



Giacinto Libertini

Come e perché invecchiamo: la via per una longevità illimitata

Con la collaborazione e la presentazione
di Nicola Ferrara

EAI
edizioni accademiche italiane

**Come e perché invecchiamo:
la via per una longevità illimitata**

Giacinto Libertini

con la collaborazione
e la presentazione di

Nicola Ferrara

EDIZIONI ACCADEMICHE ITALIANE

2017

INDICE

Presentazione (Nicola Ferrara)	p. 5
Introduzione	p. 7
Capitolo I - Il ruolo del sistema telomero-telomerasi nell'invecchiamento, un fenomeno che è controllabile	p. 10
Capitolo II - Possibilità di prolungare la vita al di là degli effetti benefici di un sano stile di vita	p. 78
Capitolo III - Classificazione dei fenomeni fenoptotici	p. 145
Capitolo IV - Fenoptosi, un altro neologismo specialistico, o il segnale di una rivoluzione globale?	p. 165
Capitolo V - Evidenza per le teorie sull'invecchiamento dallo studio di un popolo cacciatore-raccoglitore	p. 174
Capitolo VI - Come invecchiamo secondo il paradigma dell'invecchiamento programmato	p. 192
Capitolo VII - Evidenza empirica e argomenti teorici a sostegno o contro i due paradigmi dell'invecchiamento non programmato e programmato	p. 216
Capitolo VIII - Appunti per la filogenesi dell'invecchiamento e dei fenomeni fenoptotici correlati	p. 244
Capitolo IX - Possibili azioni per controllare l'invecchiamento	p. 274
Bibliografia	p. 302

Presentazione

È per me un grande onore e piacere presentare il volume di Giacinto Libertini dal titolo: “Come e perché invecchiamo: la via per una longevità illimitata”. Innanzitutto voglio ricordare il lungo sodalizio umano e culturale che mi lega a Libertini, anche testimoniato dall’aver intrapreso recentemente una nuova e più forte collaborazione imperniata sui temi affascinanti dell’invecchiamento e sul dibattito sulla possibilità di una concreta modificazione in senso positivo del processo dell’invecchiamento e di una longevità che a me piace definire “di successo”. Proprio la comprensione dei meccanismi intrinseci all’invecchiamento e alla base del “successful aging”, sempre più nell’attenzione di autorevoli studiosi e gruppi di ricerca, rappresenta attualmente la vera sfida della ricerca biogerontologica e geriatrica. La ricerca gerontologica e l’epidemiologia, insieme alla semplice esperienza empirica, ci indicano che vi è un sempre più crescente numero di anziani (anche delle decadi di età più avanzata, i cosiddetti “oldest old”) che invecchiano mantenendo performance funzionali di alto livello, ben differenziate da quelle tipiche dell’ “usual aging”. Proprio lo studio dei meccanismi che permettono una longevità in buona salute potrebbe permettere l’implementazione di strategie efficaci finalizzate al benessere della popolazione anziana.

Il testo si articola in 9 capitoli, oltre all’introduzione, ed è corredato da un’ampia ed aggiornata bibliografia con centinaia di voci, che di per sé da sola rappresenta un importante strumento di aggiornamento per i cultori della materia e i ricercatori della gerontologia, sia clinici che di base.

Se volessimo individuare una linea comune attraverso la quale si estrinseca il pensiero dell’autore, potremo dire che esso si basa sul superamento dalla concezione tradizionale dell’invecchiamento inteso come fenomeno intrinseco alla natura degli esseri viventi, e sull’accoglimento della tesi che vede l’invecchiamento come un fenomeno fisiologico, sostanzialmente plasmato dalla selezione naturale così come ogni altro fenomeno fisiologico. È proprio da questa concezione che nasce la possibilità (forse utopica, ma suggestiva) di modificare e controllare tale fenomeno. Se lo scopo dell’autore era quello di rendere fruibili a molti

questa tesi e la logica che la sottintende, possiamo dire che l'obiettivo è ampiamente raggiunto anche per l'impegno di Libertini di rendere comprensibili aspetti complessi della biologia dell'invecchiamento che vanno dal sistema subtelomero-telomero-telomerasi, al paradigma dell'invecchiamento programmato ed ai fenomeni fenotipici correlati all'invecchiamento.

Infine l'ultimo capitolo (il IX), che mi vede direttamente compartecipe, è dedicato alle possibilità di intervento per controllare l'invecchiamento nell'intenzione di ridurre gli effetti negativi di tale processo (incremento dell'incidenza e della prevalenza delle malattie cronico-degenerative con relativi rischi di disabilità) e di migliorare le performance anche dei soggetti delle decadi di età più avanzate, quasi un invito a non ritenere l'invecchiamento patologico ineludibile o persino a considerarlo un fenomeno potenzialmente del tutto controllabile.

Permettetemi, infine, di ringraziare Giacinto Libertini per avermi coinvolto anche nella stesura della prefazione di tale volume che, sono sicuro, rappresenterà un punto di riferimento importante per tutti coloro che vogliono interessarsi ed impegnarsi nel suggestivo mondo dell'invecchiamento sia sul piano della ricerca scientifica che su quello esclusivamente culturale/informativo.

Nicola Ferrara

Presidente della Società Italiana di Geriatria e Gerontologia

Professore Ordinario di Medicina Interna e Geriatria

Direttore della Scuola di Specializzazione in Geriatria

dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Introduzione

L'invecchiamento è un fenomeno biologico che condiziona fortemente qualsiasi aspetto della vita e della civiltà umana.

Tradizionalmente è concepito come un qualcosa di inevitabile, analogo alla corruzione di qualsiasi oggetto inanimato con il passare del tempo. La durata limitata della vita umana, che ne è la conseguenza fatale, è stata oggetto di innumerevoli interpretazioni religiose, etiche e filosofiche, e moltissimo di quanto, in ogni campo, è stato detto, concepito, scritto, operato e vissuto ne è stato influenzato in misura e modi fondamentali.

L'interpretazione abituale dell'invecchiamento come fenomeno intrinseco alla natura delle cose, e quindi ineluttabile, è stata contestata e sfidata da una concezione del tutto alternativa la quale vede l'invecchiamento come un fenomeno fisiologico, che è determinato, modellato e regolato dalla selezione naturale così come ogni altro fenomeno fisiologico.

Da questa idea nasce la possibilità di una modifica di tale fenomeno o anche la prospettiva, prima inconcepibile, di un suo totale controllo. Ciò permetterebbe perfino di giungere alla condizione di specie ben note, già descritte e definite come animali senza età (*ageless animals*) o senza rilevabile senescenza (*animals with negligible senescence*), in cui i singoli individui muoiono per predazione o altri accidenti ma non perché invecchiano.

Tale prospettiva è già stata proposta al mondo scientifico con sempre maggiori argomentazioni ed evidenza empirica. Purtroppo, poiché gli articoli a riguardo sono tutti in inglese, attualmente la principale lingua del mondo scientifico, ciò inevitabilmente è un freno per quanti, in Italia almeno, non hanno sufficiente familiarità con tale lingua.

Questo libro è un tentativo di far conoscere le nuove idee proprio a chi non ha tale familiarità. Esso è, nell'ordine cronologico, uno per ogni capitolo, la traduzione in italiano, con opportune modifiche, adattamenti e anche qualche piccola correzione, di nove lavori pubblicati nell'arco di tempo dal 2009 al 2016 [Libertini 2009a, 2009b, 2012a, 2012b, 2013, 2014a, 2015a, 2015b; Libertini e Ferrara 2016b] e aventi tutti come oggetto l'invecchiamento e alcune tematiche correlate, affrontati nella suddetta nuova prospettiva.

In tali capitoli, vi sono alcuni aspetti che manifestano un'evoluzione col tempo della concezione del fenomeno invecchiamento, aspetti che non si è voluto sminuire o cancellare. Ecco, in sintesi, i principali:

- Il concetto di fenoptosi, anche se intrinseco e fondamentale negli argomenti dei primi due capitoli, compare chiaramente definito a partire dal terzo capitolo per denotare la larga e importante categoria di fenomeni a cui la senescenza appartiene;
- Il ruolo del subtelomero, mentre all'inizio appare implicito e velato dall'importanza attribuita al telomero, man mano acquista un ruolo centrale. Si passa dalla concezione di un sistema telomero-telomerasi a quella più precisa di un sistema subtelomero-telomero-telomerasi, dove il subtelomero è l'elemento regolatore generale dell'invecchiamento cellulare e il telomero una sorta di manopola di questo regolatore;
- Come metodica per le possibili modifiche genetiche, nel 2009 (si veda il secondo capitolo) la tecnica migliore era quella basata sulle ZFNs (*zinc finger nucleases*), ma tale metodica era alquanto difficoltosa, limitata nelle sue possibilità e costosa. Negli anni successivi, abbiamo lo sviluppo e il continuo miglioramento della tecnica CRISPR-CAS9 (*clustered regularly interspaced short palindromic repeat-CRISPR-associated nuclease 9*), che risulta di gran lunga più facile, di maggiori prospettive pratiche e meno costosa. Ai fini del controllo dell'invecchiamento, ciò che nel 2009 appare un compito tecnicamente difficilissimo o forse impossibile, nel 2016 (si veda l'ultimo capitolo) diventa qualcosa di fattibile;
- All'inizio la possibilità di modificare l'invecchiamento sembra un argomento relativamente astratto e teorico, oggetto di studio di pochi cultori, ma negli anni successivi la tematica assume un carattere più concreto e passibile di effettive applicazioni, entrando in qualche modo nell'orizzonte concettuale della geriatria ma ancor più in quello complessivo della medicina.

Tutto ciò dovrebbe indurre, anche chi non è specifico studioso dell'argomento o è "solo" una persona colta che vuole comprendere meglio la propria natura, a dedicarvi qualche attenzione. Ciò, se non altro perché l'invecchiamento riguarda tutti, sia quelli che già ne soffrono le manifestazioni sia chi - fortuna sua - è nel pieno del vigore e potrebbe avere l'illusione di una tematica che non lo riguarda.

In ogni caso, questo lavoro vuole permettere una valutazione del fenomeno senescenza più moderna, che va ben oltre idee antiche insostenibili eppure ancora prevalenti e largamente diffuse. E' un cambio di paradigma, vale a dire la transizione – sempre travagliata - fra due mondi concettuali largamente differenti e spesso opposti, ed è importante per chi vive oggi, nel periodo cruciale in cui tale cambiamento si sta lentamente attuando, di prendere cognizione di ciò che sta accadendo.

Per chi volesse ulteriori utili approfondimenti, si consiglia fra l'altro la lettura di tre recenti articoli [Libertini e Ferrara 2016a; Libertini, Rengo e Ferrara 2017; Libertini 2017], non disponibili nella traduzione in italiano.

Il Lettore potrà giudicare la validità delle idee proposte e in che misura esse rappresentino un forte e importante superamento di radicate concezioni e la possibile apertura di nuovi vastissimi orizzonti.

Giacinto Libertini

Socio della Società Italiana di Biologia Evoluzionistica

Collaboratore esterno del Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali,
Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Capitolo I

Il ruolo del sistema telomero-telomerasi nell'invecchiamento, un fenomeno che è controllabile

Riassunto

Nel nostro corpo vi è un perenne rinnovo cellulare. Ogni giorno innumerevoli cellule muoiono per vari tipi di morte cellulare programmata, fra cui l'apoptosi, e sono rimpiazzate da altre che derivano dalla duplicazione di cellule staminali. Con il crescere dell'età, questo rinnovo è limitato da meccanismi sofisticati, geneticamente determinati e regolati, che controllano il sistema telomero-telomerasi e di conseguenza la capacità di duplicazione cellulare, determinando la senescenza replicativa e anche della funzionalità complessiva della cellula (senescenza cellulare).

*Particolari alterazioni dei meccanismi di rinnovo cellulare causano gravi sindromi, come ad esempio la discheratosi congenita, mentre il normale rallentamento e il blocco di questo rinnovo, in correlazione con l'età, determinano un declino della capacità di sopravvivenza (fitness) definito invecchiamento, anche chiamato vecchiaia o stato senile quando le sue espressioni sono più evidenti. Il declino della fitness, ossia l'incremento della mortalità, documentato in condizioni naturali per molte specie, non dovrebbe essere confuso con l'incremento della mortalità osservato per molte specie, come ad esempio *Caenorhabditis elegans* e *Drosophila melanogaster*, in condizioni artificiali e a età inesistenti allo stato selvatico. Molte specie non sono soggette a questo declino della fitness e, nel caso in cui i loro individui raggiungono notevoli età in condizioni naturali, sono definiti come costituiti da animali 'senza età o come specie 'con senescenza non rilevabile'. Per alcune di tali specie la funzionalità del sistema telomero-telomerasi si è rivelata imm modificata con l'età anche negli individui con più anni di vita.*

In verità, il declino della fitness non appare come un inevitabile decadimento ma al contrario come una funzione assai sofisticata, favorita per la sua maggiore fitness complessiva (inclusive fitness) in particolari condizioni di selezione naturale. Essendo una funzione, in linea di principio tale declino è da considerarsi modificabile e controllabile. Ciò conduce alla prospettiva che l'invecchiamento sarà domato in un futuro non lontano, in particolare mediante il controllo o, più audacemente, con

la modifica dei determinanti genetici del sistema telomero-telomerasi. Tale prospettiva è radicalmente differente dagli attuali progressi nelle cure mediche che stanno solo incrementando la proporzione di persone molto anziane e disabili.

