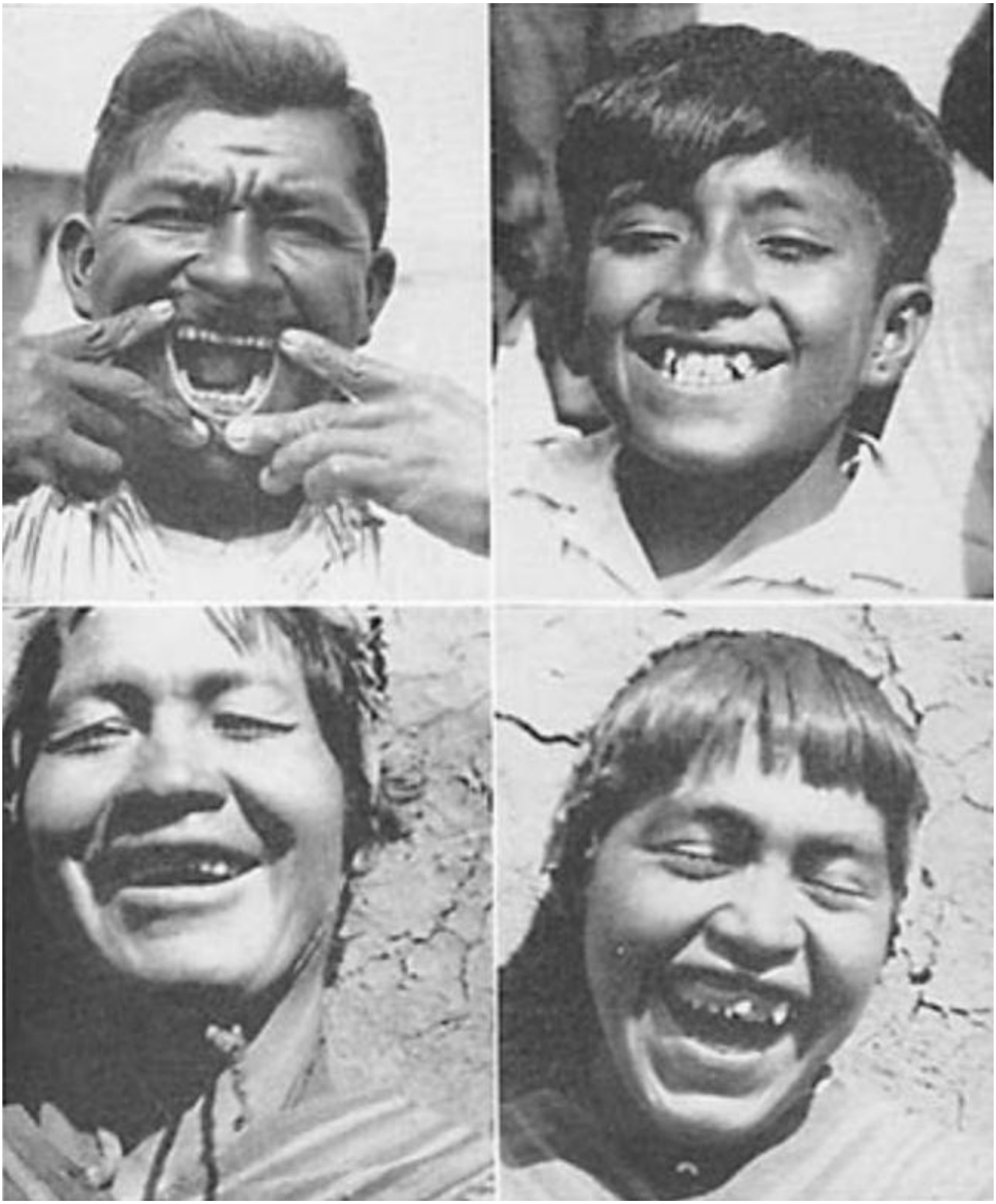


Figura 6.9 - "Eredità [genetica] disturbata. Sopra, padre di un primitivo indiano della costa del Perù con normale sviluppo dell'arcata facciale e dentale. Il figlio a destra presenta distorsioni della forma dell'arcata facciale e dentale. Sotto, padre di un primitivo indiano delle Ande con un'eccellente forma dell'arcata

facciale e dentale. Suo figlio a destra non ha riprodotto il modello razziale. Entrambi i figli sono di razza pura." [Price 1939, cap. 17, fig. 100].

--- I denti, una struttura con rinnovo limitato

Nella specie umana i denti si rinnovano solo una volta. Infatti abbiamo la dentatura decidua e poi un'unica dentatura permanente. Questa condizione, di certo definita geneticamente, non è obbligatoria nel mondo animale e le specie sono definite come monofiodonti, difiodonti o polifiodonti a seconda che abbiano una, due o più dentature [Buchtova et al. 2012].

Molti rettili, la maggior parte dei pesci dentati e altri vertebrati sono polifiodonti [Fuenzalida et al. 2000; Gaete and Tucker 2013]. Alcuni mammiferi (ad esempio elefanti, canguri e lamantini) sono polifiodonti, mentre altri, come la nostra specie, sono difiodonti. Tuttavia, i *Therapsida*, gli antenati dei mammiferi, erano polifiodonti [D'Emic et al. 2013], e ciò suggerisce che la condizione di difiodontia è un adattamento.

Nella nostra specie, le varie cellule della polpa, delle gengive e delle ossa che sostengono i denti, sono soggette a turnover come la maggior parte delle cellule del corpo. Tuttavia, lo smalto non è soggetto a turnover e quindi soffre di usura in relazione all'età.

Ciò potrebbe indurre a credere che, almeno per quanto riguarda i denti, l'invecchiamento è causato da fenomeni di usura e danno in accordo con le più antiche teorie sulle cause dell'invecchiamento. Inoltre, nelle società moderne i denti degli anziani soffrono in gran parte di varie malattie e la mancanza di denti, parziale o totale, è molto frequente. Poiché tali alterazioni in condizioni primitive comprometterebbero seriamente la capacità di alimentazione e quindi la capacità di sopravvivenza, il decadimento dei denti a causa di fenomeni di usura e danno sarebbe un argomento forte a sostegno della tesi dell'invecchiamento non programmato o non adattivo e contro la tesi opposta dell'invecchiamento programmato o adattivo. È quindi necessaria una breve discussione:

A) La selezione naturale ha la capacità di determinare qualsiasi numero di dentizioni che è necessario a seconda dell'usura dei denti e della durata di vita di una specie: (i) le specie con forte usura dei denti mostrano più sostituzioni, che sono illimitate nel loro numero [Fuenzalida et al. 2000; Gaete and Tucker 2013], (ii) altre specie con forte usura dei denti mostrano una crescita continua dei denti man mano che si consumano (ad es., i roditori [Single et al. 2001]); (iii) gli alligatori possono sostituire fino a 50 volte i loro denti [Wu et al. 2013]; (iv) l'elefante ha sei dentizioni [Shoshani 2000].

B) Le condizioni moderne dei denti negli anziani (ma anche in altre età) sono fortemente compromesse e costituirebbero un grave pregiudizio per la sopravvivenza in condizioni naturali. Tuttavia, è completamente errato giudicare una condizione moderna, cioè le alterazioni dei denti, in base alla misura della capacità di sopravvivenza in condizioni naturali. Al contrario, è necessario considerare come le condizioni dei denti fossero o siano in condizioni naturali e se in queste condizioni le alterazioni dei denti fossero o sono tali da influire sulla sopravvivenza col passare del tempo. A questo proposito, abbiamo l'importante testimonianza di Price [Price 1939], che, dopo circa 80 anni (!), con la sua eccezionale documentazione fotografica e altre prove, è ancora di gran lunga il miglior lavoro in questo senso. In sintesi, in condizioni naturali, malattie come disodontiasi, carie, malattia parodontale e le loro complicanze, che colpiscono, in varia misura, la maggior parte degli individui "civilizzati" e portano a compromissione della funzionalità e perdita dei denti sono fenomeni non comuni [Price 1939]. Alcune citazioni dal suo libro:

   "Un'altra importante fonte di informazioni sugli aborigeni dell'Australia è stata fornita da uno studio del materiale scheletrico e dei teschi nei musei di Sydney e Canberra, in particolare il primo. Non conosco il numero di teschi che sono disponibili lì per lo studio, ma è molto grande. Ne ho esaminati molti e li ho trovati straordinariamente uniformi nella struttura e nella qualità. Gli archi dentali erano splendidamente formati. I denti erano in condizioni eccellenti con una carie dentale estremamente ridotta." [Price 1939, pag. 164]

“... vi sono alcune eccellenti collezioni di teschi nei musei del Perù, con i teschi in posizione in cui possono essere prontamente studiati per la forma degli archi dentali. Quando pensiamo che dal 25 al 75% delle persone in varie comunità negli Stati Uniti hanno una netta irregolarità nello sviluppo degli archi dentali e della forma facciale, la cui causa e significato costituiscono uno dei problemi importanti di questo studio, il sorprendente contrasto riscontrato in questi teschi peruviani sarà visto come una sfida per le nostre civiltà moderne. In uno studio su 1.276 teschi di questi antichi peruviani, non ho trovato un singolo teschio con significativa deformità degli archi dentali.” [Price 1939, pag. 203]

Figura 6.10 - “Sopra, due ragazze Maori in Nuova Zelanda e sotto, due ragazze bianche in Perù. Si noti il cambiamento facciale nelle ragazze a destra rispetto alle loro sorelle maggiori.” [Price 1939, cap. 17, fig. 104].

> “Sono stati condotti numerosi studi sull’incidenza della carie dentale tra queste antiche culture. L’autore di *Bird Islands of Peru* [Murphy 1925] afferma che nel suo esame di cinquanta mummie di seguito ne trovò solo quattro con un dente con carie dentale. Ciò è di nuovo in netto contrasto con le nostre comunità modernizzate in cui dal 95 al 100% di tutti i membri di un gruppo di comunità soffre di carie dentale. Ho dimostrato per quanto riguarda gli indiani della costa occidentale del Canadà che in sei comunità altamente modernizzate in cui gli indiani stavano usando gli alimenti dell’uomo bianco, il 40% di tutti i denti erano stati attaccati dalla carie dentale. Una percentuale simile è stata trovata negli indiani che vivono attualmente in Florida. Le antiche sepolture nel sud della Florida rivelarono un’immunità evidente e completa. Queste erano sepolture precolombiane.” [Price 1939, pag. 203]
> “I teschi dei nativi della Nuova Zelanda prima dell’arrivo della razza bianca e al momento del suo arrivo mostrarono che solo un dente su mille era stato attaccato dalla carie dentale. I miei studi sui Maori modernizzati hanno rivelato che dal 30 al 60 percento dei denti erano stati attaccati dalla carie dentale, ovvero da 400 a 600 ogni mille denti. L’attuale dieta Maori è molto simile a quella del bianco della Nuova Zelanda. In contrasto con l’alta immunità originale degli indigeni alla carie, i bianchi moderni della Nuova Zelanda sono considerati dai loro stessi dentisti come aventi le dentature più difettose di tutti i gruppi del mondo.” [Price 1939, pag. 458]

Pertanto, in condizioni naturali, per la nostra specie l’unica dentizione permanente è alquanto sufficiente per l’intera vita e non è un fattore limitante per la durata della vita.

Le Figg. 6.9 e 6.10 sono alcuni esempi della straordinaria documentazione fotografica di Price.

6.2 - Invecchiamento diretto

Quando tutte le cellule che formano un tessuto o un organo manifestano un ricambio cellulare, esse soffrono tutte dei fenomeni precedentemente descritti che sono determinati dal sistema TST per le cellule che si duplicano, vale a dire la senescenza cellulare graduale, la senescenza cellulare e il rallentamento o il blocco del turnover cellulare. Le alterazioni conseguenti a questi fenomeni sono descrivibili come invecchiamento del tessuto o organo a cui appartengono le cellule e, poiché agiscono direttamente su tutte le cellule del tessuto o organo, questo tipo di invecchiamento è stato definito “invecchiamento diretto” [Libertini 2017b].
I tessuti o organi che manifestano invecchiamento diretto sono discussi nelle sottosezioni successive.
L’invecchiamento diretto è diverso dall’invecchiamento indiretto, che sarà definito nella prossima *Sezione 6.3 - Invecchiamento indiretto* e riguarda i tessuti o organi in cui alcuni tipi essenziali di cellule non mostrano turnover ma dipendono per la loro vitalità da altri tipi di cellule che manifestano il turnover cellulare. Nella prossima sezione verranno discussi i tessuti o organi che mostrano “invecchiamento indiretto”.

6.2.1 - Endotelio

Come già discusso nella *Sottosezione 6.1.2 - Alterazioni del turnover cellulare*, il declino delle cellule endoteliali è un esempio ben documentato ed eccellente di come le alterazioni del turnover cellulare abbiano effetti gravi sulla funzionalità dei tessuti e sull’efficienza e la vitalità generali dell’organismo.
In breve: (i) la corretta funzione dell’endotelio è fondamentale per evitare l’insorgenza dell’aterogenesi e delle sue complicanze; (ii) le cellule endoteliali sono soggette a turnover e il loro rinnovo è ottenuto mediante la duplicazione di cellule progenitrici endoteliali (*endothelial progenitor cells*, EPC), che a loro volta sono originate da specifiche cellule del midollo osseo; (iii)

il rallentamento del turnover delle cellule endoteliali è correlato alla riduzione del numero di EPC che diminuisce con l'età e anche come effetto di vari "fattori di rischio" cardiovascolari (fumo di sigaretta, diabete, ipertensione, ipercolesterolemia, etc.); e (iv) il numero di EPC è inversamente proporzionale al rischio cardiovascolare e come capacità predittiva ha un valore uguale o maggiore del punteggio Framingham del rischio (*Framingham risk score* [Hill et al. 2003; Werner et al. 2005]).
Nelle persone anziane, le malattie derivanti da una funzione endoteliale compromessa (infarti cardiaci, ischemie cerebrali, alterazioni della circolazione periferica e altre malattie determinate dalla compromissione della circolazione sanguigna) aumentano esponenzialmente in relazione all'età, anche se sono assenti fattori di rischio cardiovascolare [Tallis et al. 1998]. I "fattori di rischio" amplificano e anticipano il rischio cardiovascolare correlato all'età [Tallis et al. 1998], mentre i farmaci che mostrano qualità di protezione degli organi, come statine [Su 2015; Davidson 2007] e ACE-inibitori e sartani [Chłopicki e Gryglewski 2005; Su 2015] contrastano i loro effetti.

6.2.2 - Pelle

La pelle, completamente composta da cellule con turnover, è un chiarissimo esempio di come la sindrome atrofica altera progressivamente la struttura e la funzione di un organo. Il derma mostra una riduzione di tutti i suoi componenti (fibroblasti dermici, capillari e vasi sanguigni all'interno del derma reticolare, melanociti, mastociti, cellule di Langerhans, ghiandole eccrine, capelli, etc.) e le unghie crescono più lentamente [Griffiths 1998]. Una descrizione breve ma ricca è offerta da Griffiths:
"Lo spessore dello strato corneo è invariato negli anziani, sebbene il contenuto umido e la coesione siano ridotti insieme ad un aumento del tempo di rinnovo dello strato corneo danneggiato. ... L'epidermide umana è altamente proliferativa ma in una condizione di stato stazionario che è dipendente, così come per altre strutture autorinnovanti, da cellule staminali indifferenziate a ciclo lento. Queste cellule staminali si trovano all'interno del compartimento basale dell'epidermide - i cheratinociti non dentellati sulle punte delle creste della rete epidermica. La perdita di creste della rete e il conseguente appiattimento della giunzione dermo-epidermica sono un segno distintivo della pelle intrinsecamente invecchiata. Tale appiattimento provoca una riduzione della superficie media della giunzione dermo-epidermica. Uno studio ha stimato una riduzione dell'area media della giunzione dermo-epidermica/mm^2 da 2,6 nell'età fra 21 anni e 40 anni a 1,9 nell'età fra 61 e 80 anni. Questi cambiamenti sono accompagnati da una riduzione nei microvilli - proiezioni citoplasmatiche dai cheratinociti basali nel derma. ... Il tasso di rinnovamento epidermico è ridotto nella pelle delle persone di età pari o superiore a 60 anni. ... I melanociti sono diminuiti in numero nell'epidermide intrinsecamente invecchiata, anche se le stime di questa diminuzione variano da studio a studio secondo le metodologie utilizzate per quantificare i numeri dei melanociti. Detto questo, la riduzione è dell'ordine dell'8-20 percento per decennio rispetto alla pelle dei giovani adulti. ... Il numero di cellule di Langerhans è ridotto nell'epidermide intrinsecamente invecchiata, ... Gilchrest et al. hanno dimostrato che i soggetti di età compresa tra 62 e 86 anni hanno avuto una riduzione del 42% nel numero di cellule di Langerhans nella pelle protetta dal sole rispetto ai soggetti giovani di età compresa tra 22 e 26 anni. ... Il numero di fibroblasti dermici diminuisce con l'età ... La pelle invecchiata è relativamente ipovascolare, in particolare a causa della perdita di piccoli capillari che corrono perpendicolarmente alla giunzione dermo-epidermica e formano anelli capillari. Questa perdita è concomitante con la perdita di creste della rete epidermica. I vasi sanguigni all'interno del derma reticolare sono ridotti in numero e le loro pareti sono assottigliate. ... Vi è una riduzione approssimativa del 50% nel numero di mastociti nella pelle intrinsecamente invecchiata. ... Le ghiandole eccrine sono ridotte in numero e funzione nella pelle invecchiata. ...
L'età probabilmente riduce e disorganizza la rete di nervi della pelle; in effetti con l'età vi è una riduzione approssimativa di due terzi del numero di corpuscoli del Pacini e di Meissner. ... I capelli, in particolare i capelli del cuoio capelluto, si perdono con l'età in entrambi i sessi. ... Le unghie crescono più lentamente negli anziani ... Lo studio dell'invecchiamento della pelle, in particolare

come conseguenza della pronta accessibilità del tessuto cutaneo, rappresenta un paradigma per l'invecchiamento di altri organi." [Griffiths 1998]
L'atrofia della pelle, nelle sue varie parti, epidermide, derma con tutti i suoi componenti e strutture, è chiaramente correlata all'età [Katzberg 1958; Gilchrest et al. 1969; Gilchrest et al. 1982; Grove 1989; Branchet et al. 1990; Calleja-Agius et al. 2013].
In particolare, la rarefazione dei capelli, e infine l'alopecia o calvizie, sia in soggetti maschili che femminili, è correlata all'età [Norwood 2001; Paik et al. 2001; Shapiro 2007; Wang et al. 2010; Ramos e Miot 2015].

6.2.3 - Cellule recettoriali olfattive

Come evidenziato nella *Sottosezione 6.1.2 - Alterazioni del turnover cellulare*, le cellule recettoriali olfattive sono un buon esempio di neuroni che mostrano turnover cellulare e pertanto soffrono di invecchiamento diretto. Su altri tipi di cellule che contribuiscono alla funzione olfattiva, è probabile che alcuni siano soggetti a turnover (ad esempio quelli legati alla vascolarizzazione) e altri invece siano perenni (ad esempio i neuroni del bulbo olfattivo, che eseguono una prima elaborazione dell'informazione olfattiva). Tuttavia, a seguito dell'invecchiamento diretto o indiretto dei vari tipi di cellule, viene riportata una disfunzione olfattiva correlata all'età per gravità e incidenza [Cain e Stevens 1989; Schubert et al. 2012; Doty e Kamath 2014; Gouveri et al. 2014; Attems et al. 2015].
Vi è evidente disfunzione olfattiva in circa la metà degli individui di età compresa tra 65 e 80 anni [Doty et al. 1984; Duffy et al. 1995; Murphy et al. 2002] e questa menomazione aumenta con l'età [Schubert et al. 2012].
Esiste una relazione tra disfunzione olfattiva e altre malattie neurologiche correlate all'età. L'iposmia è una manifestazione costante e precoce sia della AD che della DLB ed è spesso un segno precoce di PD [Factor e Weiner 2008]. La disfunzione olfattiva si osserva nella AD, nella demenza del PD e in altre forme di demenza [Barresi et al. 2012] e la sua frequenza può raggiungere il 90% nel PD [Doty 2012] e il 100% nella AD [Duff et al. 2002].

6.2.4 - Altre cellule neuronali sensoriali periferiche (escluse le cellule recettoriali olfattive)

A parte le cellule recettoriali olfattive, altre cellule neuronali sensoriali periferiche, che verosimilmente hanno connessioni semplici con i neuroni dei rispettivi gangli, mostrano un turnover e quindi sono soggette a invecchiamento diretto che determina la loro disfunzione e atrofia, positivamente correlate all'età per gravità e incidenza [Schludermann e Zubek 1962; Henkin et al. 1969; Dyck et al. 1972 Grzegorczyk et al. 1979; Guerrier e Uziel 1979; Potvin et al. 1980; Thornbury e Mistretta 1981; Kenshalo 1986; Murphy 1987; Chauhan 1989; Gescheider et al. 1994; Devlin e Ferguson 1998].

6.2.5 - Muscolo scheletrico

I miociti del muscolo scheletrico sono cellule con turnover [Richardson et al. 2014]. Con il declino del turnover dei miociti dovuto ai meccanismi dell'invecchiamento diretto, vi è un'atrofia muscolare correlata all'età [Grimby et al. 1982; Young et al. 1984; Davies et al. 1986; Vandervoort e McComas 1986; Lexell et al. 1988; Klitgaard et al. 1990; Rutherford e Jones 1992; Cumming 1998; Richardson et al. 2014; Lim 2016].
Questa atrofia è sia in termini di massima forza isometrica volontaria sia nell'area della sezione trasversale dei muscoli [Grimbi et al. 1982; Lexell et al. 1988] (Fig. 6.11).
"Questi cambiamenti dipendono in parte dal declino delle cellule del corno anteriore che si verifica con l'età, ma ciò non spiega completamente il processo di atrofia nell'invecchiamento. In studi dettagliati è stato dimostrato che la riduzione progressiva che si verifica nel volume muscolare con l'invecchiamento può essere rilevata dall'età di 25 anni e che fino al 10 percento del volume muscolare si perde entro i 50 anni. Successivamente il tasso di atrofia del volume muscolare aumenta, cosicché a 80 anni quasi la metà del muscolo è persa. ... Sia la riduzione del numero di

fibre che la dimensione delle fibre sono implicate nella perdita del volume muscolare." [Cumming 1998]
Nella distrofia muscolare di Duchenne vi è un precoce venir meno dei miociti scheletrici a causa della loro cronica perdita e dell'esaurimento delle cellule staminali specifiche [Adams et al. 2001].

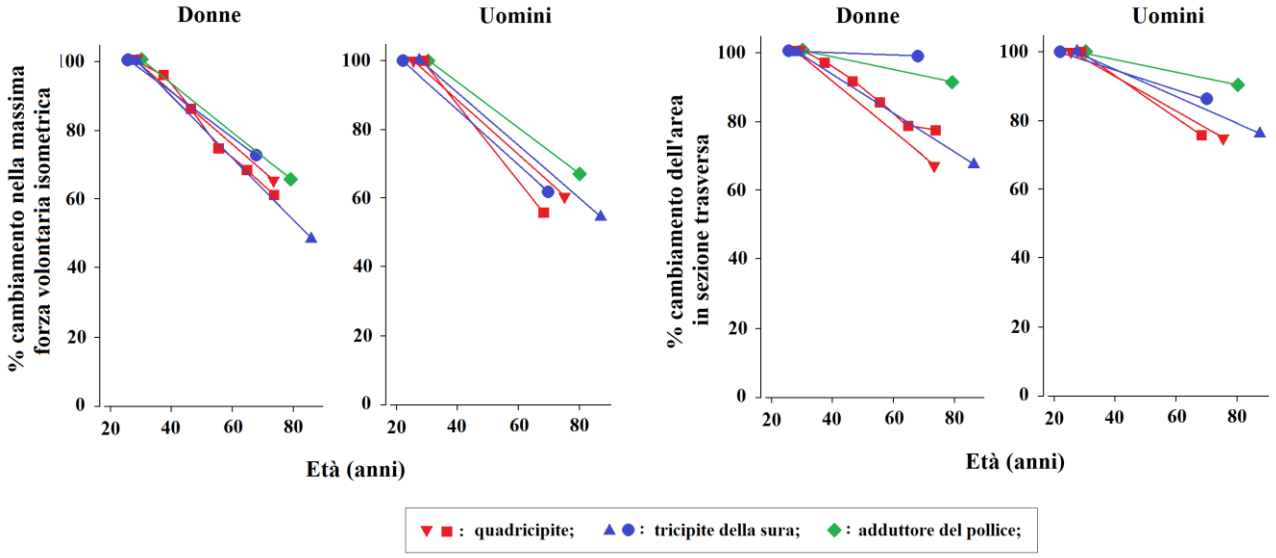


Figura 6.11 - Declino correlato all'età nella massima forza isometrica volontaria e nell'area della sezione trasversale per vari muscoli (dati da [Young et al. 1984, 1985; Davies et al. 1986; Vandervoort e McComas 1986; Klitgaard et al. 1990; Rutherford e Jones 1992; Phillips et al. 1992]).

6.2.6 - Cuore

Una vecchia e diffusa convinzione è che i miociti cardiaci siano cellule perenni e che il cuore sia un organo incapace di rigenerazione. Al contrario, in un cuore normale, circa 3 milioni di miociti muoiono ogni giorno per apoptosi (circa 35 cellule/secondo) e vengono sostituiti da nuove cellule originate da specifiche cellule staminali cardiache: "Il cuore è un organo che si autorinnova" [Anversa et al. 2006]; "Nel normale cuore umano, nel ventricolo sinistro, compreso il setto interventricolare, vi sono circa 5×10^9 cellule parenchimali [Olivetti et al. 1991; Olivetti et al. 1995] e circa 3×10^6 miociti differenziati in modo terminale vengono generati ogni giorno ... mediante l'impegno e la crescita di CSC [*cardiac stem cells*, cellule staminali cardiache] [Kajstura et al. 1998; Beltrami et al. 2001; Urbanek et al. 2003; Urbanek et al. 2005]. Questo ritmo di formazione dei miociti assicura che l'intera popolazione cellulare del cuore venga sostituita approssimativamente ogni 4,5 anni. Pertanto, le cellule parenchimali non possono vivere, come si ritiene generalmente, quanto l'organismo, circa 80 anni [Sanderson e Scherbov 2005]. Il cuore umano sostituisce completamente la sua popolazione di miociti circa 18 volte nel corso della vita, indipendentemente dalle malattie cardiache." [Anversa et al. 2006].
Il turnover dei miociti è consentito dalla duplicazione e differenziazione delle cellule staminali cardiache che mostrano un accorciamento telomerico e un aumento del numero di cellule senescenti in relazione all'età [Leri et al. 2001; Chimenti et al. 2003; Urbanek et al. 2003]. Il cuore dell'anziano mostra un numero ridotto di miociti e un progressivo aumento del volume delle cellule dei miociti per nucleo [Olivetti et al. 1991]. Il numero decrescente di miociti è una conseguenza del correlato declino nella capacità di duplicazione delle cellule staminali cardiache [Anversa et al. 2006].
La riduzione progressiva delle capacità contrattili cardiache determina un allargamento del cuore che nasconde l'atrofia sottostante nel numero dei miociti. Pertanto vi è un'apparente contraddizione: il cuore senile, sebbene atrofico come numero di cellule, mostra camere cardiache che sono dilatate e descritte morfologicamente come ipertrofiche [Aronow 1998] (Fig. 6.12).

“Con l’invecchiamento, in entrambi i ventricoli vi è una perdita del volume dei miociti per nucleo. Con l’invecchiamento, vi è anche una riduzione progressiva del numero di cellule pacemaker nel nodo del seno, con il 10 percento del numero di cellule presenti all’età di 20 anni che rimangono all’età di 75 anni ... L’ipertrofia ventricolare sinistra associata all’età è causata da un aumento del volume ma non del numero di miociti cardiaci. I fibroblasti subiscono iperplasia e il collagene si deposita nell’interstizio del miocardio.” [Aronow 1998]

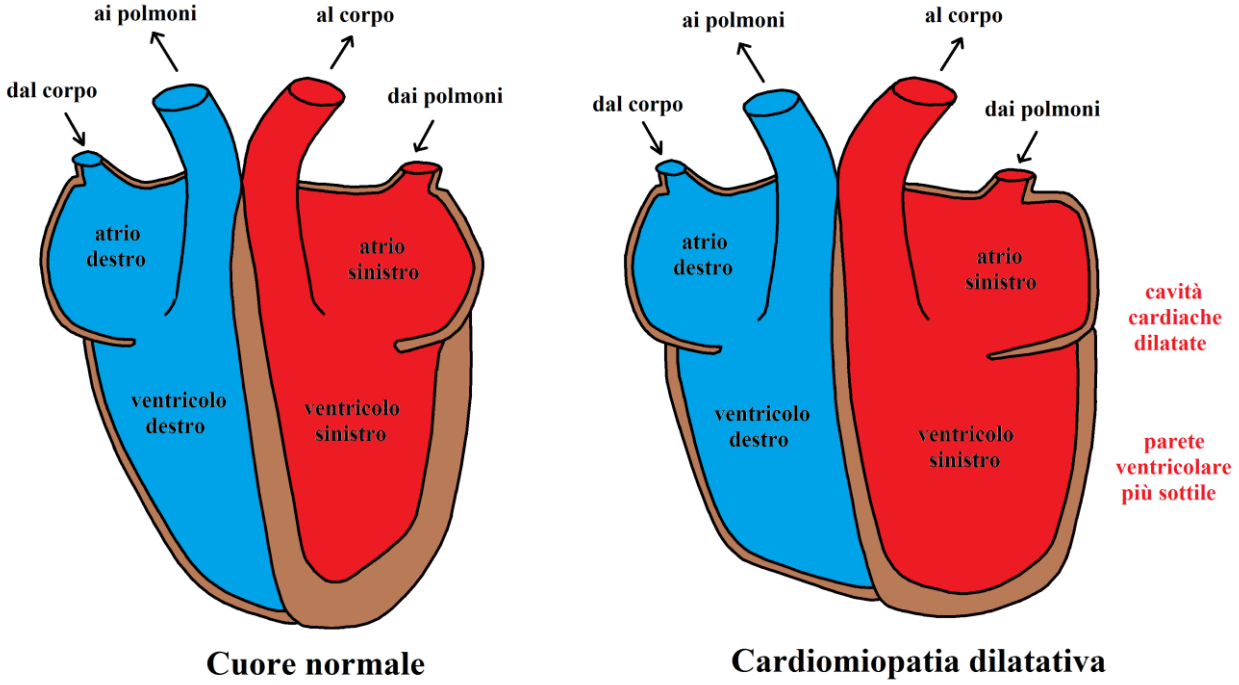


Figura 6.12 - Nelle persone anziane, le cavità cardiache allargate, che causano un’ipertrofia morfologica del cuore, sono spesso una conseguenza della sindrome atrofica del cuore.

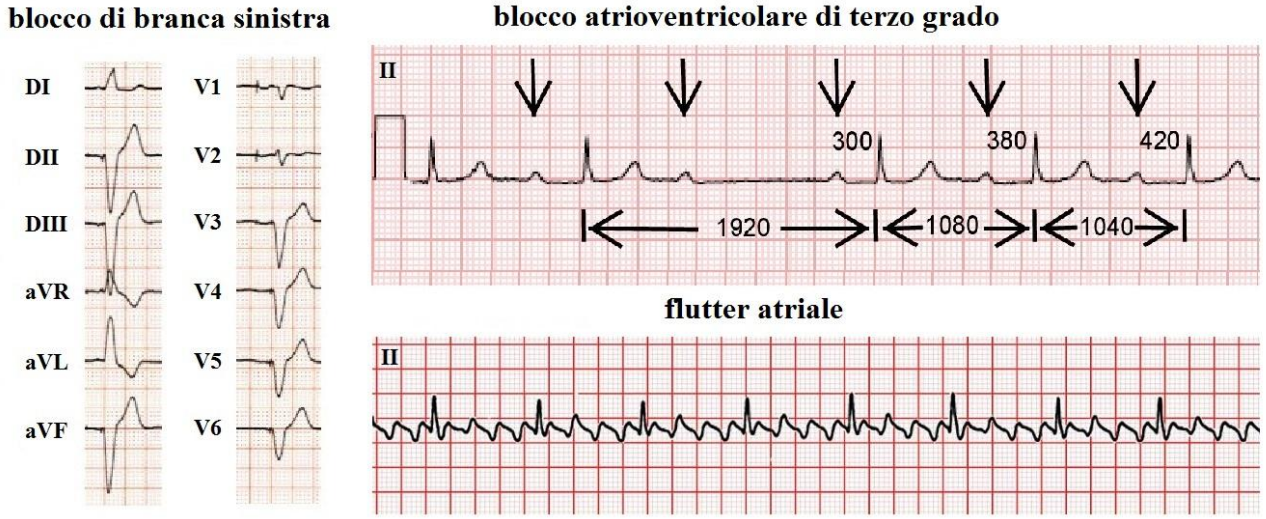


Figura 6.13 - Aritmie quali blocco della branca sinistra, blocchi atrio-ventricolari, flutter atriale e fibrillazione, etc. sono conseguenze comuni della sindrome atrofica del cuore.

Il cuore manifesta “... riduzione del numero di cellule pacemaker nel nodo senoatriale ... un certo aumento della quantità di tessuto fibroso e grasso nel miocardio atriale con una diminuzione del

numero di fibre muscolari e la perdita di fibre nella biforcazione del fascio principale di His e nella giunzione del fascio principale e nei suoi fascicoli sinistri, con minori gradi di perdita nei rami distali del fascio." [Caird e Dall 1978]. La riduzione del numero di cellule pacemaker e di miociti nel fascio e nei fascicoli che trasportano gli stimoli elettrici per la contrazione cardiaca, provoca molti tipi di aritmia (ad es., blocco della branca sinistra, varie forme di blocchi atrio-ventricolari, flutter atriale e fibrillazione , etc.) (Fig. 6.13), che di solito sono semplicemente descritti come conseguenza dell'aterosclerosi, trascurando le radici atrofiche di questa sindrome.
L'insufficienza cardiaca e le malattie correlate sono in funzione dell'età per frequenza e gravità [Caird e Dall 1978; Olivetti et al. 1991; Aronow 1998; Keller e Holett 2016; Steenman e Lande 2017].

6.2.7 - Sistema gastrointestinale

L'atrofia intestinale e gastrica appaiono essere correlate all'età [Lee et al. 1998; Hao et al. 2005; Armanios et al. 2009; Jonassaint et al. 2013].
In ogni cripta intestinale, vi sono da quattro a sei cellule staminali che si duplicano attivamente e consentono il continuo rinnovo dell'epitelio dell'intestino tenue [Barker et al. 2007]. Il declino della capacità replicativa di queste cellule staminali della cripta, come ipotizzato da molto tempo, riduce il turnover dell'epitelio intestinale e quindi la sua funzionalità: "Usando materiale *post mortem* Chacko et al. [Chacko et al. 1969] trovarono che in una popolazione indiana la forma dei villi cambiava con l'invecchiamento. I soggetti più giovani avevano villi a forma di dito, ma la frequenza di ampi villi e convoluzioni aumentava negli esemplari dalle persone anziane. Webster e Leeming [Webster e Leeming 1975] descrissero cambiamenti simili quando i campioni freschi dal digiuno di pazienti geriatrici furono confrontati con normali controlli giovani. Scoprirono che negli anziani i villi più ampi erano più comuni e inoltre i villi erano significativamente più corti. ... Andrew e Andrew [Andrew e Andrew 1957] notarono un aumento della quantità di tessuto fibroso tra le cripte di Lieberkuhn e una riduzione generale della cellularità nei topi più anziani. ... Lesher, Fry e Kohn [Lesher et al. 1961], Lesher e Sacher [Lesher e Sacher 1968] e Fry, Lesher e Kohn [Fry et al. 1961], usando l'autoradiografia e la timidina tritiata, mostrarono un tempo di generazione prolungato per le cellule della cripta duodenale negli animali anziani e un aumentato tempo di transito cellulare (per la progressione delle cellule dalle cripte alle punte dei villi). In conclusione, i possibili cambiamenti di età previsti nell'intestino tenue dell'uomo sono un aumento dei villi ampi, con una riduzione dell'altezza dei villi. Questi cambiamenti possono essere dovuti alla riduzione della produzione cellulare." [Webster 1978, pag. 361]
Nel colon, è stata osservata atrofia della *muscularis propria* e un aumento correlato della quantità di fibrosi ed elastina [Baime et al. 1994].
Negli individui anziani, l'atrofia della mucosa gastrica, non correlata alla presenza di *Helicobacter pylori*, è associata a telomeri più corti, e vari tipi di cellule dello stomaco mostrano telomeri progressivamente più corti [Takubo et al. 2010].

6.2.8 - Tessuti e organi orofacciali

L'atrofia delle ghiandole salivari, della mucosa orale e di altre strutture orofacciali è correlata all'età [Kydd e Daly 1982; Scott et al. 1983; Scott 1986; Devlin e Ferguson 1998; Abu Eid et al. 2012].
"L'atrofia dei piani fasciali all'interno delle palpebre può portare all'erniazione del grasso orbitale nel tessuto delle palpebre, producendo le 'borse sotto gli occhi' che si vedono spesso negli anziani. L'atrofia o il disinserimento dell'aponeurosi del muscolo palpebra elevatore, che di solito sostiene la palpebra superiore, può causare che la palpebra aperta non riesca a scoprire la pupilla, come si vede nella ptosi senile, nonostante la normale funzione muscolare dell'elevatore ... La funzione secretoria delle ghiandole lacrimali diminuisce con l'età ..." [Brodie 1998].
"I cambiamenti strutturali negli epiteli orali umani con l'invecchiamento includono l'assottigliamento degli strati cellulari epiteliali (ad es., assottigliamento dell'epitelio della lingua),

una ridotta cheratinizzazione e una semplificazione della struttura epiteliale. ... Gli studi istologici sull'invecchiamento delle ghiandole salivari mostrano una graduale perdita di elementi acinari, un aumento relativo della proporzione di elementi duttali, un aumento degli infiltrati infiammatori e un aumento del tessuto fibro-grassoso." [Devlin e Ferguson 1998]
"Il numero di papille gustative diminuisce dopo i 45 anni, con conseguente diminuzione della sensazione gustativa ..." [Reinus e Brandt 1998]

6.2.9 - Polmoni

I volumi polmonari - ad es., il volume espiratorio forzato nel primo secondo (*forced expiratory volume in the 1st second*, FEV_1) e la capacità vitale forzata (*forced vital capacity*, FVC) - mostrano una riduzione correlata all'età [Enright et al. 1993].
"Il più importante cambiamento correlato all'età nelle grandi vie aeree è una riduzione del numero di cellule epiteliali ghiandolari ... l'area delle alveoli cade e gli alveoli e i dotti alveoli si allargano. Capacità funzionale residua, volume residuo e distensibilità polmonare aumentano ..." [Connolly 1998]
L'incidenza e la gravità dell'enfisema, cioè la rarefazione e la dilatazione degli alveoli, e delle alterazioni correlate sono in funzione dell'età [Verbeken et al. 1992; Enright et al. 1993; Connolly 1998; Martinez et al. 2017] (Fig. 6.14).

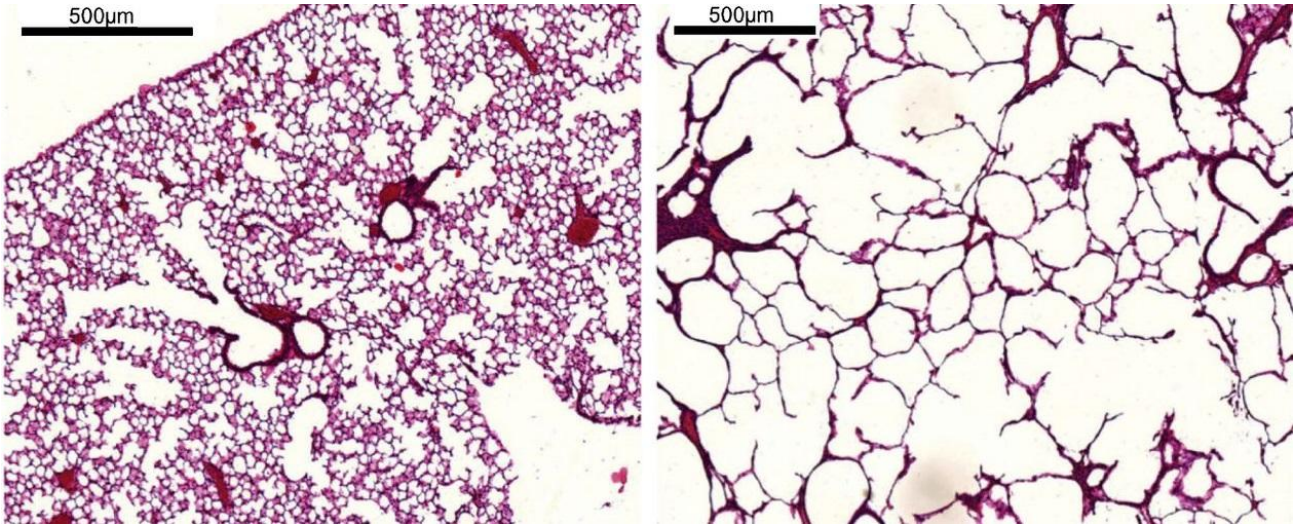


Figura 6.14 - A sinistra, polmone normale; a destra un polmone affetto da enfisema.

6.2.10 - Reni

"I cambiamenti renali indotti dall'età si manifestano macroscopicamente con una riduzione del peso del rene e una perdita di massa parenchimale. Secondo Oliver, il peso medio combinato dei reni nelle diverse fasce di età è il seguente: 60 anni, 250 g; 70 anni, 230 g; 80 anni, 190 g. La diminuzione del peso dei reni corrisponde a una generale riduzione delle dimensioni e del peso di tutti gli organi. Microscopicamente, i cambiamenti che più colpiscono sono la riduzione del numero e delle dimensioni dei nefroni. La perdita di massa parenchimale porta ad un ampliamento degli spazi interstiziali tra i tubuli. Con l'età vi è anche un aumento del tessuto connettivo interstiziale. Il numero totale di glomeruli identificabili diminuisce con l'età, approssimativamente in accordo con le variazioni del peso renale." [Jassal et al. 1998]
L'insufficienza renale è correlata all'età per frequenza e gravità [McLachlan 1978; Esposito et al. 2007; Weinstein e Anderson 2010]
La microalbuminuria, che è un segnale affidabile di nefropatia, è "predittiva, indipendentemente dai tradizionali fattori di rischio, per la mortalità cardiovascolare e per tutte le cause e per eventi di malattia cardiovascolare all'interno di gruppi di pazienti con diabete o ipertensione, e nella

popolazione generale ... Ciò può ... significare disfunzione endoteliale sistemica che predispone a futuri eventi cardiovascolari" [Weir 2007].

6.2.11 - Cellule β pancreatiche

La compromissione della tolleranza al glucosio e il diabete di tipo 2 sono correlati all'età in frequenza e gravità [Harris et al. 1987; Sinclair e Croxson 1998; Cowie et al. 2006]. Le cellule β pancreatiche manifestano turnover [Finegood et al. 1995] ed è stato suggerito che un'insufficiente sostituzione delle cellule β esaurite e uccise dallo stress metabolico sia la causa principale del diabete mellito di tipo 2 [Bonner-Weir 2000; Cerasi et al. 2000].
Il diabete è una caratteristica della sindrome di Werner [Martin e Oshima 2000], poiché la replicazione alterata delle cellule staminali delle cellule β esaurisce la loro capacità replicativa e quindi la sostituzione delle cellule β morte per apoptosi.

6.2.12 - Ossa e articolazioni

Sia gli osteociti [Spelsberg et al. 1999] che i condrociti [Héraud et al. 2000] manifestano apoptosi e quindi ricambio cellulare. Il declino di queste cellule, e di altre cellule che contribuiscono alla struttura dello scheletro e delle articolazioni, determina alterazioni anatomiche e funzionali di ossa e articolazioni [Dieppe e Tobias 1998].
Il calo della densità ossea e le relative alterazioni anatomiche, vale a dire l'osteoporosi, costituiscono un disturbo collegato all'età [Rutherford e Jones 1992; Bijlsma et al. 2012; Sözen et al. 2017].
"Una volta raggiunta la mezza età, la quantità totale di calcio nello scheletro (cioè la massa ossea) inizia a diminuire con il passare degli anni ... Ciò è associato a cambiamenti nella struttura scheletrica, che la rendono più debole e più incline a subire fratture. Ad esempio, la corteccia ossea diventa più sottile a causa dell'espansione della cavità midollare interna, la rete trabecolare si scompone e si verifica un accumulo di microfratture. ... La perdita ossea negli anziani è in gran parte il risultato dell'eccessiva attività degli osteoclasti, che provoca sia un'espansione del numero totale di siti di rimodellamento sia un aumento della quantità di osso riassorbito per singolo sito. .... Si ritiene inoltre che la perdita ossea negli anziani comporti un declino legato all'età nel reclutamento e nella capacità sintetica degli osteoblasti" [Dieppe e Tobias 1998] (Fig. 6.15).

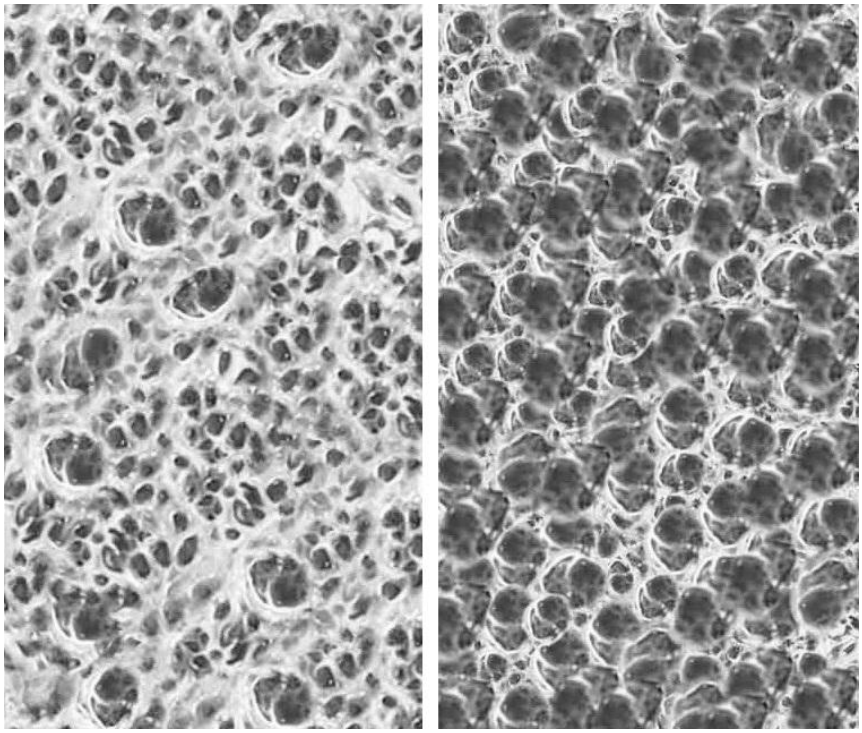


Figura 6.15 - A sinistra, osso normale; a destra, osso osteoporotico.

“La perdita ossea involutiva ... inizia tra i 35 e i 40 anni in entrambi i sessi, ma nelle donne c’è un’accelerazione della perdita ossea nel decennio successivo alla menopausa. Complessivamente, le donne perdono dal 35 al 50% dell’osso trabecolare e dal 25 al 30% della massa ossea corticale con l’avanzare dell’età, mentre gli uomini perdono dal 15 al 45% dell’osso trabecolare e dal 5 al 15% dell’osso corticale. ... La perdita ossea ... [è] probabilmente correlata alla ridotta formazione di nuovo osso, a causa del declino della funzione degli osteoblasti.” [Francis 1998]
Un effetto dell’osteoporosi è una maggiore incidenza di fratture correlata all’età [Cooper e Melton 1992] (Fig. 6.16).
Per effetto della senescenza cellulare graduale e della senescenza cellulare le alterate secrezioni extracellulari (SASP) dei condrociti contribuiscono fortemente al decadimento delle articolazioni: “Con l’età la cartilagine articolare si assottiglia e cambia colore da un bianco scintillante a un giallo opaco. Inoltre, le caratteristiche meccaniche del tessuto cambiano. C’è una diminuzione della rigidità alla trazione, della resistenza alla fatica e della solidità ... La morfologia e la funzione delle cellule (condrociti) e la natura dei due componenti principali, l’aggrecano e il collagene di tipo II, anche cambiano con l’età. La densità delle cellule nel tessuto cambia poco [in un volume più piccolo, poiché la cartilagine articolare diventa più sottile; vedi prima], ma la loro morfologia si altera con un aumento dei filamenti intracitoplasmatici e cambia la loro secrezione di componenti della matrice, producendo proteoglicani più variabili. L’invecchiamento è anche associato ad alterazioni nella risposta dei condrociti a stimoli anabolici e catabolici come la citochina interleuchina-1. ... Con l’età si riduce l’aggregazione dei proteoglicani e vengono sintetizzati proteoglicani più piccoli con un aumento del cheratina solfato e un ridotto contenuto di condroitina solfato. Anche il collagene cambia, con un certo aumento del diametro della fibra, nonché un aumento della reticolazione.” [Dieppe e Tobias 1998]

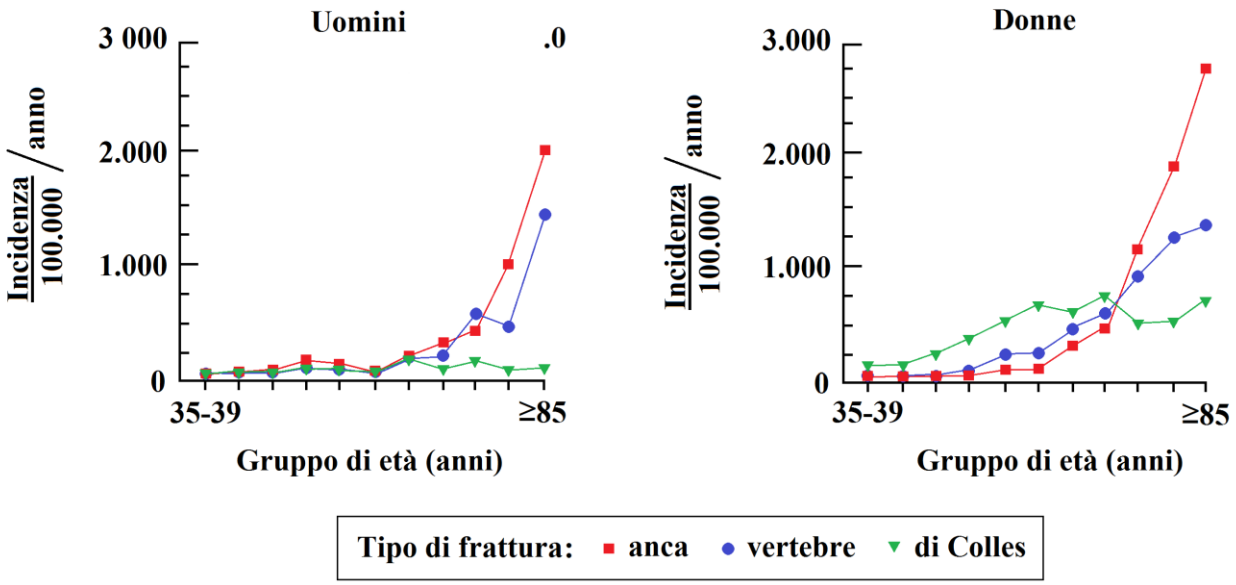


Figura 6.16 - Aumento correlato all’età di alcuni tipi di fratture (dati da [Cooper e Melton 1992]).

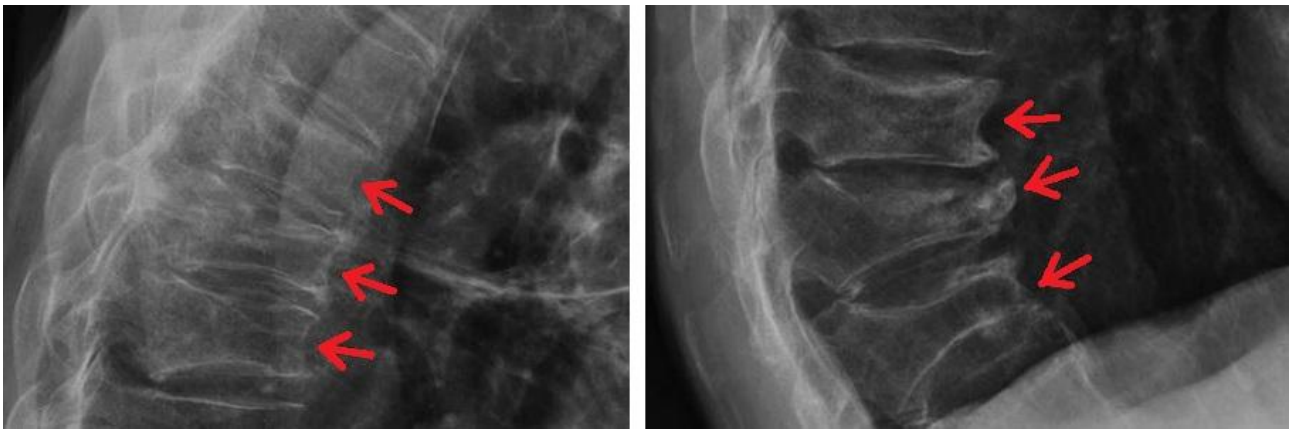


Figura 6.17 - Esempi di crolli vertebrali multipli.

Nel parlare popolare, anche da parte dei medici che cercano di farsi capire dai pazienti, l'invecchiamento delle ossa e delle articolazioni viene descritto come un effetto cronico di usura e traumi. In realtà, l'evidenza mostra che le ossa e le articolazioni delle persone anziane sono atrofiche e che i fenomeni di usura e alterazione delle articolazioni sono un effetto secondario dell'atrofia e disfunzione delle superfici articolari ossee e della cartilagine che le copre. Inoltre, i crolli dei corpi vertebrali sono chiaramente una conseguenza dell'atrofia e del cedimento strutturale delle parti interne dei corpi vertebrali e non la conseguenza del "consumo" delle loro superfici esterne (Fig. 6.17).

6.2.13 - Fegato

L'atrofia epatica è una condizione correlata all'età [Marchesini et al. 1988; Wynne et al. 1989; Wakabayashi et al. 2002; Grizzi et al. 2013; Kim et al. 2015a].
Il volume del fegato manifesta un declino correlato all'età [Marchesini et al. 1988], sia in valori assoluti che in proporzione al peso corporeo [Wynne et al. 1989]. Questa riduzione è del 37% circa tra i 24 e i 91 anni [Marchesini et al. 1988]. Nello stesso periodo di vita, vi è una riduzione del flusso sanguigno epatico di circa il 53 percento [Marchesini et al. 1988]. Tuttavia, mentre il volume del fegato diminuisce con l'età, gli epatociti mostrano un aumento delle dimensioni. Al contrario, nell'atrofia epatica causata dall'inedia vi è una diminuzione delle dimensioni degli epatociti [Watanabe e Tanaka 1982; David e Reinke 1988].
È noto che la cirrosi è la conseguenza della distruzione cronica di epatociti causata da alcolismo, epatite o altri fattori: l'esaurimento delle capacità di replicazione delle cellule staminali epatocitarie determina una grave sindrome atrofica del fegato, con una radicale alterazione della sua struttura anatomica e istologica e spesso con la complicazione degli epatocarcinomi a causa dell'instabilità indotta da telomeri disfunzionali [DePinho 2000; Artandi 2002].

6.2.14 - Cellule ematopoietiche e midollo osseo

Vi è evidenza della riduzione legata all'età di vari tipi di cellule ematiche [Kubota et al. 1991; Geiger e van Zant 2002; Dixon e O'Brien 2006]: "... le popolazioni di linfociti del sangue periferico appaiono mostrare un cambiamento significativo nell'età, con un calo del numero totale. Le cellule CD4+ T-helper, responsabili per il maggiore complesso di istocompatibilità di classe II della ristretta ricognizione dell'antigene estraneo e la successiva attivazione delle cellule CD8+ T-soppressori, B-linfociti e granulociti effettori della risposta immunitaria, mostrano un declino complessivo con l'età accompagnato da una riduzione nella capacità di produrre cellule vergini CD4+ CD45RA T." [Gilleece e Dexter 1998]
In relazione all'età, la capacità proliferativa dei linfociti T per mitogeni non specifici appare ridotta [Schwab et al. 1985; Murasko et al. 1986] e meno neutrofili arrivano nei siti di abrasioni cutanee [MacGregor e Shalit 1990].

L'involuzione graduale del midollo rosso inizia dalla nascita ma è particolarmente marcata dopo i 70 anni quando la cellularità midollare della cresta iliaca appare ridotta a circa il 30% di quella riscontrata nei giovani adulti [Hartsock et al. 1965; Meunier et al. 1971; Frisch et al. 1985; Liu et al. 1989]. Le cellule ematopoietiche sono sostituite prevalentemente da fibrociti [Liu et al. 1989] e adipociti [Meunier et al. 1971].
È stato ipotizzato che il declino funzionale legato all'età delle cellule staminali ematopoietiche è un possibile fattore limitante per la longevità nei mammiferi [Geiger e Van Zant 2002].

6.2.15 - Testicoli

L'atrofia testicolare in relazione all'età è documentata nell'uomo [Handelsman e Staraj 1985] e in modelli animali [Wright et al. 1982; Fukuda et al. 2001].

6.3 - Invecchiamento indiretto

Quando le cellule che costituiscono la parte principale di un tessuto o di un organo non mostrano turnover, tali cellule sono definite perenni e non possono soffrire dei fenomeni determinati dal sistema TST per le cellule che si duplicano, vale a dire senescenza cellulare graduale, senescenza cellulare e rallentamento o blocco del turnover cellulare. Tuttavia, poiché altre cellule dello stesso tessuto o organo mostrano turnover, queste cellule non perenni manifestano gli anzidetti fenomeni determinati dal sistema TST. Se le cellule non perenni sono indispensabili per la vitalità e le funzioni delle cellule perenni, il loro declino provoca il declino delle cellule perenni servite e quindi l'invecchiamento del tessuto o dell'organo. Poiché l'azione del sistema TST sulle cellule perenni del tessuto/organo è indiretta, vale a dire conseguente al declino delle cellule che servono le cellule perenni, questo tipo di invecchiamento è stato definito come "invecchiamento indiretto" [Libertini 2017b].
Nelle seguenti sottosezioni verranno discussi i tessuti o organi che manifestano un "invecchiamento indiretto".

6.3.1 - Cellule fotorecettrici

La degenerazione maculare legata all'età (*age-related macular degeneration*, AMD) mostra un aumento di frequenza e gravità correlato all'età [Klein et al. 2007; Klein et al. 2010; Rudnicka et al. 2012].
La AMD colpisce rispettivamente il 5%, il 10% e il 20% dei soggetti di età compresa tra 60, 70 e 80 anni [Berger et al. 1999]. Quindi, la sua frequenza sembra aumentare esponenzialmente in età avanzata e la AMD deve essere considerata una caratteristica normale delle età avanzate.

6.3.2 - Neuroni del sistema nervoso centrale

La malattia di Alzheimer (AD) è correlata all'età in frequenza e gravità [Gorelick 2004; Rosendorff et al. 2007]. Lo stesso vale per il morbo di Parkinson (PD) [Mutch e Inglis 1998; De Lau e Breteler 2006; Pringsheim et al. 2014]
La AD colpisce l'1,5% della popolazione degli Stati Uniti e dell'Europa all'età di 65 anni e il 30% a 80 anni [Gorelick 2004]. Quindi, è molto probabile che i centenari ne siano affetti.
Dopo la AD, il PD è il più frequente tra i disturbi neurodegenerativi [Yao et al. 2013; de Lau e Breteler 2006]. La sua frequenza è di circa lo 0,3% nei paesi industrializzati e aumenta dall'1% negli individui di età superiore ai 60 anni al 4% in quelli di età superiore agli 80 anni [de Lau e Breteler 2006]. L'età media di insorgenza è di circa 60 anni, sebbene nel 5-10% dei casi inizi prima dei 50 anni [Samii et al. 2004].

6.3.3 - Neuroni uditivi

La relazione tra l'età e la compromissione dell'udito, o presbiacusia, è ben documentata [Mościcki et al. 1985; Zhan et al. 2010; Lin et al. 2011b]. La frequenza della perdita dell'udito è maggiore del 50% nei soggetti di età superiore ai 60 anni [Zhan et al. 2010].

Fattori come l'esposizione al rumore, l'ipertensione e il diabete aggravano e accelerano l'insorgenza della compromissione dell'udito [Wong e Ryan 2015]. Tuttavia, anche in animali normali sani allevati in condizioni silenziose, si osserva ancora la perdita dell'udito legata all'età [Sergeyenko et al. 2013; Yan et al. 2013].
La perdita dell'udito e alcune malattie neurologiche legate all'età sono correlate: (i) la compromissione dell'udito è una caratteristica comune del morbo di Parkinson idiopatico (PD) [Vitale et al. 2012]; (ii) esiste un'associazione tra problemi di udito e episodi di demenza [Lin et al. 2011a]; e (iii) nei pazienti con perdita dell'udito rispetto agli individui senza di essa, l'incidenza di PD è stata trovata di 1,77 volte maggiore [Lai et al. 2014].

6.3.4 – Il cristallino

Trascurando i casi di cataratta secondaria, determinati o accelerati da traumi, esposizione alle radiazioni, esposizione prolungata alla luce solare, diabete, fumo di tabacco, fattori genetici, etc. [Gupta et al. 2014], la cataratta primaria o senile è una malattia correlata all'età [Gupta et al. 2014; Pescosolido et al. 2016; Reitmeir et al. 2017].

6.4 - Schemi generali

Molti concetti discussi nelle parti precedenti possono essere riassunti nelle Figg. 6.18, 6.19 e 6.20.
La Fig. 6.18 riassume la principale differenza tra i paradigmi dell'invecchiamento non programmato e programmato.
In breve, per la prima interpretazione dell'invecchiamento, che non ipotizza alcun vantaggio evoluzionistico per l'invecchiamento: (i) vari fattori dannosi alterano continuamente cellule, organelli intracellulari e liquidi intercellulari; (ii) i meccanismi di riparazione fisiologica, favoriti dalla selezione individuale, cercano di frenare e annullare il danno; ma (iii) la riparazione è insufficiente e quindi una parte del danno si accumula e porta alla condizione definita come invecchiamento. Nell'interpretazione non adattativa dell'invecchiamento, questo fenomeno rappresenta un grande "fallimento" della selezione naturale che, dopo il sorprendente risultato della formazione di un organismo enormemente complesso, è in grado di preservare la sua integrità solo in misura limitata, condannandolo così a un progressivo decadimento.

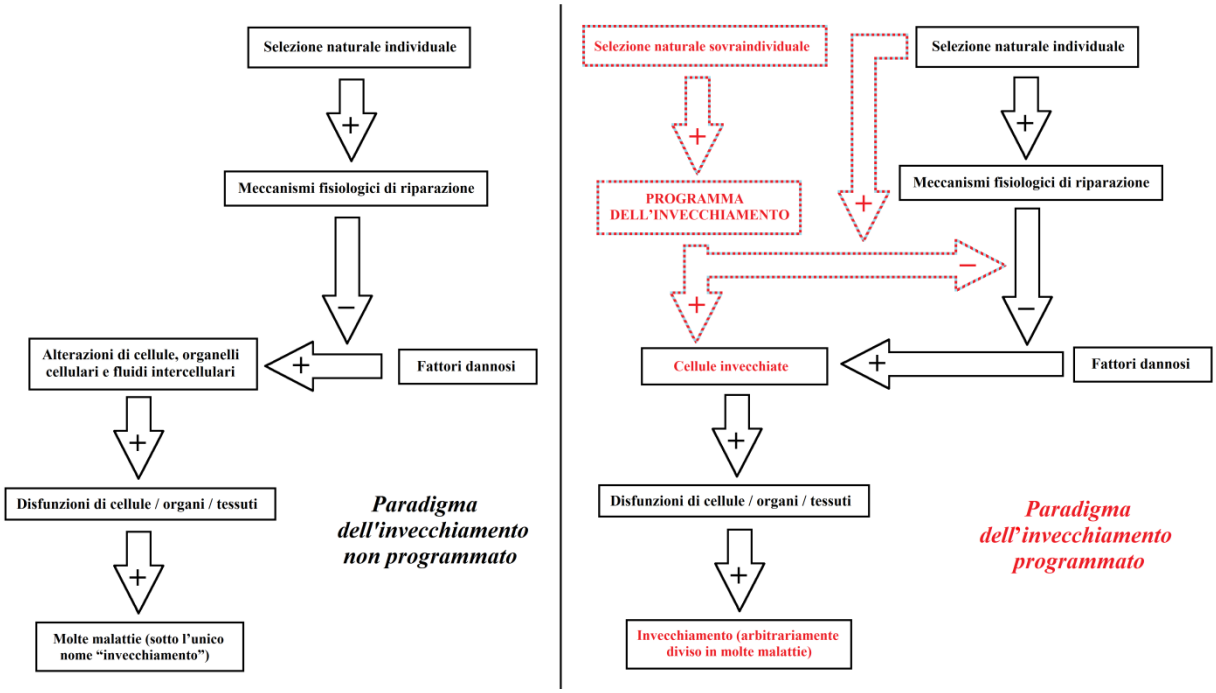


Figura 6.18 - A sinistra: interpretazione dell'invecchiamento secondo il paradigma dell'invecchiamento non programmato (non adattativo). A destra: interpretazione dell'invecchiamento secondo il paradigma dell'invecchiamento programmato (adattivo) (da [Libertini 2017b], modificata e ridisegnata).

Per la seconda interpretazione dell'invecchiamento, i punti (i) e (ii) sono identici, mentre al punto (iii) i meccanismi fisiologici di riparazione possono riparare le alterazioni causate da fattori dannosi completamente e per un tempo illimitato. Tuttavia, in determinate condizioni, l'invecchiamento è vantaggioso e favorito dalla selezione naturale a livello sopraindividuale e di conseguenza esistono meccanismi specifici che determinano il progressivo decadimento delle funzioni cellulari e dell'intero organismo, tra l'altro rallentando progressivamente e compromettendo i fenomeni fisiologici di riparazione. Nell'interpretazione adattativa dell'invecchiamento, il fenomeno è una "conquista" dell'evoluzione. Laddove l'invecchiamento non presenta un vantaggio evoluzionistico, gli individui di una specie non invecchiano oppure presentano forme alternative fenoptotiche di interruzione della vita individuale (ad es., la semelparità).
La Fig. 6.19 mostra il meccanismo cellulare che determina le alterazioni cellulari progressive e quindi causa il decadimento di fluidi intercellulari, tessuti e organi, ovvero dell'intero organismo. In breve, l'accorciamento progressivo dei telomeri, un fenomeno strettamente regolato dalla modulazione dell'attività dell'enzima telomerasi, determina una repressione progressiva delle sequenze subtelomeriche (sequenze T) che hanno un'importanza primaria nella regolazione generale delle funzioni cellulari e, inoltre, in proporzione alla loro inibizione, appaiono aumentare la probabilità di innescare il programma di senescenza cellulare.

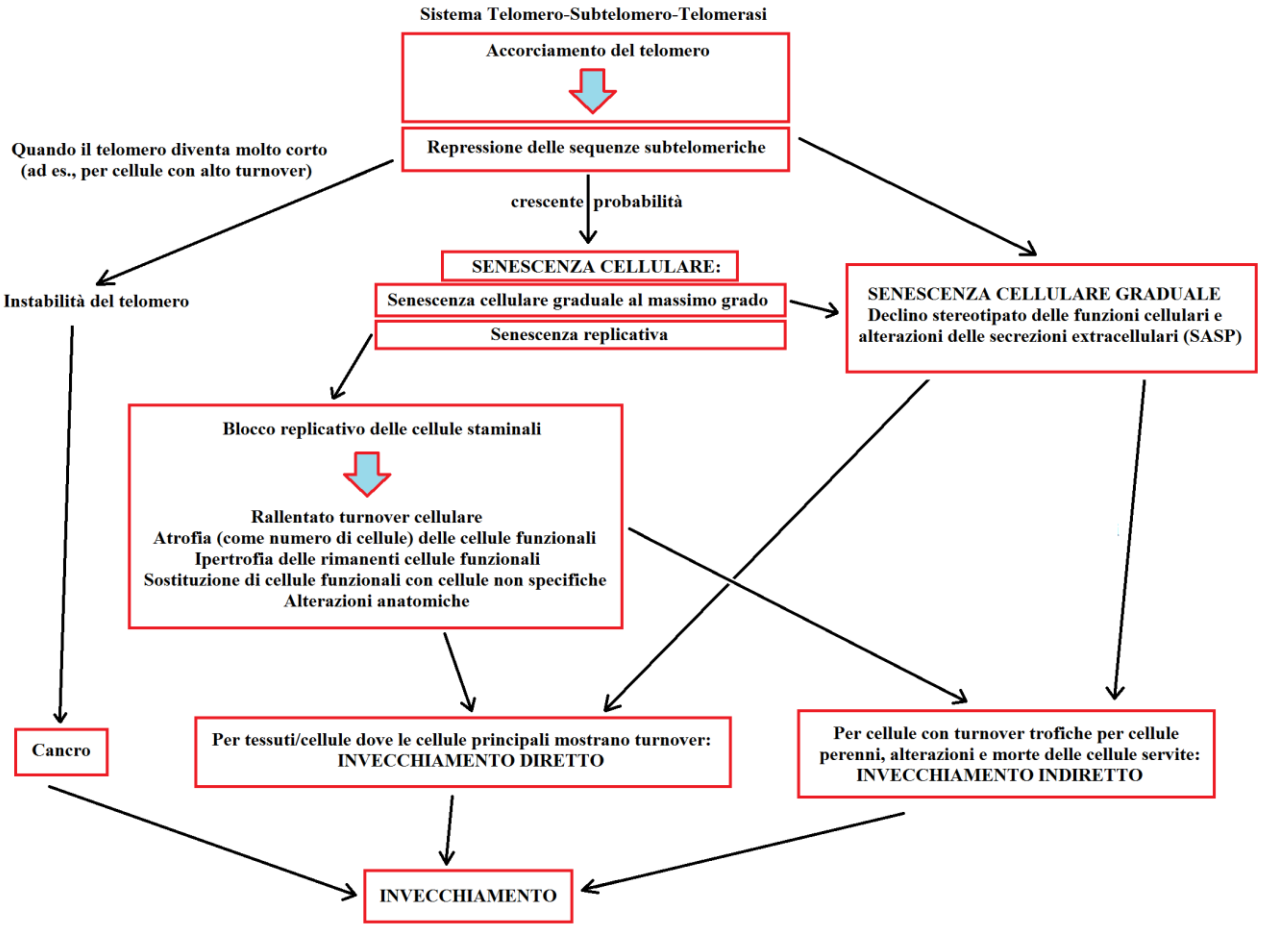


Figura 6.19 - Uno schema generale degli effetti del sistema TST.

Ciò determina, nelle cellule in cui i telomeri sono accorciati, l'alterazione parziale delle funzioni cellulari (senescenza cellulare graduale) e un numero crescente di cellule in senescenza cellulare con il blocco della capacità replicativa e le alterazioni della senescenza cellulare graduale al massimo grado. Mentre per le cellule con turnover i meccanismi di cui sopra agiscono direttamente su queste cellule (invecchiamento diretto), per le cellule perenni, che sono senza turnover e dipendono per la loro funzionalità e vitalità da cellule satellite con turnover, i meccanismi anzidetti agiscono sulle cellule satelliti e compromettono indirettamente le cellule perenni (invecchiamento indiretto).
Questi fenomeni sono alla base di una sindrome atrofica progressiva di tutti i tessuti, caratterizzata da rallentamento del ricambio cellulare, riduzione del numero di cellule funzionali di un tessuto, loro sostituzione con cellule non specifiche, aumento del numero di cellule con funzioni compromesse , possibilità di cancro se i telomeri sono eccessivamente accorciati, etc. Ciò porta ad alterazioni generalizzate delle funzioni dei tessuti e degli organi con una progressiva riduzione della capacità di sopravvivenza, un complesso di fenomeni, definito come invecchiamento, che ha una genesi unitaria nonostante la molteplicità delle sue manifestazioni.
La Fig. 6.20 mostra un elenco riepilogativo dei:
- tipi di cellule con turnover e alterazioni o malattie causate direttamente dai meccanismi di invecchiamento cellulare (invecchiamento diretto)
- tipi di cellule con turnover che sono trofiche per cellule perenni e alterazioni o malattie causate indirettamente sulle cellule perenni dal declino di queste cellule trofiche o satelliti (invecchiamento indiretto).

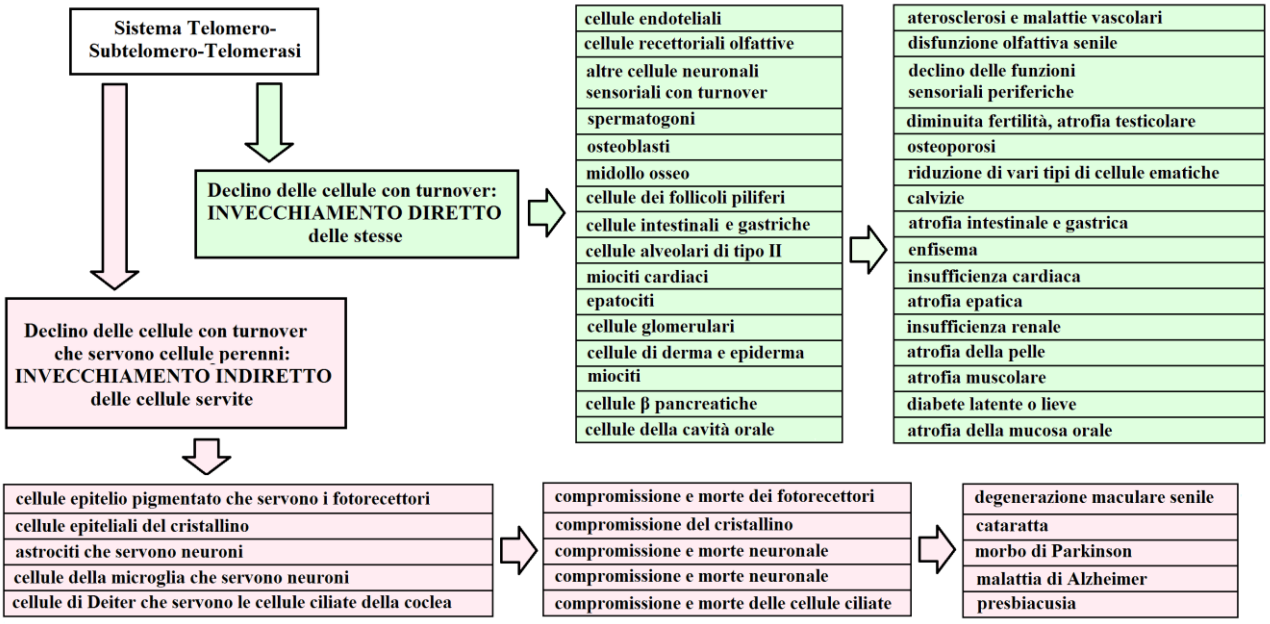


Figura 6.20 - Invecchiamento diretto o indiretto per molti tipi di cellule.

Capitolo 7
Gli anziani e i loro disturbi

7.1 - Classificazione evoluzionistica dei disturbi degli anziani
7.2 - Declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età
7.3 - Malattie dovute ad alterazioni genetiche
7.4 - Malattie dovute ad alterazioni genetiche che causano sindromi simili all'invecchiamento
7.5 - Malattie derivanti da "estremi" della nicchia ecologica e da relazioni con altri esseri viventi
7.6 - Malattie causate da discrepanze
7.7 - Malattie causate da discrepanze che accelerano l'invecchiamento fisiologico
7.8 - Importanza dell'invecchiamento fisiologico

7.1 - Classificazione evoluzionistica dei disturbi degli anziani

Nella geriatria tradizionale, lo studio e il trattamento delle malattie seguono gli stessi criteri della medicina generale, vale a dire che le malattie sono innanzitutto suddivise in base al sistema anatomico o funzionale interessato. Ad esempio, nel *Broklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology* [Fillit et al. 2017], la materia è divisa nelle sezioni Sistema cardiovascolare, Sistema respiratorio, Sistema nervoso, Sistema muscoloscheletrico, Gastroenterologia, Apparato urinario, Salute delle donne, Endocrinologia, Ematologia e oncologia, Pelle e sensi speciali, che rispecchia la divisione della medicina generale in vari specializzazioni.
Inoltre, la gerontologia e la geriatria sono strettamente condizionate dalla visione classica dell'invecchiamento come un insieme di alterazioni causate da una molteplicità di diversi fenomeni degenerativi. Secondo questa concezione, è del tutto naturale non concepire l'invecchiamento come un fenomeno unitario e anche distinguere le alterazioni che lo caratterizzano sulla base degli organi o delle funzioni o dei sistemi interessati.
Al contrario, nell'interpretazione della medicina evoluzionistica presentata nel *Capitolo 3 - Medicina evoluzionistica* di questo libro dedicato a questo argomento, l'invecchiamento è un fenomeno fisiologico, favorito dalla selezione naturale, con la sua specifica filogenesi [Libertini 2015b], e determinato da peculiari meccanismi che possono essere descritti sia a livello cellulare che per l'intero organismo, come mostrato nel *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento* e nel *Capitolo 6 - L'invecchiamento nella specie umana*. È necessario sottolineare che questo concetto di invecchiamento come fenomeno unitario e fisiologico e appartenente all'ampia categoria dei fenomeni fenoptotici [Skulachev 1997, 1999b, 2002a; Libertini 2012], come discusso nel *Capitolo 2 - Evoluzione e fenoptosi*, è estraneo e contrario alla consueta interpretazione della medicina evoluzionistica proposta da Williams e Nesse [Williams e Nesse 1991; Nesse e Williams 1994], Trevathan, Smith e McKenna [Trevatan et al. 1999, 2008a, 2008b] e Stearns et al. [Stearns 1999; Stearn e Koella 2008; Stearns et al. 2010], i quali seguono le vecchie idee della medicina tradizionale sull'invecchiamento.
Le ragioni che inducono fortemente e senza esitazione alla scelta di interpretare l'invecchiamento come un fenomeno fisiologico favorito dalla selezione naturale sono già state ampiamente discusse nei precedenti capitoli (si veda in particolare il *Capitolo 4 - Il confronto tra i due paradigmi*), e sarebbe ripetitivo e inutile esporle di nuovo qui, anche brevemente. Va notato solo che prima della nascita ufficiale della medicina evoluzionistica [Williams e Nesse 1991], in una delle anticipazioni dei suoi concetti, queste ragioni furono presentate simultaneamente e coerentemente con la teoria dell'invecchiamento come fenomeno fisiologico [Libertini 1983].

A parte queste osservazioni, la classificazione dei disturbi (malattie e fenomeni simili) negli anziani, o più precisamente nelle età in cui il declino della capacità di sopravvivenza diventa rilevante, è identica alla classificazione evoluzionistica generale delle malattie già presentata nella Tabella 3.7, che si ripete qui. Va notato che, oltre a una serie di malattie o disturbi presenti a

qualsiasi età, le persone anziane soffrono principalmente di “V - Fenomeni fisiologici che causano problemi e sofferenze - (E) Fenoptosi lenta o invecchiamento”.

Tabella 3.7 - Classificazione evoluzionistica delle malattie e di fenomeni simili.

I - Malattie derivanti da alterazioni del genotipo
(A) causate da: anomalie del DNA; anomalie cromosomiche; anomalie mitocondriali; geni dannosi che sono utili in determinate condizioni;
II - Malattie derivanti da alterazioni della nicchia ecologica
(A) causate da: alterazioni della dieta; attività fisica ridotta e/o anormale; abuso di sostanze particolari; rapporti sociali alterati e altri problemi che causano malattie mentali; eccessivo affollamento; eccessivo rumore; altre alterazioni dello stile di vita; aumento della densità demografica;
(B) causate da: alterazioni dell’olobionte; alterazioni delle relazioni con altri esseri viventi;
III - Malattie derivanti da “estremi” della nicchia ecologica
(A) causate da: traumi; ustioni; annegamento e asfissia; etc.
IV - Malattie derivanti da relazioni con altri esseri viventi
(A) causate da: batteri; virus; funghi; protozoi; vermi; insetti, ragni, ectoparassiti e altri esseri viventi;
V - Fenomeni fisiologici che causano problemi e sofferenze
(A) Difese contro traumi, infezioni, sostanze tossiche, etc. (dolore, febbre, tosse, starnuti, nausea, vomito, diarrea, etc.);
(B) manifestazioni mentali e comportamentali (ansia, paura, depressione, gelosia, dolore psicologico, tristezza, etc.) come adattamenti a situazioni particolari [Nesse 2019];
(C) Gravidanza, parto e puerperio;
(D) Fenomeni fenoptotici, esclusa la fenoptosi lenta;
(E) Fenoptosi lenta o invecchiamento

Per quanto riguarda la classificazione delle malattie presenti a qualsiasi età, le differenze con le classificazioni tradizionali delle malattie sono notevoli e con implicazioni importanti.