Introduzione

Quando Darwin propose l'ipotesi dell'evoluzione ad opera della selezione naturale, due grossi problemi indebolivano l'affidabilità della grande teoria.

Il primo era l'esistenza di specie di insetti con organizzazione sociale (api, formiche, termiti, etc.). Se la selezione naturale favorisce gli individui con maggiore capacità di sopravvivenza (fitness) e successo riproduttivo, come si poteva spiegare che gli individui operai di queste specie nutrivano la progenie delle regine e non procreavano loro stessi? Quale possibile meccanismo selettivo può favorire geni che determinano un comportamento così strano? Darwin, il padre della moderna biologia, non seppe come rispondere: come topa improvvisata per un nuovo meraviglioso vestito con un brutto strappo, giustificò tutto ciò con il sostenere che tale comportamento era favorito perché vantaggioso per la specie [Darwin 1871]. Si sbagliava, e una risposta presumibilmente corretta fu scoperta quasi un secolo più tardi, come subito dopo sarà discusso.

Il secondo problema era addirittura più serio. Per molte specie, *Homo sapiens* incluso, allo stato selvatico l'incremento dell'età cronologica si accompagna con un declino della fitness, vale a dire in condizioni naturali i tassi di mortalità crescono con l'età [Deevey 1947; Laws 1966, 1968; Laws e Parker 1968; Spinage 1970, 1972; Holmes e Austad 1995; Ricklefs 1998]. A riguardo di questo declino della fitness, descritto come "vecchiaia" nella sua espressione più avanzata (un nome terribile e ben noto), come era spiegabile ciò se è vero che la selezione naturale favorisce il più adatto a sopravvivere? Darwin aveva due possibilità, entrambe difficoltose e gravide di complicazioni. La prima (*ipotesi non adattativa*) esigeva l'ammissione che la selezione naturale non era in grado di favorire i geni adatti a mantenere la fitness stabile man mano che l'età cresceva. Eppure, come era possibile che la selezione naturale, che si ritiene aver plasmato l'occhio, il cervello, la mano e innumerevoli meraviglie in un

insieme sterminato di animali, piante, funghi e microbi, fosse fallimentare nel compito di mantenere stabile la fitness nelle età maggiori? Inoltre, se questa era la spiegazione, come era allora possibile che questa ipotetica incapacità della selezione fosse maggiore per quelle specie che invecchiano più rapidamente e minore per altre specie che invecchiano più lentamente o appaiono non invecchiare per niente?

L'altra possibilità (*ipotesi adattativa*) era che questo declino della fitness aveva qualche sconosciuto vantaggio evolutivo. Ma quest'alternativa sembrava ancora più difficile: come poteva una morte anticipata essere vantaggiosa in termini evolutivisti? Chi poteva sostenere una tale idea senza essere considerato un po' confuso, o anche peggio? Darwin non poteva dare una risposta al secondo problema, che pertanto è stato giustamente definito il dilemma di Darwin [Goldsmith 2003].

Alcuni anni più tardi, August Weismann, con straordinaria intuizione, tentò di formulare una risposta. Sfortunatamente, non espresse una chiara esposizione né fornì solide prove scientifiche nell'accennare che la morte anticipata degli individui con maggiore età era benefica poiché ciò dava maggiore spazio alle nuove generazioni e quindi risultava utile per l'evoluzione della specie [Weismann 1889; Kirkwood e Cremer 1982]. In breve, Weismann fu un sostenitore dell'ipotesi adattativa del declino della fitness, ma negli anni successivi la rinnegò [Weismann 1892; Kirkwood e Cremer 1982]. Inoltre, a riguardo del meccanismo alla base di questo declino, egli osservò che le cellule dei vari organi e tessuti erano continuamente rinnovate e che quando questo ricambio rallentava o si fermava, gli organi e i tessuti vedevano ridotta o persa la loro funzionalità con effetti negativi sulla fitness [Kirkwood e Cremer 1982].

La sua ipotesi adattativa era originale ma non saldamente impostata da un punto di vista teorico. Per di più, come attesta la comune esperienza, tutti gli oggetti inanimati si deteriorano con il passare del tempo e, pertanto, perché non assumere che anche gli esseri viventi erano soggetti alla stessa legge inesorabile? In effetti, il "senso comune" sembra suggerire con forza che l'ipotesi non adattativa del declino della fitness è corretta, anche se ciò richiede l'ammissione che la selezione naturale è incapace di risolvere questo particolare problema.

Diversamente, il declino del meccanismo di ricambio cellulare ipotizzato da Weismann per spiegare il meccanismo dell'invecchiamento era più facile da comprendere e accettare. Ma anche questa ipotesi ebbe una cattiva

sorte, almeno per i successivi 70 anni. Infatti, un illustre vincitore del premio Nobel, Alexis Carrel, “dimostrò” che cellule espianate e poi coltivate *in vitro* si moltiplicavano un numero illimitato di volte [Carrel 1913; Carrel ed Ebeling 1921a, 1921b], e ciò implicava che l’ipotesi di Weissmann era infondata e inaccettabile.

Povero Weissmann, con le sue intuizioni sembrava fallire ogni volta!

Ma, nel 1961, un oscuro ricercatore, Leonard Hayflick, coltivò dei fibroblasti *in vitro* e scoprì che essi si moltiplicavano un numero limitato di volte, un risultato in chiaro contrasto con quelli di Carrel. Dopo aver escluso qualsiasi fattore come possibile causa di tale arresto nella duplicazione cellulare, decise di pubblicare i suoi risultati. L’autorevole giornale scientifico a cui l’articolo fu sottoposto lo rigettò con l’affermazione che esso era *a priori* inaccettabile poiché i risultati erano in chiaro contrasto con quanto era stato definitivamente dimostrato e accettato come scientificamente valido. Fortunatamente Hayflick era ostinato e riuscì a pubblicare il suo articolo in un giornale meno autorevole che era più aperto nuove idee [Shay e Wright 2000].

Le osservazioni di Carrel (certamente dovute a errori nella metodologia della coltivazione cellulare) furono sconfessate e l’ipotesi di Weismann riacquisì il suo valore! Hayflick dichiarò nel 1977 che i limiti nella duplicazione cellulare (“limite di Hayflick”) erano la causa verosimile dell’invecchiamento: “... se le normali cellule animali hanno invero solo una limitata capacità di dividersi in coltura, le manifestazioni dell’invecchiamento potrebbero benissimo avere una base intracellulare.” [Hayflick 1977]. Comunque quest’affermazione era in contrasto con altre idee a riguardo dell’invecchiamento che in quel tempo si andavano imponendo [Kirkwood e Austad 2000], vale a dire:

- la teoria dell’ “Accumulo di Mutazioni”: l’invecchiamento è dovuto agli effetti di mutazioni dannose che si manifestano nelle età più anziane quando, allo stato selvatico, i sopravvissuti sono pochi o del tutto assenti e, di conseguenza, le forze selettive sono troppo deboli per eliminarle. Tali mutazioni dannose si accumulano gradualmente nel corso dell’evoluzione e determinano l’invecchiamento [Medawar 1952; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Mueller 1987; Partridge e Barton 1993].

- la teoria della “Pleiotropia Antagonistica”: la senescenza è causata da geni pleiotropici con effetti benefici in età giovanili e deleteri a età più tarde [Williams 1957; Rose 1991].

- la teoria del “Soma Disponibile”: l’invecchiamento ha cause ambientali o somatiche e non genetiche, e le risposte evoluzionistiche a questi fattori sono progressivamente limitate nelle età più anziane da vincoli fisiologici, biochimici o ambientali. Di conseguenza, nella ricerca evoluzionistica di un’ottimale ripartizione delle risorse metaboliche tra manutenzione del corpo (soma) e riproduzione, il secondo obiettivo è preferito [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979].

In un articolo relativamente recente, Hayflick, come un profeta che ripudia se stesso, non menzionava l’importanza chiave dei limiti della duplicazione cellulare per l’invecchiamento e invece proclamava: “L’invecchiamento è un processo casuale che ... deriva dalla decrescente energia disponibile per preservare l’integrità delle molecole. Questo disordine ha molte eziologie compreso il danno da sostanze ossidative.” [Hayflick 2000]

Negli anni 1970-76, io ero un semplice studente di medicina, ricco di una vasta ignoranza e della stoltezza di cui gli ignoranti godono, ma - merito tra le carenze - fui fortemente colpito dai risultati di Hayflick che considerai di estrema importanza per gli studi sull’invecchiamento. Divenni un entusiasta della scoperta di Hayflick e delle sue implicazioni e rimasi fermo in questa convinzione anche quando lo stesso Hayflick sminuì o negò l’importanza e le implicazioni dei suoi risultati.

Spronato da tutto ciò, cercai di spiegare in precisi termini di selezione naturale, il vantaggio di un più veloce ricambio delle generazioni, che mi appariva l’automatica conseguenza del limite di Hayflick, oppure, nel caso in cui tale limite non fosse importante, il vantaggio delle evidenti restrizioni nella durata individuale della vita per molte specie, inclusa la nostra, qualunque fosse il meccanismo che causava queste restrizioni.

Conoscendo quello che Weissmann aveva intuito e stimolato dalle ipotesi di due botanici [Leopold 1961; Woolhouse 1967], formulai un modello matematico che dimostrava con precisione come un più veloce susseguirsi delle generazioni permetteva una più rapida diffusione di qualsiasi gene favorevole nell’ambito di una specie. In termini numerici, per quanto riguardava la velocità di diffusione di un gene nell’ambito di una specie, l’incremento di un x% del vantaggio del gene o la riduzione di un pari x%

della durata media della vita degli individui avevano gli stessi effetti (Figura 1).

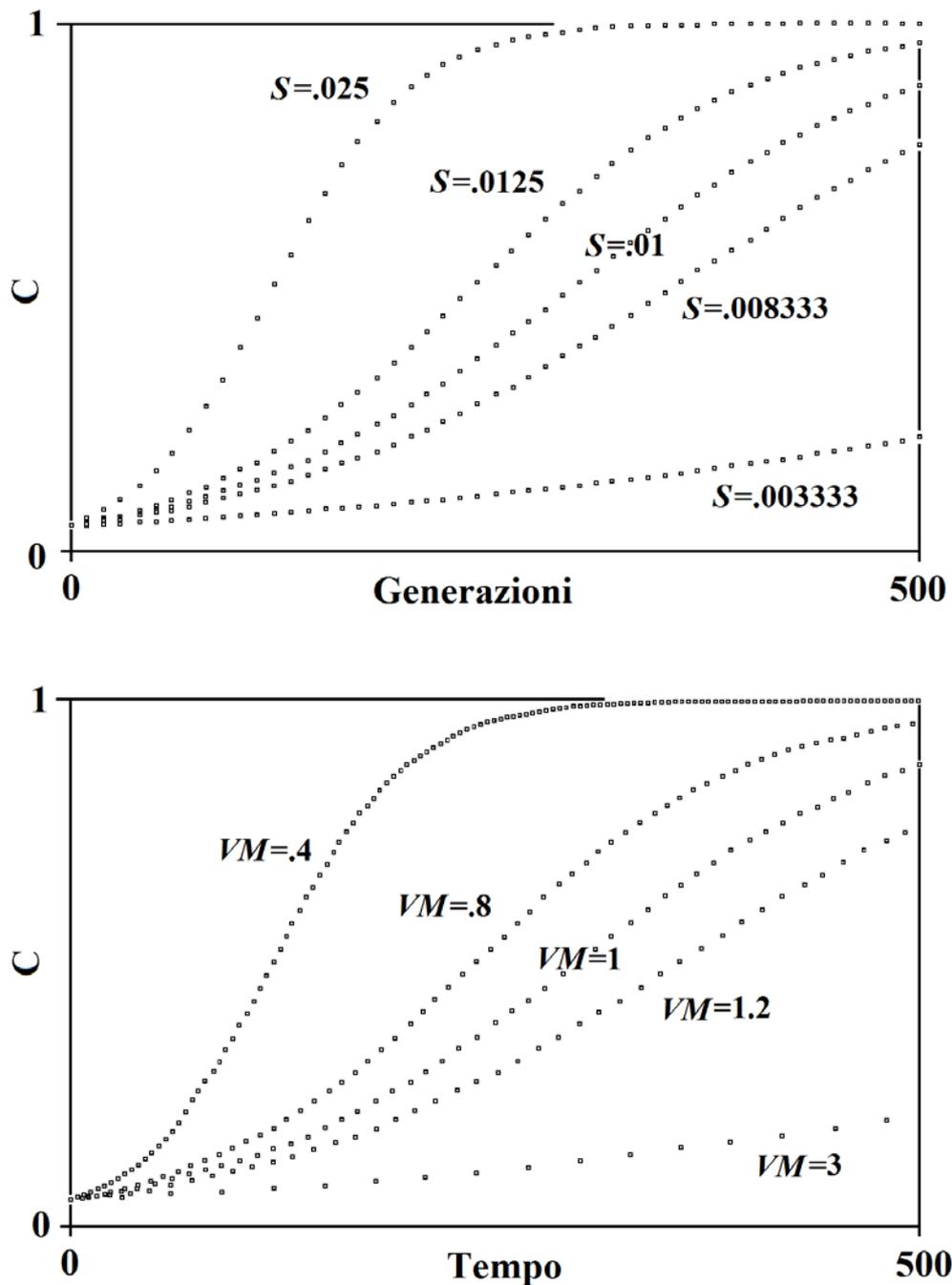


Figura 1 - Sopra: Diffusione di un gene C a seconda del diverso valore del vantaggio (S) causato dal gene C, supponendo una costante durata media della vita (VM). Sotto: Diffusione di un gene C a seconda del diverso valore della VM , supponendo un valore costante di S ($= 0,01$) [Libertini 1983, 1988, 2006].