- Nelle tradizionali classificazioni ufficiali delle malattie - Classificazione internazionale delle malattie (*International Classification of Diseases*), ad es. ICD-10, ICD-11 [WHO 2016, 2018] - non esiste un codice per definire l’invecchiamento come una malattia distinta o come causa fisiologica di sofferenza. Non è un’imperfezione o un errore involontario poiché deriva da una concezione profondamente radicata che esclude l’invecchiamento come fenomeno distinto. Secondo questa visione tradizionale, che è quella osservata dalle organizzazioni pubbliche e private, termini come invecchiamento o senescenza servono solo quale comoda etichetta per raggruppare numerosi fenomeni distinti con origini diverse e che non possono assolutamente essere considerati in modo unitario. Di conseguenza, nelle statistiche mondiali sulle cause di morte, nessuno può morire ufficialmente per “invecchiamento”. Per nessuna nazione l’invecchiamento è riportato come causa ufficiale di morte sul sito internet WorldLifeExpectancy [WorldLifeExpectancy 2017], e nelle cause globali di morte sono elencate 80 cause di morte in tutto il mondo, ma anche qui l’invecchiamento è assente [World Ranking Total Deaths 2017].
- Le classificazioni tradizionali mettono insieme malattie di diversa origine che colpiscono lo stesso organo (o apparato o funzione) e che sono meglio curabili da coloro che hanno esperienza e strumenti per un organo specifico. Inoltre, seguendo gli stessi criteri, una singola malattia con una causa specifica può essere suddivisa in diversi disturbi a seconda degli organi o sistemi interessati. Ad esempio, se una dieta a cui la specie non è adattata determina il diabete mellito di tipo 2 e questa condizione provoca, tra le altre cose, alterazioni delle pareti arteriose con conseguenti infarti del miocardio, ischemia cerebrale e disturbi della circolazione in altre aree del corpo, così diverse manifestazioni patologiche di una singola malattia avranno codici distinti e specialisti distinti che le curano, con insufficienti connessioni unitarie alla causa primaria e alla

malattia principale che le determinano. Di conseguenza, per un diabetico che, ad esempio, muore per un infarto, la sua morte sarà classificata tra le morti per malattie cardiovascolari e non tra quelle dovute al diabete. Al contrario, nella classificazione evoluzionistica delle malattie, questi disturbi devono essere classificati nella categoria "II - Malattie derivanti da alterazioni della nicchia ecologica".

- Le classificazioni tradizionali sono fortemente orientate a dividere le patologie in base alle loro manifestazioni e non in base alle cause primarie che le determinano. Per queste classificazioni, e per l'attuale medicina in generale, la situazione è analoga alla classificazione delle specie viventi prima dell'accettazione dell'evoluzionismo, quando si guardavano più gli aspetti esterni in comune tra le varie specie e in nessun modo al più vicino antenato comune tra specie con differenze esterne maggiori o minori ma con affinità profonde che non sono sempre esternamente evidenti.
- Mentre le classificazioni tradizionali operano principalmente sulla base dei sintomi manifestati e delle necessità per il trattamento di queste manifestazioni, la classificazione evoluzionistica è guidata dalla causa primaria di ciascuna malattia. Ciò dovrebbe determinare una maggiore attenzione alla prevenzione delle cause primarie che è razionalmente favorita nei confronti delle cure necessarie delle malattie quando la loro prevenzione è stata impossibile o inefficace.

7.2 - Declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età

Come già detto nel *Capitolo 1 - Introduzione*, l'invecchiamento è meglio descritto in termini oggettivi come "una diminuzione dell'aspettativa di vita con l'aumentare dell'età" [Comfort 1979, p. 7], o "aumento della mortalità con aumento dell'età cronologica in condizioni naturali" [Libertini 1988], o "aumento della mortalità con l'età ... senescenza attuariale" [Nussey et al. 2013]. In breve, l'invecchiamento significa declino della capacità di sopravvivenza correlata all'età, dove il concetto di capacità di sopravvivenza (*fitness*), da intendersi come fitness darwiniana e distinto da quello di forma fisica utilizzato nelle palestre, indica la probabilità di sopravvivenza di un individuo in condizioni naturali.

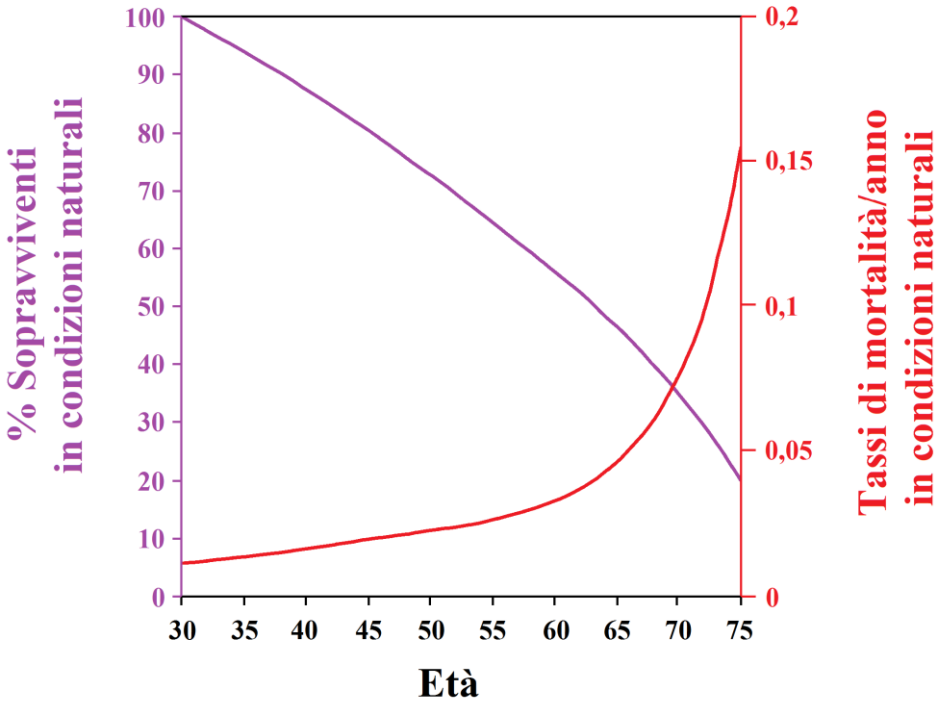


Figura 7.1 - Considerando solo i sopravvissuti all'età di 30 anni, declino legato all'età della proporzione di individui sopravvissuti e aumento del tasso di mortalità in una popolazione umana in condizioni naturali (Ache del Paraguay) [Hill e Hurtado 1996].

Tabella 7.1 - Cause di morte per il popolo Ache nel periodo della foresta (condizioni naturali). Dati da [Hill e Hurtado 1996]. Le cause di morte per violenza e incidenti per le quali una ridotta capacità di sopravvivenza potrebbero essere un fattore importante sono evidenziate in grigio.

Nei bambini fra 0 e 3 anni

Cause (omesse)	
Totale:	131 (100%)

Nei bambini fra 4 e 14 anni

Cause (omesse)	
Totale:	99 (100%)

Negli adulti fra i 15 e i 59 anni

Violenza e incidenti	
Seppelliti vivi	1
Abbandonati	1
Lotta con bastoni	6
Omicidio, uccisi da Ache	3
Uccisi dai Paraguayani	46
Catturati dai Paraguayani	1
Morso di un serpente	15
Mangiati da un giaguaro	8
Colpiti da un fulmine	3
Caduti da un albero/colpiti da un albero cadente	2
Dispersi	1
Totale:	87 (69,05%)
Infezioni/Intossicazioni	
Febbre dopo mangiato larve di *pichu*	8
Febbre dopo mangiato larve di *kracho*	5
Febbre dopo mangiato miele	6
Febbre dopo mangiato amido di palma/cereali	2
Malaria	2
Febbre dopo aver toccato sangue	3
Infezione della pelle/piaghe sul collo	2
Corpo rigonfio/infezione sistemica	3
Totale:	31 (24,60%)
Altre cause	
Parto	3
Problemi di stomaco	1
Problemi di fegato	1
Malati nei polmoni	1
Malati (non specificato)	1
Vecchiaia	1
Totale:	8 (6,35%)
Totale:	126 (100%)

Negli adulti da 60 anni in poi

Violenza e incidenti	
Seppelliti vivi	1
Abbandonati	2
Lotta con bastoni	2
Uccisi dai Paraguayani	4
Mangiati da un giaguaro	1
Morso di un serpente	3
Dispersi	3
Totale:	16 (59,26%)
Altre cause	
Diarrea	3
Malati (non specificato)	2
Vecchiaia	6
Totale:	11 (40,74%)
Totale:	27 (100%)

Numero complessivo di morti

Età 0-3 anni	131 (34,20%)
Età 4-14 anni	99 (25,85%)
Età 15-59 anni	126 (32,90)
Età 60+ anni	27 (7,05%)
Totale:	383 (100%)

Lo studio corretto del declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età, per definizione, comporta lo studio del numero decrescente di sopravvissuti correlato all'età, e quindi delle crescenti morti, in una popolazione in condizioni naturali.

Uno studio di questo tipo è molto difficile per la nostra specie, per la quale le popolazioni che vivono in condizioni primitive sono ormai poche e difficili da contattare e studiare senza cambiare fortemente i loro tassi di mortalità, ad esempio introducendo infezioni a cui la popolazione è non adattata e che comportano epidemie estese e mortali. Il miglior studio di una popolazione umana in condizioni naturali è stato ed è quello del popolo Ache del Paraguay [Hill e Hurtado 1996].

Questo studio offrì le curve di sopravvivenza e di mortalità dell'intera popolazione, da cui è possibile estrapolare i dati sui sopravvissuti a qualsiasi età e analizzare le loro curve rielaborate di sopravvivenza e mortalità. Ciò consente anche la distinzione delle prime età della vita soggette a una maggiore mortalità non dipendente dall'invecchiamento e del periodo successivo con mortalità

costante e relativamente bassa, focalizzando così l'attenzione sulle fasi successive della vita caratterizzate da una mortalità che cresce progressivamente in relazione fino all'età. Questi dati estrapolati sono illustrati nella Fig. 7.1. Essi non forniscono informazioni sui meccanismi dell'invecchiamento ma ci mostrano solo gli effetti di questi meccanismi sulla sopravvivenza e sulla mortalità. Va notato che in base alle cause di morte registrate per la popolazione di Ache in condizioni naturali (si veda la Tabella 7.1), le cause comuni di morte in condizioni moderne derivanti da malattie come ipertensione, diabete, dislipidemia, infarti, cancro, etc., appaiono assenti, o almeno molto rare, in condizioni naturali. Al contrario, la maggior parte delle morti è dovuta a cause traumatiche per le quali esiste una verosimile riduzione correlata all'età della capacità di contrastarle (lotta con altri individui della stessa gente o di altri popoli, lotta con gli animali o fuga per allontanarsi da loro, etc.).
Nelle moderne condizioni di vita, che sono certamente molto diverse da quelle a cui la nostra specie è adattata, vi sono molti nuovi fattori che causano malattie e morte e, al contrario, vi è anche una maggiore protezione dalle cause di morte che sono comuni in condizioni naturali. Pertanto, sembra difficile o impossibile valutare il declino della capacità di sopravvivenza in una popolazione moderna. Tuttavia, è possibile valutare con notevole facilità il declino correlato all'età dell'efficienza complessiva delle capacità fisiche e neurologiche. Infatti, se esaminiamo le massime prestazioni atletiche per ogni fascia d'età di soggetti sani, è possibile avere un'idea precisa del declino delle condizioni fisiche e neuromotorie in una popolazione moderna e verificare se sono correlate con la sopravvivenza e la mortalità in condizioni naturali. A tale scopo, può essere sufficiente esaminare i record mondiali di vari sport divisi per fasce d'età. Ciò è illustrato nella Fig. 7.2 per le gare di corsa e nella Fig. 7.3 per altri tipi di competizione in cui la forza muscolare è importante. Poiché i record mondiali assoluti sono generalmente raggiunti da soggetti di età inferiore ai 35 anni, vale a dire prima che diventi evidente l'aumento della mortalità, questi record sono elencati indistintamente nella categoria "<35 anni".

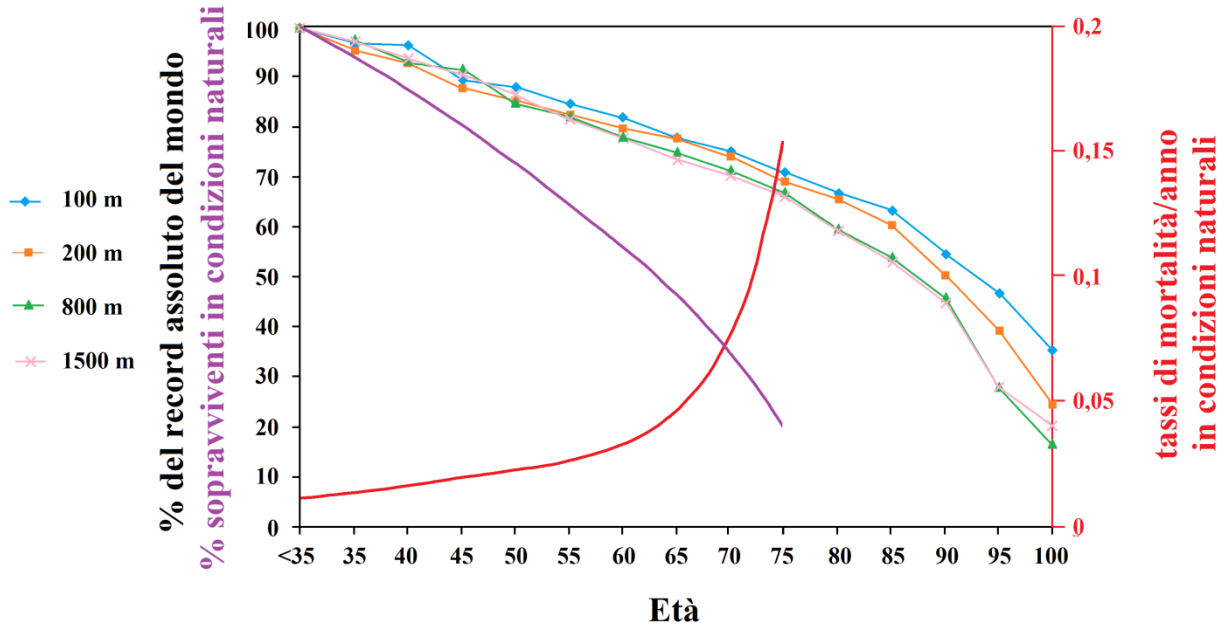


Figura 7.2 - Relazione tra il declino numerico correlato all'età degli individui sopravvissuti e l'aumento dei tassi di mortalità in una popolazione in condizioni naturali (Ache del Paraguay) [Hill e Hurtado 1996] e il declino correlato all'età dei record mondiali per le gare di corsa (fonti dei dati per gli attuali record mondiali nelle varie fasce d'età da [Wikipedia 2018]). Esiste una chiara relazione tra i due gruppi di dati. Tuttavia, il calo percentuale dei record mondiali è correlato a un declino proporzionalmente maggiore della capacità di sopravvivenza, ovvero della fitness darwiniana. Un calo delle prestazioni massime di circa il 30% significa

in condizioni naturali una capacità di sopravvivenza molto ridotta (e nel mondo atletico l'incapacità di vincere una competizione con individui più giovani).

A questi dati si sovrappongono le curve di sopravvivenza e mortalità della popolazione Ache studiata in condizioni naturali (periodo della foresta). La relazione positiva tra il declino della sopravvivenza in condizioni naturali e il declino delle prestazioni atletiche è chiara, e ovviamente c'è una relazione negativa con l'aumento della mortalità.
Le curve non si sovrappongono poiché un certo decremento percentuale nelle prestazioni atletiche corrisponde sempre a una maggiore riduzione della sopravvivenza. Come nelle condizioni moderne non è cruciale il valore assoluto della prestazione ma la capacità di vincere una gara, in condizioni naturali ciò che conta è la capacità di vincere la gara per la sopravvivenza e non il valore assoluto della prestazione.
I dati ci mostrano che un calo di circa il 30% delle prestazioni massime, che si verifica intorno ai 75 anni, corrisponde a una forte riduzione della capacità di sopravvivenza in condizioni naturali (tasso di mortalità di circa il 15%/anno). Al di sopra di questa età, in condizioni protette come oggi, la sopravvivenza è ancora possibile ma lo stato dell'organismo è sempre più compromesso. Pertanto, in questa età superiore ai 75 anni in cui la sopravvivenza è probabile solo in condizioni protette e che può essere definita "età senile", è possibile osservare condizioni e manifestazioni molto alterate di malattie rare o inesistenti in condizioni naturali.

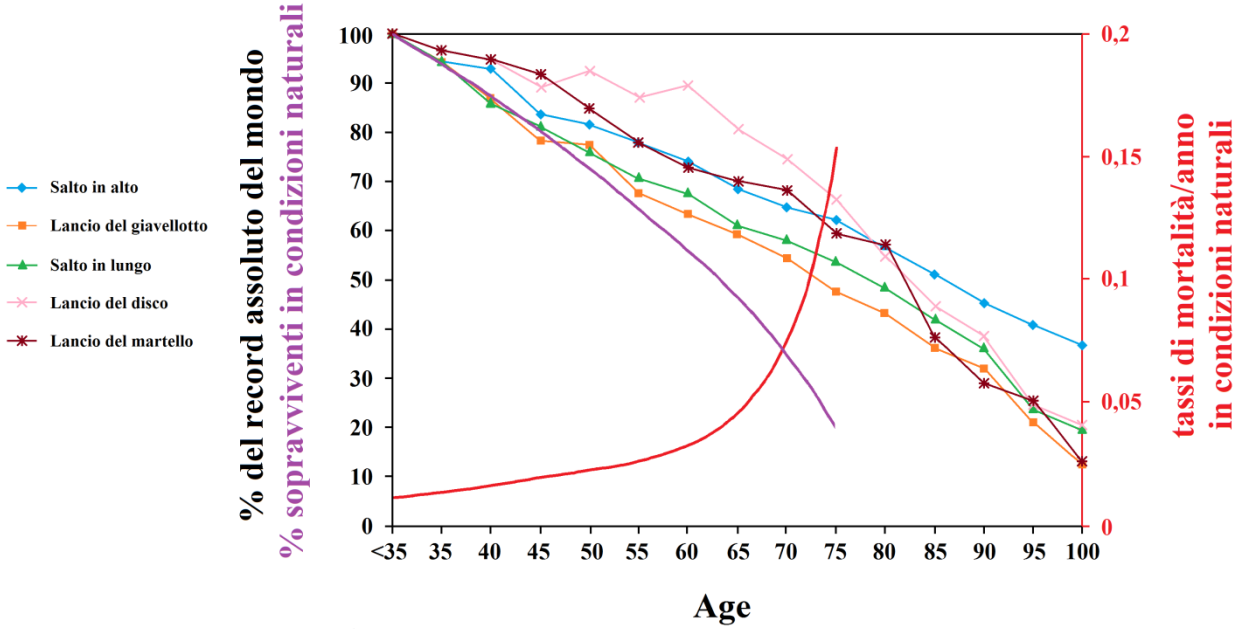


Figura 7.3 - Relazione tra il declino numerico correlato all'età degli individui sopravvissuti e l'aumento dei tassi di mortalità in una popolazione in condizioni naturali (Ache del Paraguay) [Hill e Hurtado 1996] e il declino correlato all'età dei record mondiali per altri tipi di competizioni (fonti dei dati per gli attuali record mondiali nelle varie fasce di età da [Wikipedia 2018]). Anche questi dati mostrano che un calo delle prestazioni massime di circa il 30% significa in condizioni naturali una capacità di sopravvivenza molto ridotta.

7.3 - Malattie dovute ad alterazioni genetiche

In generale, le malattie causate da alterazioni genetiche si manifestano nelle prime fasi della vita. In condizioni naturali, i soggetti con queste malattie soffrono di mortalità precoce e non raggiungono la maturità e la vecchiaia.

La formula 3.6, discussa nel *Capitolo 3 - Medicina evoluzionistica*, indica che la frequenza di equilibrio per l'espressione fenotipica (P_e) di un gene C dannoso, recessivo o dominante, che annulla la capacità riproduttiva è:

$$P_e = n\,(v/[s]) \qquad (3.6)$$

dove v = frequenza media della mutazione da un allele neutro C'; n = numero di mutazioni da C' a C; s = danno causato da C.

Ciò significa che qualsiasi mutazione dannosa avrà un P_e proporzionale a $1/[s]$, che sarà maggiore con valori più piccoli di s, in particolare se il danno causato da C viene espresso in età più tardive quando vi è una minore capacità riproduttiva residua.

Nelle condizioni di vita moderne e con cure adeguate, anche se c'è sempre una maggiore vulnerabilità per i soggetti con mutazioni dannose, è possibile e frequente che essi possano raggiungere l'età anziana. Di conseguenza, le malattie dovute ad alterazioni genetiche, sebbene non siano caratteristiche della vecchiaia, possono benissimo essere presenti e frequenti a quell'età.

Tra le poche malattie genetiche che non si manifestano nelle prime fasi della vita ma in seguito, vi è la malattia di Huntington (o còrea di Huntington), una malattia neurologica determinata dalla morte precoce di certi neuroni e che si manifesta con declino cognitivo, problemi psichiatrici , alterazioni della coordinazione muscolare e movimenti involontari anomali, definiti come còrea, con sintomi che compaiono tra i 30 e i 50 anni [Frank 2014]. Questa malattia ereditaria, con trasmissione autosomica dominante, ha una frequenza di circa 4-15 casi per 100.000 tra gli europei [Dayalu e Albin 2015], che varia notevolmente da un popolo all'altro (ad es. 12,3/100.000 per il Regno Unito [Walker 2007] e 1/100.000 in Islanda [Sveinsson et al. 2012]), mentre in individui di origine asiatica o africana la frequenza è piuttosto bassa [Frank 2014].

La malattia si manifesta dopo l'espressione di parte della capacità riproduttiva e questo spiega la persistenza relativa di una patologia così grave. Questa malattia è un esempio di un'alterazione genetica contro la quale la selezione naturale appare essere indebolita come conseguenza della manifestazione relativamente tardiva dei sintomi.

Secondo la *Mutation accumulation hypothesis*, una delle teorie che vuole spiegare l'invecchiamento come un fenomeno non adattativo, l'invecchiamento sarebbe l'effetto cumulativo di molteplici alterazioni genetiche che si manifestano in età non giovanile e che sono insufficientemente eliminate dalla selezione naturale a causa delle loro manifestazioni tardive che non compromettono la capacità riproduttiva. Secondo questa teoria, l'invecchiamento sarebbe quindi causato da una lunga serie di alterazioni genetiche simili a quelle che causano la malattia di Huntington. Questa tesi è smentita dal fatto che disturbi come la malattia di Huntington sono un'eccezione. Inoltre, sebbene vi sia una frequenza relativamente elevata tra alcune popolazioni di origine europea, dovuta ad alcuni individui fondatori con una progenie ampia, esiste una bassa frequenza in altre popolazioni, simile a quella tipica delle alterazioni genetiche che determinano mortalità in età più basse. Ciò indica che con un numero sufficiente di generazioni la selezione naturale può ridurre la frequenza della malattia a valori simili a quelli di altre malattie causate da alterazioni genetiche.

7.4 - Malattie dovute ad alterazioni genetiche che causano sindromi simili all'invecchiamento

Esistono alcune malattie, o meglio sindromi, causate da mutazioni genetiche dannose, che risultano particolarmente interessanti in quanto mostrano manifestazioni che, in vari gradi e modi, sono simili a quelle dell'invecchiamento fisiologico.

Questi disturbi, definiti "sindromi progeroidi" (PS), sono rari, come tutte le malattie genetiche gravemente dannose, e di norma i soggetti che ne soffrono non raggiungono l'età anziana. Comunque, a causa delle somiglianze con l'invecchiamento degli individui normali, sono oggetto di particolare attenzione scientifica da parte dei gerontologi. Il termine sindrome progeroide non è sinonimo di progeria o, più precisamente, "progeria o sindrome di Hutchinson-Gilford", che è un tipo specifico di PS.

In generale, ogni tipo di PS è causato da varie mutazioni di un singolo gene specifico nelle proteine di riparazione del DNA, ad esempio: (i) elicasi RecQ proteino-simili; (ii) proteine di riparazione dell'escissione dei nucleotidi; e (iii) proteine dell'involucro nucleare (lamine A/C o LMNA) [Navarro et al. 2004]. Poiché ogni tipo di PS può essere causato da vari tipi di mutazioni con diverso danno proteico, le espressioni cliniche per la stessa sindrome in generale sono variabili tra gli individui affetti [Navarro et al. 2004].
Un modo per definire le PS è la loro descrizione come "sindromi progeroidi segmentali", poiché imitano solo una parte (un segmento) delle caratteristiche dell'invecchiamento fisiologico [Martin 1990, 2005; Martin e Oshima 2000]. È probabile che alterazioni genetiche che causino un invecchiamento grave e molto prematuro di tutto l'organismo determinino alterazioni così gravi da causare aborto spontaneo dei feti colpiti e di conseguenza non vengono descritti casi del genere. Tuttavia, è possibile che alterazioni meno gravi possano causare un'accelerazione moderata o meno precoce del processo di invecchiamento e questo potrebbe spiegare possibili casi di invecchiamento precoce in soggetti altrimenti normali con uno stile di vita sano.
Alcuni disturbi, come il morbo di Parkinson familiare e la malattia di Alzheimer familiare, mostrano manifestazioni precoci di alterazioni del sistema nervoso centrale che sono frequenti negli individui più anziani e la regola in quelli molto vecchi. Pertanto possono essere definiti come "sindromi progeroidi unimodali" [Martin 1990, 2005; Martin e Oshima 2000].
Alcune delle PS (discheratosi congenita, sindrome di Werner) mostrano chiare, sebbene parziali, somiglianze con l'invecchiamento fisiologico. Al contrario, altre sindromi (sindrome di Bloom, sindrome di Cockayne, progeria o sindrome di Hutchinson-Gilford, dermopatia restrittiva, sindrome di Rothmund-Thomson, tricotiodistrofia, sindrome di Wiedemann-Rautenstrauch, Xeroderma pigmentoso) mostrano solo alcune caratteristiche dell'invecchiamento fisiologico.
Un elenco di sindromi progeroidi è riportato nella Tabella 7.2.

Tabella 7.2 - Sindromi progeroidi. Le prime due mostrano in misura maggiore sintomi simili a quelli dell'invecchiamento fisiologico e sono tra le più studiate.

Nome	Tipi di trasmissione genetica	Gene(i) affetto(i)	Bibliografia
Discheratosi congenita	forme legate al cromosoma X, autosomiche recessive e dominanti	alterazioni del gene DKC1 o della parte RNA della telomerasi	[Dokal 2000; Vulliamy et al. 2001]
Sindrome di Werner (progeria dell'adulto)	autosomica recessiva	geni di riparazione del DNA	[Martin 1990; Goto et al. 1996; Martin e Oshima 2000]
Sindrome di Bloom (eritema teleangiectasico congenito)	autosomica recessive	RecQ elicasi	[Cunniff et al. 2017]
Sindrome di Cockayne	autosomica recessive	proteina per la riparazione della escissione di nucleotidi	[Nance e Berry 1992; Laugel 2013]
Progeria o sindrome di Hutchinson-Gilford (progeria dell'infanzia)	autosomica dominante	gene LMNA	[Brown 1992; Ullrich e Gordon 2015]
Dermopatia restrittiva (sindrome delle contratture-aderenze cutanee)	autosomica recessiva	gene LMNA	[Navarro et al. 2004]
Sindrome di Rothmund-Thomson	autosomica recessive	gene della RecQL4 elicasi	[Vennos et al. 1992; Larizza et al. 2010]
Tricotiodistrofia	autosomica recessive	geni di riparazione del DNA	[Faghri et al. 2008]
Sindrome di Wiedemann-Rautenstrauch	autosomica recessive	geni di riparazione del DNA?	[Arboleda et al. 2007]
Xeroderma pigmentoso	autosomica recessiva	geni di riparazione del DNA	[Lehmann et al. 2011]

Sebbene tutte queste sindromi siano di grande interesse per gli studi sull'invecchiamento, un'esposizione e una discussione dettagliata per ciascuna di esse sarebbe lunga, complessa e complicherebbe inutilmente la discussione sull'invecchiamento.
Pertanto, è opportuno e utile focalizzare l'attenzione sulle prime due sindromi, la discheratosi congenita [Dokal 2000; Vulliamy et al. 2001] e la sindrome di Werner [Martin 1990; Goto et al. 1996; Martin e Oshima 2000], perché le analogie delle loro manifestazioni con quelle dell'invecchiamento possono fornire indizi importanti per una migliore comprensione dei meccanismi dell'invecchiamento fisiologico [Marciniak e Guarente 2001].

--- Concetti generali

La teoria subtelomerica-telomerica dell'invecchiamento, già descritta nel *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento*, propone come effetto principale dei meccanismi dell'invecchiamento il progressivo declino del turnover cellulare, causato e modulato dal sistema subtelomero-telomero-telomerasi [Fossel 2004; Libertini 2006, 2009a], che, in tutti i tessuti e organi, determina una "sindrome atrofica" progressiva correlata all'età [Libertini 2009a, 2014b] (vedi, in particolare, *Sezione 5.3 - La sindrome atrofica*).
I ritmi del turnover cellulare mostrano una grande variabilità a seconda del tipo di cellula [Richardson et al. 2014]: mentre per "l'epitelio intestinale ... le cellule vengono sostituite ogni 3-6 giorni." [Alberts et al. 2014], "l'intera popolazione cellulare del cuore viene sostituita all'incirca ogni 4,5 anni" [Anversa et al. 2006] come conseguenza del turnover dei miociti, e "... l'osso ... ha un tempo di turnover di circa dieci anni nell'uomo ..." [Alberts et al. 2014] a causa del lento rinnovamento degli osteociti (per altri ritmi di turnover cellulare vedi [Richardson et al. 2014]).
La grande variabilità dei ritmi del turnover cellulare richiede certamente una diversa modulazione dei meccanismi che consentono e frenano la riproduzione delle cellule staminali per ogni tipo di cellula. Tra le altre cose, appare necessario che la telomerasi debba essere piuttosto attiva per le cellule staminali in cui vi è un rapido turnover, mentre questo requisito sembra essere molto meno urgente in caso di rinnovo lento. Ciò è importante per le differenze nelle manifestazioni di distinte alterazioni genetiche.
Tuttavia, alcuni eventi immediati a breve termine nello sviluppo dell'organismo possono sembrare contraddittori con tali prime logiche approssimazioni. Ad esempio, nelle prime fasi dell'embriogenesi, con un alto tasso di divisione cellulare, si osserva un progressivo accorciamento dei telomeri [Wang et al. 2017; Entringer et al. 2018]. Questo accorciamento non è compensato dalla telomerasi (sebbene attiva) e potrebbe essere cruciale per alcuni eventi di differenziazione cellulare [Tardat e Dejardin 2018]. L'allungamento dei telomeri è rinviato alla fase successiva dell'embriogenesi quando le rapide divisioni danno luogo alla specializzazione e alla migrazione delle cellule [Tardat e Dejardin 2018; Entringer et al. 2018]. Le stesse tendenze potrebbero essere caratteristiche di molti altri eventi, inclusi processi come la crescita, la maturazione e l'invecchiamento. Di conseguenza, tra l'inizio e la manifestazione di alcuni cambiamenti nell'organismo, potrebbe esserci un lasso di tempo sostanziale. La stessa dipendenza potrebbe essere vera per l'insorgenza di molte malattie, rendendo ancora più complessa la ricerca delle loro cause primarie.

--- Discheratosi congenita (DC)

Le principali manifestazioni cliniche della DC sono l'insufficienza del midollo osseo, l'alopecia, la distrofia ungueale, la pigmentazione anormale della pelle, la leucoplachia, i disturbi intestinali e una maggiore incidenza di cancro [Dokal 2000; Marciniak e Guarente 2001].
Riguardo alle origini genetiche della DC, la sindrome si manifesta principalmente in due forme: (i) autosomica, che può essere dominante o recessiva [Dokal 2000] ed è caratterizzata da difetti del gene che codifica la parte RNA della telomerasi [Vulliamy et al. 2001]; e (ii) legata al cromosoma X, che è causata da mutazioni nel gene che codifica per la proteina discherina [Mitchell et al. 1999]. In entrambe le forme di DC, vi è una bassa attività della telomerasi e quindi i telomeri sono più corti

del normale [Mitchell et al. 1999]. Come conseguenza della ridotta lunghezza dei telomeri, si ha un'instabilità cromosomica che è un fattore di rischio per il cancro [de Lange e Jacks 1999; Artandi et al. 2000; Artandi 2002], e questo spiegherebbe il più alto tasso di cancro sofferto dai pazienti con DC [Mitchell et al. 1999].
Gli effetti della carenza di telomerasi sono osservati nei tipi di cellule che mostrano un elevato turnover: "I problemi tendono a verificarsi nei tessuti in cui le cellule si moltiplicano rapidamente - pelle, unghie, capelli, intestino e midollo osseo - con la morte che si verifica solitamente a causa del venir meno del midollo osseo. ... Le persone con discheratosi congenita, così come i topi carenti di telomerasi di ultima generazione, soffrono anche di un più alto tasso di cancro. Questo può anche essere spiegato dalla mancanza di telomerasi, che provoca cromosomi instabili - nei malati di discheratosi congenita e nei topi mutanti, molti cromosomi si fondono da un capo all'altro, probabilmente perché i loro telomeri sono stati erosi nella parte terminale (discusso in [de Lange e Jacks 1999])." [Marciniak e Guarente 2001].
È utile sottolineare che, nei pazienti con DC, l'aumento del rischio di cancro in relazione alla carenza di telomerasi è un altro argomento contro l'ipotesi che le restrizioni dell'attività della telomerasi e quindi del turnover cellulare siano una difesa generale contro il cancro [Campisi 1997; Wright e Shay 2005], dove l'invecchiamento viene interpretato come un prezzo terribile che deve essere pagato per contrastare il rischio di cancro [Campisi 2000]. Questa ipotesi, che è insostenibile per vari forti motivi [Libertini 2009a; Mitteldorf 2013; Libertini e Ferrara 2016b], è stato proposta per fornire una spiegazione evoluzionistica indispensabile per meccanismi geneticamente determinati e regolati che riducono progressivamente la capacità di sopravvivenza, cioè causano l'invecchiamento, e sono incompatibili con l'ipotesi dell'invecchiamento non adattativo.
Nei pazienti con DC, in netto contrasto con le forti alterazioni osservate per le cellule con elevato turnover, non vi è alcuna alterazione per le cellule senza espressione di telomerasi e basso turnover [Marciniak e Guarente 2001].

Figura 7.4 – Un soggetto affetto da sindrome di Werner (a sinistra all'età di 15 anni; a destra all'età di 48) (dalla pagina https://www.tes.com/lessons/e66FXJNQNk8Lww/werner-syndrome; consultata il 26 ottobre 2019).

--- Sindrome di Werner o progeria dell'adulto (WS)
In questa sindrome (v. Figg. 7.4 e 7.5), che è causata da alterazioni di un componente della famiglia RecQ delle elicasi [Yu et al. 1996], le cellule soffrono di alti tassi di mutazione somatica, in molti casi delezioni [Fukuchi et al. 1989], una ridotta capacità di replicazione [Martin et al. 1970], e quindi una disfunzione delle cellule somatiche che si trovano nello stato ciclico [Yu et al. 1996].
Le manifestazioni cliniche della WS sono [Martin e Oshima 2000]:
- nessuna crescita 'di recupero' e una statura ridotta;
- atrofia della pelle;

- atrofia regionale del tessuto sottocutaneo e ulcerazioni attorno ai malleoli e ai tendini di Achille;
- ingrigimento precoce e diradamento dei capelli;
- cambiamenti della voce (debole, acuta);
- ridotta fertilità (dalla terza decade) con atrofia testicolare prematura (dalla mezza età) e una probabile perdita accelerata dei follicoli ovarici primordiali;
- cataratta (dall'inizio del quarto decennio);
- osteoporosi. Tuttavia: "... la distribuzione dell'osteoporosi è insolita; le ossa lunghe degli arti inferiori possono essere maggiormente colpite rispetto a quelle della colonna vertebrale. Altre insolite caratteristiche radiologiche comprendono una caratteristica osteosclerosi delle falangi distali e la calcificazione sottocutanea dei tessuti molli. Le ulcerazioni sopra menzionate sono anche insolite e possono coinvolgere la pelle intorno ai gomiti e alle caviglie." [Martin e Oshima 2000];
- diabete mellito di tipo 2;
- atrofia muscolare scheletrica;
- vari tipi di neoplasie benigne e maligne. Tuttavia, mentre il rapporto tra sarcomi e carcinomi nella popolazione in età avanzata è di 1:10, nei pazienti con WS è 1:1 [Goto et al. 1996]. Le origini provengono principalmente da cellule mesenchimali più, almeno in soggetti giapponesi, alcuni altri organi come la tiroide [Martin e Oshima 2000];
- arteriosclerosi, arteriolosclerosi e aterosclerosi;
- morte solitamente dovuta a infarto del miocardio o cancro [Martin e Oshima 2000];
- "... nessuna prova convincente di senescenza prematura nel sistema nervoso centrale (SNC)" [Martin e Oshima 2000].

Figura 7.5 - Altri due casi di sindrome di Werner (dalla pagina https://www.tes.com/lessons/e66FXJNQNk8Lww/werner-syndrome; consultata il 26 ottobre 2019).

Tutte le manifestazioni della WS possono essere descritte come conseguenza di una sindrome atrofica per cellule e tessuti con turnover lento, causata da alterazioni nella duplicazione del DNA [Martin e Oshima 2000]. In particolare, riguardo a:

- *Cataratta*

  Poiché il nucleo della lente cristallina non ha una cellula completa o autosufficiente, le sue caratteristiche (ad es., trasparenza e flessibilità) dipendono dalle cellule epiteliali delle lenti, un particolare tipo di cellula trofica con turnover [Tassin et al. 1979]. "Molti ricercatori hanno sottolineato le alterazioni post-translazionali delle proteine cristalline di lunga durata come base per la cataratta oculare senile. È evidente nella sindrome di Werner che la cataratta deriva da

alterazioni delle cellule epiteliali del cristallino" [Martin e Oshima 2000]. Questa interpretazione è in accordo con il noto declino correlato all'età della capacità di duplicazione delle cellule epiteliali del cristallino in soggetti umani normali [Tassin et al. 1979];

- *Aterosclerosi e alterazioni correlate*

  "Di maggior interesse, comunque, è l'accoppiamento dell'anomalia in una elicasi RecQ con una grave aterosclerosi. In analogia con le ulcere cutanee osservate nei soggetti Werner, forse è necessaria la normale funzione di elicasi per la riparazione efficace dello stress di taglio emodinamico delle arterie [Gimbrone 1999]. Tale riparazione potrebbe essere a livello della replicazione delle cellule endoteliali" [Martin e Oshima 2000]. Questa interpretazione è analoga a quella proposta per l'aterosclerosi in soggetti non affetti da WS [Gimbrone 1999; Hill et al. 2003];

- *Lesioni del SNC*

  Potrebbero essere secondarie alla patologia vascolare [Martin e Oshima 2000], sebbene potrebbero anche essere causate dall'atrofia della neuroglia [Fossel 2004];

- *Rischio di cancro*

  Una maggiore vulnerabilità al cancro potrebbe essere spiegata dalla brevità dei telomeri e dai conseguenti cromosomi instabili [de Lange e Jacks 1999; Artandi et al. 2000; Artandi 2002] in cellule con turnover lento come quelle di origine mesenchimale;

- *Osteoporosi e alterazioni correlate*

  Nei soggetti WS, le peculiarità dell'osteoporosi e delle ulcerazioni, la calcificazione sottocutanea dei tessuti molli in alcuni punti, l'osteosclerosi delle falangi distali, le discontinuità dell'atrofia sottocutanea potrebbero "... riflettere una risposta insolita a traumi locali ripetuti e lievi" [Martin e Oshima 2000]. Una capacità di riparazione alterata per un lieve trauma locale potrebbe essere dovuta a una capacità di replicazione insufficiente delle cellule di riparazione;

- *Atrofia muscolare*

  "L'atrofia del muscolo scheletrico è almeno in parte dovuta al disuso, ma un coinvolgimento primario di quel tessuto non può ancora essere escluso." [Martin e Oshima 2000]. La seconda ipotesi è più probabile poiché i miociti sono cellule con turnover. Nella distrofia muscolare di Duchenne compaiono manifestazioni cliniche quando le cellule staminali che assicurano il ricambio dei miociti sono esaurite dalla distruzione cronica dei miociti determinata da un difetto genetico [Adams et al. 2001].

- *Diabete mellito di tipo 2*

  In soggetti con abitudini alimentari insalubri e, in misura minore, in soggetti anziani normali, vi è un progressivo declino del turnover delle cellule β del pancreas e questo spiegherebbe l'origine del diabete mellito di tipo 2 in soggetti non anziani e di diabete latente o lieve in soggetti anziani [Bonner-Weir 2000; Cerasi et al. 2000]. Il diabete mellito di tipo 2 nei pazienti con WS è spiegabile come conseguenza del precoce declino delle cellule β del Langherans a causa della compromissione della capacità di duplicazione delle loro cellule staminali;

--- Confronto tra DC e WS

Le differenze cruciali tra DC e WS sono state sapientemente delineate in una rassegna [Marciniak e Guarente 2001] e successivamente sono state discusse nel contesto del paradigma dell'invecchiamento programmato [Libertini 2009a].

La DC è un modello eccellente di disfunzione delle cellule staminali ad alto turnover [Marciniak e Guarente 2001], mentre la WS è un prototipo della disfunzione delle cellule somatiche in stato ciclico [Martin e Oshima 2000].

Nella WS, ci sono alterazioni di cellule e tessuti con turnover lento che causano problemi specifici, ad es.: cellule endoteliali -> arteriosclerosi, arteriolosclerosi e aterosclerosi; cellule β di Langherans -> diabete mellito di tipo 2; cellule epiteliali del cristallino -> cataratta; osteociti -> osteoporosi; vari tipi di cellule del derma -> atrofia della pelle e atrofia regionale del tessuto sottocutaneo [Martin e Oshima 2000].

Mentre alcuni tipi di cellule mostrano un rapido turnover e richiedono l'attività della telomerasi, "alcuni tessuti che hanno la capacità di rinnovo cellulare, ma non sono soggetti a un ricambio cellulare continuo, non esprimono la telomerasi nei loro progenitori cellulari. Sono questi tessuti - come gli strati profondi della pelle o il rivestimento dei vasi sanguigni - che potrebbero essere maggiormente colpiti dall'esaurimento dei telomeri correlato all'età, poiché non hanno alcuna capacità di rigenerare i telomeri. Questi tessuti sarebbero anche fortemente influenzati da difetti in altre vie che preservano i telomeri, come i processi di ricombinazione del DNA. Ciò potrebbe spiegare perché la sindrome di Werner, in cui è interessato un enzima coinvolto nell'elaborazione del DNA, produce una versione più vicina dell'invecchiamento normale (se prematuro) rispetto alla discheratosi congenita. Nelle persone con discheratosi congenita e nei topi con carenza di telomerasi, sono i tessuti che normalmente esprimono la telomerasi per i quali si potrebbe prevedere che soffrano maggiormente per la sua perdita, e questo si rivela essere il caso." [Marciniak e Guarente 2001].
In breve, DC e WS sono due casi modello di progeria segmentaria, ovvero la funzionalità alterata nella fisiologia della duplicazione di solo una parte dei fenotipi cellulari [Fossel 2004]. Ad esempio, per i pazienti con WS non si osserva alcuna associazione con la malattia di Alzheimer, che al contrario è comune negli anziani e la regola in soggetti molto anziani.
Questi fatti sono riassunti nella Tabella 7.3.

Tabella 7.3 - Manifestazioni dell'invecchiamento e delle sue patologie (da [Libertini 2014b], modificata).

Tipo di cellula	**Manifestazioni dell'invecchiamento** [Tallis et al. 1998; Fillit et al. 2017]	**"Fattori di rischio" e loro effetti** (si veda la *Sezione 7.7- Malattie causate da discrepanze che accelerano l'invecchiamento fisiologico*)	**Sindrome di Werner** [Martin e Oshima 2000]	**Discheratosi congenita** [Marciniak e Guarente 2001]
Cellule alveolari di tipo II	Enfisema	Fumo, inalazione cronica di sostanze nocive (bronchite cronica, enfisema);		Fibrosi
Midollo osseo	Riduzione di vari tipi di cellule			Declino nella produzione di cellule del sangue
Miociti cardiaci	Insufficienza cardiaca	Miocardite (→ cardiomiopatia dilatativa)		
Cellule endoteliali	Aterosclerosi (→ infarto del miocardio e altri problemi vascolari)	Fumo, ipertensione, dislipidemia, diabete, abuso di alcol (→ aterosclerosi)	Aterosclerosi, arteriolosclerosi e aterosclerosi, infarto del miocardio	
Cellule dell'epidermide e del derma	Atrofia cutanea		Atrofia cutanea, atrofia regionale del tessuto sottocutaneo, ulcerazioni in parti esposte a traumi	Pigmentazione anormale, distrofia delle unghie
Cellule glomerulari	Insufficienza renale	Lo stesso come per le cellule endoteliali (→ insufficienza renale)		
Capelli	Calvizie progressiva		Capelli che ingrigiscono e si assottigliano prematuramente	Alopecia
Epatociti	Atrofia epatica	Epatite cronica, alcolismo (→ cirrosi)		Cirrosi, carcinoma epatico
Cellule intestinali	Atrofia intestinale			Disordini dell'intestino
Cellule epiteliali del cristallino	Cataratta	Esposizione dell'occhio a radiazioni (→ cataratta)	Cataratta	
Cellule della	Malattia di Alzheimer	Lo stesso come per le cellule		

microglia	(AD)	endoteliali (→ AD)		
Miociti	Atrofia muscolare	Difetti genetici specifici (→ distrofie muscolari)	Atrofia muscolare	
Cavità orale	Atrofia della mucosa			Leucoplachia (lesioni orali precancerose)
Osteoblasti	Osteoporosi		Osteoporosi	
Cellule β pancreatiche	Diabete latente o mite	Alimentazione insalubre (→ diabete mellito di tipo 2)	Diabete mellito di tipo 2	
Cellule dell'epitelio pigmentato della retina	Degenerazione maculare correlata all'età (AMD)	Lo stesso come per le cellule endoteliali (→ AMD)		
Testicoli e ovaie	Fertilità ridotta, atrofia testicolare		Fertilità ridotta, atrofia testicolare prematura, probabilmente accelerata perdita di follicoli ovarici primordiali	Ipogonadismo

7.5 - Malattie derivanti da "estremi" della nicchia ecologica e da relazioni con altri esseri viventi

In ogni periodo della vita vi sono casi di malattia o morte correlati a: (i) traumi; ustioni; annegamenti e asfissia; etc., che possono essere definiti come condizioni estreme della nicchia ecologica a cui l'organismo non è adattato ("III - Malattie derivanti da 'estremi' della nicchia ecologica"); e (ii) infezioni, infestazioni o danni causati da rapporti con altri esseri viventi ("IV - Malattie derivanti da rapporti con altri esseri viventi").

Per gli individui più anziani, questi casi, rispetto alla loro insorgenza in età giovane e matura, sono caratterizzati dalla maggiore vulnerabilità a incorrere in tali eventi e dalla minore resistenza al superamento delle loro conseguenze.

Secondo la definizione dell'invecchiamento, con l'aumentare dell'età l'organismo è sempre meno efficiente nelle sue funzioni e sempre meno in grado di evitare eventi dannosi e tollerarne le conseguenze, sebbene la maggiore esperienza, per determinati eventi e fino a un certo punto, possa compensare parzialmente l'efficienza inferiore. In relazione all'età, la prestazione atletica diminuisce così come la capacità di superare un avversario in un combattimento, di sfuggire all'attacco di un animale selvatico, di evitare una caduta rovinosa, etc. L'invecchiamento riduce anche la capacità di resistere a un'infezione o agli effetti di un alimento nocivo o dell'attacco di un animale velenoso. Inoltre, a causa della sua minore efficienza complessiva, l'organismo è meno in grado di limitare e superare gli effetti di un evento dannoso ritornando alle condizioni di efficienza preesistenti.

Una caduta in età avanzata può causare danni, ad esempio fratture, per le quali nelle età precedenti vi è una maggiore resistenza. Un individuo giovane o maturo può facilmente superare un'infezione, mentre la stessa infezione può essere grave o addirittura fatale per le persone anziane il cui organismo ha un'efficienza ridotta.

Quando la funzionalità dell'organismo scende al di sotto di livelli critici, anche lievi incidenti possono causare lesioni gravi, anche mortali. Il caso tipico è la caduta disastrosa di una persona anziana che provoca una frattura del femore. Il grave indebolimento strutturale delle ossa, l'atrofia delle masse muscolari e la ridotta capacità di coordinazione neuromotoria, tutte alterazioni che fanno parte delle manifestazioni dell'invecchiamento, sono certamente la causa determinante dell'evento disastroso e quindi è razionale classificare lo stesso, e altri eventi simili, non nella categoria "III - Malattie derivanti da 'estremi' della nicchia ecologica" ma nella categoria "V - Fenomeni fisiologici che causano disturbi e sofferenze", sottocategoria "(E) Fenoptosi lenta o

invecchiamento". Allo stesso modo, può essere argomentato per un'infezione che non causa danni significativi nei giovani, mentre può determinare una malattia grave e persino la morte negli anziani. Anche in questo caso la classificazione più razionale è quella della categoria V, sottocategoria E.
Ma nasce immediatamente una domanda importante.
Per definizione, l'invecchiamento, ovvero la progressiva riduzione della capacità di sopravvivenza, non è un evento che a una certa età riduce bruscamente tale capacità a valori critici. Al contrario, si manifesta all'inizio con un piccolo e quasi impercettibile declino della capacità di sopravvivenza e poi con un'accelerazione lentamente crescente di questo declino. Nella nostra specie, la riduzione della capacità di sopravvivenza può essere misurata a partire dall'età di trent'anni osservando l'aumento della mortalità, sia in condizioni naturali e - in misura minore - in condizioni di vita moderne, sia del declino delle prestazioni atletiche, così come osservato da Williams molto tempo fa: "Nessuno considererebbe senile un uomo sulla trentina, eppure, secondo i record atletici e le tabelle di sopravvivenza, la senescenza è rampante in questa decade." [Williams 1957]
Quando, nelle fasi iniziali del declino della capacità di sopravvivenza, la riduzione dell'efficienza dell'organismo è minima, il fattore prevalente che determina l'insorgenza di una malattia e la sua gravità è l'intensità dell'evento dannoso e non la compromissione dell'organismo. In epoche successive, quando la riduzione dell'efficienza diventa significativa e tale da compromettere seriamente la capacità di sopravvivere in condizioni naturali, il fattore decisivo è la gravità della compromissione dell'organismo e non l'intensità dell'evento dannoso. Tuttavia, la necessaria distinzione tra i due casi è certamente arbitraria.
Un possibile parametro che potrebbe fungere da divisione arbitraria tra i due casi è l'età in cui, in condizioni naturali, il tasso di mortalità raggiunge il valore del 15%/anno, che corrisponde a una riduzione delle prestazioni atletiche, misurata dai record mondiali disponibili, del 30 %. Queste condizioni sono raggiunte intorno ai 75 anni [Hill e Hurtado 1996; Wikipedia 2018], con l'ovvia variabilità individuale che è caratteristica di tutti i fenomeni biologici.
Oltre a questo parametro, è necessario considerare anche il tipo e le circostanze dell'evento dannoso. Ad esempio, nel caso di un incidente grave e imprevedibile che è certamente dannoso a qualsiasi età e in cui l'efficienza della reazione individuale è trascurabile, è razionale attribuire la patologia alla categoria III anche per le persone anziane. Al contrario, per problemi o decessi determinati da eventi dannosi che sono facilmente evitabili o che non causano danni significativi in giovane età e, al contrario, in età avanzata, sono frequenti per la vulnerabilità dei soggetti e causano danni significativi o morte, essi dovrebbero essere classificati nella categoria V, sottocategoria E (ovvero invecchiamento).

7.6 - Malattie causate da discrepanze

Nel *Capitolo 3 - Medicina evoluzionistica*, in particolare nella *Sezione 3.4 - Il concetto di discrepanza nella medicina evoluzionistica*, il concetto di malattia causata da discrepanza è stato esposto e discusso. Questo tipo di malattia è una conseguenza di una corrispondenza inadeguata (discrepanza) tra le condizioni di vita a cui una specie è adattata e nuove condizioni di vita (stile di vita, alimentazione, condizioni di lavoro, etc.). Nella *Sezione 3.5 - Malattie causate da discrepanze*, sono state discusse le malattie causate da discrepanze e, in particolare, nella Tabella 3.1 viene riportato un elenco di alcune delle malattie causate da condizioni di discrepanza. Nella *Sezione 3.8 - I disturbi immunologici nell'interpretazione della medicina evoluzionistica*, il tema dei disturbi del sistema immunitario (malattie allergiche e malattie autoimmuni) è stato discusso come conseguenza di particolari condizioni di discrepanza che portano a alterazioni rovinose del microbioma dell'organismo e all'eradicazione dei parassiti, eventi che causano numerose e spesso gravi malattie.
Certamente molte malattie, anche gravi, invalidanti o mortali, si originano da condizioni di discrepanza. Possono verificarsi in età presenile o senile ma anche quando si verificano in età presenile spesso si protraggono e peggiorano in età avanzata, diventando, in condizioni moderne,

l'onere prevalente di quell'età. Ad esempio, il diabete mellito di tipo 2, che proviene da forme insalubri di alimentazione moderna a cui la nostra specie non è adattata, si manifesta spesso in età presenile ma nel tempo porta a gravi complicazioni (ad es., derivanti da alterazioni della circolazione arteriosa di cuore, cervello e altri organi) che diventano comuni nella vecchiaia.
In condizioni naturali, la maggior parte dei decessi negli adulti, come risulta dai dati dello studio del popolo Ache [Hill e Hurtado 1996], è dovuta a "Violenza e incidenti" e poi in misura minore a "Infezioni/Intossicazioni" (si veda la Tabella 7.1).
Nelle moderne condizioni di vita, queste cause di morte sono diventate secondarie mentre una serie di discrepanze tra adattamento della specie e nuove condizioni di vita sono diventate in larga parte prevalenti come causa primaria di malattia e morte. La Tabella 7.4 mostra le cause di morte in tutto il mondo nel 2017 secondo i dati dell'OMS [World Ranking Total Deaths 2017].
Estrapolando i dati da questa tabella, la Tabella 7.5 mostra il numero di morti dovute a violenza o incidenti. In condizioni moderne si aggirano intorno al 9% mentre, per il popolo Ache in condizioni naturali, sono circa i due terzi dei decessi dall'età di 15 anni in poi (si veda la Tabella 7.1).
La Tabella 7.6 estrapola il numero di decessi, circa il 42,35%, dovuti a parte delle malattie causate da condizioni di discrepanza, escludendo (i) i casi di cancro; e (ii) altre patologie mal distinguibili da voci più generali. La Tabella 7.7 estrapola i casi di morte dovuti a neoplasie, circa il 15,01%, che sono in gran parte dovuti a condizioni di discrepanza, una forte affermazione che ha la sua prima prova nella minima incidenza di tali patologie nelle popolazioni che vivono in condizioni naturali (si vedano i dati dal popolo Ache). Sommando i valori delle incidenze di mortalità nelle ultime due tabelle abbiamo un'incidenza, stimata per difetto, di circa il 57% della mortalità dovuta a condizioni di discrepanza.

Tabella 7.4 - Cause di morte, numero di decessi e loro incidenza globale secondo i dati dell'OMS [World Ranking Total Deaths 2017].
Codici dei colori:

decessi dovuti a neoplasie (in gran parte causate da condizioni di discrepanza)	decessi dovuti a violenza e incidenti	decessi dovuti a condizioni di discrepanza (parziale)

Malattia	Rango	Morti	%
Malattia coronarica	1	8.727.670	17,17
Ictus	2	6.221.072	12,24
Influenza e polmonite	3	3.177.204	6,25
Malattia dei polmoni	4	3.162.054	6,22
Cancri dei polmoni	5	1.683.893	3,31
Diabete Mellito	6	1.570.100	3,09
Alzheimer/Demenza	7	1.533.855	3,02
Malattie diarroiche	8	1.388.418	2,73
Tubercolosi	9	1.372.855	2,70
Incidenti stradali	10	1.339.206	2,63
Malattia del fegato	11	1.154.240	2,27
Malattia del rene	12	1.121.214	2,21
HIV/AIDS	13	1.059.626	2,08
Basso peso alla nascita	14	1.056.984	2,08
Ipertensione	15	938.129	1,85
Suicidio	16	783.407	1,54
Cancro del fegato	17	777.816	1,53
Cancro del colon-retto	18	767.280	1,51
Cancro dello stomaco	19	749.806	1,47

Malattia	Rango	Morti	%
Cancro della cervice	41	278.318	0,55
Ulcera peptica	42	234.134	0,46
Altre neoplasie	43	207.953	0,41
Cancro della vescica	44	184.183	0,36
Incendi	45	179.766	0,35
Uso di droga	46	167.165	0,33
Cancro dell'ovaia	47	161.421	0,32
Guerra	48	156.238	0,31
Epilessia	49	152.310	0,30
Morbillo	50	139.822	0,28
Alcol	51	128.513	0,25
Morbo di Parkinson	52	127.231	0,25
Cancri della pelle	53	111.444	0,22
Avvelenamenti	54	107.549	0,21
Sifilide	55	92.243	0,18
Malattia della pelle	56	91.172	0,18
Encefalite	57	89.272	0,18
Epatite B	58	86.877	0,17
Cancro dell'utero	59	82.669	0,16

Trauma alla nascita	20	690.870	1,36
Altri incidenti	21	673.501	1,32
Anomalie congenite	22	646.027	1,27
Cadute	23	644.028	1,27
Cancro del seno	24	568.309	1,12
Violenza	25	466.060	0,92
Malaria	26	439.026	0,86
Cancro dell'esofago	27	413.123	0,81
Miocardite	28	411.622	0,81
Disordini endocrini	29	411.242	0,81
Asma	30	382.288	0,75
Annegamenti	31	358.957	0,71
Cancro del pancreas	32	355.709	0,70
Cancro della prostata	33	342.090	0,67
Linfoma	34	341.463	0,67
Malnutrizione	35	330.105	0,65
Cancro del cavo orale	36	315.707	0,62
Meningite	37	314.965	0,62
Cardiopatia reumatica	38	304.792	0,60
Condizioni materne	39	303.269	0,60
Leucemia	40	288.470	0,57

Anemia	60	77.896	0,15
Pertosse	61	66.392	0,13
Tetano	62	63.993	0,13
Artrite reumatoide	63	48.094	0,09
Appendicite	64	45.043	0,09
Dengue	65	34.497	0,07
Schistosomiasi	66	24.058	0,05
Sclerosi multipla	67	22.933	0,05
Leishmaniosi	68	21.123	0,04
Schizofrenia	69	18.562	0,04
Lebbra	70	15.933	0,03
Malattia di Chagas	71	7.553	0,01
Tripanosomiasi	72	5.411	0,01
Malattie del tratto respiratorio superiore	73	4.517	0,01
Otite media	74	3.969	0,01
Epatite C	75	3.185	0,01
Ascaridiasi	76	2.938	0,01
Difterite	77	2.778	0,01
Carenza di iodio	78	2.088	0,00
Condizioni del cavo orale	79	471	0,00
Chlamydia	80	173	0,00
	Totale:	50.836.339	100,6

La valutazione è per difetto perché, tra le altre cose: (i) ci sono malattie autoimmuni di vari organi, anche derivanti da condizioni di discrepanza, che non sono considerate in questa somma poiché sono classificate indistintamente sotto varie voci; e (ii) la larga diffusione e mortalità di varie malattie infettive è dovuta in parte alla forte densità demografica dei tempi moderni che non è bilanciata, in molte parti del mondo, da adeguate misure igieniche. Ciò provoca, in età adulta, una maggiore mortalità per malattie infettive rispetto a un popolo che vive in condizioni primitive (si vedano i dati del popolo Ache).
In breve, nelle popolazioni moderne, la mortalità attribuibile a condizioni di discrepanza è ampiamente prevalente rispetto ad altre cause di malattia e può essere stimata a più di due terzi della mortalità generale.
Ciò vale anche per l'età senile, poiché le discrepanze che spesso causano malattie a partire da età presenili con il passare del tempo continuano a determinare l'insorgenza di nuovi casi, mentre i casi precedenti aggravano.

Tabella 7.5 - Numero di morti dovute a violenza o incidenti.

Malattia	Rango	Morti	%
Incidenti stradali	10	1.339.206	2,63
Suicidio	16	783.407	1,54
Altri incidenti	21	673.501	1,32
Cadute	23	644.028	1,27
Violenza	25	466.060	0,92
Annegamenti	31	358.957	0,71
Incendi	45	179.766	0,35
Guerra	48	156.238	0,31

Totale:	4.601.163	9,05

Tabella 7.6 - Numero di morti dovute a una parte delle condizioni di discrepanza, vale a dire con l'esclusione dei casi dovuti a cancro e altre malattie che non possono essere distinte da voci più generali.

Malattia	Rango	Morti	%
Malattia coronarica	1	8.727.670	17,17
Ictus	2	6.221.072	12,24
Malattia dei polmoni	4	3.162.054	6,22
Diabete mellito	6	1.570.100	3,09
Ipertensione	15	938.129	1,85
Asma	30	382.288	0,75
Ulcera peptica	42	234.134	0,46
Uso di droga	46	167.165	0,33
Alcol	51	128.513	0,25
Artrite reumatoide	63	48.094	0,09
Appendicite	64	45.043	0,09
Sclerosi multipla	67	22.933	0,05
	Totale:	21.647.195	42,35

Questi concetti sono importanti perché molte delle malattie e dei casi di morte in età avanzata non fanno parte del processo fisiologico dell'invecchiamento, ma sono la conseguenza di discrepanze tra adattamento della specie e nuove condizioni di vita, troppo spesso non salutari.
È comune che una persona anziana soffra e muoia per ipertensione, diabete mellito, alterazioni della circolazione arteriosa di vari organi, vari tipi di cancro, etc. e di solito consideriamo queste malattie, attualmente le principali cause di morte, come intrinseche e strettamente associate all'invecchiamento. Tuttavia, i dati derivanti dallo studio delle popolazioni primitive indicano che queste malattie sono rare o assenti in condizioni naturali, o comunque sono presenti solo nelle rare persone molto anziane esistenti in condizioni naturali.
Un altro concetto è importante e verrà esplorato nella sezione successiva, vale a dire che alcune condizioni di discrepanza causano un'accelerazione generale del processo di invecchiamento che deve essere distinto dall'invecchiamento nei suoi ritmi naturali.

Tabella 7.7 - Numero di morti dovute a neoplasie, che sono in gran parte causate da condizioni di discrepanza.

Malattia	Rango	Morti	%
Cancri dei polmoni	5	1.683.893	3,31
Cancro del fegato	17	777.816	1,53
Cancri del colon-retto	18	767.280	1,51
Cancro dello stomaco	19	749.806	1,47
Cancro del seno	24	568.309	1,12
Cancro dell'esofago	27	413.123	0,81
Cancro del pancreas	32	355.709	0,70
Cancro della prostata	33	342.090	0,67
Linfoma	34	341.463	0,67
Cancro del cavo orale	36	315.707	0,62

Leucemia	40	288.470	0,57
Cancro della cervice	41	278.318	0,55
Altre neoplasie	43	207.953	0,41
Cancro della vescica	44	184.183	0,36
Cancro dell'ovaia	47	161.421	0,32
Cancri della pelle	53	111.444	0,22
Cancro dell'utero	59	82.669	0,16
	Totale:	7.629.654	15,01

7.7 - Malattie causate da discrepanze che accelerano l'invecchiamento fisiologico

Secondo la teoria *subtelomerica-telomerica* dell'invecchiamento del subtelomero-telomero, come spiegato in dettaglio nel *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento*, per azione del sistema subtelomero-telomero-telomerasi, l'invecchiamento è causato da: (i) accumulo di cellule in senescenza cellulare graduale e in senescenza cellulare; e (ii) declino delle capacità di turnover cellulare, che portano progressivamente alla sindrome atrofica di tutti i tessuti e organi.

A riguardo del declino del turnover cellulare, se specifici fattori danneggiano particolari cellule e ne accelerano il turnover in misura critica, queste cellule raggiungono più rapidamente una fase in cui si verifica un rallentamento e quindi l'esaurimento del loro turnover. Ad esempio, l'esposizione eccessiva e prolungata degli occhi alle radiazioni ultraviolette è associata all'inizio precoce della cataratta [Miyashita et al. 2019]. Ciò potrebbe essere una conseguenza del danno cronico e dell'esaurimento delle cellule epiteliali del cristallino in modo simile: (i) a ciò che accade nella sindrome di Werner dove c'è un esaurimento precoce del turnover di queste cellule [Martin e Oshima 2000] e (ii) al declino fisiologico correlato all'età della capacità di turnover delle stesse cellule in soggetti normali, un declino noto da molto tempo [Tassin et al. 1979].

Come vedremo di seguito, ci sono anche alcuni fattori che appaiono causare danni sia nelle cellule endoteliali, con conseguente compromissione della circolazione sanguigna, sia in altri tipi di cellule con conseguenti alterazioni multiple, che possono essere descritte nel complesso come un'accelerazione del fenomeno dell'invecchiamento.

In un lavoro di grande importanza [Hill et al. 2003], nel 2003 è stato dimostrato che le cellule progenitrici endoteliali (EPC), un tipo di cellula che consente il turnover delle cellule endoteliali, mostrano una diminuzione del loro numero correlata con l'età. Inoltre, un'analoga riduzione è stata anche associata a determinati fattori (diabete, ipertensione, fumo, indice di massa corporea, vale a dire sovrappeso e obesità) che erano ben noti come fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. In questo lavoro, gli autori hanno anche sottolineato che il punteggio Framingham del rischio (*Framingham risk score* [Wilson et al. 1987]) e la riduzione delle EPC avevano un uguale valore predittivo per il rischio cardiovascolare. Come ipotesi esplicativa di questi risultati, fu suggerito che i fattori dannosi ad azione cronica, che determinavano un turnover accelerato delle cellule endoteliali, erano la probabile causa del declino delle EPC: "... il danno o la disfunzione endoteliale continui portano a un impoverimento o esaurimento di una presumibile finita riserva di cellule endoteliali progenitrici ... una lesione continua indotta da un fattore di rischio può portare a un esaurimento finale delle cellule endoteliali circolanti" [Hill et al. 2003].

Per gli autori, questo ipotetico meccanismo patogenetico era analogo a quello della distrofia muscolare, in cui la morte precoce delle cellule muscolari era causata da un difetto genetico che portava a un progressivo esaurimento del ricambio di miociti da parte delle cellule staminali muscolari [Webster e Blau 1990; Seale et al. 2001]. Inoltre, altre malattie legate all'età potrebbero essere spiegate con meccanismi simili [Geiger e Van Zant 2002; Tyner et al. 2002].

In lavori recenti [Libertini e Ferrara 2016b; Libertini 2017b, 2019b; Libertini et al. 2019], sono state esplorate le relazioni tra alcuni possibili "fattori di rischio" (diabete, obesità/dislipidemia,

ipertensione, fumo, consumo moderato di alcol, abuso di alcol) e una serie di disfunzioni legate all'età:

--- Esiste una correlazione positiva fra disfunzione endoteliale e ipertensione [Wilson et al. 1987; Hill et al. 2003; Konukoglu e Uzun 2016], diabete [Wilson et al. 1987; Hill et al. 2003; Emanuel et al. 2017; Shi e Vanhoutte 2017], fumo [Wilson et al. 1987; Centers for Disease Control and Prevention 2014; Vlachopoulos et al. 2015], obesità/dislipidemia [Wilson et al. 1987; Hill et al. 2003; Kurozumi et al. 2016] e abuso di alcolici [Cahill e Redmond 2012; Roerecke e Rehm 2014; Gardner e Mouton 2015; de Gaetano et al. 2016; Tanaka et al. 2016; Oda et al. 2017]. Mentre per alcuni studi l'uso moderato di alcol sembra ridurre il rischio di disfunzione endoteliale [Cahill e Redmond 2012; Roerecke e Rehm 2014; Gardner e Mouton 2015; de Gaetano et al. 2016], un altro lavoro non lo conferma [Oda et al. 2017].

--- Il rischio di disfunzione olfattiva è positivamente correlato con ipertensione [Gouveri et al. 2014], diabete [Heckmann et al. 2009; Gouveri et al. 2014; Sanke et al. 2014; Mehdizadeh et al. 2015; Duda-Sobczak et al. 2017], fumo [Vent et al. 2003; Schubert et al. 2012; Ueha et al. 2016a; Ueha et al. 2016b], obesità/dislipidemia [Richardson et al. 2004; Gouveri et al. 2014; Thiebaud et al. 2014; Patel et al. 2015; Duda-Sobczak et al. 2017] e abuso di alcolici [Rupp et al. 2003; Vent et al. 2003; Rupp et al. 2004; Schubert et al. 2011; Sutherland et al. 2013; Brion et al. 2015]. Non sono stati trovati studi specifici sulla correlazione con il consumo moderato di alcol.

--- La degenerazione maculare correlata all'età è in positiva relazione con ipertensione [Klein et al. 2007; Katsi et al. 2015; Shim et al. 2016], diabete [Klein et al. 2007; Ghaem Maralani et al. 2015], fumo [Fraser-Bell et al. 2006; Klein et al. 2007; Klein et al. 2010; Coleman et al. 2010; Mares et al. 2011; Centers for Disease Control and Prevention 2014; Armstrong e Mousavi 2015; Shim et al. 2016], obesità/dislipidemia [Klein et al. 2007; Klein et al. 2010; Mares et al. 2011; Munch et al. 2013; Ghaem Maralani et al. 2015; Zhang et al. 2016] e abuso di alcolici [Fraser-Bell et al. 2006; Klein et al. 2010; Coleman et al. 2010; Adams et al. 2012]. A proposito dell'abuso di alcol, uno studio condotto su una popolazione generale non ha confermato questa relazione [Boekhoorn et al. 2008]. È dibattuta la plausibilità che un uso moderato di alcol riduca il rischio di degenerazione maculare correlata all'età [Fraser-Bell et al. 2006; Armstrong e Mousavi 2015].

--- Incidenza e gravità della malattia di Alzheimer sono aumentate da ipertensione [Gorelick 2004; Qiu et al. 2005b; Vogel et al. 2006; Rosendorff et al. 2007; Campdelacreu 2014; de Oliveira et al. 2016; Michel 2016; Tadic et al. 2016], diabete [Gorelick 2004; Vogel et al. 2006; Rosendorff et al. 2007; Campdelacreu 2014; Michel 2016; Saedi et al. 2016; Zhang et al. 2017], fumo [Gorelick 2004; Rosendorff et al. 2007; Durazzo et al. 2014; Michel 2016], obesità/dislipidemia [Gorelick 2004; Vogel et al. 2006; Rosendorff et al. 2007; Campdelacreu 2014; Wanamaker et al. 2015; Michel 2016; Ricci et al. 2017] e abuso di alcolici [Rosendorff et al. 2007; Campdelacreu 2014; Heymann et al. 2016]. Tuttavia, uno studio ha negato l'effetto negativo dell'abuso di alcol [Ilomaki et al. 2015]. Un uso moderato di alcol sembra ridurre il rischio di malattia di Alzheimer [Vogel et al. 2006; Campdelacreu 2014; Berntsen et al. 2015; Ilomaki et al. 2015; Huang et al. 2016], una relazione che non è stata considerata definita nell'ultimo studio [Huang et al. 2016].

--- La gravità e la frequenza del morbo di Parkinson sono positivamente correlate con ipertensione [Malek et al. 2016], diabete [Hu et al. 2007; Bohnen et al. 2014; Zhang e Tian 2014], obesità/dislipidemia [Abbott et al. 2002; Hu et al. 2006; Zhang e Tian 2014] e abuso di alcol [Eriksson et al. 2013]. Tuttavia, l'ultima relazione è contestata in uno studio [Bettiol et al. 2015], e in un altro lavoro non è stata trovata alcuna correlazione con diabete, obesità/dislipidemia e

ipertensione [Simon et al. 2007]. Il rischio di morbo di Parkinson e la sua evoluzione appaiono essere contrastati dal fumo [De Lau e Breteler 2006; Campdelacreu 2014; Hershey e Perlmutter 2014; Li et al. 2015a] e da un moderato consumo di alcol [Ishihara e Brayne 2005; Campdelacreu 2014].

--- Vi è una relazione positiva tra ipoacusia e ipertensione [Oron et al. 2014; Bener et al. 2016; Lee et al. 2016; Lin et al. 2016; Przewoźny et al. 2016], diabete [Agrawal et al. 2009; Akinpelu et al. 2014; Oron et al. 2014; Calvin e Watley 2015; Bener et al. 2016; Helzner e Contrera 2016; Kim et al. 2017a], fumo [Rosenhall et al. 1993; Cruickshanks et al. 1998; Fransen et al. 2008; Agrawal et al. 2009; Gopinath et al. 2010; Dawes et al. 2014; Oron et al. 2014; Chang et al. 2016a; Lee et al. 2016], obesità/dislipidemia [Fransen et al. 2008; Oron et al. 2014] (correlazione contestata in uno studio [Lee et al. 2016]) e abuso di alcolici [Rosenhall et al. 1993; Verma et al. 2006; Bellé et al. 2007] (relazione non confermata in un altro studio [Dawes et al. 2014]). Un uso moderato di alcol sembra ridurre il rischio di compromissione dell'udito [Fransen et al. 2008; Gopinath et al. 2010; Dawes et al. 2014], ma ciò è negato in un altro studio [Curhan et al. 2011].

--- Incidenza e gravità dell'enfisema e delle malattie correlate sono in relazione positiva con ipertensione [Park et al. 2015], diabete [Song et al. 2010; Martinez e Han 2012], fumo [Martinez e Han 2012; Centers for Disease Control and Prevention 2014; Vij et al. 2018] e abuso di alcolici [Frantz et al. 2014]. In modelli animali, la relazione con un consumo moderato di alcol sembra essere negativa [Balansky et al. 2016]. È stata segnalata una correlazione inversa tra enfisema e obesità/dislipidemia [Martinez e Han 2012; Gu et al. 2015; Park et al. 2015].

--- In modelli animali, l'atrofia cutanea e il diabete appaiono essere correlati positivamente [Hao et al. 2011]. Non sono stati trovati studi specifici sulle possibili relazioni dell'atrofia cutanea con ipertensione, fumo, obesità/dislipidemia e uso moderato o abuso di alcol.

--- Fattori di rischio per l'osteoporosi sono diabete [De Pergola et al. 2016; Palermo et al. 2017; Sözen et al. 2017; Walsh et Vilaca 2017], fumo [Centers for Disease Control and Prevention 2014; Sritara et al. 2015; Sözen et al. 2017], obesità/dislipidemia [De Pergola et al. 2016; Walsh et Vilaca 2017; Sözen et al. 2017], abuso di alcol [Abukhadir et al. 2013; Coulson et al. 2013; Sözen et al. 2017] e ipertensione [Li et al. 2016]. Tuttavia, uno studio ha mostrato una relazione positiva della pressione arteriosa sistolica con i livelli di osteocalcina e la formazione ossea, il che significherebbe una relazione inversa tra ipertensione e osteoporosi [De Pergola et al. 2016]. Un uso moderato di alcol sembra ridurre il rischio di osteoporosi [Sritara et al. 2015].

--- Escludendo la disfunzione olfattiva, frequenza e gravità dell'atrofia di altre cellule neuronali sensoriali con turnover sono positivamente correlate con diabete [Dyck et al. 1993; Devlin e Ferguson 1998; Heckmann et al. 2009; Bajaj et al. 2012; Zeng et al. 2017], fumo [EU-Working Group on Tobacco and Oral Health 2000; Reibel 2003] e abuso di alcolici [Koike e Sobue 2006; Maiya e Messing 2014; Brion et al. 2015; Zeng et al. 2017]. Per altre possibili relazioni non è stato trovato alcuno studio specifico.

--- Fattori di rischio per la cataratta sono ipertensione [Gupta et al. 2014], diabete [Gupta et al. 2014; Li et al. 2014A; Sayin et al. 2015; Reitmeir et al. 2017], fumo [Tarwadi e Agte 2011; Centers for Disease Control and Prevention 2014, Gupta et al. 2014, Reitmeir et al. 2017], obesità/dislipidemia [Habot-Wilner e Belkin 2005; Cheung e Wong 2007] e abuso di alcol [Tarwadi e Agte 2011; Gupta et al. 2014; Gong et al. 2015]. Sull'ultima relazione, uno studio non ha trovato alcuna correlazione [Li et al. 2014b], e per un altro lavoro vi è una correlazione positiva dubbiosa [Hiratsuka et al. 2009]. Il rischio di cataratta appare essere ridotto dal consumo

moderato di alcol [Li et al. 2014b]. Tuttavia, una meta-analisi conferma come incerta questa relazione [Gong et al. 2015].

--- Per l'atrofia testicolare esiste una correlazione positiva con diabete [Wright et al. 1982], obesità/dislipidemia [Hart et al. 2015; Pinto-Fochi et al. 2016], fumo [Handelsman et al. 1984; Pasqualotto et al. 2004] e abuso di alcolici [Handelsman e Staraj 1985; Villalta et al. 1997; Yamauchi et al. 2001; Pasqualotto et al. 2004; Dinis-Oliveira et al. 2015; Silva et al. 2017]. Non è stata trovata alcuna relazione con un consumo moderato di alcol [Handelsman et al. 1984; Monoski et al. 2002; Hart et al. 2015] e nessuno studio specifico è stato trovato a riguardo di una correlazione con l'ipertensione.

--- L'atrofia muscolare è positivamente correlata con diabete [Leenders et al. 2013; Bianchi e Volpato 2016], fumo [Barreiro et al. 2010; Barreiro 2016], obesità/dislipidemia [Wannamethee e Atkins 2015; Buch et al. 2016] e abuso di alcol [Khayrullin et al. 2016; Souza-Smith et al. 2016]. Non sono stati trovati studi specifici sulle relazioni con ipertensione o uso moderato di alcol.

--- L'insufficienza cardiaca e le malattie connesse appaiono essere positivamente correlate a ipertensione [Himmelmann 1999; Pfeffer 2017; Tomek e Bub 2017], diabete [Masoudi e Inzucchi 2007; Cohen-Solal et al. 2008; Choy et al. 2008; Mytas et al. 2009], fumo [Ambrose e Barua 2004; Leone et al. 2008; Centers for Disease Control and Prevention 2014; Leone 2015; Pletcher e Moran 2017], obesità/dislipidemia [Nikolopoulou e Kadoglou 2012; Bhatheja et al. 2016; Tune et al. 2017] e abuso di alcolici [Spies et al. 2001; Di Castelnuovo et al. 2006; Laurent ed Edwards 2014; Fernández-Solà 2015; Pankuweit 2016], mentre esiste una relazione negativa con un consumo moderato di alcol [Di Castelnuovo et al. 2006; Laurent ed Edwards 2014; Fernández-Solà 2015; Pankuweit 2016].

--- Sebbene esista una relazione tra età e riduzione di vari tipi di cellule ematiche (vedi *Capitolo 6 – L'invecchiamento nella specie umana*), si osserva un aumento della conta delle cellule ematiche in relazione a ipertensione [Nakanishi et al. 2002; Kim et al. 2008; Emamian et al. 2017], diabete [Shim et al. 2006; Kim et al. 2008; Twig et al. 2013], fumo [Fernández et al. 2012, Higuchi et al. 2016], obesità/dislipidemia [Dixon e O'Brien 2006; Kim et al. 2008; Jamshidi e Seif 2017] e abuso di alcol [Ballard 1997; Szabo 1999; Nakanishi et al. 2003]. Tuttavia, in uno studio ci sono stati risultati contraddittori sugli effetti del fumo sulla conta dei globuli rossi [Leifert 2008]. A proposito degli effetti di un consumo moderato di alcol, uno studio ha riportato un aumento [Nakanishi et al. 2003] e un altro un calo [Romeo et al. 2007] della conta dei globuli bianchi.

--- Fattori di rischio per il diabete mellito di tipo 2 e la compromissione della tolleranza al glucosio sono ipertensione [Gress et al. 2000; Mancia et al. 2009; Cheung e Li 2012], fumo [Manson et al. 2000; Carlsson et al. 2004; Centers for Disease Control and Prevention 2014; Kim et al. 2017a], obesità/dislipidemia [He et al. 2009; Hruby et al. 2016; Schofield et al. 2016] e abuso di alcolici [Greenhouse e Lardinois 1996; Cullmann et al. 2012; Kim et al. 2015b]. Tuttavia, l'ultima relazione non è stata trovata in altri studi [Koppes et al. 2005; Rasouli et al. 2013]. Il rischio di diabete mellito di tipo 2 sembra essere ridotto da un uso moderato di alcol [Koppes et al. 2005; Cullmann et al. 2012; Rasouli et al. 2013].

--- Il rischio di atrofia epatica e malattie correlate appare essere in relazione positiva con diabete [El-Serag ed Everhart 2002; Hickman e Macdonald 2007; Garcia-Compean et al. 2009], fumo [El-Zayadi 2006; Centers for Disease Control and Prevention 2014; Carter et al. 2015], obesità/dislipidemia [Suriawinata e Fiel 2004; Garcia-Compean et al. 2009; Niemelä e Alatalo 2010; Horvath et al. 2014; Benedict e Zhang 2017] e abuso di alcolici [Niemelä e Alatalo 2010; Singal e Anand 2013; Ingawale et al. 2014; Rocco et al. 2014; Dinis-Oliveira et al. 2015]. Non

sono stati trovati studi specifici sulle possibili relazioni con ipertensione e consumo moderato di alcol.

--- Fattori di rischio per l'insufficienza renale sono ipertensione [Whelton e Klag 1989; Lea e Nicholas 2002; Tedla et al. 2011; Kazancioğlu 2013], diabete [Lea e Nicholas 2002; Kazancioğlu 2013; Koye et al. 2017], fumo [Orth et al. 1998; Yacoub et al. 2010; Kazancioğlu 2013; Carter et al. 2015], obesità/dislipidemia [Ejerblad et al. 2006; Kazancioğlu 2013; Wickman e Kramer 2013; Kovesdy et al. 2017] e abuso di alcolici [Vamvakas et al. 1998; Perneger et al. 1999; Schaeffner e Ritz 2012; Kazancioğlu 2013]. Un uso moderato di alcol sembra ridurre il rischio [Reynolds et al. 2008; Buja et al. 2011; Schaeffner e Ritz 2012]. Tuttavia, l'effetto negativo dell'abuso di alcol è contestato in un altro lavoro [Cheungpasitporn et al. 2015], come l'effetto positivo di un uso moderato di alcol [Buja et al. 2014].

--- L'atrofia della mucosa orale e delle ghiandole salivari è correlata a diabete [Devlin e Ferguson 1998; Bajaj et al. 2012; Seifi et al. 2014; Lone et al. 2017; Sahay et al. 2017], fumo [Jalayer Naderi et al. 2015; Petrušić et al. 2015] e abuso di alcolici [Feng e Wang 2013; Fernandes et al. 2015]. Tuttavia, per alcuni di questi studi le correlazioni sono controverse [Abu Eid et al. 2012; Seifi et al. 2014; Sahay et al. 2017]. A riguardo di obesità/dislipidemia, ipertensione e uso moderato di alcol, non sono stati trovati studi specifici.

--- Il fumo sembra aumentare il rischio di atrofia intestinale e gastrica [Ma et al. 1999], mentre per gli altri possibili fattori di rischio non è stato trovato nessuno studio specifico.

--- L'alopecia, o calvizie, è correlata a ipertensione [Gatherwright et al. 2012], diabete [Matilainen et al. 2003; Arias-Santiago et al. 2011; Gatherwright et al. 2012], fumo [Su e Chen 2007; Gatherwright et al. 2012; Gatherwright et al. 2013; Fortes et al. 2017], obesità/dislipidemia [Matilainen et al. 2003; Yi et al. 2012; Fortes et al. 2017] e abuso di alcolici [Gatherwright et al. 2013]. Tuttavia, l'astinenza dall'alcol sembra accrescere la caduta dei capelli [Gatherwright et al. 2013], e ciò potrebbe indicare che un uso moderato di alcol riduce il rischio di alopecia, sebbene non siano disponibili studi specifici.

Tabella 7.8 - Correlazioni tra alcune disfunzioni collegate all'età e alcuni "fattori di rischio".

Parte I – Con turnover cellulare delle cellule specifiche								
Disfunzioni nell'anziano		Effetti sul rischio da parte di:						
		Età	Ipertensione	Diabete	Fumo	Obesità/ dislipidemia	Moderato uso di alcol	Abuso di alcol
	Codice	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Disfunzione endoteliale	**A**	+	+	+	+	+	-	+
Disfunzione olfattoria	**B**	+	+	+	+	+	.	+
Insufficienza renale	**C**	+	+	+	+	+	-	+
Atrofia della mucosa orale e delle ghiandole salivari	**D**	+	+?	+	+	.	.	+
Atrofia intestinale e gastrica	**E**	+	.	.	+	.	.	.
Alopecia	**F**	+	+	+	+	+	+?	+
Enfisema e malattie correlate	**G**	+	+	+	+	-	-	+
Atrofia della pelle	**H**	+	.	+	.	.	.	.
Osteoporosi	**I**	+	+	+	+	+	-	+
Atrofia di altre cellule neuronali sensoriali con turnover	**J**	+	.	+	+	.	.	+
Cataratta	**K**	+	+	+	+	+	-	+
Atrofia testicolare	**L**	+	.	+	+	+	/	+
Atrofia muscolare	**M**	+	.	+	+	+	.	+

Insufficienza cardiaca e malattie correlate	**N**	+	+	+	+	+	-	+
Riduzione di vari tipi cellulari ematici	**O**	+	-	-	-	-	?	+
Diabete e compromissione della tolleranza al glucosio	**P**	+	+		+	+	-	+
Atrofia epatica e malattie correlate	**Q**	+	.	+	+	+	.	+

Parte II – Senza turnover cellulare delle cellule specifiche								
Disfunzioni nell'anziano		Effetti sul rischio da parte di:						
		Età	Ipertensione	Diabete	Fumo	Obesità/ dislipidemia	Moderato uso di alcol	Abuso di alcol
	Codice	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Degenerazione maculare correlata all'età	**R**	+	+	+	+	+	-/	+
Malattia di Alzheimer (AD)	**S**	+	+	+	+	+	-	+
Morbo di Parkinson (PD)	**T**	+	+/	+	-	+	-	+
Indebolimento dell'udito	**U**	+	+	+	+	+	-	+

Note: + = aumento del rischio o dell'effetto protettivo; - = riduzione del rischio o dell'effetto protettivo; / = rischio o effetto protettivo inalterato; ? = risultati incerti; . = nessuno studio specifico. La documentazione relativa alle relazioni tra età e singole disfunzioni è stata riportata nel *Capitolo 6 – L'invecchiamento della specie umana*. Per quanto riguarda le altre relazioni, si veda il testo di questo capitolo.

--- Alcune discordanze che richiedono chiarimenti

La tabella 7.8 riassume i risultati degli studi precedentemente riportati. Usando come punti di confronto gli effetti descritti sulle cellule endoteliali dovuti a ipertensione, diabete, fumo, obesità o dislipidemia, consumo moderato di alcol e abuso di alcol, e trascurando le possibili relazioni per le quali mancano o non sono stati trovati studi specifici o vi sono risultati contraddittori, è possibile osservare una notevole corrispondenza con gli effetti manifestati per gli altri organi e disturbi considerati. Tuttavia, ci sono alcune importanti eccezioni, evidenziate con rettangoli colorati nella tabella, che devono essere menzionate e discusse brevemente:

--- (T4) *Morbo di Parkinson (PD) e l'effetto benefico del fumo su di esso*. Se escludiamo il PD, per le altre disfunzioni legate all'età, quando vi sono studi disponibili essi mostrano sempre una correlazione positiva con il fumo. Solo per il PD la relazione è negativa, vale a dire il fumo sembra opporsi ai sintomi e all'evoluzione della malattia. Una probabile spiegazione è il noto effetto della stimolazione della nicotina sui recettori nicotinici dell'acetilcolina [Quik et al. 2009; Quik e Wonnacott 2011; Quik et al. 2015], che è simile alle azioni degli stimolanti dopaminergici usati nel trattamento del PD. Questo effetto farmacologico della nicotina sui sintomi del PD supererebbe ampiamente altre possibili conseguenze nocive sui neuroni determinate dal fumo.

--- (G5) *Relazione inversa tra enfisema e obesità/dislipidemia*. È probabile che le masse di grasso più grandi presenti nei soggetti obesi comprimano i polmoni. In caso di enfisema, questo dovrebbe mascherare la dilatazione polmonare e spiegare la falsa correlazione inversa osservata.

--- (O2-O5) *Relazione positiva della conta dei globuli bianchi (WBC) con ipertensione, diabete, fumo e obesità/dislipidemia e fumo*. Tale relazione positiva potrebbe essere determinata dagli effetti pro-infiammatori di questi fattori di rischio sulla conta dei globuli bianchi. Al contrario, gli effetti anti-infiammatori delle statine provocherebbero la riduzione della WBC [Liao e Laufs 2005; Horiuchi et al. 2010].

--- Interpretazione delle relazioni osservate

Le suddette relazioni tra alcuni "fattori di rischio" e una serie di disfunzioni sono interpretate dalla maggior parte degli studi in termini compatibili con idee largamente diffuse nell'ambito del paradigma dell'invecchiamento non programmato. Queste interpretazioni spiegano le relazioni

sopra descritte secondo vari meccanismi di accumulo di sostanze ossidate, in perfetta coerenza con vecchie teorie sull'invecchiamento non programmato che trascurano completamente qualsiasi idea o evidenza dell'evoluzionismo e la grande massa di lavori sul sistema subtelomero-telomero-telomerasi. Ad esempio, per

- la degenerazione maculare legata all'età: [Woodell e Rohrer 2014; Bringmann et al. 2016; Das 2016; Marazita et al. 2016; Pujol-Lereis et al. 2016];
- la malattia di Alzheimer: [Casserly e Topol 2004; Baglietto-Vargas et al. 2016; Nunez et al. 2016; Platt et al. 2016; Rani et al. 2016; Vicente Miranda et al. 2016; Bharadwaj et al. 2017; Martin-Jiménez et al. 2017; Pugazhenthi 2017];
- l'insufficienza e la malattia cardiaca: [Zeng et al. 2015];
- il diabete mellito e la compromissione della tolleranza al glucosio: [Scheen 2005];
- l'enfisema: [Yun et al. 2017];
- la disfunzione endoteliale: [Walter et al. 2002; Chłopicki e Gryglewski 2005; Soliman et al. 2014; Wang et al. 2014; Camici et al. 2015; Li et al. 2015b; Do 2015; Anderson et al. 2016; Flavahan et al. 2016; Nemecz et al. 2016; Mirra et al. 2017; Schinzari et al. 2017];
- la compromissione dell'udito: [Han et al. 2016];
- la disfunzione olfattiva: [Sutherland et al. 2013; Ueha et al. 2016a; Ueha et al. 2016b];
- l'osteoporosi: [Yan et al. 2011; Sung et al. 2015; Gibon et al. 2016; Liu et al. 2016; Veldurthy et al. 2016];
- l'atrofia muscolare: [Phillips et al. 1992; Carmeli e Reznick 1994; Goodman et al. 2015; Perkisas e Vandewoude 2016; Perry et al. 2016];

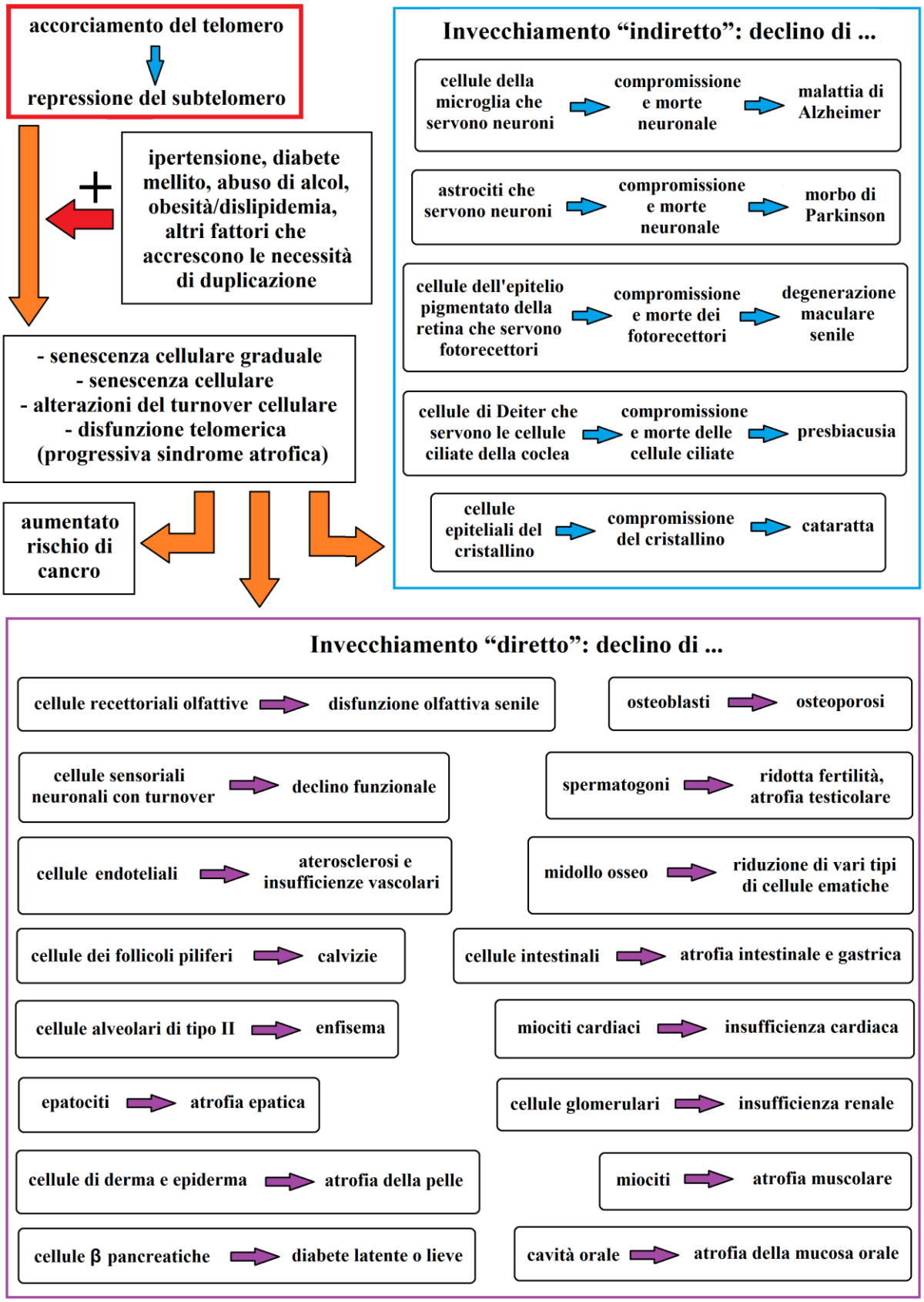


Figura 7.6 - Schema di come il sistema subtelomero-telomero-telomerasi determina l'invecchiamento dell'intero organismo attraverso l'invecchiamento "diretto" o "indiretto" dei vari tipi di cellule e dei tessuti o organi di cui fanno parte [Libertini 2017b; Libertini et al. 2018].

- il morbo di Parkinson: [Lopez-Real et al. 2005; Sonsalla et al. 2013; Muñoz et al. 2014; Santiago e Potashkin 2014; Spielman et al. 2014; Sari e Khalil 2015; Martin-Jiménez et al. 2017].

Al contrario, in accordo con il paradigma dell'invecchiamento programmato, una minoranza di studi spiega le suddette relazioni come conseguenze dell'accorciamento dei telomeri. Ad esempio, per

- la malattia di Alzheimer: [Forero et al. 2016];
- la disfunzione endoteliale: [Li et al. 2017b],
- la compromissione dell'udito: [Falah et al. 2016];
- l'enfisema: [Birch et al. 2015];
- l'atrofia intestinale e gastrica: [Lee et al. 1998; Ma et al. 1999; Hao et al. 2005; Armanios et al. 2009; Jonassaint et al. 2013].

L'interpretazione della teoria dei subtelomero-telomero è riassunta nella Fig. 7.6. In assenza di discrepanze e altre condizioni che causano malattie, il sistema subtelomero-telomero-telomerasi, attraverso i meccanismi correlati all'età già esposti, determina: (i) un progressivo aumento delle cellule in senescenza cellulare graduale; e (ii) un progressivo declino del tasso di turnover cellulare.

Questi fenomeni provocano una sindrome atrofica in tutti gli organi e tessuti che è possibile distinguere tra invecchiamento "diretto" e "indiretto", a seconda che le cellule principali siano soggette o meno al turnover [Libertini 2017b; Libertini et al. 2018]. La sindrome atrofica, a seconda degli organi e delle funzioni interessate, si manifesta in vari modi che non sono affatto distinte "malattie" ma solo diverse manifestazioni dello stesso fenomeno unitario.
Tra le manifestazioni dell'invecchiamento "diretto" abbiamo: disfunzione olfattiva legata all'età, aterosclerosi e insufficienze vascolari, atrofia della mucosa orale, calvizie, insufficienza cardiaca, enfisema, atrofia epatica, atrofia intestinale e gastrica, diabete latente o lieve, atrofia muscolare, osteoporosi, riduzione di vari tipi di cellule ematiche, insufficienza renale, atrofia cutanea, atrofia testicolare e ridotta fertilità, e declino funzionale delle cellule neuronali sensoriali con turnover.
Tra le manifestazioni dell'invecchiamento "indiretto" abbiamo: degenerazione maculare legata all'età, malattia di Alzheimer, morbo di Parkinson, presbiacusia e cataratta.

7.8 - Importanza dell'invecchiamento fisiologico

Gli individui che raggiungono una certa età senza soffrire per malattie causate da alterazioni genetiche, discrepanze, traumi, etc., e che potremmo chiamare persone anziane "sane", costituiscono un manuale vivente delle progressive alterazioni causate dall'invecchiamento. Queste alterazioni sono state descritte nel *Capitolo 6 - Invecchiamento nella specie umana* e, in sintesi, possono essere definite come una sindrome atrofica progressiva di tutti gli organi e tessuti.
Il declino e le alterazioni delle funzioni del corpo, prima di determinare una completa incapacità a vivere, causano una progressiva riduzione della capacità di sopravvivenza, cioè la capacità di resistere e sopravvivere a eventi di qualsiasi tipo.
Il concetto di invecchiamento come fenomeno graduale, che parte da riduzioni minime della capacità di sopravvivenza e viene progressivamente amplificato fino a una riduzione critica della capacità di sopravvivenza incompatibile con la vita, è una potenziale fonte di due equivoci o deduzioni errate:

- (1) *Esistenza o inesistenza dell'invecchiamento in condizioni naturali*
  Per definizione, un individuo con una capacità di sopravvivenza molto ridotta non è in grado di sopravvivere e quindi non esiste in condizioni naturali. È già stato sottolineato che è essenziale evitare l'errore di confondere il processo di invecchiamento con le manifestazioni estreme di tale processo, vale a dire la "... confusione del processo di senescenza con lo stato di senilità" [Williams 1957]. Come risultato di questo errore, si proclama che l'invecchiamento non esiste in condizioni naturali e quindi non può essere influenzato dalla selezione naturale [Medawar 1952;

Rose 1991; Hayflick 2000; Kirkwood e Austad 2000]. Al contrario, il progressivo declino della capacità di sopravvivenza è ben documentato in condizioni naturali [Libertini 1988; Finch 1990; Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013] e, di conseguenza, il processo di invecchiamento opera in soggetti esistenti in tali condizioni, ovviamente prima che raggiungano valori della capacità di sopravvivenza criticamente bassi.

- (2) *Piccolo o grande peso dell'invecchiamento nella sofferenza degli individui*

  Nella *Sezione 7.1 - Classificazione evoluzionistica dei disturbi degli anziani*, è stato osservato che paradossalmente l'invecchiamento non è considerato né esiste tra le cause ufficiali di morte. Per ovviare a questa assurdità, nella stessa sezione, è stato proposto, ai fini statistici, di considerare l'invecchiamento come principale causa di morte per coloro che sono esenti da altre malattie e muoiono a età quando, in natura, la mortalità raggiunge e supera valore del 15%/anno e, in condizioni moderne, il calo delle prestazioni atletiche è di circa il 30%. Questa definizione, che è chiaramente arbitraria per i limiti proposti ma che può essere utile ai fini statistici, è diversa da una corretta definizione biologica e può essere fonte di incomprensioni.

  È necessario considerare innanzitutto che nella definizione statistica della causa di morte vi è l'obbligo di considerare un'unica causa principale di morte e di ignorare altri fattori che contribuiscono alla morte in vario grado. L'invecchiamento è un progressivo declino delle funzioni dell'organismo che si manifesta attraverso una progressiva riduzione della capacità di sopravvivenza, cioè della fitness, e questo non è affatto descritto con fedeltà definendo una causa principale di morte. Ad esempio, quando si combatte con un antagonista (un animale selvatico/un altro individuo/un'infezione batterica/etc.), se la capacità di sopravvivenza fisica è ottimale, c'è la massima possibilità di vincere e non soccombere. Con il progressivo declino della capacità di sopravvivenza questa probabilità diminuisce fino a raggiungere un valore zero. Nel definire la principale causa di morte siamo costretti a fare una scelta: se la capacità di sopravvivenza è alta (o comunque al di sopra di un valore definito arbitrariamente) classificheremo la *noxa* patogena come causa di morte; al contrario, se la capacità di sopravvivenza è al di sotto di un livello critico stabilito arbitrariamente, classificheremo il declino della capacità di sopravvivenza, ovvero l'invecchiamento, come causa della morte. Questo approccio ci porta a classificare l'invecchiamento come causa di morte solo per quei casi in cui vi è una forte riduzione della capacità di sopravvivenza. Questo compromesso appare necessario, ai fini delle statistiche sanitarie, e sarebbe di scarsa utilità e molto difficile, ad esempio, classificare come cause di morte il declino della capacità di sopravvivenza per la percentuale x e la *noxa* patogena per la parte rimanente.

--- Il vero peso biologico dell'invecchiamento

In effetti, una migliore valutazione del vero peso biologico dell'invecchiamento non è evidenziata dalla definizione e dalla classificazione delle principali cause di morte, ma dall'analisi delle curve di sopravvivenza.

Come già riportato nella *Sezione 1.3 – L'invecchiamento nell'osservazione naturale*, lo studio di una popolazione umana in condizioni naturali (il popolo Ache del Paraguay) ha mostrato una durata media della vita (ML) di 38,8 anni [Hill e Hurtado 1996].

La tabella di sopravvivenza, dopo i primi periodi di vita caratterizzati da una maggiore mortalità, raggiungeva il suo tasso di mortalità minima (circa 0,858%/anno) a 20 anni e poi aumentava, dapprima lentamente e poi con intensità crescente. Un'ipotetica tabella di sopravvivenza senza questo aumento, dall'età di 20 anni, della mortalità correlata all'età presentava una ipotetica ML (HML) di 87,75 anni, con un rapporto HML/ML di 2,26. In effetti, l'aumento della mortalità correlato all'età dimezzava la ML (vedere Fig. 1.4).

Inoltre, se si consideravano solo le persone sopravvissute all'età di 20 anni, in condizioni naturali la loro ML (ML_{20}) era pari a 58,1 anni (38,1 dopo i 20 anni), mentre senza l'aumento della mortalità correlato all'età la loro ipotetica ML (HML_{20}) sarebbe stata pari a 136,55 anni (116,55 dopo i 20

anni), con un rapporto (HML_{20}-20)/(ML_{20}-20) di 3.059. Ciò indicava che l'aumento della mortalità correlato all'età, cioè l'invecchiamento, riduceva l'aspettativa di vita di circa due terzi nei soggetti sopravvissuti all'età di 20 anni (si veda la Fig. 1.5). In breve, in condizioni naturali, per i sopravvissuti all'età di 20 anni, considerando la combinazione di tutti i decessi e tutte le cause di morte, l'incidenza dell'invecchiamento come causa di morte, in varia misura per singolo caso, era di circa i due terzi.
I valori appena riportati per una popolazione umana in condizioni naturali sono analoghi a quelli trovati per un gruppo di mammiferi in condizioni naturali e descritti nella Tabella 1.1, dove la media per il primo rapporto era di 2,34 mentre la media per il secondo rapporto era di 3,67. Anche in questo caso l'incidenza dei decessi dovuti all'invecchiamento (la proporzione di morti dovute all'invecchiamento, P_s, nella definizione di Ricklefs [Ricklefs 1998]) è pari a più della metà considerando l'intera popolazione e oltre i due terzi considerando solo i sopravvissuti all'età quando la mortalità è minima.
La mortalità minima per il popolo Ache in condizioni naturali (circa 0,858%/anno) è piuttosto elevata rispetto alle condizioni moderne. Le curve 2, 3 e 4 nella Fig. 7.7 e i valori ottenuti riportati in Tabella 7.9 mostrano come cambiano le ipotetiche tabelle di sopravvivenza e i valori precedentemente definiti nei casi in cui la mortalità minima osservata in natura (*death in the wild*, dw) è ridotta rispettivamente a dw/2, dw/3, dw/4.
La curva 5 nella Fig. 7.7 e i valori ottenuti riportati nella Tabella 7.9 considerano il caso di una popolazione moderna (USA 2017), l'aspettativa di vita all'età di 20 anni (cioè la ML_{20}) e l'ipotetica condizione di un tasso di mortalità costante e pari al minimo osservato a 20 anni (0,0944%/anno, circa 1/9 di quello osservato per il popolo Ache in condizioni naturali).

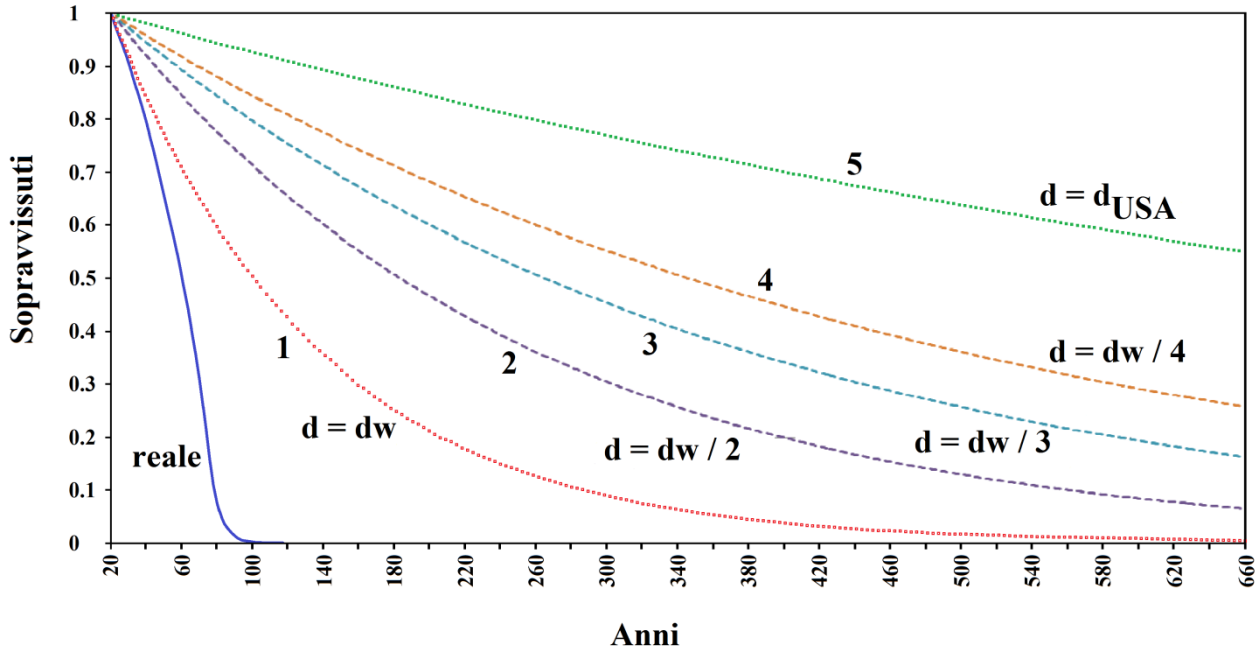


Figura 7.7 - Tabella di sopravvivenza reale del popolo Ache studiato in condizioni naturali e cinque ipotetiche tabelle di sopravvivenza. Abbreviazioni: reale = tabella di sopravvivenza reale osservata per il popolo Ache (periodo della foresta); d = tasso di mortalità; dw = tasso di mortalità minimo osservato per il popolo Ache in condizioni naturali (all'età di circa 20 anni) = 0,858%/anno; 1 = ipotetica tabella di sopravvivenza con tasso di mortalità costante pari a dw; 2, 3, 4 = lo stesso rispettivamente con d = dw/2, dw/3, dw/4; 5 = lo stesso con d = d_{USA} = tasso di mortalità negli USA, 2017, 20-25 anni, dati complessivi per i due sessi (= 0,0944%/anno, circa dw/9).

Tabella 7.9 - Valori di sopravvivenza per alcune ipotetiche tabelle di sopravvivenza.
Note:
1) Formula utilizzata: $D = \int(1-d)^t$ [t = 0...∞] = $\lim(1-d)^t/\ln(1-d)$ [t ->∞] = $-1/\ln(1-d)$;
2) Formula utilizzata: $S_{1000} = (1-d)^{980} * 100$;
3) Formula utilizzata: $(1-d)^T = 0{,}01$; pertanto $T = \ln(0{,}01)/\ln(1-y)$; T è poi arrotondato al numero intero successivo;
4) Formula utilizzata: $S = (1-d)^t * 100$;
5) dw = tasso di mortalità minimo all'età di 20 anni osservato per il popolo Ache in condizioni naturali (periodo della foresta);
6) Valore ottenuto dallo studio sul popolo Ache (periodo della foresta);
7) dUSA = tassi di mortalità USA 2017, 20-24 anni, totale (fonte https://www.statista.com/statistics/241572/death-rate-by-age-and-sex-in-the-us/; consultata il 31 ottobre 2019);
8) USA 2016, speranza di vita all'età di 20 anni (fonte: https://www.ssa.gov/oact/STATS/table4c6.html, consultata il 31 ottobre 2019).

Tasso di mortalità		ML_{20}	HML_{20}[1]	Rapporto	% sopravvissuti all'età di 1000 anni[2]	età quando i sopravvissuti <1%[3]	% sopravvissuti all'età T[4]
d		C	D	D/C	S_{1000}	T	S_t
dw[5] =	0,858%	38,117[6]	116,049	3,044	0,022	535	0,995
dw/2 =	0,429%	38,117[6]	222,600	6,102	1,480	1072	0,996
dw/3 =	0,286%	38,117[6]	349,150	9,160	6,040	1608	0,9997
dw/4 =	0,2145%	38,117[6]	465,700	12,217	12,192	2145	0,999
d_{USA}[7] =	0,0944%	59,295[8]	1058,822	17,857	39,631	4877	0,999

I risultati mostrano un forte aumento dei valori di HML_{20}, del rapporto D/C e dell'età in cui i sopravvissuti scendono al di sotto dell'1%. Questo aumento è particolarmente forte per la curva 5 (HML_{20} = 1.058 anni; rapporto D/C al di sopra di 17, 4.877 anni per l'età in cui i sopravvissuti scendono al di sotto dell'1%!).
L'importanza degli effetti dell'aumento della mortalità correlata all'età, che definisce l'invecchiamento, può essere valutata sulla base degli effetti straordinari dell'ipotetico annullamento di questo aumento. Questi enormi effetti devono essere confrontati con quelli che potrebbero essere raggiunti con un'ipotetica ottimale prevenzione e cura di tutte le malattie, ma senza alcuna riduzione dell'aumento della mortalità correlata all'età. La Fig. 7.8 mostra le tabelle di sopravvivenza di un paese moderno in vari periodi dal 1851 al 2011 e la tabella di sopravvivenza prevista per il 2031. Questa figura mostra che la riduzione della mortalità ottenuta dal 1851 al 2011 ha progressivamente trasformato la tabella di sopravvivenza, facendola apparire sempre più come un rettangolo con l'angolo in alto a destra smussato e con un limite nella parte destra causato dal progressivo declino della capacità di sopravvivenza, cioè dall'invecchiamento. Una ideale perfezione nella prevenzione e nel trattamento di qualsiasi malattia renderebbe la tabella di sopravvivenza ancora più simile a un rettangolo ma aumenterebbe la durata media della vita di pochi anni, a costo di crescenti insostenibili menomazioni e del deterioramento della qualità della vita negli anni addizionali conquistati.
Questa ipotesi deve essere confrontata con il quadro prima delineato con la chiara conclusione che, se vogliamo aumentare significativamente la durata e la qualità della vita, l'obiettivo principale deve essere quello di controllare il processo di invecchiamento.

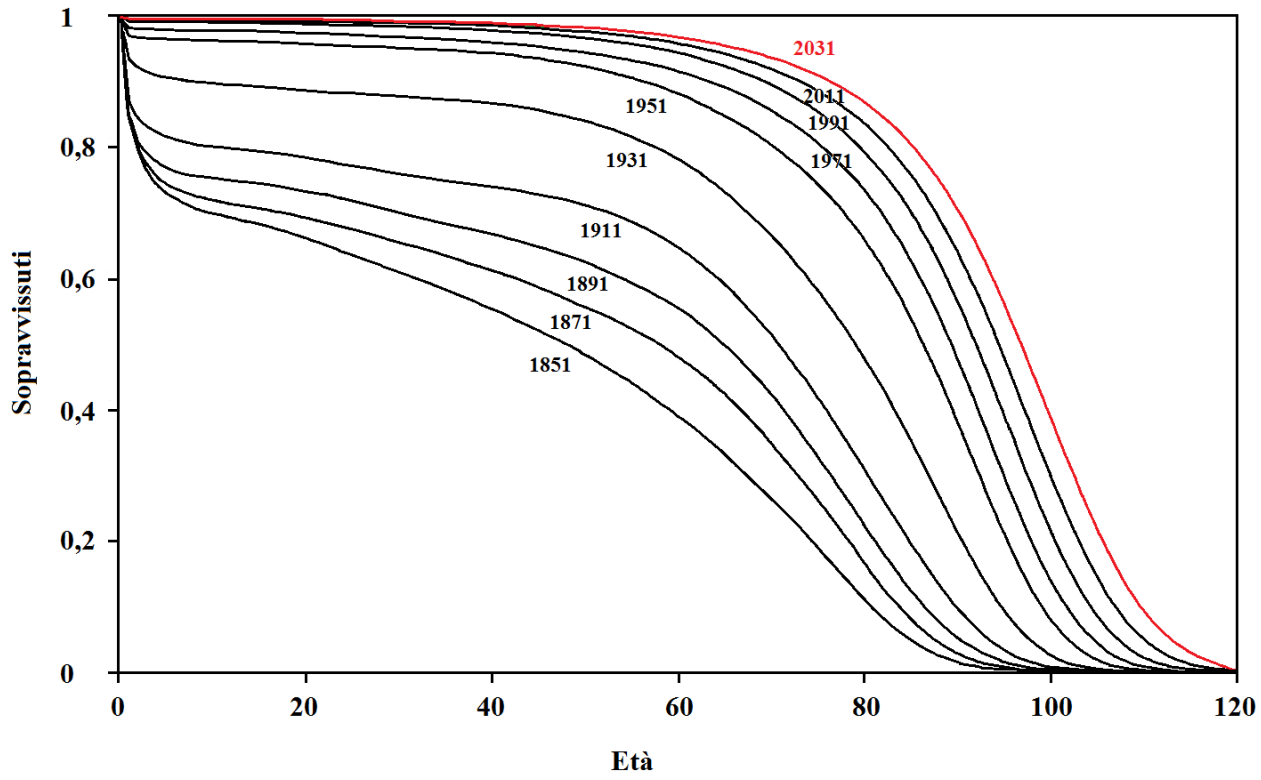


Figura 7.8 - Tabelle di sopravvivenza per Inghilterra e Galles (1851-2011) più tabella di sopravvivenza prevista per il 2031. Fonte dei dati: Office for National Statistics (ONS) (https://ourworldindata.org/life-expectancy).

Capitolo 8
Prevenzione e cura dei disturbi degli anziani

8.1 - Razionalità dell'approccio evoluzionistico
8.2 - Prevenzione e cura delle malattie identiche o simili a qualsiasi età
8.3 - Accelerazione dell'invecchiamento: prevenzione e trattamento
8.4 - Trattamento dell'invecchiamento fisiologico
8.4.1 - Attivazione della telomerasi
8.4.2 - Eliminazione delle cellule senescenti
8.4.3 - Sostanze e metodi anti-invecchiamento
8.4.4 - Modifiche genetiche
8.4.5 - Problemi etici
8.5 - Geriatria e società attuale
8.6 - Geriatria e società futura

8.1 - Razionalità dell'approccio evoluzionistico

La medicina moderna sfrutta la sofisticata conoscenza dei meccanismi fisiologici e patologici e utilizza metodologie, strumenti, tecniche e farmaci altrettanto alla moda.
Questa è una fonte di orgoglio per il clinico moderno che confronta la situazione attuale con quella del passato, persino quella di qualche decennio fa. Questa è anche una fonte di valutazioni e previsioni ottimistiche per il futuro.
I dati oggettivi presentano un quadro alquanto diverso. Malattie inesistenti o molto rare in passato sono oggi sempre più comuni. La medicina moderna spesso aumenta la sua efficacia ma lotta contro un numero crescente di forme e cause di malattie.
È necessario un approccio diverso della medicina, il quale deve considerare che la prevenzione delle cause primarie delle malattie deve avere la priorità. In questa logica, la cura è solo un rimedio quando la prevenzione è fallita o impossibile. Questo approccio è fattibile solo a partire dall'approccio razionale della medicina evoluzionistica.
Queste considerazioni generali sono un breve riassunto di ciò che è già stato descritto e discusso nel *Capitolo 3 - Medicina evoluzionistica*, che è utile leggere per tutto quello che non è ripetuto o è solo menzionato qui.
Tuttavia, questi concetti sono validi anche per le malattie della vecchiaia con la differenza che in età maggiori le disfunzioni progressive che costituiscono l'invecchiamento diventano sempre più importanti.
Nell'approccio evoluzionistico alla medicina in età anziana, è necessario distinguere tra alcune categorie di disturbi:

A) Malattie che si verificano a qualsiasi età (ad esempio, a causa di eventi accidentali e infezioni). Poiché nella vecchiaia vi è una ridotta capacità di resistere a stress di qualsiasi tipo, queste malattie avranno incidenza, gravità e decorso diversi rispetto alle età precedenti. Queste malattie sono in parte prevenibili e generalmente curabili.
B) Malattie da alterazioni genotipiche. Per le persone che raggiungono la vecchiaia, le conseguenze di queste disfunzioni sono diventate croniche. Queste malattie sono talvolta prevenibili e la loro cura è generalmente difficile o impossibile.
C) Malattie derivanti da discrepanze (ad es. diabete mellito, ipertensione, malattie cardiovascolari, malattie allergiche e autoimmuni, la maggior parte dei tipi di cancro, alcuni tipi di infezione, in particolare se sono epidemiche, etc.). Queste malattie sono molto comuni e possono manifestarsi prima o durante la vecchiaia. Sono generalmente prevenibili. Il loro trattamento è in genere possibile ma deve essere considerato come un parziale rimedio per il fallimento della prevenzione.

D) Alterazioni causate dall'invecchiamento. L'invecchiamento non è prevenibile. Uno stile di vita corretto contrasta un invecchiamento accelerato o alcune complicazioni correlate all'età causate da malattie ma non evita l'invecchiamento. L'invecchiamento come processo fisiologico non può essere oggetto di trattamento ma solo di azioni che mirino a rallentare o interrompere questo processo. Queste azioni devono essere definite come azioni anti-invecchiamento per evitare la definizione errata di cure per l'invecchiamento.

Questi concetti sono riassunti nella Tabella 8.1.

Tabella 8.1 - Categorie dei disturbi nella vecchiaia

	Disturbi derivanti da	**Prevenzione**	**Cure**	**Azioni anti-invecchiamento**
A	incidenti, infezioni	Possibile	Necessarie	-
B	alterazioni del genotipo	Possibile	Necessarie	-
C	discrepanze	Prioritaria	Rimedi necessari quando la prevenzione non è riuscita	-
D	Invecchiamento	Impossibile	-	Possibile

8.2 - Prevenzione e cura delle malattie identiche o simili a qualsiasi età

Esistono molte condizioni (ad esempio, combattimenti con altri individui della stessa specie, uccisioni da parte di animali selvatici, infezioni, avvelenamenti, altri accidenti) che possono causare sofferenza o morte a qualsiasi età. Una valutazione immediata è che la loro prevenzione e la cura dei loro effetti non sono competenze specifiche della geriatria o degli studi gerontologici.

Tuttavia, questa valutazione trascura la definizione di invecchiamento. Come già discusso nel *Capitolo 1 - Introduzione*, l'invecchiamento è definito come un declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età, vale a dire un tasso di mortalità crescente dipendente da un progressivo declino delle funzioni [Comfort 1979, p. 7; Libertini 1988; Rose 1991; Kirkwood e Austad 2000]. Questa definizione di invecchiamento non deve essere confusa con il concetto di "stato senile", che è la condizione in cui diventa evidente il declino delle funzioni biologiche [Williams 1957].

In condizioni naturali, come già discusso nel *Capitolo 7 - Gli anziani e i loro disturbi*, il declino della capacità di sopravvivenza contribuisce alla morte di gran parte della popolazione prima che vengano raggiunte le condizioni alterate dello stato senile. I dati ottenuti dallo studio di una popolazione umana in condizioni naturali [Hill e Hurtado 1996] mostrano che, tra i sopravvissuti all'età di 30 anni, solo circa la metà erano ancora vivi all'età di 60 anni (v. Fig. 7.1). Inoltre, le cause di morte in questa fascia d'età sono praticamente solo quelle precedentemente riportate, che sono possibili a qualsiasi età (si veda la Tabella 7.1).

In effetti, l'incremento della mortalità in condizioni naturali è analogo al declino delle capacità atletiche: ad età non considerate anziane, gli atleti sono ritenuti vecchi a causa della loro ridotta capacità di stabilire un record atletico o di vincere a livelli agonistici. Non è un caso che il declino della capacità di sopravvivenza in condizioni naturali è correlato al declino della massime prestazioni atletiche o meglio alla capacità di vincere una gara (v. Figg. 7.2 e 7.3).

Questa evidenza induce a esprimere osservazioni apparentemente paradossali:

- L'attuale geriatria si occupa solo delle condizioni patologiche che affliggono i soggetti anziani, vale a dire soggetti meglio definiti come individui in stato senile (che può essere più o meno evidente o avanzato a secondo della sua arbitraria delimitazione). Il declino delle funzioni biologiche prima di quell'età non è oggetto di attenzione o cura da parte di un geriatra. Un atleta con un declino delle proprie prestazioni può chiedere l'aiuto di un medico sportivo ma non richiederà mai l'intervento di un geriatra.
- La geriatria concepita in termini razionali, sebbene non perda la sua competenza per i soggetti nello stato senile, dovrebbe considerare come obiettivo principale il declino delle funzioni biologiche nelle età precedenti, ricordando ciò che magnificamente è stato detto da Williams molti anni fa: "Nessuno considererebbe senile un uomo sulla trentina, eppure, secondo i record

atletici e le tabelle di sopravvivenza, la senescenza è rampante in questa decade." [Williams 1957]. La geriatria futura si opporrà al declino della capacità di sopravvivenza prima che si manifestino esternamente i cambiamenti causati dall'invecchiamento. Il trattamento delle persone in stato senile sarà riservato ai casi in cui la geriatria avrà fallito il suo compito principale.

Queste considerazioni ci mostrano che un approccio razionale modifica completamente il significato e gli obiettivi della geriatria.

8.3 - Accelerazione dell'invecchiamento: prevenzione e trattamento

Nel precedente *Capitolo 7 – Gli anziani e i loro disturbi, Sezione 7.7 - Malattie causate da discrepanze che accelerano l'invecchiamento fisiologico*, è stato documentato che alcuni fattori (ipertensione, diabete, fumo, obesità/dislipidemia, abuso di alcool), definiti genericamente come "fattori di rischio", appaiono accelerare i normali ritmi dell'invecchiamento sia per la funzione endoteliale (considerata come termine di confronto) sia per molte altre funzioni.

I rischi determinati da questi fattori derivano da situazioni di discrepanza, ovvero mancanza di adattamento a nuove condizioni per le quali la specie non ha esperienza evoluzionistica (fumo, abuso di alcol, assunzione eccessiva di sale/carboidrati/grassi, etc.).

In quella sezione, considerando come standard la disfunzione endoteliale e gli effetti benefici su di essa da parte di alcuni farmaci, è stato possibile osservare un analogo notevole parallelismo tra disfunzione endoteliale e disfunzioni di molti altri tessuti e organi sia:

- (i) per cellule con turnover (disfunzione olfattiva, insufficienza renale, atrofia della mucosa orale e delle ghiandole salivari, atrofia intestinale e gastrica, alopecia, enfisema e malattie correlate, atrofia cutanea, osteoporosi, atrofia di altre cellule neuronali sensoriali con turnover, cataratta , atrofia testicolare, atrofia muscolare, insufficienza cardiaca e malattie correlate, riduzione di vari tipi di cellule ematiche, diabete e compromissione della tolleranza al glucosio, atrofia epatica e malattie correlate);

che

- (ii) per cellule senza turnover ma che dipendono da altre cellule con turnover (degenerazione maculare legata all'età, malattia di Alzheimer, morbo di Parkinson, compromissione dell'udito).

In effetti, è possibile osservare che alcuni farmaci, vale a dire gli inibitori della HMG-CoA reduttasi (statine), gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE-inibitori) e gli antagonisti del recettore dell'angiotensina-II (sartani), hanno in qualche modo azioni difensive generali contro queste alterazioni ed è quindi possibile definirli "farmaci protettivi" [Libertini et al. 2019].

In particolare:

- I rischi e gli effetti della disfunzione endoteliale appaiono essere contrastati dalle statine [Walter et al. 2002; Chłopicki e Gryglewski 2005; Do 2015; Takase et al. 2017], e da ACE-inibitori e sartani [Chłopicki et Gryglewski 2005; Wang et al. 2014; Do 2015];
- Per la disfunzione olfattiva, mentre le statine hanno dimostrato di contrastare questa condizione [Schubert et al. 2011; Kim et al. 2012], non sono stati trovati studi specifici o utili sui possibili effetti di ACE-inibitori e sartani;
- Statine [Sandhu et al. 2006; Sanguankeo et al. 2015; Su et al. 2016], ACE-inibitori e sartani [Aldigier et al. 1998; Orth et al. 1998; Schmieder et al. 2011] sembrano avere un effetto positivo sull'insufficienza renale;
- In modelli animali, statine [Xia et al. 2015; Pinho-Ribeiro et al. 2017] e sartani [Raupach et al. 2011; Podowski et al. 2012] appaiono contrastare l'enfisema;
- Le statine appaiono proteggere dall'atrofia cutanea indotta dalla bleomicina [Kandeel et Balaha 2015] e gli ACE-inibitori hanno dimostrato di contrastare l'atrofia cutanea [Hao et al. 2011]. Non sono stati trovati studi specifici sulle possibili relazioni tra atrofia cutanea e ipertensione, obesità/dislipidemia, fumo e abuso di alcool;

- Statine [Zhang et al. 2014; Oryan et al. 2015; An et. al 2017] e sartani [Aoki et al. 2015] hanno dimostrato di contrastare l'osteoporosi;
- Gli ACE-inibitori e i sartani sembrano essere utili nel trattamento della cataratta [Jablecka et al. 2009; Choudhary e Bodakhe 2016; Choudhary et al. 2016]. Per alcuni studi le statine ne riducono il rischio [Klein et al. 2006; Dobrzynski e Kostis 2014], mentre un altro studio mostra un aumento del rischio [Wise et al. 2014], e un terzo studio non ha mostrato alcun effetto [Yu et al. 2017];
- L'atrofia muscolare è contrastata da ACE-inibitori e sartani [Onder et al. 2006; Sumukadas et al. 2006; Burton e Sumukadas 2010; Burks et al. 2011; Morales et al. 2016], ma uno studio non ha mostrato alcun effetto [Shrikrishna et al. 2014]. Le statine hanno una tossicità specifica per i miociti e causano mialgia o persino rabdomiolisi [Harper e Jacobson 2007; Fernandez et al. 2011; Chung et al. 2016], ma uno studio ha dimostrato che in casi particolari la simvastatina ha un effetto positivo [Davis et al. 2015];
- Molti studi dimostrano che statine [Fauchier et al. 2008; Mihaylova et al. 2012; Alehagen et al. 2015; Preiss et al. 2015; Bonsu et al. 2017] e ACE-inibitori o sartani [Flather et al. 2000; Demers et al. 2005; Jibrini et al. 2008; Dell'Italia 2011; Senni et al. 2017] hanno effetti positivi per la prevenzione e il trattamento dell'insufficienza cardiaca e delle malattie correlate, ma gli effetti benefici delle statine siano contestati in uno studio [Rain e Rada 2017];
- Gli ACE-inibitori e i sartani appaiono prevenire il diabete mellito di tipo 2 ed essere efficaci in alcune delle complicanze diabetiche [Cordonnier et al. 2001; Amann et al. 2003; Scheen 2004a, 2004b]. A proposito degli effetti delle statine sul rischio di diabete mellito di tipo 2, mentre una metanalisi ha dimostrato che le statine aumentano leggermente il rischio [Sattar et al. 2010], un'altra metanalisi ha riscontrato che il rischio è aumentato solo in "Esperimenti con livelli target di LDL-c ≤2,6 mmol/L o riduzione di LDL-c ≥30%" [Cai et al. 2016] e un altro non ha riscontrato alcun effetto [Zhou et al. 2013];
- In modelli animali, è stato dimostrato che gli ACE-inibitori contrastano l'atrofia epatica [Yayama et al. 2007; Yayama et al. 2008]. Le statine sembrano essere dannose per gli epatociti in uno studio [Björnsson 2015], ma in un altro studio questa nocività è dubbia [Rangnekar e Fontana 2011] e in un terzo studio non è stato riportato alcun danno [Herrick et al. 2016];
- Gli effetti dei sartani sul rischio di degenerazione maculare legata all'età (AMD) non sono chiari. In due studi, i sartani sembrano aumentare [Etminan et al. 2008] o diminuire il rischio di AMD [Tsao e Fong 2013], ma i risultati sono entrambi dubbi [Gehlbach et al. 2016]. Allo stesso modo gli ACE-inibitori sembrano ridurre il rischio di AMD ma il risultato è presentato come dubbio [Etminan et al. 2008];
- Il rischio e l'evoluzione della malattia di Alzheimer sono contrastati da statine [Vogel et al. 2006; Ellul et al. 2007; Wanamaker et al. 2015; Geifman et al. 2017], ACE-inibitori o sartani [Vogel et al. 2006; Ellul et al. 2007; Kume et al. 2012; Yasar et al. 2013; Ongali et al. 2016; Yasar et al. 2016];
- Vari studi hanno mostrato che le statine riducono il rischio e si oppongono all'evoluzione del morbo di Parkinson [Gao et al. 2012; Friedman et al. 2013; Undela et al. 2013; Sheng et al. 2016]. In alcuni studi su modelli animali, gli ACE-inibitori e i sartani appaiono essere verosimilmente utili nella prevenzione e nel trattamento del morbo di Parkinson [Lopez-Real et al. 2005; Sonsalla et al. 2013; Muñoz et al. 2014];
- In alcuni studi su modelli animali, statine [Syka et al. 2007; Park et al. 2012; Hameed et al. 2014; Jahani et al. 2016] e sartani [Meyer zum Gottesberge et al. 2015] hanno dimostrato di essere utili per la prevenzione o il trattamento di problemi dell'orecchio interno;
- È stato riportato che le statine aumentano la riduzione di vari tipi di cellule ematiche RVHCT [Sivri et al. 2013; Xian-Yu et al. 2015], mentre non sono stati trovati studi sugli effetti di ACE-inibitori o sartani;

- Non è stata trovata alcuna relazione tra l'atrofia testicolare e gli effetti degli ACE-inibitori [Pasqualotto et al. 2004] e non sono stati trovati studi specifici sulle statine come fattori di rischio per l'atrofia testicolare;
- A riguardo della relazione tra (i) atrofia della mucosa orale e delle ghiandole salivari; (ii) atrofia intestinale e gastrica; (iii) alopecia o calvizie; (iv) atrofia di altre cellule neuronali sensoriali con turnover; e gli effetti di statine, ACE-inibitori e sartani, non sono stati trovati studi specifici o utili.

Questi dati sono riassunti nella Tabella 8.2, che può essere considerata un completamento della Tabella 7.8 nel *Capitolo 7 - Gli anziani e i loro disturbi*. Se usiamo la disfunzione endoteliale come termine di confronto, altre condizioni legate all'età appaiono conformi a questo disturbo in relazione agli effetti delle statine e degli ACE-inibitori o sartani.

Tabella 8.2 - Rapporti tra alcune disfunzioni e alcuni "farmaci protettivi".

Parte I – Con turnover cellulare delle cellule specifiche				
Disfunzioni nell'anziano	Codice	Effetti sul rischio da parte di:	Effetto protettivo da parte di:	
		Età	Statine	ACE-i /ARBs
		1	**8**	**9**
Disfunzione endoteliale	**A**	**+**	**+**	**+**
Disfunzione olfattoria	**B**	**+**	**+**	**.**
Insufficienza renale	**C**	**+**	**+**	**+**
Atrofia della mucosa orale e delle ghiandole salivari	**D**	**+**	**.**	**.**
Atrofia intestinale e gastrica	**E**	**+**	**.**	**.**
Alopecia	**F**	**+**	**.**	**.**
Enfisema e malattie correlate	**G**	**+**	**+**	**+**
Atrofia della pelle	**H**	**+**	**+**	**+**
Osteoporosi	**I**	**+**	**+**	**+**
Atrofia di altre cellule neuronali sensoriali con turnover	**J**	**+**	**.**	**.**
Cataratta	**K**	**+**	**+?**	**+**
Atrofia testicolare	**L**	**+**	**.**	**/**
Atrofia muscolare	**M**	**+**	**-**	**+**
Insufficienza cardiaca e malattie correlate	**N**	**+**	**+**	**+**
Riduzione di vari tipi cellulari ematici	**O**	**+**	**-**	**.**
Diabete e compromissione della tolleranza al glucosio	**P**	**+**	**-/**	**+**
Atrofia epatica e malattie correlate	**Q**	**+**	**-/**	**+**

Parte II – Senza turnover cellulare delle cellule specifiche				
Disfunzioni nell'anziano	Codice	Effetti sul rischio da parte di:	Effetto protettivo da parte di:	
		Età	Statine	ACE-i /ARBs
		1	**8**	**9**
Degenerazione maculare correlata all'età	**R**	**+**	**?**	**-?**
Malattia di Alzheimer (AD)	S	+	+	+
Morbo di Parkinson (PD)	**T**	**+**	**+**	**+**
Indebolimento dell'udito	**U**	**+**	**+**	**+**

Annotazioni: + = aumento del rischio o dell'effetto protettivo; - = riduzione del rischio o dell'effetto protettivo; / = inalterato rischio o effetto protettivo; ? = risultati incerti; . = nessun studio specifico.

Trascurando le possibili relazioni per le quali non è disponibile alcun studio specifico o dove sono noti solo risultati contraddittori, vi sono alcune importanti eccezioni (evidenziate con rettangoli colorati nella Tabella 8.2) che devono essere menzionate:

--- (M8 e Q8) *Danni indotti dalle statine sulle cellule muscolari ed epatiche*. Una facile spiegazione è un'azione dannosa specifica delle statine sui miociti e, in misura minore, sugli epatociti [Feingold e Grunfeld 2016];
--- (O8) *Riduzione di vari tipi di cellule ematiche causate da statine*. Questo dovrebbe essere una conseguenza degli effetti anti-infiammatori delle statine;
--- (P8) *Leggero aumento dei casi di diabete causati dalle statine*. Questo effetto dannoso, che appare limitato ad alte dosi di statine [Cai et al. 2016] e ampiamente superato dagli effetti positivi delle statine anche sul diabete, non è stato ancora spiegato [Feingold e Grunfeld 2016].

La prevenzione primaria delle alterazioni riportate nella tabella è ovvia, vale a dire evitare o almeno limitare gli stili di vita che costituiscono condizioni alle quali la specie non è adattata. Inoltre, l'evidenza mostra che l'uso di determinati farmaci è in grado di contrastare almeno parzialmente l'avanzamento di questi disturbi.

È molto importante sottolineare che ciò significa contrastare i fenomeni di accelerazione dell'invecchiamento fisiologico e non significa affatto che stili di vita sani e farmaci protettivi rallentano o bloccano il processo fisiologico dell'invecchiamento. In altre parole, queste importanti azioni contrastano solo forme patologiche dell'invecchiamento e non devono essere assolutamente interpretate o spacciate come cure o rimedi per l'invecchiamento fisiologico.

8.4 - Trattamento dell'invecchiamento fisiologico

È utile innanzitutto considerare uno schema generale dell'invecchiamento (illustrato nella Fig. 8.1).

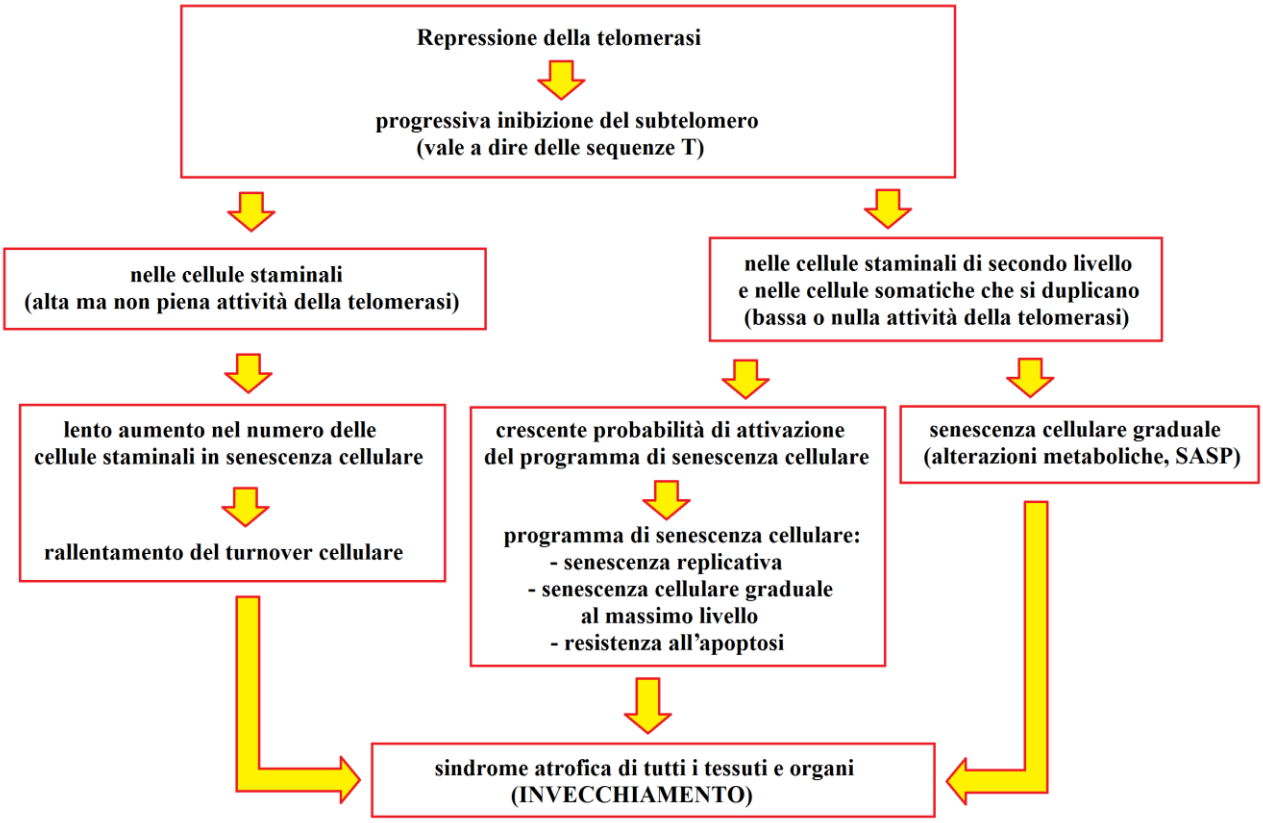


Figura 8.1 – Uno schema generale dell'invecchiamento.

La telomerasi è pienamente attiva solo nelle cellule germinali, mentre in tutte le altre cellule l'enzima viene represso in vario grado. La ridotta attività della telomerasi determina:

- *nelle cellule staminali di secondo livello e nelle cellule somatiche che si duplicano (attività telomerasi bassa o nulla)*:

-> accorciamento progressivo del telomero
-> inibizione progressiva del subtelomero, cioè delle sequenze T.
-> (i) innumerevoli alterazioni progressive del metabolismo cellulare, comprese le secrezioni cellulari (SASP) (senescenza cellulare graduale);
-> (ii) aumento della probabilità di attivazione del programma di senescenza cellulare, caratterizzato da blocco delle capacità di duplicazione (senescenza replicativa), senescenza cellulare graduale al massimo grado e resistenza all'apoptosi;

- *nelle cellule staminali (con alta ma non piena attività della telomerasi)*:
-> (iii) lento aumento del numero di cellule staminali in senescenza cellulare
-> rallentamento del turnover cellulare

L'attivazione della telomerasi:
- (i) riporta il telomero alla sua lunghezza originale;
- (ii) inverte le alterazioni della senescenza cellulare graduale;

ma:
- (iii) non inverte il programma di senescenza cellulare e i suoi effetti;
- (iv) non ripristina il numero originale di cellule staminali.

8.4.1 - Attivazione della telomerasi

Come spiegato prima (v. *Capitolo 5 - Teoria "subtelomerica-telomerica" dell'invecchiamento*), l'accorciamento dei telomeri determina lo scorrimento del cappuccio telomerico sul subtelomero causando la repressione delle sequenze T e quindi: (i) le manifestazioni della senescenza cellulare graduale; e (ii) una crescente probabilità di attivazione della senescenza cellulare (senescenza replicativa + alterazioni della senescenza cellulare graduale al massimo grado). Poiché l'accorciamento dei telomeri è il risultato di un'attività insufficiente o assente dell'enzima telomerasi, un obiettivo razionale per contrastare le manifestazioni dell'invecchiamento è l'attivazione o la riattivazione o la stimolazione di questo enzima.
Il perseguimento di questo obiettivo, oltre alle sue difficoltà tecniche, deve superare le obiezioni e le paure originate dalle ipotesi e dai pregiudizi del paradigma dell'invecchiamento come fenomeno non adattativo. In effetti, questo paradigma cerca di spiegare i limiti della duplicazione cellulare basata sul sistema TST come difesa generale contro il cancro. Per questa interpretazione, qualsiasi stimolazione dell'attività della telomerasi è temuta come azione cancerogena e deve quindi essere evitata o almeno essere perseguita con la massima attenzione a causa della possibile insorgenza di neoplasie.
Le molte argomentazioni e prove empiriche esistenti contro questi timori sono già state ampiamente discusse (v. *Sezione 5.4 - Limiti nelle capacità di duplicazione cellulare e altri effetti del sistema telomero-subtelomero-telomerasi spiegati come una difesa generale contro il cancro*). Tuttavia, può essere utile riaffermare il concetto che l'interpretazione del sistema TST come una difesa generale contro il cancro costituisce una giustificazione estrema per vecchie ipotesi che vogliono negare qualsiasi valore adattativo per i meccanismi che limitano la durata della vita.
Dopo queste premesse, è importante sottolineare la conoscenza fin dal 1998 del fatto che la riattivazione delle telomerasi aveva l'importante capacità di evitare la senescenza cellulare mantenendo le cellule in uno "stato fenotipicamente giovane" [Bodnar et al. 1998]:
--- "... due tipi di cellule umane normali telomerasi-negative, cellule dell'epiteliali pigmentato della retina e fibroblasti di prepuzio, furono transfettati con vettori che codificano la subunità catalitica della telomerasi umana. A differenza dei cloni di controllo telomerasi-negativi, che esibivano accorciamento dei telomeri e senescenza, i cloni che esprimevano la telomerasi avevano telomeri allungati, si dividevano vigorosamente, e mostravano una ridotta presenza di beta-galattosidasi, un biomarker per la senescenza. In particolare, i cloni che esprimono la telomerasi hanno un cariotipo normale e hanno già superato la loro normale durata di vita di almeno 20

raddoppiamenti, stabilendo così una relazione causale tra accorciamento dei telomeri e senescenza cellulare in vitro." [Bodnar et al. 1998]

--- "... l'espressione della subunità catalitica della telomerasi (trascrittasi inversa della telomerasi umana [*human telomerase reverse transcripase*] o hTERT) e la successiva attivazione della telomerasi può consentire alle cellule postsenescenti di proliferare oltre la crisi, l'ultimo blocco proliferativo noto per l'immortalità cellulare." [Counter et al. 1998]

--- "... la riattivazione della telomerasi nelle normali cellule umane porta al ripristino della lunghezza del DNA telomerico e a un aumento molto significativo della durata della vita cellulare. Questi dati forniscono una forte evidenza coerente con l'ipotesi dei telomeri e indicano che l'allungamento della lunghezza dei telomeri mediante manipolazione genetica potrebbe rendere le cellule umane normali praticamente immortali." [Vaziri 1998]

--- "... abbiamo espresso hTERT in normali fibroblasti diploidi umani, che mancano dell'attività della telomerasi, per determinare se l'attività della telomerasi possa essere ricostituita portando all'estensione della vita replicativa. I nostri risultati mostrano che l'espressione di hTERT mediata da retrovirus ha comportato un'attività di telomerasi funzionale nelle cellule umane che invecchiano normalmente. Inoltre, la ricostituzione dell'attività della telomerasi *in vivo* ha portato a un aumento della lunghezza del DNA telomerico e all'estensione della durata della vita cellulare. Questi risultati forniscono prove dirette a sostegno dell'ipotesi dei telomeri, indicando che la lunghezza dei telomeri è un fattore che può determinare la durata della vita replicativa delle cellule umane." [Vaziri e Benchimol 1998]

Questi risultati sperimentali furono ottenuti subordinatamente all'ipotesi che l'attività della telomerasi fosse un fattore di rischio oncogenico e che l'inibizione di questo enzima fosse un bersaglio per combattere il cancro. Le contraddizioni di questo punto di vista furono discusse in un'interessante breve rassegna del 1999 [de Lange e Jacks 1999]. Da un lato gli autori ritennero che nei tumori già conclamati vi fosse l'attivazione della telomerasi che permetteva la proliferazione incontrollata delle cellule e quindi l'inibizione della telomerasi poteva essere utile, dall'altro osservarono che prima dello sviluppo del tumore: "Un quadro emerge quando vengono considerati i primi passi nella tumorigenesi. Le cellule con telomeri accorciati in modo critico possono morire a causa dell'attivazione della via metabolica del punto di controllo p53. Tuttavia, nelle cellule con carenza di questi punti di controllo, l'accorciamento dei telomeri può causare instabilità cromosomica e questo può promuovere alcune delle mutazioni necessarie per pervenire alla trasformazione cellulare. Pertanto, in questo contesto, i telomeri corti possono effettivamente facilitare i primi passi nella formazione del tumore, come originariamente previsto da Hastie e Allshire [Hastie e Allshire 1989], e ora confermati dal più alto tasso di trasformazione di $mTR^{-/-}$; $p53^{-/-}$ MEFs e l'aumento dell'incidenza di tumori spontanei nei topi $mTR^{-/-}$. Il significato trasmesso da questi risultati è che l'inibizione della telomerasi potrebbe essere mutagenica nelle cellule tumorali, una lezione che dovrebbe essere tenuta a mente se il trattamento con l'antitelomerasi fosse considerato una strategia chemiopreventiva o se fosse usata cronicamente." [de Lange e Jacks 1999]
Come Fossel osservò qualche anno dopo, con il supporto di uno studio precedente ("... mentre i cambiamenti nella biologia dei telomeri sono molto probabilmente importanti per il corso dello sviluppo naturale del tumore, il mantenimento dei telomeri non è un requisito assoluto per la creazione delle cellule tumorali umane mediante alterazione acuta di oncogeni e soppressori tumorali. Piuttosto, nel nostro modello di trasformazione umana, l'attivazione delle strategie di mantenimento dei telomeri diventa importante solo durante l'espansione prolungata delle cellule tumorali per ripristinare la stabilità genomica in misura tale da consentire la sopravvivenza delle cellule." [Seger et al. 2002]), l'attività della telomerasi non era una causa di cancro ma una conseguenza tardiva dello sviluppo del cancro [Fossel 2004].
Ulteriori importanti studi che hanno rafforzato la convinzione dell'importanza della telomerasi per contrastare l'invecchiamento sono stati i seguenti:

--- A livello dei tessuti, i fibroblasti invecchiati *in vitro* e che mostrano "alterazioni sostanziali nell'espressione genica" sono stati trattati con telomerasi. Quindi sono stati "valutati mediante incorporazione in pelle umana ricostituita", che appariva essere identica alla pelle ottenuta da giovani fibroblasti [Funk et al. 2000].

- A livello di organismo, i topi anziani con telomerasi bloccata artificialmente mostrarono corti telomeri disfunzionali, aumento della segnalazione del danno al DNA e fenotipi degenerativi classici. La riattivazione della telomerasi ha allungato i telomeri, ridotto la segnalazione del danno al DNA, permesso la ripresa della proliferazione in tipi di cellule quiescenti e eliminato i "fenotipi degenerativi dappertutto in più organi tra cui testicoli, milza e intestino. In particolare, la riattivazione della telomerasi somatica ha fatto regredire la neurodegenerazione con il ripristino di progenitori neurali proliferanti Sox2(+), neuroni neonati Dcx(+) e popolazioni di oligodendrociti Olig2 (+). Coerentemente con il ruolo integrale dei progenitori neurali della zona subventricolare nella generazione e nel mantenimento degli interneuroni del bulbo olfattivo, questa ondata di neurogenesi telomerasi-dipendente ha provocato l'alleviamento dell'iposmia e il recupero delle risposte innate di evitamento olfattivo." [Jaskelioff et al. 2011].

--- Inoltre, nei topi normali di 1 e 2 anni, l'induzione dell'espressione della telomerasi ad opera di virus adeno-associati che trasportavano la trascrittasi inversa della telomerasi di topo "... ha avuto notevoli effetti benefici sulla salute e sul benessere fisico, inclusa la sensibilità all'insulina, l'osteoporosi, la coordinazione neuromuscolare e diversi biomarcatori molecolari dell'invecchiamento. È importante sottolineare che i topi trattati con telomerasi non hanno sviluppato più cancro rispetto ai loro compagni di controllo ..." [Bernardes de Jesus et al. 2012].

Tutti questi risultati dimostrano che l'attivazione della telomerasi e il successivo ripristino del telomero alla sua lunghezza iniziale è un metodo importante per combattere l'invecchiamento [Fossel 2015].

Gli studi riportati mostrano che l'espressione mediata da retrovirus della trascrittasi inversa telomerasica (TERT) sembra essere il modo migliore per l'induzione dell'espressione della telomerasi. Tuttavia il possibile uso di farmaci in grado di stimolare l'azione della telomerasi è oggetto di crescente attenzione [Fossel 2015].

Gli astragalosidi, che sono sostanze originate da piante, sembrano avere una certa efficacia nella stimolazione dell'attivazione della telomerasi [Harley et al. 2011; Harley et al. 2013]. Sfortunatamente, il loro effetto è limitato e le sostanze sono piuttosto costose [Fossel 2015].

La ricerca di sostanze in grado di stimolare l'attività della telomerasi non si limita agli astragolosidi. Una recente rassegna considera varie sostanze con questa attività: "Questo studio mirava a studiare l'effetto di composti naturali sull'attività della telomerasi nelle cellule mononucleate del sangue periferico umano (PBMCs). I composti testati comprendevano la formulazione di estratto di *Centella asiatica* (08AGTLF), la formulazione di estratto di *Astragalus* (Nutriente 4), TA-65 (contenente estratto di *Astragalus membranaceus*), acido oleanolico (OA), acido maslinico (MA) e 3 formule di multinutrienti (Nutrienti 1, 2 e 3) a varie concentrazioni. I valori medi di assorbanza dell'attività della telomerasi misurati dopo il trattamento con alcune delle formulazioni sopra menzionate erano statisticamente significativamente più alti rispetto a quelli delle cellule non trattate. In particolare, in ordine di importanza rispetto all'attivazione della telomerasi dal più alto al più basso, 08AGTLF, OA, Nutriente 4, TA-65, MA, Nutriente 3 e Nutriente 2, hanno innescato un aumento statisticamente significativo dell'attività della telomerasi rispetto alle cellule non trattate." [Tsoukalas et al. 2019]

8.4.2 - Eliminazione delle cellule senescenti

L'eliminazione selettiva delle cellule senescenti come metodo per contrastare le manifestazioni dell'invecchiamento è un argomento interessante di molti studi (ad es., [Zhu et al. 2014; Kirkland e Tchkonia 2015; Vaiserman et al. 2016; Kirkland e Tchkonia 2017; per una breve rassegna v. [Conti et al.2019]) (Figg. 8.2, 8.3 e 8.4) ed è stato esplorato nelle sue potenzialità in un recente lavoro [Libertini et al. 2018].

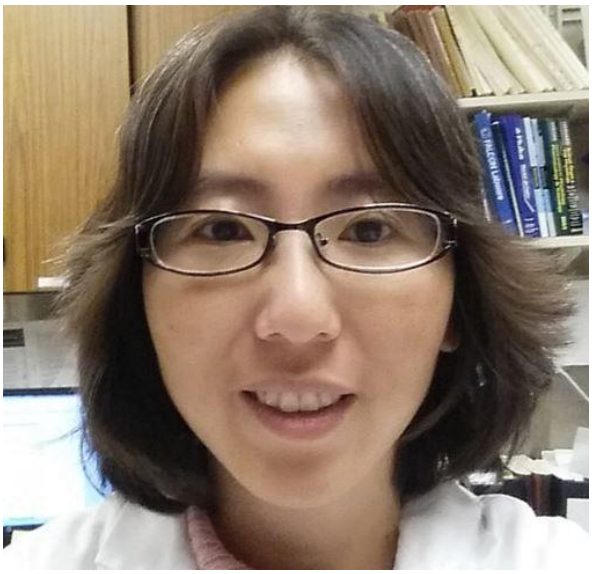


Figura 8.2 - Yi Zhu.

Figura 8.3 - James Kirkland.

Figura 8.4 - Tamara Tchkonia.

La senescenza cellulare è una condizione ben definita determinata da uno specifico programma cellulare [Ben-Porath e Weinberg 2005]. L'attivazione di questo programma diventa più probabile man mano che i telomeri si accorciano [d'Adda di Fagagna et al. 2003] e può essere innescata da altre condizioni quali stress ossidativo, condizioni alterate di coltura, oncogeni attivati, danno per il DNA [Collado et al. 2007; Acosta et al. 2008].

La senescenza cellulare mostra alterazioni stereotipate:

i) modifiche di innumerevoli funzioni cellulari [Shelton et al. 1999; Zhang et al. 2003; Campisi e d'Adda di Fagagna 2007; Kirkland e Tchkonia 2017];
ii) come parte di (i), alterazioni delle secrezioni extracellulari, definite complessivamente come fenotipo secretorio associato alla senescenza (*senescence-associated secretory phenotype*, SASP) [Coppé et al. 2008; Rodier et al. 2009];
iii) inibizione delle capacità di duplicazione cellulare (senescenza replicativa) [Cristofalo e Pignolo 1993];
iv) resistenza alla morte cellulare per apoptosi [Wang 1995; Kirkland e Tchkonia 2017].

La senescenza cellulare è caratterizzata da un'alterazione generale dell'attività genetica cellulare ("Il rimodellamento della cromatina correlato alla senescenza porta a profondi cambiamenti trascrizionali." [van Deursen 2014]), che potrebbe essere determinata da una repressione completa delle sequenze T attraverso un meccanismo che dovrebbe essere definito. La senescenza cellulare altera direttamente le funzioni delle cellule in queste condizioni e compromette indirettamente altre cellule in qualche modo sofferenti per tali secrezioni o funzionalità alterate. Inoltre, le alterate secrezioni provocano fenomeni di infiammazione e costituiscono un fattore di rischio oncogenico [Loo et al. 2019; Kim e Park 2019] ("... la senescenza cellulare o le cellule tumorali senescenti possono promuovere la carcinogenesi producendo vari fattori di crescita, citochine e proteasi, collettivamente denominati fenotipi secretori associati alla senescenza ..."; "Effetti negativi [del SASP] includono una maggiore risposta infiammatoria, stimolando la crescita delle cellule maligne vicine e inducendo metastasi di cellule tumorali maligne ..."[Kim e Park 2019]), il che contraddice la vecchia ipotesi secondo cui il blocco delle capacità di duplicazione cellulare causato dalla senescenza cellulare giustifica questo fenomeno come una difesa generale contro il cancro.

In generale, la senescenza cellulare viene interpretata come un fenomeno con una sola fase. Tuttavia, per la senescenza cellulare innescata da alcuni tipi di stress, esiste una prima fase in cui il fenomeno è reversibile se lo stress viene ridotto o eliminato [van Deursen 2014]. In ogni caso, quando la senescenza cellulare è completa sembra irreversibile, ma, mediante manipolazioni artificiali *in vitro*, ad es. per inattivazione di p53 e $p16^{Ink4a}$, si ottiene la reversibilità [Beauséjour et al. 2003]. Ciò dimostra che la senescenza cellulare non può essere il risultato dell'accumulo casuale di danno per varie cause, ma un processo geneticamente regolato, cioè un programma cellulare [Ben-Porath e Weinberg 2005].

Identificando le cellule senescenti con l'espressione di $p16^{Ink4a}$, è stato dimostrato che il loro numero aumenta con l'età [Krishnamurthy et al. 2014; Childs et al. 2015; Baker et al. 2016]. La resistenza all'apoptosi, che è una delle caratteristiche della senescenza cellulare, aiuta a spiegare il progressivo aumento del numero di cellule in senescenza cellulare e la persistenza del danno da esse causato.

L'aumento del numero di cellule senescenti è chiaramente correlato alle manifestazioni dell'invecchiamento e alle malattie correlate all'età [Baker et al. 2004; Baker et al. 2008; Baker et al. 2011]. Un interessante esperimento ha dimostrato che, nei topi, il trapianto di cellule senescenti attorno alle articolazioni del ginocchio ha determinato alterazioni simili all'osteoartrosi, che è una malattia molto comune nelle persone anziane [Xu et al. 2017]. Inoltre, l'eliminazione delle cellule senescenti appare ridurre e migliorare le manifestazioni dell'invecchiamento [Baker et al. 2008; Baker et al. 2011; Chang et al. 2016b].

Sulla base di queste prove, l'eliminazione selettiva delle cellule nello stato senescente attraverso agenti appropriati, definiti come "farmaci senolitici", è considerata un obiettivo utile e importante per contrastare le manifestazioni dell'invecchiamento [Zhu et al. 2015; Chang et al. 2016b; Fuhrmann-Stroissnigg et al. 2017].

Per sviluppare farmaci senolitici, è essenziale considerare che le cellule senescenti hanno una funzionalità alterata, che, di regola, dovrebbe innescare la loro eliminazione fisiologica mediante

apoptosi. Tuttavia, la senescenza cellulare amplifica (o attiva) varie vie metaboliche anti-apoptotiche delle cellule senescenti (*senescent cell anti-apoptotic pathways*, SCAP), che le proteggono dall'apoptosi. Queste SCAP, che comprendono PI3K/AKT, BCL-2/BCL-XL, p53/p21/serpine, tirosina chinasi, e che possono essere correlate tra loro, sono obiettivi importanti per possibili agenti senolitici [Kirkland e Tchkonia 2017].
I primi autori che hanno pubblicato risultati promettenti sui farmaci senolitici hanno cercato agenti in grado di indurre l'apoptosi nelle cellule senescenti e hanno scoperto che, tra le molecole testate *in vitro*, dasatinib e quercetina erano gli agenti con maggiore efficacia nell'eliminazione delle cellule senescenti [Zhu et al. 2015].
Queste sostanze agiscono su diverse SCAP. Dasatinib, un farmaco antitumorale, inibisce varie tirosina chinasi, mentre la quercetina, un flavonoide naturale, agisce su PI3K e alcune chinasi e serpine (inibitori della proteasi). Inoltre, mentre il dasatinib è più efficace nell'indurre l'apoptosi nei preadipociti senescenti, la quercetina è più attiva nell'eliminazione delle cellule endoteliali delle vene ombelicali umane. Di conseguenza, gli autori, considerando le loro diverse azioni e target, hanno proposto l'azione combinata dei due farmaci con l'obiettivo di eliminare una gamma più ampia di cellule senescenti [Zhu et al. 2015]. L'uso combinato di dasatinib e quercetina (DQ) è stato testato con successo *in vivo* su topi anziani per migliorare le loro funzioni fisiche (forza muscolare, velocità di deambulazione, attività quotidiana e assunzione di cibo) [Zhu et al. 2015].
DQ è anche stato utilizzato nei topi per il trattamento della fibrosi polmonare idiopatica migliorando la funzione polmonare e la salute fisica, sebbene la fibrosi polmonare non risultò modificata [Schafer et al. 2017].
DQ, che ha anche dimostrato la capacità di attenuare varie manifestazioni associate all'età (ad es., la disfunzione cardiovascolare) [Zhu et al. 2015], è ora considerato il prototipo degli agenti senolitici ed è studiato in studi clinici su pazienti con fibrosi polmonare idiopatica, malattia renale cronica in pazienti diabetici e sui sopravvissuti dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche [Fuhrmann-Stroissnigg et al. 2018].
Oltre a DQ, alcuni composti sintetici o naturali sono stati proposti come senolitici [Xu et al. 2018; Conti et al. 2019]. Tra questi agenti, abbiamo navitoclax, gli inibitori BCL-XL, ABT737, A1331852 e A1155463, che colpiscono la famiglia Bcl 2 di fattori anti-apoptotici, e fisetina, un flavonoide correlato alla quercetina con meno tossicità ematologica rispetto al navitoclax [Zhu et al. 2016].
L'uso di un composto senolitico (UBX0101) in topi transgenici è stato testato con risultati positivi per l'artrosi post-traumatica [Jeon et al. 2017].
Nei topi naturalmente invecchiati, nei topi con chemiotossicità indotta dalla doxorubicina e nei topi XpdTTD/TTD a invecchiamento rapido, è stato testato un peptide senolitico FOXO4 che altera l'interazione di FOXO4 con p53. L'agente "neutralizzava la chemiotossicità indotta dalla doxorubicina ... ripristinava la forma fisica, la densità della pelliccia e la funzione renale" [Baar et al. 2017];
La piccola molecola ABT-737 e i siRNAs, che inibiscono le proteine anti-apoptotiche BCL-W e BCL-XL, inducono specificamente l'apoptosi nelle cellule senescenti. Questi agenti senolitici sono stati testati su topi transgenici p14(ARF), con risultati positivi per danni ai polmoni e all'epidermide [Yosef et al. 2016].
Alcuni farmaci che inibiscono la proteina HSP90 (*chaperon Heat Shock Protein 90*) sono stati proposti come senolitici [Fuhrmann-Stroissnigg et al. 2017]. Il macchinario molecolare che comprende la HSP90 è, tra le altre cose, un regolatore chiave della proteostasi in condizioni fisiologiche e anche in condizioni di stress [Schopf et al. 2017], e l'inibizione di HSP90 sembra ridurre la resistenza delle cellule senescenti all'apoptosi [Trepel et al. 2010], un effetto che è stato testato anche per il trattamento del cancro [Trepel et al. 2010].
Non vi è alcun farmaco senolitico approvato per l'uso clinico sebbene siano in corso numerosi studi clinici. Tuttavia, i farmaci senolitici appaiono assai promettenti per il trattamento di molte malattie associate all'età e per le manifestazioni specifiche dell'invecchiamento fisiologico. I limiti della

loro azione, già discussi in [Libertini et al. 2018], saranno approfondito nella *Sottosezione 8.4.4 - Modifiche genetiche.*

8.4.3 - Sostanze e metodi anti-invecchiamento

Esistono molte sostanze o metodi studiati per i loro possibili effetti anti-invecchiamento. Alcuni di loro, già discussi in recenti rassegne [Johnson et al. 2013; Phu et al. 2019; Son et al. 2019], saranno delineati in questo paragrafo.