Questa osservazione era essenzialmente la riformulazione in termini matematici dell'intuizione di Weissmann. Come esempi in termini più comprensibili: popolazioni di batteri o di insetti sotto l'azione rispettivamente di antibiotici e insetticidi diventano resistenti all'azione di queste sostanze nello spazio di un certo numero di generazioni. Per un batterio questo tempo potrebbe essere alcuni giorni, per un insetto alcuni anni. Per una popolazione umana, un'equivalente evoluzione richiederebbe secoli, come conseguenza del molto più lento susseguirsi delle generazioni. Ma quest'argomentazione evidenziava soltanto che, a parità di ogni altra cosa, una specie con una più piccola durata della vita media (ossia con un più veloce ricambio delle generazioni) era avvantaggiata rispetto a una specie con maggiore durata della vita media. Quest'osservazione di per sé non provava per niente che nell'ambito di una specie un gene che limitava la durata della vita sarebbe stato favorito dalla selezione naturale. L'argomentazione di Darwin che ciò sarebbe stato favorito in termini di selezione di gruppo appariva insostenibile in base a quanto evidenziato da Maynard Smith contro tale tipo di selezione [Maynard Smith 1964, 1976] e quindi l'intuizione di Weissmann necessitava di qualcos'altro.

Successivamente ricavai una verosimile soluzione dagli straordinari risultati di un gruppo di ricercatori [Hamilton 1964, 1970; Trivers 1971; Wilson 1975; Trivers e Hare 1976], che in quegli anni avevano formulato una brillante interpretazione per il problema dei meccanismi evolutivisti che spiegava l'organizzazione degli insetti sociali, il primo degli anzidetti grandi problemi che minacciavano la teoria dell'evoluzione.

Fino a quel tempo, le argomentazioni evolutivistiche accettate erano solo in termini di selezione proporzionale alla fitness dei singoli individui (fitness individuale). Infatti, per un gene che causava un vantaggio o svantaggio (S) e che agiva in un individuo con la capacità P di avere una progenie (valore riproduttivo), la forza selettiva (F) che operava in favore o contro il gene era calcolata come proporzionale al prodotto di S per P :

$$F \propto S P \tag{1}$$

Nella soluzione sostenuta da questi ricercatori, fu evidenziato che per un gene esistente e agente in un individuo, definito come individuo I_1 , era necessario calcolare anche gli effetti delle azioni dello stesso gene sulla

fitness di altri individui (I_2, I_3, \dots, I_n) geneticamente imparentati con I_1 , cioè occorreva calcolare la “fitness complessiva”. In effetti, per ogni gene C, era necessario calcolare la somma dei valori del vantaggio o svantaggio per ogni individuo x (I_x) per il quale il gene C comportava una conseguenza (S_x), moltiplicato per il valore riproduttivo di ciascun I_x (P_x), e poi moltiplicato per il coefficiente di parentela fra I_1 e I_x (r_x , o probabilità che il gene C è presente in I_x).

Pertanto:

$$F \propto \sum (S_x P_x r_x) \quad \text{con } x \text{ da } 1 \text{ a } n \quad (2)$$

Come esempio semplice e comprensibile, una giovane madre con l'azione dell'allattare il suo bambino riduce la propria fitness (poiché spende risorse energetiche) ma lo stesso atto è indispensabile per la sopravvivenza del bambino, che ha il 50% di probabilità di avere gli stessi geni della madre. Pertanto, il piccolo svantaggio per la madre causato dall'allattamento ($S_1 = -y$, con y che ha un piccolo valore) è chiaramente superato dal grande vantaggio per il bambino ($S_2 = 1$) anche se ridotto del 50% ($r_2 = 0,5$): la fitness complessiva di un gene che determina l'allattamento è quindi positiva e il gene è favorito dalla selezione naturale. In termini numerici, supponendo che la madre è giovane e il suo valore riproduttivo è massimo ($P_1 = 1$) e che il valore riproduttivo del bambino è anche alto (ipotizzando che solo il 60% dei bambini raggiunge l'età riproduttiva, $P_2 = 0,6$):

$$F \propto S_1 P_1 r_1 + S_2 P_2 r_2 = -y \cdot 1 \cdot 1 + 1 \cdot 0,6 \cdot 0,5 = -y + 0,3 \gg 0 \quad (3)$$

Con la più semplice formula (1), è chiaro che il gene dell'allattamento sarebbe stato eliminato dalla selezione naturale.

Altri due esempi sono illustrati nella Figura 2.

E' da notare che la formula (2) si trasforma nella (1) nei casi in cui un gene manifesta effetti solo sull'individuo 1, poiché il coefficiente di parentela dell'individuo 1 con se stesso è chiaramente 1 ($r_1 = 1$).

Seguendo questo principio, in conseguenza di un peculiare meccanismo genetico con il difficile nome di aploidiploidia (i maschi sono aploidi, mentre le femmine sono diploidi), il coefficiente di parentela tra due api sorelle è 0,75 mentre quello tra una madre ape, cioè un'ape regina, e una sua figlia è 0,5 (si veda la Figura 3-C). Pertanto, la fitness complessiva di

un gene che determina l'accudimento di una larva sorella da parte di un'ape operaia è favorito dalla selezione naturale più di quello di un gene che determina l'accudimento di una larva figlia da parte della sua ape madre. Lo stesso è per le formiche.

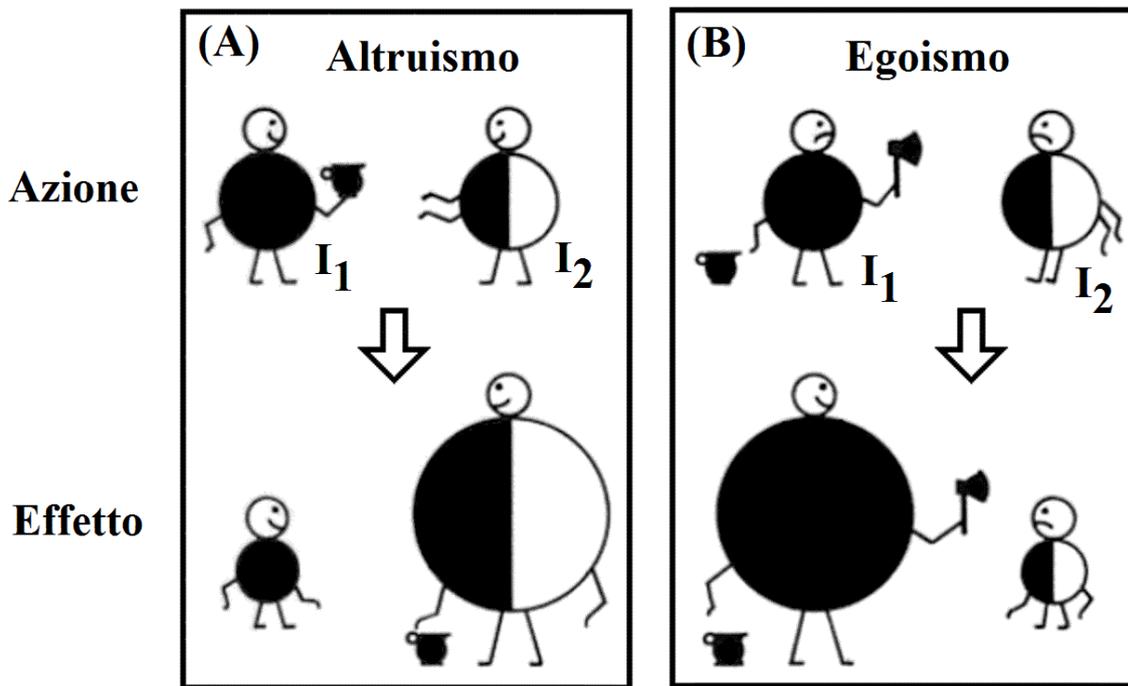


Figura 2 - Azioni tra due fratelli (I_1 e I_2) che, in quanto tali, hanno in comune metà dei geni ($r = 0,5$). (A) “Altruismo” – Per effetto di un gene x , I_1 dona qualcosa delle sue risorse a I_2 , aumentando la fitness di I_2 . La fitness di I_1 è ridotta ma la fitness di I_2 è accresciuta più del doppio della riduzione della fitness per I_1 : il gene x è favorito dalla selezione. (B) “Egoismo” – Per effetto di un gene x , I_1 sottrae qualcosa delle risorse di I_2 . La sua fitness è accresciuta ma la fitness di I_2 è ridotta meno della metà di quest'accrescimento: il gene x è favorito dalla selezione. La figura, ridisegnata in parte, è tratta da Wilson [Wilson 1975].

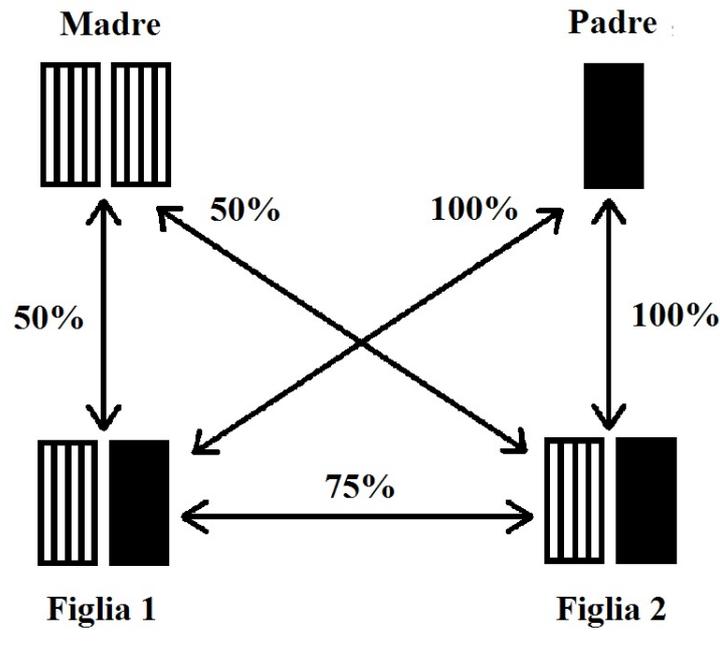
Con tutti i dettagli e le complicazioni che una tale formulazione scientifica implicava, la fitness complessiva appariva spiegare adeguatamente l'organizzazione sociale di api e formiche. La teoria darwiniana era arricchita e un problema irrisolto risultava finalmente definito!



A



B



C

Figura 3 - (A) Alcune formiche; (B) Un alveare; (C) Per formiche e api, le femmine sono diploidi mentre i maschi sono aploidi. Di conseguenza, una madre fornisce a una figlia il 50% dei suoi geni mentre un padre da il 100% dei suoi geni. La probabilità che un gene è lo stesso nella madre e in una figlia, vale a dire il coefficiente di parentela (r) tra madre e figlia, è il 50%. Diversamente, r tra due figlie è il 75%, la media aritmetica tra il 50% dei geni in comune con la madre e il 100% in comune con il padre.

Traendo ispirazione dagli stessi concetti, mi resi conto che un gene limitante la durata della vita era di certo dannoso per l'individuo in cui agiva (I_1), ma bisognava considerare che la morte di I_1 liberava spazio per altri individui ($I_2, I_3, \dots I_n$) e permetteva un più veloce ricambio delle generazioni e quindi una più veloce evoluzione per $I_2, I_3, \dots I_n$. Se questi individui erano geneticamente imparentati con I_1 , la fitness complessiva del

gene poteva essere positiva e in certe condizioni (in breve, una popolazione divisa in demi e numericamente stabile, vale a dire in condizioni di K-selezione [Pianka 1970]) il gene sarebbe stato favorito dalla selezione naturale.

Meraviglioso, avevo una possibile soluzione per il dilemma di Darwin, la chiave evoluzionistica per la base dell'invecchiamento!

Dovevo assolutamente pubblicare le mie argomentazioni, eppure temevo fortemente che altri potessero appropriarsi delle mie idee. Credevo che esse sarebbero state facilmente comprese, accettate e pertanto sfruttate da altri, ma quanto mi sbagliavo!

Di conseguenza decisi che prima della pubblicazione delle mie idee su un giornale scientifico, per precauzione era necessario stampare un libro che le esponesse in modo che qualsiasi futuro dubbio di primogenitura fosse cancellato.

Pertanto nel 1983, a mie spese, pubblicai in italiano un libro dove le anzidette idee, insieme con altre, erano esposte [Libertini 1983]. Mandai copie del libro a molte personalità del mondo scientifico italiano.