--- **Restrizione calorica**

Il fatto che in varie specie animali la restrizione calorica aumenta la durata della vita in determinate condizioni è già stato discusso nella *Sottosezione 4.4.5 - Effetti della restrizione calorica sulla durata della vita.* Indipendentemente dal fatto che questo fenomeno sia solo la limitazione dei danni dovuti a stili di vita non salutari (in particolare l'eccesso di alimentazione) o, almeno in parte, un effettivo rallentamento del ritmo dell'invecchiamento, il meccanismo o i meccanismi con cui si ottengono questi effetti è oggetto di numerosi studi e di attenta discussione. Sono stati proposti quattro potenziali vie metaboliche target per gli effetti della restrizione calorica [Son et al. 2019]:

(1) *attivazione dell'enzima proteinchinasi AMP* [Canto e Auwerx 2011]. L'attivazione di questo enzima aumenta i livelli di AMP e regola il metabolismo cellulare e del corpo intero, in particolare riducendo la produzione di glucosio epatico, aumentando l'assorbimento del glucosio nei muscoli scheletrici e l'ossidazione degli acidi grassi in diversi tessuti [Ruderman e Prentki 2004]. La metformina, un farmaco importante per il trattamento del diabete mellito di tipo 2 che attiva la proteinchinasi AMP [Rena et al. 2013], ha effetti positivi tra i pazienti diabetici [Bannister et al. 2014], ad es. riduzione del rischio di malattie cardiovascolari [UK Prospective Diabetes Study 1998], incidenza del cancro e mortalità per tutte le cause [Wu et al. 2014].

(2) *inibizione della segnalazione del fattore di crescita simile all'insulina-1* (*insulin-like growth factor-1,* IGF-1) [Mitchell et al. 2015]. Studi recenti hanno dimostrato che una ridotta attività somatotropica sembra ritardare l'insorgenza di malattie legate all'età e ridurre la fragilità che caratterizza una durata della vita estesa [Bartke 2009]. Una riduzione dei livelli di IGF-1, i quali sono stimolati dall'ormone della crescita, ha mostrato un effetto protettivo contro il cancro e il diabete mellito e un'estensione della durata della vita in modelli animali [Junnila et al. 2013]. Pegvisomant, un antagonista del recettore dell'ormone della crescita (*growth hormone*, GH) utilizzato per il trattamento dell'acromegalia, sembra avere effetti positivi sull'invecchiamento fisiologico e sulla durata della vita aumentando la sensibilità all'insulina e abbassando il livello di IGF-1 [Trainer et al. 2000].

(3) *attivazione delle deacetilasi dipendenti da NAD+ (sirtuine, da SIRT-1 a -7)* [Imai e Guarente 2016]. Le sirtuine regolano l'attività di proteine che sono importanti per il metabolismo energetico, la resistenza allo stress e la longevità [Satoh et al. 2013]. "Le sirtuine, principalmente le meglio caratterizzate Sirt-1, -3 e -6, regolano una vasta gamma di processi, quali metabolismo, infiammazione, riparazione del DNA, resistenza allo stress e invecchiamento. Esse deacetilano substrati molto importanti nel controllo della bioenergetica e del metabolismo, come il recettore-γ attivato dai proliferatori di perossisomi (*peroxisome proliferators-activated receptor-γ*, PPAR-γ) e il suo coattivatore-1α (PGC-1α) e la proteinchinasi attivata da AMP (AMPK), e coinvolti nello stress ossidativo e nell'infiammazione, come i fattori di trascrizione di Forkhead box O (FOXOs) e NF-κB [Corbi et al. 2012]" [Manzo et al. 2019]. Nei topi, la sovraespressione di Sirt-1 proteggeva dagli effetti dannosi di una dieta ricca di grassi, migliorava la sensibilità all'insulina, riduceva le citochine infiammatorie e aumentava l'attività degli enzimi antiossidanti [Pfluger et al. 2008]. La sovraespressione di sir2, un omologo delle sirtuine, prolungava la durata della vita di lievito, *Drosophila* e *Caenorhabditis elegans* [Wood et al. 2004]. Le sirtuine potrebbero prolungare la durata della vita stimolando l'autofagia e la difesa antiossidante, abbassando il livello di IGF-1, e migliorando le funzioni dei mitocondri [Morselli et al. 2010]. Miricetina, piceatannolo, quercetina e resveratrolo sono agonisti di Sirt-1 [Chung et al. 2010] e per questa azione sono oggetto di molti studi anti-invecchiamento. Il resveratrolo, un polifenolo

vegetale presente in alte concentrazioni nell'uva rossa e quindi nei vini rossi, appare migliorare la salute e la durata della vita per lievito, *Drosophila* e nematodi [Howitz et al. 2003; Wood et al. 2004; Islam et al. 2019]. In altri modelli animali e nell'uomo, il resveratrolo ha migliorato le prestazioni motorie, la salute delle ossa, il morbo di Parkinson, la malattia di Alzheimer e le prestazioni della memoria negli anziani, ha ridotto l'insufficienza cardiaca e ha regolato i livelli di lipidi e glucosio nei pazienti affetti da obesità e diabete mellito di tipo 2 [Witte et al. 2004; Baur et al. 2006; Pearson et al. 2008; Karuppagounder et al. 2009; Khan et al. 2010; Yang et al. 2010; Bhatt et al. 2012]. È stato riportato che il resveratrolo e il suo derivativo pterostilbene hanno effetti protettivi contro malattie correlate all'età come aterosclerosi, ipertensione, osteoporosi, malattie cardiovascolari, cancro, cataratta, artrite, diabete mellito di tipo 2, malattia di Alzheimer e demenza vascolare [Lange et Li 2018 ; Li et al. 2018]. È stato riferito che il resveratrolo mostra attività "contro la glicazione, lo stress ossidativo, l'infiammazione, la neurodegenerazione, diversi tipi di cancro e l'invecchiamento." [Galiniak et al. 2019] In effetti, anche altri composti naturali hanno mostrato effetti simili sull'attivazione della via metabolica delle sirtuine. In particolare, il verbascoside (VB), un polifenolo appartenente alla sottoclasse dell'acido fenolico, è stato in grado di indurre un aumento dell'attività di Sirt1 nel cuore dei conigli e l'attivazione ha avuto come esito la riduzione di tutti i parametri coinvolti nella composizione del rischio cardiovascolare, come glicemia, colesterolo totale, e colesterolo LDL [Corbi et al. 2018]. Inoltre, è stato riscontrato anche un aumento delle vitamine A ed E, rafforzando la precedente evidenza della capacità antiossidante del VB. Una relazione tra l'attività SIRT1 e i livelli di vitamina E era già stata dimostrata nell'ippocampo e nella corteccia cerebrale dei roditori, in cui la vitamina E impediva una diminuzione dell'espressione di SIRT1 causata da una dieta ricca di grassi [Wu et al. 2006]. Inoltre, Zillikens et al. [2010] trovarono un'interazione tra vitamina E e SIRT1, suggerendo che questa interazione potrebbe essere dovuta alla funzione antiossidante della vitamina E e al suo ruolo di regolatore degli enzimi e dell'attività genica [Brigelius-Flohé 2009].

(4) *inibizione del bersaglio della rapamicina nei mammiferi (mammalian target of rapamycin, mTOR)* [Yang et al. 2014]. Il bersaglio della rapamicina nei mammiferi è una proteinchinasi serina/treonina ed è un componente di due complessi proteici, mTORC1 e mTORC2 [Caron et al. 2015]. Il primo di questi due complessi controlla l'autofagia, la traduzione delle proteine e altri processi cellulari In presenza di nutrienti sufficienti, mTOR disattiva la resistenza allo stress e l'autofagia e successivamente attiva la traduzione [Josse et al. 2016]. La riduzione dell'attività di mTOR determinava un'estensione della durata della vita in lievito, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila* e topi e ciò ha stimolato gli studi su primati e umani [Johnson et al. 2013]. La rapamicina, un potente farmaco immunosoppressore e un forte antagonista dell'azione mTOR, è la sostanza principale utilizzata in questi studi. La rapamicina è un potente inibitore di mTORC1 e mostra effetti positivi sull'estensione della durata della vita [Arriola Apelo e Lamming 2016]. Tuttavia l'uso prolungato della sostanza determina anche l'inibizione di mTORC2 e questo "... ha effetti negativi sulla salute e la longevità dei mammiferi ed è responsabile di molti degli effetti collaterali negativi della rapamicina." [Arriola Apelo e Lamming 2016] (ad es., iperglicemia, insulino-resistenza, iperinsulinemia, difetti proliferativi nelle linee cellulari ematopoietiche [Soefje et al. 2011]).

Queste quattro vie metaboliche riassumono i principali meccanismi ipotizzati per spiegare gli effetti della restrizione calorica [Saraswat e Rizvi 2017].

Sebbene studi particolari condotti sull'uomo con grande impegno abbiano dimostrato che la restrizione calorica era fattibile, tollerabile, sicura e con effetti positivi (ad es., [Ravussin et al. 2015]), questo metodo anti-invecchiamento, nonostante i suoi comprovati benefici, è difficile da proporre per un trattamento prolungato nell'uomo. Questo spiega la ricerca attiva di composti che imitino la limitazione dell'apporto calorico ("mimetici della restrizione calorica", *calorie restriction mimetics*, CRM) senza le difficoltà di una dieta limitata [Ingram e Roth 2015]: "I CRM includono alcuni polifenoli, in particolare il ben noto resveratrolo (attivatore di Sirt-1), rapamicina e i rapalog

(inibitori del bersaglio della repamicina nei mammiferi, mTOR), acido α-lipoico, 2-desossi-d-glucosio e altri inibitori glicolitici e farmaci come metformina e tiazolidinedioni." [Manzo et al. 2019]

--- **Sostituzione ormonale**

La ridotta attività correlata all'età di ghiandole surrenali, ghiandola pituitaria e gonadi determina la riduzione della secrezione ormonale e cambiamenti progressivi nelle condizioni di salute [Zouboulis e Makrantonaki 2012]. "Ridotti livelli ormonali sono associati a riduzioni della densità minerale ossea (BMD), della massa muscolare, del desiderio sessuale, della funzione erettile e dell'attività intellettuale. In questo contesto, i supplementi di ormoni sono stati ampiamente utilizzati per aiutare a far regredire gli effetti dell'invecchiamento e migliorare la qualità della vita negli anziani." [Son et al. 2019]

--- **Vitamina D**

La produzione di vitamina D è stimolata dall'esposizione al sole, che è insufficiente nelle popolazioni moderne per raggiungere livelli sani di vitamina D [Holick e Chen 2008]. "La carenza e l'insufficienza di vitamina D sono un problema di salute globale che colpisce oltre un miliardo di bambini e adulti in tutto il mondo. Le conseguenze della carenza di vitamina D non possono essere sottovalutate. Vi è da tempo un'associazione della carenza di vitamina D con una miriade di malattie acute e croniche tra cui preeclampsia, carie dentale infantile, parodontite, disturbi autoimmuni, malattie infettive, malattie cardiovascolari, tumori mortali, diabete di tipo 2 e disturbi neurologici." [Holick 2017]

Negli anziani, la carenza di vitamina D è associata alla perdita di massa e funzione muscolare [Janssen et al. 2002], un rischio più elevato di malattia di Alzheimer [Balion et al. 2012], ipertensione, insufficienza cardiaca e cardiopatia ischemica [Douglas et al. 1995; Rostand 1997].

Poiché la carenza di vitamina D è associata a numerosi effetti dannosi negli anziani, è stata ipotizzata come un fattore che accelera l'invecchiamento [Berridge 2017]. La terapia con supplementi di vitamina D è stata proposta come mezzo per trattare vari disturbi negli anziani e come farmaco anti-invecchiamento in generale. La terapia con vitamina D negli anziani ha dimostrato di migliorare la massa muscolare e le prestazioni e di ridurre il tasso di cadute [Janssen et al. 2002]. Tuttavia, mentre gli effetti scheletrici della vitamina D sono ampiamente riconosciuti e descritti ampiamente in letteratura [Holick et al. 2012], "... i suoi effetti extra-scheletrici sono stati oggetto di alcune controversie per i dati contrastanti riportati, in particolare per studi caso-controllo o epidemiologici rispetto a studi prospettici e interventistici." [Marino e Misra 2019]

--- **Ripristino di un sano microbioma intestinale**

I microrganismi del microbioma intestinale influenzano molte importanti funzioni fisiologiche (ad es., maturazione della funzione immunitaria durante lo sviluppo iniziale [Vaiserman et al. 2017], resistenza alle infezioni, attività antioncogenica, repressione dell'azione autoimmune, regolazione dell'asse intestino-cervello [Konturek et al. 2015]). Alcune peculiarità del microbioma intestinale dei centenari sembrano indicare che particolari microrganismi sono importanti per una maggiore durata della vita [Rampelli et al. 2013; Biagi et al. 2016]. È stato suggerito che un microbioma intestinale sano abbia "un grande potenziale per la medicina anti-invecchiamento" [Son et al. 2019].

--- **Sostanze antiossidanti**

Secondo la vecchia ma popolare teoria dell'invecchiamento causato dai radicali liberi [Harman 1956], l'invecchiamento è dovuto allo stress ossidativo, cioè all'accumulo di sostanze principalmente derivate dall'ossigeno (ROS). Per contrastare lo stress ossidativo le cellule attivano una serie complessa di molecole note come antiossidanti (vitamina C, vitamina A, tioredossina, acido alfa-lipoico, alfa-tocoferoli, coenzima Q, beta carotenoidi, catalasi, superossido dismutasi, glutatione-perossidasi, etc.) [Ighodaro e Akinloye 2017; Conti et al. 2016].

Poiché lo stress ossidativo è una causa putativa dell'invecchiamento e delle malattie associate all'età, l'uso di sostanze antiossidanti ha meritato grande attenzione come possibile intervento terapeutico [Forte et al. 2016; Corbi et al. 2016]. Tuttavia, "Gran parte degli studi che hanno

studiato l'efficacia della terapia di supplementi con antiossidanti nell'uomo hanno dato risultati contrastanti." [Conti et al. 2016]

--- Esercizio fisico

L'idea dell'esercizio fisico come mezzo per contrastare l'invecchiamento è un concetto guida in gerontologia [Aguirre e Villareal 2015; Garatachea et al. 2015; Bray et al. 2016].

L'esercizio fisico ha sicuramente effetti positivi sulla salute dell'intero organismo e dei singoli organi e sistemi (ad es., funzione cardiaca [Russomanno et al. 2017], muscolo scheletrico [Distefano e Goodpaster 2018], sistema immunitario [Weyh et al. 2020]). Inoltre, esiste una relazione positiva tra l'esercizio fisico e la lunghezza dei telomeri [Arsenis et al. 2017; Balan et al. 2018; Navarro-Ibarra et al. 2019].

Tuttavia, poiché la vita di un individuo può essere molto diversa dalla durata media della vita attesa all'interno di una popolazione, l'effetto dei cambiamenti nel livello di attività fisica su una durata di vita individuale può variare notevolmente [Barthold Jones et al. 2018; Colchero et al. 2016; Sasson 2016]. Pertanto, in alcuni modelli animali che invecchiano rapidamente, come quelli associati alla disfunzione mitocondriale, l'aumento dell'attività fisica è associato a un aumento sostanziale della longevità e del ritardo dell'invecchiamento [Gioscia-Ryan et al. 2016; Kim et al. 2017b; Mercken et al. 2012; Safdar et al. 2011]. Ancora una volta, esempi di notevoli differenze nei requisiti di attività fisica sono forniti da razze canine di diversa specializzazione. Di conseguenza, per le razze di cani da slitta o da caccia, i livelli di attività fisica appropriati sono molte volte superiori a quelli opportuni per cani da guardia e cani da compagnia [Grandin 2014; Pickup et al. 2017]. Tale diversità dei bisogni minimi di attività fisica può essere osservata anche negli esseri umani, ma è spesso ignorata [Barbieri et al. 2015]. A volte, le elevate prestazioni fisiche di un individuo dovrebbero essere considerate contemporaneamente come un vantaggio e un punto debole, causando una maggiore vulnerabilità, specialmente se lo stile di vita non è in proporzione al potenziale.

I livelli di attività fisica appropriati per gli uomini sono generalmente superiori a quelli per le donne, il che è motivato evoluzionisticamente considerando i tempi in cui gli uomini erano principalmente coinvolti nella caccia e le donne nella raccolta del cibo [Hawkes et al. 2018; Malina e Little 2008; Raichlen et al. 2017]. Al giorno d'oggi, tali differenze nei ruoli e nei livelli di attività fisica che ne derivano sono ancora conservate in particolari comunità primitive [Malina e Little 2008; Raichlen et al. 2017]. Tuttavia, nel mondo civilizzato, con dipendenza da comfort eccessivo e stile di vita sedentario, le stesse caratteristiche possono spiegare una sensibilità degli uomini generalmente più alta alla mancanza di attività fisica e possono essere elencate tra le cause della loro vita più breve rispetto alle donne resistenti allo stile di vita più sedentario [Colchero et al. 2016; Malina e Little 2008; Mauvais-Jarvis et al. 2020; Park et al. 2020; van Uffelen et al. 2017]. Tali differenze possono illustrare l'importanza di una stima adeguata dei bisogni individuali e dei successivi adattamenti dello stile di vita, incluso il livello di attività fisica, ma sono spesso trascurate in molte raccomandazioni generali sulla salute [Barha et al. 2017; Box et al. 2019; van Uffelen et al. 2017].

Si possono osservare differenze significative nella qualità se l'allenamento fisico è solo una pratica monotona di routine o, al contrario, fa parte di uno stile di vita attivo che coinvolge componenti culturali, estetici, sociali o emotivi associati [Ballesteros et al. 2020; Burtscher et al. 2013; Ekkekakis et al. 2005]. Pertanto, la risposta alla pratica dell'esercizio in gruppo e la sua diversificazione si dimostrano significativamente maggiori in conseguenza di un'azione sinergica [Ballesteros et al. 2020]. Ciò può essere osservato in molti allenamenti di gruppo, inclusi aerobica, yoga, danza, sport di squadra o arti marziali, e in esercizi all'aperto, da passeggiate ed escursioni a viaggi culturali e turistici [Barha et al. 2017; Booth et al. 2012; Burtscher et al. 2013; Ekkekakis et al. 2005; Hopkins et al. 1990; Xing et al. 2020]. Tali attività possono originare effetti preventivi e terapeutici pronunciati contro alcune condizioni associate all'età, tra cui il profilo infiammatorio, la fragilità senile, la sarcopenia, alcuni disturbi cognitivi e il morbo di Parkinson [Brown et al. 2012; Coelho-Júnior et al. 2021; Gronek et al. 2021; Larsson et al. 2019].

Se un'attività fisica equilibrata è indubbiamente benefica, l'effetto del sovrallenamento e degli esercizi spossanti può essere dannoso e portare al progressivo logoramento dei telomeri e allo sviluppo di un fenotipo invecchiato anche in persone relativamente giovani [Chilton et al. 2017; Ludlow et al. 2008; Mehrsafar et al. 2020].
Alcune abitudini associate a uno stile di vita generalmente attivo o alla cura degli altri spesso mostrano un effetto anti-invecchiamento molto più pronunciato rispetto alle routine sportive quotidiane praticate da sole [Box et al. 2019; Brown et al. 2012; Lahdenperä et al. 2004]. Tuttavia, questo secondo caso non dovrebbe essere trascurato, soprattutto quando non sono disponibili altre possibilità o come allenamento preliminare per migliorare la prestazione fisica prima di iscriversi ad altre attività [Coelho-Júnior et al. 2021; Katzmarzyk 2010].
Però, la verità condivisa che la prevenzione è molto più efficace e richiede un dispendio di tempo e sforzi significativamente inferiore rispetto al trattamento o alla correzione di un disturbo diventa ancora più pronunciata nel caso dell'invecchiamento e delle malattie associate all'età. Le restrizioni dietetiche servono come un classico esempio degli impatti delle abitudini della prima infanzia sulla longevità complessiva o su altri eventi della tarda età, ma lo stesso può essere visto nell'allenamento fisico [Colchero et al. 2016].
Tuttavia, va sottolineato che in condizioni naturali (ad es., popolazioni che vivono in condizioni primitive) vi è una notevole attività fisica [Hill e Hurtado 1996] e che un'attività fisica ridotta o minima è una condizione anormale in termini evoluzionistici e quindi una probabile causa di malattia (v. Capitolo 3). L'esercizio fisico quindi costituisce solo il ripristino delle normali condizioni di vita alle quali la nostra specie si è adattata.
In effetti, mentre l'esercizio fisico è sicuramente il miglior consiglio per curare e prevenire molte malattie, non vi sono prove che l'esercizio fisico estenda i normali limiti di vita in soggetti sani.

--- **Ritmi circadiani**

I ritmi circadiani coordinano e sincronizzano le funzioni fisiologiche dell'organismo a livello cellulare, tissutale e sistemico nel ciclo luce-oscurità delle 24 ore [Arendt 2012]. L'orologio circadiano principale è il nucleo soprachiasmatico che riceve input dal tratto retinoipotalamico stimolato dalla luce ambientale [Welsh et al. 2010].
Cambiamenti nei ritmi circadiani e in altri processi ciclici nell'organismo si verificano naturalmente nello sviluppo individuale, dallo stadio embrionale all'infanzia, la maturità e l'età senile [Bell-Pedersen et al. 2005]. Le caratteristiche dei cambiamenti ciclici e dei ritmi possono servire come marcatori del passaggio attraverso queste fasi, contribuendo sia all'omeostasi durante una fase sia a cambiamenti quantitativi e qualitativi che si verificano durante la transizione fra di loro nel corso della vita [Duffy et al. 2015; Patke et al. 2020].
In relazione all'età, i ritmi circadiani mostrano cambiamenti significativi che interessano molte funzioni, tra cui il rilascio di ormoni, il metabolismo energetico, la regolazione della temperatura, e l'attività cardiovascolare, renale e motoria. Tali cambiamenti possono essere manifestati mediante una ridotta ampiezza di un dato parametro della variazione ciclica, e una rimodulazione o uno spostamento del picco di alcuni ritmi, compresi i ritmi del sonno [Froy 2011; Kondratova e Kondratov 2013; Hood e Amir 2017]. Sostanziali alterazioni del ritmo possono essere associate con malattie infiammatorie, disordini emotivi come la depressione, e fattori esterni come inquinamento luminoso e sonoro, comuni nelle aree urbane [Fisk et al. 2018]. L'attività della telomerasi mostra "ritmicità circadiana endogena nell'uomo e nei topi" [Chen et al. 2014]. Le alterazioni dei ritmi circadiani "sembrano accelerare il processo di invecchiamento e contribuire alla senescenza, con alcuni sistemi più vulnerabili di altri." [Gibson et al. 2009]
In alcune malattie neurodegenerative correlate all'età, come l'Alzheimer e il Parkinson, le alterazioni dei ritmi circadiani costituiscono un precoce gruppo di sintomi [Abbot e Videnovic 2016; Mattis e Segal 2016].
Tra le condizioni nocive che alterano i ritmi circadiani, vi sono il volo frequente con viaggi in cui si cambia il meridiano, l'esposizione a condizioni irregolari di luce-oscurità, e il lavoro con turni

mutevoli [Khan et al. 2018]. Queste alterazioni sono correlate con una maggiore morbilità per molte malattie e tassi di mortalità più elevati [Tranah et al. 2010; Froy 2011].
Però la relazione causale tra i cambiamenti nel ritmo circadiano e l'invecchiamento non è sempre evidente [Duffy et al. 2015]. Tuttavia, una volta che la loro causa è eliminata si può osservare un ritorno ai parametri iniziali. Tali casi di un ripristino dei ritmi insieme a molti altri parametri a un punto tipico di un'età più giovane, come conseguenza dell'eliminazione di uno stress cronico, evidenziano l'importanza della distinzione fra l'invecchiamento naturale e l'esposizione cronica a fattori dannosi, non sempre evidente ma che dovrebbe essere evitata [Diallo et al. 2020; Ruan et al. 2021].
La prevenzione delle condizioni che causano, o contribuiscono a causare, alterazioni dei ritmi circadiani evita certamente la maggiore morbilità e la associata mortalità più elevata. Tuttavia, non vi sono studi che dimostrino che ciò allunghi i normali limiti di vita dei soggetti sani.

--- **Erbe medicinali tradizionali**

In alcune medicine tradizionali, varie erbe sono usate per prevenire malattie associate all'età e per rallentare l'invecchiamento. Una recente rassegna ha esaminato i fitoterapici ("flavonoidi, terpenoidi, saponine e polisaccaridi, fra cui astragaloside, ginkgolide, ginsenoside e gypenoside") considerati i più efficaci [Phu et al. 2019]. Essi sembrano migliorare le menomazioni cognitive e la resistenza al danno del DNA e ridurre i rischi cardiovascolari, e i loro target principali sono "Telomero e telomerasi, PPAR-α, GLUTs, FOXO1, caspase-3, BCL-2, insieme alle vie metaboliche relative a SIRT1/AMPK, PI3K/Akt, NF-κB e insulina/insulina simile fattore 1 di crescita" [Phu et al. 2019].

--- **Dieta Mediterranea**

L'associazione tra dieta e accorciamento dei telomeri è attualmente oggetto di studio, e l'importanza del mantenimento dei telomeri nel conferire stabilità cromosomica e prevenzione della senescenza cellulare ha suscitato un grande interesse nel campo dell'invecchiamento umano. La dieta può essere un fattore protettivo o dannoso per la lunghezza dei telomeri, a seconda della sua composizione. Gli effetti positivi della Dieta Mediterranea (DM) sembrano risiedere nella sua sinergia tra nutrienti bioattivi appartenenti a diversi gruppi alimentari [Jacobs et al. 2009], costituendo un cocktail unico di molteplici fitochimici con notevoli proprietà biologiche, inclusa la capacità di mirare alla preservazione dei telomeri.
A livello molecolare, l'interazione sinergica tra questi componenti può esercitare un effetto protettivo multifattoriale in grado di ridurre il rischio di malattia attenuando specifici meccanismi di invecchiamento (cioè infiammazione e stress ossidativo) [Mendez and Newman, 2018]. Di recente Davinelli et al. [2019] hanno riassunto gli studi sull'uomo a riguardo degli effetti della DM sull'accorciamento dei telomeri, dimostrando che questo metodo può essere considerato al fine di contrastare l'accorciamento dei telomeri per tutta la durata della vita. Poiché anche fattori genetici sono coinvolti nella regolazione della lunghezza dei telomeri, i polimorfismi associati all'attività della telomerasi e al metabolismo dei nutrienti possono anche modificare gli effetti dei fattori dietetici sulla struttura e sulla funzione dei telomeri. Pertanto, sebbene la lunghezza dei telomeri rappresenti un risultato misurabile, un approccio nutrigenetico/nutrigenomico può aggiungere nuove informazioni per colmare le molte lacune nelle conoscenze sul legame tra DM e lunghezza dei telomeri.

- **Interpretazione delle sostanze e dei metodi anti-invecchiamento sopra riportati**

La natura e gli effetti delle sostanze e dei metodi anti-invecchiamento prima riportati sono molto diversificati. Tuttavia, alcune considerazioni generali sono possibili.
Trascurando i casi o le condizioni in cui la relazione tra sostanza/metodo ed effetto benefico non è documentata o piuttosto non esiste, le loro azioni possono essere classificate in alcune categorie.

--- In alcuni casi (ad es., astragolosidi) la loro azione viene svolta almeno in parte mediante l'attivazione o la stimolazione della telomerasi. Pertanto rientrano nell'argomento della *Sottosezione 8.4.1 - Attivazione della telomerasi*.

--- In molti casi contrastano gli effetti dannosi di sostanze o stili di vita insalubri causanti malattie che spesso possono essere considerate come un'accelerazione del processo di invecchiamento fisiologico (v. *Sezione 8.3 - Accelerazione dell'invecchiamento: prevenzione e trattamento*). Di conseguenza non possono essere definiti anti-invecchiamento in senso stretto.

--- In altri casi, in particolare restrizione calorica e CRM, contrastano parte dei meccanismi che costituiscono il processo di invecchiamento (v. Fig. 8.5). Questi meccanismi sono subordinati alla repressione delle sequenze T, cioè all'inibizione della produzione di trascritti T, e quindi le loro azioni sono meglio interpretabili mediante lo schema della Fig. 8.6 la quale rappresenta un'integrazione della Fig. 8.5.

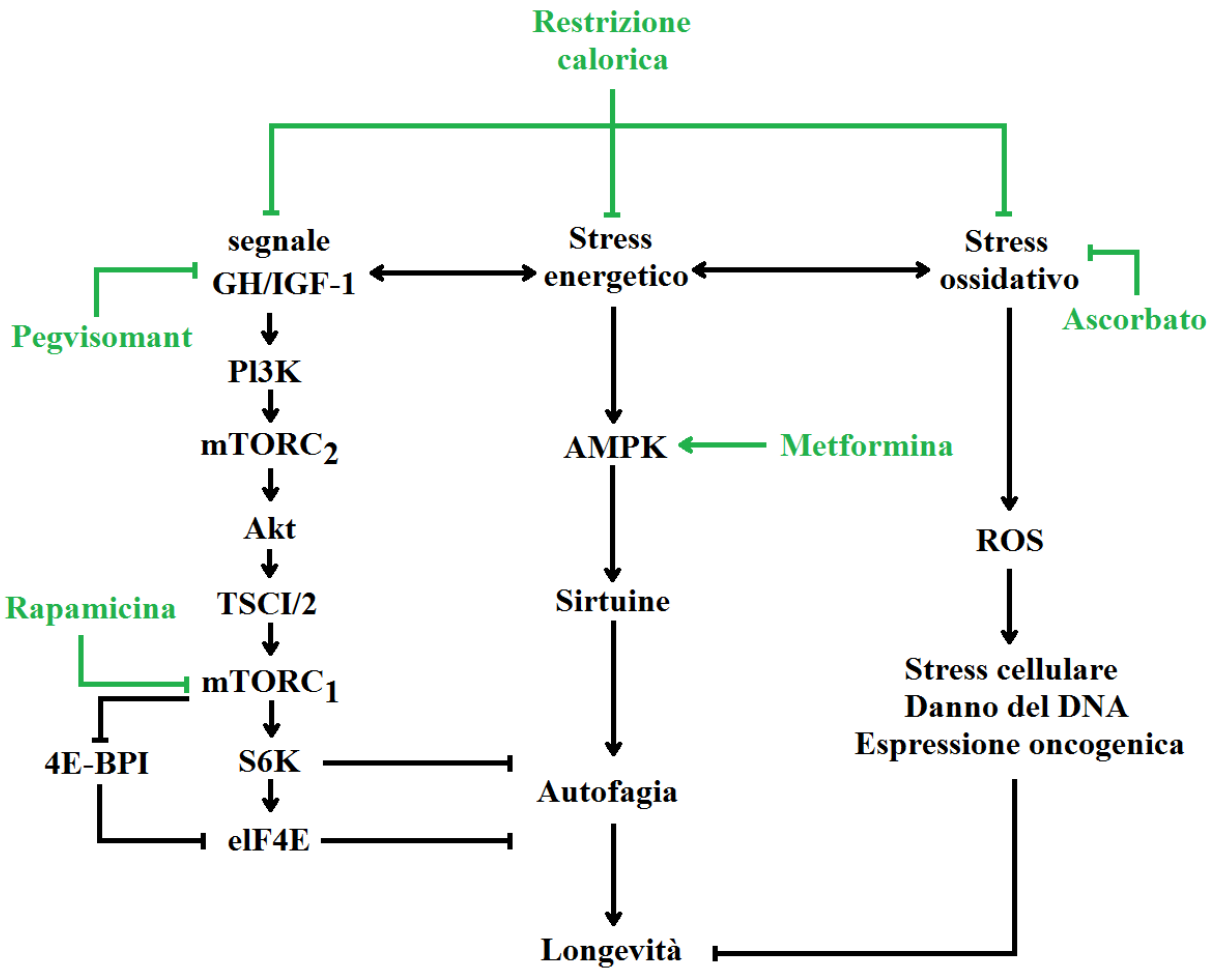


Figura 8.5 - Effetti della restrizione calorica e di alcuni CRM. L'immagine è una rielaborazione dello schema proposto nella Fig. 1 da [Son et al. 2019].

8.4.4 - Modifiche genetiche

Consideriamo le varie possibili strategie per contrastare l'invecchiamento.

L'attivazione o la riattivazione della telomerasi (Metodo A) dovrebbe eliminare le parziali alterazioni della funzionalità cellulare nella senescenza cellulare graduale ripristinando la piena funzionalità cellulare e ridurre il rischio di innescare il programma di senescenza cellulare, ma non è in grado di annullare la condizione di senescenza cellulare né le alterazioni nelle funzionalità cellulare caratteristiche di questa condizione.

L'eliminazione delle cellule senescenti mediante farmaci senolitici (Metodo B) può migliorare la funzionalità complessiva di tessuti e organi ma non può annullare le alterazioni della funzionalità

cellulare della senescenza cellulare graduale e quindi non può avere gli effetti dell'attivazione della telomerasi.
L'applicazione combinata e ripetuta di A e B (Metodo C) a partire da un'età non giovane otterrebbe i vantaggi dei due metodi ma non potrebbe eliminare i danni anatomici o funzionali che si sono verificati prima dell'applicazione di questi metodi.
L'applicazione combinata e ripetuta di A e B a partire da età giovanili (Metodo D), per la precocità degli interventi limiterebbe il danno anatomico o funzionale preesistente.

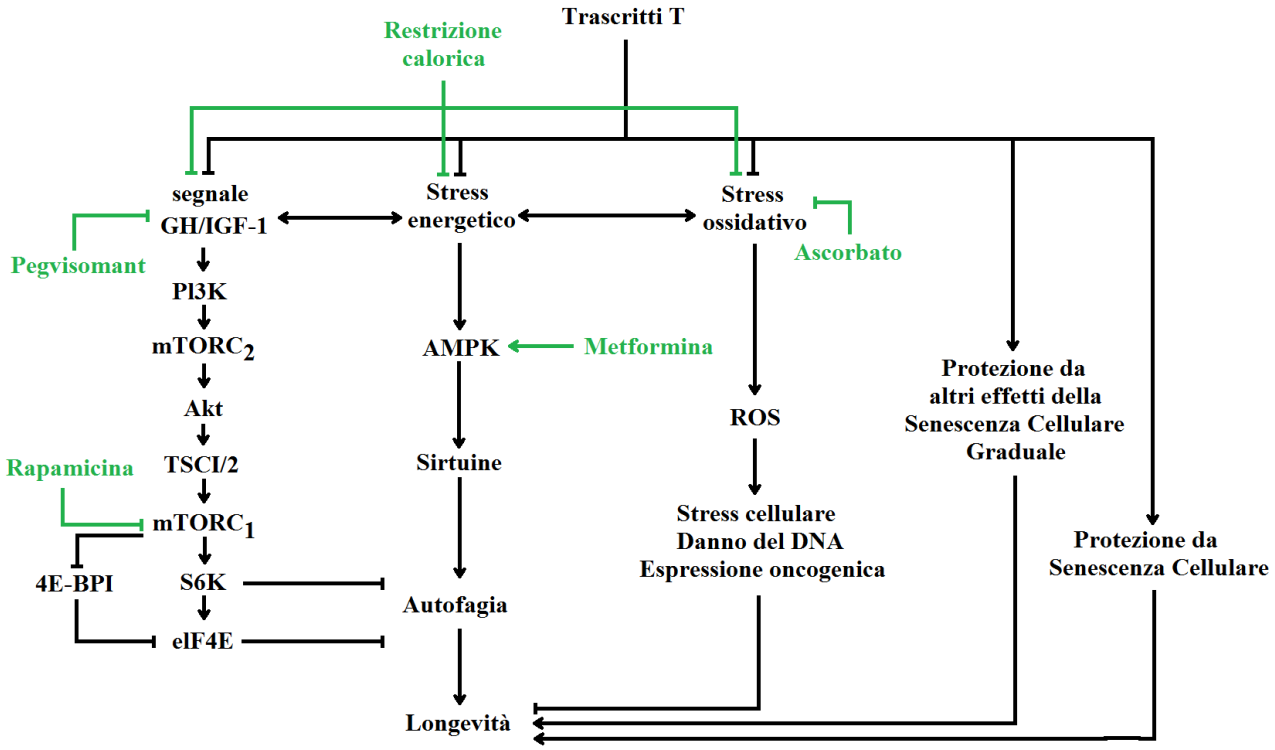


Figura 8.6 – Lo schema della Fig. 8.5 inserito nel più ampio contesto degli effetti dei trascritti T.

Tuttavia, i metodi A e B hanno entrambi un limite intrinseco che, da un punto di vista teorico, impedisce loro di essere proposti come soluzione completa per l'invecchiamento.
Il pool di ciascun tipo di cellule staminali primarie, poiché queste non hanno una telomerasi perfettamente attiva, si esaurisce lentamente in quanto una frazione crescente correlata all'età di tali cellule soffre di senescenza cellulare e quindi di senescenza replicativa. Questa deplezione potrebbe essere rallentata ma non annullata da attivazioni precoci e frequenti della telomerasi.
Un intervento più radicale, basato su modifiche genetiche, fu proposto in un precedente lavoro [Libertini e Ferrara 2016a].

Questo ipotetico intervento si basava sull'inserimento di una sequenza inerte nella giunzione subtelomero-telomero al fine di evitare qualsiasi inibizione del subtelomero prima di un certo accorciamento del telomero. La concomitante ripetuta attivazione della telomerasi, che determinava l'allungamento dei telomeri, avrebbe mantenuto la lunghezza del telomero entro limiti che non avrebbero comportato l'inibizione del subtelomero.
Per questo approccio, a parte i problemi etici (discussi separatamente) e le difficoltà tecniche, un esame più attento solleva alcune importanti obiezioni:
(i) I telomeri in ciascuna cellula sono uguali al numero delle estremità delle molecole di DNA (92 in una cellula umana) e le giunzioni subtelomero-telomero non sono necessariamente uguali per tutte le estremità;

(ii) Le prove relative alle sequenze subtelomeriche TERRA mostrano che ci sono almeno due tipi di sequenze subtelomeriche. Inoltre, potrebbero esserci estremità del DNA senza queste sequenze e quindi con diverse sequenze di nucleotidi;
(iii) La trascrizione delle sequenze T include anche la trascrizione di alcuni *motif* telomerici.

Ciò origina alcune esigenze:
A) Prima di tutto, è necessario conoscere per tutte le estremità delle molecole di DNA cellulare la sequenza e la funzione dei loro segmenti subtelomerici. È probabile che sia necessario un diverso tipo di intervento in base ai vari tipi di sequenze subtelomeriche;
B) Se una sequenza inerte viene inserita prima del primo *motif* telomerico, l'incompleto trascritto T potrebbe essere inattivo o malfunzionante. Si dovrebbe verificare se l'inserimento di una sequenza inerte dopo alcuni *motif* consente ai trascritti T di essere perfettamente funzionali;
C) È probabile che in caso di duplicazione di una sequenza T, la sovraespressione della sequenza possa causare disfunzioni. Questo deve essere verificato, così come verificare gli effetti della duplicazione di una sequenza T insieme alla disattivazione della sequenza originale.

Queste considerazioni evidenziano che per l'implementazione di un'efficace modifica genetica con gli scopi prima descritti, è necessario un intenso lavoro preliminare per ottenere una comprensione completa delle sequenze subtelomeriche e delle loro funzioni e degli effetti che si ottengono con vari tipi di modificazioni genetiche.
È chiaro che, dal punto di vista teorico, tutto ciò rappresenta un compito molto difficile ma non impossibile. Lo scopo di questi cambiamenti sarebbe quello di rendere le cellule staminali primarie meno vulnerabili o resistenti all'attivazione del programma di senescenza cellulare al fine di rallentare o evitare il progressivo declino correlato all'età nel ricambio cellulare. Solo con il pieno controllo di questo declino sarà possibile evitare qualsiasi alterazione anatomica o funzionale che di regola si osservano nell'invecchiamento.
Questi concetti sono riassunti nella Tabella 8.3.

Tabella 8.3 - Possibili effetti di vari metodi per contrastare le manifestazioni dell'invecchiamento
(Abbreviazioni: S = effetto positivo; - = effetto nullo o non rilevante)

	Trattamenti				
	A	B	C	D	E
Alterazioni correlate all'età	**Attivazione della telomerasi**	**Eliminazione di cellule senescenti**	**A + B a partire da età anziane**	**A + B a partire da età giovanili**	**D + Modifiche genetiche per contrastare il declino del turnover cellulare**
Numero crescente di cellule in senescenza cellulare graduale	S	-	S	S	S
Numero crescente di cellule in senescenza cellulare	-	S	S	S	S
Declino del turnover cellulare	S/-	-	S/-	S/-	S
Alterazioni anatomiche e funzionali irreversibili	-	-	-	S/-	S

8.4.5 - Problemi etici

I problemi etici legati all'uso di metodi che possono rallentare o bloccare il processo di invecchiamento sono stati discussi in due articoli [Libertini e Ferrara 2016a; Libertini et al. 2018] e tale questione è approfondita in questa sezione.
Qualsiasi sperimentazione con l'obiettivo di ottenere farmaci o metodi in grado di curare una malattia o migliorarne i sintomi, richiede la dovuta attenzione in relazione ai problemi etici connessi

alla ricerca specifica. Qui non vi è alcun desiderio di discutere o addirittura di menzionare problemi etici che sono, in varia misura, comuni nella ricerca biomedica, ma è messo in evidenza e brevemente discusso solo il problema etico specifico che esiste o potrebbe nascere riguardo alla ricerca di metodi che potrebbero rallentare o bloccare l'invecchiamento.
Nella visione tradizionale del paradigma dell'invecchiamento non adattativo, la senescenza è il risultato cumulativo di vari processi degenerativi. Gli effetti di ciascuno di essi possono essere definiti come una malattia e inoltre il loro risultato complessivo può essere facilmente definito come una sindrome con genesi multifattoriale. Secondo questa interpretazione, la lotta contro l'invecchiamento non è radicalmente diversa dalle azioni volte a contrastare una qualsiasi malattia.
Tuttavia, anche in questa visione tradizionale, un metodo ipotetico in grado di cambiare radicalmente i ritmi dell'invecchiamento sarebbe visto come un qualcosa che cambia fortemente la natura umana e di conseguenza anche la struttura sociale e culturale dell'umanità. Sebbene per il paradigma dell'invecchiamento non adattativo un tale metodo sia considerato molto improbabile o chiaramente impossibile, la sua grande differenza rispetto al trattamento delle malattie comuni è considerata evidente. Non è una coincidenza che gli unici casi in cui, nel mito o nella fantasia, l'uomo raggiunge l'immortalità, ciò è il risultato di una concessione divina o di un patto con il diavolo e problemi filosofici ed etici di grande importanza ne seguono sempre: "... la senescenza è il soggetto di un vasto insieme di materia edificante: letteraria, filosofica e religiosa. Un prodotto di questo atteggiamento - la convinzione che sia empio e debba condurre a qualche forma di disastro punitivo quando si interferisce con il destino o il processo dell'invecchiamento - è con noi oggi." [Comfort 1979, pagg. 2-3]. Di conseguenza, anche nell'interpretazione tradizionale dell'invecchiamento, esistono problemi etici ma sono considerati irrealistici o completamente remoti come conseguenza della creduta impossibilità di controllare efficacemente un processo determinato da un disordine caotico e crescente dell'organismo.
Per il paradigma dell'invecchiamento adattivo, il problema cambia radicalmente. In questo paradigma, l'invecchiamento non è una malattia e, al contrario, viene proposto come un processo fisiologico modellato e favorito dalla selezione naturale. Secondo questa concezione, è impossibile "curare" una non-malattia come l'invecchiamento, mentre, come descrizione corretta dell'azione, è possibile "modificare" o persino controllare completamente l'invecchiamento quale evento fisiologico.
La differenza tra le due concezioni non è affatto una semplice questione semantica di definizioni e implica profonde conseguenze.
Certamente, quando vi sono forme di accelerazione del processo di invecchiamento determinate da abitudini di vita insalubri o forme anormali di invecchiamento causate da geni alterati, è assolutamente corretto definire questi fenomeni come malattie e combatterli con le energie e le forme utilizzate per qualsiasi malattia senza particolari problemi etici.
Al di fuori di questi casi, vale a dire considerando solo l'invecchiamento nelle sue caratteristiche e nei suoi ritmi fisiologici, una modifica o un blocco del processo di invecchiamento è qualcosa di profondamente diverso dal trattamento di una malattia.
È vero che l'invecchiamento potrebbe essere definito come una malattia *sui generis* perché, sebbene sia fisiologico nella sua determinazione ed espressione, comporta necessariamente sofferenza e morte. Ciò servirebbe a nascondere un problema che, anche se apparentemente cancellato, rimarrebbe intatto nella sua natura principale.
Abbiamo anche vari gradi in cui il problema può manifestarsi.
Consideriamo un trattamento che ritarda una manifestazione dell'invecchiamento, ad esempio un metodo in grado di limitare o evitare le manifestazioni della malattia di Alzheimer nelle persone molto anziane. Sebbene la malattia di Alzheimer sia la regola nelle età più anziane e faccia parte delle manifestazioni dell'invecchiamento, questo metodo sarà sicuramente considerato il trattamento efficace di una malattia e nessuno vorrà sollevare questioni etiche.
Consideriamo ora metodi che rallentano significativamente il processo di invecchiamento, ad esempio aggiungendo decenni di vita senza i problemi invalidanti dell'invecchiamento. Anche qui,

potremmo mentire a noi stessi fingendo di aver sconfitto una serie di malattie. In realtà, questi metodi modificherebbero la fisiologia e la natura umana. A questo punto il problema etico esiste: possiamo sostenere che questi metodi sono giusti ed eticamente ammissibili o anche argomentare diversamente, ma non è ammissibile sostenere che non vi è alcun problema etico.
Questo problema sarebbe ancora più evidente se questi metodi fossero in grado di controllare completamente il processo di invecchiamento o, come estrema possibilità, se comporterebbero manipolazione del genoma umano.
È chiaro che esiste una specifica questione etica per il trattamento dell'invecchiamento e sarebbe illusorio o superficiale negarne o sottostimarne l'importanza.
Va notato che qui si evidenzia l'esistenza del problema, ma che non esiste alcuna volontà di investigarlo nei termini che esso richiede.
"In breve, è eticamente accettabile perseguire l'obiettivo di una longevità illimitata, anche se questo obiettivo implica plausibilmente azioni sull'attività dei geni o persino cambiamenti genetici permanenti?
Una facile risposta potrebbe essere che ciò è accettabile senza riserve. La risposta opposta potrebbe essere che vi sono limiti da osservare in modo rigoroso quando la natura umana viene modificata in una delle sue caratteristiche essenziali (vale a dire il suo ciclo di vita naturale)." [Libertini et al. 2018].
Il controllo completo dell'invecchiamento fino alla condizione mostrata dalle specie "con trascurabile senescenza" [Finch 1990], vale a dire la durata illimitata della vita tranne che per la morte da eventi accidentali, non è affatto la cura perfetta di una malattia ma costituisce un cambiamento radicale della natura umana. Nei miti dell'antica Grecia, un mortale che cercava di diventare immortale eguagliando la condizione degli dei era colpevole di un peccato molto grave e imperdonabile, definito come ὕβρις, vale a dire orgoglio empio e arrogante nei confronti della divinità. Inoltre, un religioso potrebbe obiettare che essendo l'uomo un frutto della creazione divina (*Genesi* 1:26: "Allora Dio disse: 'Creiamo l'uomo a nostra immagine, a nostra somiglianza ... "; *Genesi* 1:27:" Quindi Dio ha creato l'uomo a Sua immagine, a immagine di Dio, Egli lo ha creato ..."), qualsiasi modifica di questa creazione sarebbe un sacrilegio e una forma di disprezzo per l'opera divina.
Nella nostra discussione, non vi è alcuna risposta o soluzione proposta e, in nessun modo, alcuna risposta o soluzione suggerita come originata da considerazioni scientifiche. Per definizione, un problema etico è qualcosa per cui la scienza può presentare i termini del problema, ma le possibili risposte sono il risultato di valutazioni che vanno oltre la sfera scientifica e appartengono ad altri campi, che possono essere religiosi, filosofici, politici o, in generale, etico.

8.5 - Geriatria e società attuale

Alcune condizioni discusse nella *Sezione 8.3 - Accelerazione dell'invecchiamento: prevenzione e trattamento* (stili di vita non sani e loro conseguenze; ad es., diabete, fumo, ipertensione, obesità e dislipidemia, abuso di alcool) appaiono determinare un'accelerazione generale del processo di invecchiamento. È possibile prevenire queste condizioni e, almeno in parte, contrastare il danno che esse causano, vale a dire limitare l'accelerazione dell'invecchiamento. I buoni risultati ottenuti per queste condizioni mediante misure preventive e curative creano l'illusione fuorviante di un trattamento efficace del processo di invecchiamento o anche l'idea che con maggiori misure preventive e curative analoghe a quelle già utilizzate, sarà possibile ottenere un maggiore controllo dell'invecchiamento. In realtà non ci sono prove che dimostrino che uno stile di vita sano e gli attuali mezzi terapeutici siano in grado di rallentare o bloccare i ritmi fisiologici dell'invecchiamento.
Lo studio di una popolazione umana in condizioni naturali mostra che, nonostante l'assenza o l'irrilevanza delle malattie attuali che affliggono o uccidono gran parte degli individui nell'era

moderna, vi è un progressivo declino della capacità di sopravvivenza correlato all'età fino a raggiungere limiti incompatibili con la vita [Hill e Hurtado 1996; Libertini 2013].
Al di là dei successi trionfali della medicina moderna, il più delle volte contro malattie assenti o molto rare in condizioni primitive, i sofisticati farmaci moderni e le tecniche diagnostiche e terapeutiche avanzate risultano inefficaci e inutili per contrastare l'invecchiamento fisiologico.
In passato Erodoto, nelle sue Storie (III, 23) [Erodoto V sec. a.C.], riferì di un rimedio illusorio contro l'invecchiamento, ovvero bere l'acqua miracolosa della fontana della giovinezza capace di garantire la giovinezza eterna e quindi l'immortalità. Un altro mito, forse originato dal saggio cinese Wei Po-Yang (II secolo d.C.), era la cosiddetta pietra filosofale, che era in grado di trasformare il piombo in oro e di evitare i cambiamenti causati dall'invecchiamento [Comfort 1979]. Nel corso dei secoli sono stati frequenti miti, fantasie e laboriose ricerche di sostanze o mezzi in grado di sconfiggere l'invecchiamento [Comfort 1979].
Oggi è un'idea diffusa, ma non necessariamente vera, che l'invecchiamento sia l'ineluttabile risultato finale di innumerevoli processi degenerativi, inevitabili e incontrollabili [Hayflick 2007a], sebbene non sia esclusa la possibilità di risultati marginali e transitori che possono parzialmente opporsi al processo di invecchiamento e prolungare di vari anni la vita [De Grey 2005]. La concezione prevalente, vale a dire il paradigma dell'invecchiamento non adattativo, è che questi processi degenerativi non costituiscono un processo unitario e non hanno o possono avere qualsiasi valore adattativo. Come conseguenza logica, come già detto, non esiste un codice distinto per l'invecchiamento nella classificazione internazionale delle malattie [OMS 2016, 2018] e, nelle statistiche ufficiali mondiali, l'invecchiamento come causa di morte è assente [WorldLifeExpectancy 2017; World Ranking Total Deaths 2017].
Questa lunga storia di fallimenti e delusioni a riguardo dell'invecchiamento è la radice della concezione e della pratica della corrente geriatria che difende il suo totale fallimento mediante il concetto dell'impossibilità di un trattamento efficace dell'invecchiamento: "La geriatria, se vogliamo dire le cose senza eufemismi, è attualmente l'attività medica che più abbonda di insuccessi. Non è in grado di curare l'invecchiamento e, in effetti, l'incurabilità dell'invecchiamento è sottolineata dalla stessa disciplina per giustificare il suo fallimento. La geriatria, nella migliore delle ipotesi, ci consente di mitigare le sofferenze dei vecchi e di compensare i deficit da loro causate. In altri casi, può applicare solo trattamenti palliativi e supporto psicologico." [Libertini et al. 2018].
L'assenza di mezzi efficaci contro l'invecchiamento non è semplicemente solo un problema di rilevanza medica ed è in verità qualcosa che riguarda profondamente la struttura sociale, economica, filosofica, religiosa, culturale e politica di qualsiasi civiltà umana.
Ogni cultura passata e presente è condizionata in tutti i suoi aspetti dalla progressiva senescenza di tutti i suoi individui e dalla loro limitata durata della vita. Anche quando non parliamo direttamente dell'invecchiamento e delle sue conseguenze, idee e azioni sono condizionati da questa realtà.
L'impotenza dell'attuale geriatria non è oggetto di alcuna protesta da parte di pazienti e familiari perché questa è solo la conferma di un concetto che ha sempre pervaso tutte le culture umane.

8.6 - Geriatria e società futura

La teoria dell'invecchiamento programmato o adattivo suggerisce che l'invecchiamento è un fenomeno fisiologico, "una specifica funzione biologica" [Skulachev 1997], la quale deve necessariamente essere determinata e regolata da geni specifici. Ciò significa che, poiché l'invecchiamento non è causato da processi degenerativi casuali e incontrollabili, in linea di principio è possibile concepire azioni che potrebbero rallentare o arrestare o addirittura invertire il processo di invecchiamento.
Escludendo ipotesi infondate e desideri ingannevoli e rimanendo strettamente legati ai fatti, una serie di esperimenti, riportati nei capitoli e nelle sezioni precedenti, dimostra che queste possibilità sono realistiche. Nella concezione dell'invecchiamento come fenomeno adattativo e fisiologico,

sono già in fase di sperimentazione azioni e metodi concreti per combattere l'invecchiamento e le prospettive di un efficace controllo dell'invecchiamento non devono più essere considerate un'idea senza basi scientifiche, ovvero una sorta di versione moderna della fontana della giovinezza o della pietra filosofale. In particolare, l'attivazione o la stimolazione della telomerasi e l'eliminazione selettiva delle cellule senescenti da parte dei farmaci senolitici hanno già mostrato buoni risultati e prospettive nei modelli animali e non esiste alcun argomento teorico contro la possibile efficacia di questi tipi di interventi nell'uomo.
È proponibile il passaggio da una geriatria palliativa e inefficace a una geriatria che può cambiare radicalmente o addirittura annullare il processo di invecchiamento. Con le riserve etiche del caso, una rivoluzione nella gerontologia e nella geriatria è quindi possibile e la geriatria può essere trasformata dal più grande fallimento al più grande successo della medicina [Libertini et al. 2018].
In ogni caso, è assolutamente necessario evitare di credere o peggio di proporre come risultato scientifico l'idea che il controllo completo dell'invecchiamento, o una società con individui che non invecchiano, sia solo e semplicemente qualcosa di positivo:
"... molte sofferenze di oggi finirebbero, ma molte altre avrebbero inizio. I nostri discendenti ci commisererebbero per la nostra limitata durata della vita e longevità, ma ci invidierebbero per tante altre cose.
Una società composta da individui con una longevità molto lunga non può essere in modo semplice la stessa società di oggi. Tutto o la maggior parte delle cose dovrebbe cambiare.
Un rischio molto piccolo per la vita considerato oggi accettabile perché l'aspettativa di vita è di qualche decennio, diventa inaccettabile se vi è un'aspettativa di vita molto lunga. Misure rigorose per prevenire gli incidenti - con una severità attualmente inimmaginabile - sarebbero la regola.
Oggi la procreazione è libera ed è uno dei diritti considerati inviolabili. La limitazione a un solo figlio per famiglia imposta in Cina sembra alla maggior parte delle persone una limitazione inaccettabile. In una società con una durata di vita molto lunga, le nascite sarebbero regolate e limitate in proporzione. I bambini sarebbero un'eccezione rara, coccolati e protetti da intere comunità. La maternità diventerebbe un raro privilegio.
Oggi il matrimonio è un giuramento che dura per tutta la vita e la sua rottura è un trauma fortemente scoraggiato. Il matrimonio si trasformerebbe in un impegno temporaneo con regole e limitazioni specifiche.
Oggi un uomo studia per un certo periodo della sua vita, quindi lavora per un altro periodo e poi si ritira in pensione, godendosi i frutti del suo lavoro. Questo stile di vita non sarebbe più possibile. Forse ci sarebbe un'alternanza tra periodi di lavoro e altri di riposo o studio.
Il livello medio di istruzione aumenterebbe enormemente e anche i casi di persone con varie lauree e specializzazioni sarebbero frequenti, perché dopo un certo periodo ci sarebbe una esigenza psicologica di cambiare l'oggetto di studio e di lavoro.
Ci sarebbe un'attenzione estrema alle cose belle, artistiche e poetiche, e ci sarebbero esempi supremi di amanti delle discipline artistiche, ma anche mostruosi esempi di egoismo e malvagità.
Ma ci sarebbe anche la diffusione di ciò che i romani chiamavano *taedium vitae*, e forse il suicidio diventerebbe la principale causa di morte.
Le guerre - nella memoria - diventerebbero un simbolo di estrema follia, ma il mondo sarebbe statico e uniforme. I nostri discendenti esprimerebbero compassione per noi per le nostre innumerevoli guerre e tuttavia nelle rappresentazioni di azioni storiche perseguirebbero quelle emozioni che mancherebbero completamente nella vita di tutti i giorni - un po' come quando deploriamo i problemi dei secoli passati ma siamo affascinati dalle rappresentazioni di guerrieri che combattono con spade, archi e altre armi antiche.
Le persone potenti e/o ricche sarebbero in grado di ottenere picchi di potere e/o ricchezza oggi inconcepibili. Molte regole sarebbero predisposte per limitare gli eccessi e assicurare il ricambio nella gestione del potere.
E cosa possiamo dire di filosofia, religione, politica, poesia, sociologia, psicologia, etc.? Tutto cambia se l'aspettativa per la durata della vita è immensamente grande.

Figura 8.7 - Il nuovo dilemma amletico: durata della vita illimitata o limitata?

Cinici e non credenti affermerebbero che Dio, la religione e la filosofia sono riformulate e adattate alla nuova società, dimostrando ancora una volta di essere solo creazioni della mente umana.
Mistici e credenti affermerebbero invece che Dio, la religione e la filosofia sono immutate nella loro essenza e che una vita illimitata nella sua durata consente un migliore livello di comprensione, perché saremmo meno limitati da legami fisici.
L'economia e la politica avrebbero obiettivi radicalmente diversi. Oggi, programmiamo per la generazione contemporanea e un po' - se uno è lungimirante - per la successiva. In futuro, gli uomini penserebbero prima al futuro, dato che la generazione contemporanea dovrebbe vivere in quel tempo." [Libertini 2009b]
Con il progredire della comprensione dei meccanismi che determinano la durata della vita, è probabile che diventino disponibili sempre più strumenti in grado di influenzarla. Tuttavia, senza cambiamenti fondamentali nella biologia dell'intera specie, dalle interazioni sociali all'adeguamento del posto e del ruolo della specie nell'ecosistema, improvvise modifiche della durata della vita sembrano discutibili, se non pericolose. Anche se riguardasse un numero limitato di "eletti", è probabile che un'estensione sostanziale della durata della vita generi un contrasto fra gli interessi di pochi individui e gli interessi e la stabilità dell'intera popolazione e persino della specie e dell'ecosistema.
Forse il dilemma di Amleto, la scelta tra la vita e la morte, riformulata come scelta tra durata della vita illimitata e limitata, sarà la decisione principale che le prossime generazioni dovranno prendere (Fig. 8.7). In ogni caso, questa scelta sarà al di là dei compiti e dei limiti della scienza.

Appendice – Parte A

"Gene" è definito come qualcosa che viene trasmesso da un individuo, o dagli individui parentali, alla generazione successiva come una copia esatta, ad eccezione di eventi imprevedibili definiti "mutazioni". Un gene modificato da una mutazione viene trasmesso con uguale precisione.
"Generazione" è definita come il tempo necessario affinché ci siano N decessi all'interno di una popolazione composta da un numero costante di N individui, determinando così il rinnovamento dell'intera popolazione (anche se non necessariamente nello stesso periodo per tutti gli individui).

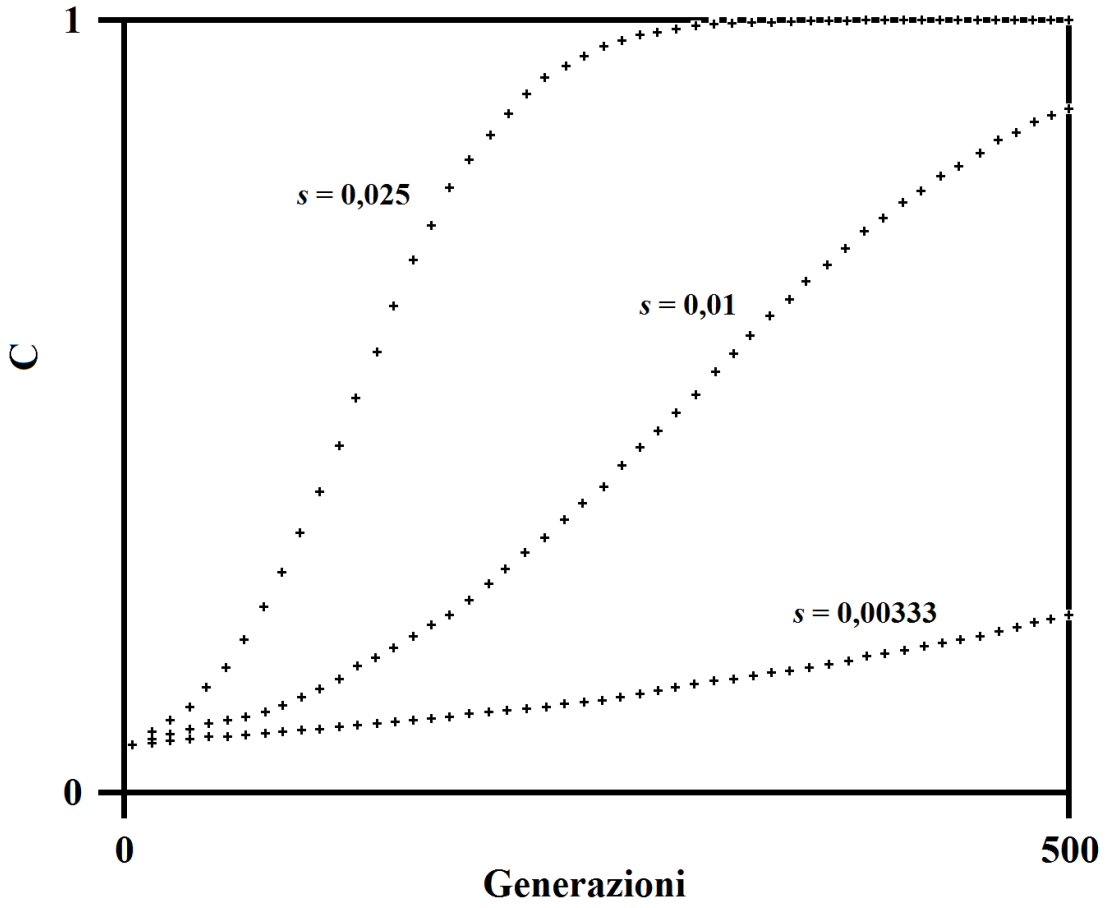


Figura A.1 - Diffusione all'interno di una specie di un gene con vantaggio *s*. I valori di *s* per le varie curve sono indicati vicino a ognuna di esse. Per tutte le curve: $C_0 = 0{,}05$.

--- Condizione aploide

Supponiamo che, in un ipotetico organismo aploide, ogni individuo, in un punto specifico del genoma, abbia o il gene C, con costante espressione fenotipica che determina il vantaggio *s* ($s > 0$), o, come unica alternativa, l'allele C' che è inattivo. Se $s < 0$, è definito come svantaggio. In una popolazione con un numero costante di individui, scrivendo all'ennesima generazione la frequenza di C e C' rispettivamente con C_n e C'_n, il vantaggio *s* è descritto dalla seguente formula:

$$C_{n+1} = \frac{C_n (1 + s)}{C_n (1 + s) + C'_n} \qquad (A.1)$$

$$C'_{n+1} = \frac{C'_n}{C_n (1 + s) + C'_n} \qquad (A.2)$$

Il denominatore, che è dato dalla somma dei due numeratori, mantiene costante la somma delle frequenze:

$$C_x + C'_x = 1 \qquad (A.3)$$

Considerando la (A.3), la formula (A.1) diventa:

$$C_{n+1} = \frac{C_n (1 + s)}{C_n + C'_n + C_n s} = \frac{C_n (1 + s)}{1 + C_n s} \qquad (A.4)$$

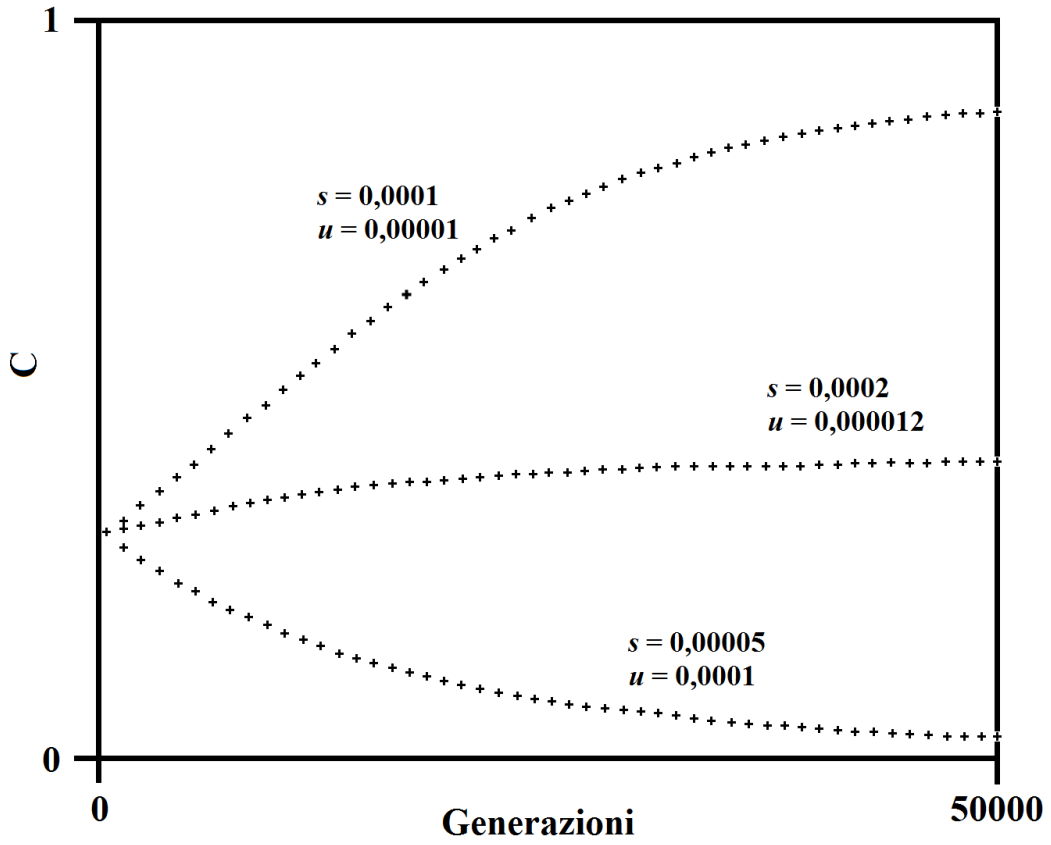


Figura A.2 - Variazioni di frequenza di C secondo alcuni valori di *s* e *u*, che sono indicati vicino a ciascuna curva. Per tutte le curve: $C_0 = 0,3$. La curva inferiore mostra che se il decadimento *u* agisce con maggiore intensità del vantaggio *s*, la frequenza di C diminuisce. È stato assunto un valore molto basso per *s* per mostrare questo effetto.

La diffusione di un gene secondo la variazione del valore di *s* è illustrata nella Fig. A.1. I valori di C_x sono ottenuti dall'uso iterativo di (A.4). C' non è calcolato né indicato, poiché è immediatamente ottenibile dalla formula:

$$C'_x = 1 - C_x \qquad (A.5)$$

Se assumiamo che C ad ogni generazione muta in C' con frequenza *u* e che la frequenza di retromutazione di C' in C è trascurabile, abbiamo:

$$C_{n+1} = \frac{C_n (1 + s) - C_n u}{D} \qquad (A.6)$$

$$C'_{n+1} = \frac{C'_n + C_n u}{D} \qquad (A.7)$$

dove il denominatore D è uguale alla somma dei numeratori.

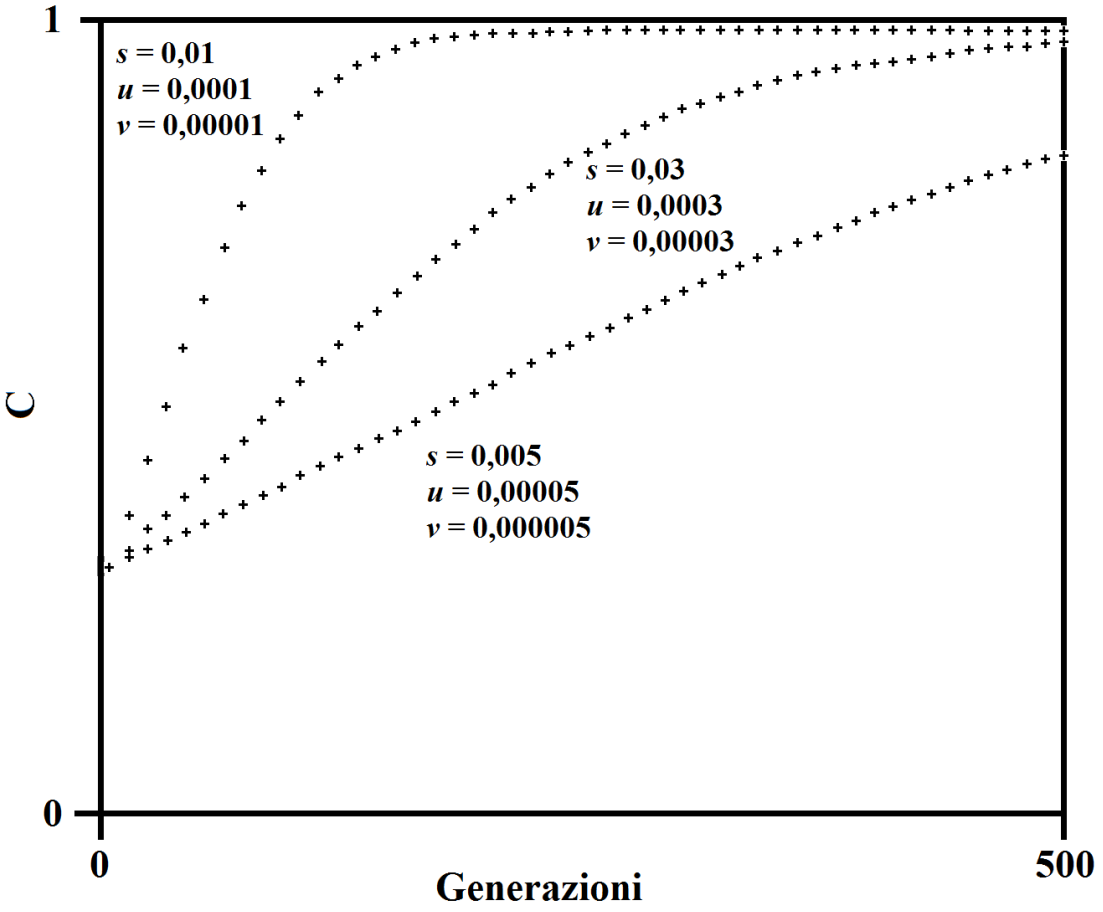


Figura A.3 - Variazioni di frequenza di C secondo alcuni valori di *s*, *u* e *v*. I valori di *s*, *u* e *v* sono indicati vicino a ciascuna curva. Per tutte le curve $C_0 = 0{,}3$.

Elaborando la prima formula otteniamo:

$$C_{n+1} = \frac{C_n (1 + s - u)}{C_n (1 + s) - C_n u + (1 - C_n) + C_n u} = \frac{C_n (1 + s - u)}{1 + C_n s} \qquad (A.8)$$

Le variazioni di frequenza di C secondo alcuni valori di *s* e *u* sono illustrate nella Fig. A.2.

Consideriamo ora anche la retromutazione C' -> C che ha una frequenza *v*. Abbiamo:

$$C_{n+1} = \frac{C_n (1 + s) - C_n u + C'_n v}{C_n (1 + s) - C_n u + C'_n v + C'_n + C_n u - C'_n v}.$$

$$= \frac{C_n (1 + s - u) + (1 - C_n) v}{C_n (1 + s) + (1 - C_n)}$$

$$= \frac{C_n (1 + s - u - v) + v}{1 + C_n s} \qquad (A.9)$$

Le variazioni di frequenza di C secondo alcuni valori di *s*, *u* e *v* sono illustrate nella Fig. A.3. Supponendo che sia *u* che *v* = 0, abbiamo le formule della Fig. A.1, e supponendo che solo *v* = 0, abbiamo le formule della Fig. A.2.

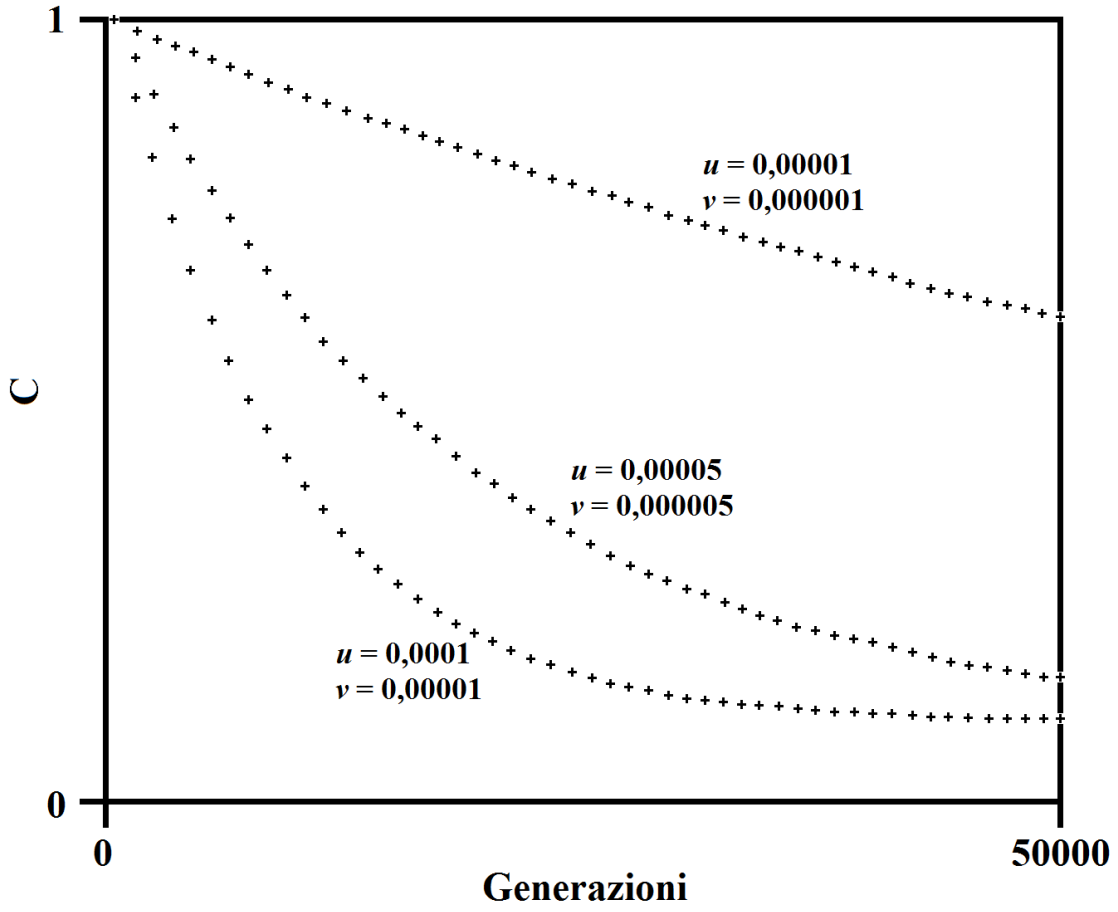


Figura A.4 - Decadimento di un gene neutro. I valori di *u* e *v* sono indicati vicino a ciascuna curva. Per tutte le curve $C_0 = 1$.

Se ipotizziamo che non vi sia alcun vantaggio (o svantaggio) di C su C', vale a dire *s* = 0, dalla formula A.9, otteniamo:

$$C_{n+1} = \frac{C_n (1 + s - u - v) + v}{1 + C_n s} = C_n (1 - u - v) + v \qquad \text{(A.10)}$$

che, scrivendo Q = 1 - *u* - *v*, diventa:

$$C_{n+1} = C_n Q + v \qquad \text{(A.11)}$$

Se questa semplice formula deve essere applicata su un gran numero di generazioni, il calcolo può essere semplificato osservando che:

$$C_{n+2} = C_{n+1} Q + v = (C_n Q + v) Q + v$$

$$C_{n+3} = C_{n+2} Q + v = ((C_n Q + v) Q + v) Q + v$$

. . . . . .

$$C_n = C_o Q^n v \ (1 + Q^1 + Q^2 .... + Q^n) \qquad (A.12)$$

e, applicando la formula della serie geometrica:

$$C_n = C_o Q + v \frac{1 - Q^n}{1 - Q} \qquad (A.13)$$

Pertanto è possibile ottenere una formula non iterativa, cioè una formula che deve essere utilizzata solo una volta e non n volte per calcolare il valore di C all'ennesima generazione. Il decadimento di un gene neutro, influenzato solo dai valori di *u* e *v*, è illustrato nella figura A.4.

Definendo poi come "frequenza di equilibrio" (C_e) di un gene C la condizione in cui non vi è alcuna modifica della frequenza di C da una generazione alla successiva, ovvero quando:

$$C_e = C_{n+1} = C_n \qquad (A.14)$$

è possibile ottenere C_e dalla (A.10):

$$C_{n+1} = C_n (1 - u - v) + v$$

$$C_e = C_e (1 - u - v) + v$$

$$C_e (1 - 1 + u + v) = v$$

$$C_e = \frac{v}{u + v} \qquad (A.15)$$

Questa è una formula familiare in genetica ed è indipendente da C_0 [Srb et al. 1965].

Supponendo che la frequenza *v* della retromutazione C' -> C sia uguale a zero, e considerando solo *s* e *u* per il calcolo della frequenza di equilibrio, come indicato dalla formula (A.8):

$$C_{n+1} = \frac{C_n (1 + s - u)}{1 + C_n s}$$

poiché all'equilibrio $C_{n+1} = C_n = C_e$, se dividiamo entrambi i membri di questa formula per C_e (un'operazione valida se $C_e \neq 0$), otteniamo:

$$1 = \frac{1 + s - u}{1 + C_e s}$$

$$1 + C_e s = 1 + s - u$$

$$C_e = \frac{s - u}{s} = \frac{1 - u}{s} \qquad (A.16)$$

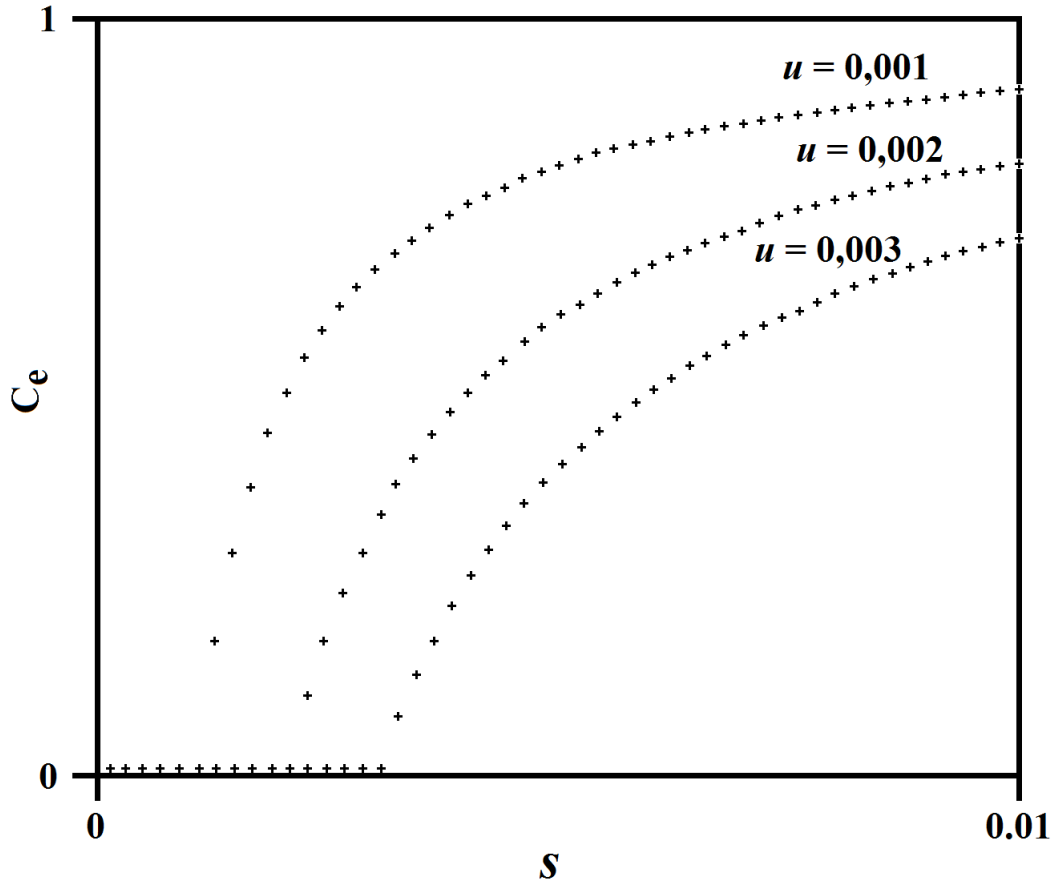


Figura A.5 - Frequenze di equilibrio di un gene con vantaggio *s* e decadimento *u*. Nelle ascisse la differenza del valore di *s* tra una croce e la successiva è pari a 0,0002. I valori di *u* sono indicati vicino a ciascuna curva.