Bene, il libro fu un totale fallimento da un punto di vista commerciale e nessuno mi rispose (ma 21 anni più tardi il prof. Pietro Omodeo, un illustre padre della biologia italiana, mi ricordò la copia che gli avevo inviata e lodò il libro!). Comunque il mio scopo non era economico e con grande dedizione iniziai a cercare di pubblicare la mia ipotesi nella forma di un articolo scientifico su un giornale autorevole.

L'obiettivo si rivelò una sfida molto impegnativa. Non avevo mai pubblicato un articolo scientifico, la mia conoscenza dell'inglese era rudimentale e non avevo esperienza accademica. Inoltre internet non era ancora nata e perfino ottenere la copia di un lavoro scientifico era difficile per me. Era come tentare di scalare un picco dell'Himalaya senza alcuna esperienza di alpinismo, senza alcun allenamento, senza l'aiuto di alcuno sherpa e con equipaggiamento inadeguato e insufficiente. La mia sola "forza", oltre alla convinzione della correttezza della mia ipotesi, era l'inconsapevolezza della gravità di queste carenze unita a una buona forte dose di ostinazione. Circa quattro anni furono necessari ma alla fine, dopo vari rigetti, e molte modifiche e correzioni dell'articolo, riuscii a pubblicare la mia ipotesi sul *Journal of Theoretical Biology* (che però lo respinse due volte prima di accettarlo!).

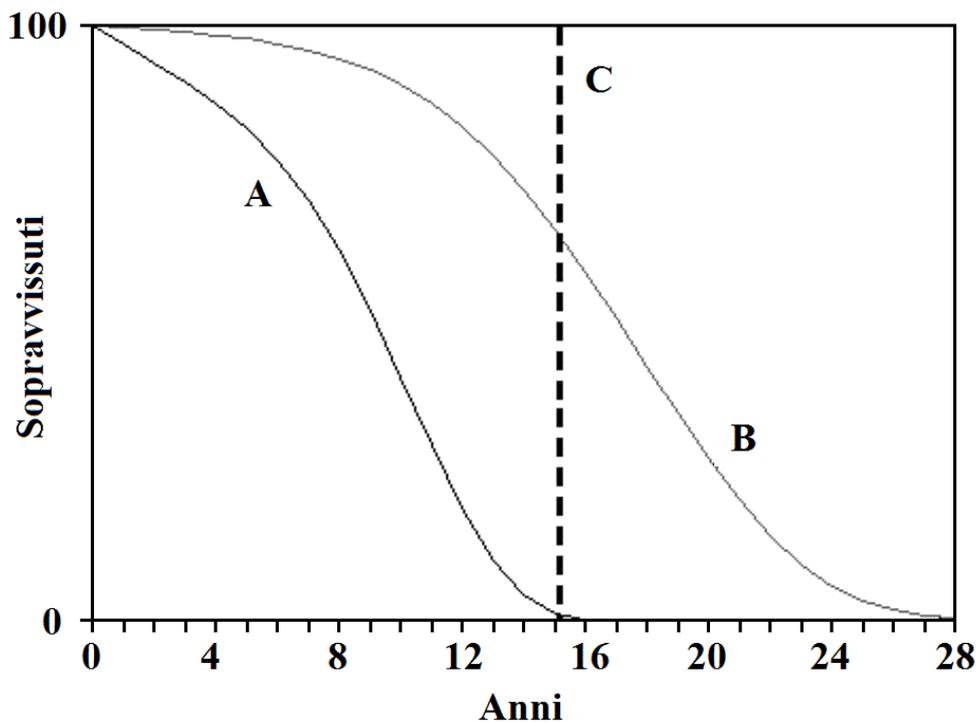


Figura 4 - Curva A: curva di sopravvivenza in condizioni naturali di una specie con progressivo declino della fitness in correlazione con l'età; Curva B: curva di sopravvivenza della stessa specie in condizioni artificiali protette con ridotta mortalità; Linea C: linea arbitrariamente definita che contrassegna l'inizio dell'età anziana, in cui si ha lo "stato di senilità" (all'età in cui la ridotta fitness in condizioni naturali è diventata inferiore a un valore arbitrariamente stabilito). La frazione di individui che sopravvive oltre questa linea è piccola allo stato selvatico e il loro grado di decadimento funzionale rientra nell'intervallo arbitrariamente definito per lo "stato di senilità". Con la mortalità ridotta in condizioni artificiali questa frazione diventa consistente o persino preponderante [Libertini 2006].

Per pubblicare il mio articolo, doveti specificare che l'argomento non era l'impreciso concetto di 'invecchiamento' o 'senescenza', ma la "crescente mortalità con crescente età cronologica in condizioni naturali" (abbreviato in "IMICAW" partendo dalla definizione in inglese) [Libertini 1988], un concetto che più tardi fu definito analogamente come "senescenza attuariale allo stato selvatico" [Holmes e Austad 1995; Ricklefs 1998]. In effetti, allo stato selvatico, il declino della fitness correlato con l'età, che è una realtà per molte specie, uomo compreso, permette solo a pochi

individui di raggiungere quel deterioramento di tutte le funzioni definito età anziana o “stato senile”, mentre in condizioni protette (cattività, civilizzazione, etc.) molti individui raggiungono quell’età (Figura 4).

Nelle settimane successive alla pubblicazione, ricevetti per posta da ogni parte del mondo (Siberia, Bulgaria, Sudafrica, Alaska, Argentina, USA, Francia, ... persino una dall’Italia ...) 48 richieste di copie dell’articolo. Diedi soddisfazione a tutte le richieste e per ciascuna di esse chiesi eventuali commenti, critiche e suggerimenti. Ero in uno stato euforico ... ma nessuno rispose.

Nel frattempo, mandai una copia dell’articolo a un giornale italiano di divulgazione medica, insieme con una nota che spiegava l’importanza dell’argomento e la mia disponibilità per un breve articolo informativo. Immediatamente il giornale si dichiarò d’accordo con la mia proposta e mi chiese di inviare loro la bozza dell’articolo e la mia fotografia. Inaspettatamente, pochi giorni dopo il direttore del giornale mi telefonò di persona e, con molte scuse e grande gentilezza, mi informò che l’articolo non sarebbe stato pubblicato perché i loro “esperti” di fiducia non condividevano la mia ipotesi. La mia obiezione che un giornale divulgativo dovrebbe diffondere una notizia e non esprimere un nuovo giudizio mediante il parere di esperti fu inutile: la mia ipotesi era troppo in contrasto con idee ampiamente diffuse e ben stabilite.

Inoltre, ero ben consapevole che avevo formulato una spiegazione evoluzionistica per il declino della fitness correlato con l’età ma che non avevo proposto un meccanismo fisiologico mediante il quale questo declino poteva attuarsi. Intuivo che in qualche modo il limite di Hayflick era la chiave, ma l’argomento era confuso per me e non osai azzardare ipotesi.

Di conseguenza, ritenni che i tempi non erano ancora maturi e decisi che avrei trascurato qualsiasi studio sull’argomento per quindici anni. E così feci, dedicando la mia attenzione a varie altre cose per le quali una menzione qui sarebbe inappropriata. Solo ogni tanto rivolgevo la mia attenzione a ciò che era stata la mia ossessione per così a lungo.

Nel 2000, leggendo su *Nature* un “autorevole” articolo sull’invecchiamento [Kirkwood e Austad 2000], notai la citazione, come prova delle correnti teorie gerontologiche, di un articolo il cui titolo proclamava, quasi trionfalmente: “Teorie evoluzionistiche dell’invecchiamento: Conferma di una fondamentale predizione, con implicazioni per la base genetica dell’invecchiamento” [Ricklefs 1998]. Immediatamente cercai di ottenere

una copia dell'articolo e allora mi resi conto con meraviglia che l'affermazione espressa dal titolo era in estremo contrasto con i risultati esposti nel testo e con le valutazioni e conclusioni dello stesso Autore! Infatti, Ricklefs, nello studiare le tabelle di sopravvivenza di molte specie di mammiferi e uccelli in condizioni naturali, aveva trovato che la riduzione della vita media causata dal progressivo crescere della mortalità ("proporzione delle morti per senescenza" o P_s nella sua terminologia) era inversamente correlata con la mortalità ambientale o estrinseca (Figura 5). Egli dichiarava apertamente che i suoi dati erano in netto contrasto con le predizioni delle correnti teorie gerontologiche! Comunque, nell'esposizione della mia teoria avevo predetto che quello che Ricklefs chiamava 'la proporzione delle morti dovute a senescenza' doveva essere inversamente correlata alla mortalità estrinseca – precisamente come era stato documentato da lui. Nel mio articolo, avevo dato a questo fenomeno paradossale il nome suggestivo di "effetto Matusalemme" [Libertini 1988], ma non avevo alcun riscontro empirico di questa previsione. Bene, dieci anni dopo la pubblicazione del mio articolo, un autorevole studioso, nel mentre tentava di confermare le previsioni delle teorie tradizionali, al contrario aveva trovato una chiara prova in contrasto con esse e a sostegno della mia ipotesi! Eppure, perché nel titolo era dichiarata l'opposta conclusione? Non lo so, ma temo che con un titolo coerente con i fatti e con le conclusioni riportati nel testo, il lavoro avrebbe dovuto superare molte difficoltà per essere accettato.

Comunque decisi che il tempo era ormai maturo per una mia rinnovata attenzione all'argomento del declino della fitness correlata con l'età in condizioni naturali, e alla sua terribile conclusione nell'uomo quando raggiunge la sua espressione amplificata nelle età più anziane e in condizioni protette, vale a dire lo stato senile.

Nei successivi mesi e anni, cercai e consultai molti articoli e libri che riguardavano argomenti come telomero, telomerasi, senescenza replicativa, senescenza cellulare, apoptosi, ricambio cellulare e malattie causate da disturbi del rinnovo cellulare, che ritenevo fossero profondamente connessi a ciò che stavo investigando.

Mediante internet, cercai e ottenni molti scambi di opinioni con studiosi di varie discipline.

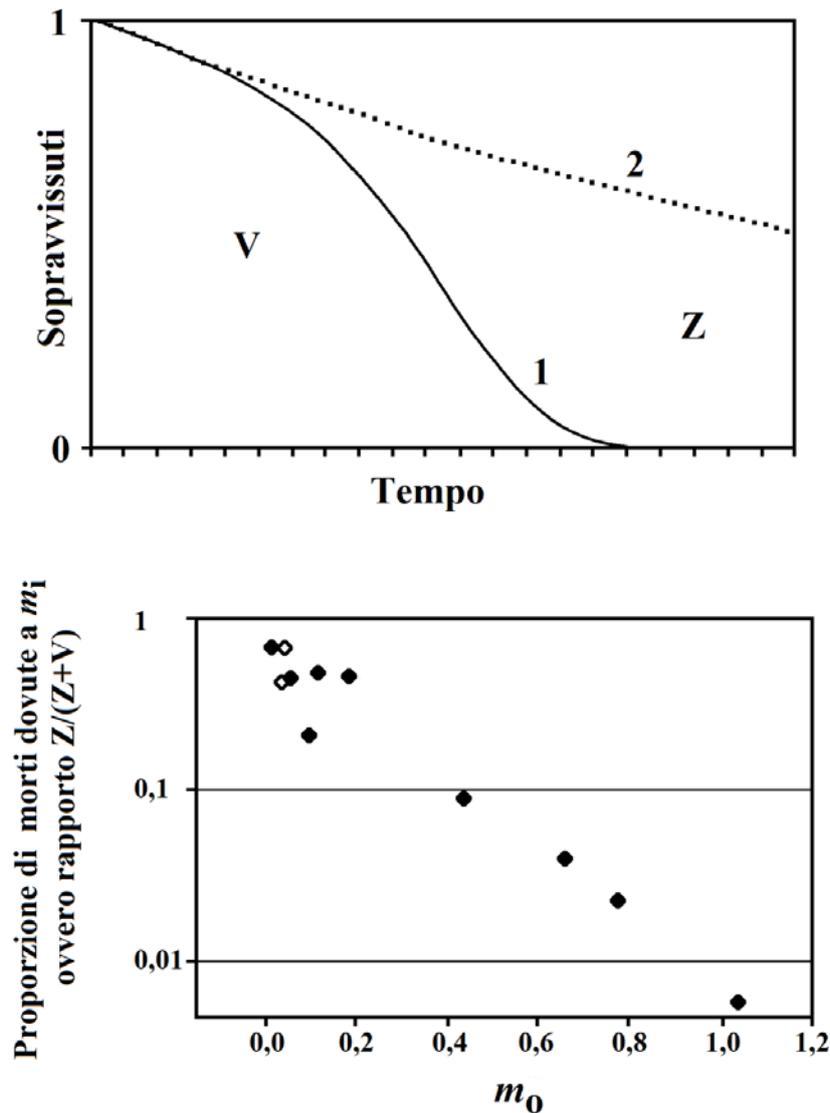


Figura 5 - Osservazioni di Ricklefs. Sopra: La curva 1, linea continua, è la curva di sopravvivenza allo stato selvatico di una specie con una mortalità crescente in funzione dell'età, determinata da mortalità estrinseca (m_0) più mortalità intrinseca (m_i); la curva 2, linea tratteggiata, è l'ipotetica curva di sopravvivenza con solo l'effetto di m_0 ; V è l'area delimitata dalla curva 1; Z è l'area tra le curve 1 e 2, vale a dire la "proporzione di morti dovute alla senescenza" (P_s). Sotto: Significativa correlazione inversa tra m_0 e la proporzione di morti dovute a m_i (P_s), o rapporto $Z/(Z+V)$. I dati sono da Ricklefs [Ricklefs 1998], Tabella 2 (p. 30). La Figura 7 del lavoro di Ricklefs (p. 34) è stata ridisegnata. Le ordinate sono in scala logaritmica. I rombi vuoti all'interno sono riferiti a specie di mammiferi, i rombi pieni a specie di uccelli.