Utilizzando procedure analoghe, è possibile ottenere:

$$C'_e = u/s \qquad (A.17)$$

e così, ancora:

$$C_e + C'_e = 1 - u/s + u/s = 1 \qquad (A.18)$$

Le frequenze di equilibrio per alcuni valori di *s* e *u* sono illustrate nella Fig. A.5.

--- Condizione diploide

Innanzitutto, è necessario ricordare la formula di Hardy-Weinberg (CC + 2 CC'+ C'C' = 1) con la quale, mediante un semplice calcolo, possiamo ottenere la frequenza dei tre possibili genotipi dei due alleli, C e C':
Frequenza del genotipo CC = C^2;
Frequenza del genotipo CC'= 2 CC' = 2 C (1 - C);
Frequenza del genotipo C'C'= C'2 = $(1 - C)^2$.
Per quanto riguarda il vantaggio o il vantaggio delle condizioni eterozigote e omozigote, ci sono tre possibili casi.

- *Caso Alfa (diversi effetti nella condizioni eterozigote e omozigote)*

Il gene C, se eterozigote, mostra i vantaggi s' e, se omozigote, il vantaggio s. Usando la formula di Hardy-Weinberg, abbiamo:

$$C_{n+1} = (C_n + 2\, C_n\, (1 - C_n)\, s' + C_n^2\, s - C_n\, u + C'_n\, v) / T \qquad \text{(A.19)}$$

$$C'_{n+1} = (C'_n + 2\, C_n\, (1 - C_n)\, s' + C_n\, u - C'_n\, v) / T \qquad \text{(A.20)}$$

dove T indica la somma dei due numeratori:
$T = C_n + 2\, C_n\, (1 - C_n)\, s' + C_n^2\, s - C_n\, u + C'_n\, v + C'_n + 2\, C_n\, (1 - C_n)\, s' + C_n\, u - C'_n\, v$

Semplificando, otteniamo:

$$C_{n+1} = \frac{C_n\, [1 + 2\, s' + C_n\, (s - 2\, s') - u - v] + v}{1 + 4\, C_n\, s' + C_n^2\, (s - 4\, s')} \qquad \text{(A.21)}$$

- *Caso Beta (gene recessivo)*
Il gene è recessivo, cioè solo nello stato omozigote mostra il vantaggio s. Ciò significa che utilizzando la formula (A.21) e con $s' = 0$, otteniamo:

$$C_{n+1} = \frac{C_n\, (1 + C_n\, s - u - v) + v}{1 + C_n^2\, s} \qquad \text{(A.22)}$$

- *Caso Gamma (gene dominante)*
Il gene è dominante e mostra un identico vantaggio s nello stato eterozigote e nello stato omozigote. Supponendo $s' = s$ nella formula (A.21), otteniamo:

$$C_{n+1} = \frac{C_n\, (1 + 2\, s - C_n\, s - u - v) + v}{1 + 4\, C_n\, s - 3\, C_n^2\, s} \qquad \text{(A.23)}$$

La diffusione di geni recessivi o dominanti in un organismo diploide è illustrata nella Fig. A.6.

Per il calcolo dei valori di equilibrio, è necessario ricordare che $C_{n+1} = C_n = C_e$. Sostituendo C_{n+1} e C_n con C_e nella (A.21), otteniamo:

$$C_e\, [1 + 4\, C_e\, s' + C_e^2\, (s - 4\, s')] = C_e\, [1 + 2\, s' + C_e\, (s - 2\, s') - u - v] + v \qquad \text{(A.24)}$$

Questa è un'equazione di terzo grado con soluzioni lunghe e complesse. Se si assume, come condizione semplificante, che $v = 0$, la formula (A.24) diventa:

$$C_e\, [1 + 4\, C_e\, s' + C_e^2\, (s - 4\, s')] = C_e\, [1 + 2\, s' + C_e\, (s - 2\, s') - u] \qquad \text{(A.25)}$$

- *Caso Alfa (diversi effetti nelle condizioni eterozigote e omozigote)*
Le soluzioni sono $C_e = 0$ e:

$$C_e = \frac{s - 6\, s' \pm \sqrt{(s - 2\, s')^2 - 4\, u\, (s - 4\, s')}}{2\, (s - 4\, s')} \qquad \text{(A.26)}$$

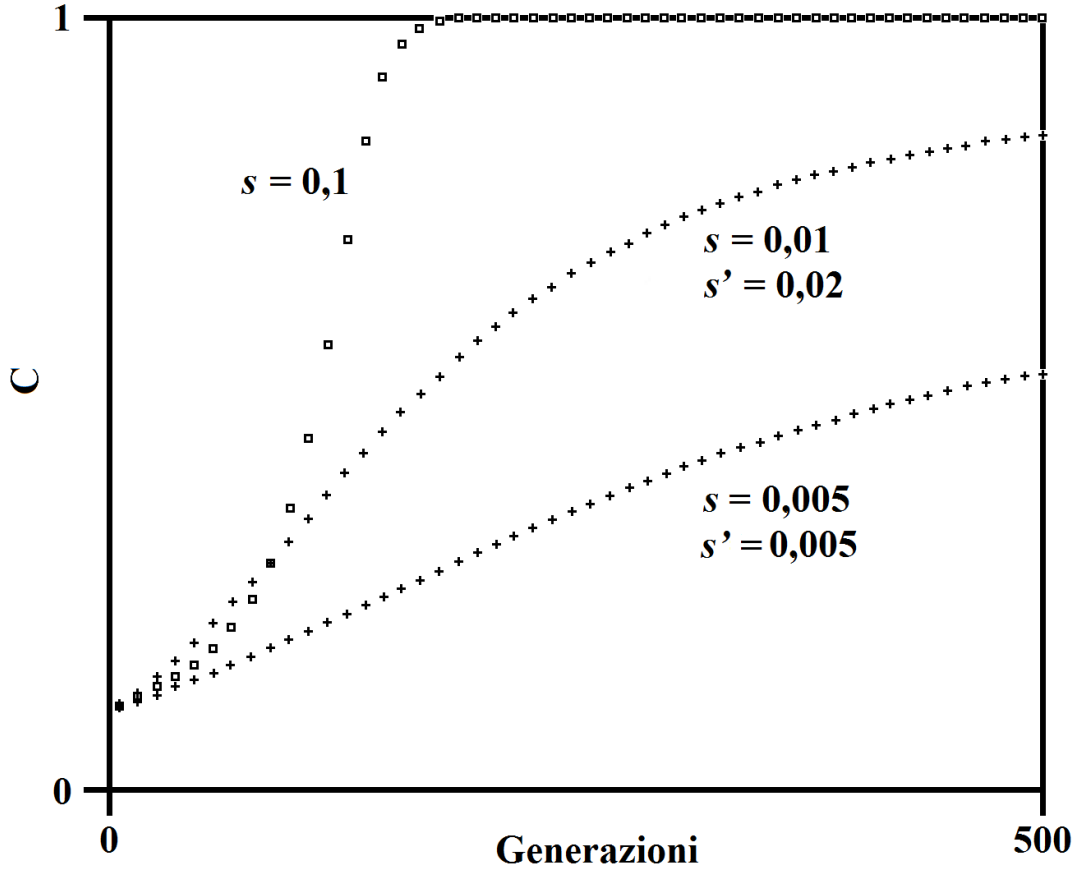


Figura A.6 - Diffusione di un gene C in un organismo diploide. Se il gene è recessivo, la frequenza viene espressa con un quadrato, altrimenti con una croce. Le curve, che vanno dall'alto verso il basso, illustrano i casi beta, alfa e gamma descritti nel testo. I valori di *s* per il caso recessivo e di *s* e *s'* per il caso dominante sono indicati vicino a ciascuna curva. Per tutte le curve: $C_0 = 0{,}1$; $u = 0{,}0001$; $v = 0{,}000001$.

- *Caso Beta (gene recessivo)*
Se $s' = 0$, la soluzione diventa:

$$C_e = \frac{s + \sqrt{s^2 - 4\,u\,s}}{2\,s} = \frac{1 + \sqrt{1 - 4\,u/s}}{2} \qquad \text{(A.27)}$$

- *Caso Gamma (gene dominante)*
Se $s = s'$, la soluzione diventa:

$$C_e = \frac{-5\,s + \sqrt{s^2 + 12\,u\,s}}{-6\,s} = \frac{5 - \sqrt{1 + 12\,u/s}}{6} \qquad \text{(A.28)}$$

Se si assume, come condizione semplificante, che $u = 0$, la formula (A.24) diventa:

$$C_e\,[1 + 4\,C_e\,s' + C_e^2\,(s - 4\,s')] = C_e\,[1 + 2\,s' + C_e\,(s - 2\,s') - v] + v \qquad \text{(A.29)}$$

- *Caso Alfa (diversi effetti nelle condizioni eterozigote e omozigote)*
Le soluzioni sono $C_e = 0$; $C_e = 1$; e:

$$C_e = \frac{-s' - \sqrt{s'^2 - v\,(s - 4\,s')}}{s - 4\,s'} \qquad \text{(A.30)}$$

- *Caso Beta (gene recessivo)*
Se $s' = 0$ e $s < 0$, la soluzione diventa:

$$C_e = \frac{-\sqrt{-v\,s)}}{s} = \frac{-\sqrt{-v\,(-[s])}}{-[s]} = \frac{\sqrt{v\,[s]}}{[s]} = \sqrt{v/[s]} \qquad \text{(A.31)}$$

- *Case Gamma (gene dominante)*
Se $s = s'$ e $s < 0$, la soluzione diventa:

$$C_e = \frac{-s - \sqrt{s^2 - v\,(-3\,s)}}{-3\,s} = \frac{-s - s\,\sqrt{1 + 3\,v/s}}{-3\,s} = \frac{1 + \sqrt{1 - 3\,v/[s]}}{3} \qquad \text{(A.32)}$$

Nel caso di un gene dannoso nella condizione recessiva ($s < 0$) e vantaggioso nella condizione eterozigote ($s' > 0$), con le semplificazioni $u = 0$; $v = 0$, la formula (A.24) diventa:

$$C_e\,[1 + 4\,C_e\,s' + C_e^2\,(s - 4\,s')] = C_e\,[1 + 2\,s' + C_e\,(s - 2\,s')] \qquad \text{(A.33)}$$

e le soluzioni sono:

$$1, \quad -\frac{2\,s'}{s - 4\,s'} \qquad \text{(A34)}$$

La prima soluzione è valida se $s > 0$ e $s' <= 0$. La seconda soluzione è valida se $s' > 0$. Pertanto, scartando la soluzione 1:

$$C_e = -\frac{2\,s'}{s - 4\,s'} = \frac{2\,s'}{[s] + 4\,s'} \qquad \text{(A35)}$$

Se consideriamo la formula di Hardy-Weinberg (CC + 2 CC' + C'C'= 1), la frequenza di equilibrio del fenotipo che esprime la condizione svantaggiosa del gene C (P_e), se C è recessivo, sarà:

$$P_e = C_e^2 = v/[s] \qquad \text{(A.36)}$$

Se C è dominante, la frequenza di equilibrio di C (C_e) sarà data dalla formula (A.32) che può essere così sviluppata:

$$C_e = (1 - \sqrt{1 - 3\,v/[s]}) / 3 =$$

$$= \{(1 - \sqrt{1 - 3\,v/[s]})\,(1 + \sqrt{1 - 3\,v/[s]})\} / \{3\,(1 + \sqrt{1 - 3\,v/[s]})\} =$$

$$= (1 - 1 + 3\,v/[s]) / \{3 + (3\sqrt{1 - 3\,v/[s]})\} \approx (3\,v/[s]) / (3 + 3) \approx 0.5\,v/[s] \qquad \text{(A.37)}$$

Pertanto la frequenza di equilibrio del fenotipo che esprime la condizione di un gene svantaggioso dominante (P_e) sarà:

$$P_e = C_e^2 + 2\,C_e\,(1 - C_e) = 2\,C_e - C_e^2 = \approx 2\,(0.5\,v/[s]) - (0.5\,v/[s])^2 \approx v/[s] \qquad \text{(A.38)}$$

Appendice – Parte B

Per la dimostrazione che una durata media della vita (ML) inferiore o un valore proporzionalmente maggiore di *s* hanno gli stessi effetti sulla velocità di diffusione di un gene favorevole, è necessario osservare che:

$$C_1 = \frac{C_0 \cdot (1 + s)}{1 + C_0 \cdot s}$$

$$C_2 = \frac{C_1 \cdot (1 + s)}{1 + C_1 \cdot s} = \frac{\dfrac{C_0 \cdot (1 + s)}{1 + C_0 \cdot s} \cdot (1 + s)}{1 + \dfrac{C_0 \cdot (1 + s)}{1 + C_0 \cdot s} \cdot s} = \frac{C_0 \cdot (1 + s)^2}{1 + C_0 \cdot s + C_0 \cdot s \cdot (1 + s)}.$$

$$C_3 = \frac{C_2 \cdot (1 + s)}{1 + C_2 \cdot s} = \ldots = \frac{C_0 \cdot (1 + s)^3}{1 + C_0 \cdot s + C_0 \cdot s \cdot (1 + s) + C_0 \cdot s \cdot (1 + s)^2}.$$

. . . . . .

$$C_n = \frac{C_0 \cdot (1 + s)^n}{1 + C_0 \cdot s + C_0 \cdot s \cdot (1 + s)^1 + C_0 \cdot s \cdot (1 + s)^2 + \ldots + C_0 \cdot s \cdot (1 + s)^{n-1}}.$$

$$= \frac{C_0 \cdot (1 + s)^n}{1 + C_0 \cdot s \cdot [(1+ s)^0 + (1+ s)^1 + (1+ s)^2 + \ldots + (1 + s)^{n-1}]} \qquad \text{(B.1)}$$

Utilizzando la formula della serie geometrica, otteniamo:

$$C_n \cong \frac{C_0 \cdot (1 + s)^n}{1 + C_0 \cdot S \cdot \dfrac{1 - (1 + s)^n}{1 - (1 + s)}}. = \frac{C_0 \cdot (1 + s)^n}{1 - C_0 \cdot [1 - (1 + s)^n]} \qquad \text{(B.2)}$$

Se n è un numero intero, usando la formula di Newton del binomio e ignorando i termini che hanno *s* con indice superiore a 1, il che è giustificabile perché *s* è stato ipotizzato essere piccolo, otteniamo:

$$C_n \cong \frac{C_0 \cdot (1 + n \cdot s)}{1 - C_0 \cdot (1 - 1 - n \cdot s)} = \frac{C_0 \cdot (1 + n \cdot s)}{1 + C_0 \cdot n \cdot s} \qquad \text{(B.3)}$$

Inoltre, ricordando che il numero di generazioni in un periodo *t* è inversamente proporzionale alla ML: n = *t*/ML, e sostituendo, otteniamo:

$$C_n = C_{1\ \text{u. t.}} \cong \frac{C_0 \cdot (1 + s / ML)}{1 + C_0 \cdot s / ML} \qquad \text{(B.4)}$$

dove i coefficienti di C sono il tempo e non la generazione, e che dimostrano per valori interi di n che valori più piccoli di *s* e valori maggiori di ML, e viceversa, hanno gli stessi effetti sulla velocità di diffusione di un gene. Se consideriamo che l'uguaglianza è approssimativa, per interpolazione possiamo dedurre che è valida anche per valori frazionari di n. Inoltre la formula esatta, non iterativa, è:

$$C_n = C_{1\ \text{u. t.}} = \frac{C_0 \cdot (1 + s)^{1/ML}}{1 - C_0 \cdot [1 - (1 + s)^{1/ML}]} \qquad \text{(B.5)}$$

Bibliografia

AARDA (American Autoimmune Related Diseases Association) (2019), www.aarda.org/ (accessed January 20, 2019).

AARDA (American Autoimmune Related Diseases Association) (2020), www.aarda.org/, page Autoimmune Disease List, www.aarda.org/diseaselist/, (accessed February 14, 2020).

Aarsland D, Londos E, Ballard C (2009) Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies: different aspects of one entity. *Int Psychogeriatr* 21(2):216-9. DOI: 10.1017/S1041610208008612

Abbott A (2008) The plaque plan. *Nature* 456(7219):161-4. DOI: 10.1038/456161a

Abbott RD, Ross GW, White LR, Nelson JS, Masaki KH, Tanner CM, Curb JD, Blanchette PL, Popper JS, Petrovitch H (2002) Midlife adiposity and the future risk of Parkinson's disease. *Neurology* 59(7):1051-7. DOI: 10.1212/wnl.59.7.1051

Abbott SM, Videnovic A (2016) Chronic sleep disturbance and neural injury: links to neurodegenerative disease. *Nat Sci Sleep* 8:55-61. DOI: 10.2147/NSS.S78947

Abu Eid R, Sawair F, Landini G, Saku T (2012) Age and the architecture of oral mucosa. *Age (Dordr)* 34(3):651-8. DOI: 10.1007/s11357-011-9261-1

Abukhadir SS, Mohamed N, Mohamed N (2013) Pathogenesis of alcohol-induced osteoporosis and its treatment: a review. *Curr Drug Targets* 14(13):1601-10. DOI: 10.2174/13894501113146660231

Acosta JC, O'Loghlen A, Banito A, Guijarro MV, Augert A, Raguz S, Fumagalli M, Da Costa M, Brown C, Popov N, Takatsu Y, Melamed J, et al. (2008) Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell* 133(6):1006-18. DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.038

Adachi M, Brenner DA (2005) Clinical syndromes of alcoholic liver disease. *Dig Dis* 23(3-4):255-63. DOI: 10.1159/000090173

Adamidis D, Roma-Giannikou E, Karamolegou K, Tselalidou E, Constantopoulos A (2000) Fiber intake and childhood appendicitis. *Int J Food Sci Nutr* 51(3):153-7. DOI: 10.1080/09637480050029647

Adams MK, Chong EW, Williamson E, Aung KZ, Makeyeva GA, Giles GG, English DR, Hopper J, Guymer RH, Baird PN, Robman LD, Simpson JA (2012) 20/20--Alcohol and age-related macular degeneration: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Am J Epidemiol* 176(4):289-98. DOI: 10.1093/aje/kws004

Adams V, Gielen S, Hambrecht R, Schuler G (2001) Apoptosis in skeletal muscle. *Front Biosci* 6:D1-11.

Adler MI, Bonduriansky R (2014) Why do the well-fed appear to die young?: a new evolutionary hypothesis for the effect of dietary restriction on lifespan. *Bioessays* 36(5):439-50. DOI: 10.1002/bies.201300165

Agrawal Y, Platz EA, Niparko JK (2009) Risk factors for hearing loss in us adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2002. *Otol Neurotol* 30(2):139-45. DOI: 10.1097/MAO.0b013e318192483c

Aguirre LE, Villareal DT (2015) Physical Exercise as Therapy for Frailty. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 83:83-92. DOI: 10.1159/000382065

Ahn SH, Cheung WL, Hsu JY, Diaz RL, Smith MM, Allis CD (2005) Sterile 20 kinase phosphorylates histone H2B at serine 10 during hydrogen peroxide-induced apoptosis in *S. cerevisiae*. *Cell* 120(1):25-36. DOI: 10.1016/j.cell.2004.11.016

Akinpelu OV, Ibrahim F, Waissbluth S, Daniel SJ (2014) Histopathologic changes in the cochlea associated with diabetes mellitus--a review. *Otol Neurotol* 35(5):764-74. DOI: 10.1097/MAO.0000000000000293

Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (eds) (2014) *Essential Cell Biology*, 4th ed. Garland Science, New York.

Albright R, Bland C, Gillette P, Serafy JE, Langdon C, Capo TR (2012) Juvenile growth of the tropical sea urchin Lytechinus variegatus exposed to near-future ocean acidification scenarios. *J Exp Mar Bio Ecol* 426-427:12-7. DOI: 10.1016/j.jembe.2012.05.017

Aldigier JC, Meur YL, Brunel P (1998). Protection of Renal Function with ACE Inhibitors: Experience with Benazepril. *Clin Drug Investig* 16(6):463-72. DOI: 10.2165/00044011-199816060-00006

Alehagen U, Benson L, Edner M, Dahlström U, Lund LH (2015) Association between use of statins and outcomes in heart failure with reduced ejection fraction: prospective propensity score matched cohort study of 21 864 patients in the Swedish Heart Failure Registry. *Circ Heart Fail* 8(2):252-60. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.001730

Allison AC (1954) The distribution of the sickle-cell trait in East Africa and elsewhere, and its apparent relationship to the incidence of subtertian malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 48(4):312-8. DOI: 10.1016/0035-9203(54)90101-7

Al-Regaiey KA (2016) The effects of calorie restriction on aging: a brief review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 20(11):2468-73.
Altmann SA, Altmann J (1970) *Baboon ecology: African field research*. The University of Chicago Press, Chicago.
Amann B, Tinzmann R, Angelkort B (2003) ACE inhibitors improve diabetic nephropathy through suppression of renal MCP-1. *Diabetes Care* 26(8):2421-5. DOI: 10.2337/diacare.26.8.2421
Ambrose JA, Barua RS (2004) The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol* 43(10):1731-7. DOI: 10.1016/j.jacc.2003.12.047
Ames RM, Rash BM, Hentges KE, Robertson DL, Delneri D, Lovell SC (2010) Gene duplication and environmental adaptation within yeast populations. *Genome Biol Evol* 2:591-601. DOI: 10.1093/gbe/evq043
Amir Y, Insler M, Giller A, Gutman D, Atzmon G (2020) Senescence and Longevity of Sea Urchins. *Genes (Basel)* 11(5):573. DOI: 10.3390/genes11050573
Anderson C, Majeste A, Hanus J, Wang S (2016) E-Cigarette Aerosol Exposure Induces Reactive Oxygen Species, DNA Damage, and Cell Death in Vascular Endothelial Cells. *Toxicol Sci* 154(2):332-40. DOI: 10.1093/toxsci/kfw166
Andrew W, Andrew NV (1957) An age involution in the small intestin of the mouse. *J Gerontol* 12(2):136-49. DOI: 10.1093/geronj/12.2.136
An T, Hao J, Sun S, Li R, Yang M, Cheng G, Zou M (2017) Efficacy of statins for osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 28(1):47-57. DOI: 10.1007/s00198-016-3844-8
Anversa P, Kajstura J, Leri A, Bolli R (2006) Life and death of cardiac stem cells. *Circulation* 113(11):1451-63. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.595181
Aoki M, Kawahata H, Sotobayashi D, Yu H, Moriguchi A, Nakagami H, Ogihara T, Morishita R (2015) Effect of angiotensin II receptor blocker, olmesartan, on turnover of bone metabolism in bedridden elderly hypertensive women with disuse syndrome. *Geriatr Gerontol Int* 15(8):1064-72. DOI: 10.1111/ggi.12406
Apanius V, Penn D, Slev PR, Ruff LR, Potts WK (1997) The nature of selection on the major histocompatibility complex. *Crit Rev Immunol* 17(2):179-224. DOI: 10.1615/critrevimmunol.v17.i2.40
Aparicio OM, Gottschling DE (1994) Overcoming telomeric silencing: a trans-activator competes to establish gene expression in a cell cycle-dependent way. *Genes Dev* 8(10):1133-46. DOI: 10.1101/gad.8.10.1133
Arboleda G, Ramírez N, Arboleda H (2007) The neonatal progeroid syndrome (Wiedemann-Rautenstrauch): a model for the study of human aging? *Exp Gerontol* 42(10):939-43. DOI: 10.1016/j.exger.2007.07.004
Arendt J (2012) Biological rhythms during residence in polar regions. *Chronobiol Int* 29(4):379-94. DOI: 10.3109/07420528.2012.668997
Arias-Santiago S, Gutiérrez-Salmerón MT, Buendía-Eisman A, Girón-Prieto MS, Naranjo-Sintes R (2011) Sex hormone-binding globulin and risk of hyperglycemia in patients with androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol* 65(1):48-53. DOI: 10.1016/j.jaad.2010.05.002
Armanios M, Alder JK, Parry EM, Karim B, Strong MA, Greider CW (2009) Short telomeres are sufficient to cause the degenerative defects associated with aging. *Am J Hum Genet* 85(6):823-32. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.10.028
Armitage P, Berry G, Matthews JBS (2002) *Statistical Methods in Medical Research*, 4th edition. Blackwell Science, Oxford.
Armstrong CA, Tomita K (2017) Fundamental mechanisms of telomerase action in yeasts and mammals: understanding telomeres and telomerase in cancer cells. *Open Biol* 7(3). pii:160338. DOI: 10.1098/rsob.160338
Armstrong EA (1947) *Bird display and behaviour: an introduction to the study of bird psychology*. Lindsay Drummond, London. Reprint (1965): Dover, New York.
Armstrong RA, Mousavi M (2015) Overview of Risk Factors for Age-Related Macular Degeneration (AMD). *J Stem Cells* 10(3):171-91.
Arnbjörnsson E (1983) Acute appendicitis and dietary fiber. *Arch Surg* 118(7):868-70. DOI: 10.1001/archsurg.1983.01390070076015
Aronow WS (1998) Effects of Aging on the Heart. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 255-62.
Arriola Apelo SI, Lamming DW (2016) Rapamycin: an InhibiTOR of aging emerges from the soil of Easter Island. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 71(7):841-9. DOI: 10.1093/gerona/glw090

Arsenis NC, You T, Ogawa EF, Tinsley GM, Zuo L (2017) Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. Oncotarget 8(27):45008–19. DOI: 10.18632/oncotarget.16726

Artandi SE (2002) Telomere shortening and cell fates in mouse models of neoplasia. *Trends Mol Med* 8(1):44-7. DOI: 10.1016/s1471-4914(01)02222-5

Artandi SE, Chang S, Lee SL, Alson S, Gottlieb GJ, Chin L, DePinho RA (2000) Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature* 406(6796):641-5. DOI: 10.1038/35020592

Artandi SE, DePinho RA (2010) Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* 31(1):9-18. DOI: 10.1093/carcin/bgp268

Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, Williams H; ISAAC Phase Three Study Group (2006) Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 368(9537):733-43. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)69283-0

Attems J, Walker L, Jellinger KA (2015) Olfaction and Aging: A Mini-Review. *Gerontology* 61(6):485-90. DOI: 10.1159/000381619

Austad SN (1989) Life extension by dietary restriction in the bowl and doily spider, Frontinella pyramitela. *Exp Gerontol* 24(1):83-92. DOI: 10.1016/0531-5565(89)90037-5

Austad SN (2001) Does caloric restriction in the laboratory simply prevent overfeeding and return house mice to their natural level of food intake? *Sci Aging Knowledge Environ* 2001(6):pe3. DOI: 10.1126/sageke.2001.6.pe3

Azzalin CM, Lingner J (2008) Telomeres: the silence is broken. *Cell Cycle* 7(9):1161-5. DOI: 10.4161/cc.7.9.5836

Azzalin CM, Reichenbach P, Khoriauli L, Giulotto E, Lingner J (2007) Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science* 318(5851):798-801. DOI: 10.1126/science.1147182

Baar MP, Brandt RMC., Putavet DA, Klein JDD, Derks KWJ, Bourgeois BRM, Stryeck S, Rijksen Y, van Willigenburg H, Feijtel DA, van der Pluijm I, Essers J, et al. (2017) Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging. *Cell* 169(1):132-47. DOI: 10.1016/j.cell.2017.02.031

Bach JF (2002) The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 347(12):911-20. DOI: 10.1056/NEJMra020100

Bab H (1948) The process of ageing. *Br Med J* 1(4559):1000-1.

Baer KE (1864) *Reden gehalten in wissenschaftlichen Versammlungen*. Karl Röttger, St. Petersburg.

Baglietto-Vargas D, Shi J, Yaeger DM, Ager R, LaFerla FM (2016) Diabetes and Alzheimer's disease crosstalk. *Neurosci Biobehav Rev* 64:272-87. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.005

Bah A, Wischnewski H, Shchepachev V, Azzalin CM (2012) The telomeric transcriptome of Schizosaccharomyces pombe. *Nucl Acids Res* 40(7):2995-3005. DOI: 10.1093/nar/gkr1153

Baime MJ, Nelson JB, Castell DO (1994) Aging of the gastrointestinal system. In: Hazzard WR, Blass J, Ettinger WH, Halter J, Ouslander J (eds) *Principles of Geriatric Medicine and Gerontology*, 3rd ed. McGraw-Hill, New York, pp. 665-81.

Bajaj S, Prasad S, Gupta A, Singh VB (2012) Oral manifestations in type-2 diabetes and related complications. *Indian J Endocrinol Metab* 16(5):777-9. DOI: 10.4103/2230-8210.100673

Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, Saltness RA, Jeganathan KB, Verzosa GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD, van Deursen JM (2016) Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530(7589):184-9. DOI: 10.1038/nature16932

Baker DJ, Jeganathan KB, Cameron JD, Thompson M, Juneja S, Kopecka A, Kumar R, Jenkins RB, de Groen PC, Roche P, van Deursen JM (2004) BubR1 insufficiency causes early onset of aging-associated phenotypes and infertility in mice. *Nat Genet* 36(7): 744-9. DOI: 10.1038/ng1382

Baker DJ, Perez-Terzic C, Jin F, Pitel KS, Niederländer NJ, Jeganathan K, Yamada S, Reyes S, Rowe L, Hiddinga HJ, Eberhardt NL, Terzic A, van Deursen JM (2008) Opposing roles for p16Ink4a and p19Arf in senescence and ageing caused by BubR1 insufficiency. *Nat Cell Biol* 10(7):825-36. DOI: 10.1038/ncb1744

Baker DJ, Wijshake T, Tchkonia T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, Kirkland JL, van Deursen JM (2011) Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479(7372):232-6. DOI: 10.1038/nature10600

Balaban RS, Nemoto S, Finkel T (2005) Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 120(4):483-95. DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.001

Balan E, Decottignies A, Deldicque L (2018) Physical Activity and Nutrition: Two Promising Strategies for Telomere Maintenance? *Nutrients* 10(12):1942. DOI: 10.3390/nu10121942

Balansky R, Ganchev G, Iltcheva M, Nikolov M, La Maestra S, Micale RT, Steele VE, De Flora S (2016) Interactions between ethanol and cigarette smoke in a mouse lung carcinogenesis model. *Toxicology* 373:54-62. DOI: 10.1016/j.tox.2016.11.008

Balion C, Griffith LE, Strifler L, Henderson M, Patterson C, Heckman G, Llewellyn DJ, Raina P (2012) Vitamin D, cognition, and dementia: a systematic review and meta-analysis. *Neurology* 79(13):1397-405. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31826c197f

Ballard HS (1997) The hematological complications of alcoholism. *Alcohol Health Res World* 21(1):42-52.

Ballesteros S, Rieker JA, Mayas J, Prieto A, Toril P, Jiménez MP, Reales JM (2020) Effects of multidomain versus single-domain training on executive control and memory in older adults: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 21(1):404. DOI: 10.1186/s13063-020-04293-3

Bannister CA, Holden SE, Jenkins-Jones S, Morgan CL, Halcox JP, Schernthaner G, Schernthaner G, Mukherjee J, Currie CJ (2014) Can people with type 2 diabetes live longer than those without?: a comparison of mortality in people initiated with metformin or sulphonylurea monotherapy and matched, non-diabetic controls. *Diabetes Obes Metab* 16(11):1165-73. DOI: 10.1111/dom.12354

Barbieri E, Agostini D, Polidori E, Potenza L, Guescini M, Lucertini F, et al. (2015) The Pleiotropic Effect of Physical Exercise on Mitochondrial Dynamics in Aging Skeletal Muscle. *Oxid Med Cell Longev* 2015:917085. DOI: 10.1155/2015/917085

Barha CK, Davis JC, Falck RS, Nagamatsu LS, Liu-Ambrose T (2017) Sex differences in exercise efficacy to improve cognition: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials in older humans. *Front Neuroendocrinol* 46:71-85. DOI: 10.1016/j.yfrne.2017.04.002

Barker N, van Es JH, Kuipers J, Kujala P, van den Born M, Cozijnsen M, Haegebarth A, Korving J, Begthel H, Peters PJ, Clevers H (2007) Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 449(7165):1003-7. DOI: 10.1038/nature06196

Barnett-Cowan M, Dyde RT, Foxe SH, Moro E, Hutchison WD, Harris LR (2010) Multisensory determinants of orientation perception in Parkinson's disease. *Neuroscience* 167(4):1138-50. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.02.065

Barreiro E (2016) Role of Protein Carbonylation in Skeletal Muscle Mass Loss Associated with Chronic Conditions. *Proteomes* 4(2). pii:E18. DOI: 10.3390/proteomes4020018

Barreiro E, Peinado VI, Galdiz JB, Ferrer E, Marin-Corral J, Sánchez F, Gea J, Barberà JA; ENIGMA in COPD Project (2010) Cigarette smoke-induced oxidative stress: A role in chronic obstructive pulmonary disease skeletal muscle dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 182(4):477-88. DOI: 10.1164/rccm.200908-1220OC

Barresi M, Ciurleo R, Giacoppo S, Foti Cuzzola V, Celi D, Bramanti P, Marino S (2012) Evaluation of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci* 323(1-2):16-24. DOI: 10.1016/j.jns.2012.08.028

Barry DM, Reeve AW (1977) Increased incidence of gram-negative neonatal sepsis with intramuscula iron administration. *Pediatrics* 60(6):908-12.

Barthold Jones JA, Lenart A, Baudisch A (2018) Complexity of the relationship between life expectancy and overlap of lifespans. *PLoS ONE* 13(7):e0197985. DOI: 10.1371/journal.pone.0197985

Bartke A (2009) The somatotropic axis and aging: mechanisms and persistent questions about practical implications. *Exp Gerontol* 44(6-7):372-4. DOI: 10.1016/j.exger.2009.04.001

Bauer E (1924) Beiträge zum Studium der Protoplasmahysteresis und der hysteretischen Vorgänge. (Zur Kausalität des Alterns.). *Arch Mikr Anat Entw* 101(4):521-7. DOI: rd.springer.com/article/10.1007/BF02108093

Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, et al. (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 444(7117):337-42. DOI: 10.1038/nature05354

Baur JA, Wright WE, Shay JW (2004) Analysis of mammalian telomere position effect. *Methods Mol Biol* 287:121-36. DOI: 10.1385/1-59259-828-5:121

Baur JA, Zou Y, Shay JW, Wright WE (2001) Telomere position effect in human cells. *Science* 292(5524):2075-7. DOI: 10.1126/science.1062329

Beauséjour CM, Krtolica A, Galimi F, Narita M, Lowe SW, Yaswen P, Campisi J (2003) Reversal of human cellular senescence: roles of the p53 and p16 pathways. *EMBO J.* 22(16):4212-22. DOI: 10.1093/emboj/cdg417

Beckman KB, Ames BN (1998) The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 78(2):547-81. DOI: 10.1152/physrev.1998.78.2.547

Belfort M, Curcio MJ, Lue NF (2011) Telomerase and retrotransposons: Reverse transcriptases that shaped genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(51):20304-10. DOI: 10.1073/pnas.1100269109

Bellé M, Sartori Sdo A, Rossi AG (2007) Alcoholism: effects on the cochleo-vestibular apparatus. *Braz J Otorhinolaryngol* 73(1):110-6. DOI: 10.1016/s1808-8694(15)31132-0

Bell G (1982) *The Masterpiece of Nature. The Evolution and Genetics of Sexuality*. Croom Helm, London.

Bell G, Maynard Smith J (1987) Short-term selection for recombination among mutually antagonistic species. *Nature* 328:66-8. DOI: doi.org/10.1038/328066a0

Bell-Pedersen D, Cassone VM, Earnest DJ, Golden SS, Hardin PE, Thomas TL, Zoran MJ (2005) Circadian rhythms from multiple oscillators: Lessons from diverse organisms. *Nat Rev Genet* 6(7):544-56. DOI: 10.1038/nrg1633

Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, Nadal-Ginard B, Silvestri F, Leri A, Beltrami CA, Anversa P (2001) Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 334(23):1750-7. DOI: 10.1056/NEJM200106073442303

Benedetti A, Jezequel AM, Orlandi F (1988) A quantitative evaluation of apoptotic bodies in rat liver. *Liver* 8(3):172-7. DOI: 10.1111/j.1600-0676.1988.tb00987.x

Benedict M, Zhang X (2017) Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatol* 9(16):715-32. DOI: 10.4254/wjh.v9.i16.715

Bener A, Al-Hamaq AOAA, Abdulhadi K, Salahaldin AH, Gansan L (2016) Interaction between diabetes mellitus and hypertension on risk of hearing loss in highly endogamous population. *Diabetes Metab Syndr* 11 Suppl 1:S45-51. DOI: 10.1016/j.dsx.2016.09.004

Benetti R, García-Cao M, Blasco MA (2007) Telomere length regulates the epigenetic status of mammalian telomeres and subtelomeres. *Nat Genet* 39(2):243-50. DOI: 10.1038/ng1952

Ben-Porath I, Weinberg R (2005) The signals and pathways activating cellular senescence. *Int J Biochem Cell Biol* 37(5):961-76. DOI: 10.1016/j.biocel.2004.10.013

Bergauer V (1924) Beiträge zum Studium der Protoplasmahysteresis und der hysteretischen Vorgänge. (Zur Kausalität des Alterns.). *Arch Mikr Anat Entw* 101(4):489-98. DOI: rd.springer.com/article/10.1007/BF02108088

Berger JM , Fine SL, Maguire MG (1999) *Age-related macular degeneration*. Mosby, USA.

Bergström A, Simpson JT, Salinas F, Barré B, Parts L, Zia A, Nguyen Ba AN, Moses AM, Louis EJ, Mustonen V, Warringer J, Durbin R, Liti G (2014) A high-definition view of functional genetic variation from natural yeast genomes. *Mol Biol Evol* 31(4):872-88. DOI: 10.1093/molbev/msu037

Bermingham-McDonogh O, Reh TA (2011) Regulated reprogramming in the regeneration of sensory receptor cells. *Neuron* 71(3):389-405. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.07.015

Bernardes de Jesus B, Vera E, Schneeberger K, Tejera AM, Ayuso E, Bosch F, Blasco MA (2012) Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer. EMBO *Mol Med* 4(8):691-704. DOI: 10.1002/emmm.201200245

Berntsen S, Kragstrup J, Siersma V, Waldemar G, Waldorff FB (2015) Alcohol consumption and mortality in patients with mild Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *BMJ Open* 5(12):e007851. DOI: 10.1136/bmjopen-2015-007851

Berridge MJ (2017) Vitamin D deficiency accelerates ageing and age-related diseases: a novel hypothesis. *J Physiol* 595(22):6825-36. DOI: 10.1113/JP274887

Berry RJ, Bronson FH (1992) Life history and bioeconomy of the house mouse. *Biol Rev Camb Philos Soc* 67(4):519-50. DOI: 10.1111/j.1469-185x.1992.tb01192.x

Bertram L, Blacker D, Mullin K, Keeney D, Jones J, Basu S, Yhu S, McInnis MG, Go RC, Vekrellis K, Selkoe DJ, Saunders AJ, Tanzi RE (2000) Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q. *Science* 290(5500):2302-3. DOI: 10.1126/science.290.5500.2302

Bettiol SS, Rose TC, Hughes CJ, Smith LA (2015) Alcohol Consumption and Parkinson's Disease Risk: A Review of Recent Findings. *J Parkinsons Dis* 5(3):425-42. DOI: 10.3233/JPD-150533

Beverton RJH, Holt SJ (1959) A review of the lifespans and mortality rates of fish in nature, and their relation to growth and other physiological characteristics. In Wolstenholme GEW, O'Connor M (eds), CIBA Foundation Colloquia on Ageing, 5, pp. 142-174.

Bharadwaj P, Wijesekara N, Liyanapathirana M, Newsholme P, Ittner L, Fraser P, Verdile G (2017) The Link between Type 2 Diabetes and Neurodegeneration: Roles for Amyloid-β, Amylin, and Tau Proteins. *J Alzheimers Dis* 59(2):421-32. DOI: 10.3233/JAD-161192

Bhatheja S, Panchal HB, Ventura H, Paul TK (2016) Obesity Cardiomyopathy: Pathophysiologic Factors and Nosologic Reevaluation. *Am J Med Sci* 352(2):219-22. DOI: 10.1016/j.amjms.2016.05.014

Bhatt JK, Thomas S, Nanjan MJ (2012) Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res* 32(7):537-41. DOI: 10.1016/j.nutres.2012.06.003

Biagi E, Franceschi C, Rampelli S, Severgnini M, Ostan R, Turroni S, Consolandi C, Quercia S, Scurti M, Monti D, Capri M, Brigidi P, Candela M (2016) Gut microbiota and extreme longevity. *Curr Biol* 26(11):1480-5. DOI: 10.1016/j.cub.2016.04.016

Bianchi L, Volpato S (2016) Muscle dysfunction in type 2 diabetes: a major threat to patient's mobility and independence. *Acta Diabetol* 53(6):879-889. DOI: 10.1007/s00592-016-0880-y

Bidder GP (1925) The mortality of plaice. *Nature* 115:495-6. DOI: www.nature.com/articles/115495a0

Bidder GP (1932) Senescence. *Br Med J* 2(3742):583-5. DOI: 10.1136/bmj.2.3742.583

Bierman EL (1978) The effect of donor age on the in vitro life span of cultured human arterial smooth-muscle cells. *In Vitro* 14(11):951-5. DOI: 10.1007/bf02616126

Bijlsma AY, Meskers CG, Westendorp RG, Maier AB (2012) Chronology of age-related disease definitions: Osteoporosis and sarcopenia. *Ageing Res Rev* 11(2):320-4. DOI: 10.1016/j.arr.2012.01.001

Biran A, Zada L, Abou Karam P, Vadai E, Roitman L, Ovadya Y, Porat Z, Krizhanovsky V (2017) Quantitative identification of senescent cells in aging and disease. *Aging Cell* 16(4):661-71. DOI: 10.1111/acel.12592

Birch J, Anderson RK, Correia-Melo C, Jurk D, Hewitt G, Marques FM, Green NJ, Moisey E, Birrell MA, Belvisi MG, Black F, Taylor JJ, et al. (2015) DNA damage response at telomeres contributes to lung aging and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 309(10):L1124-37. DOI: 10.1152/ajplung.00293.2015

Björnsson ES (2015) Drug-induced liver injury: an overview over the most critical compounds. *Arch Toxicol* 89(3):327-34. DOI: 10.1007/s00204-015-1456-2

Black H (2002) Fishing for Answers to Questions about the Aging Process. *BioScience* 52(1):15-18. DOI: doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0015:FFATQA]2.0.CO;2

Blackburn EH (1991) Structure and function of telomeres. *Nature* 350(6319):569-73. DOI: 10.1038/350569a0

Blackburn EH (2000) Telomere states and cell fates. *Nature* 408(6808):53-6. DOI: 10.1038/35040500

Blackburn EH (2001) Switching and signaling at the telomere. *Cell* 106(6):661-73. DOI: 10.1016/s0092-8674(01)00492-5

Blackburn EH, Challoner PB (1984) Identification of a telomeric DNA sequence in Trypanosoma brucei. *Cell* 36(2):447-57. DOI: 10.1016/0092-8674(84)90238-1

Blackburn EH, Gall JG (1978) A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena. *J Mol Biol* 120(1):33-53. DOI: 10.1016/0022-2836(78)90294-2

Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW (2006) Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med* 12(10):1133-8. DOI: 10.1038/nm1006-1133

Black HR, Elliott WJ (eds) (2007) *Hypertension – A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Elsevier Inc., Amsterdam.

Blagosklonny MV (2001) How carcinogens (or telomere dysfunction) induce genetic instability: associated-selection model. *FEBS Lett* 506(3):169-72. DOI: 10.1016/s0014-5793(01)02894-0

Blagosklonny MV (2006) Aging and immortality: quasi-programmed senescence and its pharmacologic inhibition. *Cell Cycle* 5(18):2087-102. DOI: 10.4161/cc.5.18.3288

Blagosklonny MV (2013) MTOR-driven quasi-programmed aging as a disposable soma theory: blind watchmaker vs. intelligent designer. *Cell Cycle* 12(12):1842-7. DOI: 10.4161/cc.25062

Blasco MA (2002) Immunosenescence phenotypes in the telomerase knockout mouse. *Springer Semin Immunopathol* 24(1):75-85. DOI: 10.1007/s00281-001-0096-1

Blasco MA (2007) The epigenetic regulation of mammalian telomeres. *Nat Rev Genet* 8(4):299-309. DOI: 10.1038/nrg2047

Blasco MA, Lee HW, Hande MP, Samper E, Lansdorp PM, DePinho RA, Greider CW (1997) Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell* 91(1):25-34. DOI: 10.1016/s0092-8674(01)80006-4

Blaser MJ (2011) Antibiotic overuse: Stop the killing of beneficial bacteria. *Nature* 476(7361):393-4. DOI: 10.1038/476393a

Blaser MJ (2014) *Missing microbes: how killing bacteria creates modern plagues*. Oneworld Book, London.

Bodnar AG (2015) Cellular and molecular mechanisms of negligible senescence: insight from the sea urchin. *Invertebr Reprod Dev* 59(sup1):23-7. DOI: 10.1080/07924259.2014.938195

Bodnar AG, Coffman JA (2016) Maintenance of somatic tissue regeneration with age in short- and long-lived species of sea urchins. *Aging cell* 15(4):778-87. DOI: 10.1111/acel.12487

Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, Harley CB, Shay JW, Lichtsteiner S, Wright WE (1998) Extension of Life-Span by Introduction of Telomerase into Normal Human Cells. *Science* 279(5349):349-52. DOI: 10.1126/science.279.5349.349

Boekhoorn SS, Vingerling JR, Hofman A, de Jong PT (2008) Alcohol consumption and risk of aging macula disorder in a general population: the Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol* 126(6):834-9. DOI: 10.1001/archopht.126.6.834

Boerner BP, Sarvetnick NE (2011) Type 1 diabetes: role of intestinal microbiome in humans and mice. *Ann N Y Acad Sci* 1243:103-18. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06340.x

Bogomolets AA (1947) *The Prolongation of Life.* Duell Sloan and Pearce, New York.

Bohnen NI, Kotagal V, Müller ML, Koeppe RA, Scott PJ, Albin RL, Frey KA, Petrou M (2014) Diabetes mellitus is independently associated with more severe cognitive impairment in Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord* 20(12):1394-8. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2014.10.008

Bohr VA, Anson RM (1995) DNA damage, mutation and fine structure DNA repair in aging. *Mutat Res* 338(1-6):25-34. DOI: 10.1016/0921-8734(95)00008-t

Bonner-Weir S (2000) Islet growth and development in the adult. *J Mol Endocrinol* 24(3):297-302. DOI: 10.1677/jme.0.0240297

Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P (2012) Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, 9th edition. Elsevier, Amsterdam.

Bonsu KO, Owusu IK, Buabeng KO, Reidpath DD, Kadirvelu A (2017) Statin Treatment and Clinical Outcomes of Heart Failure Among Africans: An Inverse Probability Treatment Weighted Analysis. *J Am Heart Assoc* 6(4). pii:e004706. DOI: 10.1161/JAHA.116.004706

Boorman SA, Levitt PR (1973) A Frequency-Dependent Natural Selection Model for the Evolution of Social Cooperation Networks. *Proc Nat Acad Sci U S A* 70(1):187-9. DOI: 10.1073/pnas.70.1.187

Booth FW, Roberts CK, Laye MJ (2012) Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol* 2(2):1143-211. DOI: 10.1002/cphy.c110025

Box AG, Feito Y, Brown C, Petruzzello SJ (2019) Individual differences influence exercise behavior: How personality, motivation, and behavioral regulation vary among exercise mode preferences. *Heliyon* 5(4):e01459. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01459

Bourlière F (1957) The comparative biology of ageing: a physiological approach. In: Wolstenholme GEW, O'Connor M (eds.). *Methodology of the Study of Ageing*. CIBA Foundation Colloquia on Ageing, vol. 3. Little, Brown and Co., Boston, pp. 20-38.

Bourlière F (1960) Species differences in potential longevity of vertebrates and their physiological implications. In: B. Strehler (ed.) *The Biology of Aging*. American Institute of Biological Sciences, Washington (D.C.), pp. 128-31.

Bragulat E, de la Sierra A (2002) Salt intake, endothelial dysfunction, and salt-sensitive hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 4(1):41-6. DOI: 10.1111/j.1524-6175.2002.00503.x

Branchet MC, Boisnic S, Frances C, Robert AM (1990) Skin thickness changes in normal aging skin. *Gerontology* 36(1):28-35. DOI: 10.1159/000213172

Bray NW, Smart RR, Jakobi JM, Jones GR (2016) Exercise prescription to reverse frailty. *Appl Physiol Nutr Metab* 41(10):1112-6. DOI: 10.1139/apnm-2016-0226

Bredesen DE (2004) The non-existent aging program: how does it work? *Aging Cell* 3(5):255-9. DOI: 10.1111/j.1474-9728.2004.00121.x

Brent LJN, Franks DW, Foster EA, Balcomb KC, Cant MA, Croft DP (2015) Ecological knowledge, leadership, and the evolution of menopause in killer whales. *Curr Biol* 25(6):746-50. DOI: 10.1016/j.cub.2015.01.037

Brigelius-Flohé R (2009) Vitamin E: the shrew waiting to be tamed. *Free Radic Biol Med* 46(5):543-54. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.12.007

Bringmann A, Hollborn M, Kohen L, Wiedemann P (2016) Intake of dietary salt and drinking water: Implications for the development of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 22:1437-54.

Brion M, de Timary P, Vander Stappen C, Guettat L, Lecomte B, Rombaux P, Maurage P (2015) Chemosensory Dysfunction in Alcohol-Related Disorders: A Joint Exploration of Olfaction and Taste. *Chem Senses* 40(9):605-8. DOI: 10.1093/chemse/bjv047

Broadhurst MJ, Leung JM, Kashyap V, McCune JM, Mahadevan U, McKerrow JH, Loke P (2010) IL-22+ CD4+ T cells are associated with therapeutic trichuris trichiura infection in an ulcerative colitis patient. *Sci Transl Med* 2(60):ra88. DOI: 10.1126/scitranslmed.3001500

Brockhurst MA, Chapman T, King KC, Mank JE, Paterson S, Hurst GD (2014) Running with the Red Queen: the role of biotic conflicts in evolution. *Proc Biol Sci* 281(1797). pii: 20141382. DOI: 10.1098/rspb.2014.1382

Brodie SE (1998) Aging and Disorders of the Eye. In: Tallis RC, Fillit Hm, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 659-72.

Brody S (1924) The kinetics of senescence. *J Gen Physiol* 6:245-57.

Brown BM, Peiffer JJ, Sohrabi HR, Mondal A, Gupta VB, Rainey-Smith SR, et al. (2012) Intense physical activity is associated with cognitive performance in the elderly. *Transl Psychiatry 2*(11):e191. DOI: 10.1038/tp.2012.118

Brown CA, Murray AW, Verstrepen KJ (2010) Rapid expansion and functional divergence of subtelomeric gene families in yeasts. *Curr Biol* 20(10):895–903. DOI: 10.1016/j.cub.2010.04.027

Brown RG (1962) The aggressive and distraction behaviour of the Western Sandpiper, Ereunetes mauri. *Ibis* 104(1):1-12. DOI: doi.org/10.1111/j.1474-919X.1962.tb08624.x

Brown WR, MacKinnon PJ, Villasanté A, Spurr N, Buckle VJ, Dobson MJ (1990) Structure and polymorphism of human telomere-associated DNA. *Cell* 63(1):119-32. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90293-n

Brown WT (1992) Progeria: a human-disease model of accelerated aging. *Am J Clin Nutr* 55(6 Suppl):1222S-4S. DOI: 10.1093/ajcn/55.6.1222S

Bruce HM (1959) An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature* 184(4680):105. DOI: 10.1038/184105a0

Brück D, Wenning GK, Stefanova N, Fellner L (2016) Glia and alpha-synuclein in neurodegeneration: A complex interaction. *Neurobiol Dis* 85:262-74. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.03.003

Brues CT (1946) *Insect Dietary. An Account for the Food Habits of Insects*. Harvard University Press, Cambridge.

Buch A, Carmeli E, Boker LK, Marcus Y, Shefer G, Kis O, Berner Y, Stern N (2016) Muscle function and fat content in relation to sarcopenia, obesity and frailty of old age--An overview. *Exp Gerontol* 76:25-32. DOI: 10.1016/j.exger.2016.01.008

Buchtová M, Stembírek J, Glocová K, Matalová E, Tucker AS (2012) Early Regression of the Dental Lamina Underlies the Development of Diphyodont Dentitions. *J Dent Res* 91(5):491-8. DOI: 10.1177/0022034512442896

Buja A, Scafato E, Baggio B, Sergi G, Maggi S, Rausa G, Basile A, Manzato E, Ghirini S, Perissinotto E (2011) Renal impairment and moderate alcohol consumption in the elderly. Results from the Italian Longitudinal Study on Aging (ILSA). *Public Health Nutr* 14(11):1907-18. DOI: 10.1017/S1368980011000863

Buja A, Vinelli A, Lion C, Scafato E, Baldo V (2014) Is moderate alcohol consumption a risk factor for kidney function decline? A systematic review of observational studies. *J Ren Nutr* 24(4):224-35. DOI: 10.1053/j.jrn.2014.03.005

Bürger M (1954) *Altern und Krankheit*. G. Thieme, Berlin.

Burks TN, Andres-Mateos E, Marx R, Mejias R, Van Erp C, Simmers JL, Walston JD, Ward CW, Cohn RD (2011) Losartan restores skeletal muscle remodeling and protects against disuse atrophy in sarcopenia. *Sci Transl Med* 3(82):82ra37. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002227

Burton LA, Sumukadas D (2010) Optimal management of sarcopenia. *Clin Interv Aging* 5:217-28. DOI: 10.2147/cia.s11473

Burtscher M, Bodner T, Burtscher J, Ruedl G, Kopp M, Broessner G (2013) Life-style characteristics and cardiovascular risk factors in regular downhill skiers: An observational study. *BMC Public Health* 13:788. DOI: 10.1186/1471-2458-13-788

Büttner S, Eisenberg T, Herker E, Carmona-Gutierrez D, Kroemer G, Madeo F (2006) Why yeast cells can undergo apoptosis: death in times of peace, love, and war. *J Cell Biol* 175(4):521-5. DOI: 10.1083/jcb.200608098

Buxton JL, Suderman M, Pappas JJ, Borghol N, McArdle W, Blakemore AI, Hertzman C, Power C, Szyf M, Pembrey M (2014) Human leukocyte telomere length is associated with DNA methylation levels in multiple subtelomeric and imprinted loci. *Sci Rep* 4:4954. DOI: 10.1038/srep04954

Caballol N, Martí MJ, Tolosa E (2007) Cognitive dysfunction and dementia in Parkinson disease. *Mov Disord* 22(Suppl 17):S358-66. DOI: 10.1002/mds.21677

Caggiano M, Kauer JS, Hunter DD (1994) Globose basal cells are neuronal progenitors in the olfactory epithelium: a lineage analysis using a replication-incompetent retrovirus. *Neuron* 13(2):339-52. DOI: 10.1016/0896-6273(94)90351-4

Cahill PA, Redmond EM (2012) Alcohol and cardiovascular disease--modulation of vascular cell function. *Nutrients* 4(4):297-318. DOI: 10.3390/nu4040297

Cain WS, Stevens JC (1989) Uniformity of olfactory loss in aging. *Ann N Y Acad Sci* 561:29-38. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1989.tb20967.x

Caird FI, Dall JLC (1978) The cardiovascular system. In: Brocklehurst JC, ed, *Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 2nd ed. Churchill Livingstone, New York, pp. 125-57.

Cai R, Yuan Y, Sun J, Xia W, Huang R, Tian S, Dong X, Shen Y, Wang S (2016) Statins worsen glycemic control of T2DM in target LDL-c level and LDL-c reduction dependent manners: a meta-analysis. *Expert Opin Pharmacother* 17(14):1839-49. DOI: 10.1080/14656566.2016.1220539

Calleja-Agius J, Brincat M, Borg M (2013) Skin connective tissue and ageing. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 27(5):727-40. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2013.06.004

Calvin D, Watley SR (2015) Diabetes and Hearing Loss Among Underserved Populations. *Nurs. Clin. North Am* 50(3):449-56. DOI: 10.1016/j.cnur.2015.05.001

Camici GG, Savarese G, Akhmedov A, Lüscher TF (2015) Molecular mechanism of endothelial and vascular aging: implications for cardiovascular disease. *Eur Heart J* 36(48):3392-403. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv587

Campdelacreu J (2014) Parkinson disease and Alzheimer disease: environmental risk factors. [Article in English, Spanish] *Neurologia* 29(9):541-9. DOI: 10.1016/j.nrl.2012.04.001

Campisi J (1997) The biology of replicative senescence. *Eur J Cancer* 33(5):703-9. DOI: 10.1016/S0959-8049(96)00058-5

Campisi J (2000) Cancer, aging and cellular senescence. *In Vivo* 14(1):183-8.

Campisi J (2003) Cancer and ageing: rival demons? *Nat Rev. Cancer* 3(5):339-49. DOI: 10.1038/nrc1073

Campisi J (2013) Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu Rev Physiol* 75:685-705. DOI: 10.1146/annurev-physiol-030212-183653

Campisi J, d'Adda di Fagagna F (2007) Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8(9):729-40. DOI: 10.1038/nrm2233

Campisi J, Kim SH, Lim CS, Rubio M (2001) Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. *Exp Gerontol* 36(10):1619-37. DOI: 10.1016/s0531-5565(01)00160-7

Candia OA (2004) Electrolyte and fluid transport across corneal, conjunctival and lens epithelia. *Exp Eye Res* 78(3):527-35. DOI: 10.1016/j.exer.2003.08.015

Canto C, Auwerx J (2011) Calorie restriction: is AMPK a key sensor and effector? *Physiology (Bethesda)* 26(4):214-24. DOI: 10.1152/physiol.00010.2011

Cao P, Dey A, Vassallo C N, Wall D (2015) How Myxobacteria Cooperate. *J Mol Biol* 427(23):3709-21. DOI: 10.1016/j.jmb.2015.07.022

Cardani R, Zavanella T (2000) Age-related Cell Proliferation and Apoptosis in the Kidney of Male Fischer 344 Rats with Observations on a Spontaneous Tubular Cell Adenoma. *Toxicol Pathol* 28(6):802-6. DOI: 10.1177/019262330002800606

Careaga M, Ashwood P (2012) Autism spectrum disorders: from immunity to behavior. *Methods Mol Biol* 934:219-40. DOI: 10.1007/978-1-62703-071-7_12

Carlsson S, Midthjell K, Grill V; Nord-Trøndelag study (2004) Smoking is associated with an increased risk of type 2 diabetes but a decreased risk of autoimmune diabetes in adults: an 11-year follow-up of incidence of diabetes in the Nord-Trøndelag study. *Diabetologia* 47(11):1953-6. DOI: 10.1007/s00125-004-1554-9

Carmeli E, Reznick AZ (1994) The physiology and biochemistry of skeletal muscle atrophy as a function of age. *Proc Soc Exp Biol Med* 206(2):103-13. DOI: 10.3181/00379727-206-43727

Caron A, Richard D, Laplante M (2015) The roles of mTOR complexes in lipid metabolism. *Annu Rev Nutr* 35:321-48. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071714-034355

Carrel A (1912) On the permanent life of tissue outside of the organism. *J Exp Med* 15(5):516-28. DOI: doi.org/10.1084/jem.15.5.516

Carrel A (1913) Contributions to the study of the mechanism of the growth of connective tissue. *J Exp Med* 18(3):287-98. DOI: doi.org/10.1084/jem.18.3.287

Carrel A, Ebeling AH (1921a) Age and multiplication of fibroblasts. *J Exp Med* 34(6):599-623. DOI: doi.org/10.1084/jem.34.6.599

Carrel A, Ebeling AH (1921b) Antagonistic growth principles of serum and their relation to old age. *J Exp Med* 38(4):419-25. DOI: 10.1084/jem.38.4.419

Carroll L (1871) *Through the Looking-Glass*, 1871.

Carter BD, Abnet CC, Feskanich D, Freedman ND, Hartge P, Lewis CE, Ockene JK, Prentice RL, Speizer FE, Thun MJ, Jacobs EJ (2015) Smoking and Mortality — Beyond Established Causes. *N Engl J Med* 372(7):631-40. DOI: 10.1056/NEJMsa1407211

Caslini C, Connelly JA, Serna A, Broccoli D, Hess JL (2009) MLL associates with telomeres and regulates telomeric repeat-containing RNA transcription. *Mol Cell Biol* 29(16):4519-26. DOI: 10.1128/MCB.00195-09

Casserly I, Topol E (2004) Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *Lancet* 363(9415):1139-46. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15900-X

Cech TR (2004) Beginning to understand the end of the chromosome. *Cell* 116(2):273-9. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00038-8

Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health (2014) The health consequences of smoking: 50 years of progress: a report of the Surgeon General. Department of Health and Human Services, Atlanta, (www.hhs.gov/surgeongeneral/reports-and-publications/tobacco/index.html; www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK179276/pdf/Bookshelf_NBK179276.pdf) (accessed February 14, 2020).

Cerasi E, Kaiser N, Leibowitz G (2000) [Type 2 diabetes and beta cell apoptosis] [Article in French]. *Diabetes Metab* 26(Suppl 3):13-6.

Chacko CJ, Paulson KA, Mathan VI, Baker SJ (1969) The villus architecture of the small intestine in the tropics: a necropsy study. *J Pathol* 98(2):146-51. DOI: 10.1002/path.1710980209

Chaker L, Korevaar TIM, Rizopoulos D, Collet T-H, Völzke H, Hofman A, Rodondi N, Cappola AR, Peeters RP, Franco OH (2017) Defining optimal health range for thyroid function based on the risk of cardiovascular disease. *J Clin Endocrin Metab* 102(8):2853-61. DOI: 10.1210/jc.2017-00410

Chakraborty D, Bhunia S, De R (2020) Survival chances of a prey swarm: how the cooperative interaction range affects the outcome. *Sci Rep* 10(1):8362. DOI: 10.1038/s41598-020-64084-3

Chang J, Ryou N, Jun HJ, Hwang SY, Song JJ, Chae SW (2016a) Effect of Cigarette Smoking and Passive Smoking on Hearing Impairment: Data from a Population-Based Study. *PLoS One* 11(1):e0146608. DOI: 10.1371/journal.pone.0146608

Chang J, Wang Y, Shao L, Laberge RM, Demaria M, Campisi J, Janakiraman K, Sharpless NE, Ding S, Feng W, Luo Y, Wang X, et al. (2016b) Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 22(1):78-83. DOI: 10.1038/nm.4010

Chang S, Khoo C, DePinho RA (2001) Modeling chromosomal instability and epithelial carcinogenesis in the telomerase-deficient mouse. *Semin Cancer Biol* 11(3):227-39. DOI: 10.1006/scbi.2000.0374

Charbonneau MR, Blanton LV, DiGiulio DB, Relman DA, Lebrilla CB, Mills DA, Gordon JI (2016) A microbial perspective of human developmental biology. *Nature* 535(7610):48-55. DOI: 10.1038/nature18845

Charlesworth B (1976) Recombination modification in a fluctuating environment. *Genetics* 83(1):181-95.

Charlesworth B (1990) Optimization models, quantitative genetics, and mutation. *Evolution* 44(3):520-538. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1990.tb05936.x

Chauhan J (1989) Relationships between sour and salt taste perception and selected subject attributes. *J Am Diet Assoc* 89(5):652-8.

Chen WD, Wen MS, Shie SS, Lo YL, Wo HT, Wang CC, Hsieh IC, Lee TH, Wang CY (2014) The circadian rhythm controls telomeres and telomerase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 451(3):408-14. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.07.138

Chen X, Fang H, Schwob JE (2004) Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium. J Comp Neurol 469(4):457-74. DOI: 10.1002/cne.11031

Chen Y, Blaser MJ (2007) Inverse associations of Helicobacter pylori with asthma and allergy. *Arch Intern Med* 167(8):821-7. DOI: 10.1001/archinte.167.8.821

Cheung BM, Li C (2012) Diabetes and hypertension: is there a common metabolic pathway? *Curr Atheroscler Rep* 14(2):160-6. DOI: 10.1007/s11883-012-0227-2

Cheung N, Wong TY (2007) Obesity and eye diseases. *Surv Ophthalmol* 52(2):180-95. DOI: 10.1016/j.survophthal.2006.12.003

Cheungpasitporn W, Thongprayoon C, Kittanamongkolchai W, Brabec BA, O'Corragain OA, Edmonds PJ, Erickson SB (2015) High alcohol consumption and the risk of renal damage: a systematic review and meta-analysis. *QJM* 108(7):539-48. DOI: 10.1093/qjmed/hcu247

Childs BG, Durik M, Baker DJ, van Deursen JM (2015) Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat Med* 21(12):1424-35. DOI: 10.1038/nm.4000

Chilton W, O'Brien B, Charchar F (2017) Telomeres, Aging and Exercise: Guilty by Association? *Int J Mol Sci* 18(12):2573. DOI: 10.3390/ijms18122573

Chimenti C, Kajstura J, Torella D, Urbanek K, Heleniak H, Colussi C, Di Meglio F, Nadal-Ginard B, Frustaci A, Leri A, Maseri A, Anversa P (2003) Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure. *Circ Res* 93(7):604-13. DOI: 10.1161/01.RES.0000093985.76901.AF

Chłopicki S, Gryglewski RJ (2005) Angiotensin converting enzyme (ACE) and HydroxyMethylGlutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase inhibitors in the forefront of pharmacology of endothelium. *Pharmacol Rep* 57S:86-96.

Cholodkowsky T (1882) Unsterblichkeit in der Tierwelt. *Zool Anz* 5:264.

Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, Malanda B (2018) IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract* 138:271-81. DOI: https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023

Choudhary R, Bodakhe SH (2016) Olmesartan, an angiotensin II receptor blocker inhibits the progression of cataract formation in cadmium chloride induced hypertensive albino rats. *Life Sci* 167:105-112. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.10.012

Choudhary R, Kapoor MS, Singh A, Bodakhe SH (2016) Therapeutic targets of renin-angiotensin system in ocular disorders. *J Curr Ophthalmol* 29(1):7-16. DOI: 10.1016/j.joco.2016.09.009

Choy CK, Rodgers JE, Nappi JM, Haines ST (2008) Type 2 diabetes mellitus and heart failure. *Pharmacotherapy* 28(2):170-92. DOI: 10.1592/phco.28.2.170

Chu H-P, Cifuentes-Rojas C, Kesner B, Aeby E, Lee H-G, Wei C, Oh HJ, Boukhali M, Haas W, Lee JT (2017a) TERRA RNA antagonizes ATRX and protects telomeres. *Cell* 170(1):86-101. DOI: 10.1016/j.cell.2017.06.017

Chu H-P, Froberg JE, Kesner B, Oh HJ, Ji F, Sadreyev R, Pinter SF, Lee JT (2017b) PAR-TERRA directs homologous sex chromosome pairing. *Nat Struct Mol Biol* 24(8):620-31. DOI: 10.1038/nsmb.3432

Chung HR, Vakil M, Munroe M, Parikh A, Meador BM, Wu PT, Jeong JH, Woods JA, Wilund KR, Boppart MD (2016) The Impact of Exercise on Statin-Associated Skeletal Muscle Myopathy. *PLoS One* 11(12):e0168065. DOI: 10.1371/journal.pone.0168065

Chung S, Yao H, Caito S, Hwang JW, Arunachalam G, Rahman I (2010) Regulation of SIRT1 in cellular functions: role of polyphenols. *Arch Biochem Biophys* 501(1):79-90. DOI: 10.1016/j.abb.2010.05.003

Clavel J (2007) Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in major diseases: cancer. *Cancer Res Biol* 330(4):306-17. DOI: 10.1016/j.crvi.2007.02.012

Coelho-Júnior HJ, Uchida MC, Picca A, Bernabei R, Landi F, Calvani R, Cesari M, Marzetti E (2021). Evidence-based recommendations for resistance and power training to prevent frailty in community-dwellers. *Aging Clin Exp Res* 2021. DOI: 10.1007/s40520-021-01802-5

Cohen-Solal A, Beauvais F, Logeart D (2008) Heart failure and diabetes mellitus: epidemiology and management of an alarming association. *J Card Fail* 14(7):615-25. DOI: 10.1016/j.cardfail.2008.04.001

Colchero F, Rau R, Jones OR, Barthold JA, Conde DA, Lenart A, et al. (2016) The emergence of longevous populations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113(48):E7681-90. DOI: 10.1073/pnas.1612191113

Coleman AL, Seitzman RL, Cummings SR, Yu F, Cauley JA, Ensrud KE, Stone KL, Hochberg MC, Pedula KL, Thomas EL, Mangione CM; Study Of Osteoporotic Fractures Research Group (2010) The association of smoking and alcohol use with age-related macular degeneration in the oldest old: the Study of Osteoporotic Fractures. *Am J Ophthalmol* 149(1):160-9. DOI: 10.1016/j.ajo.2009.07.025

Collado M, Blasco MA, Serrano M (2007) Cellular senescence in cancer and aging. *Cell* 130(2):223-33. DOI: 10.1016/j.cell.2007.07.003

Comfort A (1964) *Ageing: The Biology of Senescence*. Routledge & Kegan Paul Ltd. Eev. ed., London.

Comfort A (1979). *The Biology of Senescence.* Livingstone, London.

Connolly MJ (1998) Age-Related Changes in the Respiratory System. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC. (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 1073-8.

Conti V, Iannaccone T, Filippelli A (2019) Senolytic drugs. In: Gu D., Dupre M. (eds) Encyclopedia of Gerontology and Population Aging. Springer, Cham. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_55-1

Conti V, Izzo V, Corbi G, Russomanno G, Manzo V, De Lise F, Di Donato A, Filippelli A (2016) Antioxidant Supplementation in the Treatment of Aging-Associated Diseases. *Front Pharmacol* 7:24. DOI: 10.3389/fphar.2016.00024

Cooper C, Melton LJ 3rd (1992) Epidemiology of osteoporosis. *Trends Endocrinol Metab* 3(6):224-9. DOI: 10.1016/1043-2760(92)90032-v

Coppé J-P, Kauser K, Campisi J, Beauséjour CM (2006) Secretion of vascular endothelial growth factor by primary human fibroblasts at senescence. *J Biol Chem* 281(40):29568-74. DOI: 10.1074/jbc.M603307200

Coppé J-P, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Muñoz DP, Goldstein J, Nelson PS, Desprez PY, Campisi J (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor, *PLoS Biol.* 6(12):2853-68. DOI: 10.1371/journal.pbio.0060301

Corbi G, Conti V, Davinelli S, Scapagnini G, Filippelli A, Ferrara N (2016) Dietary Phytochemicals in Neuroimmunoaging: A New Therapeutic Possibility for Humans? *Front Pharmacol* 7:364 DOI: 10.3389/fphar.2016.00364

Corbi G, Conti V, Komici K, Manzo V, Filippelli A, Palazzo M, Vizzari F, Davinelli S, Di Costanzo A, Scapagnini G, Ferrara N, Casamassima D (2018) Phenolic Plant Extracts Induce Sirt1 Activity and Increase Antioxidant Levels in the Rabbit's Heart and Liver. *Oxid Med Cell Longev* 2731289. DOI: 10.1155/2018/2731289

Corbi G, Conti V, Scapagnini G, Filippelli A, Ferrara N (2012) Role of sirtuins, calorie restriction and physical activity in aging. *Front Biosci (Elite Ed)* 4:768-78. DOI: 10.2741/417

Cordonnier DJ, Zaoui P, Halimi S (2001) Role of ACE inhibitors in patients with diabetes mellitus. *Drugs* 61(13):1883-92. DOI: 10.2165/00003495-200161130-00001

Correale J (2014) Helminth/Parasite Treatment of Multiple Sclerosis. *Curr Treat Options Neurol* 16(6):296. DOI: 10.1007/s11940-014-0296-3

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284(5418):1318-22. DOI: 10.1126/science.284.5418.1318

Coulson CE, Williams LJ, Brennan SL, Berk M, Kotowicz MA, Lubman DI, Pasco JA (2013) Alcohol consumption and body composition in a population-based sample of elderly Australian men. *Aging Clin Exp Res* 25(2):183-92. DOI: 10.1007/s40520-013-0026-9

Counter CM, Hahn WC, Wei W, Caddle SD, Beijersbergen RL, Lansdorp PM, Sedivy JM, Weinberg RA. (1998) Dissociation among in vitro telomerase activity, telomere maintenance, and cellular immortalization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(25):14723-8. DOI: 10.1073/pnas.95.25.14723

Cowdry EV (1952) *Problems of Aging*. In: Lansing AI (ed), *Cowdry's Problems of Ageing: Biological and Medical Aspects*, 3rd edition. Williams & Wilkins, Baltimore.

Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, Eberhardt MS, Flegal KM, Engelgau MM, Saydah SH, Williams DE, Geiss LS, Gregg EW (2006) Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in adults in the U.S. population: National Health And Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Diabetes Care* 29(6):1263-8. DOI: 10.2337/dc06-0062

Cristofalo VJ, Pignolo RJ (1993) Replicative senescence of human fibroblast-like cells in culture. *Physiol. Rev* 73(3):617-38. DOI: 10.1152/physrev.1993.73.3.617

Croteau DL, Bohr VA (1997) Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. *J Biol Chem* 272(41):25409-12. DOI: 10.1074/jbc.272.41.25409

Crouch RK, Koutalos Y, Kono M, Schey K, Ablonczy Z (2015) A2E and Lipofuscin. *Prog Mol Biol Transl Sci* 134:449-63. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.06.005

Cruickshanks KJ, Klein R, Klein BE, Wiley TL, Nondahl DM, Tweed TS (1998) Cigarette smoking and hearing loss: the epidemiology of hearing loss study. *JAMA* 279(21):1715-9. DOI: 10.1001/jama.279.21.1715

Cullmann M, Hilding A, Östenson CG (2012) Alcohol consumption and risk of pre-diabetes and type 2 diabetes development in a Swedish population. *Diabet Med* 29(4):441-52. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2011.03450.x

Cumming WJK (1998) Aging and neuromuscolar disease. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 1115-30.

Cunniff C, Bassetti JA, Ellis NA (2017) Bloom's Syndrome: Clinical Spectrum, Molecular Pathogenesis, and Cancer Predisposition. *Mol Syndromol* 8(1):4-23. DOI: 10.1159/000452082

Curhan SG, Eavey R, Shargorodsky J, Curhan GC (2011) Prospective study of alcohol use and hearing loss in men. *Ear Hear* 32(1):46-52. DOI: 10.1097/AUD.0b013e3181f46a2f

Cusanelli E, Chartrand P (2015) Telomeric repeat-containing RNA TERRA: a noncoding RNA connecting telomere biology to genome integrity. *Front Genet* 6:143. DOI: 10.3389/fgene.2015.00143

d'Adda di Fagagna F, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, von Zglinicki T, Saretzki G, Carter NP, Jackson SP (2003) A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature* 426(6963):194-8. DOI: 10.1038/nature02118

Daniel E (2007) Noise and hearing loss: a review. *J Sch Health* 77(5):225-31. DOI: 10.1111/j.1746-1561.2007.00197.x

Darányi G (1930) Fejlödés, fajfenntartás és öregedés természetben. *Term Tud Közl* 62:305-13.

Darwin CR (1859) *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation 1of the favoured races in the struggle for life*. John Murray, London.

Darwin CR (1869) *Origin of Species*, 5th ed. John Murray, London.

Darwin CR (1871) *The descent of man, and selection in relation to sex*. John Murray, London.

Darwin E (1794-1796) *Zoonomia, or The Laws of Organic Life.* Printed for J. Johnson, 2nd corrected ed., London [Available from Project Gutenberg, http:www.gutenberg.org/files/15707/15707-h/15707-h.htm].

Das UN (2016) Diabetic macular edema, retinopathy and age-related macular degeneration as inflammatory conditions. *Arch Med Sci* 12(5):1142-57. DOI: 10.5114/aoms.2016.61918

David H, Reinke P (1988) Liver morphology with aging. In: Bianchi L, Holt P, James OFW (eds), *Aging in Liver and Gastro-intestinal tracts*. MTP Press, Lancaster (UK), pp. 143-59.

Davidson MH (2007) Overview of prevention and treatment of atherosclerosis with lipid-altering therapy for pharmacy directors. *Am J Manag Care* 13(Suppl 10):S260-9.

Davie CA (2008) A review of Parkinson's disease. *Br Med Bull* 86:109-27. DOI: 10.1093/bmb/ldn013

Davies CTM, Thomas DO, White MJ (1986) Mechanical properties of young and elderly human muscle. *Acta Med Scand* 711:219-26. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1986.tb08954.x

Davinelli S, Trichopoulou A, Corbi G, De Vivo I, Scapagnini G (2019) The potential nutrigeroprotective role of Mediterranean diet and its functional components on telomere length dynamics. *Ageing Res Rev* 49:1-10. DOI: 10.1016/j.arr.2018.11.001

Davis ME, Korn MA, Gumucio JP, Harning JA, Saripalli AL, Bedi A, Mendias CL (2015) Simvastatin reduces fibrosis and protects against muscle weakness after massive rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg* 24(2):280-7. DOI: 10.1016/j.jse.2014.06.048

Dawes P, Cruickshanks KJ, Moore DR, Edmondson-Jones M, McCormack A, Fortnum H, Munro KJ (2014) Cigarette smoking, passive smoking, alcohol consumption, and hearing loss. *J Assoc Res Otolaryngol* 15(4):663-74. DOI: 10.1007/s10162-014-0461-0

Dayalu P, Albin RL (2015) Huntington disease: pathogenesis and treatment. *Neurol Clin* 33(1):101-14. DOI: 10.1016/j.ncl.2014.09.003

de Beauchamp P (1956) Le développement de *Ploesoma hudsoni* (Imhof) et l'origine des feuillets chez les rotifers. *Bull Soc Zool Fr* 81(5-6):374-83.

Deevey ES Jr. (1947) Life tables for natural populations of animals. *Quart Rev Biol* 22(4):283-314. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/395888?journalCode=qrb

de Gaetano G, Costanzo S, Di Castelnuovo A, Badimon L, Bejko D, Alkerwi A, Chiva-Blanch G, Estruch R, La Vecchia C, Panico S, Pounis G, Sofi F, et al. (2016) Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 26(6):443-67. DOI: 10.1016/j.numecd.2016.03.007

De Grey A (2005) The SENS Challenge: $20,000 Says the Foreseeable Defeat of Aging Is Not Laughable. *Rejuvenation Res* 8(4):207-10. DOI: 10.1089/rej.2005.8.207

Delage Y (1903) *L'Hérédité et Les Grandes Problèmes de la Biologie générale*. Schleicher Frères, Paris.

de Lange T (2005) Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 19(18):2100-10. DOI: 10.1101/gad.1346005

de Lange T, Jacks T (1999) For better or worse? Telomerase inhibition and cancer. *Cell* 98(3):273-5. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81955-8

de Lau LM, Breteler MM (2006) Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 5(6):525-35. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9

Dell'Italia LJ (2011) Translational success stories: angiotensin receptor 1 antagonists in heart failure. *Circ Res* 109(4):437-52. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.238550

De Magalhães JP, Toussaint O (2002) The evolution of mammalian aging. *Exp Gerontol* 37(6):769-75. DOI: 10.1016/s0531-5565(02)00008-6

Demange E (1886) *Études cliniques et anatomo-pathologiques sur la vieillesse: leçons faites à l'Hospice Saint-Julien*. Alcan, Paris.

Demaria M, O'Leary MN, Chang J, Shao L, Liu S, Alimirah F, Koenig K, Le C, Mitin N, Deal AM, Alston S, Academia EC, et al. (2017) Cellular senescence promotes adverse effects of chemotherapy and cancer relapse. *Cancer Discov* 7(2):165-76. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0241

Demers C, Mody A, Teo KK, McKelvie RS (2005) ACE inhibitors in heart failure: what more do we need to know? *Am J Cardiovasc Drugs* 5(6):351-9. DOI: 10.2165/00129784-200505060-00002

D'Emic MD, Whitlock JA, Smith KM, Fisher DC, Wilson JA (2013) Evolution of High Tooth Replacement Rates in Sauropod Dinosaurs. *PLoS One* 8(7):e69235. DOI: 10.1371/journal.pone.0069235

Deng Z, Wang Z, Stong N, Plasschaert R, Moczan A, Chen H-S, Hu S, Wikramasinghe P, Davuluri RV, Bartolomei MS, Riethman H, Lieberman PM (2012) A role for CTCF and cohesin in subtelomere chromatin organization, TERRA transcription, and telomere end protection. *EMBO J* 31(21):4165-78. DOI: 10.1038/emboj.2012.266

Denic S, Agarwal MM (2007) Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. *Nutrition* 23(7-8):603-14. DOI: 10.1016/j.nut.2007.05.002

de Oliveira FF, Chen ES, Smith MC, Bertolucci PH (2016) Associations of Blood Pressure with Functional and Cognitive Changes in Patients with Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 41(5-6):314-23. DOI: 10.1159/000447585

de Oviedo y Valdés GF (XVI century) *Historia general and natural de las Indias, islas y tierra firme del mar océano*. La Real Academia de la Historia, Madrid, 1851.

De Pergola G, Triggiani V, Bartolomeo N, Nardecchia A, Giagulli VA, Bruno I, Caccavo D, Silvestris F (2016) Independent Relationship of Osteocalcin Circulating Levels with Obesity, Type 2 Diabetes, Hypertension, and HDL Cholesterol. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 16(4):270-5. DOI: 10.2174/1871530317666170106150756

DePinho RA (2000) The age of cancer. *Nature* 408(6809):248-54. DOI: 10.1038/35041694

Dethlefsen L, Relman DA (2011) Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(Suppl 1):4554-61. DOI: 10.1073/pnas.1000087107

Devlin H, Ferguson MWj (1998) Aging and the Orofacial Tissues. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 789-802.

Dey A, Chakrabarti K (2018) Current Perspectives of Telomerase Structure and Function in Eukaryotes with Emerging Views on Telomerase in Human Parasites. *Int J Mol Sci* 19(2). pii:E333. DOI: 10.3390/ijms19020333

Dhar NR (1932) Senescence, an inherent property of animal cells. *Quart Rev Biol* 7(1):68-76. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/394397?journalCode=qrb

Diallo AB, Coiffard B, Leone M, Mezouar S, Mege J-L (2020) For Whom the Clock Ticks: Clinical Chronobiology for Infectious Diseases. *Front Immunol* 11:1457. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01457

Di Castelnuovo A, Costanzo S, Bagnardi V, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G (2006) Alcohol dosing and total mortality in men and women: an updated meta-analysis of 34 prospective studies. *Arch Intern Med* 166(22):2437-45. DOI: 10.1001/archinte.166.22.2437

Dickson DW (2007) Neuropathology of movement disorders. In: Jankovic J, Tolosa E (eds), *Parkinson's disease and movement disorders*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp 271-83.

Dieppe P, Tobias J (1998) Bone and Joint Aging. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 1131-5.

Dilman VM (1971) Age-associated elevation of hypothalamic, threshold to feedback control, and its role in development, ageine, and disease. *Lancet* 1(7711):1211-9. DOI:10.1016/s0140-6736(71)91721-1

Dilman VM, Anisimov VN (1979) Hypothalmic mechanisms of ageing and of specific age pathology--I. Sensitivity threshold of hypothalamo-pituitary complex to homeostatic stimuli in the reproductive system. *Exp Gerontol* 14(4):161-74. DOI:10.1016/0531-5565(79)90015-9

Diman A, Boros J, Poulain F, Rodriguez J, Purnelle M, Episkopou H, Bertrand L, Francaux M, Deldicque L, Decottignies A (2016) Nuclear respiratory factor 1 and endurance exercise promote human telomere transcription. *Sci Adv* 2(7):e1600031. DOI: 10.1126/sciadv.1600031

Diman A, Decottignies A (2018) Genomic origin and nuclear localization of TERRA telomeric repeat-containing RNA: from Darkness to Dawn. *FEBS J* 285(8):1389-98. DOI: 10.1111/febs.14363

Dinis-Oliveira RJ, Mãgalhaes T, Queirós O, Proença JB, Moreira R, de Lourdes Bastos M, Carvalho F (2015) Signs and Related Mechanisms of Ethanol Hepatotoxicity. *Curr Drug Abuse Rev* 8(2):86-103. DOI: 10.2174/1874473708666150916113352

Dirani M, Tong L, Gazzard G, Zhang X, Chia A, Young TL, Rose KA, Mitchell P, Saw SM (2009) Outdoor activity and myopia in Singapore teenage children. *Br J Ophthalmol* 93(8):997-1000. DOI: 10.1136/bjo.2008.150979

Distefano G, Goodpaster BH (2018) Effects of Exercise and Aging on Skeletal Muscle. *Cold Spring Harb Perspect Med* 8(3):a029785. DOI: 10.1101/cshperspect.a029785

Dixon JB, O'Brien PE (2006) Obesity and the white blood cell count: changes with sustained weight loss. *Obes Surg* 16(3):251-7. DOI: 10.1381/096089206776116453

D'Mello NP, Jazwinski SM (1991) Telomere length constancy during aging of Saccharomyces cerevisiae. *J Bacteriol* 173(21):6709-13. DOI: 10.1128/jb.173.21.6709-6713.1991

Dobrzynski JM, Kostis JB (2014) Statins and Cataracts--a visual insight. *Curr Atheroscler Rep* 17(2):477.

Dobzhansky T (1973) Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *Am Biol Teach* 35(3):125-9.

Doherty CP (2007) Host-pathogen interactions: the role of iron. *J Nutr* 137(5):1341-4. DOI: 10.1093/jn/137.5.1341

Dokal I (2000) Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br J Haematol* 110(4):768-79. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.02109.x

Doksani Y, Wu JY, de Lange T, Zhuang X (2013) Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation. *Cell* 155(2):345-56. DOI: 10.1016/j.cell.2013.09.048

Dorak MT, Lawson T, Machulla HK, Mills KI, Burnett AK (2002) Increased heterozygosity for MHC class II lineages in newborn males. *Genes Immun* 3(5):263-9. DOI: 10.1038/sj.gene.6363862

Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, Marshall FJ, Ravina BM, Schifitto G, Siderowf A, Tanner CM (2007) Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology* 68(5):384-6. DOI: 10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03

Doty RL (2012) Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol* 8(6):329-39. DOI: 10.1038/nrneurol.2012.80

Doty RL, Kamath V (2014) The influences of age on olfaction: a review. *Front Psychol* 5:20. DOI: 10.3389/fpsyg.2014.00020

Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Siksorski L, Rosenberg L (1984) Smell identification ability: changes with age. *Science* 226(4681):1441-3. DOI: 10.1126/science.6505700

Douglas AS, Dunnigan MG, Allan TM, Rawles JM (1995) Seasonal variation in coronary heart disease in Scotland. *J Epidemiol Community Health* 49(6):575-82. DOI: 10.1136/jech.49.6.575

Dremier S, Golstein J, Mosselmans R, Dumont JE, Galand P, Robaye B (1994) Apoptosis in dog thyroid cells. *Biochem Biophys Res Comm* 200(1):52-8. DOI: 10.1006/bbrc.1994.1412

Driesch H (1941) Zur Problematik des Alterns. Z *Altersforsch* 3:26-43.

Duda-Sobczak A, Araszkiewicz A, Urbas M, Borucki L, Kulas K, Chudzinski M, Suwalska A, Zozulinska-Ziolkiewicz D (2017) Impaired olfactory function is related to the presence of neuropathy in adults with type 1 diabetes. *Diab Vasc Dis Res* 14(2):139-43. DOI: 10.1177/1479164116679079

Duff K, McCaffrey RJ, Solomon GS (2002) The Pocket Smell Test: successfully discriminating probable Alzheimer's dementia from vascular dementia and major depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 14(2):197-201. DOI: 10.1176/jnp.14.2.197

Duffy JF, Zitting K-M, Chinoy ED (2015) Aging and Circadian Rhythms. *Sleep Med Clin* 10(4): 423-34. DOI: 10.1016/j.jsmc.2015.08.002

Duffy VB, Backstrand JR, Ferris AM (1995) Olfactory dysfunction and related nutritional risk in free-living, elderly women. *J Am Diet Assoc* 95(8):879-84. DOI: 10.1016/S0002-8223(95)00244-8

Dunlap-Pianka H, Boggs CL, Gilbert LE (1977) Ovarian Dynamics in Heliconiine Butterflies: Programmed Senescence versus Eternal Youth. *Science* 197(4302):487-90. DOI: 10.1126/science.197.4302.487

Dunn CW (1946) Endocrines in senescence. *Clinics (Phil)* 5(4):847-59.

Durazzo TC, Mattsson N, Weiner MW; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2014) Smoking and increased Alzheimer's disease risk: a review of potential mechanisms. *Alzheimers Dement* 10(3 Suppl):S122-45. DOI: 10.1016/j.jalz.2014.04.009

Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, Wilson DM, O'Brien PC, Melton LJ 3rd, Service FJ (1993) The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology* 43(4):817-24. DOI: 10.1212/wnl.43.4.817

Dyck PJ, Schultz PW, O'Brien PC (1972) Quantitation of Touch-Pressure Sensation. *Arch Neurol* 26(5):465-73. DOI: 10.1001/archneur.1972.00490110099010

Eaton SB, Shostak M, Konner M (1988a) *The paleolithic prescription: a program of diet and exercise and a design for living*. Harper and Row, New York.

Eaton SB, Konner M, Shostak M (1988b) Stone agers in the fast lane: Chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. *Am J Med* 84(4):739-49. DOI: 10.1016/0002-9343(88)90113-1

Ebeling A (1913) The permanent life of connective tissue outside of the organism. *J Exp Med* 17(3):273-85.

Ebert TA, Southon JR (2003) Red sea urchins (Strongylocentrotus franciscanus) can live over 100 years: confirmation with A-bomb 14carbon. *Fishery Bulletin* 101(4):915-22.

Edney EB, Gill RW (1968) Evolution of senescence and specific longevity. *Nature* 220(5164):281-2. DOI: 10.1038/220281a0

Ejerblad E, Fored CM, Lindblad P, Fryzek J, McLaughlin JK, Nyrén O (2006) Obesity and risk for chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 17(6):1695-702. DOI: 10.1681/ASN.2005060638

Ekkekakis P, Hall EE, Petruzzello SJ (2005) Variation and homogeneity in affective responses to physical activity of varying intensities: An alternative perspective on dose-response based on evolutionary considerations. *J Sports Sci* 23(5):477-500. DOI: 10.1080/02640410400021492

Ellul J, Archer N, Foy CM, Poppe M, Boothby H, Nicholas H, Brown RG, Lovestone S (2007) The effects of commonly prescribed drugs in patients with Alzheimer's disease on the rate of deterioration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78(3):233-9. DOI: 10.1136/jnnp.2006.104034

Elmore LW, Holt SE (2000) Telomerase and telomere stability: a new class of tumor suppressor? *Mol Carcinog* 28(1):1-4. DOI: doi.org/10.1002/(SICI)1098-2744(200005)28:1<1::AID-MC1>3.0.CO;2-N

Elmore S (2007) Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 35(4):495-516. DOI: journals.sagepub.com/doi/full/10.1080/01926230701320337

El-Serag HB, Everhart JE (2002) Diabetes increases the risk of acute hepatic failure. *Gastroenterology* 122(7):1822-8. DOI: 10.1053/gast.2002.33650

El-Zayadi AR (2006) Heavy smoking and liver. *World J Gastroenterol* 12(38):6098-101. DOI: 10.3748/wjg.v12.i38.6098

Emamian M, Hasanian SM, Tayefi M, Bijari M, Movahedian Far F, Shafiee M, Avan A, Heidari-Bakavoli A, Moohebati M, Ebrahimi M, Darroudi S, Zamani P, et al. (2017) Association of hematocrit with blood pressure and hypertension. *J Clin Lab Anal* 31(6). DOI:10.1002/jcla.22124

Emanuel AL, Nieuwenhoff MD, Klaassen ES, Verma A, Kramer MH, Strijers R, Vrancken AF, Eringa E, Groeneveld GJ, Serné EH (2017) Relationships Between Type 2 Diabetes, Neuropathy, and Microvascular Dysfunction: Evidence From Patients With Cryptogenic Axonal Polyneuropathy. *Diabetes Care* 40(4):583-90. DOI: 10.2337/dc16-1690

Engelberg-Kulka H, Sat B, Reches M, Amitai S, Hazan R (2004) Bacterial programmed cell death systems as targets for antibiotics. *Trends Microbiol* 12(2):66-71. DOI: 10.1016/j.tim.2003.12.008

Enright PL, Kronmal RA, Higgins M, Schenker M, Haponik EF (1993) Spirometry Reference Values for Women and Men 65 to 85 Years of Age. Cardiovascular Health Study. *Am Rev Respir Dis* 147(1):125-33. DOI: 10.1164/ajrccm/147.1.125

Entringer S, de Punder K, Buss C, Wadhwa PD (2018) The fetal programming of telomere biology hypothesis: an update. *Philos Trans R Soc of Lond B Biol Sci* 373(1741):20170151. DOI: 10.1098/rstb.2017.0151

Eriksson AK, Löfving S, Callaghan RC, Allebeck P (2013) Alcohol use disorders and risk of Parkinson's disease: findings from a Swedish national cohort study 1972-2008. *BMC Neurol* 13:190. DOI: 10.1186/1471-2377-13-190

Eriksson J, Ekerljung L, Rönmark E, Dahlén B, Ahlstedt S, Dahlén SE, Lundbäck B (2012) Update of prevalence of self-reported allergic rhinitis and chronic nasal symptoms among adults in Sweden. *Clin Respir J* 6(3):159-68. DOI: 10.1111/j.1752-699X.2011.00269.x

Ermilov VV, Nesterova AA (2016) β-amyloidopathy in the Pathogenesis of Age-Related Macular Degeneration in Correlation with Neurodegenerative Diseases. *Adv Exp Med Biol* 854:119-25. DOI: 10.1007/978-3-319-17121-0_17

Esposito C, Plati A, Mazzullo T, Fasoli G, De Mauri A, Grosjean F, Mangione F, Castoldi F, Serpieri N, Cornacchia F, Dal Canton A (2007) Renal function and functional reserve in healthy elderly individuals. *J Nephrol* 20(5):617-25.

Estabrooks G (1941) *Man, The Mechanical Misfit*. Macmillan Co., New York.

Estienne V, Robira B, Mundry R, Deschner T, Boesch C (2019) Acquisition of a complex extractive technique by the immature chimpanzees of Loango National Park, Gabon. *Anim Behav* 147:61-76. DOI: 10.1016/j.anbehav.2018.11.002

Etminan M, Brophy JM, Maberley D (2008) Use of statins and angiotensin converting enzyme inhibitors (ACE-Is) and the risk of age-related macular degeneration: nested case-control study. *Curr Drug Saf* 3(1):24-6. DOI: 10.2174/157488608783333952

EU-Working Group on Tobacco and Oral Health (2000) Tobacco and oral diseases--report of EU Working Group, 1999. *J Ir Dent Assoc* 46(1):12-9, 22.

Fabrizio P, Battistella L, Vardavas R, Gattazzo C, Liou LL, Diaspro A, Dossen JW, Gralla EB, Longo VD (2004) Superoxide is a mediator of an altruistic aging program in Saccharomyces cerevisiae. *J Cell Biol* 166(7):1055-67. DOI: 10.1083/jcb.200404002

Fabrizio P, Longo VD (2007) The chronological life span of Saccharomyces cerevisiae. *Methods Mol Biol* 371:89-95. DOI: 10.1007/978-1-59745-361-5_8

Fabrizio P, Longo VD (2008) Chronological aging-induced apoptosis in yeast. *Biochim Biophys Acta* 1783(7):1280-5. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.03.017

Factor SA, Weiner WJ (eds) (2008) *Parkinson's Disease: Diagnosis and Clinical Management*, 2nd ed. Demos Medical Publishing, New York.

Faghri S, Tamura D, Kraemer KH, Digiovanna JJ (2008) Trichothiodystrophy: a systematic review of 112 published cases characterises a wide spectrum of clinical manifestations. *J Med Genet* 45(10):609-21. DOI: 10.1136/jmg.2008.058743

Falah M, Najafi M, Houshmand M, Farhadi M (2016) Expression levels of the BAK1 and BCL2 genes highlight the role of apoptosis in age-related hearing impairment. *Clin Interv Aging* 11:1003-8. DOI: 10.2147/CIA.S109110

Fahrenkrog B, Sauder U, Aebi U (2004) The *S. cerevisiae* HtrA-like protein Nma111p is a nuclear serine protease that mediates yeast apoptosis. *J Cell Sci* 117(Pt 1):115-26. DOI: 10.1242/jcs.00848

Fannjiang Y, Cheng WC, Lee SJ, Qi B, Pevsner J, McCaffery JM, Hill RB, Basañez G, Hardwick JM (2004) Mitochondrial fission proteins regulate programmed cell death in yeast. *Genes Dev* 18(22):2785-97. DOI: 10.1101/gad.1247904

Fauchier L, Pierre B, de Labriolle A, Grimard C, Zannad N, Babuty D (2008) Antiarrhythmic effect of statin therapy and atrial fibrillation a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Coll Cardiol* 51(8):828-35. DOI: 10.1016/j.jacc.2007.09.063

Feingold KR, Grunfeld C(2016) Cholesterol Lowering Drugs. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al. (eds). SourceEndotext, 2016 (www.endotext.org) www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK395573/

Felsenstein J (1974) The evolutionary advantage of recombination. *Genetics* 78(2):737-56.

Feng L, Wang L (2013) Effects of alcohol on the morphological and structural changes in oral mucosa. *Pak J Med Sci* 29(4):1046-9. DOI: 10.12669/pjms.294.3696

Feretzaki M, Lingner J (2017) A practical qPCR approach to detect TERRA, the elusive telomeric repeat-containing RNA. *Methods* 114:39-45. DOI: 10.1016/j.ymeth.2016.08.004

Ferguson BM, Brewer BJ, Fangman WL (1991) Temporal control of DNA replication in yeast. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 56:293-302. DOI: 10.1101/sqb.1991.056.01.036

Fernandes LM, Teixeira FB, Alves-Junior SM, Pinheiro Jde J, Maia CS, Lima RR (2015) Immunohistochemical changes and atrophy after chronic ethanol intoxication in rat salivary glands. *Histol Histopathol* 30(9):1069-78. DOI: 10.14670/HH-11-604

Fernandez G, Spatz ES, Jablecki C, Phillips PS (2011) Statin myopathy: a common dilemma not reflected in clinical trials. *Cleve Clin J Med* 78(6):393-403. DOI: 10.3949/ccjm.78a.10073

Fernández JA, Prats JM, Artero JV, Mora AC, Fariñas AV, Espinal A, Méndez JA (2012) Systemic inflammation in 222.841 healthy employed smokers and nonsmokers: white blood cell count and relationship to spirometry. *Tob Induc Dis* 10(1):7. DOI: 10.1186/1617-9625-10-7

Fernández-Solà J (2015) Cardiovascular risks and benefits of moderate and heavy alcohol consumption. *Nat Rev Cardiol* 12(10):576-87. DOI: 10.1038/nrcardio.2015.91

Feuerhahn S, Iglesias N, Panza A, Porro A, Lingner J (2010) TERRA biogenesis, turnover and implications for function. *FEBS Letters* 584(17):3812-8. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.07.032

Fillit HM, Rockwood K, Young JB (eds) (2017) *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 8th ed, Elsevier, Philadelphia.

Finch CE (1990) *Longevity, Senescence, and the Genome.* University of Chicago Press, Chicago.

Finch CE, Austad SN (2001) History and prospects: symposium on organisms with slow aging. *Exp Gerontol* 36(4-6):593-7. DOI: 10.1016/s0531-5565(00)00228-x

Findley T (1949) Role of neurohypophysis in the pathogenesis of hypertension and some allied disorders associated with ageing. *Am J Med* 7(1):70-84. DOI: 10.1016/0002-9343(49)90484-2

Finegood DT, Scaglia L, Bonner-Weir S (1995) Dynamics of beta-cell mass in the growing rat pancreas. Estimation with a simple mathematical model. *Diabetes* 44(3):249-56. DOI: 10.2337/diab.44.3.249

Fine SL, Berger JW, Maguire MG, Ho AC (2000) Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 342(7):483-92. DOI: 10.1056/NEJM200002173420707

Finlay CM, Walsh KP, Mills KH (2014) Induction of regulatory cells by helminth parasites: exploitation for the treatment of inflammatory diseases. *Immunol Rev* 259(1):206-30. DOI: 10.1111/imr.12164

Fisk AS, Tam SKE, Brown LA, Vyazovskiy VV, Bannerman DM, Peirson SN (2018) Light and Cognition: Roles for Circadian Rhythms, Sleep, and Arousal. *Front Neurol* 9:56. DOI: 10.3389/fneur.2018.00056

Flanary B (2009) Telomeres: Function, Shortening, and Lengthening. In: Mancini L (ed) *Telomeres: Function, Shortening and Lengthening*. Nova Science Publ. Inc., New York, pp 379-86.

Flather MD, Yusuf S, Køber L, Pfeffer M, Hall A, Murray G, Torp-Pedersen C, Ball S, Pogue J, Moyé L, Braunwald E (2000) Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left-ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients. ACE-Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group. *Lancet* 355(9215):1575-81. DOI: 10.1016/s0140-6736(00)02212-1

Flavahan S, Chang F, Flavahan NA (2016) Local renin-angiotensin system mediates endothelial dilator dysfunction in aging arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 311(3):H849-54. DOI: 10.1152/ajpheart.00422.2016

Flaxman SM, Sherman PW (2000) Morning sickness: a mechanism for protecting mother and embryo. *Q Rev Biol* 75(2):113-48. DOI: 10.1086/393377

Fleming JO, Isaak A, Lee JE, Luzzio CC, Carrithers MD, Cook TD, Field AS, Boland J, Fabry Z (2011) Probiotic helminth administration in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 1 study. *Mult Scler* 17(6):743-54. DOI: 10.1177/1352458511398054

Fontaneda HD (1575) *Memoir of D.º Hernando D'Escalente Fontaneda Respecting Florida*. Fontaneda's Memoir, translation by Buckingham Smith (1854), Jerry Wilkinson, Keys (FL).

Forero DA, González-Giraldo Y, López-Quintero C, Castro-Vega LJ, Barreto GE, Perry G (2016) Meta-analysis of Telomere Length in Alzheimer's Disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 71(8):1069-73. DOI: 10.1093/gerona/glw053

Forrester JV, Dick AD, McMenamin P, Lee W (1996) *The Eye: Basic Sciences in Practice*. W. B. Saunders Company Ltd., London.

Forrester JV, Xu H, Lambe T, Cornall R (2008) Immune privilege or privileged immunity? *Mucosal Immunol* 1(5):372-81. DOI: 10.1038/mi.2008.27

Forte M, Conti V, Damato A, Ambrosio M, Puca AA, Sciarretta S, Frati G, Vecchione C, Carrizzo A (2016) Targeting Nitric Oxide with Natural Derived Compounds as a Therapeutic Strategy in Vascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016:7364138. DOI: 10.1155/2016/7364138

Fortes C, Mastroeni S, Mannooranparampil TJ, Ribuffo M (2017) The combination of overweight and smoking increases the severity of androgenetic alopecia. *Int J Dermatol* 56(8):862-7. DOI: 10.1111/ijd.13652

Fossel MB (1996) *Reversing Human Aging*. William Morrow and Company, New York.

Fossel MB (2004) *Cells, aging and human disease*. Oxford University Press, New York.

Fossel MB (2015) *The Telomerase Revolution.* BenBella Books, Dallas.

Foster EA, Franks DW, Mazzi S, Darden SK, Balcomb KC, Ford JKB, Croft DP (2012) Adaptive prolonged postreproductive life span in killer whales. *Science* 337(6100):1313. DOI: 10.1126/science.1224198

Fox JG, Beck P, Dangler CA, Whary MT, Wang TC, Shi HN, Nagler-Anderson C (2000) Concurrent enteric helminth infection modulates inflammation and gastric immune responses and reduces helicobacter-induced gastric atrophy. *Nature Medicine* 6:536-42. DOI: 10.1038/75015

Fox SI, Rompolski K (2019) *Human Physiology*, 15th Edition. McGraw-Hill Education, New York.

Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G (2000) Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci* 908:244-54. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x

Franceschi C, Garagnani P, Morsiani C, Conte M, Santoro A, Grignolio A, Monti D, Capri M, Salvioli S (2018) The Continuum of Aging and Age-Related Diseases: Common Mechanisms but Different Rates. *Front Med (Lausanne)* 5:61. DOI: 10.3389/fmed.2018.00061

Francis RM (1998) Metabolic Bone Disease. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (ed), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 1137-54.

Franco S, Segura I, Riese HH, Blasco MA (2002) Decreased B16F10 melanoma growth and impaired vascularization in telomerase-deficient mice with critically short telomeres. *Cancer Res* 62(2):552-9. cancerres.aacrjournals.org/content/62/2/552.long

Frank S (2014) Treatment of Huntington's disease. *Neurotherapeutics* 11(1):153-60. DOI: 10.1007/s13311-013-0244-z

Fransen E, Topsakal V, Hendrickx JJ, Van Laer L, Huyghe JR, Van Eyken E, Lemkens N, Hannula S, Mäki-Torkko E, Jensen M, Demeester K, Tropitzsch A (2008) Occupational noise, smoking, and a high Body Mass Index are risk factors for age-related hearing impairment and moderate alcohol consumption is protective: a European population-based multicenter study. *J Assoc Res Otolaryngol* 9(3):264-76. DOI: 10.1007/s10162-008-0123-1

Frantz S, Wollmer P, Dencker M, Engström G, Nihlén U (2014) Associations between lung function and alcohol consumption--assessed by both a questionnaire and a blood marker. *Respir Med* 108(1):114-21. DOI: 10.1016/j.rmed.2013.08.041

Fraser-Bell S, Wu J, Klein R, Azen SP, Varma R (2006) Smoking, alcohol intake, estrogen use, and age-related macular degeneration in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Am J Ophthalmol* 141(1):79-87. DOI: 10.1016/j.ajo.2005.08.024

Friedman B, Lahad A, Dresner Y, Vinker S (2013) Long-term statin use and the risk of Parkinson's disease. *Am J Manag Care* 19(8):626-32.

Frisch B, Lewis SM, Burkhardt R, Bartl R (1985) *Biopsy Pathology of Bone and Marrow*. Chapman and Hall, London.

Froy O (2011) Circadian rhythms, aging, and life span in mammals. *Physiology (Bethesda)* 26(4):225-35. DOI: 10.1152/physiol.00012.2011

Frydrychová R, Grossmann P, Trubac P, Vítková M, Marec F (2004) Phylogenetic distribution of TTAGG telomeric repeats in insects. *Genome* 47(1):163-78. DOI: 10.1139/g03-100

Fry RJ, Lesher S, Kohn HI (1961) Age effect on cell-transit time in mouse jejunal epithelium. *Am J Physiol* 201:213-6. DOI: 10.1152/ajplegacy.1961.201.1.213

Fuenzalida M, Lemus S, Illanes J, Montiel E, Acuña O, Lemus D (2000) Histochemical detection of sugar residues in lizard teeth (Liolaemus gravenhorsti): a lectin-binding study. *Biol Res* 33(3-4): 215-26. DOI: 10.4067/s0716-97602000000300008

Fuhrmann-Stroissnigg H, Ling YY, Zhao J, McGowan SJ, Zhu Y, Brooks RW, Grassi D, Gregg SQ, Stripay JL, Dorronsoro A, Corbo L, Tang P (2017) Identification of HSP90 inhibitors as a novel class of senolytics. *Nat Commun* 8(1):422. DOI: 10.1038/s41467-017-00314-z

Fuhrmann-Stroissnigg H, Niedernhofer LJ, Robbins PD (2018) Hsp90 inhibitors as senolytic drugs to extend healthy aging. *Cell Cycle* 17(9):1048-55. DOI: 10.1080/15384101.2018.1475828

Fujimaki K, Li R, Chen H, Della Croce K, Zhang HH, Xing J, Bai F, Yao G (2019) Graded regulation of cellular quiescence depth between proliferation and senescence by a lysosomal dimmer switch. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(45):22624-34. DOI: 10.1073/pnas.1915905116

Fukuchi K, Martin GM, Monnat RJ Jr (1989) Mutator phenotype of Werner syndrome is characterized by extensive deletions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86(15):5893-7. DOI: 10.1073/pnas.86.15.5893 [Published erratum appears in *Proc Natl Acad Sci U S A* 86(20):7994 (1989)].

Fukuda T, Kikuchi M, Kurotaki T, Oyamada T, Yoshikawa H, Yoshikawa T (2001) Age-related changes in the testes of horses. *Equine Vet J* 33(1):20-5. DOI: 10.2746/042516401776767449

Fülöp T (2017) Immunosenescence and inflammaging: an intricate connection. *Innov Aging* 1(Suppl 1): 961. DOI: 10.1093/geroni/igx004.3465

Fülöp T, Dupuis G, Witkowski JM, Larbi A (2016) The Role of Immunosenescence in the Development of Age-Related Diseases. *Rev Invest Clin* 68(2):84-91.

Fülöp T, Larbi A, Witkowski JM, Kotb R, Hirokawa K, Pawelec G (2013) Immunosenescence and cancer. *Crit Rev Oncog* 18(6):489-513. DOI: 10.1615/critrevoncog.2013010597

Fülöp T, Witkowski JM, Pawelec G, Alan C, Larbi A (2014) On the immunological theory of aging. *Interdiscip Top Gerontol* 39:163-76. DOI: 10.1159/000358904

Funk WD, Wang CK, Shelton DN, Harley CB, Pagon GD, Hoeffler WK (2000) Telomerase expression restores dermal integrity to *in vitro*-aged fibroblasts in a reconstituted skin model. *Exp Cell Res* 258(2):270-8. DOI: 10.1006/excr.2000.4945

Gaete M, Tucker AS (2013) Organized Emergence of Multiple-Generations of Teeth in Snakes Is Dysregulated by Activation of Wnt/Beta-Catenin Signalling. *PLoS One* 8(9):e74484. DOI: 10.1371/journal.pone.0074484

Gaitán-Espitia JD, Hofmann GE (2017) Gene expression profiling during the embryo-to-larva transition in the giant red sea urchin *Mesocentrotus franciscanus*. *Ecol Evol* 7(8):2798-811. DOI: 10.1002/ece3.2850

Galiniak S, Aebisher D, Bartusik-Aebisher D (2019) Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim Pol* 66(1):13-21. DOI: 10.18388/abp.2018_2749

Galpern WR, Lang AE (2006) Interface between tauopathies and synucleinopathies: a tale of two proteins. *Ann Neurol* 59(3):449-58. DOI: 10.1002/ana.20819

Gao X, Simon KC, Schwarzschild MA, Ascherio A (2012) A prospective study of statin use and risk of Parkinson disease. *Arch Neurol* 69(3):380-4. DOI: 10.1001/archneurol.2011.1060

Garatachea N, Pareja-Galeano H, Sanchis-Gomar F, Santos-Lozano A, Fiuza-Luces C, Morán M, Emanuele E, Joyner MJ, Lucia A (2015) Exercise attenuates the major hallmarks of aging. *Rejuvenation Res* 18(1):57-89. DOI: 10.1089/rej.2014.1623

Garcia-Compean D, Jaquez-Quintana JO, Gonzalez-Gonzalez JA, Maldonado-Garza H (2009) Liver cirrhosis and diabetes: Risk factors, pathophysiology, clinical implications and management. *World J Gastroenterol* 15(3):280-8. DOI: 10.3748/wjg.15.280

GARD (National Institutes of Health, National Center for Advancing Translational Sciences, Genetic and Rare Diseases Information Center) (2019), rarediseases.info.nih.gov/ (accessed February 14, 2020).

Gardner JD, Mouton AJ (2015) Alcohol effects on cardiac function. *Compr Physiol* 5(2):791-802. DOI: 10.1002/cphy.c140046

Gatherwright J, Liu MT, Amirlak B, Gliniak C, Totonchi A, Guyuron B (2013) The contribution of endogenous and exogenous factors to male alopecia: a study of identical twins. *Plast Reconstr Surg* 131(5):794e-801e. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3182865ca9

Gatherwright J, Liu MT, Gliniak C, Totonchi A, Guyuron B (2012) The contribution of endogenous and exogenous factors to female alopecia: a study of identical twins. *Plast Reconstr Surg* 130(6):1219-26. DOI: 10.1097/PRS.0b013e31826d104f

Gehlbach P, Li T, Hatef E (2016) Statins for age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* (8):CD006927. DOI: 10.1002/14651858.CD006927.pub5

Geifman N, Brinton RD, Kennedy RE, Schneider LS, Butte AJ (2017) Evidence for benefit of statins to modify cognitive decline and risk in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 9(1):10. DOI: 10.1186/s13195-017-0237-y

Geiger H, van Zant G (2002) The aging of lympho-hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 3(4):329-33. DOI: 10.1038/ni0402-329

General Register Office for Scotland 2010, Deaths Time Series Data, Deaths in Scotland in 2009. www.nrscotland.gov.uk/statistics-and-data/statistics/statistics-by-theme/vital-events/general-publications/births-deaths-and-other-vital-events-preliminary-annual-figures/2010 (accessed February 14, 2020).

Georgiana M (1949) Longevity of the parasitic wasp, *Habrobracon uglandis* Ashmead. *Am Nat* 83(808):39-48. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/281591

Gescheider GA, Bolanowski SJ, Hall KL, Hoffman KE, Verrillo RT (1994) The effects of aging on information-processing channels in the sense of touch: I. Absolute sensitivity. *Somatosens Mot Res* 11(4):347-57. DOI: 10.3109/08990229409028878

Gesundheit B, Rosenzweig JP, Naor D, Lerer B, Zachor DA, Procházka V, Melamed M, Kristt DA, Steinberg A, Shulman C, Hwang P, Koren G, et al. (2013) Immunological and autoimmune considerations of Autism Spectrum Disorders. *J Autoimmun* 44:1-7. DOI: 10.1016/j.jaut.2013.05.005

Ghaem Maralani H, Tai BC, Wong TY, Tai ES, Li J, Wang JJ, Mitchell P (2015) Metabolic syndrome and risk of age-related macular degeneration. *Retina* 35(3):459-66. DOI: 10.1097/IAE.0000000000000338

Gibon E, Lu L, Goodman SB (2016) Aging, inflammation, stem cells, and bone healing. *Stem Cell Res Ther* 7:44. DOI: 10.1186/s13287-016-0300-9

Gibson EM, Williams WP 3rd, Kriegsfeld LJ (2009) Aging in the circadian system: considerations for health, disease prevention and longevity. *Exp Gerontol* 44(1-2):51-6. DOI: 10.1016/j.exger.2008.05.007

Gilbert JJ (1968) Dietary control of sexuality in the rotifer *Asplanchna brightwelli* (Gosse). *Physiol Zool* 41(1):14-43. www.journals.uchicago.edu/doi/pdfplus/10.1086/physzool.41.1.30158482

Gilbert JJ (1988) Rotifera. In: Adiyodi KG, Adiyodi RG (eds), *Reproductive Biology of Invertebrates*, vol. 4, part A, *Fertilization, Development, and Parental Care*, Oxford University Press, Oxford and New Delhi, pp. 177-99.

Gilchrest BA, Blog FB, Szabo G (1969) Effects of Aging and Chronic Sun Exposure on Melanocytes in Human Skin. *J Invest Dermatol* 73(2):141-3. DOI: doi.org/10.1111/1523-1747.ep12581580

Gilchrest BA, Stoff JS, Soter NA (1982) Chronologic aging alters the response to ultraviolet-induced inflammation in human skin. *J Invest Dermatol* 79(1):11-5. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12510417

Gilleece MH, Dexter TM (1998) Aging and the Blood. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 1241-46.

Gimbrone MA Jr (1999) Endothelial Dysfunction, Hemodynamic Forces, and Atherosclerosis. *Thromb Haemost* 82(2):722-6.

Gioscia-Ryan RA, Battson ML, Cuevas LM, Zigler MC, Sindler AL, Seals DR (2016) Voluntary aerobic exercise increases arterial resilience and mitochondrial health with aging in mice. *Aging (Albany NY)* 8(11):2897-914. DOI: 10.18632/aging.101099

Giovino GA (2007) The tobacco epidemic in the United States. *Am J Prev Med* 33(6 Suppl):S318-26. DOI: 10.1016/j.amepre.2007.09.008

Ghosh K, Capell BC (2016) The Senescence-Associated Secretory Phenotype: Critical Effector in Skin Cancer and Aging. *J Invest Dermatol* 136(11):2133-9. DOI: 10.1016/j.jid.2016.06.621

Gisselsson D, Jonson T, Yu C, Martins C, Mandahl N, Wiegant J, Jin Y, Mertens F, Jin C (2002) Centrosomal abnormalities, multipolar mitoses, and chromosomal instability in head and neck tumours with dysfunctional telomeres. *Br J Cancer* 87(2):202-7. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600438

Gladyshev VN (2016) Aging: progressive decline in fitness due to the rising deleteriome adjusted by genetic, environmental, and stochastic processes. *Aging Cell* 15:594-602. DOI: 10.1111/acel.12480

Glendinning L, Free A (2014) Supra-organismal interactions in the human intestine. *Front Cell Infect Microbiol* 4:47. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00047

Glesener RR (1979) Recombination in a simulated predator-prey interaction. *Am Zool* 19(3):763-71. DOI: doi.org/10.1093/icb/19.3.763

Glesener RR, Tilman D (1978) Sexuality and the components of environmental uncertainty: clues from geographic parthenogenesis in terrestrial animals. *Am Nat* 112(986):659-73.

Gley E (1922) Senescence et endocrinologie. *Bull Acad Méd (Paris)* 87:285-91.

Goldsmith TC (2004) Aging as an evolved characteristic – Weismann's theory reconsidered. *Medical Hypotheses* 62(2):304-8. DOI: 10.1016/S0306-9877(03)00337-2
Goldsmith TC (2008) Aging, evolvability, and the individual benefit requirement; medical implications of aging theory controversies. *J Theor Biol* 252(4):764-8. DOI: 10.1016/j.jtbi.2008.02.035
Goldsmith TC (2012) On the programmed/non-programmed aging controversy. *Biochem (Mosc)* 77(7):729-32. DOI: 10.1134/S000629791207005X
Goldstein S (1969) Lifespan of cultured cells in progeria. *Lancet* 1(7591):424. DOI: 10.1016/s0140-6736(69)91404-4
Gomes NM, Ryder OA, Houck ML, Charter SJ, Walker W, Forsyth NR, Austad SN, Venditti C, Pagel M, Shay JW, Wright WE (2011) Comparative biology of mammalian telomeres: hypotheses on ancestral states and the roles of telomeres in longevity determination. *Aging Cell* 10(5):761-8. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2011.00718.x
Gong Y, Feng K, Yan N, Xu Y, Pan CW (2015) Different amounts of alcohol consumption and cataract: a meta-analysis. *Optom Vis Sci* 92(4):471-9. DOI: 10.1097/OPX.0000000000000558
Goodman CA, Pol D, Zacharewicz E, Lee-Young RS, Snow RJ, Russell AP, McConell GK (2015) Statin-Induced Increases in Atrophy Gene Expression Occur Independently of Changes in PGC1α Protein and Mitochondrial Content. *PLoS One* 10(5):e0128398. DOI: 10.1371/journal.pone.0128398
Gopinath B, Flood VM, McMahon CM, Burlutsky G, Smith W, Mitchell P (2010) The effects of smoking and alcohol consumption on age-related hearing loss: the Blue Mountains Hearing Study. *Ear Hear* 31(2):277-82. DOI: 10.1097/AUD.0b013e3181c8e902
Gorbunova V, Bozzella MJ, Seluanov A (2008) Rodents for comparative aging studies: from mice to beavers. *Age* 30(2-3):111-9. DOI: 10.1007/s11357-008-9053-4
Gorelick PB (2004) Risk Factors for Vascular Dementia and Alzheimer Disease. *Stroke* 35(11 Suppl 1):2620-2. DOI: 10.1161/01.STR.0000143318.70292.47
Goto M, Miller RW, Ishikawa Y, Sugano H (1996) Excess of Rare Cancers in Werner Syndrome (Adult Progeria). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5(4):239-46. cebp.aacrjournals.org/content/5/4/239.long
Gottfried C, Bambini-Junior V, Francis F, Riesgo R, Savino W (2015) The Impact of Neuroimmune Alterations in Autism Spectrum Disorder. *Front. Psychiatry* 6:121. DOI: 10.3389/fpsyt.2015.00121
Gottschling DE, Aparicio OM, Billington BL, Zakian VA (1990) Position effect at S. cerevisiae telomeres: reversible repression of Pol II transcription. *Cell* 63(4):751-62. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90141-z
Gourlay CW, Ayscough KR (2005) Identification of an upstream regulatory pathway controlling actin-mediated apoptosis in yeast. *J Cell Sci* 118(Pt 10):2119-32. DOI: 10.1242/jcs.02337
Gouveri E, Katotomichelakis M, Gouveris H, Danielides V, Maltezos E, Papanas N (2014) Olfactory dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an additional manifestation of microvascular disease? *Angiology* 65(10):869-76. DOI: 10.1177/0003319714520956
Graakjaer J, Bischoff C, Korsholm L, Holstebroe S, Vach W, Bohr VA, Christensen K, Kølvraa S (2003) The pattern of chromosome-specific variations in telomere length in humans is determined by inherited, telomere-near factors and is maintained throughout life. *Mech Aging Dev* 124(5):629-40. DOI: 10.1016/s0047-6374(03)00081-2
Gramza AF (1967) Responses of brooding nighthawks to a disturbance stimulus. *Auk* 84(1):72-86. DOI: www.jstor.org/stable/4083256
Grandin T (2014) *Genetics and the Behavior of Domestic Animals*. Elsevier. DOI: 10.1016/C2011-0-07148-X
Granot D, Levine A, Dor-Hefetz E (2003) Sugar-induced apoptosis in yeast cells. *FEMS Yeast Res* 4(1):7-13. DOI: 10.1016/S1567-1356(03)00154-5
Graziadei PPC, Monti Graziadei GA (1978) Continuous Nerve Cell Renewal in the Olfactory System. In: Jacobson M (ed) *Handbook of Sensory Physiology*, vol IX, *Development of Sensory Systems*. Springer, Berlin and Heidelberg, pp. 55-83.
Greaves MF (2000) *Cancer: The Evolutionary Legacy*. Oxford University Press, Oxford.
Greenhouse L, Lardinois CK (1996) Alcohol-associated diabetes mellitus. A review of the impact of alcohol consumption on carbohydrate metabolism. *Arch Fam Med* 5(4):229-33. DOI: 10.1001/archfami.5.4.229
Greenwood J, Cooper JP (2012) Non-coding telomeric and subtelomeric transcripts are differentially regulated by telomeric and heterochromatin assembly factors in fission yeast. *Nucleic Acids Res* 40(7):2956-63. DOI: 10.1093/nar/gkr1155
Greider CW, Blackburn EH (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* 43(2 Pt 1):405-13. DOI: 10.1016/0092-8674(85)90170-9

Gress TW, Nieto FJ, Shahar E, Wofford MR, Brancati FL (2000) Hypertension and antihypertensive therapy as risk factors for type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *N Engl J Med* 342(13):905-12. DOI: 10.1056/NEJM200003303421301

Griffiths C, Barker J, Bleiker T, Chalmers R, Creamer D (eds) (2016) Rook's Textbook of Dermatology, 9th edition. Wiley-Blackwell, Hoboken (NJ).

Griffiths CEM (1998) Aging of the Skin. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 1293-8.

Griffiths TR (1973) A new unifying theory for the initiation of aging mechanisms and processes. *Mech Ageing Dev* 2(4):295-307. DOI: 10.1016/0047-6374(73)90024-9

Grimby G, Danneskiold-Samsøe B, Hvid K, Saltin B (1982) Morphology and enzymatic capacity in arm and leg muscles in 78-81 year old men and women. *Acta Physiol Scand* 115(1):125-34. DOI: doi.org/10.1111/j.1748-1716.1982.tb07054.x

Grizzi F, Di Caro G, Laghi L, Hermonat P, Mazzola P, Nguyen DD, Radhi S, Figueroa JA, Cobos E, Annoni G, Chiriva-Internati M (2013) Mast cells and the liver aging process. *Immun Ageing* 10(1):9. DOI: 10.1186/1742-4933-10-9

Gronek P, Haas AN, Czarny W, Podstawski R, Delabary M do S, Clark CC, et al. (2021) The Mechanism of Physical Activity-induced Amelioration of Parkinson's Disease: A Narrative Review. *Aging Dis* 12(1):192-202. DOI: 10.14336/AD.2020.0407

Grove GL (1989) Age-associated changes in human epidermal cell renewal and repair. In: Balin AK, Kligman AM (eds). *Aging and the Skin*. Raven Press, New York, pp. 193-204.

Grzegorczyk PB, Jones SW, Mistretta CM (1979) Age related differences in salt-tast acuity. *J Gerontol* 34(6):834-40. DOI: 10.1093/geronj/34.6.834

Guerrier Y, Uziel A (1979) Clinical aspects of taste disorders. *Acta Otolaryngol* 87(3-6):232-5. DOI: 10.3109/00016487909126413

Gupta VB, Rajagopala M, Ravishankar B (2014) Etiopathogenesis of cataract: An appraisal. *Indian J Ophthalmol* 62(2):103-10. DOI: 10.4103/0301-4738.121141

Gu S, Li R, Leader JK, Zheng B, Bon J, Gur D, Sciurba F, Jin C, Pu J (2015) Obesity and extent of emphysema depicted at CT. *Clin Radiol* 70(5):e14-9. DOI: 10.1016/j.crad.2015.01.007

Habot-Wilner Z, Belkin M (2005) [Obesity is a risk factor for eye diseases] [Article in Hebrew] *Harefuah* 144(11):805-9, 821.

Hackett JA, Feldser DM, Greider CW (2001) Telomere dysfunction increases mutation rate and genomic instability. *Cell* 106(3):275-86. DOI: 10.1016/s0092-8674(01)00457-3

Hakh IW, Westling EH (1934) A possible cause of old age. *Science* 79(2045):231. DOI: 10.1126/science.79.2045.231

Haldane JBS (1949) Disease and Evolution. *Ric Sci* 19:S68-76.

Halliday GM, Stevens CH (2011) Glia: initiators and progressors of pathology in Parkinson's disease. *Mov Disord* 26(1):6-17. DOI: doi.org/10.1002/mds.23455

Hall KRL (1960) Social vigilance behaviour of the chacma baboon, *Papio ursinus*. *Behaviour* 16(3-4):261-94. DOI: doi.org/10.1163/156853960X00188

Halter F, Brignoli R (1998) *Helicobacter pylori* and smoking: two additive risk factors for organic dyspepsia. *Yale J Biol Med* 71(2):91-9. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2578888/

Hameed MK, Sheikh ZA, Ahmed A, Najam A (2014) Atorvastatin in the management of tinnitus with hyperlipidemias. *J Coll Physicians Surg Pak* 24(12):927-30. DOI: 12.2014/JCPSP.927930

Hamilton WD (1964) The Genetical Evolution of Social Behaviour. II. *J Theor Biol* 7(1):1-52. DOI: 10.1016/0022-5193(64)90039-6

Hamilton WD (1966) The moulding of senescence by natural selection. *J Theor Biol* 12(1):12-45. DOI: 10.1016/0022-5193(66)90184-6

Hamilton WD (1970) Selfish and Spiteful Behaviour in an Evolutionary Model. *Nature* 228(5277):1218-20. DOI: 10.1038/2281218a0

Hamilton WD (1971) Selection of selfish and altruistic behavior in some extreme models. In: Eisenberg JF, Dillon W (eds) *Man and Beast: Comparative Social Behavior*. Smithsonian Institution Press, Washington (DC), pp. 57-91.

Hamilton WD (1975) Gamblers since life began: barnacles, aphids, elms. *Quart Rev Biol* 50:175-80. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/409043?journalCode=qrb

Han C, Linser P, Park HJ, Kim MJ, White K, Vann JM, Ding D, Prolla TA, Someya S (2016) Sirt1 deficiency protects cochlear cells and delays the early onset of age-related hearing loss in C57BL/6 mice. *Neurobiol Aging* 43:58-71. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.03.023

Handelsman DJ, Conway AJ, Boylan LM, Turtle JR (1984) Testicular function in potential sperm donors: normal ranges and the effects of smoking and varicocele. *Int J Androl* 7(5):369-82. DOI: 10.1111/j.1365-2605.1984.tb00794.x

Handelsman DJ, Staraj S (1985) Testicular size: the effects of aging, malnutrition, and illness. *J Androl* 6(3):144-51. DOI: 10.1002/j.1939-4640.1985.tb00830.x

Hao LY, Armanios M, Strong MA, Karim B, Feldser DM, Huso D, Greider CW (2005) Short telomeres, even in the presence of telomerase, limit tissue renewal capacity. *Cell* 123(6):1121-31. DOI: 10.1016/j.cell.2005.11.020

Hao SY, Ren M, Yang C, Lin DZ, Chen LH, Zhu P, Cheng H, Yan L (2011) Activation of skin renin-angiotensin system in diabetic rats. *Endocrine* 39(3):242-50. DOI: 10.1007/s12020-010-9428-z

Harada K, Iwata M, Kono N, Koda W, Shimonishi T, Nakanuma Y (2000) Distribution of apoptotic cells and expression of apoptosis-related proteins along the intrahepatic biliary tree in normal and non-biliary diseased liver. *Histopathology* 37(4):347-54. DOI: 10.1046/j.1365-2559.2000.00982.x

Harley CB (2002) Telomerase is not an oncogene. *Oncogene* 21:494-502. DOI: www.nature.com/articles/1205076

Harley CB, Futcher AB, Greider CW (1990) Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345(6274):458-60. DOI: 10.1038/345458a0

Harley CB, Liu W, Blasco M, Vera E, Andrews WH, Briggs LA, Raffaele JM (2011) A natural product telomerase activator as part of a health maintenance program. *Rejuvenation Res* 14(1):45-56. DOI: 10.1089/rej.2010.1085

Harley CB, Liu W, Flom PL, Raffaele JM (2013) A natural product telomerase activator as part of a health maintenance program: metabolic and cardiovascular response. *Rejuvenation Res* 16(5):386-95. DOI: 10.1089/rej.2013.1430

Harman D (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11(3):298-300. DOI: 10.1093/geronj/11.3.298

Harman D (1972) The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc* 20(4):145-7. DOI: 10.1111/j.1532-5415.1972.tb00787.x

Harper CR, Jacobson TA (2007) The broad spectrum of statin myopathy: from myalgia to rhabdomyolysis. *Curr Opin Lipidol* 18(4):401-8. DOI: 10.1097/MOL.0b013e32825a6773

Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH (1987) Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in U.S. population aged 20-74 yr. *Diabetes* 36(4):523-34. DOI: 10.2337/diab.36.4.523

Hart AR, Kennedy H, Harvey I (2008) Pancreatic cancer: a review of the evidence on causation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 6(3):275-82. DOI: 10.1016/j.cgh.2007.12.041

Hart RJ, Doherty DA, McLachlan RI, Walls ML, Keelan JA, Dickinson JE, Skakkebaek NE, Norman RJ, Handelsman DJ (2015) Testicular function in a birth cohort of young men. *Hum Reprod* 30(12):2713-24. DOI: 10.1093/humrep/dev244

Hartsock RJ, Smith EB, Petty CS (1965) Normal variations with aging of the amount of hematopoietic tissue in bone marrow from the anterior iliac crest. A study made from 177 cases of sudden death examined by necropsy. *Am J Clin Pathol* 43:326-31. DOI: 10.1093/ajcp/43.4.326

Hashemi MM, Gladwin TE, de Valk NM, Zhang W, Kaldewaij R, van Ast V, Koch SBJ, Klumpers F, Roelofs K (2019) Neural Dynamics of Shooting Decisions and the Switch from Freeze to Fight. *Sci Rep* 9(1):4240. DOI: 10.1038/s41598-019-40917-8

Hastie ND, Allshire RC (1989) Human telomeres: fusion and interstitial sites. *Trends Genet* 5(10):326-31. DOI: 10.1016/0168-9525(89)90137-6

Hausfater G, Hrdy SB (1984) *Infanticide: Comparative and evolutionary perspectives.* AldineTransaction, New York.

Hawkes K, O'Connell J, Blurton Jones NB (2018) Hunter-gatherer studies and human evolution: A very selective review. *Am J Phys Anthropol* 165(4):777-800. DOI: 10.1002/ajpa.23403

Hayflick L (1965) The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 37:614-36. DOI: 10.1016/0014-4827(65)90211-9

Hayflick L (1977) The cellular basis for biological aging. In: Finch CE, Hayflick L (eds) *Handbook of the Biology of Aging*. Van Nostrand Reinhold Co, New York, pp. 159-86.

Hayflick L (2000) The future of ageing. *Nature* 408(6809):267-9. DOI: 10.1038/35041709
Hayflick L (2007a) Entropy explains aging, genetic determinism explains longevity, and undefined terminology explains misunderstanding both. *PLoS Genet* 3(12):e220. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030220
Hayflick L (2007b) Biological aging is no longer an unsolved problem. *Ann N Y Acad Sci* 1100:1-13. DOI: 10.1196/annals.1395.001
Hayflick L, Moorhead PS (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 25:585-621. DOI: 10.1016/0014-4827(61)90192-6
Heckmann JG, Höcherl C, Dütsch M, Lang C, Schwab S, Hummel T (2009). Smell and taste disorders in polyneuropathy: a prospective study of chemosensory disorders. *Acta Neurol Scand* 120(4):258-63. DOI: 10.1111/j.1600-0404.2008.01151.x
Heilbrunn LV (1943) *An Outline of General Physiology*, 2nd ed. W. B. Saunders, Philadelphia and London.
Helzner EP, Contrera KJ (2016) Type 2 Diabetes and Hearing Impairment. *Curr Diab Rep* 16(1):3. DOI: 10.1007/s11892-015-0696-0
Henchcliffe C, Dodel R, Beal MF (2011) Biomarkers of Parkinson's disease and Dementia with Lewy bodies. *Prog Neurobiol* 95(4):601-13. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2011.09.002
Hendaus MA, Jomha FA, Ehlayel M (2016) Allergic diseases among children: nutritional prevention and intervention. *Ther Clin Risk Manag* 12:361-72. DOI: 10.2147/TCRM.S98100
Henkin RI, Graziadei PPG, Bradley DF (1969) NIH clinical staff conference. The molecular basis of taste and his disorders. *Ann Intern Med* 71(4):791-821. DOI: 10.7326/0003-4819-71-4-791
Héraud F, Héraud A, Harmand MF (2000) Apoptosis in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Ann Rheum Dis* 59(12):959-65. DOI: 10.1136/ard.59.12.959
Herberholz J, Marquart GD (2012) Decision Making and Behavioral Choice during Predator Avoidance. *Front Neurosci* 6:125. DOI: 10.3389/fnins.2012.00125
Herker E, Jungwirth H, Lehmann KA, Maldener C, Fröhlich KU, Wissing S, Büttner S, Fehr M, Sigrist S, Madeo F (2004) Chronological aging leads to apoptosis in yeast. *J Cell Biol* 164(4):501-7. DOI: 10.1083/jcb.200310014
Herodotus (V century b.C.), *The Histories.*
Herrera E, Samper E, Martín-Caballero J, Flores JM, Lee HW, Blasco MA (1999) Disease states associated with telomerase deficiency appear earlier in mice with short telomeres. *EMBO J* 18(11):2950-60. DOI: 10.1093/emboj/18.11.2950
Herrick C, Bahrainy S, Gill EA (2016) Statins and the Liver. *Endocrinol Metab Clin North Am* 45(1):117-28. DOI: 10.1016/j.ecl.2015.09.008
Hershey LA, Perlmutter JS (2014) Smoking and Parkinson disease: where there is smoke there may not be fire. *Neurology* 83(16):1392-3. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000896
He YH, Jiang GX, Yang Y, Huang HE, Li R, Li XY, Ning G, Cheng Q (2009) Obesity and its associations with hypertension and type 2 diabetes among Chinese adults age 40 years and over. *Nutrition* 25(11-12):1143-9. DOI: 10.1016/j.nut.2009.04.003
Heymann D, Stern Y, Cosentino S, Tatarina-Nulman O, Dorrejo JN, Gu Y (2016) The Association Between Alcohol Use and the Progression of Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res* 13(12):1356-62. DOI: 10.2174/1567205013666160603005035
Hickman IJ, Macdonald GA (2007) Impact of diabetes on the severity of liver disease. *Am J Med* 120(10):829-34. DOI: 10.1016/j.amjmed.2007.03.025
Higuchi T, Omata F, Tsuchihashi K, Higashioka K, Koyamada R, Okada S (2016) Current cigarette smoking is a reversible cause of elevated white blood cell count: Cross-sectional and longitudinal studies. *Prev Med Rep* 4:417-22. DOI: 10.1016/j.pmedr.2016.08.009
Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T (2003) Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 348(7):593-600. DOI: 10.1056/NEJMoa022287
Hill K, Hurtado AM (1996) *Ache Life History*. Aldine De Gruyter, New York.
Hill WG, Robertson A (1966) The effect of linkage on limits to artificial selection. *Genet Res* 8(3):269-94.
Himmelmann A (1999) Hypertension: an important precursor of heart failure. *Blood Press* 8(5-6):253-60. DOI: 10.1080/080370599439454
Hiratsuka Y, Ono K, Murakami A (2009) Alcohol use and cataract. *Curr Drug Abuse Rev* 2(3):226-9. DOI: 10.2174/1874473710902030226

Hjelmborg JB, Dalgård C, Möller S, Steenstrup T, Kimura M, Christensen K, Kyvik KO, Aviv A (2015) The heritability of leucocyte telomere length dynamics. *J Med Genet* 52(5):297-302. DOI: 10.1136/jmedgenet-2014-102736

Hochman A (1997) Programmed cell death in prokaryotes. *Crit Rev Microbiol* 23(3):207-14. DOI: 10.3109/10408419709115136

Holcombe C (1992) Helicobacter pylori: The African Enigma. *Gut* 33(4):429-31. DOI: 10.1136/gut.33.4.429

Holick MF (2017) The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord* 18(2):153-165. DOI: 10.1007/s11154-017-9424-1

Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM (2012) Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab* 97(4):1153-8. DOI: 10.1210/jc.2011-2601

Holick MF, Chen TC (2008) Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 87(4):S1080-6. DOI: 10.1093/ajcn/87.4.1080S

Holliday R (1996) Endless quest. *BioEssays* 18(1):3-5. DOI: 10.1002/bies.950180103

Holmes DJ, Austad SN (1995) Birds as Animal Models for the Comparative Biology of Aging: A Prospectus. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 50(2):B59-66. DOI: 10.1093/gerona/50a.2.b59

Hood S, Amir S (2017) The aging clock: circadian rhythms and later life. *J Clin Invest* 127(2):437-46. DOI: 10.1172/JCI90328

Hopkins DR, Murrah B, Hoeger WW, Rhodes RC (1990) Effect of low-impact aerobic dance on the functional fitness of elderly women. *Gerontologist* 30(2):189-92. DOI: 10.1093/geront/30.2.189

Horiuchi Y, Hirayama S, Soda S, Seino U, Kon M, Ueno T, Idei M, Hanyu O, Tsuda T, Ohmura H, Miida T (2010) Statin therapy reduces inflammatory markers in hypercholesterolemic patients with high baseline levels. *J Atheroscler Thromb* 17(7):722-9. DOI: 10.5551/jat.3632

Horner V, de Waal FBM (2009) Controlled studies of chimpanzee cultural transmission. *Prog Brain Res* 178:3-15. DOI: 10.1016/S0079-6123(09)17801-9

Horvath S, Erhart W, Brosch M, Ammerpohl O, von Schönfels W, Ahrens M, Heits N, Bell JT, Tsai PC, Spector TD, Deloukas P, Siebert R, et al. (2014) Obesity accelerates epigenetic aging of human liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111(43):15538-43. DOI: 10.1073/pnas.1412759111

Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA (2003) Small molecule activators of sirtuins extend Saccharomyces cerevisiae lifespan. *Nature* 425(6954):191-6. DOI: 10.1038/nature01960

Hruby A, Manson JE, Qi L, Malik VS, Rimm EB, Sun Q, Willett WC, Hu FB (2016) Determinants and Consequences of Obesity. *Am J Public Health* 106(9):1656-62. DOI: 10.2105/AJPH.2016.303326

Huang WJ, Zhang X, Chen WW (2016) Association between alcohol and Alzheimer's disease. *Exp Ther Med* 12(3):1247-50. DOI: 10.3892/etm.2016.3455

Huard JM, Youngentob SL, Goldstein BJ, Luskin MB, Schwob JE (1998) Adult olfactory epithelium contains multipotent progenitors that give rise to neurons and non-neural cells. *J Comp Neurol* 400(4):469-86. DOI: doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19981102)400:4<469::AID-CNE3>3.0.CO;2-8

Hu G, Jousilahti P, Bidel S, Antikainen R, Tuomilehto J (2007) Type 2 diabetes and the risk of Parkinson's disease. *Diabetes Care* 30(4):842-7. DOI: 10.2337/dc06-2011

Hu G, Jousilahti P, Nissinen A, Antikainen R, Kivipelto M, Tuomilehto J (2006) Body mass index and the risk of Parkinson disease. *Neurology* 67(11):1955-9. DOI: 10.1212/01.wnl.0000247052.18422.e5

Hyman LH (1951) *The Invertebrates*. Vol. 3, *Acantocephala, Aschelmintes, and Entoprocta. The Pseudocoelomate Bilateria*. McGraw-Hill, New York.

Iannotti LL, Tielsch JM, Black MM, Black RE (2006) Iron supplementation in early childhood: health benefits and risks. *Am J Clin Nutr* 84(6):1261-76. DOI: 10.1093/ajcn/84.6.1261

Ighodaro OM, Akinloye OA (2017) First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med* 54(4):287-93. DOI: doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001

Ilomaki J, Jokanovic N, Tan EC, Lonnroos E (2015) Alcohol Consumption, Dementia and Cognitive Decline: An Overview of Systematic Reviews. *Curr Clin Pharmacol* 10(3):204-12. DOI: 10.2174/1574884710031508201455 39

Imai SI, Guarente L (2016) It takes two to tango: NAD(+) and sirtuins in aging/longevity control. *NPJ Aging Mech Dis* 2:16017. DOI: 10.1038/npjamd.2016.17

Ingawale DK, Mandlik SK, Naik SR (2014) Models of hepatotoxicity and the underlying cellular, biochemical and immunological mechanism(s): a critical discussion. *Environ Toxicol Pharmacol* 37(1):118-33. DOI: 10.1016/j.etap.2013.08.015

Ingram DK, Roth GS (2015) Calorie restriction mimetics: can you have your cake and eat it, too? *Ageing Res Rev* 20:46-62. DOI: 10.1016/j.arr.2014.11.005

Ishaq A, Hanson PS, Morris CM, Saretzki G (2016) Telomerase Activity is Downregulated Early During Human Brain Development. *Genes (Basel)* 7(6). pii: E27. DOI: 10.3390/genes7060027

Ishihara L, Brayne C (2005) A systematic review of nutritional risk factors of Parkinson's disease. *Nutr Res Rev* 18(2):259-82. DOI: 10.1079/NRR2005108

Ishikawa F (2013) Portrait of replication stress viewed from telomeres. *Cancer Sci* 104(7):790-4. DOI: 10.1111/cas.12165

Islam MS, Jin YY, Chung HJ, Kim HJ, Baek SH, Hong ST (2019) Effect of the Resveratrol Rice DJ526 on Longevity. *Nutrients* 11(8). pii: E1804. DOI: 10.3390/nu11081804

Iwai N, Zhou Z, Roop DR, Behringer RR (2008) Horizontal basal cells are multipotent progenitors in normal and injured adult olfactory epithelium. *Stem Cells* 26(5):1298-306. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0891

Jablecka A, Czaplicka E, Olszewski J, Bogdanski P, Krauss H, Smolarek I (2009) Influence of selected angiotensin-converting enzyme inhibitors on alloxan-induced diabetic cataract in rabbits. *Med Sci Monit* 15(11):BR334-8.

Jacobs DR Jr, Gross MD, Tapsell LC (2009) Food synergy: an operational concept for understanding nutrition. *Am J Clin Nutr* 89(5):1543-8S. DOI: 10.3945/ajcn.2009.26736B

Jacobson MD, Weil M, Raff MC (1997) Programmed cell death in animal development. *Cell* 88(3):347-54. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81873-5

Jahani L, Mehrparvar AH, Esmailidehaj M, Rezvani ME, Moghbelolhossein B, Razmjooei Z (2016) The Effect of Atorvastatin on Preventing Noise-Induced Hearing Loss: An Experimental Study. *Int J Occup Environ Med* 7(1):15-21. DOI: 10.15171/ijoem.2016.627

Jalayer Naderi N, Semyari H, Elahinia Z (2015) The Impact of Smoking on Gingiva: a Histopathological Study. *Iran J Pathol* 10(3):214-20. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4539769/

Jaminet P, Jaminet SC (2012) *Perfect Health Diet*. Simon and Scuster, New York.

Jamshidi L, Seif A (2017) Association Between Obesity, White Blood Cell and Platelet Count. *Zahedan J Res Med Sci* 19(2):e4955. DOI: 10.5812/zjrms.4955

Janeway CA Jr, Paul Travers P, Walport M, Shlomchik MJ (2001) *Immunobiology*: *The Immune System in Health and Disease.* , 5th ed. Garland Science, New York and London.

Jankovic J (2008) Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79(4):368-76. DOI: 10.1136/jnnp.2007.131045

Janković S, Radosavljević V (2007) Risk factors for bladder cancer. *Tumori* 93(1):4-12.

Janssen HC, Samson MM, Verhaar HJ (2002) Vitamin D deficiency, muscle function, and falls in elderly people. *Am J Clin Nutr* 75(4):611-5. DOI: 10.1093/ajcn/75.4.611

Jaskelioff M, Muller FL, Paik JH, Thomas E, Jiang S, Adams AC, Sahin E, Kost-Alimova M, Protopopov A,Cadiñanos J, Horner JW, Maratos-Flier E, Depinho RA (2011) Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Nature* 469(7328):102-6. DOI: 10.1038/nature09603

Jassal V, Fillit H, Oreopoulos DG (1998) Aging of the Urinary Tract. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 919-24.

Jazwinski SM (1993) The genetics of aging in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetica* 91(1-3):35-51. DOI: 10.1007/bf01435986

Jeon OH, Kim C, Laberge RM, Demaria M, Rathod S, Vasserot AP, Chung JW, Kim DH, Poon Y, David N, Baker DJ, van Deursen JM, et al. (2017) Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment. *Nat Med* 23(6):775-81. DOI: 10.1038/nm.4324

Jibrini MB, Molnar J, Arora RR (2008) Prevention of atrial fibrillation by way of abrogation of the renin-angiotensin system: a systematic review and meta-analysis. *Am J Ther* 15(1):36-43. DOI: 10.1097/MJT.0b013e31804beb59

Jickeli CF (1902) *Die Unvollkommenheit des Stoffwechsels als Veranlassung für Vermehrung, Wachstum, Differenzierung, Rückbildung und Tod der Lebewesen im Kampf ums Dasein*. Friedländer, Berlin.

Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaeberlein M (2013) mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature* 493(7432):338-45. DOI: 10.1038/nature11861

Jonassaint NL, Guo N, Califano JA, Montgomery EA, Armanios M (2013) The gastrointestinal manifestations of telomere-mediated disease. *Aging Cell* 12(2):319-23. DOI: 10.1111/acel.12041

Jones IH, Muckleston HS, Lewis ER, Owen GR (1950) Nutrition and the eye, ear, nose and throat (with excerpts from the literature.). *The Laryngoscope* 60(12):1210-26.

Jones M, Bisht K, Savage SA, Nandakumar J, Keegan CE, Maillard I (2016) The shelterin complex and hematopoiesis. *J Clin Invest* 126(5):1621-9. DOI: 10.1172/JCI84547

Jones OR, Gaillard JM, Tuljapurkar S, Alho JS, Armitage KB, Becker PH, Bize P, Brommer J, Charmantier A, Charpentier M, Clutton-Brock T, Dobson FS, et al. (2008) Senescence rates are determined by ranking on the fast-slow life-history continuum. *Ecol Lett* 11(7):664-73. doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01187.x.

Jones OR, Scheuerlein A, Salguero-Gómez R, Camarda CG, Schaible R, Casper BB, Dahlgren JP, Ehrlén J, García MB, Menges ES, Quintana-Ascencio PF, Caswell H, et al. (2014) Diversity of ageing across the tree of life. *Nature* 505(7482):169-73. DOI: 10.1038/nature12789

Jones RB, Whitney RG, Smith JR (1985) Intramitotic variation in proliferative potential: stochastic events in cellular aging. *Mech Ageing Dev* 29(2):143-9. DOI: 10.1016/0047-6374(85)90014-4

Josse L, Xie J, Proud CG, Smales CM (2016) mTORC1 signalling and eIF4E/4E-BP1 translation initiation factor stoichiometry influence recombinant protein productivity from GS-CHOK1 cells. *Biochem J* 473(24):4651-64. DOI: 10.1042/BCJ20160845

Junnila RK, List EO, Berryman DE, Murrey JW, Kopchick JJ (2013) The GH/IGF-1 axis in ageing and longevity. *Nat Rev Endocrinol* 9(6):366-76. DOI: 10.1038/nrendo.2013.67

Kabyemela ER, Fried M, Kurtis JD, Mutabingwa TK, Duffy PE (2008) Decreased susceptibility to *Plasmodium falciparum* infection in pregnant women with iron deficiency. *J Infect Dis* 198(2):163-6. DOI: 10.1086/589512

Kaeberlein M, Burtner CR, Kennedy BK (2007) Recent developments in yeast aging. *PLoS Genetics* 3(5):e84. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030084

Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P (1998) Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(15):8801-5. DOI: 10.1073/pnas.95.15.8801

Kandeel S, Balaha M (2015) The possible protective effect of simvastatin and pioglitazone separately and in combination on bleomycin-induced changes in mice thin skin. *Tissue Cell* 47(2):159-70. DOI: 10.1016/j.tice.2015.01.003

Karuppagounder SS, Pinto JT, Xu H, Chen HL, Beal MF, Gibson GE (2009) Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 54(2):111-8. DOI: 10.1016/j.neuint.2008.10.008

Kassowitz M (1899) *Allgemeine Biologie*. Wien.

Kato S, Schroeter S (1985) Biology of the Red Sea Urchin, Strongylocentrotus franciscanus, and Its Fishery in California. *Marine Fisheries Review* 47(3).

Katsi VK, Marketou ME, Vrachatis DA, Manolis AJ, Nihoyannopoulos P, Tousoulis D, Vardas PE, Kallikazaros I (2015) Essential hypertension in the pathogenesis of age-related macular degeneration: a review of the current evidence. *J Hypertens* 33(12):2382-8. DOI: 10.1097/HJH.0000000000000766

Katzberg AA (1958) The area of the dermo-epidermal junction in human skin. *Anat Rec* 131(4):717-25. DOI: doi.org/10.1002/ar.1091310408

Katzmarzyk PT (2010) Physical Activity, Sedentary Behavior, and Health: Paradigm Paralysis or Paradigm Shift? *Diabetes* 59(11):2717-25. DOI: 10.2337/db10-0822

Kawamura S (1927) On the periodical flowering of the bamboo. *Jpn J Bot* 3:335-49.

Kazancioğlu R (2013) Risk factors for chronic kidney disease: an update. *Kidney Int Suppl* 3(4):368-71. DOI: 10.1038/kisup.2013.79

Keller KM, Howlett SE (2016) Sex Differences in the Biology and Pathology of the Aging Heart. *Can J Cardiol* 32(9):1065-73. DOI: 10.1016/j.cjca.2016.03.017

Kempen JH, Mitchell P, Lee KE, Tielsch JM, Broman AT, Taylor HR, Ikram MK, Congdon NG, O'Colmain BJ; Eye Diseases Prevalence Research Group. (2004) The prevalence of refractive errors among adults in the United States, Western Europe, and Australia. *Arch Ophthalmol* 122(4):495-505. DOI: 10.1001/archopht.122.4.495

Kendal R, Hopper LM, Whiten A, Brosnan SF, Lambeth SP, Schapiro SJ, Hoppitt W (2015) Chimpanzees copy dominant and knowledgeable individuals: implications for cultural diversity. *Evol Hum Behav* 36(1):65-72. DOI: 10.1016/j.evolhumbehav.2014.09.002

Kenshalo DR (1986) Somesthetic sensitivity in young and elderly humans. *J Gerontol* 41(6):732-42. DOI: 10.1093/geronj/41.6.732

Kerr D (2009) Foreword. In: Nakazawa DJ, *The autoimmune epidemic*. Touchstone Book, New York.

Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26(4):239-57. DOI: 10.1038/bjc.1972.33

Khan MM, Ahmad A, Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Khuwaja G, Raza SS, Khan A, Javed H, Vaibhav K, Islam F (2010) Resveratrol attenuates 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage and dopamine depletion in rat model of Parkinson's disease. *Brain Res* 1328:139-51. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.02.031

Khan S, Nabi G, Yao L, Siddique R, Sajjad W, Kumar S, Duan P, Hou H (2018) Health risks associated with genetic alterations in internal clock system by external factors. Int J Biol Sci, 14(7):791-8. DOI: 10.7150/ijbs.23744

Khayrullin A, Smith L, Mistry D, Dukes A, Pan YA, Hamrick MW (2016) Chronic alcohol exposure induces muscle atrophy (myopathy) in zebrafish and alters the expression of microRNAs targeting the Notch pathway in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 479(3):590-5. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.09.117

Kim DJ, Noh JH, Lee BW, Choi YH, Chung JH, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW (2008) The associations of total and differential white blood cell counts with obesity, hypertension, dyslipidemia and glucose intolerance in a Korean population. *Korean Med Sci* 23(2):193-8. DOI: 10.3346/jkms.2008.23.2.193

Kim HY, Kim JH, Dhong HJ, Kim KR, Chung SK, Chung SC, Kang JM, Jung YG, Jang SY, Hong SD (2012) Effects of statins on the recovery of olfactory function in a 3-methylindole-induced anosmia mouse model. *Am J Rhinol Allergy* 26(2):e81-4. DOI: 10.2500/ajra.2012.26.3719

Kim IH, Kisseleva T, Brenner DA (2015a) Aging and liver disease. *Curr Opin Gastroenterol* 31(3):184-91. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000176

Kim J-H, Noh J, Choi JW, Park EC (2017a) Association of Education and Smoking Status on Risk of Diabetes Mellitus: A Population-Based Nationwide Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health* 14(6). DOI: 10.3390/ijerph14060655

Kim JY, Lee DY, Lee YJ, Park KJ, Kim KH, Kim JW, Kim WH (2015b) Chronic alcohol consumption potentiates the development of diabetes through pancreatic β-cell dysfunction. *World J Biol Chem* 6(1):1-15. DOI: 10.4331/wjbc.v6.i1.1

Kim NW, Hruszkewycz AM (2001) Telomerase activity modulation in the prevention of prostate cancer. *Urology* 57(4 Suppl 1):148-53. DOI: 10.1016/s0090-4295(00)00962-6

Kim YH, Park TJ (2019) Cellular senescence in cancer. *BMB Rep* 52(1):42-6. DOI: 10.5483/BMBRep.2019.52.1.295

Kim Y, Triolo M, Hood DA (2017b) Impact of Aging and Exercise on Mitochondrial Quality Control in Skeletal Muscle. *Oxid Med Cell Longev* 2017:3165396. DOI: 10.1155/2017/3165396

Kirchner DB (2002) The spectrum of allergic disease in the chemical industry. *Int Arch Occup Environ Health* 75 Suppl:S107-12. DOI: 10.1007/s00420-002-0345-1

Kirkland JL, Tchkonia T (2015) Clinical strategies and animal models for developing senolytic agents. *Exp Gerontol* 68:19-25. DOI: 10.1016/j.exger.2014.10.012

Kirkland JL, Tchkonia T (2017) Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine* 21:21-8. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.04.013

Kirkwood TB (1977) Evolution of ageing. *Nature* 270(5635):301-4. DOI: 10.1038/270301a0

Kirkwood TB (1981). Repair and its evolution: survival versus reproduction. In: Townsend CR, Calow P (eds), *Physiological Ecology: An Evolutionary Approach to Resource Use*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 165-89.

Kirkwood TB (2005) Understanding the odd science of aging. *Cell* 120(4):437-47. DOI: 10.1016/j.cell.2005.01.027

Kirkwood TB, Austad SN (2000) Why do we age? *Nature* 408(6809):233-8. DOI: 10.1038/35041682

Kirkwood TB, Cremer T (1982) Cytogerontology Since 1881: A Reappraisal of August Weissmann and a Review of Modern Progress. *Hum Genet* 60(2):101-21. DOI: 10.1007/bf00569695

Kirkwood TB, Holliday R (1979) The evolution of ageing and longevity. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 205(1161):531-46. DOI: 10.1098/rspb.1979.0083

Kirkwood TB, Kapahi P, Shanley DP (2000) Evolution, stress, and longevity. *J Anat* 197 Pt 4:587-90. DOI: 10.1046/j.1469-7580.2000.19740587.x

Kirkwood TB, Melov S (2011) On the programmed/non-programmed nature of ageing within the life history. *Curr Biol* 21(18):R701-7. DOI: 10.1016/j.cub.2011.07.020

Klapper W, Heidorn H, Kühne K, Parwaresch R, Krupp G (1998) Telomerase in 'immortal fish'. *FEBS Letters* 434(3):409-12. DOI: 10.1016/s0014-5793(98)01020-5

Klapper W, Kühne K, Singh KK, Heidorn K, Parwaresch R, Krupp G (1998) Longevity of lobsters is linked to ubiquitous telomerase expression. *FEBS Letters* 439(1-2):143-6. DOI: 10.1016/s0014-5793(98)01357-x

Klein BE, Klein R, Lee KE, Grady LM (2006) Statin use and incident nuclear cataract. *JAMA* 295(23):2752-8. DOI: 10.1001/jama.295.23.2752

Klein R, Cruickshanks KJ, Nash SD, Krantz EM, Nieto FJ, Huang GH, Pankow JS, Klein BE (2010) The prevalence of age-related macular degeneration and associated risk factors. *Arch Ophthalmol* 128(6):750-8. DOI: 10.1001/archophthalmol.2010.92

Klein R, Deng Y, Klein BE, Hyman L, Seddon J, Frank RN, Wallace RB, Hendrix SL, Kuppermann BD, Langer RD, Kuller L, Brunner R, et al. (2007) Cardiovascular disease, its risk factors and treatment, and age-related macular degeneration: Women's Health Initiative Sight Exam ancillary study. *Am J Ophthalmol* 143(3):473-83. DOI: 10.1016/j.ajo.2006.11.058

Klimis-Zacas D, Wolinsky I (2005) *Nutritional concerns of women*. CRC Press, USA.

Klitgaard H, Mantoni M, Schiaffino S, Ausoni S, Gorza L, Laurent-Winter C, Schnohr P, Saltin B (1990) Function. morphology and protein expression of ageing skeletal muscle: a cross-sectional study of elderly men with different training backgrounds. *Acta Physiol Scand* 140(1):41-54. DOI: 10.1111/j.1748-1716.1990.tb08974.x

Koike H, Sobue G (2006) Alcoholic neuropathy. *Curr Opin Neurol* 19(5):481-6. DOI: 10.1097/01.wco.0000245371.89941.eb

Kojima KK, Kubo Y, Fujiwara H (2002) Complex and tandem repeat structure of subtelomeric regions in the Taiwan cricket, *Teleogryllus taiwanemma*. *J Mol Evol* 54(4):474-85. DOI: 10.1007/s0023901-0038-5

Kondratova AA, Kondratov RV (2013) Circadian clock and pathology of ageing brain. *Nat Rev Neurosci* 13(5):325-35. DOI: 10.1038/nrn3208

Konturek PC, Haziri D, Brzozowski T, Hess T, Heyman S, Kwiecien S, Konturek SJ, Koziel J (2015) Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases. *J Physiol Pharmacol* 66(4):483-91.

Konukoglu D, Uzun H (2016) Endothelial Dysfunction and Hypertension. In: Islam S (ed) Hypertension: from basic research to clinical practice. Springer, Cham, p. 511-540. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-44251-8

Koonin EV, Aravind L (2002) Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: the bacterial connection. *Cell Death Differ* 9(4):394-404. DOI: 10.1038/sj.cdd.4400991

Kopaczewski W (1938) Problème de vieillissement: recherches sur les colloides. *Protoplasma* 30(1):291-308.

Koppes LL, Dekker JM, Hendriks HF, Bouter LM, Heine RJ (2005) Moderate alcohol consumption lowers the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective observational studies. *Diabetes Care* 28(3):719-25. DOI: 10.2337/diacare.28.3.719

Kordyukova M, Olovnikov I, Kalmykova A (2018) Transposon control mechanisms in telomere biology. *Curr Opin Genet Dev* 49:56-62. DOI: 10.1016/j.gde.2018.03.002

Kouyos RD, Salathé M, Bonhoeffer S (2007) The Red Queen and the persistence of linkage-disequilibrium oscillations in finite and infinite populations. *BMC Evol Biol* 7:211. DOI: 10.1186/1471-2148-7-211

Kovesdy CP, Furth S, Zoccali C ; World Kidney Day Steering Committee (2017) Obesity and kidney disease: Hidden consequences of the epidemic. *Physiol Int* 104(1):1-14. DOI: 10.1556/2060.104.2017.1.9

Kowald A, Kirkwood TB (2016) Can aging be programmed? A critical literature review. *Aging Cell* 15(6):986-98. DOI: 10.1111/acel.12510

Koye DN, Shaw JE, Reid CM, Atkins RC, Reutens AT, Magliano DJ (2017) Incidence of chronic kidney disease among people with diabetes: a systematic review of observational studies. *Diabet Med* 34(7):887-901. DOI: 10.1111/dme.13324

Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, Kovalev GI, Al-Regaiey K, Su L, Sharpless NE (2014) Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J Clin Invest* 114(9):1299-307. DOI: doi.org/10.1172/JCI22475

Krogman WM (1951) Ths Scars of Human Evolution. *Sci Am* 185(6):54-7. DOI: https://www.jstor.org/stable/24950554

Kubota C, Yamakuchi H, Todoroki J, Mizoshita K, Tabara N, Barber M, Yang X (2000) Six cloned calves produced from adult fibroblast cells after long-term culture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(3):990-5. DOI: 10.1073/pnas.97.3.990

Kubota K, Shirakura T, Orui T, Muratani M, Maki T, Tamura J, Morita T (1991) [Changes in the blood cell counts with aging] [Article in Japanese] *Nihon Ronen Igakkai Zasshi* 28(4):509-14. DOI: 10.3143/geriatrics.28.509

Kuhn TS (1962) *The Structure of Scientific Revolutions*. The University of Chicago Press, Chicago.