Scrissi anche a Hayflick, proclamando la mia profonda ammirazione per la sua fondamentale scoperta, e con rispettosa baldanza gli chiesi la sua compartecipazione a quanto stavo elaborando. Hayflick replicò con gentilezza che non condivideva le mie opinioni e che per lui l'invecchiamento era la conseguenza di un vasto insieme di alterazioni cellulari, ben documentate da innumerevoli esperimenti. Con orgoglio e sgomento mi resi conto che ero diventato il portabandiera delle implicazioni della scoperta di Hayflick - in pieno contrasto e al di là della posizione dello stesso Hayflick! Un peso enorme su deboli spalle, ma non mi scoraggiai ...

Molti studiosi risposero alle mie richieste, alcuni soltanto con incoraggiamenti, altri con utili critiche o suggerimenti. In alcuni casi, la mancanza di convincenti obiezioni o critiche era una conferma indiretta delle argomentazioni che andavo proponendo. In ogni caso devo esprimere una particolare gratitudine a Jerry Shay, per i suoi suggerimenti a riguardo di telomeri e telomerasi, un argomento di cui è un indiscusso maestro, a Eric Le Bourg, Josh Mitteldorf e Theodore Goldsmith per la loro utile segnalazione di importanti articoli, a Richard Ricklefs per la sua attenzione e gentilezza. In particolare, sono profondamente grato a Leonard Hayflick per il suo apprezzamento del mio ultimo articolo [Libertini 2008], cosa che ho accettato come una sorta di benedizione scientifica.

Dopo alcuni anni di approfondimenti e dopo qualche utile rigetto da parte di giornali qualificati, nel 2006 pubblicai un articolo [Libertini 2006] in cui la mia ipotesi era ribadita ed era inoltre proposta un'interpretazione complessiva dell'invecchiamento, sia in termini di dinamica evuzionistica sia specificando i meccanismi fisiologici che appaiono esserne alla base. Inoltre espressi chiaramente le differenze tra le prevalenti idee a riguardo dell'invecchiamento e il nuovo paradigma che andavo proponendo.

Nei mesi successivi scrissi un ulteriore articolo, pubblicato nel febbraio 2008 [Libertini 2008], dove fu proposta la forte evidenza empirica a sostegno dell'interpretazione adattativa del declino della fitness correlato con l'età in condizioni naturali (in differenti modi espressa da vari autori [Weismann 1889; Skulachev 1997; Goldsmith 2003; Longo et al. 2005; Mitteldorf 2006; Libertini 2006, 2008]) e contro l'ipotesi non adattativa [Medawar 1952; Williams 1957; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968, Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979; Mueller 1987; Rose 1991;

Partridge e Barton 1993] e l'ipotesi storica [De Magalhães e Toussaint 2002].

Nello stesso articolo sostenni che gli esperimenti a riguardo delle modifiche delle curve di sopravvivenza di animali come *Caenorhabditis elegans* e *Drosophila melanogaster* erano di scarsa importanza per gli studi dell'invecchiamento in specie come la nostra. La ragione di ciò è nel fatto che *C. elegans* e *D. melanogaster* raggiungono in laboratorio, cioè in condizioni protette, età inesistenti allo stato selvatico, e pertanto gli studi sul loro "invecchiamento" sono osservazioni su artefatti di laboratorio. Per di più questi animali non mostrano ricambio cellulare (tranne che per l'epitelio dell'intestino in *D. melanogaster*), mentre le specie che invecchiano presentano tale fenomeno che è verosimilmente una parte chiave dei meccanismi dell'invecchiamento.

La seguente esposizione è una descrizione di come fatti ben documentati dall'evidenza empirica e sostenuti da plausibili argomentazioni indicano i meccanismi che sono alla base del declino della fitness correlato con l'età, come li ho descritti negli anzidetti articoli, ma con ulteriore evidenza empirica, dettagli e deduzioni.

Il sistema Telomero-Telomerasi

Hayflick dimostrò nel 1961 che le cellule coltivate umane diploidi fibroblasto-simili (*human diploid fibroblast-like cells*, "HDF"), ricavate da una varietà di tessuti normali, hanno un finito potenziale di crescita *in vitro*, vale a dire si dividono solo un numero finito di volte ("limite di Hayflick") [Hayflick e Moorhead 1961; Hayflick 1965].

Inoltre fu dimostrato che le HDF del feto presentano un numero potenziale di duplicazioni cellulari significativamente più grande (circa 50) delle cellule derivate da tessuti adulti (20-30 duplicazioni) [Hayflick e Moorhead 1961]. Le HDF ricavate dalla pelle di donatori di diversa età mostrava una riduzione del potenziale di duplicazioni di 0,2 duplicazioni per anno di vita [Martin et al. 1970]. Un declino nel potenziale di crescita fu descritto per le colture di cheratinociti dell'epidermide [Rheinwald e Green 1975], per le cellule muscolari lisce delle arterie [Bierman 1978] e per le cellule epiteliali del cristallino [Tassin et al. 1979]. Fu poi descritta una relazione positiva tra il potenziale di crescita delle colture di HDF e la longevità della specie da cui le cellule erano derivate [Röhme 1981].

Nel 1976 il limite di Hayflick fu documentato anche *in vivo* [Schneider e Mitsui 1976].

Già nel 1975 fu dimostrato che il meccanismo sconosciuto che limitava il numero di duplicazioni si trovava nel nucleo [Wright e Hayflick 1975].

Comunque, era noto dal 1971 che l'enzima DNA polimerasi non era in grado di duplicare per intero una molecola di DNA e che pertanto una piccola parte terminale della molecola rimaneva non duplicata a ogni replicazione [Olovnikov 1971; Watson 1972]. Negli stessi anni, Olovnikov ipotizzò che l'accorciamento della molecola di DNA in ogni duplicazione dopo un certo numero di volte poteva bloccare la capacità di replicazione cellulare e che ciò poteva spiegare il limite di Hayflick [Olovnikov 1973].

Nel 1978, la parte terminale della molecola di DNA, definita telomero, che in ogni replicazione si accorcia [Harley et al. 1990], fu dimostrata essere, in una specie di protozoi, una semplice sequenza di nucleotidi, TTGGGG, ripetuta molte volte [Blackburn e Gall 1978]. Successivamente, si dimostrò per i mammiferi, uomo compreso, che la sequenza ripetitiva era solo di poco differente (TTAGGG) [Moyzis et al. 1988] ma era identica a quella dei funghi mucilluginosi, dei tripanosomi, e di altri vertebrati e invertebrati [Blackburn 1991]. La conservazione della sua struttura nel corso dell'evoluzione, condivisa perfino tra mammiferi e animali unicellulari, indicava con certezza la sua grande importanza.

Comunque, se il limite di Hayflick aveva origine nell'accorciarsi del telomero a ogni replicazione, era indispensabile una spiegazione per le cellule con un numero illimitato di replicazioni. Fu pertanto ipotizzata l'esistenza di un enzima che doveva ripristinare l'integrità del telomero per spiegare la capacità illimitata di duplicazioni in tali cellule [Olovnikov 1973]. Qualche anno più tardi fu scoperto l'enzima telomerasi che allungava i telomeri [Greider e Blackburn 1985] e l'ipotesi della sua funzione fu confermata nell'uomo dalla sua presenza nelle linee cellulari immortali [Morin 1989].

Si dimostrò che questo enzima era represso da proteine regolatrici [van Steensel B. e de Lange T. 1997] e che inoltre la disattivazione della telomerasi causava l'accorciamento del telomero e la riduzione del potenziale di crescita di una coltura [Yu et al. 1990]. Al contrario l'attivazione della telomerasi provocava l'allungamento del telomero e rendeva immortale un clone cellulare [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; De Lange e Jacks 1999].

Gradualità del blocco delle capacità replicative in una popolazione cellulare. La semplice interpretazione che le cellule con telomerasi attiva hanno una capacità illimitata di duplicazione, mentre le cellule con telomerasi inattiva mostrano una capacità limitata di replicazione, strettamente proporzionale alla lunghezza del telomero, era imperfettamente supportata dai dati empirici e un modello più sofisticato ma anche più realistico fu suggerito da Blackburn in una rassegna [Blackburn 2000]. In verità, se il potenziale di crescita delle cellule somatiche fosse strettamente proporzionale alla lunghezza del telomero, esso sarebbe del tutto non indebolito fino a una lunghezza critica, mentre al di sotto di questa lunghezza, vale a dire dopo un certo numero di replicazioni, vi dovrebbe essere un improvviso crollo del potenziale di crescita. Ma le popolazioni cellulari mostrano una riduzione progressiva del potenziale di crescita che inizia da età precoci, il che vuol dire che per singole cellule, persino quelle con telomeri della massima lunghezza, il passaggio dalla condizione “ciclica” (duplicazione possibile) alla condizione “non ciclica” (duplicazione impossibile) è casuale [Pontèn et al. 1983; Jones et al. 1985]. Nell’anzidetta rassegna, fu suggerito (“ipotesi di Blackburn”) che il telomero può oscillare tra due stati: “incappucciato” da particolari nucleoproteine protettive e “non incappucciato”. Il cappuccio preserva l’integrità fisica del telomero, permettendo di procedere nella divisione cellulare. Il distacco del cappuccio occorre normalmente nelle cellule in divisione, indipendentemente dalla lunghezza del telomero, ma la probabilità di ritornare alla condizione incappucciata è proporzionale alla lunghezza del telomero. Inoltre, la condizione non incappucciata, quanto più si protrae, con tanta maggiore probabilità può suscitare il passaggio alla condizione “non ciclica” (Figura 6).

Imperfetta relazione tra la lunghezza del telomero e il limite di Hayflick. Per controbattere alla possibile obiezione che specie con lunghi telomeri come il topo e il criceto [Slijepcevic e Hande 1999] invecchiano precocemente, è necessario sottolineare che l’ipotesi di Blackburn non implica, per differenti specie, un rapporto fisso tra la lunghezza del telomero e la stabilità del complesso telomero-nucleoproteine che lo incappucciano. Si può facilmente ipotizzare che la stabilità del complesso e, più in generale, la modulazione della funzione telomero-telomerasi è differente per ciascuna specie [Fosset 2004].

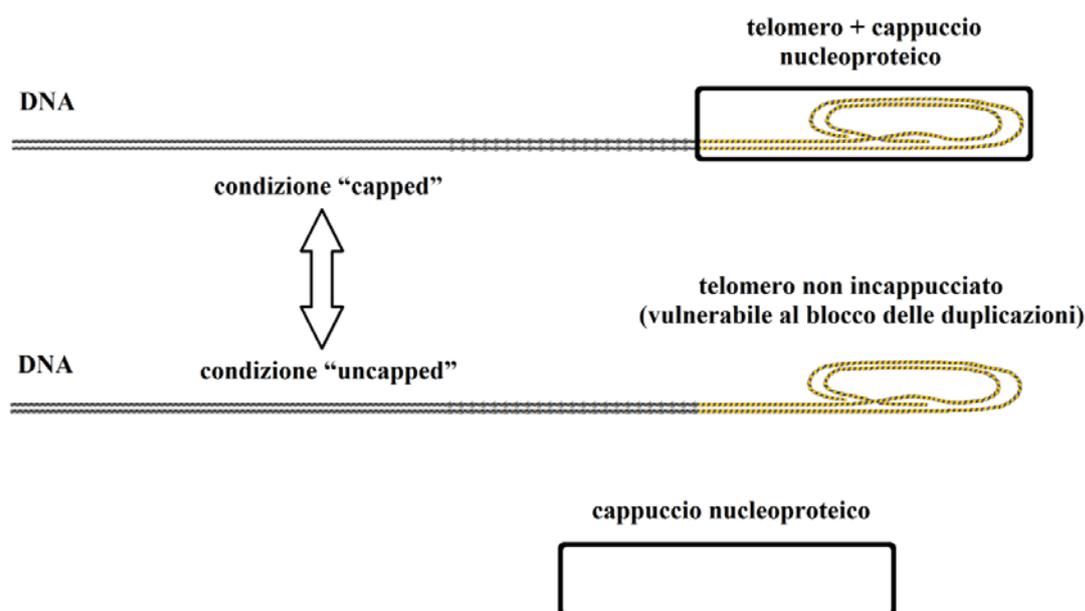


Figura 6 – Il telomero oscilla tra due condizioni: “capped” (incappucciato da un complesso nucleoproteico) e “uncapped” (non incappucciato). La probabilità di essere nello stato “uncapped” cresce in proporzione all’accorciamento del telomero a ogni duplicazione. Nella condizione “uncapped”, il telomero è visto dalla cellula come un capo libero e ciò può causare una fusione tra due capi liberi che blocca le capacità di duplicazione cellulare.

Comunque, secondo questo modello e con il sostegno delle anzidette osservazioni, una popolazione cellulare con telomerasi inattiva e con telomeri inizialmente nella loro massima lunghezza, mostra fin dall’inizio una graduale riduzione delle capacità di duplicazione. Questa graduale riduzione delle capacità di duplicazione è all’inizio minima, ma poi man mano accelera. Inoltre, perfino popolazioni cellulari con la telomerasi attiva e pertanto con i telomeri sempre nella loro lunghezza massima, dovrebbero mostrare una piccola percentuale di cellule che a ogni divisione passano alla condizione non ciclica. Le cellule staminali, a differenza delle cellule germinali, hanno livelli di attività telomerasica che sono solo in parte capaci di stabilizzare la lunghezza del telomero [Holt et al. 1996] e pertanto *in vivo* non potrebbero rimpiazzare senza limiti gli elementi differenziati che sono in rinnovo nelle popolazioni cellulari [Fossel 2004].

Senescenza cellulare. In correlazione con il progressivo accorciarsi del DNA del telomero, l’espressione di molti geni tra quelli che sono

abituamente espressi nella cellula incomincia a essere compromessa, alterando la complessiva funzionalità cellulare e, di conseguenza, le funzioni della sostanza intercellulare e di altre cellule vicine o fisiologicamente interdipendenti. E' stato documentato largamente e con certezza che questo decadimento delle funzioni cellulari (senescenza cellulare) e la progressiva riduzione delle capacità di duplicazione cellulare fino al suo blocco (senescenza replicativa), in qualche modo dipendono dall'accorciamento relativo del DNA telomerico ("modello ristretto della senescenza cellulare" di Fossel) [Fossel 2004].

A riguardo del meccanismo di questa graduale alterazione dell'espressione genica: "Un modello del legame fra telomero ed espressione genica è un'alterata struttura del cromosoma (Ferguson et al., 1991), come ad esempio un 'cappuccio' eterocromatinico che copre il telomero e una parte variabile del cromosoma subtelomerico (Fossel, 1996; Villeponteau, 1997; Wright et al., 1999). Man mano che il telomero si accorcia, il cappuccio scivola sempre più lungo il cromosoma (il cappuccio eterocromatinico rimane invariante come dimensione e semplicemente si muove con il capo terminale del cromosoma che si riduce di lunghezza) oppure il cappuccio si accorcia (poiché il telomero è meno in grado di trattenere l'eterocromatina). In entrambi i casi, il risultato è un'alterazione della trascrizione dalle parti del cromosoma immediatamente adiacenti al complesso telomerico, di regola causando silenzio trascrizionale, sebbene il controllo è senza dubbio più complesso del semplice effetto dovuto alla contiguità del telomero (Aparicio e Gottschling, 1994; Singer et al., 1998; Stevenson e Gottschling, 1999). Questi geni resi silenti possono a loro volta modulare altri e più distanti geni (o gruppi di geni). Vi è qualche diretta evidenza per tale modulazione nel subtelomero ..." [Fossel 2004] (Figura 7).

E' verosimile che il "cappuccio" proteico e le "nucleoproteine che incappucciano" siano la stessa cosa in quanto: 1) agiscono nella stessa parte del cromosoma; 2) l'attivazione della telomerasi determina sia l'allungamento del telomero con immortalizzazione della cellula sia il pieno annullamento delle manifestazioni della senescenza cellulare [Bodnar et al 1998; Counter et al. 1998; de Lange e Jacks 1999].

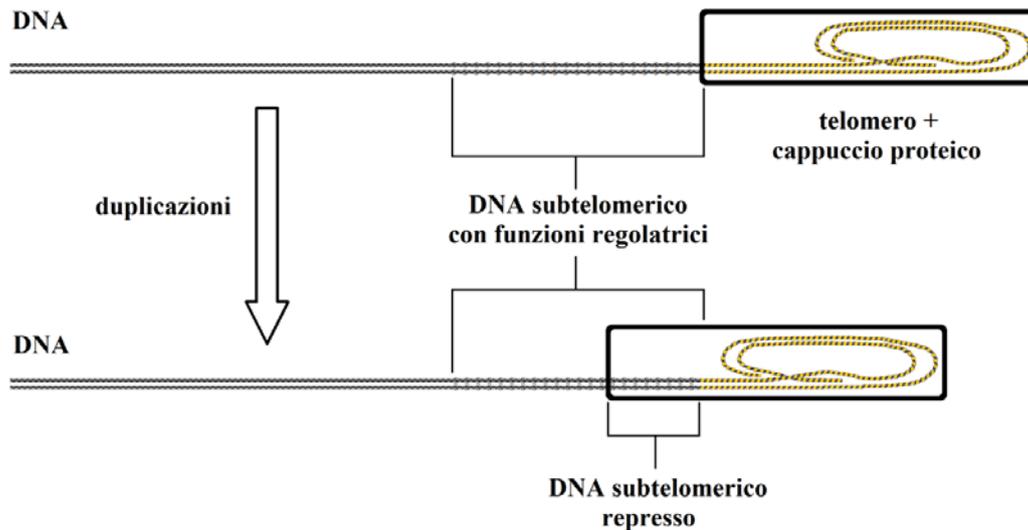


Figura 7 - Con il progressivo accorciarsi del telomero l'espressione di molti geni risulta essere compromessa. E' verosimile che vicino al telomero vi sia un tratto di DNA che regola la funzionalità complessiva della cellula e che, con l'accorciamento del telomero, il cappuccio proteico alteri questa regolazione [Fossel 2004].

L'azione del DNA subtelomerico, il quale è di grande importanza per la complessiva funzionalità cellulare, è direttamente compromessa dall'accorciamento del telomero e ciò è dovuto alla sua posizione nelle immediate adiacenze del telomero. Ciò sarebbe evolutivamente illogico e inspiegabile se non si accetta l'ipotesi che quest'apparente "illogicità" contribuisce ai meccanismi favoriti dalla selezione naturale per determinare il decadimento della fitness correlato con l'età.

Il reset dell'orologio telomerico. La fecondazione che ha successo, sia nella riproduzione normale sia negli animali clonati, richiede il reset dell'"orologio telomerico" [Fossel 2004]. In altre parole, le cellule germinali in qualche modo devono stabilire la lunghezza iniziale della sequenza telomerica, giacché qualsiasi successivo accorciamento di questa lunghezza accrescerà la probabilità della senescenza cellulare e della senescenza replicativa. Con un particolare meccanismo, che è immaginabile (Figura 8), un telomero regola la sua futura funzionalità senza il condizionamento della sua lunghezza iniziale, il cui valore è "largamente irrilevante" [Fossel 2004]: due ceppi di topo (*Mus*), uno con telomeri lunghi (20 kb) e l'altro con telomeri corti (10 kb), hanno eguale durata della vita e simili

alterazioni progressive nelle modalità di espressione dei geni. Lo stesso è vero per gli animali donatori e gli animali clonati, i quali sono derivati da cellule con telomeri di lunghezza ridotta [Fossel 2004].

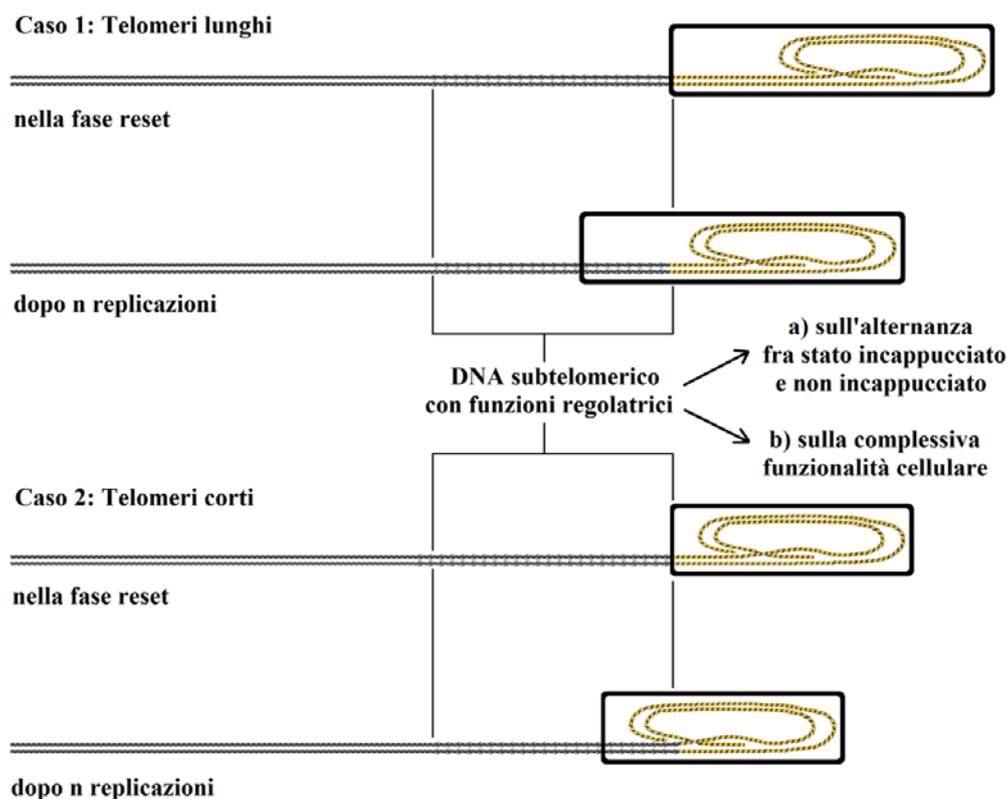


Figura 8 – Nel resettare l’ “orologio telomerico”, la lunghezza assoluta del telomero è “largamente irrilevante” [Fossel 2004]. Durante la fase di reset, la lunghezza del cappuccio proteico dovrebbe essere modellata in proporzione alla lunghezza del telomero e rimanere fissa per tutta la durata della vita della cellula germinale e delle cellule che ne derivano dalle sue successive duplicazioni. Se il DNA subtelomerico regola sia la funzionalità complessiva della cellula (senescenza cellulare quando è compromessa al massimo) sia l’equilibrio fra le fasi capped/uncapped del telomero (senescenza replicativa quando l’equilibrio si rompe per il blocco del telomero), ciò potrebbe spiegare la larga irrilevanza della lunghezza iniziale del telomero per quanto riguarda le conseguenze del suo successivo accorciarsi. In base a questo modello, le probabilità di senescenza replicativa e la gradualità delle alterazioni delle funzioni cellulari dopo ogni duplicazione è proporzionale al progressivo silenziamento del DNA subtelomerico e in funzione di una modalità preordinata, tipica della specie e della cellula.

Il caso dei topi con telomerasi inattivata. Nel confronto con gli umani, i topi e altri animali hanno una durata della vita assai più corta ma anche telomeri più lunghi [Slijepcevic e Hande 1999] e un'attività telomerasica di base nella maggior parte delle cellule somatiche [Prowse e Greider 1995]. Inoltre, in topi con telomerasi geneticamente disattivata (*knockout* o *mTR^{-/-}mice*) da quattro [Herrera et al. 1999] a sei [Blasco et al. 1997] generazioni sono necessarie prima che la vitalità e la fertilità siano compromesse, anche se disfunzioni in organi con cellule altamente proliferative sono mostrate nelle precedenti generazioni [Lee et al. 1998; Herrera et al. 1999]. Questo fenomeno apparentemente paradossale è facilmente spiegabile con il modello illustrato nella Figura 8, come spiegato nella Figura 9.

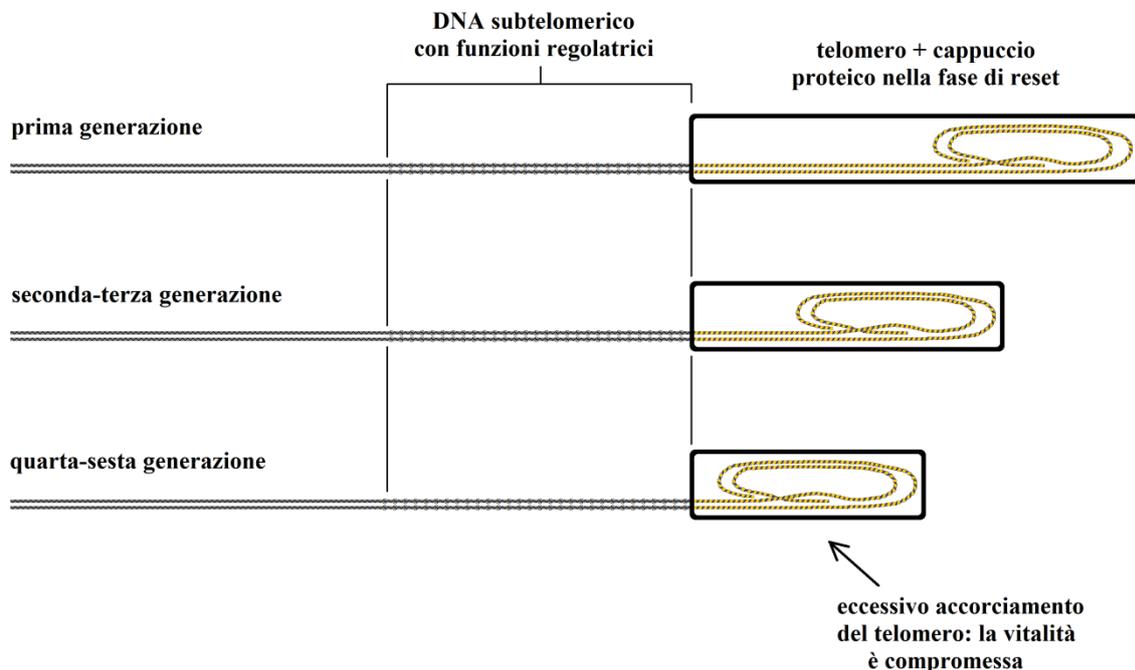


Figura 9 - In base al modello della Figura 8, nei topi con telomerasi geneticamente inattivata (knockout mice), la lunghezza del cappuccio proteico, modellato nella fase di reset, è proporzionale alla lunghezza del telomero cosicché la funzionalità del telomero non dipende dalla sua lunghezza. La breve durata della vita dei topi potrebbe essere spiegabile con una scarsa stabilità del complesso telomero + cappuccio proteico.