Kume K, Hanyu H, Sakurai H, Takada Y, Onuma T, Iwamoto T (2012) Effects of telmisartan on cognition and regional cerebral blood flow in hypertensive patients with Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int* 12(2):207-14. DOI: 10.1111/j.1447-0594.2011.00746.x

Kurozumi A, Okada Y, Arao T, Tanaka Y (2016) Excess Visceral Adipose Tissue Worsens the Vascular Endothelial Function in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Intern Med* 55(21):3091-5. DOI: 10.2169/internalmedicine.55.6940

Kydd WL, Daly CH (1982) The biological and mechanical effects of stress on oral mucosa. *J Prospeth Dent* 47(3):317-29. DOI: doi.org/10.1016/0022-3913(82)90162-7

Lack D (1954) *The Natural Regulation of Animal Numbers*. Clarendon Press, Oxford.

Lahdenperä M, Lummaa V, Helle S, Tremblay M, Russell AF (2004) Fitness benefits of prolonged post-reproductive lifespan in women. *Nature* 428(6979):178-81. DOI: 10.1038/nature02367

Laird DJ, Weissman IL (2004) Telomerase maintained in self-renewing tissues during serial regeneration of the urochordate Botryllus schlosseri. *Dev Biol* 273(2):185-94. DOI: 10.1016/j.ydbio.2004.05.029

Lai SW, Liao KF, Lin CL, Lin CC, Sung FC (2014) Hearing loss may be a non-motor feature of Parkinson's disease in older people in Taiwan. *Eur J Neurol* 21(5):752-7. DOI: 10.1111/ene.12378

Landy HJ, Keith LG (1998) The vanishing twin: a review. *Hum Reprod Update* 4(2):177-83. DOI: 10.1093/humupd/4.2.177

Lane N (2008) Marine microbiology: origins of death. *Nature* 453(7195):583-5. DOI: 10.1038/453583a

Lange KW, Li S (2018) Resveratrol, pterostilbene, and dementia. *Biofactors* 44(1):83-90. DOI: 10.1002/biof.1396

Lansing AI (1942) Some effects of hydrogen ion concentration, total salt concentration, calcium and citrate on longevity and fecundity in the rotifer. *J Exp Zool* 91(2):195-211. DOI: doi.org/10.1002/jez.1400910206

Lansing AI (1948) Evidence for aging as a consequence of growth cessation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 34:304-10. DOI: 10.1073/pnas.34.6.304

Lansing AI (1951) Some physiological aspects of ageing. *Physiol Rev* 31(3):274-84. DOI: doi.org/10.1152/physrev.1951.31.3.274

Lanza RP, Cibelli JB, Faber D, Sweeney RW, Henderson B, Nevala W, West MD, Wettstein PJ (2001) Cloned cattle can be healthy and normal. *Science* 294(5548):1893-4. DOI: 10.1126/science.1063440

Larizza L, Roversi G, Volpi L (2010) Rothmund-Thomson syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 5:2. DOI: 10.1186/1750-1172-5-2

Larsson L, Degens H, Li M, Salviati L, Lee YI, Thompson W, Kirkland JL, Sandri M (2019) Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol Rev* 99(1):427-511. DOI: 10.1152/physrev.00061.2017

Laugel V (2013) Cockayne syndrome: the expanding clinical and mutational spectrum. *Mech Ageing Dev* 134(5-6):161-70. DOI: 10.1016/j.mad.2013.02.006

Laun P, Bruschi CV, Dickinson JR, Rinnerthaler M, Heeren G, Schwimbersky R, Rid R, Breitenbach M (2007) Yeast mother cell-specific ageing, genetic (in)stability, and the somatic mutation theory of ageing. *Nucleic Acids Res* 35(22):7514-26. DOI: 10.1093/nar/gkm919

Laun P, Pichova A, Madeo F, Fuchs J, Ellinger A, Kohlwein S, Dawes I, Fröhlich KU, Breitenbach M (2001) Aged mother cells of *Saccharomyces cerevisiae* show markers of oxidative stress and apoptosis. *Mol Microbiol* 39(5):1166-73. DOI: doi.org/10.1111/j.1365-2958.2001.02317.x

Laurent D, Edwards JG (2014) Alcoholic Cardiomyopathy: Multigenic Changes Underlie Cardiovascular Dysfunction. *J Cardiol Clin Res* 2(1). www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4607291/

La Vecchia C, Zhang ZF, Altieri A (2008) Alcohol and laryngeal cancer: an update. *Eur J Cancer Prev* 17(2):116-24. DOI: 10.1097/CEJ.0b013e3282b6fd40

Lawrence SE (1992) Sexual cannibalism in the praying mantid, Mantis religiosa: a field study. *Animal Behaviour* 43(4):569-83. DOI: doi.org/10.1016/S0003-3472(05)81017-6

Laws RM (1966) Age criteria for the African elephant, *Loxodonta a. africana*. *E Afr Wildl J* 4(1):1-37. DOI: doi.org/10.1111/j.1365-2028.1966.tb00878.x

Laws RM (1968) Dentition and ageing of the hippopotamus. *E Afr Wildl J* 6(1):19-52. DOI: doi.org/10.1111/j.1365-2028.1968.tb00899.x

Laws RM, Parker ISC (1968) Recent studies on elephant populations in East Africa. *Symp Zool Soc Lond* 21: 319-59.

Lea JP, Nicholas SB (2002) Diabetes mellitus and hypertension: key risk factors for kidney disease. *J Natl Med Assoc* 94(8 Suppl):S7-15. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2594170/

Lebrasseur NK, Tchkonia T, Kirkland JL (2015) Cellular Senescence and the Biology of Aging, Disease, and Frailty. In: *Nestlè Nutr Inst Workshop Ser* 83:11-8. DOI: 10.1159/000382054

Lechler R, Warrens A (2000) *HLA in Health and Disease*. Academic Press, San Diego (CA).

Lee HW, Blasco MA, Gottlieb GJ, Horner JW 2nd, Greider CW, DePinho RA (1998). Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs. *Nature* 392(6676):569-74. DOI: 10.1038/33345

Lee HY, Choi YJ, Choi HJ, Choi MS, Chang DS, Kim AY, Cho CS (2016) Metabolic Syndrome Is not an Independent Risk Factor for Hearing Impairment. *J Nutr Health Aging* 20(8):816-24. DOI: 10.1007/s12603-015-0647-0

Leenders M, Verdijk LB, van der Hoeven L, Adam JJ, van Kranenburg J, Nilwik R, van Loon LJ (2013) Patients with type 2 diabetes show a greater decline in muscle mass, muscle strength, and functional capacity with aging. *J Am Med Dir Assoc* 14(8):585-92. DOI: 10.1016/j.jamda.2013.02.006

Lee SH, Min KJ (2013) Caloric restriction and its mimetics. *BMB Rep* 46(4):181-7. DOI: 10.5483/bmbrep.2013.46.4.033

Lehmann AR, McGibbon D, Stefanini M (2011) Xeroderma pigmentosum. *Orphanet J Rare Dis* 6:70. DOI: 10.1186/1750-1172-6-70

Leifert JA (2008) Anaemia and cigarette smoking. *Int J Lab Hematol* 30(3):177-84. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2008.01067.x

Leonardi-Bee J, Pritchard D, Britton J (2006) Asthma and current intestinal parasite infection. Systematic review and meta-analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 174(5):514-23. DOI: 10.1164/rccm.200603-331OC

Leone A (2015) Toxics of Tobacco Smoke and Cardiovascular System: From Functional to Cellular Damage. *Curr Pharm Des* 21(30):4370-9. DOI: 10.2174/1381612821666150803145149

Leone A Landini L Jr, Biadi O, Balbarini A (2008) Smoking and cardiovascular system: cellular features of the damage. *Curr Pharm Des* 14(18):1771-7. DOI: 10.2174/138161208784746699

Leopold AC (1961) Senescence in plant development. *Science* 134(3492):1727-32. DOI: 10.1126/science.134.3492.1727

Lepeschkin WW (1931) Death and its causes. *Quart Rev. Biol* 6(2):167-77. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/394375?journalCode=qrb

Leri A, Barlucchi L, Limana F, Deptala A, Darzynkiewicz Z, Hintze TH, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa, P (2001) Telomerase expression and activity are coupled with myocyte proliferation and preservation of telomeric length in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(15):8626-31. DOI: 10.1073/pnas.151013298

Lesher S, Fry RJ, Kohn HI (1961) Influence of age on transit time of cells of mouse intestinal epithelium. I. Duodenum. *Lab Invest* 10:291-300.

Lesher S, Sacher GA (1968) Effects of age on cell proliferation in mouse duodenal crypts. *Exp Gerontol* 3(3):211-7. DOI: 10.1016/0531-5565(68)90004-1

Lesur I, Campbell JL (2004) The transcriptome of prematurely aging yeast cells is similar to that of telomerase-deficient cells. *MBC Online* 15(3):1297-312. DOI: 10.1091/mbc.e03-10-0742

Leung CT, Coulombe PA, Reed RR (2007) Contribution of olfactory neural stem cells to tissue maintenance and regeneration. *Nat Neurosci* 10(6):720-6. DOI: 10.1038/nn1882

Levin DA (1975) Pest pressure and recombination systems in plants. *Am Nat* 109:437-51. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/283012

Lewis KA, Wuttke DS (2012) Telomerase and Telomere-Associated Proteins: Structural Insights into Mechanism and Evolution. *Structure* 20(1):28-39. DOI: 10.1016/j.str.2011.10.017
Lewis K (2000) Programmed death in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 64(3):503-14. DOI: 10.1128/mmbr.64.3.503-514.2000
Lewis S (2008) Evolution at the intersection of Biology and Medicine. In: Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ (eds) *Evolutionary Medicine and Health: New Perspectives*. Oxford University Press, New York, pp. 399-415.
Lexell J, Taylor CC, Sjöström M (1988) What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci* 84(2-3):275-94. DOI: 10.1016/0022-510x(88)90132-3
Liao JK, Laufs U (2005) Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 45:89-118. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095748
Libertini G (1983) *Ragionamenti evoluzionistici* [Book in Italian]. Società Editrice Napoletana, Naples (Italy) 1983. English edition (2011): Evolutionary arguments on aging, disease, and other topics. Azinet Press, Crownsville (MD).
Libertini G (1988) An adaptive theory of the increasing mortality with increasing chronological age in populations in the wild. *J Theor Biol* 132(2):145-62. DOI: 10.1016/s0022-5193(88)80153-x
Libertini G (2006) Evolutionary explanations of the "actuarial senescence in the wild" and of the "state of senility". *ScientificWorldJournal* 6:1086-108. DOI: 10.1100/tsw.2006.209
Libertini G (2008) Empirical evidence for various evolutionary hypotheses on species demonstrating increasing mortality with increasing chronological age in the wild. *ScientificWorldJournal* 8:183-93. DOI: 10.1100/tsw.2008.36
Libertini G (2009a) The role of telomere-telomerase system in age-related fitness decline, a tameable process. In: Mancini L (ed.). *Telomeres: function, shortening and lengthening*. Nova Science Publ., New York, pp. 77-132.
Libertini G (2009b) Prospects of a Longer Life Span beyond the Beneficial Effects of a Healthy Lifestyle. In: Bentely JV, Keller MA (eds), *Handbook on Longevity: Genetics, Diet and Disease*. Nova Science Publ., New York, pp. 35-95.
Libertini G (2012) Classification of Phenoptotic Phenomena. *Biochem (Mosc)* 77(7):707-15. DOI: 10.1134/S0006297912070024
Libertini G (2013) Evidence for aging theories from the study of a hunter-gatherer people (Ache of Paraguay). *Biochem (Mosc)* 78(9):1023-32. DOI: 10.1134/S0006297913090083
Libertini G (2014a) The concept of phenoptosis and its usefulness for controlling aging. *Curr Aging Sc* 7(1):32-7. DOI: 10.2174/1874609807666140521103706
Libertini G (2014b) Programmed aging paradigm: how we get old. *Biochem (Mosc)* 79(10):1004-16. DOI: 10.1134/S0006297914100034
Libertini G (2015a) Non-programmed versus programmed aging paradigm. *Curr Aging Sci* 8(1):56-68. DOI: 10.2174/1874609808666150422111623
Libertini G (2015b) Phylogeny of Aging and Related Phenoptotic Phenomena, *Biochem (Mosc)* 80(12):1529-46. DOI: 10.1134/S0006297915120019
Libertini G (2017a) Sex and Aging: A Comparison between Two Phenoptotic Phenomena. *Biochem (Mosc)* 82(12):1435-55. DOI: 10.1134/S0006297917120045
Libertini G (2017b) The Feasibility and Necessity of a Revolution in Geriatric Medicine. *OBM Geriatrics* 1(2). DOI: 10.21926/obm.geriat.1702002
Libertini G (2018) Programmed Aging Paradigm and Aging of Perennial Neurons. In: Ahmad SI (ed.) *Aging. Exploring a Complex Phenomenon*. CRC Press - Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL (USA), pp. 91-116.
Libertini G. (2019a) Aging and Cancer. In: Gu D., Dupre M. (eds) Encyclopedia of Gerontology and Population Aging. Springer, Cham. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_26-1
Libertini G (2019b) Aging Pathology. In: Gu D., Dupre M. (eds) Encyclopedia of Gerontology and Population Aging. Springer, Cham. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_33-1
Libertini G, Corbi G, Cellurale M, Ferrara N (2019) Age-related dysfunctions: evidence and relationship with some risk factors and protective drugs. *Biochem (Mosc)* 84(12):1442-50. DOI: 10.1134/S0006297919120034
Libertini G, Corbi G, Ferrara N (2020) Importance and Meaning of TERRA Sequences for Aging Mechanisms. *Biochem (Mosc)* 85:1505-17. DOI: 10.1134/S0006297920120044

Libertini G, Ferrara N (2016a) Possible Interventions to Modify Aging. *Biochem (Mosc)* 81(12):1413-28. DOI: 10.1134/S0006297916120038
Libertini G, Ferrara N (2016b) Aging of perennial cells and organ parts according to the programmed aging paradigm. *Age (Dordr)* 38(2):35. DOI: 10.1007/s11357-016-9895-0
Libertini G, Ferrara N, Rengo G, Corbi G (2018) Elimination of Senescent Cells: Prospects According to the Subtelomere-Telomere Theory. *Biochem (Mosc)* 83(12):1477-88. DOI: 10.1134/S0006297918120064
Libertini G, Rengo G, Ferrara N (2017) Aging and Aging Theories. *J Geront Geriatr* 65:59-77. DOI: http://www.jgerontology-geriatrics.com/wp-content/uploads/2018/03/RivJGG_1_17.pdf#page=62
Li DW, Li JH, Wang YD, Li GR (2015b) Atorvastatin protects endothelial colony-forming cells against H2O2-induced oxidative damage by regulating the expression of annexin A2. *Mol Med Rep* 12(6):7941-8. DOI: 10.3892/mmr.2015.4440
Ligr M, Madeo F, Fröhlich E, Hilt W, Fröhlich KU, Wolf DH (1998) Mammalian Bax triggers apoptotic changes in yeast. *FEBS Lett* 438(1):61-65. DOI: 10.1016/s0014-5793(98)01227-7
Ligr M, Velten I, Fröhlich E, Madeo F, Ledig M, Fröhlich KU, Wolf DH, Hilt W (2001) The proteasomal substrate Stm1 participates in apoptosis-like cell death in yeast. *Mol Biol Cell* 12(8):2422-32. DOI: 10.1091/mbc.12.8.2422
Li JSZ, Fusté JM, Simavorian T, Bartocci C, Tsai J, Karsleder J, Lazzerini Denchi E (2017a) TZAP: A telomere-associated protein involved in telomere length control. *Science* 355(6325):638-41. DOI: 10.1126/science.aah6752
Li L, Wan XH, Zhao GH (2014a) Meta-analysis of the risk of cataract in type 2 diabetes. *BMC Ophthalmol* 14:94. DOI: 10.1186/1471-2415-14-94
Lim CJ, Zaug AJ, Kim HJ, Cech TR (2017) Reconstitution of human shelterin complexes reveals unexpected stoichiometry and dual pathways to enhance telomerase processivity. *Nat Commun* 8(1):1075. DOI: 10.1038/s41467-017-01313-w
Lim JY (2016) Therapeutic potential of eccentric exercises for age-related muscle atrophy. *Integr Med Res* 5(3):176-81. DOI: 10.1016/j.imr.2016.06.003
Linardopoulou EV, Williams EM, Fan Y, Friedman C, Young JM, Trask BJ (2005) Human subtelomeres are hot spots of interchromosomal recombination and segmental duplication. *Nature* 437(7055):94-100. DOI: 10.1038/nature04029
Lin BM, Curhan SG, Wang M, Eavey R, Stankovic KM, Curhan GC (2016) Hypertension, Diuretic Use, and Risk of Hearing Loss. *Am J Med* 129(4):416-22. DOI: 10.1016/j.amjmed.2015.11.014
Lin FR, Metter EJ, O'Brien RJ, Resnick SM, Zonderman AB, Ferrucci L (2011a) Hearing loss and incident dementia. *Arch Neurol* 68(2):214-20. DOI: 10.1001/archneurol.2010.362
Lin FR, Thorpe R, Gordon-Salant S, Ferrucci L (2011b). Hearing loss prevalence and risk factors among older adults in the United States. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 66A(5):582-90. DOI: 10.1093/gerona/glr002
Liow LH, Van Valen L, Stenseth NC (2011) Red Queen: from populations to taxa and communities. *Trends Ecol Evol* 26(7):349-58. DOI: 10.1016/j.tree.2011.03.016
Lipworth L, Tarone RE, McLaughlin JK (2006) The epidemiology of renal cell carcinoma. *J Urol* 176(6 Pt 1):2353-8. DOI: 10.1016/j.juro.2006.07.130
Liu Y, Kou X, Chen C, Yu W, Su Y, Kim Y, Shi S, Liu Y (2016) Chronic High Dose Alcohol Induces Osteopenia via Activation of mTOR Signaling in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells* 34(8):2157-68. DOI: 10.1002/stem.2392
Liu PI, Takanari H, Yatani R, Nelson G (1989) Comparative studies of bone marrow from the United States and Japan. *Ann Clin Lab Sci*19(5):345-51.
Livingstone FB (1958) Anthropological Implications of Sickle Cell Gene Distribution in West Africa. *Am Anthropol* 60(3):533-62. DOI: doi.org/10.1525/aa.1958.60.3.02a00110
Li X, Li W, Liu G, Shen X, Tang Y (2015a) Association between cigarette smoking and Parkinson's disease: A meta-analysis. *Arch Gerontol Geriatr* 61(3):510-6. DOI: 10.1016/j.archger.2015.08.004
Li XS, He H, Zhao YL, Li Y, Liu ZP, Liu T, Zhang Y, Yu KJ, Wang RT (2016) Bone Mineral Density Is Negatively Associated With Arterial Stiffness in Men With Hypertension. *J Clin Hypertens* 18(11):1106-11. DOI: 10.1111/jch.12848
Li YR, Li S, Lin CC (2018) Effect of resveratrol and pterostilbene on aging and longevity. *Biofactors* 44(1):69-82. DOI: 10.1002/biof.1400
Li W, Du DY, Liu Y, Jiang F, Zhang P, Li YT (2017b) Long-term nicotine exposure induces dysfunction of mouse endothelial progenitor cells. *Exp Ther Med* 13(1):85-90. DOI: 10.3892/etm.2016.3916

Li W, Sun L, Liang Q, Wang J, Mo W, Zhou B (2006) Yeast AMID homologue Ndi1p displays respiration-restricted apoptotic activity and is involved in chronological aging. *Mol Biol Cell* 17(4):1802-11. DOI: 10.1091/mbc.e05-04-0333

Li Z, Xu K, Wu S, Sun Y, Song Z, Jin D, Liu P (2014b) Alcohol consumption and visual impairment in a rural Northern Chinese population. *Ophthalmic Epidemiol* 21(6):384-90. DOI: 10.3109/09286586.2014.967360

Loeb J (1908) Über den Temperaturkoeffizienten für die Lebensdauer kaltblütiger Tiere und über die Ursache des natürlichen Todes. *Pflugers Arch* 124(6-8):411-26.

Loisel DA, Alberts SC, Ober C (2008) Functional significance of MHC variation in mate choice, reproductive outcome, and disease risk. In: Stearns SC, Koella JC (eds), *Evolution in health and disease*, 2nd ed., Oxford University Press, Oxford (UK), pp. 95-108.

Londoño-Vallejo JA, DerSarkissian H, Cazes L, Thomas G (2001) Differences in telomere length between homologous chromosomes in humans. *Nucleic Acids Res* 29(15):3164-71. DOI: 10.1093/nar/29.15.3164

Lone MA, Shaikh S, Lone MM, Afaq A, Lone MA (2017) Association of salivary gland hypofunction with diabetes mellitus and drugs among the elderly in Karachi, Pakistan. *J Investig Clin Dent* 8(2). DOI: 10.1111/jicd.12209

Longo VD, Ellerby LM, Bredesen DE, Valentine JS, Gralla EB (1997) Human Bcl-2 reverses survival defects in yeast lacking superoxide dismutase and delays death of wild-type yeast. *J Cell Biol* 137(7):1581-8. DOI: 10.1083/jcb.137.7.1581

Longo VD, Mattson MP (2014) Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab* 19(2):181-92. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.12.008

Longo VD, Mitteldorf J, Skulachev VP (2005) Programmed and altruistic ageing. *Nat Rev Genet* 6(11):866-72. DOI: 10.1038/nrg1706

Loo TM, Miyata K, Tanaka Y, Takahashi A (2019) Cellular senescence and senescence-associated secretory phenotype via the cGAS-STING signaling pathway in cancer. *Cancer Sci* 111(2):304-311. DOI: 10.1111/cas.14266

Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ (2006) Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 367(9524):1747-57. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)68770-9

López de Silanes I, Graña O, De Bonis ML, Dominguez O, Pisano DG, Blasco MA (2014) Identification of TERRA locus unveils a telomere protection role through association to nearly all chromosomes. *Nat Commun* 5:4723. DOI: 10.1038/ncomms5723

Lopez-Real A, Rey P, Soto-Otero R, Mendez-Alvarez E, Labandeira-Garcia JL (2005) Angiotensin-converting enzyme inhibition reduces oxidative stress and protects dopaminergic neurons in a 6-hydroxydopamine rat model of Parkinsonism. *J Neurosci Res* 81(6):865-73. DOI: 10.1002/jnr.20598

Lorand A (1904) Quelques considérations sur les causes de sénilité. *C R Soc Biol (Paris)* 57:500-7.

Lorand A (1929) Le rôle de l'auto-intoxication intestinale dans la production de la vieillesse. *Clinique (Paris)* 24:205-7.

Louis EJ, Becker MM (eds) (2014) Subtelomeres. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-41566-1

Low S, Chin MC, Deurenberg-Yap M (2009). Review on epidemic of obesity. *Ann Acad Med Singapore* 38(1):57-9. DOI: http://www.annals.edu.sg/pdf/38VolNo1Jan2009/V38N1p57.pdf

Ludlow AT, Zimmerman JB, Witkowski S, Hearn, JW, Hatfield BD, Roth SM (2008) Relationship between Physical Activity Level, Telomere Length, and Telomerase Activity. *Med Sci Sports Exerc* 40(10):1764-71. DOI: 10.1249/MSS.0b013e31817c92aa

Ludovico P, Rodrigues F, Almeida A, Silva MT, Barrientos A, Côrte-Real M (2002) Cytochrome c release and mitochondria involvement in programmed cell death induced by acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 13(8):2598-606. DOI: 10.1091/mbc.e01-12-0161

Luke B, Panza A, Redon S, Iglesias N, Li Z, Lingner J (2008) The Rat1p 5' to 3' exonuclease degrades telomeric repeat-containing RNA and promotes telomere elongation in Saccharomyces cerevisiae. *Mol Cell* 32(4):465-77. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.10.019

Lu W, Zhang Y, Liu D, Songyang Z, Wan M (2013) Telomeres-structure, function, and regulation. *Exp Cell Res* 319(2):133-41. DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.09.005

Lynch MP, Nawaz S, Gerschenson LE (1986) Evidence for soluble factors regulating cell death and cell proliferation in primary cultures of rabbit endometrial cells grown on collagen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(13):4784-8. DOI: 10.1073/pnas.83.13.4784

MacGregor RR, Shalit M (1990) Neutrophil Function in Healthy Elderly Subjects. *J Gerontol* 45(2):M55-60. DOI: 10.1093/geronj/45.2.m55

Madeo F, Fröhlich E, Fröhlich KU (1997) A yeast mutant showing diagnostic markers of early and late apoptosis. *J Cell Biol* 139(3):729-34. DOI: 10.1083/jcb.139.3.729

Madeo F, Fröhlich E, Ligr M, Grey M, Sigrist SJ, Wolf DH, Fröhlich KU (1999) Oxygen stress: a regulator of apoptosis in yeast. *J Cell Biol* 145(4):757-67. DOI: 10.1083/jcb.145.4.757

Madeo F, Herker E, Maldener C, Wissing S, Lächelt S, Herlan M, Fehr M, Lauber K, Sigrist SJ, Wesselborg S, Fröhlich KU (2002) A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast. *Mol Cell* 9(4):911-7. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00501-4

Maeda T, Guan JZ, Higuchi Y, Oyama J, Makino N (2009) Aging-related alterations of subtelomeric methylation in sarcoidosis patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64(7):752-60. DOI: 10.1093/gerona/glp049

Ma H, Zhou Z, Wei S, Liu Z, Pooley KA, Dunning AM, Svenson U, Roos G, Hosgood HD 3rd, Shen M, Wei Q (2011) Shortened telomere length is associated with increased risk of cancer: a meta-analysis. *PLoS ONE* 6(6):e20466. DOI: 10.1371/journal.pone.0020466

Maier EC, Saxena A, Alsina B, Bronner ME, Whitfielda TT (2014) Sensational placodes: Neurogenesis in the otic and olfactory systems. *Dev Biol* 389(1):50-67. DOI: 10.1016/j.ydbio.2014.01.023

Maiya RP, Messing RO (2014) Peripheral systems: neuropathy. *Handb Clin Neurol* 125:513-25. DOI: 10.1016/B978-0-444-62619-6.00029-X

Malek N, Lawton MA, Swallow DM, Grosset KA, Marrinan SL, Bajaj N, Barker RA, Burn DJ, Hardy J, Morris HR, Williams NM, Wood N, et al. (2016) Vascular disease and vascular risk factors in relation to motor features and cognition in early Parkinson's disease. *Mov Disord* 31(10):1518-26. DOI: 10.1002/mds.26698

Malina RM, Little BB (2008) Physical activity: The present in the context of the past. *Am J Hum Biol* 20(4):373-91. DOI: 10.1002/ajhb.20772

Ma L, Wang HY, Chow JY, Cho CH (1999) Cigarette smoke increases apoptosis in the gastric mucosa: role of epidermal growth factor. *Digestion* 60(5):461-8. DOI: 10.1159/000007692

Mancia G, Bombelli M, Facchetti R, Madotto F, Quarti-Trevano F, Grassi G, Sega R (2009) Increased long-term risk of new-onset diabetes mellitus in white-coat and masked hypertension. *J Hypertens* 27(8):1672-8. DOI: 10.1097/HJH.0b013e32832be5f9

Manon S, Chaudhuri B, Guerin M (1997) Release of cytochrome c and decrease of cytochrome c oxidase in Bax-expressing yeast cells, and prevention of these effects by coexpression of Bcl-xL. *FEBS Lett* 415(1):29-32. DOI: 10.1016/s0014-5793(97)01087-9

Manson JE, Ajani UA, Liu S, Nathan DM, Hennekens CH (2000) A prospective study of cigarette smoking and the incidence of diabetes mellitus among US male physicians. *Am J Med* 109(7):538-42. DOI: 10.1016/s0002-9343(00)00568-4

Manzo V, Conti V, Filippelli A (2019) Antiaging Strategies. In: Gu D., Dupre M. (eds) Encyclopedia of Gerontology and Population Aging. Springer, Cham. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_36-1

Marazita MC, Dugour A, Marquioni-Ramella MD, Figueroa JM, Suburo AM (2016) Oxidative stress-induced premature senescence dysregulates VEGF and CFH expression in retinal pigment epithelial cells: Implications for Age-related Macular Degeneration. *Redox Biol* 7:78-87. DOI: 10.1016/j.redox.2015.11.011

Marchesini G, Bua V, Brunori A, Bianchi G, Pisi P, Fabbri A, Zoli M, Pisi E (1988) Galactose Elimination Capacity and Liver Volume in Aging Man. *Hepatology* 8(5):1079-83. DOI: 10.1002/hep.1840080516

Marciniak R, Guarente L (2001) Human genetics. Testing telomerase. *Nature* 413(6854):370-2. DOI: 10.1038/35096663

Mares JA, Voland RP, Sondel SA, Millen AE, Larowe T, Moeller SM, Klein ML, Blodi BA, Chappell RJ, Tinker L, Ritenbaugh C, Gehrs KM, et al. (2011) Healthy lifestyles related to subsequent prevalence of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 129(4):470-80. DOI: 10.1001/archophthalmol.2010.314

Marinesco G (1934) Nouvelle contribution à l'étude du mécanisme de la vieillesse. *Bull Acad Méd (Paris)* 1(1):761-72.

Maringele L, Lydall D (2004) Telomerase- and recombination-independent immortalization of budding yeast. *Genes Dev* 18(21):2663-75. DOI: 10.1101/gad.316504

Marino R, Misra M (2019) Extra-Skeletal Effects of Vitamin D. *Nutrients* 11(7). pii: E1460. DOI: 10.3390/nu11071460

Martinez CH, Diaz AA, Meldrum C, Curtis JL, Cooper CB, Pirozzi C, Kanner RE, Paine R 3rd, Woodruff PG, Bleecker ER, Hansel NN, Barr RG, et al. - SPIROMICS Investigators (2017) Age and Small Airway Imaging Abnormalities in Subjects with and without Airflow Obstruction in SPIROMICS. *Am J Respir Crit Care Med* 195(4):464-72. DOI: 10.1164/rccm.201604-0871OC

Martinez CH, Han MK (2012) Contribution of the Environment and Comorbidities to Chronic Obstructive Pulmonary Disease Phenotypes. *Med Clin North Am* 96(4):713-27. DOI: 10.1016/j.mcna.2012.02.007

Martin GM (1990) Segmental and unimodal progeroid syndromes of man. In: Harrison DE (ed) *Genetic Effects on Aging* Vol. II. Telford Press, Caldwell (NJ), pp. 493-520.

Martin GM (2005) Genetic modulation of senescent phenotypes in *Homo sapiens*. *Cell* 120(4):523-32. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867405001054

Martin GM, Oshima J (2000) Lessons from human progeroid syndromes. *Nature* 408(6809):263-6. DOI: 10.1038/35041705

Martin GM, Sprague CA, Epstein CJ (1970) Replicative Life-Span of Cultivated Human Cells. Effects of Donor's Age, Tissue, and Genotype. *Lab Invest* 23(1):86-92.

Martin-Jiménez CA, Gaitán-Vaca DM, Echeverria V, González J, Barreto GE (2017) Relationship Between Obesity, Alzheimer's Disease, and Parkinson's Disease: an Astrocentric View. *Mol Neurobiol* 54(9):7096-115. DOI: 10.1007/s12035-016-0193-8

Martins AC (2011) Change and aging senescence as an adaptation. *PLoS One* 6(9):e24328. DOI: 10.1371/journal.pone.0024328

Masoro EJ (2005) Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev* 126(9):913-22. DOI: 10.1016/j.mad.2005.03.012

Masoudi FA, Inzucchi SE (2007) Diabetes mellitus and heart failure: epidemiology, mechanisms, and pharmacotherapy. *Am J Cardiol* 99(4A):113B-32B. DOI: 10.1016/j.amjcard.2006.11.013

Matilainen V, Laakso M, Hirsso P, Koskela P, Rajala U, Keinänen-Kiukaanniemi S (2003) Hair loss, insulin resistance, and heredity in middle-aged women. A population-based study. *J Cardiovasc Risk* 10(3):227-31. DOI: 10.1097/01.hjr.0000070200.72977.c6

Mattis J, Sehgal A (2016) Circadian rhythms, sleep, and disorders of aging. *Trends Endocrinol Metab* 27(4):192-203. DOI: 10.1016/j.tem.2016.02.003

Mattison JA, Roth GS, Beasley TM, Tilmont EM, Handy AM, Herbert RL, Longo DL, Allison DB, Young JE, Bryant M, Barnard D, Ward WF, et al. (2012) Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study. *Nature* 489(7415):318-21. DOI: 10.1038/nature11432

Mauvais-Jarvis F, Bairey Merz N, Barnes PJ, Brinton RD, Carrero J-J, DeMeo DL, et al. (2020) Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. *Lancet* 396(10250):565-82. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31561-0

Maynard Smith J (1962) Review lectures on senescence. I. The causes of ageing. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 157(966):115-27. DOI: 10.1098/rspb.1962.0065

Maynard Smith J (1964) Group selection and kin selection. *Nature* 201(4924):1145-7.

Maynard Smith J (1976) Group selection. *Quart Rev Biol* 51(2):277-83. https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/409311?journalCode=qrb

McCay CM, Crowell MF, Maynard LA (1935) The effect of retarded growth upon the length of lifespan and upon the ultimate body size. *J Nutr* 10(1):63-79. DOI: doi.org/10.1093/jn/10.1.63

McEachern MJ, Blackburn EH (1994) A conserved sequence motif within the exceptionally diverse telomeric sequences of budding yeasts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(8):3453-7. DOI: 10.1073/pnas.91.8.3453

McGrady A, Moss D (2013) *Pathways to Illness, Pathways to Health*. Springer, New York.

McKeith I (2004) Dementia with Lewy bodies. *Dialogues Clin Neurosci* 6(3):333-41. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3181810/

McLachlan MSF (1978) The ageing kidney. *The Lancet* 312(8081):143-6. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673678915222

Mead J, Ashwood P (2015) Evidence supporting an altered immune response in ASD. *Immunol Lett* 163(1):49-55. DOI: 10.1016/j.imlet.2014.11.006

Medawar PB (1940) The growth, growth energy and ageing of the chicken's heart. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 129(856):332-55. DOI: doi.org/10.1098/rspb.1940.0042

Medawar PB (1946) Old age and natural death. *Mod Quart* 1:30-56.

Medawar PB (1952) *An unsolved problem in biology*. H. K. Lewis, London. Reprinted in: Medawar PB (1957) *The uniqueness of the individual*. Methuen, London.
Medh RD, Thompson EB (2000) Hormonal regulation of physiological cell turnover and apoptosis. *Cell Tissue Res* 301(1):101-24. DOI: 10.1007/s004419900159
Medvedev ZA (1990) An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biol Rev Camb Philos Soc* 65(3):375-98. DOI: 10.1111/j.1469-185x.1990.tb01428.x
Mefford HC, Trask BJ (2002) The complex structure and dynamic evolution of human subtelomeres, *Nat Rev Genet* 3(2):91-102. DOI: 10.1038/nrg727
Mehdizadeh Seraj J, Mehdizadeh Seraj S, Zakeri H, Bidar Z, Hashemi S, Mahdavi Parsa F, Yazdani N (2015) Olfactory dysfunction in Iranian diabetic patients. *Acta Med Iran* 53(4):204-6. DOI: http://acta.tums.ac.ir/index.php/acta/article/view/4906
Mehrsafar AH, Serrano Rosa MA, Moghadam Zadeh A, Gazerani P (2020) Stress, Professional Lifestyle, and Telomere Biology in Elite Athletes: A Growing Trend in Psychophysiology of Sport. *Front Psychol* 11:567214. DOI: 10.3389/fpsyg.2020.567214
Mendez MA, Newman AB (2018) Can a Mediterranean Diet Pattern Slow Aging? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 73(3):315-7. DOI: 10.1093/gerona/gly003
Mercken EM, Carboneau BA, Krzysik-Walker SM, de Cabo R (2012) Of mice and men: The benefits of caloric restriction, exercise, and mimetics. *Ageing Res Rev* 11(3):390-8. DOI: 10.1016/j.arr.2011.11.005
Metalnikov S (1937) *La lutte contre la mort*. Gallimard, Paris.
Metchnikoff E (1904) *The Nature of Man*. Heinemann, London.
Metchnikoff E (1907) *The prolongation of Life—Optimistic Studies*. Heinemann, London.
Metchnikoff E (1915) La mort du papillon du Murier. Un chapitre de thanatologie. *Ann Inst Pasteur* 10:477-97.
Meunier P, Aaron J, Edouard C, Vignon G (1971) Osteoporosis and the replacement of cell populations of the marrow by adipose tissue. A quantitative study of 84 iliac bone biopsies. *Clin Orthop Relat Res* 80:147-54.
Meyer zum Gottesberge AM, Massing T, Sasse A, Palma S, Hansen S (2015) Zucker diabetic fatty rats, a model for type 2 diabetes, develop an inner ear dysfunction that can be attenuated by losartan treatment. *Cell Tissue Res* 362(2):307-15. DOI: 10.1007/s00441-015-2215-7
Michel JP (2016) Is It Possible to Delay or Prevent Age-Related Cognitive Decline? *Korean J Fam Med* 37(5):263-6. DOI: 10.4082/kjfm.2016.37.5.263
Migheli A, Mongini T, Doriguzzi C, Chiadò-Piat L, Piva R, Ugo I, Palmucci L (1997) Muscle apoptosis in humans occurs in normal and denervated muscle, but not in myotonic dystrophy, dystrophinopathies or inflammatory disease. *Neurogenetics* 1(2):81-7. DOI: 10.1007/s100480050012
Mihaylova B, Emberson J, Blackwell L, Keech A, Simes J, Barnes EH, Voysey M, Gray A, Collins R, Baigent C et al. - Cholesterol Treatment Trialists' (2012) The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet* 380(9841):581-90. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60367-5
Milewski LAK (2010) The evolution of ageing. *Bioscience Horizons* 3:77-84. DOI: doi.org/10.1093/biohorizons/hzq001
Miller HM (1931) Alternation of generations in the rotifer *Lecane inermis* Bryce. 1. Life histories of the sexual and non-sexual generations. *Biol Bull* (Woods Hole) 60(3):345-81. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.2307/1536879
Minot CS (1908) *The problem of age, growth, and death; a study of cytomorphosis, based on lectures at the Lowell Institute*, March 1907, London (1913). *Moderne Probleme der Biologie*, Jena.
Miquel J, Economos AC, Fleming J, Johnson JE Jr (1980) Mitochondrial role in cell aging. *Exp Gerontol* 15(6):575-91. DOI: 10.1016/0531-5565(80)90010-8
Mirra P, Nigro C, Prevenzano I, Procopio T, Leone A, Raciti GA, Andreozzi F, Longo M, Fiory F, Beguinot F, Miele C (2017) The role of miR-190a in methylglyoxal-induced insulin resistance in endothelial cells. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1863(2):440-9. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.11.018
Mitchell JR, Wood E, Collins K (1999) A telomerase component is defective in the human disease dyskeratosis congenita. *Nature* 402(6761):551-5. DOI: 10.1038/990141
Mitchell SE, Delville C, Konstantopedos P, Hurst J, Derous D, Green C, Chen L, Han JJ, Wang Y, Promislow DE, Lusseau D, Douglas A, Speakman JR (2015) The effects of graded levels of calorie restriction: II. Impact of short term calorie and protein restriction on circulating hormone levels, glucose

homeostasis and oxidative stress in male C57BL/6 mice. *Oncotarget* 6(27):23213-37. DOI: 10.18632/oncotarget.4003
Mitteldorf J (2001) Can experiments on caloric restriction be reconciled with the disposable soma theory for the evolution of senescence? *Evolution* 55(9):1902-5. DOI: 10.1111/j.0014-3820.2001.tb00841.x
Mitteldorf J (2004) Aging selected for its own sake. *Evol Ecol Res* 6:937-53. DOI: http://www.evolutionary-ecology.com/issues/v06n07/ccar1520.pdf
Mitteldorf J (2006) How evolutionary thinking affects people's ideas about aging interventions. *Rejuvenation Res* 9(2):346-50. DOI: 10.1089/rej.2006.9.346
Mitteldorf J (2013) Telomere biology: cancer firewall or aging clock? *Biochem (Mosc)* 78(9):1054-60. DOI: 10.1134/S0006297913090125
Mitteldorf J, Martins AC (2014) Programmed life span in the context of evolvability. *Am Nat* 184(3):289-302. DOI: 10.1086/677387
Mitteldorf J, Pepper J (2009) Senescence as an adaptation to limit the spread of disease. *J Theor Biol* 260(2):186-95. DOI: 10.1016/j.jtbi.2009.05.013
Miyashita H, Hatsusaka N, Shibuya E, Mita N, Yamazaki M, Shibata T, Ishida H, Ukai Y, Kubo E, Sasaki H (2019) Association between ultraviolet radiation exposure dose and cataract in Han people living in China and Taiwan: A cross-sectional study. *PLoS One* 14(4):e0215338. DOI: 10.1371/journal.pone.0215338
Moberg PE, Burton RS (2000) Genetic heterogeneity among adult and recruit red sea urchins, *Strongylocentrotus franciscanus*. *Marine Biology* 136:773-84. DOI: 10.1007/s002270000281
Molisch H (1938) *The Longevity of Plants*. Botanical Garden, New York.
Molnár K (1972) Subbiological aspects of aging and the concept of cathode protection. *Mech Ageing Dev* 1:319-26. DOI: doi.org/10.1016/0047-6374(72)90077-2
Monoski M, Nudell DM, Lipshultz LI (2002) Effects of medical therapy, alcohol, and smoking on male fertility. *Contemporary Urology* 14(6):57-63.
Montgomery TH (1906) On reproduction, animal life cycles and the biological unit. *Trans Tex Acad Sci* 9.
Morales I, Sanchez A, Rodriguez-Sabate C, Rodriguez M (2015) The degeneration of dopaminergic synapses in Parkinson's disease: A selective animal model. *Behav Brain Res* 289:19-28. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.04.019
Morales MG, Abrigo J, Acuña MJ, Santos RA, Bader M, Brandan E, Simon F, Olguin H, Cabrera D, Cabello-Verrugio C (2016) Angiotensin-(1-7) attenuates disuse skeletal muscle atrophy in mice via its receptor. *Mas Dis Model Mech* 9(4):441-9. DOI: 10.1242/dmm.023390
Morin GB (1989) The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell* 59(3):521-9. DOI: 10.1016/0092-8674(89)90035-4
Morrison HG, McArthur AG, Gillin FD, Aley SB, Adam RD, Olsen GJ, Best AA, Cande WZ, Chen F, Cipriano MJ, Davids BJ, Dawson SC, et al. (2007) Genomic minimalism in the early diverging intestinal parasite Giardia lamblia. *Science* 317(5846):1921-6. DOI: 10.1126/science.1143837
Morselli E, Maiuri MC, Markaki M, Megalou E, Pasparaki A, Palikaras K, Criollo A, Galluzzi L, Malik SA, Vitale I, Michaud M, Madeo F, et al. (2010) Caloric restriction and resveratrol promote longevity through the Sirtuin-1-dependent induction of autophagy. *Cell Death Dis* 1:e10. DOI: 10.1038/cddis.2009.8
Morse SA, Bravo PE, Morse MC, Reisin E (2005) The heart in obesity-hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 3(4):647-58. DOI: 10.1586/14779072.3.4.647
Morton DJ (1926) The relation of evolution to medicine. *Science* 64(1660):394-6. DOI: 10.1126/science.64.1660.394
Mościcki EK, Elkins EF, Baum HM, McNamara PM (1985) Hearing loss in the elderly: an epidemiologic study of the Framingham Heart Study Cohort. *Ear Hear* 6(4):184-90. europepmc.org/article/med/4043571
Motlagh M, Geetha R (2019) *Physiology, Accommodation*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542189/
Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, Meyne J, Ratliff RL, Wu JR (1988) A highly conserved repetitive DNA sequence (TTAGGG)n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85(18):6622-6. DOI: 10.1073/pnas.85.18.6622
Mueller LD (1987) Evolution of accelerated senescence in laboratory populations of Drosophila. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(7):1974-7. DOI: 10.1073/pnas.84.7.1974
Muñoz A, Garrido-Gil P, Dominguez-Meijide A, Labandeira-Garcia JL (2014) Angiotensin type 1 receptor blockage reduces l-dopa-induced dyskinesia in the 6-OHDA model of Parkinson's disease. Involvement

of vascular endothelial growth factor and interleukin-1β. *Exp Neurol* 261:720-32. DOI: 10.1016/j.expneurol.2014.08.019
Muller HJ (1938) The remaking of chromosomes. *Collecting Net* 13:181-98. ci.nii.ac.jp/naid/20000956792/
Mühlmann MS (1900) *Über die Ursache des Alterns*. Bergman, Wiesbaden.
Mühlmann MS (1910) Das Altern und der physiologische Tod. *Samml Anat Physiol Vortr* 1:455.
Mühlmann MS (1924) Meine Theorie des Alterns und des Todes; zugleich zur Abwehr. *Virchows Arch* 253:225-38.
Mühlmann MS (1927) Wachstum, Altern und Tod. Über die Ursache des Alterns und des Todes. *Ergcb Anat EntwGesch (Anat Abt)* 27:1.
Munch IC, Linneberg A, Larsen M (2013) Precursors of age-related macular degeneration: associations with physical activity, obesity, and serum lipids in the inter99 eye study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54(6):3932-40. DOI: 10.1167/iovs.12-10785
Muñoz A, Garrido-Gil P, Dominguez-Meijide A, Labandeira-Garcia JL (2014) Angiotensin type 1 receptor blockage reduces l-dopa-induced dyskinesia in the 6-OHDA model of Parkinson's disease. Involvement of vascular endothelial growth factor and interleukin-1β. *Exp Neurol* 261:720-32. DOI: 10.1016/j.expneurol.2014.08.019
Muñoz-Dorado J, Marcos-Torres FJ, García-Bravo E, Moraleda-Muñoz A, Pérez J (2016) Myxobacteria: Moving, Killing, Feeding, and Surviving Together. *Front Microbiol* 7:781. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00781
Muñoz-Lorente MA, Martínez P, Tejera Á, Whittemore K, Moisés-Silva AC, Bosch F, Blasco MA (2018) AAV9-mediated telomerase activation does not accelerate tumorigenesis in the context of oncogenic K-Ras-induced lung cancer. *PLoS Genet* 14(8):e1007562. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007562
Munro D, Blier PU (2012) The extreme longevity of Arctica islandica is associated with increased peroxidation resistance in mitochondrial membranes. *Aging Cell* 11(5):845-55. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2012.00847.x
Murasko DM, Nelson BJ, Silver R, Matour D, Kaye D (1986) Immunologic response in an elderly population with a mean age of 85. *Am J Med* 81(4):612-8. DOI: 10.1016/0002-9343(86)90546-2
Murphy C (1987) Ageing and chemosensory perception. In: Ferguson DB (ed), *The Ageing Mouth*. Karger, Basel, pp. 135-50.
Murphy C, Schubert CR, Cruickshanks KJ, Klein BE, Klein R, Nondahl DM (2002) Prevalence of olfactory impairment in older adults. *JAMA* 288(18):2307-12. DOI: 10.1001/jama.288.18.2307
Murphy RC (1925) *Bird Islands of Peru*. GP Putnam's Sons, New York.
Mutch Wj, Inglis FG (1998) Parkinsonism and other movement disorders. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (ed), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 565-94.
Mytas DZ, Stougiannos PN, Zairis MN, Foussas SG, Pyrgakis VN, Kyriazis IA (2009) Diabetic myocardial disease: pathophysiology, early diagnosis and therapeutic options. *J Diabetes Complications* 23(4):273-82. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1056872707001511

Nakanishi N, Sato M, Shirai K, Suzuki K, Tatara K (2002) White blood cell count as a risk factor for hypertension; a study of Japanese male office workers. *J Hypertens* 20(5):851-7. DOI: 10.1097/00004872-200205000-00018
Nakanishi N, Yoshida H, Okamoto M, Matsuo Y, Suzuki K, Tatara K (2003) Association of alcohol consumption with white blood cell count: a study of Japanese male office workers. *J Intern Med* 253(3):367-74. DOI: 10.1046/j.1365-2796.2003.01112.x
Nakazawa DJ (2009) *The autoimmune epidemic*. Simon and Schuster, New York.
Nance MA, Berry SA (1992) Cockayne syndrome: review of 140 cases. *Am J Med Genet* 42(1):68-84. DOI: 10.1002/ajmg.1320420115
Nandakumar J, Cech TR (2013) Finding the end: recruitment of telomerase to telomeres. *Nat Rev Mol Cell Biol* 14(2):69-82. DOI: 10.1038/nrm3505
Nariya H, Inouye M (2008) MazF, an mRNA interferase, mediates programmed cell death during multicellular Myxococcus development. *Cell* 132(1):55-66. DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.044
National Institutes of Health, USA (2000) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *NIH Consens Statement* 17(1):1-45.

Navarro CL, De Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Boccaccio I, Boyer A, Geneviève D, Hadj-Rabia S, Gaudy-Marqueste C, Smitt HS, Vabres P, Faivre L, Verloes A, et al. (2004) Lamin A and ZMPSTE 24 (FACE-1) defects cause nuclear disorganization and identify restrictive dermopathy as a lethal neonatal laminopathy. *Hum Mol Genet* 13(20):2493-503. DOI: 10.1093/hmg/ddh265

Navarro-Ibarra MJ, Hernández J, Caire-Juvera G (2019) Diet, physical activity and telomere length in adults. *Nutr Hosp* 36(6):1403-17. DOI: 10.20960/nh.02673

Nemecz M, Alexandru N, Tanko G, Georgescu A (2016) Role of MicroRNA in Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Curr Hypertens Rep* 18(12):87. DOI: 10.1007/s11906-016-0696-8

Nergadze SG, Farnung BO, Wischnewski H, Khoriauli L, Vitelli V, Chawla R, Giulotto E, Azzalin CM (2009) CpG-island promoters drive transcription of human telomeres. *RNA* 15(12):2186-94. DOI: 10.1261/rna.1748309

Nesse RM (2008) The importance of Evolution for Medicine. In: Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ, editors. *Evolutionary Medicine and Health: new perspectives*. Oxford University Press, New York, pp. 416-31.

Nesse RM (2019) *Good Reasons for Bad Feelings : insights from the frontier of evolutionary psychiatry*. Dutton (Penguin Random House LLC.), New York.

Nesse RM, Bergstrom CT, Ellison PT, Flier JS, Gluckman P, Govindaraju DR, Niethammer D, Omenn GS, Perlman RL, Schwartz MD, Thomas MG, Stearns SC, Valle D (2010) Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Making evolutionary biology a basic science for medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(Suppl 1):1800-7. DOI: 10.1073/pnas.0906224106

Nesse RM, Williams GC (1994) *Why we get sick : the new science of Darwinian medicine*. Times Books, New York.

Niemelä O, Alatalo P (2010) Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease. *Scand J Clin Lab Invest* 70(5):305-12. DOI: 10.3109/00365513.2010.486442

Nierman WC, Pain A, Anderson MJ, Wortman JR, Kim HS, Arroyo J, Berriman M, Abe K, Archer DB, Bermejo C, Bennett J, Bowyer P, et al. (2005) Genomic sequence of the pathogenic and allergenic filamentous fungus Aspergillus fumigatus. *Nature* 438(7071):1151-6. DOI: 10.1038/nature04332

Nikolopoulou A, Kadoglou NP (2012) Obesity and metabolic syndrome as related to cardiovascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 10(7):933-9. DOI: 10.1586/erc.12.74

Nishizaki MT, Ackerman JD (2005) A secondary chemical cue facilitates juvenile-adult postsettlement associations in red sea urchins. *Limnol Oceanogr* 50(1):354-62. DOI: 10.4319/lo.2005.50.1.0354

Noodén LD (1988a) The phenomena of senescence and aging. In: Noodén LD, Leopold AC (eds) *Senescence and Aging in Plants*, Academic Press, San Diego, pp. 1-51.

Noodén LD (1988b) Abscisic acid, auxin, and other regulations of senescence. In: Noodén LD, Leopold AC (eds) *Senescence and Aging in Plants*, Academic Press, San Diego, pp. 329-67.

Noodén LD (1988c) Whole Plant Senescence. In: Noodén LD, Leopold AC (eds) *Senescence and Aging in Plants*, Academic Press, San Diego, pp. 391-442.

Norris MJ (1934) Contributions toward the study of insect fertility. III. Adult nutrition, fecundity, and longevity in the genus *Ephestia*: Epidoptera, Phycitidea. *Proc Zool Soc Lond* 1:333-60.

Norwood OT (2001) Incidence of female androgenetic alopecia (female pattern alopecia). *Dermatol Surg* 27(1):53-4. https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=11231244

Nowak AM, Tarnita CE, Wilson EO (2010) The evolution of eusociality. *Nature* 466(7310):1057-62. DOI: 10.1038/nature09205

Nunez K, Kay J, Krotow A, Tong M, Agarwal AR, Cadenas E, de la Monte SM (2016) Cigarette Smoke-Induced Alterations in Frontal White Matter Lipid Profiles Demonstrated by MALDI-Imaging Mass Spectrometry: Relevance to Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 51(1):151-63. DOI: 10.3233/JAD-150916

Nussey DH, Froy H, Lemaitre JF, Gaillard JM, Austad SN (2013) Senescence in natural populations of animals: widespread evidence and its implications for bio-gerontology. *Ageing Res Rev* 12(1):214-25. DOI: 10.1016/j.arr.2012.07.004

Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven C (2010) Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update. *Hum Mutat* 31(7):763-80. DOI: 10.1002/humu.21277

Ober C (1992) The maternal-fetal relationship in human pregnancy: an immunogenetic perspective. *Exp Clin Immunogenet* 9(1):1-14.

Ober C, Hyslop T, Elias S, Weitkamp LR, Hauck WW (1998) Human leukocyte antigen matching and fetal loss: results of a 10 year prospective study. *Hum Reprod* 13(1):33-8. DOI: 10.1093/humrep/13.1.33

Ober C, Weitkamp LR, Cox N, Dytch H, Kostyu D, Elias S (1997) HLA and mate choice in humans. *Am J Hum Genet* 61(3):497-504. DOI: 10.1086/515511

Ober C, Weitkamp LR, Cox N (1999) HLA and mate choice. In: Johnston RE, Müller-Schwarze D, Sorenson PW (eds), *Advances in Chemical Signals in Vertebrates*. Kluwer Academic Press, New York, pp. 189-99.

Ober C, van der Ven K (1997) Immunogenetics of reproduction: an overview. In: Olding LB (ed) *Reproductive immunology*. Springer, Berlin and Heidelberg, pp. 1-23.

Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Benitez-Temino B, Blesa FJ, Guridi J, Marin C, Rodriguez M (2008) Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord* 23(Suppl 3):S548-59. DOI: 10.1002/mds.22062

Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Goetz CG, Marin C, Kordower JH, Rodriguez M, Hirsch EC, Farrer M, Schapira AH, Halliday G (2010) Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Nat Med* 16(6):653-61. DOI: 10.1038/nm.2165

Oda N, Kajikawa M, Maruhashi T, Iwamoto Y, Kishimoto S, Matsui S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, et al. (2017) Endothelial function is impaired in relation to alcohol intake even in the case of light alcohol consumption in Asian men; Flow-mediated Dilation Japan (FMD-J) Study. *Int J Cardiol* 230:523-28. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.12.065

Ohki R, Tsurimoto T, Ishikawa F (2001) In vitro reconstitution of the end replication problem. *Mol Cell Biol* 21(17):5753-66. DOI: 10.1128/mcb.21.17.5753-5766.2001

Ohmura Y, Aoe M, Andou A, Shimizu N (2000) Telomerase activity and Bcl-2 expression in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 6(8):2980-7.

Ojimi MC, Isomura N, Hidaka M (2009) Telomerase activity is not related to life history stage in the jellyfish Cassiopea sp. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 152(2):240-4. DOI: 10.1016/j.cbpa.2008.10.008

Okazaki S, Tsuchida K, Maekawa H, Ishikawa H, Fujiwara H (1993) Identification of a pentanucleotide telomeric sequence, (TTAGG)n, in the silkworm Bombyx mori and in other insects. *Mol Cell Biol* 13(3):1424-32. DOI: 10.1128/mcb.13.3.1424

Oliveira BF, Nogueira-Machado, J-A, Chaves MM (2010) The role of oxidative stress in the aging process. *TheScientificWorld J* 10:1121-8. DOI: 10.1100/tsw.2010.94

Olivetti G, Melissari M, Capasso JM, Anversa P (1991) Cardiomyopathy of the Aging Human Heart. Myocyte Loss and Reactive Cellular Hypertrophy. *Circ Res* 68(6):1560-8. DOI: 10.1161/01.res.68.6.1560

Olivetti G, Giordano G, Corradi D, Melissari M, Lagrasta C, Gambert SR, Anversa P (1995) Gender differences and aging: effects on the human heart. *J Am Coll Cardiol* 26(4):1068-79. DOI: 10.1016/0735-1097(95)00282-8

Olovnikov AM (1971) [Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides] [in Russian]. *Dokl Akad Nauk SSSR* 201(6):1496-9. English version: Olovnikov AM (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides. *Doklady Biochem* 201:394-7.

Olovnikov AM (1973) A theory of marginotomy: The incomplete copying of template margin in enzyme synthesis of polynucleotides and biological significance of the problem. *J Theor Biol* 41(1):181-90. DOI: 10.1016/0022-5193(73)90198-7

Olovnikov AM (2003) The redusome hypothesis of aging and the control of biological time during individual development. *Biochem (Mosc)* 68(1):2-33. DOI: 10.1023/a:1022185100035

Olovnikov AM (2015) Chronographic theory of development, aging, and origin of cancer: role of chronomeres and printomeres. *Curr Aging Sci* 8(1):76-88.

Olovnikov AM, Solovieva AS, Shubernetskaya OS (2019) Subtelomere. In: Gu D, Dupre M (eds) *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging*. Springer, Cham. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_56-1

Olovnikov IA, Morgunova VV, Mironova AA, Kordyukova MY, Radion EI, Olenkina OM, Akulenko NV, Kalmykova AI (2016) Interaction of Telomeric Retroelement HeT-A Transcripts and Their Protein Product Gag in Early Embryogenesis of Drosophila. *Biochem (Mosc)* 81(9):1023-30. DOI: 10.1134/S000629791609011X

Olshansky SJ, Hayflick L, Carnes BA (2002) Position statement on human aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57(8):B292-7. DOI: 10.1093/gerona/57.8.b292

Onder G, Vedova CD, Pahor M (2006) Effects of ACE inhibitors on skeletal muscle. *Curr Pharm Des* 12(16):2057-64. DOI: 10.2174/138161206777442137

Ongali B, Nicolakakis N, Tong XK, Aboulkassim T, Imboden H, Hamel E (2016) Enalapril Alone or Co-Administered with Losartan Rescues Cerebrovascular Dysfunction, but not Mnemonic Deficits or Amyloidosis in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 51(4):1183-95. DOI: 10.3233/JAD-150868

Oppenheimer SJ (2001) Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J Nutr* 131(2S-2):S616-33. DOI: 10.1093/jn/131.2.616S

Oron Y, Elgart K, Marom T, Roth Y (2014) Cardiovascular risk factors as causes for hearing impairment. *Audiol Neurootol* 19(4):256-60. DOI: 10.1159/000363215

Orth SR, Stöckmann A, Conradt C, Ritz E, Ferro M, Kreusser W, Piccoli G, Rambausek M, Roccatello D, Schäfer K, Sieberth HG, Wanner C,et al. (1998) Smoking as a risk factor for end-stage renal failure in men with primary renal disease. *Kidney Int* 54(3):926-31. DOI: 10.1046/j.1523-1755.1998.00067.x

Orton JH (1929) Reproduction and death in invertebrates and fishes. *Nature* 123(3088):14-5.

Oryan A, Kamali A, Moshiri A (2015) Potential mechanisms and applications of statins on osteogenesis: Current modalities, conflicts and future directions. *J Control Release* 215:12-24. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.07.022

Otto SP, Nuismer SL (2004) Species interactions and the evolution of sex. *Science* 304(5673):1018-20. DOI: 10.1126/science.1094072

Paik JH, Yoon JB, Sim WY, Kim BS, Kim NI (2001) The prevalence and types of androgenetic alopecia in Korean men and women. *Br J Dermatol* 145(1):95-9. DOI: 10.1046/j.1365-2133.2001.04289.x

Palermo A, D'Onofrio L, Buzzetti R, Manfrini S, Napoli N (2017) Pathophysiology of Bone Fragility in Patients with Diabetes. *Calcif Tissue Int* 100(2):122-32. DOI: 10.1007/s00223-016-0226-3

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO (2007) Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 5(7):e177. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177

Pankuweit S (2016) [Alcohol consumption in women and the elderly: When does it induce heart failure?] [Article in German]. *Herz* 41(6):494-7. DOI: 10.1007/s00059-016-4462-0

Parasher G, Eastwood GL (2000) Smoking and peptic ulcer in the Helicobacter pylori era. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 12:843-53. DOI: 10.1097/00042737-200012080-00003

Pardue ML, DeBaryshe PG (2003) Retrotransposons provide an evolutionarily robust non-telomerase mechanism to maintain telomeres. *Annu Rev Genet* 37:485-511. DOI: 10.1146/annurev.genet.38.072902.093115

Parker RC (1961) *Methods of Tissue Culture*. Harper & Row, New York.

Park HY, Jhun BW, Jeong HJ, Chon HR, Koh WJ, Suh GY, Kim H, Chung MJ, Jun HJ, Choi YH, Lim SY (2015) The complex association of metabolic syndrome and its components with computed tomography-determined emphysema index. *Metab Syndr Relat Disord* 13(3):132-9. DOI: 10.1089/met.2014.0117

Park JH, Moon JH, Kim HJ, Kong MH, Oh YH (2020) Sedentary Lifestyle: Overview of Updated Evidence of Potential Health Risks. *Korean J Fam Med* 41(6):365-73. DOI: 10.4082/kjfm.20.0165

Park JS, Kim SW, Park K, Choung YH, Jou I, Park SM (2012) Pravastatin attenuates noise-induced cochlear injury in mice. *Neuroscience* 208:123-32. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.02.010

Parhon CI (1955) *Biologia vîrstelor; cercetări clinice şi experimentale*. Editura Academiei Republicii Populare Romîne, Bucharest.

Parrinello S, Coppé J-P, Krtolica A, Campisi J (2005) Stromal-epithelial interactions in aging and cancer: senescent fibroblasts alter epithelial cell differentiation. *J Cell Sci* 118(Pt 3):485-96. DOI: 10.1242/jcs.01635

Partridge L, Barton NH (1993) Optimality, mutation and the evolution of ageing. *Nature* 362(6418):305-11. DOI: 10.1038/362305a0

Pasqualotto FF, Lucon AM, Sobreiro BP, Pasqualotto EB, Arap S (2004) Effects of medical therapy, alcohol, smoking, and endocrine disruptors on male infertility. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 59(6):375-82. DOI: 10.1590/s0041-87812004000600011

Patel ZM, DelGaudio JM, Wise SK (2015) Higher Body Mass Index Is Associated with Subjective Olfactory Dysfunction. *Behav Neurol* 2015:675635. DOI: 10.1155/2015/675635

Pathak S, Multani AS, Furlong CL, Sohn SH (2002) Telomere dynamics, aneuploidy, stem cells, and cancer (review). *Int J Oncol* 20(3):637-41. www.spandidos-publications.com/ijo/20/3/637

Patke A, Young MW, Axelrod S (2020) Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 21(2):67-84. DOI: 10.1038/s41580-019-0179-2

Pearl R (1922) *The Biology of Death*. J. B. Lippincott Co., Philadelphia.
Pearl R (1928) *The rate of living*. Knopf, New York.
Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, Peshkin L, Price NL, Labinskyy N, Swindell WR, Kamara D, Minor RK, Perez E, Jamieson HA, Zhang Y, et al. (2008) Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab* 8(2):157-68. DOI: 10.1016/j.cmet.2008.06.011
Perkisas S, Vandewoude M (2016) Where frailty meets diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 32(Suppl 1):261-7. DOI: 10.1002/dmrr.2743
Perneger TV, Whelton PK, Puddey IB, Klag MJ (1999) Risk of end-stage renal disease associated with alcohol consumption. *Am J Epidemiol* 150(12):1275-81. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009958
Perry BD, Caldow MK, Brennan-Speranza TC, Sbaraglia M, Jerums G, Garnham A, Wong C, Levinger P, Asrar Ul Haq M, Hare DL, Price SR, Levinger I (2016) Muscle atrophy in patients with Type 2 Diabetes Mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. *Exerc Immunol Rev* 22:94-109.
Perry S, de Jong BC, Solnick JV, de la Luz Sanchez M, Yang S, Lin PL, Hansen LM, Talat N, Hill PC, Hussain R, Adegbola RA, Flynn J, et al. (2010) Infection with Helicobacter pylori is associated with protection against tuberculosis. *PLoS One* 5(1):e8804. DOI: 10.1371/journal.pone.0008804
Pescosolido N, Barbato A, Giannotti R, Komaiha C, Lenarduzzi F (2016) Age-related changes in the kinetics of human lenses: prevention of the cataract. *Int J Ophthalmol* 9(10):1506-17. DOI: 10.18240/ijo.2016.10.23
Peters AD, Lively CM (1999) The red queen and fluctuating epistasis: A population genetic analysis of antagonistic coevolution. *Am Nat* 154(4):393-405. DOI: 10.1086/303247
Peters AD, Lively CM (2007) Short- and long-term benefits and detriments to recombination under antagonistic coevolution. *J Evol Biol* 20(3):1206-17. DOI: 10.1111/j.1420-9101.2006.01283.x
Petrash JM (2013) Aging and Age-Related Diseases of the Ocular Lens and Vitreous Body. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54(14):ORSF54-9. DOI: 10.1167/iovs.13-12940
Petrušić N, Posavac M, Sabol I, Mravak-Stipetić M (2015) The Effect of Tobacco Smoking on Salivation. *Acta Stomatol Croat* 49(4):309-15. DOI: 10.15644/asc49/4/6
Pfeffer MA (2017) Heart Failure and Hypertension: Importance of Prevention. *Med Clin North Am* 101(1):19-28. DOI: 10.1016/j.mcna.2016.08.012
Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschöp MH (2008) Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(28):9793-8. DOI: 10.1073/pnas.0802917105
Philipp EER, Abele D (2010) Masters of Longevity: Lessons from Long-Lived Bivalves – A Mini-Review. *Gerontology* 56(1):55-65. DOI: 10.1159/000221004
Phillips SK, Bruce SA, Newton D, Woledge RC (1992) The weakness of old age is not due to failure of muscle activation. *J Gerontol* 47(2):M45-9. DOI: 10.1093/geronj/47.2.m45
Phu HT, Thuan DTB, Nguyen THD, Posadino AM, Eid AH, Pintus G (2019) Herbal Medicine for Slowing Aging and Aging-Associated Conditions: Efficacy, Mechanisms, and Safety. *Curr Vasc Pharmacol* DOI: 10.2174/1570161117666190715121939
Pianka ER (1970) On r- and K-selection. *Am Nat* 104(940):592-7. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/282697?journalCode=an
Pickup E, German AJ, Blackwell E, Evans M, Westgarth C (2017) Variation in activity levels amongst dogs of different breeds: results of a large online survey of dog owners from the UK. *J Nutr Sci* 6:e10. DOI: 10.1017/jns.2017.7
Pinho-Ribeiro V, Melo AC, Kennedy-Feitosa E, Graca-Reis A, Barroso MV, Cattani-Cavalieri I, Carvalho GMC, Zin WA, Porto LC, Gitirana LB, Lanzetti M, Valença SS (2017) Atorvastatin and Simvastatin Promoted Mouse Lung Repair After Cigarette Smoke-Induced Emphysema. *Inflammation* 40(3):965-79. DOI: 10.1007/s10753-017-0541-5
Pinto-Fochi ME, Pytlowanciv EZ, Reame V, Rafacho A, Ribeiro DL, Taboga SR, Góes RM (2016) A high-fat diet fed during different periods of life impairs steroidogenesis of rat Leydig cells. *Reproduction* 152(6):795-808. DOI: 10.1530/REP-16-0072
Platts-Mills TAE (2015) The Allergy Epidemics: 1870-2010. *J Allergy Clin Immunol* 136(1):3-13. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.03.048
Platt TL, Beckett TL, Kohler K, Niedowicz DM, Murphy MP (2016) Obesity, diabetes, and leptin resistance promote tau pathology in a mouse model of disease. *Neuroscience* 315:162-74. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.12.011

Pletcher MJ, Moran AE (2017) Cardiovascular Risk Assessment. *Med Clin North Am* 101(4):673-88. DOI: 10.1016/j.mcna.2017.03.002

Podgornaya OI, Ostromyshenskii DI, Enukashvily NI (2018) Who Needs This Junk, or Genomic Dark Matter. *Biochem (Mosc)* 83(4):450-66. DOI: 10.1134/S0006297918040156

Podowski M, Calvi C, Metzger S, Misono K, Poonyagariyagorn H, Lopez-Mercado A, Ku T, Lauer T, McGrath-Morrow S, Berger A, Cheadle C, Tuder R, et al. (2012) Angiotensin receptor blockade attenuates cigarette smoke-induced lung injury and rescues lung architecture in mice. *J Clin Invest* 122(1):229-40. DOI: 10.1172/JCI46215

Polinski JM, Kron N, Smith DR, Bodnar AG (2020) Unique age-related transcriptional signature in the nervous system of the long-lived red sea urchin Mesocentrotus franciscanus. *Sci Rep* 10(1):9182. DOI: 10.1038/s41598-020-66052-3

Pollack M, Leeuwenburgh C (2001) Apoptosis and aging: role of the mitochondria. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 56(11):B475-82. DOI: 10.1093/gerona/56.11.b475

Pontèn J, Stein WD, Shall S (1983) A Quantitative Analysis of the Aging of Human Glial Cells in Culture. *J Cell Phys* 117(3):342-52. DOI: 10.1002/jcp.1041170309

Porro A, Feuerhahn S, Delafontaine J, Riethman H, Rougemont J, Lingner J (2014) Functional characterization of the TERRA transcriptome at damaged telomeres. *Nat Comm* 5: 5379. DOI: 10.1038/ncomms6379

Porro A, Feuerhahn S, Reichenbach P, Lingner J (2010) Molecular dissection of telomeric repeat-containing RNA biogenesis unveils the presence of distinct and multiple regulatory pathways. *Mol Cell Biol* 30(20):4808-17. DOI: 10.1128/MCB.00460-10

Potvin AR, Syndulko K, Tourtellotte WW, Lemmon JA, Potvin JH (1980) Human neurologic function and the aging process. *J Am Geriatr Soc* 28(1):1-9. DOI: 10.1111/j.1532-5415.1980.tb00115.x

Pozniakovsky AI, Knorre DA, Markova OV, Hyman AA, Skulachev VP, Severin FF (2005) Role of mitochondria in the pheromone- and amiodarone-induced programmed death of yeast. *J Cell Biol* 168(2):257-69. DOI: 10.1083/jcb.200408145

Preiss D, Campbell RT, Murray HM, Ford I, Packard CJ, Sattar N, Rahimi K, Colhoun HM, Waters DD, LaRosa JC, Amarenco P, Pedersen TR, et al. (2015) The effect of statin therapy on heart failure events: a collaborative meta-analysis of unpublished data from major randomized trials. *Eur Heart J* 36(24):1536-46. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv072

Prentice AM, Ghattas H, Doherty C, Cox SE (2007) Iron metabolism and malaria. *Food Nutr Bull* 28(4 Suppl):S524-39. DOI: 10.1177/15648265070284S406

Price CM, Boltz KA, Chaiken MF, Stewart JA, Beilstein MA, Shippen DE (2010) Evolution of CST function in telomere maintenance. *Cell Cycle* 9(16):3157-65. DOI: 10.4161/cc.9.16.12547

Price WA (1939) *Nutrition and Physical Degeneration*. Paul B. Hoeber, New York-London [Other editions in 1945, 1970, 1989, 1997, 2004, 2006, 2008, 2011; the last edition has been used].

Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TD (2014) The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord* 29(13):1583-90. DOI: 10.1002/mds.25945

Prins JB, O'Rahilly S (1997) Regulation of adipose cell number in man. *Clin Sci (Lond)* 92(1):3-11. DOI: 10.1042/cs0920003

Profet M (1992) Pregnancy sickness as adaptation: A deterrent to maternal ingestion of teratogens. In Barkow J, Cosmides L, Tooby J (eds.), *The adapted mind: Evolutionary psychology and the generation of culture*. Oxford University Press, Oxford.

Prowse KR, Greider CW (1995) Developmental and tissue-specific regulation of mouse telomerase and telomere length. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(11):4818-22. DOI: 10.1073/pnas.92.11.4818

Przewoźny T, Gójska-Grymajło A, Kwarciany M, Graff B, Szmuda T, Gąsecki D, Narkiewicz K (2016) Hypertension is associated with dysfunction of both peripheral and central auditory system. *J Hypertens* 34(4):736-44. DOI: 10.1097/HJH.0000000000000803

Pugazhenthi S (2017) Metabolic Syndrome and the Cellular Phase of Alzheimer's Disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 146:243-58. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2016.12.016

Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G (2002) The worldwide prevalence of multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 104(3):182-91. DOI: 10.1016/s0303-8467(02)00036-7

Pujol-Lereis LM, Schäfer N, Kuhn LB, Rohrer B, Pauly D (2016) Interrelation Between Oxidative Stress and Complement Activation in Models of Age-Related Macular Degeneration. *Adv Exp Med Biol* 854:87-93. DOI: 10.1007/978-3-319-17121-0_13

Qiu C, Winblad B, Fratiglioni L (2005b) The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia. *Lancet Neurol* 4(8):487-99. DOI: 10.1016/S1474-4422(05)70141-1

Qiu J, Yoon JH, Shen B (2005a) Search for apoptotic nucleases in yeast: role of Tat-D nuclease in apoptotic DNA degradation. *J Biol Chem* 280(15):15370-9. DOI: 10.1074/jbc.M413547200

Qiu WQ, Walsh DM, Ye Z, Vekrellis K, Zhang J, Podlisny MB, Rosner MR, Safavi A, Hersh LB, Selkoe DJ (1998) Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. *J Biol Chem* 273(49):32730-8. DOI: 10.1074/jbc.273.49.32730

Quik M, Huang LZ, Parameswaran N, Bordia T, Campos C, Perez XA (2009) Multiple roles for nicotine in Parkinson's disease. *Biochem Pharmacol* 78(7):677-85. DOI: 10.1016/j.bcp.2009.05.003

Quik M, Wonnacott S (2011) α6β2* and α4β2* nicotinic acetylcholine receptors as drug targets for Parkinson's disease. *Pharmacol Rev* 63(4):938-66. DOI: 10.1124/pr.110.003269

Quik M, Zhang D, McGregor M, Bordia T (2015) Alpha7 nicotinic receptors as therapeutic targets for Parkinson's disease. *Biochem Pharmacol* 97(4):399-407. DOI: 10.1016/j.bcp.2015.06.014

Raff M (1998) Cell suicide for beginners. *Nature* 396(6707):119-22. DOI: 10.1038/24055

Raichlen DA, Pontzer H, Harris JA, Mabulla AZP, Marlowe FW, Josh Snodgrass J, et al. (2017) Physical activity patterns and biomarkers of cardiovascular disease risk in hunter-gatherers. *Am J Hum Biol* 29(2). DOI: 10.1002/ajhb.22919

Rain C, Rada G (2017) Are statins beneficial for chronic heart failure? First update. Version 2. *Medwave* 17(Suppl 2):e6853. DOI: 10.5867/medwave.2017.6853

Ramos PM, Miot HA (2015) Female Pattern Hair Loss: a clinical and pathophysiological review. *An Bras Dermatol* 90(4):529-43. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20153370

Rampelli S, Candela M, Turroni S, Biagi E, Collino S, Franceschi C, O'Toole PW, Brigidi P (2013) Functional metagenomic profiling of intestinal microbiome in extreme ageing. *Aging (Albany NY)* 5(12):902-12. DOI: 10.18632/aging.100623

Rangnekar AS, Fontana RJ (2011) An update on drug induced liver injury. *Minerva Gastroenterol Dietol* 57(2):213-29. www.minervamedica.it/it/riviste/gastroenterologica-dietologica/articolo.php?cod=R08Y2011 N02A0213

Rani V, Deshmukh R, Jaswal P, Kumar P, Bariwal J (2016) Alzheimer's disease: Is this a brain specific diabetic condition? *Physiol Behav* 164(Pt A):259-67. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.05.041

Rasouli B, Ahlbom A, Andersson T, Grill V, Midthjell K, Olsson L, Carlsson S (2013) Alcohol consumption is associated with reduced risk of Type 2 diabetes and autoimmune diabetes in adults: results from the Nord-Trøndelag health study. *Diabet Med* 30(1):56-64. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2012.03713.x

Raupach T, Lüthje L, Kögler H, Duve C, Schweda F, Hasenfuss G, Andreas S (2011) Local and systemic effects of angiotensin receptor blockade in an emphysema mouse model. *Pulm Pharmacol Ther* 24(2):215-20. DOI: 10.1016/j.pupt.2010.12.006

Ravussin E, Redman LM, Rochon J, Das SK, Fontana L, Kraus WE, Romashkan S, Williamson DA, Meydani SN, Villareal DT, Smith SR, Stein RI, et al. - CALERIE Study Group (2015) A 2-Year Randomized Controlled Trial of Human Caloric Restriction: Feasibility and Effects on Predictors of Health Span and Longevity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 70(9):1097-104. DOI: 10.1093/gerona/glv057

Reed JC (1999) Dysregulation of apoptosis in cancer. *J Clin Oncol* 17(9):2941-53. DOI: 10.1200/JCO.1999.17.9.2941

Reibel J (2003) Tobacco and oral diseases. Update on the evidence, with recommendations. *Med Princ Pract* 12(Suppl 1):22-32. DOI: 10.1159/000069845

Reinus JF, Brandt LJ (1998) The Upper Gastrointestinal Tract. In: *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 803-26.

Reitmeir P, Linkohr B, Heier M, Molnos S, Strobl R, Schulz H, Breier M, Faus T, Küster DM, Wulff A, Grallert H, Grill E, et al. (2017) Common eye diseases in older adults of southern Germany: results from the KORA-Age study. *Age Ageing* 46(3):481-6. DOI: 10.1093/ageing/afw234

Remane A (1932) Rotatoria. In Bronn HG (ed), *Dr. HG Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Acoela und Rhabdocoelida*, vol. 4, part 2(1):1-576. C. F. Winter, Leipzig.

Rena G, Pearson ER, Sakamoto K (2013) Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights? *Diabetologia* 56(8):1898-906. DOI: 10.1007/s00125-013-2991-0

Reynolds K, Gu D, Chen J, Tang X, Yau CL, Yu L, Chen CS, Wu X, Hamm LL, He J (2008) Alcohol consumption and the risk of end-stage renal disease among Chinese men. *Kidney Int* 73(7):870-6. DOI: 10.1038/sj.ki.5002774

Rheinwald JG, Green H (1975) Serial Cultivation of Strains of Human Epidermal Keratinocytes: the Formation of Keratinizing Colonies from Single Cells. *Cell* 6(3):331-44. DOI: 10.1016/s0092-8674(75)80001-8

Ribarič S (2012) Diet and aging. *Oxid Med Cell Longev* 2012:741468. DOI: 10.1155/2012/741468

Ribbert H (1908) *Der Tod aus Altersschwäche*. Cohen, Bonn.

Ricci G, Pirillo I, Tomassoni D, Sirignano A, Grappasonni I (2017) Metabolic syndrome, hypertension, and nervous system injury: Epidemiological correlates. *Clin Exp Hypertens* 39(1):8-16. DOI: 10.1080/10641963.2016.1210629

Richardson BE, Vander Woude EA, Sudan R, Thompson JS, Leopold DA (2004) Altered olfactory acuity in the morbidly obese. *Obes Surg* 14(7):967-9. DOI: 10.1381/0960892041719617

Richardson BR, Allan DS, Le Y (2014) Greater organ involution in highly proliferative tissues associated with the early onset and acceleration of ageing in humans. *Experim Geront* 55:80-91. DOI: 10.1016/j.exger.2014.03.015

Rice C, Skordalakes E (2016) Structure and function of the telomeric CST complex. *Comput Struct Biotechnol J* 14:161-7. DOI: 10.1016/j.csbj.2016.04.002

Ricklefs RE (1998) Evolutionary theories of aging: confirmation of a fundamental prediction, with implications for the genetic basis and evolution of life span. *Am Nat* 152(1):24-44. DOI: 10.1086/286147

Ridley M (1993) *The Red Queen. Sex and the evolution of human nature.* Penguin Books, London.