Con queste precisazioni, il sistema telomero-telomerasi appare essere un meccanismo altamente sofisticato, geneticamente determinato e regolato, con un'importanza chiave per le capacità di duplicazione cellulare.

La morte cellulare programmata

Una cellula può morire per necrosi a causa di un evento accidentale (ferita, stress meccanico, infezione, ischemia, etc.), o per una forma di “morte cellulare programmata” (MCP). La cheratinizzazione di una cellula dell’epidermide o di un capello è una forma di MCP. L’apoptosi è un’importante forma di MCP caratterizzata da un ordinato processo di autodistruzione e dall’eliminazione non dannosa dei frammenti cellulari che, fra le altre cose, la distingue dalla necrosi (si veda la Tabella 1).

Tabella 1 - Alcune differenze fra necrosi e apoptosi

Necrosi	Apoptosi
Processo patologico causato da alterazioni non fisiologiche (ad esempio, lesioni esterne, fattori infiammatori, virus litici, ipotermia, ipossia, etc.)	Processo fisiologico e finemente regolato che richiede un’attivazione (ad esempio, mediante l’enzima caspasi) e fasi regolate da enzimi
Processo passivo senza alcuna richiesta energetica	Processo attivo che ha bisogno di energia
Rigonfiamento degli organelli e dell’intera cellula; condensazione cromatinica screziata; frammentazione casuale del DNA	Condensazione della cellula, degli organelli e della cromatina; frammentazione non casuale del DNA
Perdita dell’integrità della membrana cellulare con rilascio del contenuto della cellula	Rigonfiamento della membrana cellulare senza perdita dell’integrità
Al termine, totale lisi cellulare; gli organelli non sono funzionali	La cellula si suddivide in corpi apoptotici circondati da membrane; gli organelli sono ancora funzionali
Significativa risposta infiammatoria	Nessuna risposta infiammatoria

Il fenomeno fu descritto per la prima volta e chiaramente distinto dalla necrosi nell’osservazione degli epatociti di un fegato normale [Kerr et al.

1972] (Figura 10). Comunque, l'apoptosi è filogeneticamente molto antica e una forma di apoptosi è anche una caratteristica di specie eucarioti unicellulari come *Saccharomyces cerevisiae* [Laun et al. 2007; Kaeberlein et al. 2007].

La morte cellulare selettiva e programmata mediante apoptosi è un elemento fondamentale dello sviluppo degli organi delle specie multicellulari ed è un importante elemento nelle interazioni dei linfociti e in molti meccanismi fisiologici e patologici. Una funzione chiave dell'apoptosi nei vertebrati è legata al rinnovo cellulare nei tessuti e negli organi dell'adulto sano [Wyllie et al. 1980; Lynch et al. 1986; Medh e Thompson 2000], come documentato per molti di essi (ad esempio, cellule epiteliali delle vie biliari [Harada et al. 2000]; gliociti nel tessuto nervoso [Pontèn et al. 1983], reni [Cardani e Zavanella 2000], β -cellule del pancreas [Finegood et al. 1995], fegato [Benedetti et al. 1988], tiroide [Dremier et al. 1994], cellule epiteliali alveolari di tipo II nei polmoni [Sutherland et al. 2001], cartilagine [Héraud et al. 2000], prostata [Xia et al. 2001], adipociti [Prins e O'Rahilly 1997], ossa [Spelsberg et al. 1999], muscolo scheletrico [Migheli et al. 1997; Pollack e Leeuwenburgh 2001]).

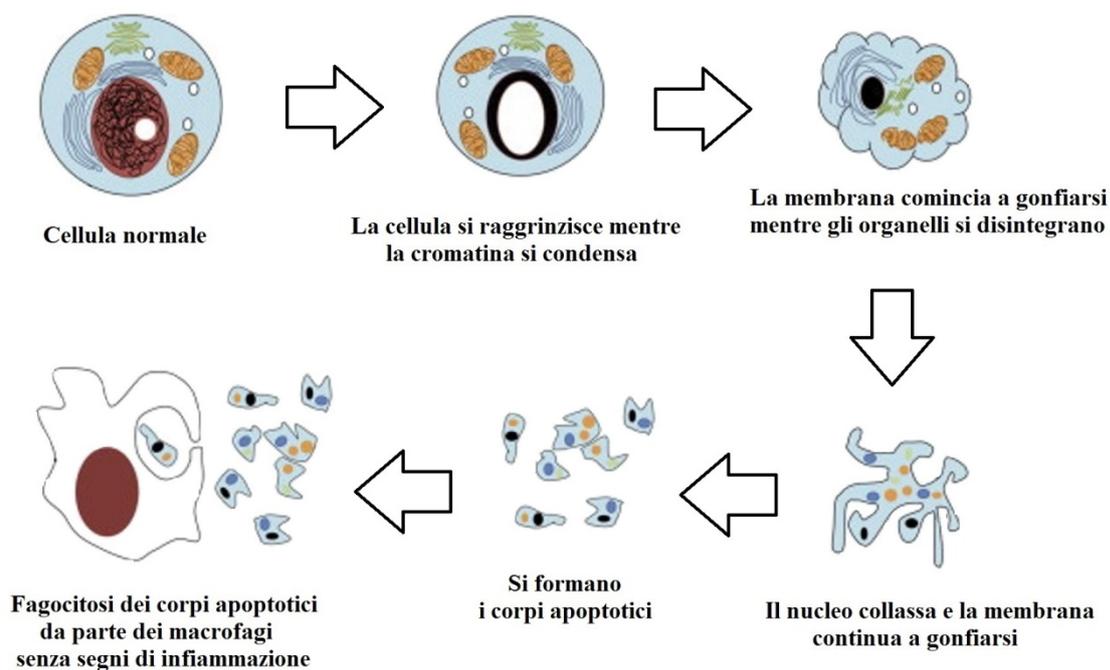


Figura 10 – Schema del fenomeno dell'apoptosi.

Il ricambio (turnover) cellulare

“Ogni giorno circa 50-70 miliardi di cellule muoiono in un adulto medio come effetto della morte cellulare programmata (MCP). La morte cellulare nei tessuti che si autorinnovano, come la pelle, l’intestino, e il midollo osseo, è necessaria per fare spazio ai miliardi di cellule che sono prodotti ogni giorno. E’ così massiccio il flusso delle cellule attraverso i nostri corpi che, in un anno normale, ognuno di noi produrrà e, in parallelo, eradicherà, una massa di cellule eguale quasi all’intero peso del nostro corpo” [Reed 1999] (Figura 11).



Figura 11 - Un gran numero di cellule è eliminato ogni giorno mediante apoptosi. Un Collega medico commentò che questo ricorda la strage degli innocenti (in un dipinto di Simonetta Rubinato).

Per molti tessuti, l’eliminazione delle cellule (ad esempio, gli eritrociti) si completa con la rimozione da parte di macrofagi o con il distacco dalla superficie del corpo (ad esempio epidermide, epitelio dell’intestino), ma per molti altri tessuti e organi, spesso considerati permanenti nella loro composizione cellulare, vi è una continua perdita di cellule per apoptosi.

Proprio in un organo, il fegato, apparentemente stabile come composizione cellulare, in un soggetto adulto sano, l'apoptosi fu descritta per la prima volta [Kerr et al. 1972].

La continua morte di cellule per effetto della MCP è bilanciata da una pari proliferazione di opportune cellule staminali, che è regolata e limitata dal sistema telomero-telomerasi.

Il ricambio cellulare è una caratteristica generale dei vertebrati, ma non di tutti gli animali (ad esempio, lo stadio adulto del verme *Caenorhabditis elegans* ha un numero fisso di cellule).

In breve, almeno per i vertebrati, abitualmente si distinguono tre categorie di cellule:

1 – Quelle con un forte ricambio: ad esempio, le cellule delle cripte intestinali [Andreeff et al. 2000];

2 – Quelle con moderato ricambio: ad esempio, le cellule degli strati profondi della cute e le cellule endoteliali [Marciniak e Guarente 2001], i miociti cardiaci (“Persiste come credenza generale che il numero dei miociti nel cuore è definito alla nascita e che queste cellule durano per tutta la vita ... Ma i miociti non vivono indefinitamente - hanno una vita limitata negli uomini e nei roditori. La perdita di cellule e la proliferazione di miociti sono parte integrante della normale omeostasi ... Il cuore anziano è caratterizzato da una riduzione nel numero delle cellule e dall'ipertrofia dei rimanenti miociti, e quest'aspetto è stato usato per argomentare contro la formazione di nuovi miociti. Ma senza la rigenerazione cellulare i tassi di mortalità cellulare comporterebbero che tutti i miociti morirebbero durante i primi mesi della vita di un roditore. Ad esempio, il ventricolo sinistro di un giovane ratto contiene 13×10^6 miociti, e in qualsiasi momento 200 miociti stanno morendo per apoptosi e 93.000 per necrosi. Poiché l'apoptosi è completata in quasi 4 ore e la necrosi in circa 24 ore, in un giorno 94.200 miociti sono persi. Pertanto $2,83 \times 10^6$ cellule morirebbero in un mese, e il totale dei 13×10^6 miociti ventricolari scomparirebbe in 5 mesi.” [Anversa e Nadal-Ginard 2002]), i miociti dei muscoli (Le cellule staminali da muscoli di vecchi roditori si dividono in coltura meno di cellule da muscoli di giovani roditori [Schultz e Lipton 1982]; un muscolo trapiantato soffre per ischemia e completa degenerazione e poi vi è una completa rigenerazione per azione di cellule staminali dei miociti dell'ospite che è più debole negli animali più vecchi [Carlson e Faulkner

1989]; vi è evidenza che l'apoptosi è una caratteristica nelle fibre del muscolo in molte malattie come l'insufficienza cronica del cuore e la distrofia muscolare di Duchenne [Adams et al. 2001], la quale raggiunge il suo termine fatale quando si esaurisce la capacità replicativa delle cellule staminali dei miociti.)

3 – Quelle senza alcun ricambio, ad esempio i neuroni, con poche possibili eccezioni [Horner e Gage 2000], ma che hanno sempre dipendenza metabolica da gliociti che sono cellule soggette a ricambio [Fossel 2004].

La sindrome atrofica. In correlazione con un significativo accorciamento medio del DNA telomerico, in base al “modello limitato della senescenza cellulare” di Fossel [Fossel 2004], un tessuto o un organo dovrebbe mostrare una “sindrome atrofica” con le seguenti caratteristiche:

- a) ridotta capacità media di duplicazione cellulare (senescenza replicativa di una parte delle cellule);
- b) ridotto numero delle cellule (atrofia nel numero delle cellule);
- c) rallentato ricambio cellulare;
- d) possibile sostituzione delle cellule specifiche mancanti con cellule non specifiche;
- e) ipertrofia delle rimanenti cellule specifiche;
- f) funzioni alterate delle cellule con telomeri accorciati o definitivamente nello stato non ciclico (senescenza cellulare);
- g) vulnerabilità al cancro a causa della disfunzione indotta dal telomero [DePinho 2000].

Uno schema per il rinnovo cellulare. Il ricambio cellulare può essere schematizzato come segue (sebbene ovviamente la modulazione di questo rinnovo varierà in base al tipo di cellula) (Figura 12):

- Le cellule staminali con telomerasi attiva si dividono e danno origine a cellule staminali di livello inferiore o a cellule somatiche con capacità di replicazione ma con telomerasi inattivata;
- Cellule somatiche con capacità di replicazione ma con la telomerasi disattivata danno origine a cellule somatiche differenziate senza alcuna capacità di replicazione e, dopo un variabile numero di duplicazioni e mostrando un progressivo decadimento complessivo delle funzioni

(senescenza cellulare graduale), passano dallo stato ciclico a quello non ciclico;

- Cellule somatiche nello stato non ciclico (senescenza replicativa) con decadimento massimo delle funzioni.