Riethman H (2008) Human telomere structure and biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 9:1-19. 10.1146/annurev.genom.8.021506.172017

Riethman H, Ambrosini A, Castaneda C, Finklestein J, Hu XL, Mudunuri U, Paul S, Wei J (2004) Mapping and initial analysis of human subtelomeric sequence assemblies. *Genome Res* 14(1):18-28. DOI: 10.1101/gr.1245004

Riethman H, Ambrosini A, Paul S (2005) Human subtelomere structure and variation. *Chromosome Res* 13(5):505-15. DOI: 10.1007/s10577-005-0998-1

Robertson TB (1923) *The Chemical Basis of Growth and Senescence*. Lippincott, Philadelphia.

Robin JD, Ludlow AT, Batten K, Magdinier F, Stadler G, Wagner KR, Shay JW, Wright WE. (2014) Telomere position effect: regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances. *Genes Dev* 28(22):2464-76. DOI: 10.1101/gad.251041.114

Robinson HP, Caines JS (1977) Sonar evidence of early pregnancy failure in patients with twin conceptions. *Br J Obstet Gynaecol* 84(1):22-5. DOI: 10.1111/j.1471-0528.1977.tb12460.x

Rocco A, Compare D, Angrisani D, Sanduzzi Zamparelli M, Nardone G (2014) Alcoholic disease: liver and beyond. *World J Gastroenterol* 20(40):14652-9. DOI: 10.3748/wjg.v20.i40.14652

Rockstein M, Chesky JA, Sussman M (1977) Comparative biology and evolution of aging. In Finch CE, Hayflick L, eds (1977) Handbook of the biology of aging. Van Nostrand Reinhold Company, New York (USA), pp. 3-34.

Rodier F, Campisi J (2011) Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol* 192(4):547-56. DOI: 10.1083/jcb.201009094

Rodier F, Coppé JP, Patil CK, Hoeijmakers WA, Muñoz DP, Raza SR, Freund A, Campeau E, Davalos AR, Campisi J (2009) Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol* 11(8):973-9. DOI: 10.1038/ncb1909; erratum 2009, 11, 1272.

Rodriguez-Iturbe B, Romero F, Johnson RJ (2007) Pathophysiological mechanisms of salt-dependent hypertension. *Am J Kidney Dis* 50(4):655-72. DOI: 10.1053/j.ajkd.2007.05.025

Roerecke M, Rehm J (2014) Alcohol consumption, drinking patterns, and ischemic heart disease: a narrative review of meta-analyses and a systematic review and meta-analysis of the impact of heavy drinking occasions on risk for moderate drinkers. *BMC Med* 12:182. DOI: 10.1186/s12916-014-0182-6

Röhme D (1981) Evidence for a relationship between longevity of mammalian species and life spans of normal fibroblasts *in vitro* and erythrocytes *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78(8):5009-13. DOI: 10.1073/pnas.78.8.5009

Romeo J, Wärnberg J, Nova E, Díaz LE, Gómez-Martinez S, Marcos A (2007) Moderate alcohol consumption and the immune system: a review. *Br J Nutr* 98(Suppl 1):S111-5. DOI: 10.1017/S0007114507838049

Rose KA, Morgan IG, Ip J, Kifley A, Huynh S, Smith W, Mitchell P. (2008) Outdoor activity reduces the prevalence of myopia in children. *Ophthalmol* 115(8):1279-85. DOI: 10.1016/j.ophtha.2007.12.019

Rose MR (1991) *Evolutionary biology of aging*. Oxford University Press, Oxford (UK).

Rosendorff C, Beeri MS, Silverman JM (2007) Cardiovascular risk factors for Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Cardiol* 16(3):143-9. DOI: 10.1111/j.1076-7460.2007.06696.x

Rosenhall U, Sixt E, Sundh V, Svanborg A (1993) Correlations between presbyacusis and extrinsic noxious factors. *Audiology* 32(4):234-43. DOI: 10.3109/00206099309072939

Rosen P (1985) Aging of the immune system. *Med Hypotheses* 18(2):157-61. DOI: 10.1016/0306-9877(85)90048-9

Rostand SG (1997) Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences. *Hypertension* 30(2 Pt 1):150-6. DOI: 10.1161/01.hyp.30.2.150

Roux W (1881) *Der Kampf der Teile im Organismus*. Engelmann, Leipzig.

Ruan W, Yuan X, Eltzschig HK (2021). Circadian rhythm as a therapeutic target. *Nat Rev Drug Discov* 2021. DOI: 10.1038/s41573-020-00109-w

Rubner M (1908) Probleme des Wachstums und der Lebensdauer. *Mitt Ges Inn Med (Wien)* 7:58-81.

Rudenko G, Van der Ploeg LH (1989) Transcription of telomere repeats in protozoa. *EMBO J* 8(9):2633-8. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC401269/

Ruderman N, Prentki M (2004) AMP kinase and malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. *Nat Rev Drug Discov* 3(4):340-51. DOI: 10.1038/nrd1344

Rudnicka AR, Jarrar Z, Wormald R, Cook DG, Fletcher A, Owen CG (2012) Age and gender variations in age-related macular degeneration prevalence in populations of European ancestry: a meta-analysis. *Ophthalmology* 119(3):571-80. DOI: 10.1016/j.ophtha.2011.09.027

Rudolph KL, Chang S, Lee HW, Blasco M, Gottlieb GJ, Greider C, DePinho RA (1999) Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell* 96(5):701-12. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80580-2

Rudolph KL, Millard M, Bosenberg MW, DePinho RA (2001) Telomere dysfunction and evolution of intestinal carcinoma in mice and humans. *Nat Genet* 28(2):155-9. DOI: 10.1038/88871

Runge KW, Zakian VA (1989) Introduction of extra telomeric DNA sequences into Saccharomyces cerevisiae results in telomere elongation. *Mol Cell Biol* 9(4):1488-97. DOI: 10.1128/mcb.9.4.1488

Rupp CI, Fleischhacker WW, Hausmann A, Mair D, Hinterhuber H, Kurz M (2004) Olfactory functioning in patients with alcohol dependence: impairments in odor judgements. *Alcohol Alcohol* 39(6):514-9. DOI: 10.1093/alcalc/agh100

Rupp CI, Kurz M, Kemmler G, Mair D, Hausmann A, Hinterhuber H, Fleischhacker WW (2003) Reduced olfactory sensitivity, discrimination, and identification in patients with alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 27(3):432-9. DOI: 10.1097/01.ALC.0000057945.57330.2C

Russomanno G, Corbi G, Manzo V, Ferrara N, Rengo G, Puca AA, Latte S, Carrizzo A, Calabrese MC, Andriantsitohaina R, Filippelli W, Vecchione C, Filippelli A, Conti V (2017) The anti-ageing molecule sirt1 mediates beneficial effects of cardiac rehabilitation. *Immun Ageing* 14:7. DOI: 10.1186/s12979-017-0088-1

Rutherford OM, Jones DA (1992) The relationship of muscle and bone loss and activity levels with age in women. *Age Ageing* 21(4):286-93. DOI: 10.1093/ageing/21.4.286

Růžická V (1924) Beiträge zum Studium der Protoplasmahysteresis und der hysteretischen Vorgänge (Zur Kausalität des Alterns). *Arch Mikr Anat Entw* 101(4):459-82.

Růžická V (1929) Beiträge zum Studium der Protoplasmahysteresis und der hysteretischen Vorgänge (Zur Kausalität des Alterns). *Arch EntwMeck Org* 116(1):104-22.

Sacher GA (1959) Relation of lifespan to brain weight and body weight in mammals. In: Wolstenholme GEW, O'Connor M (eds) *The Lifespan of Animals*, CIBA Foundation Colloquia on Ageing, vol. 5. Little, Brown and Co., Boston, pp. 115-33.

Safdar A, Bourgeois JM, Ogborn DI, Little JP, Hettinga BP, Akhtar M, et al. (2011) Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(10):4135-40. DOI: 10.1073/pnas.1019581108

Saedi E, Gheini MR, Faiz F, Arami MA (2016) Diabetes mellitus and cognitive impairments. *World J Diabetes* 7(17):412-22. DOI: 10.4239/wjd.v7.i17.412

Sahara K, Marec F, Traut W (1999) TTAGG telomeric repeats in chromosomes of some insects and other arthropods. *Chromosome Res* 7(6):449-60. DOI: 10.1023/a:1009297729547

Sahay K, Rehani S, Kardam P, Kumra M, Sharma R, Singh N (2017) Cytomorphometric analysis and morphological assessment of oral exfoliated cells in type 2 diabetes mellitus and healthy individuals: A comparative study. *J Cytol* 34(1):27-33. DOI: 10.4103/0970-9371.197594

Salathé M, Kouyos RD, Bonhoeffer S (2008) The state of affairs in the kingdom of the Red Queen. *Trends Ecol Evol* 23(8):439-45. DOI: 10.1016/j.tree.2008.04.010

Samii A, Nutt JG, Ransom BR (2004) Parkinson's disease. *Lancet* 363(9423):1783-93. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16305-8

Samper E, Fernández P, Eguía R, Martín-Rivera L, Bernad A, Blasco MA, Aracil M (2002) Long-term repopulating ability of telomerase-deficient murine hematopoietic stem cells. *Blood* 99(8):2767-75. DOI: 10.1182/blood.v99.8.2767

Sanderson WC, Scherbov S (2005).Average remaining lifetimes can increase as human populations age. *Nature* 435(7043): 811-3. DOI: //doi.org/10.1038/nature03593

Sandhu S, Wiebe N, Fried LF, Tonelli M (2006) Statins for improving renal outcomes: a meta-analysis. *J Am Soc Nephrol* 17(7):2006-16. DOI: 10.1681/ASN.2006010012

Sanguankeo A, Upala S, Cheungpasitporn W, Ungprasert P, Knight EL (2015) Effects of Statins on Renal Outcome in Chronic Kidney Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 10(7):e0132970. DOI: 10.1371/journal.pone.0132970

Sanke H, Mita T, Yoshii H, Yokota A, Yamashiro K, Ingaki N, Onuma T, Someya Y, Komiya K, Tamura Y, Shimizu T, Ohmura C, et al. (2014) Relationship between olfactory dysfunction and cognitive impairment in elderly patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 106(3):465-73. DOI: 10.1016/j.diabres.2014.09.039

Santiago JA, Potashkin JA (2014) System-based approaches to decode the molecular links in Parkinson's disease and diabetes. *Neurobiol Dis* 72 Pt A:84-91. DOI: 10.1016/j.nbd.2014.03.019

Sanz A, Stefanatos RK (2008) The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr Aging Sci* 1(1):10-21. DOI: 10.2174/1874609810801010010

Saraswat K, Rizvi SI (2017) Novel strategies for anti-aging drug discovery. *Expert Opin Drug Discov* 12(9):955-66. DOI: 10.1080/17460441.2017.1349750

Sari Y, Khalil A (2015) Monoamine Oxidase Inhibitors Extracted from Tobacco Smoke as Neuroprotective Factors for Potential Treatment of Parkinson's Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 14(6):777-85. DOI: 10.2174/1871527314666150325235608

Sasson I (2016) Trends in Life Expectancy and Lifespan Variation by Educational Attainment: United States, 1990–2010. *Demography* 53(2):269-93. DOI: 10.1007/s13524-015-0453-7

Satoh A, Brace CS, Rensing N, Cliften P, Wozniak DF, Herzog ED, Yamada KA, Imai S (2013) Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. *Cell Metab* 18(3):416-30. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.07.013

Sattar N, Preiss D, Murray HM, Welsh P, Buckley BM, de Craen AJ, Seshasai SR, McMurray JJ, Freeman DJ, Jukema JW, Macfarlane PW, Packard CJ, et al. (2010) Statins and risk of incident diabetes: a collaborative meta-analysis of randomised statin trials. *Lancet* 375(9716):735-42. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61965-6

Savage DC (1977) Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract. *Annu Rev Microbiol* 31:107-33. DOI: 10.1146/annurev.mi.31.100177.000543

Sayin N, Kara N, Pekel G (2015) Ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes* 6(1):92-108. DOI: 10.4239/wjd.v6.i1.92

Schaeffner E, Ritz E (2012) Alcohol and kidney damage: a Janus-faced relationship. *Kidney Int* 81(9):816-8. DOI: 10.1038/ki.2012.14

Schafer MJ, White TA, Iijima K, Haak AJ, Ligresti G, Atkinson EJ, Oberg AL, Birch J, Salmonowicz H, Zhu Y, Mazula DL, Brooks RW, et al. (2017) Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease. *Nat Commun* 8:14532. DOI: 10.1038/ncomms14532

Scheen AJ (2004a). Renin-angiotensin system inhibition prevents type 2 diabetes mellitus. Part 1. A meta-analysis of randomised clinical trials. *Diabetes Metab* 30(6):487-96. DOI: 10.1016/s1262-3636(07)70146-5

Scheen AJ (2004b). Prevention of type 2 diabetes mellitus through inhibition of the Renin-Angiotensin system. *Drugs* 64(22):2537-65. DOI: 10.2165/00003495-200464220-00004

Scheen AJ (2005) Diabetes mellitus in the elderly: insulin resistance and/or impaired insulin secretion? *Diabetes Metab* 31(2):5S27-34. DOI: 10.1016/s1262-3636(05)73649-1

Schinzari F, Tesauro M, Cardillo C (2017) Endothelial and perivascular adipose tissue abnormalities in obesity-related vascular dysfunction: novel targets for treatment. *J Cardiovasc Pharmacol* 69(6):360-8. DOI: 10.1097/FJC.0000000000000469

Schludermann E, Zubek JP (1962) Effect of age on pain sensitivity. *Percept Motor Skills Res Exchange* 14(2):295-301.

Schmidt JC, Cech TR (2015) Human telomerase: biogenesis, trafficking, recruitment, and activation. *Genes Dev* 29(11):1095-105. DOI: 10.1101/gad.263863.115

Schmidt JC, Zaug AJ, Kufer R, Cech TR (2018) Dynamics of human telomerase recruitment depend on template-telomere base-pairing. *Mol Biol Cell* pii:mbc.E17-11-0637. DOI: 10.1091/mbc.E17-11-0637

Schmieder RE, Ruilope LM, Barnett AH (2011) Renal protection with angiotensin receptor blockers: where do we stand. *J Nephrol* 24(5):569-80. DOI: 10.5301/JN.2011.6445

Schneider EL, Mitsui Y (1976) The relationship between in vitro cellular aging and in vivo human age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 73(10):3584-8. DOI: 10.1073/pnas.73.10.3584

Schnorr SL (2015) The diverse microbiome of the hunter-gatherer. *Nature* 518(7540):S14-5. DOI: 10.1038/518S14a

Schoeftner S, Blasco MA (2008) Developmentally regulated transcription of mammalian telomeres by DNA-dependent RNA polymerase II. *Nat Cell Biol* 10(2):228-36. DOI: 10.1038/ncb1685

Schofield DP, McGrew WC, Takahashi A, Hirata S (2018) Cumulative culture in nonhumans: overlooked findings from Japanese monkeys?. *Primates* 59(2):113-22. DOI: 10.1007/s10329-017-0642-7

Schofield JD, Liu Y, Rao-Balakrishna P, Malik RA, Soran H (2016) Diabetes Dyslipidemia. *Diabetes Ther* 7(2):203-19. DOI: 10.1007/s13300-016-0167-x

Schopenhauer A (1819) *Die Welt als Wille und Vorstellung: Vier Bücher, nebst einem Anhange, der die Kritik der Kantischen Philosophie enthält*. Brockhaus, Leipzig (in English: *The World as Will and Representation*. Dover Publications, New York, 1969, p. 276).

Schopf FH, Biebl MM, Buchner J (2017) The HSP90 chaperone machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18(6):345-60. DOI: 10.1038/nrm.2017.20

Schubert CR, Cruickshanks KJ, Fischer ME, Huang GH, Klein BE, Klein R, Pankow JS, Nondahl DM (2012) Olfactory impairment in an adult population: the Beaver Dam Offspring Study. *Chem Senses* 37(4):325-34. DOI: 10.1093/chemse/bjr102

Schubert CR, Cruickshanks KJ, Klein BE, Klein R, Nondahl DM (2011) Olfactory impairment in older adults: five-year incidence and risk factors. *Laryngoscope* 121(4):873-8. DOI: 10.1002/lary.21416

Schulz-Schaeffer WJ (2010) The synaptic pathology of alpha-synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol* 120(2):131-43. DOI: 10.1007/s00401-010-0711-0

Schwab R, Hausman PB, Rinnooy-Kan E, Weksler ME (1985) Immunological studies of ageing. X. Impaired T lymphocytes and normal monocyte response from elderly humans to the mitogenic antibodies OKT3 and Leu 4. *Immunology* 55(4):677-84. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1453768/

Scott J (1986) Structure and function in ageing human salivary glands. *Gerodontology* 5(3):149-58. DOI: doi.org/10.1111/j.1741-2358.1986.tb00062.x

Scott J, Valentine JA, St Hill CA, Balasooriya BA (1983) A quantitative histological analysis of the effects of age and sex on human lingual epithelium. *J Biol Buccale* 11(4):303-15.

Scrimshaw SCM (1984) Infanticide in human populations: societal and individual concerns. In: Hausfater G, Hrdy SB, eds, *Infanticide: comparative and evolutionary perspectives*. Aldine, New York.

Seale P, Asakura A, Rudnicki MA (2001) The potential of muscle stem cells. *Dev Cell* 1(3):333-42. DOI: 10.1016/s1534-5807(01)00049-1

Ségal-Bendirdjian E, Geli V (2019) Non-canonical Roles of Telomerase: Unraveling the Imbroglio. *Front Cell Dev Biol* 7:332. DOI: 10.3389/fcell.2019.00332

Segel M, Neumann B, Hill MFE, Weber IP, Viscomi C, Zhao C, Young A, Agley CC, Thompson AJ, Gonzalez GA, Sharma A, Holmqvist S, et al. (2019) Niche stiffness underlies the ageing of central nervous system progenitor cells. *Nature* 573(7772):130-4. DOI: 10.1038/s41586-019-1484-9

Seger YR, García-Cao M, Piccinin S, Cunsolo CL, Doglioni C, Blasco MA, Hannon GJ, Maestro R (2002) Transformation of normal human cells in the absence of telomerase activation. *Cancer Cell* 2(5):401-13. DOI: 10.1016/s1535-6108(02)00183-6

Seifi S, Feizi F, Moazzezi Z, Mehdizadeh M, Zamani B (2014) Evaluation of oral mucosal epithelium in diabetic male patients by exfoliative cytology method. *J Diabetes Metab Disord* 13:77. DOI: 10.1186/2251-6581-13-77

Seluanov A, Chen Z, Hine C, Sasahara TH, Ribeiro AA, Catania KC, Presgraves DC, Gorbunova V (2007) Telomerase activity coevolves with body mass not lifespan. *Aging Cell* 6(1):45-52. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2006.00262.x

Sender R, Fuchs S, Milo R (2016) Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol* 14(8):e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533

Senni M, Trimarco B, Emdin M, De Biase L (2017) [Sacubitril/valsartan, a new and effective treatment for heart failure with reduced ejection fraction] [Article in Italian]. *G Ital Cardiol (Rome)* 18(1):3-11. DOI: 10.1714/2654.27228

Sergeyenko Y, Lall K, Liberman MC, Kujawa SG (2013) Age-related cochlear synaptopathy: an early-onset contributor to auditory functional decline. *J Neurosci* 33(34):13686-94. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1783-13.2013

Shampay J, Szostak JW, Blackburn EH (1984) DNA sequences of telomeres maintained in yeast. *Nature* 310(5973):154-7. DOI: 10.1038/310154a0

Shapiro J (2007) Clinical practice. Hair loss in women. *N Engl J Med* 357(16):1620-30. DOI: 10.1056/NEJMcp072110

Sharland M; SACAR Paediatric Subgroup. (2007) The use of antibacterials in children: a report of the Specialist Advisory Committee on Antimicrobial Resistance (SACAR) Paediatric Subgroup. *J Antimicrob Chemother* Suppl 1:i15-26. DOI: 10.1093/jac/dkm153

Sharma S, Raina SN (2005) Organization and evolution of highly repeated satellite DNA sequences in plant chromosomes. *Cytogenet Genome Res* 109(1-3):15-26. DOI: 10.1159/000082377

Shelton DN, Chang E, Whittier PS, Choi D, Funk WD (1999) Microarray analysis of replicative senescence. *Curr Biol* 9(17):939-45. DOI: 10.1016/s0960-9822(99)80420-5

Sheng Z, Jia X, Kang M (2016) Statin use and risk of Parkinson's disease: A meta-analysis. *Behav Brain Res* 309:29-34. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.04.046

Shi Y, Vanhoutte PM (2017) Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *J Diabetes* 9(5):434-49. DOI: 10.1111/1753-0407.12521

Shiina T, Inoko H, Kulski JK (2004) An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. *Tissue Antigens* 64(6):631-49. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2004.00327.x

Shim SH, Kim SG, Bae JH, Yu HG, Song SJ (2016) Risk Factors for Progression of Early Age-Related Macular Degeneration in Koreans. *Ophthalmic Epidemiol* 23(2):80-7. DOI: 10.3109/09286586.2015.1129425

Shim WS, Kim HJ, Kang ES, Ahn CW, Lim SK, Lee HC, Cha BS (2006) The association of total and differential white blood cell count with metabolic syndrome in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 73(3):284-91. DOI: 10.1016/j.diabres.2006.02.001

Shoshani J (2000) *Elephants: Majestic Creatures of the Wild.* Checkmark Books, New York.

Shrikrishna D, Tanner RJ, Lee JY, Natanek A, Lewis A, Murphy PB, Hart N, Moxham J, Montgomery HE, Kemp PR, Polkey MI, Hopkinson NS (2014) A randomized controlled trial of angiotensin-converting enzyme inhibition for skeletal muscle dysfunction in COPD. *Chest* 146(4):932-40. DOI: 10.1378/chest.13-2483

Shubernetskaya OS, Olovnikov AM (2019a) Telomeres. In: Gu D, Dupre M (eds) *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging*. Springer, Cham. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_58-1

Shubernetskaya OS, Olovnikov AM (2019b) Telomerase. In: Gu D, Dupre M (eds) *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging*. Springer, Cham. DOI: doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_57-1

Silva JV, Cruz D, Gomes M, Correia BR, Freitas MJ, Sousa L, Silva V, Fardilha M (2017) Study on the short-term effects of increased alcohol and cigarette consumption in healthy young men's seminal quality. *Sci Rep* 7:45457. DOI: 10.1038/srep45457

Sim FJ, Zhao C, Penderis J, Franklin RJM (2002) The Age-Related Decrease in CNS Remyelination Efficiency Is Attributable to an Impairment of Both Oligodendrocyte Progenitor Recruitment and Differentiation. *J Neurosci* 22(7):2451-9. DOI: 20026217

Simon KC, Chen H, Michael S, Ascherio A (2007) Hypertension, hypercholesterolemia, diabetes, and risk of Parkinson disease. *Neurology* 69(17):1688-95. DOI: 10.1212/01.wnl.0000271883.45010.8a

Sinclair AJ, Croxson SCM (1998) Diabete Mellitus in the Older Adult. In: Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (ed), *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York, pp. 1051-71.

Sinclair CS, Richmond RH, Ostrander GK (2007) Characterization of the telomere regions of scleractinian coral, Acropora surculosa. *Genetica* 129(3):227-33. DOI: 10.1007/s10709-006-0001-x

Sinclair DA, Guarente L (1997) Extrachromosomal rDNA circles - a cause of aging in yeast. *Cell* 91(7):1033-42. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80493-6

Singal AK, Anand BS (2013) Recent trends in the epidemiology of alcoholic liver disease. *Clin Liv Dis (Hoboken)* 2(2):53-6. DOI: 10.1002/cld.168

Singer MS, Kahana A, Wolf AJ, Meisinger LL, Peterson SE, Goggin C, Mahowald M, Gottschling DE (1998) Identification of high-copy disruptors of telomeric silencing in Saccharomyces cerevisiae. *Genetics* 150(2):613-32. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1460361/

Single G, Dickman CR, MacDonald DW (2001) Rodents. In: MacDonald DW (ed), *The New Encyclopedia of Mammals*. Oxford University Press, Oxford (UK), pp. 578-87.

Sivri N, Tekin G, Yalta K, Aksoy Y, Senen K, Yetkin E (2013) Statins decrease mean platelet volume irrespective of cholesterol lowering effect. *Kardiol Pol* 71(10):1042-7. DOI: 10.5603/KP.2013.0259

Slev PR, Nelson AC, Potts WK (2006) Sensory neurons with MHC-like peptide binding properties: disease consequences. *Curr Opin Immunol* 18(5):608-16. DOI: 10.1016/j.coi.2006.07.012

Skulachev VP (1997) Aging is a specific biological function rather than the result of a disorder in complex living systems: biochemical evidence in support of Weismann's hypothesis. *Biochem (Mosc)* 62(11):1191-5. protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v62/full/62111394.html

Skulachev VP (1999a) Mitochondrial physiology and pathology; concepts of programmed death of organelles, cells and organisms. *Mol Aspects Med* 20(3):139-84. DOI: 10.1016/s0098-2997(99)00008-4

Skulachev VP (1999b) Phenoptosis: programmed death of an organism. *Biochem (Mosc)* 64(12):1418-26. protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v64/full/64121679.html

Skulachev VP (2001) The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology. *Exp Gerontol* 36(7):995-1024. DOI: 10.1016/s0531-5565(01)00109-7

Skulachev VP (2002a) Programmed Death Phenomena: From Organelle to Organism. *Ann N Y Acad Sci* 959:214-37. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb02095.x

Skulachev VP (2002b) Programmed death in yeast as adaptation? *FEBS Lett* 528(1-3):23-6. OI: 10.1016/s0014-5793(02)03319-7

Skulachev VP (2003) Aging and the programmed death phenomena. In: Nyström T, Osiewacz HD (eds), *Topics in Current Genetics*, Vol. 3, *Model Systems in Aging*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, PP. 191-238.

Skulachev VP (2010) The talk at the "From *Homo sapiens* to *Homo sapiens liberatus*" workshop, 2010, May 26, Moscow (Russia).

Skulachev VP (2012) What is "phenoptosis" and how to fight it? *Biochem (Mosc)* 77(7):689-706. DOI: 10.1134/S0006297912070012

Skulachev VP, Longo VD (2005) Aging as a mitochondria-mediated atavistic program: can aging be switched off? *Ann N Y Acad Sci* 1057:145-64. DOI: 10.1196/annals.1356.009

Skulachev MV, Skulachev VP (2014) New data on programmed aging - slow phenoptosis. *Biochem (Mosc)* 79(10):977-93. DOI: 10.1134/S0006297914100010

Slijepcevic P, Hande MP (1999) Chinese hamster telomeres are comparable in size to mouse telomeres. *Cytogenet Cell Genet* 85:196-9. DOI: 10.1159/000015292

Smeal T, Claus J, Kennedy B, Cole F, Guarente L (1996) Loss of transcriptional silencing causes sterility in old mother cells of Saccharomyces cerevisiae. *Cell* 84(4):633-42. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81038-7

Soefje SA, Karnad A, Brenner AJ (2011) Common toxicities of mammalian target of rapamycin inhibitors. *Target Oncol* 6(2):125-9. DOI: 10.1007/s11523-011-0174-9

Soliman S, Ishrat T, Pillai A, Somanath PR, Ergul A, El-Remessy AB, Fagan SC (2014) Candesartan induces a prolonged proangiogenic effect and augments endothelium-mediated neuroprotection after oxygen and glucose deprivation: role of vascular endothelial growth factors A and B. *J Pharmacol Exp Ther* 349(3):444-57. DOI: 10.1124/jpet.113.212613

Solovei I, Gaginskaya ER, Macgregor HC (1994) The arrangement and transcription of telomere DNA sequences at the ends of lampbrush chromosomes of birds. *Chromosome Res* 2(6):460-70. DOI: 10.1007/bf01552869

Son DH, Park WJ, Lee YJ (2019) Recent Advances in Anti-Aging Medicine. *Korean J Fam Med* 40(5):289-96. DOI: 10.4082/kjfm.19.0087

Song Y, Klevak A, Manson JE, Buring JE, Liu S (2010) Asthma, chronic obstructive pulmonary disease, and type 2 diabetes in the Women's Health Study. *Diabetes Res Clin Pract* 90(3):365-71. DOI: 10.1016/j.diabres.2010.09.010

Sonsalla PK, Coleman C, Wong LY, Harris SL, Richardson JR, Gadad BS, Li W, German DC (2013) The angiotensin converting enzyme inhibitor captopril protects nigrostriatal dopamine neurons in animal models of parkinsonism. *Exp Neurol* 250:376-83. DOI: 10.1016/j.expneurol.2013.10.014

Souza-Smith FM, Lang CH, Nagy LE, Bailey SM, Parsons LH, Murray GJ (2016) Physiological processes underlying organ injury in alcohol abuse. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 311(3):E605-19. DOI: 10.1152/ajpendo.00270.2016

Sözen T, Özışık L, Başaran NÇ (2017) An overview and management of osteoporosis. *Eur J Rheumatol* 4(1):46-56. DOI: 10.5152/eurjrheum.2016.048

Sparrow JR (2003) Therapy for macular degeneration: Insights from acne. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(8):4353-4. DOI: 10.1073/pnas.1031478100

Speakman JR, Mitchell SE (2011) Caloric restriction. *Mol Aspects Med* 32(3):159-221. DOI: 10.1016/j.mam.2011.07.001

Spelsberg TC, Subramaniam M, Riggs BL, Khosla S. (1999) The Actions and Interactions of Sex Steroids and Growth Factors/Cytokines on the Skeleton. *Mol Endocrinol* 13(6):819-28. DOI: 10.1210/mend.13.6.0299

Spence JM, Blackman RL, Testa JM, Ready PD (1998) A 169-base pair tandem repeat DNA marker for subtelomeric heterochromatin and chromosomal rearrangements in aphids of the Myzus persicae group. *Chromosome Res* 6(3):167-75. DOI: 10.1023/a:1009251415941

Spencer H (1864) *The Principles of Biology.* Williams and Norgate, London.

Spielman LJ, Little JP, Klegeris A (2014) Inflammation and insulin/IGF-1 resistance as the possible link between obesity and neurodegeneration. *J Neuroimmunol* 273(1-2):8-21. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2014.06.004

Spies CD, Sander M, Stangl K, Fernandez-Sola J, Preedy VR, Rubin E, Andreasson S, Hanna EZ, Kox WJ (2001) Effects of alcohol on the heart. *Curr Opin Crit Care* 7(5):337-43. DOI: 10.1097/00075198-200110000-00004

Spinage CA (1970) Population dynamics of the Uganda Defassa Waterbuck (*Kobus defassa Ugandae* Neumann) in the Queen Elizabeth park, Uganda. *J Anim Ecol* 39(1):51-78. www.jstor.org/stable/2889?seq=1

Spinage CA (1972) African ungulate life tables. *Ecology* 53(4):645-52. DOI: doi.org/10.2307/1934778

Srb AM, Owen RD, Edgar RS (1965) *General Genetics*, 2nd edition. W. H. Freeman & Company, San Francisco.

Sritara C, Thakkinstian A, Ongphiphadhanakul B, Pornsuriyasak P, Warodomwichit D, Akrawichien T, Akrawichien T, Vathesatogkit P, Sritara P (2015) Work- and travel-related physical activity and alcohol consumption: relationship with bone mineral density and calcaneal quantitative ultrasonometry. *J Clin Densitom* 18(1):37-43. DOI: 10.1016/j.jocd.2014.04.117

Stearns SC (ed) (1999) *Evolution in health and disease* (1st ed.). Oxford University Press, Oxford.

Stearns SC, Koella JC (eds) (2008) *Evolution in Health and Disease* (2nd ed.). Oxford University Press, New York.

Stearns SC, Nesse RM, Govindaraju DR, Ellison PT (2010) Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Evolutionary perspectives on health and medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(Suppl 1):1691-5. DOI: 10.1073/pnas.0914475107

Steenman M, Lande G (2017) Cardiac aging and heart disease in humans. *Biophys Rev* 9(2):131-7. DOI: 10.1007/s12551-017-0255-9

Stevenson JB, Gottschling DE (1999) Telomeric chromatin modulates replication timing near chromosome ends. *Genes Dev* 13(2):146-51. DOI: 10.1101/gad.13.2.146

Stewart JA, Chaiken MF, Wang F, Price CM (2012) Maintaining the end: roles of telomere proteins in end-protection, telomere replication and length regulation. *Mutat Res* 730(1-2):12-9. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2011.08.011

Stewart JA, Wang Y, Ackerson SM, Schuck PL (2018) Emerging roles of CST in maintaining genome stability and human disease. *Front Biosci (Landmark Ed)* 23:1564-86. DOI: 10.2741/4661

Stone RC, Horvath K, Kark JD, Susser E, Tishkoff SA, Aviv A (2016) Telomere length and the cancer–atherosclerosis trade-off. *PLoS Genet* 12(7):e1006144. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006144

Stong N, Deng Z, Gupta R, Hu S, Paul S, Weiner AK, Eichler EE, Graves T, Fronick CC, Courtney L, Wilson RK, Lieberman PM, et al. (2014) Subtelomeric CTCF and cohesin binding site organization using improved subtelomere assemblies and a novel annotation pipeline. *Genome Res* 24(6):1039-50. DOI: 10.1101/gr.166983.113

Strachan DP (1989) Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 299(6710):1259-60. DOI: 10.1136/bmj.299.6710.1259

Strachan DP (2000) Family size, infection and atopy: the first decade of the 'hygiene hypothesis'. *Thorax* 55(Supll 1):2-10. DOI: 10.1136/thorax.55.suppl_1.s2

Strobeck C, Maynard Smith J, Charlesworth B (1976) The effects of hitchhiking on a gene for recombination. *Genetics* 82(3):547-58. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1213474/

Sturm E, Stefanova N (2014) Multiple system atrophy: genetic or epigenetic? *Exp Neurobiol* 23(4):277-91. DOI: 10.5607/en.2014.23.4.277

Su JB (2015) Vascular endothelial dysfunction and pharmacological treatment. *World J Cardiol* 7(11):719-41. DOI: 10.4330/wjc.v7.i11.719

Su LH, Chen TH (2007) Association of androgenetic alopecia with smoking and its prevalence among Asian men: a community-based survey. *Arch Dermatol* 143(11):1401-6. DOI: 10.1001/archderm.143.11.1401

Sumukadas D, Struthers AD, McMurdo ME (2006) Sarcopenia--a potential target for Angiotensin-converting enzyme inhibition? *Gerontology* 52(4):237-42. DOI: 10.1159/000093656

Sung IY, Park BC, Hah YS, Cho HY, Yun JW, Park BW, Kang YH, Kim HC, Hwang SC, Rho GJ, Kim UK, et al. (2015) FOXO1 Is Involved in the Effects of Cigarette Smoke Extract on Osteoblastic Differentiation of Cultured Human Periosteum-derived Cells. *Int J Med Sci* 12(11):881-90. DOI: 10.7150/ijms.13172

Surace C, Berardinelli F, Masotti A, Roberti MC, Da Sacco L, D'Elia G, Sirleto P, Digilio MC, Cusmai R, Grotta S, Petrocchi S, Hachem ME, et al. (2014) Telomere shortening and telomere position effect in mild ring 17 syndrome. *Epigenetics Chromatin* 7(1):1. DOI: 10.1186/1756-8935-7-1

Suriawinata A, Fiel MI (2004) Liver pathology in obesity. *Semin Liver Dis* 24(4):363-70. DOI: 10.1055/s-2004-860865

Sutherland GT, Sheahan PJ, Matthews J, Dennis CV, Sheedy DS, McCrossin T, Curtis MA, Kril JJ (2013) The effects of chronic alcoholism on cell proliferation in the human brain. *Exp Neurol* 247:9-18. DOI: 10.1016/j.expneurol.2013.03.020

Sutherland LM, Edwards YS, Murray AW (2001) Alveolar type II cell apoptosis. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 129(1):267-85. DOI: 10.1016/s1095-6433(01)00323-3

Su X, Zhang L, Lv J, Wang J, Hou W, Xie X, Zhang H (2016) Effect of Statins on Kidney Disease Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 67(6):881-92. DOI: 10.1053/j.ajkd.2016.01.016

Sveinsson O, Halldórsson S, Olafsson E (2012) An unusually low prevalence of Huntington's disease in Iceland. *Eur Neurol* 68(1):48-51. DOI:10.1159/000337680

Syka J, Ouda L, Nachtigal P, Solichová D, Semecký V (2007) Atorvastatin slows down the deterioration of inner ear function with age in mice. *Neurosci Lett* 411(2):112-6. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.10.032

Szabo G (1999) Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol* 34(6):830-41. DOI: 10.1093/alcalc/34.6.830

Szabó I (1931) The three types of mortality curves. *Quart Rev Biol* 6(4):462-3. www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/394390?journalCode=qrb

Tadic M, Cuspidi C, Hering D (2016) Hypertension and cognitive dysfunction in elderly: blood pressure management for this global burden. *BMC Cardiovasc Disord* 16(1):208. DOI: 10.1186/s12872-016-0386-0

Takai KK, Hooper S, Blackwood S, Gandhi R, de Lange T (2010) In vivo stoichiometry of shelterin components. *J Biol Chem* 285(2):1457-67. DOI: 10.1074/jbc.M109.038026

Takase S, Matoba T, Nakashiro S, Mukai Y, Inoue S, Oi K, Higo T, Katsuki S, Takemoto M, Suematsu N, Eshima K, Miyata K, et al. (2017) Ezetimibe in Combination With Statins Ameliorates Endothelial Dysfunction in Coronary Arteries After Stenting: The CuVIC Trial (Effect of Cholesterol Absorption Inhibitor Usage on Target Vessel Dysfunction After Coronary Stenting), a Multicenter Randomized Controlled Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 37(2):350-8. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.308388

Takubo K, Aida J, Izumiyama-Shimomura N, Ishikawa N, Sawabe M, Kurabayashi R, Shiraishi H, Arai T, Nakamura K-I (2010) Changes of telomere length with aging. *Geriatr Gerontol Int* 10(Suppl 1):S197–206. DOI: 10.1111/j.1447-0594.2010.00605.x

Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds) (1998) *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 5th ed, Churchill Livingstone, New York.

Tanaka A, Cui R, Kitamura A, Liu K, Imano H, Yamagishi K, Kiyama M, Okada T, Iso H; CIRCS Investigators (2016) Heavy Alcohol Consumption is Associated with Impaired Endothelial Function. *J Atheroscler Thromb* 23(9):1047-54. DOI: 10.5551/jat.31641

Tannreuther GW (1919) Studies on the rotifer *Asplanchna ebbesbornii*, with special reference to the male. *Biol Bull* 37(3):194-208.

Taraseviciene-Stewart L, Voelkel NF (2008) Molecular pathogenesis of emphysema. *J Clin Invest* 118(2):394-402. DOI: 10.1172/JCI31811

Tardat M, Déjardin J (2018) Telomere chromatin establishment and its maintenance during mammalian development. *Chromosoma* 127(1):3-18. DOI: 10.1007/s00412-017-0656-3

Tarwadi KV, Agte VV (2011) Interrelationships between nutritional status, socioeconomic factors, and lifestyle in Indian cataract patients. *Nutrition* 27(1):40-5. DOI: 10.1016/j.nut.2009.11.015

Tassin J, Malaise E, Courtois Y (1979) Human lens cells have an in vitro proliferative capacity inversely proportional to the donor age. *Exp Cell Res* 123(2):388-92. DOI: 10.1016/0014-4827(79)90483-x

Tchkonia T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL (2013) Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 123(3):966-72. DOI: 10.1172/JCI64098

Tedla FM, Brar A, Browne R, Brown C (2011) Hypertension in chronic kidney disease: navigating the evidence. *Int J Hypertens* 2011:132405. DOI: 10.4061/2011/132405

Teixeira MT, Gilson E (2005) Telomere maintenance, function and evolution: the yeast paradigm. *Chromosome Res* 13(5):535-48. DOI: 10.1007/s10577-005-0999-0

Telomerase Database, telomerase.asu.edu/sequences_telomere.html (accessed February 14, 2020)

Thane A (1974) Rotifera. In: Giese AC, Pearse JS (eds) *Reproduction of Marine Invertebrates*, vol. I, Academic Press, New York, pp. 471-84.

The Environmental Illness Resource, www.ei-resource.org/, page static.cdn-seekingalpha.com/uploads/2012/5/12/1122334-13368327296724055-Iggy-Igette_origin.jpg (accessed February 14, 2020)

Thiebaud N, Johnson MC, Butler JL, Bell GA, Ferguson KL, Fadool AR, Fadool JC, Gale AM, Gale DS, Fadool DA (2014) Hyperlipidemic diet causes loss of olfactory sensory neurons, reduces olfactory discrimination, and disrupts odor-reversal learning. *J Neurosci* 34(20):6970-84. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3366-13.2014

Thomsen SF (2015) Epidemiology and natural history of atopic diseases. *Eur Clin Respir J* 2. DOI: 10.3402/ecrj.v2.24642

Thornbury JM, Mistretta CM (1981) Tactile sensitivity as a function of age. *J Gerontol* 36(1):34-9. DOI: 10.1093/geronj/36.1.34

Tomás-Loba A, Flores I, Fernández-Marcos PJ, CayuelaML, Maraver A, Tejera A, Borrás C, Matheu A, Klatt P, Flores JM, Viña J, Serrano M, Blasco MA (2008) Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice. *Cell* 135(4):609-22. DOI: 10.1016/j.cell.2008.09.034

Tomek J, Bub G (2017) Hypertension-induced remodelling: on the interactions of cardiac risk factors. *J Physiol* 595(12):4027-36. DOI: 10.1113/JP273043

Torres GA, Gong Z, Iovene M, Hirsch CD, Buell CR, Bryan GJ, Novák P, Macas J, Jiang J (2011) Organization and Evolution of Subtelomeric Satellite Repeats in the Potato Genome, *G3 (Bethesda)* 1(2):85-92. DOI: 10.1534/g3.111.000125

Trainer PJ, Drake WM, Katznelson L, Freda PU, Herman-Bonert V, van der Lely AJ, Dimaraki EV, Stewart PM, Friend KE, Vance ML, Besser GM, Scarlett JA, et al. (2000) Treatment of acromegaly with the growth hormonereceptor antagonist pegvisomant. *N Engl J Med* 342(16):1171-7. DOI: 10.1056/NEJM200004203421604

Tranah GJ, Blackwell T, Ancoli-Israel S, Paudel ML, Ensrud KE, Cauley JA, Redline S, Hillier TA, Cummings SR, Stone KL (2010) Circadian activity rhythms and mortality: the Study of Osteoporotic Fractures. *J Am Geriatr Soc* 58(2):282-91. DOI:10.1111/j.1532-5415.2009.02674.x

Travis JM (2004) The evolution of programmed death in a spatially structured population. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 59(4):301-5. DOI: 10.1093/gerona/59.4.b301

Tregenza T, Wedell N (2000) Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage: invited review. *Mol Ecol* 9(8):1013-27. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.00964.x

Trepel F (2004) [Dietary fibre: more than a matter of dietetics. II. Preventative and therapeutic uses][Article in German] *Wien Klin Wochenschr* 116(15-16):511-22. DOI: 10.1007/bf03217703

Trepel J, Mollapour M, Giaccone G, Neckers L (2010) Targeting the dynamic HSP90 complex in cancer. *Nat Rev Cancer* 10(8):537-49. DOI: 10.1038/nrc2887

Trevathan WR, McKenna JJ, Smith EO (eds) (1999) *Evolutionary Medicine*. Oxford University Press, New York.

Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ (eds) (2008a) *Evolutionary Medicine and Health: New Perspectives*. Oxford University Press, New York.

Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ. (2008b) Introduction and overview of Evolutionary Medicine. In: Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ, editors. *Evolutionary Medicine and Health: New Perspectives*. Oxford University Press, New York, pp. 1-54.

Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder CE, Bohlooly-Y M, Gidlöf S, Oldfors A, Wibom R, Törnell J, Jacobs HT, Larsson NG (2004) Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 429(6990):417-23. DOI: 10.1038/nature02517

Trivers RL (1971) The evolution of reciprocal altruism. *Quart Rev Biol* 46(1):35-57. DOI: doi.org/10.1086/406755

Trivers RL, Hare H (1976) Haploidiploidy and the evolution of the social insect. *Science* 191(4224):249-63. DOI: 10.1126/science.1108197

Troen B (2003) The biology of aging. *Mt Sinai J Med* 70(1):3-22.

Truswell AS, Kennelly BM, Hansen JDL, Lee RB. (1972) Blood pressure of !Kung bushmen in northern Botswana. *Am Heart J* 84(1):5-12. DOI: doi.org/10.1016/0002-8703(72)90299-2

Tsao SW, Fong DS (2013) Do statins have a role in the prevention of age-related macular degeneration? *Drugs Aging* 30(4):205-13. DOI: 10.1007/s40266-013-0061-4

Tsoukalas D, Fragkiadaki P, Docea AO, Alegakis AK, Sarandi E, Thanasoula M, Spandidos DA, Tsatsakis A, Razgonova MP, Calina D (2019) Discovery of potent telomerase activators: Unfolding new therapeutic and anti-aging perspectives. *Mol Med Rep* 20(4):3701-8. DOI: 10.3892/mmr.2019.10614

Tune JD, Goodwill AG, Sassoon DJ, Mather KJ (2017) Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. *Transl Res* 183:57-70. DOI: 10.1016/j.trsl.2017.01.001

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444(7122):1027-31. DOI: 10.1038/nature05414

Twig G, Afek A, Shamiss A, Derazne E, Tzur D, Gordon B, Tirosh A (2013) White blood cells count and incidence of type 2 diabetes in young men. *Diabetes Care* 36(2):276-82. DOI: 10.2337/dc11-2298

Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, Jones S, Ghebranious N, Igelmann H, Lu X, Soron G, Cooper B, Brayton C, Park SH, Thompson T, et al. (2002) p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 415(6867):45-53. DOI: 10.1038/415045a

Ueha R, Ueha S, Kondo K, Sakamoto T, Kikuta S, Kanaya K, Nishijima H, Matsushima K, Yamasoba T (2016a) Damage to Olfactory Progenitor Cells Is Involved in Cigarette Smoke-Induced Olfactory Dysfunction in Mice. *Am J Pathol* 186(3):579-86. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.11.009

Ueha R, Ueha S, Sakamoto T, Kanaya K, Suzukawa K, Nishijima H, Kikuta S, Kondo K, Matsushima K, Yamasoba T (2016b) Cigarette Smoke Delays Regeneration of the Olfactory Epithelium in Mice. *Neurotox Res* 30(2):213-24. DOI: 10.1007/s12640-016-9617-5

UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group (1998) Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 352(9131):854-65.

Ullrich NJ, Gordon LB (2015) Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Handb Clin Neurol* 132:249-64. DOI: 10.1016/B978-0-444-62702-5.00018-4

Undela K, Gudala K, Malla S, Bansal D (2013) Statin use and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis of observational studies. *J Neurol* 260(1):158-65. DOI: 10.1007/s00415-012-6606-3

Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, Leri A, Kajstura J, Quaini E, Anversa P (2003) Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(18):10440-5. DOI: 10.1073/pnas.1832855100

Urbanek K, Torella D, Sheikh F, De Angelis A, Nurzynska D, Silvestri F, Beltrami CA, Bussani R, Beltrami AP, Quaini F, Bolli R, Leri A, et al. (2005) Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(24):8692-7. DOI: 10.1073/pnas.0500169102

Vaiserman AM, Koliada AK, Marotta F (2017) Gut microbiota: a player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing Res Rev* 35:36-45. DOI: 10.1016/j.arr.2017.01.001

Vaiserman AM, Lushchak OV, Koliada AK (2016) Anti-aging pharmacology: Promises and pitfalls. *Ageing Res Rev* 31:9-35. DOI: 10.1016/j.arr.2016.08.004

Valenta R, Hochwallner H, Linhart B, Pahr S (2015) Food allergies: the basics. *Gastroenterology* 148(6):1120-31.e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.02.006

Vamvakas S, Teschner M, Bahner U, Heidland A (1998) Alcohol abuse: potential role in electrolyte disturbances and kidney diseases. *Clin Nephrol* 49(4):205-13.

Vandervoort AA, McComas AJ (1986) Contractile changes in opposing muscles of the human ankle joint with aging. *J Appl Physiol* 61(1):361-7. DOI: 10.1152/jappl.1986.61.1.361

van Deursen JM (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature* 509(7501):439-46. DOI: 10.1038/nature13193

van Steensel B, de Lange T (1997) Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature* 385(6618):740-3. DOI: 10.1038/385740a0

van Uffelen JGZ, Khan A, Burton NW (2017) Gender differences in physical activity motivators and context preferences: a population-based study in people in their sixties. *BMC Public Health* 17(1):624. DOI: 10.1186/s12889-017-4540-0

van Valen L (1973) A new evolutionary law. *Evol Theory* 1(1):1-30.

Varma TR (1979) Ultrasound evidence of early pregnancy failure in patients with multiple conceptions. *Br J Obstet Gynaecol* 86(4):290-2. DOI: 10.1111/j.1471-0528.1979.tb11258.x

Vaupel JW, Baudisch A, Dölling M, Roach DA, Gampe J. (2004) The case for negative senescence. *Theor Popul Biol* 65(4):339-51. DOI: 10.1016/j.tpb.2003.12.003

Varki A (2012) Nothing in medicine makes sense, except in the light of evolution. *J Mol Med (Berl)* 90(5):481-94. DOI: 10.1007/s00109-012-0900-5

Vaziri H (1998) Extension of life span in normal human cells by telomerase activation: a revolution in cultural senescence. *J Anti-Aging Med* 1:125-30. DOI: doi.org/10.1089/rej.1.1998.1.125

Vaziri H, Benchimol S (1998) Reconstitution of telomerase activity in normal cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Curr Biol* 8(5):279-82. DOI: 10.1016/s0960-9822(98)70109-5

Vekrellis K, Ye Z, Qiu WQ, Walsh D, Hartley D, Chesneau V, Rosner MR, Selkoe DJ (2000) Neurons regulate extracellular levels of amyloid beta-protein via proteolysis by insulin-degrading enzyme. *J Neurosci* 20(5):1657-65.

Velasquez-Manoff M (2012) *An epidemic of absence: a new way of understanding allergies and autoimmune diseases*. Simon and Schuster, New York.

Veldurthy V, Wei R, Oz L, Dhawan P, Jeon YH, Christakos S (2016) Vitamin D, calcium homeostasis and aging. *Bone Res* 4:16041. DOI: 10.1038/boneres.2016.41

Vennos EM, Collins M, James WD (1992) Rothmund-Thomson syndrome: review of the world literature. *J Am Acad Dermatol* 27(5 Pt 1):750-62. DOI: 10.1016/0190-9622(92)70249-f

Venteicher AS, Meng Z, Mason PJ, Veenstra TD, Artandi SE (2008) Identification of ATPases pontin and reptin as telomerase components essential for holoenzyme assembly. *Cell* 132(6):945-57. DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.019

Vent J, Bartels S, Haynatzki G, Gentry-Nielsen MJ, Leopold DA, Hallworth R (2003) The impact of ethanol and tobacco smoke on intranasal epithelium in the rat. *Am J Rhinol* 17(4):241-7.

Verbeken EK, Cauberghs M, Mertens I, Clement J, Lauweryns JM, Van de Woestijne KP (1992) The senile lung. Comparison with normal and emphysematous lungs. 1. Structural aspects. *Chest* 101(3):793-9. DOI: 10.1378/chest.101.3.793

Verma RK, Panda NK, Basu D, Raghunathan M (2006) Audiovestibular dysfunction in alcohol dependence. Are we worried? *Am J Otolaryngol* 27(4):225-8. DOI: 10.1016/j.amjoto.2005.09.005

Vicente Miranda H, El-Agnaf OM, Outeiro TF (2016) Glycation in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Mov Disord* 31(6):782-90. DOI: 10.1002/mds.26566

Victorelli S, Passos JF (2017) Telomeres and Cell Senescence - Size Matters Not. *EBioMedicine* 21:14-20. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.03.027

Vieira SM, Pagovich OE, Kriegel MA (2014) Diet, microbiota and autoimmune diseases. *Lupus* 23(6):518-26. DOI: 10.1177/0961203313501401

Viegi G, Maio S, Pistelli F, Baldacci S, Carrozzi L (2006) Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease: health effects of air pollution. *Respirology* 11(5):523-32. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2006.00886.x

Vij N, Chandramani-Shivalingappa P, van Westphal C, Hole R, Bodas M (2018) Cigarette smoke induced autophagy-impairment accelerates lung aging, COPD-emphysema exacerbations and pathogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 314(1)C73-87. DOI: doi.org/10.1152/ajpcell.00110.2016

Villalta J, Ballescà JL, Nicolás JM, Martínez de Osaba MJ, Antúnez E, Pimentel C (1997) Testicular function in asymptomatic chronic alcoholics: relation to ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res* 21(1):128-33.

Villeponteau B (1997) The heterochromatin loss model of aging. *Exp Gerontol* 32(4-5):383-94. DOI: 10.1016/s0531-5565(96)00155-6

Vitale C, Marcelli V, Allocca R, Santangelo G, Riccardi P, Erro R, Amboni M, Pellecchia MT, Cozzolino A, Longo K, Picillo M, Moccia M, et al. (2012) Hearing impairment in Parkinson's disease: expanding the nonmotor phenotype. *Mov Disord* 27(12):1530-5. DOI: 10.1002/mds.25149

Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Bratsas A, Ioakeimidis N, Dima I, Xaplanteris P, Stefanadis C, Tousoulis D (2015) Arterial stiffening and systemic endothelial activation induced by smoking: The role of COX-1 and COX-2. *Int J Cardiol* 189:293-8. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.04.029

Vogel T, Benetos A, Verreault R, Kaltenbach G, Kiesmann M and Berthel M (2006). [Risk factors for Alzheimer: towards prevention?] [Article in French]. *Presse Med* 35(9 Pt 2):1309-16. DOI: 10.1016/s0755-4982(06)74810-2

Vogt C, Vogt O (1946) Age changes in neurones. *Nature (Lond)* 158:304.

Voje KL, Holen ØH, Liow LH, Stenseth NC (2015) The role of biotic forces in driving macroevolution: beyond the Red Queen. *Proc Biol Sci* 282(1808):20150186. DOI: 10.1098/rspb.2015.0186

Volff J-N, Altenbuchner J (2000) A new beginning with new ends: linearisation of circular chromosomes during bacterial evolution. *FEMS Microbiology Letters* 186(2):143-150. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09095.x

von Zglinicki T, Serra V, Lorenz M, Saretzki G, Lenzen-Grossimlighaus R, Gessner R, Risch A, Steinhagen-Thiessen E (2000) Short telomeres in patients with vascular dementia: an indicator of low antioxidative capacity and a possible risk factor? *Lab Invest* 80(11):1739-47. DOI: 10.1038/labinvest.3780184

Vulliamy T, Marrone A, Goldman F, Dearlove A, Bessler M, Mason PJ, Dokal I (2001) The RNA component of telomerase is mutated in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Nature* 413(6854):432-5. DOI: 10.1038/35096585

Vrbsky J, Akimcheva S, Watson JM, Turner TL, Daxinger L, Vyskot B, Aufsatz W, Riha K (2010) siRNA-mediated methylation of Arabidopsis telomeres. *PLoS Genet* 6(6):e1000986. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000986

Wakabayashi H, Nishiyama Y, Ushiyama T, Maeba T, Maeta H (2002) Evaluation of the effect of age on functioning hepatocyte mass and liver blood flow using liver scintigraphy in preoperative estimations for surgical patients: comparison with CT volumetry. *J Surg Res* 106(2):246-53. DOI: 10.1006/jsre.2002.6462

Walford RL, Harris SB, Gunion MW (1992) The calorically restricted low-fat nutrient-dense diet in Biosphere 2 significantly lowers blood glucose, total leukocyte count, cholesterol, and blood pressure in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(23):11533-7. DOI: 10.1073/pnas.89.23.11533

Walker FO (2007) Huntington's disease. Lancet 369(9557):218-28. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60111-1

Wallace AR (1865-1870) The action of natural selection in producing old age, decay and death [A note by Wallace written "some time between 1865 and 1870"]. In: Weismann A (1889; 1st ed. 1889, 2nd ed. 1891). English translation: Poulton EB, Schonland S, Shipley AE (eds), *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems.* Vol. I. Clarendon Press, Oxford (UK), 1889.

Walsh JS, Vilaca T (2017) Obesity, Type 2 Diabetes and Bone in Adults. *Calcif Tissue Int* 100(5):528-35. DOI: 10.1007/s00223-016-0229-0

Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, Nishimura H, Losordo DW, Asahara T, Isner JM (2002) Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation* 105(25):3017-24. DOI: 10.1161/01.cir.0000018166.84319.55

Walter D, Wissing S, Madeo F, Fahrenkrog B (2006) The inhibitor-of-apoptosis protein Bir1p protects against apoptosis in *S. cerevisiae* and is a substrate for the yeast homologue of Omi/HtrA2. *J Cell Sci* 119(Pt 9):1843-51. DOI: 10.1242/jcs.02902

Wanamaker BL, Swiger KJ, Blumenthal RS, Martin SS (2015) Cholesterol, statins, and dementia: what the cardiologist should know. *Clin Cardiol* 38(4):243-50. DOI: 10.1002/clc.22361

Wang E (1995) Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl2 is involved. *Cancer Res* 55(11):2284-92.

Wang H, Zhang K, Liu Y, Fu Y, Gao S, Gong P, Wang H, Zhou Z, Zeng M, Wu Z, Sun Y, Chen T, Li S, Liu L (2017) Telomere heterogeneity linked to metabolism and pluripotency state revealed by simultaneous analysis of telomere length and RNA-seq in the same human embryonic stem cell. *BMC Biol* 15(1):114. DOI: 10.1186/s12915-017-0453-8

Wang TL, Zhou C, Shen YW, Wang XY, Ding XL, Tian S, Liu Y, Peng GH, Xue SQ, Zhou JE, Wang RL, Meng XM, et al. (2010) Prevalence of androgenetic alopecia in China: a community-based study in six cities. *Br J Dermatol* 162(4):843-7. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.09640.x

Wang Y, Li Y, Shen Q, Li X, Lu J, Li X, Yin D, Peng Y (2014) Valsartan blocked alcohol-induced, Toll-like receptor 2 signaling-mediated inflammation in human vascular endothelial cells. *Alcohol Clin Exp Res* 38(10):2529-40. DOI: 10.1111/acer.12532

Wannamethee SG, Atkins JL (2015) Muscle loss and obesity: the health implications of sarcopenia and sarcopenic obesity. *Proc Nutr Soc* 74(4):405-12. DOI: 10.1017/S002966511500169X

Warthin AS (1929) *Old Age, the Major Involution; the Physiology and Pathology of the Ageing Process*. Hoeber, New York.

Watanabe T, Tanaka Y (1982) Age-related alterations in the size of human epatocytes: study of mononuclear and binucleate cells. *Virchow Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 39(1):9-20. DOI: 10.1007/bf02892832

Watson JD (1972) Origin of concatemeric T7 DNA. *Nature New Biol* 239(94):197-201. DOI: 10.1038/newbio239197a0

Watt FM, Lo Celso C, Silva-Vargas V (2006) Epidermal stem cells: an update. *Curr Opin Genet Dev* 16(5):518-24. DOI: 10.1016/j.gde.2006.08.006

Webster C, Blau HM (1990) Accelerated age-related decline in replicative life-span of Duchenne muscular dystrophy myoblasts: implications for cell and gene therapy. *Somat Cell Mol Genet* 16(6):557-65. DOI: 10.1007/bf01233096

Webster SGP, Leeming JT (1975) The appearance of the small bowel mucosa in old age. *Age Ageing* 4(3):168-74. DOI: 10.1093/ageing/4.3.168

Webster SGP (1978) The gastrointestinal system – c. The pancreas and the small bowel. In: Brocklehurst JC (ed) *Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 2nd ed., Churchill Livingstone, New York, pp. 358-68.

Wedekind C, Füri S (1997) Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? *Proc Biol Sci* 264(1387):1471-9. DOI: 10.1098/rspb.1997.0204

Wedekind C, Seebeck T, Bettens F, Paepke AJ (1995) MHC-dependent mate preferences in humans. *Proc Biol Sci* 260(1359):245-9. DOI: 10.1098/rspb.1995.0087

Weinert BT, Timiras PS (2003) Invited review: theories of aging. *J Appl Physiol* 95(4):1706-16. DOI: 10.1152/japplphysiol.00288.2003

Weinstein JR, Anderson S (2010) The Aging Kidney: Physiological Changes. *Adv Chronic Kidney Dis* 17(4):302-7. DOI: 10.1053/j.ackd.2010.05.002

Weinstock JV, Summers R, Elliott DE (2004) Helminths and harmony. *Gut* 53(1):7-9. DOI: 10.1136/gut.53.1.7

Weir MR (2007) Microalbuminuria and Cardiovascular Disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2(3):581-90. DOI: https://doi.org/10.2215/CJN.03190906

Weismann A (1882) *Über die Dauer des Lebens*. Jena.

Weismann A (1889; 1st ed. 1889, 2nd ed. 1891). English translation: Poulton EB, Schonland S, Shipley AE (eds), *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems.* Vol. I. Clarendon Press, Oxford (UK), 1889.

Weismann A (1892). *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems*. Vol. II. Clarendon Press, Oxford.
Weiss H, Scherthan H (2002) Aloe spp.--plants with vertebrate-like telomeric sequences. *Chromosome Res* 10(2):155-64. DOI: 10.1023/a:1014905319557
Weiss-Schneeweiss H, Riha K, Jang CG, Puizina J, Scherthan H, Schweizer D (2004) Chromosome termini of the monocot plant Othocallis siberica are maintained by telomerase, which specifically synthesises vertebrate-type telomere sequences. *Plant J* 37(4):484-93. DOI: 10.1046/j.1365-313x.2003.01974.x
Wells HG (1904) *The Country of the Blind*. The Strand Magazine.
Welsh DK, Takahashi JS, Kay SA (2010) Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. *Annu Rev Physiol* 72:551-77. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021909-135919
Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Böhm M, Nickenig G (2005) Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med* 353(10):999-1007. DOI: 10.1056/NEJMoa043814
Weyh C, Krüger K, Strasser B (2020) Physical Activity and Diet Shape the Immune System during Aging. *Nutrients* 12(3):622. DOI: 10.3390/nu12030622
Whary MT, Sundina N, Bravo LE, Correa P, Quinones F, Caro F, Fox JG (2005) Intestinal helminthiasis in Colombian children promotes a Th2 response to Helicobacter pylori: possible implications for gastric carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14(6):1464-9. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0095
Whelton PK, Klag MJ (1989) Hypertension as a risk factor for renal disease. Review of clinical and epidemiological evidence. *Hypertension* 13(5 Suppl):I19-27. DOI: 10.1161/01.hyp.13.5_suppl.i19
Whittemore K, Derevyanko A, Martinez P, Serrano R, Pumarola M, Bosch F, Blasco MA (2019) Telomerase gene therapy ameliorates the effects of neurodegeneration associated to short telomeres in mice. *Aging (Albany NY)* 11(10):2916-48. DOI: 10.18632/aging.101982
Whittemore K, Vera E, Martínez-Nevado E, Sanpera C, Blasco MA (2019) Telomere shortening rate predicts species life span. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(30):15122-7. DOI: 10.1073/pnas.1902452116
WHO, ICD-10 (2016), www.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/ (accessed February 14, 2020)
WHO, ICD-11 (2018), icd.who.int/browse11/l-m/en (accessed February 14, 2020)
Wickman C, Kramer H (2013) Obesity and kidney disease: potential mechanisms. *Semin Nephrol* 33(1):14-22. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2012.12.006
Wigglesworth VB (1972) *The Principles of Insect Physiology*, 7th ed. Chapman and Hall, London.
Wikipedia (2018) List of world records in masters athletics, en.wikipedia.org/wiki/List_of_world_records_in_masters_athletics (accessed February 14, 2020).
Williams GC (1957) Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. *Evolution* 11:398-411. DOI: 10.2307/2406060
Williams GC (1975) *Sex and evolution.* Princeton University Press, Princeton.
Williams GC, Nesse RM (1991) The dawn of Darwinian medicine. *Quart Rev Biol* 66(1):1-22. DOI: 10.1086/417048
Williams RW, Herrup K (1988) The control of neuron number. *Annu Rev Neurosc* 11(1):423-53. DOI: 10.1146/annurev.ne.11.030188.002231
Wilson EO (1975) *Sociobiology, The New Synthesis*. Harvard University Press, Cambridge.
Wilson PW, Castelli WP, Kannel WB (1987) Coronary risk prediction in adults (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 59(14):91-4G. DOI: 10.1016/0002-9149(87)90165-2 [Erratum, *Am J Cardiol*, 1987, 60(13):A11.]
Wireman JW, Dworkin M (1977) Developmentally induced autolysis during fruiting body formation by Myxococcus xanthus. *J Bacteriol* 129(2):798–802.
Wise SJ, Nathoo NA, Etminan M, Mikelberg FS, Mancini GB (2014) Statin use and risk for cataract: a nested case-control study of 2 populations in Canada and the United States. *Can J Cardiol* 30(12):1613-9. DOI: 10.1016/j.cjca.2014.08.020
Wissing S, Ludovico P, Herker E, Büttner S, Engelhardt SM, Decker T, Link A, Proksch A, Rodrigues F, Corte-Real M, Fröhlich KU, Manns J, et al. (2004) An AIF orthologue regulates apoptosis in yeast. *J Cell Biol* 1667):969-74. DOI: 10.1083/jcb.200404138
Witte AV, Kerti L, Margulies DS, Floel A (2004) Effects of resveratrol on memory performance, hippocampal functional connectivity, and glucose metabolism in healthy older adults. *J Neurosci* 34(23):7862-70. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0385-14.2014
Wong AC, Ryan AF (2015) Mechanisms of sensorineural cell damage, death and survival in the cochlea. *Front Aging Neurosci* 7:58. DOI: 10.3389/fnagi.2015.00058

Wong TY, Foster PJ, Hee J, Ng TP, Tielsch JM, Chew SJ, Johnson GJ, Seah SK (2000) Prevalence and risk factors for refractive errors in an adult Chinese population in Singapore. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41(9):2486-94.

Woodell A, Rohrer B (2014) A mechanistic review of cigarette smoke and age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol* 801:301-7. DOI: 10.1007/978-1-4614-3209-8_38

Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, Sinclair D (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* 430(7000):686-9. DOI: 10.1038/nature02789

WorldLifeExpectancy (2017) Causes of death in the world (Data from WHO), www.worldlifeexpectancy.com/world-health-rankings (accessed February 14, 2020.

World Ranking Total Deaths (2017) (Data from WHO), www.worldlifeexpectancy.com/world-rankings-total-deaths (accessed February 14, 2020).

Wright JR Jr, Yates AJ, Sharma HM, Shim C, Tigner RL, Thibert P (1982) Testicular atrophy in the spontaneously diabetic BB Wistar rat. *Am J Pathol* 108(1):72-9.

Wright WE, Hayflick L (1975) Nuclear control of cellular ageing demonstrated by hybridization of anucleate and whole cultured normal human fibroblasts. *Exp Cell Res* 96(1):113-21. DOI: 10.1016/s0014-4827(75)80043-7

Wright WE, Shay JW (2005) Telomere biology in aging and cancer. *J Am Geriatr Soc* 53(9 Suppl):S292-4. DOI: 10.1111/j.1532-5415.2005.53492.x

Wright WE, Tesmer VM, Liao ML, Shay JW (1999) Normal human telomeres are not late replicating. *Exp Cell Res* 251(2):492-9. DOI: 10.1006/excr.1999.4602

Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F (2006) Oxidative stress modulates Sir2alpha in rat hippocampus and cerebral cortex. *Eur J Neurosci* 23(10):2573-80. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2006.04807.x

Wu JW, Boudreau DM, Park Y, Simonds NI, Freedman AN (2014) Commonly used diabetes and cardiovascular medications and cancer recurrence and cancer-specific mortality: a review of the literature. *Expert Opin Drug Saf* 13(8):1071-99. DOI: 10.1517/14740338.2014.926887

Wu P, Wu X, Jiang T-X, Elsey RM, Temple BL, Divers SJ, Glenn TC, Yuan K, Chen MH, Widelitz RB, Chuon CM (2013) Specialized stem cell niche enables repetitive renewal of alligator teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(22):E2009-18. DOI: 10.1073/pnas.1213202110

Wu S, Grimm R, German JB, Lebrilla CB (2011) Annotation and structural analysis of sialylated human milk oligosaccharides. *J Proteome Res* 10(2):856-68. DOI: 10.1021/pr101006u

Wu S, Tao N, German JB, Grimm R, Lebrilla CB (2010). Development of an annotated library of neutral human milk oligosaccharides. *J Proteome Res* 9(8):4138-51. DOI: 10.1021/pr100362f

Wu X, Amos CI, Zhu Y, Zhao H, Grossman BH, Shay JW, Luo S, Hong WK, Spitz MR (2003) Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor. *J Natl Cancer Inst* 95(16):1211-8. DOI: 10.1093/jnci/djg011

Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR (1980) Cell Death: The Significance of Apoptosis. *Int Rev Cytol* 68:251-306. DOI: 10.1016/s0074-7696(08)62312-8

Wynne HA, Cope LH, Mutch E, Rawlins MD, Woodhouse KW, James OF (1989) The Effect of Age upon Liver Volume and Apparent Liver Blood Flow in Healthy Man. *Hepatology* 9(2):297-301. DOI: 10.1002/hep.1840090222

Xian-Yu JB, Feng JF, Chen YC, Yang YW (2015) Effects of simvastatin and atorvastatin on biochemical and hematological markers in patients with risk of cardiovascular diseases. *Int J Clin Exp Med* 8(8):13983-9.

Xia S, Kang J, Jiang Y, Huang D, Wang S, Pang B (2015) Simvastatin promotes alveolar epithelial cell proliferation and attenuates cigarette smoke-induced emphysema in rats. *Mol Med Rep* 12(4):5903-10. DOI: 10.3892/mmr.2015.4172

Xia SJ, Xu CX, Tang XD, Wang WZ, Du DL (2001) Apoptosis and hormonal milieu in ductal system of normal prostate and benign prostatic hyperplasia. *Asian J Androl* 3(2):131-4.

Xing Y, Yang S-D, Wang M-M, Feng Y-S, Dong F, Zhang F (2020) The Beneficial Role of Exercise Training for Myocardial Infarction Treatment in Elderly. *Front Physiol* 2020:11. DOI: 10.3389/fphys.2020.00270

Xu M, Bradley EW, Weivoda MM, Hwang SM, Pirtskhalava T, Decklever T, Curran GL, Ogrodnik M, Jurk D, Johnson KO, Lowe V, Tchkonia T, et al, (2017) Transplanted Senescent Cells Induce an

Osteoarthritis-Like Condition in Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 72(6):780-5. DOI: 10.1093/gerona/glw154

Xu M, Palmer AK, Ding H, Weivoda MM, Pirtskhalava T, White TA, Sepe A, Johnson KO, Stout MB, Giorgadze N, Jensen MD, Lebrasseur NK, et al. (2015a) Targeting senescent cells enhances adipogenesis and metabolic function in old age. *Elife* 2015:e12997. DOI: 10.7554/eLife.12997

Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, Weigand BM, Palmer AK, Weivoda MM, Inman CL, Ogrodnik MB, Hachfeld CM, Fraser DG, Onken JL, Johnson KO, et al. (2018) Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med* 24(8):1246-56. DOI: 10.1038/s41591-018-0092-9

Xu M, Tchkonia T, Ding H, Ogrodnik M, Lubbers ER, Pirtskhalava T, White TA, Johnson KO, Stout MB, Mezera V, Giorgadze N, Jensen MD, et al. (2015b). JAK inhibition alleviates the cellular senescence-associated secretory phenotype and frailty in old age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(46):E6301-10. DOI: 10.1073/pnas.1515386112

Yacoub R, Habib H, Lahdo A, Al Ali R, Varjabedian L, Atalla G, Kassis Akl N, Aldakheel S, Alahdab S, Albitar S (2010) Association between smoking and chronic kidney disease: a case control study. *BMC Public Health* 10:731. DOI: 10.1186/1471-2458-10-731

Yamamoto S, Humle T, Tanaka M (2013) Basis for cumulative cultural evolution in chimpanzees: social learning of a more efficient tool-use technique. *PloS one* 8(1):e55768. DOI: 10.1371/journal.pone.0055768

Yamauchi M, Takeda K, Sakamoto K, Searashi Y, Uetake S, Kenichi And H, Toda G (2001) Association of polymorphism in the alcohol dehydrogenase 2 gene with alcohol-induced testicular atrophy. *Alcohol Clin Exp Res* 25(6 Suppl):16S-8S. DOI: 10.1097/00000374-200106001-00005

Yan C, Avadhani NG, Iqbal J (2011) The effects of smoke carcinogens on bone. *Curr Osteoporos Rep* 9(4):202-9. DOI: 10.1007/s11914-011-0068-x

Yan D, Zhu Y, Walsh T, Xie D, Yuan H, Sirmaci A, Fujikawa T, Wong AC, Loh TL, Du L, Grati M, Vlajkovic SM, et al. (2013) Mutation of the ATP-gated P2X2 receptor leads to progressive hearing loss and increased susceptibility to noise. Proc Natl Acad Sci USA 110(6):2228-33. DOI: 10.1073/pnas.1222285110

Yang DL, Zhang HG, Xu YL, Gao YH, Yang XJ, Hao XQ, Li XH (2010) Resveratrol inhibits right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 37(2):150-5. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05231.x

Yang F, Chu X, Yin M, Liu X, Yuan H, Niu Y, Fu L (2014) mTOR and autophagy in normal brain aging and caloric restriction ameliorating age-related cognition deficits. *Behav Brain Res* 264:82-90. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.02.005

Yang JN (2013) Viscous populations evolve altruistic programmed ageing in ability conflict in a changing environment. *Evol Ecol Res* 15:527-43.

Yao SC, Hart AD, Terzella MJ (2013) An evidence-based osteopathic approach to Parkinson disease. *Osteopathic Family Physician* 5(3):96-101. DOI: doi.org/10.1016/j.osfp.2013.01.003

Yasar S, Schuchman M, Peters J, Anstey KJ, Carlson MC, Peters R (2016) Relationship Between Antihypertensive Medications and Cognitive Impairment: Part I. Review of Human Studies and Clinical Trials. *Curr Hypertens Rep* 18(8):67. DOI: 10.1007/s11906-016-0674-1

Yasar S, Xia J, Yao W, Furberg CD, Xue QL, Mercado CI, Fitzpatrick AL, Fried LP, Kawas CH, Sink KM, Williamson JD, DeKosky ST, Carlson MC - Ginkgo Evaluation of Memory (GEM) Study Investigators (2013) Antihypertensive drugs decrease risk of Alzheimer disease: Ginkgo Evaluation of Memory Study. *Neurology* 81(10):896-903. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182a35228

Yayama K, Miyagi R, Sugiyama K, Sugaya T, Fukamizu A, Okamoto H (2008) Angiotensin II regulates liver regeneration via type 1 receptor following partial hepatectomy in mice. *Biol Pharm Bull* 31(7):1356-61. DOI: 10.1248/bpb.31.1356

Yayama K, Sugiyama K, Miyagi R, Okamoto H (2007) Angiotensin-converting enzyme inhibitor enhances liver regeneration following partial hepatectomy: involvement of bradykinin B2 and angiotensin AT1 receptors. *Biol Pharm Bull* 30(3):591-4. DOI: 10.1248/bpb.30.591

Yi SM, Son SW, Lee KG, Kim SH, Lee SK, Cho ER, Kim IH, Shin C (2012) Gender-specific association of androgenetic alopecia with metabolic syndrome in a middle-aged Korean population. *Br J Dermatol* 167(2):306-13. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2012.10978.x

Yosef R, Pilpel N, Tokarsky-Amiel R, Biran A, Ovadya Y, Cohen S, Vadai E, Dassa L, Shahar E, Condiotti R, Ben-Porath I, Krizhanovsky V (2016) Directed elimination of senescent cells by inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nat Commun* 7:11190. DOI: 10.1038/ncomms11190

Young AJ (2018) The role of telomeres in the mechanisms and evolution of life-history trade-offs and ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 373(1741). pii: 20160452. DOI: 10.1098/rstb.2016.0452

Young A, Stokes M, Crowe M (1984) Size and strength of the quadriceps muscles of old and young women. *Eur J Clin Invest* 14(4):282-7. DOI: 10.1111/j.1365-2362.1984.tb01182.x

Young A, Stokes M, Crowe M (1985) The size and strength of the quadriceps muscles of old and young men. *Clin. Physiol* 5(2):145-54. DOI: 10.1111/j.1475-097x.1985.tb00590.x

Yu CE, Oshima J, Fu YH, Wijsman EM, Hisama F, Alisch R, Matthews S, Nakura J, Miki T, Ouais S, Martin GM, Mulligan J, Schellenberg GD (1996) Positional Cloning of the Werner's Syndrome Gene. *Science* 272(5259):258-62. DOI: 10.1126/science.272.5259.258

Yu GL, Bradley JD, Attardi LD, Blackburn EH (1990) *In vivo* alteration of telomere sequences and senescence caused by mutated *Tetrahymena* telomerase RNAs. *Nature* 344(6262):126-32. DOI: 10.1038/344126a0

Yun JH, Morrow J, Owen CA, Qiu W, Glass K, Lao T, Jiang Z, Perrella MA, Silverman EK, Zhou X, Hersh CP (2017) Transcriptomic Analysis of Lung Tissue from Cigarette Smoke Induced Emphysema Murine Models and Human COPD Show Shared and Distinct Pathways. *Am J Respir Cell Mol Biol* 57(1):47-58. DOI: 10.1165/rcmb.2016-0328OC

Yu S, Chu Y, Li G, Ren L, Zhang Q, Wu L (2017) Statin Use and the Risk of Cataracts: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc* 6(3). pii:e004180. DOI: 10.1161/JAHA.116.004180

Zaccone P, Fehervari Z, Phillips JM, Dunne DW, Cooke A (2006) Parasitic worms and inflammatory diseases. *Parasite Immunol* 28(10):515-23. DOI: 10.1111/j.1365-3024.2006.00879.x

Zhang H, Pan KH, Cohen SN (2003) Senescence-specific gene expression fingerprints reveal cell-type-dependent physical clustering of up-regulated chromosomal loci. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(6):3251-6. DOI: 10.1073/pnas.2627983100

Zhang J, Chen C, Hua S, Liao H, Wang M, Xiong Y, Cao F (2017) An updated meta-analysis of cohort studies: Diabetes and risk of Alzheimer's disease. *Diabetes Res Clin Pract* 124:41-47. DOI: 10.1016/j.diabres.2016.10.024

Zhang P, Tian B (2014) Metabolic syndrome: an important risk factor for Parkinson's disease. *Oxid Med Cell Longev* 2014:729194. DOI: 10.1155/2014/729194

Zhang QY, Tie LJ, Wu SS, Lv PL, Huang HW, Wang WQ, Wang H, Ma L (2016) Overweight, Obesity, and Risk of Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 57(3):1276-83. DOI: 10.1167/iovs.15-18637

Zhang Y, Bradley AD, Wang D, Reinhardt RA (2014) Statins, bone metabolism and treatment of bone catabolic diseases. *Pharmacol Res* 88:53-61. DOI: 10.1016/j.phrs.2013.12.009

Zhan W, Cruickshanks KJ, Klein BE, Klein R, Huang GH, Pankow JS, Gangnon RE, Tweed TS. (2010) Generational differences in the prevalence of hearing impairment in older adults. *Am J Epidemiol* 171(2):260-6. DOI: 10.1093/aje/kwp370

Zhou Y, Yuan Y, Cai RR, Huang Y, Xia WQ, Yang Y, Wang P, Wei Q, Wang SH (2013) Statin therapy on glycaemic control in type 2 diabetes: a meta-analysis. *Expert Opin Pharmacother* 14(12):1575-84. DOI: 10.1517/14656566.2013.810210

Zhu Y, Armstrong JL, Tchkonia T, Kirkland JL (2014) Cellular senescence and the senescent secretory phenotype in age-related chronic diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 17(4):324-8. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000065

Zhu Y, Tchkonia T, Fuhrmann-Stroissnigg H, Dai HM, Ling YY, Stout MB, Pirtskhalava T, Giorgadze N, Johnson KO, Giles CB, Wren JD, Niedernhofer LJ, et al. (2016) Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. Aging Cell 15(3):428-35. DOI: 10.1111/acel.12445

Zhu Y, Tchkonia T, Pirtskhalava T, Gower AC, Ding H, Giorgadze N, Palmer AK, Ikeno Y, Hubbard GB, Lenburg M, O'Hara SP, LaRusso NF, et al. (2015) The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 14(4):644-58. DOI: 10.1111/acel.12344

Zeng H, Vaka VR, He X, Booz GW, Chen JX (2015) High-fat diet induces cardiac remodelling and dysfunction: assessment of the role played by SIRT3 loss. *J Cell Mol Med* 19(8):1847-56. DOI: 10.1111/jcmm.12556

Zeng L, Alongkronrusmee D, van Rijn RM (2017) An integrated perspective on diabetic, alcoholic, and drug-induced neuropathy, etiology, and treatment in the US. *J Pain Res* 10:219-28. DOI: 10.2147/JPR.S125987.

Zillikens MC, van Meurs JB, Rivadeneira F, Hofman A, Oostra BA, Sijbrands EJ, Witteman JC, Pols HA, van Duijn CM, Uitterlinden AG (2010) Interactions between dietary vitamin E intake and SIRT1 genetic variation influence body mass index. *Am J Clin Nutr* 91(5):1387-93. DOI: 10.3945/ajcn.2009.28627

Zouboulis CC, Makrantonaki E (2012) Hormonal therapy of intrinsic aging. *Rejuvenation Res* 15(3):302-12. DOI: 10.1089/rej.2011.1249