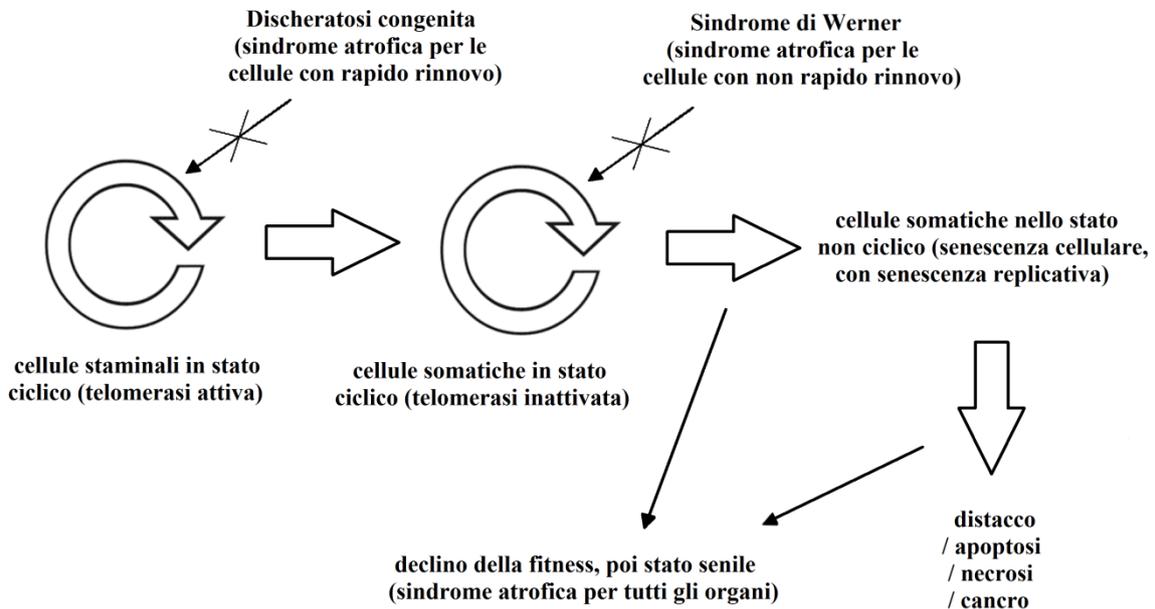


Figura 12 – Le cellule staminali con telomerasi attiva si dividono e danno origine a cellule somatiche con capacità replicativa ma con la telomerasi inattivata. Cellule somatiche non più capaci di riprodursi (cioè nello stato non ciclico) sono originate da queste. La senescenza replicativa e la compromissione delle funzioni cellulari contribuiscono al declino della fitness che nelle sue espressioni più evidenti diventa lo stato senile.

Due patologie dell'invecchiamento:

la discheratosi congenita e la sindrome di Werner

La “sindrome atrofica” per disfunzione delle cellule staminali nello stato ciclico o delle cellule somatiche nello stato ciclico dovrebbe essere osservabile rispettivamente nelle cellule con alto e moderato ricambio, mentre nell’età anziana, vale a dire nello “stato senile” [Williams 1957], dovrebbe essere osservabile in tutte le cellule e i tessuti.

Infatti, la discheratosi congenita, una rara malattia umana ereditaria [Dokal 2000], è un eccellente modello della disfunzione delle cellule staminali nello stato ciclico [Marciniak e Guarente 2001]. Analogamente, la

sindrome di Werner è un prototipo della disfunzione delle cellule somatiche nello stato ciclico, come illustrato in una rassegna [Martin e Oshima 2000]. Le differenze cruciali tra le due sindromi sono state abilmente messe in evidenza [Marciniak e Guarente 2001].

La discheratosi congenita. Una forma autosomica dominante di *discheratosi congenita* (DC) è causata da mutazioni nel gene che codifica la parte RNA della telomerasi [Vulliamy et al. 2001], mentre nella forma della malattia collegata al cromosoma X, i livelli di telomerasi sono bassi e i telomeri sono più corti del normale [Mitchell et al. 1999]. “I problemi tendono a verificarsi nei tessuti in cui le cellule si moltiplicano rapidamente - cute, unghie, capelli, intestino e midollo osseo - con la morte che in genere sopraggiunge come risultato del venir meno del midollo osseo.” [Marciniak e Guarente 2001]

I difetti nella DC sono presenti nei tessuti che hanno rapidi ritmi di ricambio cellulare, compresi quelli del sistema sanguigno e le cripte intestinali, dove l'attività telomerasica è stata rilevata [Marciniak e Guarente 2001].

I pazienti affetti da DC soffrono anche per una più alta incidenza di cancro che può essere analogamente spiegata dalla mancanza di telomerasi che causa instabilità dei cromosomi [De Lange e Jacks 1999; Artandi et al. 2000; Artandi 2002].

“Per contrasto, alcuni tessuti che hanno la capacità di rinnovo cellulare, ma non presentano un continuo ricambio cellulare, non esprimono la telomerasi nelle loro cellule progenitrici. Sono questi tessuti - come ad esempio gli strati profondi della pelle o il rivestimento dei vasi sanguigni - che ci potremmo aspettare che soffriranno di più per l'esaurimento dei telomeri associato con l'età, in quanto non hanno alcuna abilità di rigenerare i telomeri.

Questi tessuti sarebbero anche grandemente affetti da difetti in altre vie metaboliche che preservano i telomeri, come i processi di ricombinazione del DNA. Questo potrebbe spiegare perché nella sindrome di Werner, in cui è alterato un enzima coinvolto in reazioni che interessano il DNA, si ha una versione del normale invecchiamento (benché prematura) più che nella discheratosi congenita. Nei soggetti con discheratosi congenita e nei topi deficitari di telomerasi, è nei tessuti che normalmente esprimono la telomerasi dove ci si può aspettare maggiore sofferenza per la sua perdita, e questo risulta essere il caso.” [Marciniak e Guarente 2001]

Questi concetti sono riassunti nella Tabella 2.

Tabella 2 - Alterazioni nella discheratosi congenita

Organo	Cellule che esprimono la telomerasi	Difetti nella discheratosi congenita
Capelli	Follicolo pilifero	Alopecia
Cavità orale	Epitelio squamoso	Leucoplachia
Cute	Strato basale dell'epidermide	Pigmentazione anormale, distrofia ungueale
Polmoni	Cellule alveolari epiteliali di tipo 2	Fibrosi
Fegato	?	Cirrosi
Intestino	Cripte intestinali	Disturbi intestinali
Testicolo	Spermatogoni	Ipogonadismo
Midollo osseo	Cellule staminali progenitrici	Declino nella produzione di cellule del sangue



Figura 13 – Due casi di sindrome di Werner.

La sindrome di Werner (Figura 13). Questa malattia è dovuta alla disfunzione di un componente della famiglia RecQ delle elicasi [Yu et al. 1996] che causa una disfunzione delle cellule somatiche nello stato ciclico. In questa sindrome le cellule mostrano alti tassi di mutazioni somatiche, in particolare delezioni [Fukuchi et al. 1989], e una limitata capacità di replicazione [Martin et al. 1970].

I pazienti con sindrome di Werner non mostrano alcuna fase di recupero della crescita e presentano una ridotta statura, prematuro invecchiamento e assottigliamento dei capelli, atrofia della pelle, atrofia regionale del tessuto sottocutaneo, cambiamenti della voce (debole, con toni acuti), ridotta fertilità (dalla terza decade), prematura atrofia testicolare (dalla mezza età), probabilmente una perdita accelerata dei follicoli ovarici primordiali, cataratta (dall'inizio della quarta decade), ulcerazioni intorno ai tendini di Achille e ai malleoli, osteoporosi, diabete mellito di tipo 2, una varietà di neoplasie benigne e maligne, arteriosclerosi, arteriolosclerosi e aterosclerosi, atrofia del muscolo scheletrico, e morte in genere per infarto del miocardio o per cancro [Martin e Oshima 2000], ma "... nessuna evidenza convincente di invecchiamento prematuro nel sistema nervoso centrale (SNC)" [Martin e Oshima 2000]. Il rapporto tra sarcomi e carcinomi è di circa 1:1, confrontato con il rapporto 1:10 nella popolazione anziana in generale [Goto et al. 1996], con origini in larga parte da cellule mesenchimali più da qualche altro organo come la tiroide, almeno in soggetti giapponesi [Martin e Oshima 2000]. Inoltre, "... la distribuzione dell'osteoporosi è insolita; le ossa lunghe degli arti inferiori possono esserne affette più severamente di quelle della colonna vertebrale. Altri insoliti aspetti radiologici comprendono una caratteristica osteosclerosi delle falangi distali e la calcificazione sottocutanea dei tessuti molli. Anche le ulcerazioni prima menzionate sono insolite e possono coinvolgere la cute intorno ai gomiti così come le caviglie." [Martin e Oshima 2000]

Tutte queste caratteristiche possono essere interpretate come una sindrome atrofica per le cellule con un ricambio non veloce, in conseguenza dell'anormalità nel metabolismo del DNA [Martin e Oshima 2000]. In particolare: 1) Sebbene il cristallino non ha cellule nella sua parte centrale, la sua funzionalità dipende dalle cellule epiteliali della lente che mostrano ricambio cellulare [Tassin et al. 1979]. "Molti ricercatori hanno evidenziato

alterazioni post-traslazionali di proteine di lunga vita del cristallino come la base per la cataratta oculare negli anziani. E' evidente nella sindrome di Werner che la cataratta deriva da alterazioni nelle cellule epiteliali del cristallino" [Martin e Oshima 2000], che è compatibile con la riduzione correlata con l'età dei potenziali di crescita delle cellule dell'epitelio del cristallino riportata per soggetti umani normali [Tassin et al. 1979]; 2) "Del massimo interesse, comunque, è la relazione fra l'anormalità nell'elicasi RecQ e una severa aterosclerosi. In analogia con le ulcerazioni della pelle viste nei soggetti con sindrome di Werner, forse una normale funzione delle elicasi è richiesta per l'efficace riparazione dei danni da stress emodinamico delle arterie. Tale riparazione potrebbe essere a livello della replicazione delle cellule endoteliali" [Martin e Oshima 2000] come suggerito per i soggetti non affetti da sindrome di Werner [Gimbrone 1999; Hill et al. 2003]; 3) La vulnerabilità al cancro può essere spiegata dall'accorciamento del telomero e dalla conseguente instabilità dei cromosomi [de Lange e Jacks 1999; Artandi et al. 2000; Artandi 2002] e questo effetto potrebbe essere manifesto per cellule con ricambio non alto come quelle di origine mesenchimale e per altre cellule come quelle della tiroide; 4) Le peculiarità dell'osteoporosi e delle ulcerazioni, l'osteosclerosi delle falangi distali, la calcificazione sottocutanea dei tessuti molli, le discontinuità dell'atrofia sottocutanea "... rispecchiano una risposta insolita a ripetuti e lievi traumi locali" [Martin e Oshima 2000], vale a dire una capacità di riparazione alterata causata dalle insufficienti capacità di duplicazione delle cellule necessarie per la riparazione; 5) le lesioni del SNC possono essere secondarie a patologia vascolare [Martin e Oshima 2000] ma potrebbero essere una conseguenza dell'atrofia della neuroglia [Fossel 2004]; 6) "L'atrofia del muscolo scheletrico è almeno in parte dovuta a disuso, ma un coinvolgimento primario del tessuto non si può ancora escludere." [Martin e Oshima 2000]; 7) Il diabete mellito di tipo 2 potrebbe essere una conseguenza dell'atrofia delle β -cellule, in quanto è stato suggerito, per lo stesso tipo di diabete in soggetti non affetti da sindrome di Werner, uno squilibrio fra tassi di apoptosi e di rigenerazione delle β -cellule [Bonner-Weir 2000; Cerasi et al. 2000].

In breve, la discheratosi congenita e la sindrome di Werner sono due casi modello di progeria segmentale, cioè con funzionalità alterata di solo una parte dei fenotipi cellulari [Fossel 2004]. Ad esempio, nella sindrome di Werner non vi è associazione con la malattia di Alzheimer, comunemente

osservata negli anziani. E' plausibile che una progeria non segmentale (cioè totale) sia del tutto incompatibile con la vita.

L'invecchiamento nell'uomo

Una semplice e spontanea ipotesi a riguardo dei meccanismi alla base delle alterazioni patofisiologiche negli individui anziani dei vertebrati, vale a dire per il "danno che risulta dai processi vitali intrinseci" [Masoro 1998] ossia "i cambiamenti dell'età" [Hayflick 2000] o i fenomeni che sono "universali nelle specie, degenerativi, progressivi e intrinseci" [Davies 1998], è stata dedotta: il più o meno precoce invecchiamento è la conseguenza della minore o maggiore capacità di replicazione cellulare, determinata geneticamente, e della correlata senescenza cellulare ("modello generale dell'invecchiamento basato sulla senescenza cellulare" di Fossel [Fossel 2004]).

Molti dati sperimentali sono a sostegno di questa ipotesi (ad esempio, per il topo, il soppressore tumorale p53, attivato da numerosi stimoli, induce apoptosi e arresto del ciclo cellulare, causando ridotta longevità, osteoporosi, generalizzata atrofia degli organi e una ridotta tolleranza allo stress [Tyner et al. 2002]).

Limitando la discussione alla specie umana e sfruttando la grande quantità di dati che per essa è disponibile, se l'ipotesi è vera, individui molto vecchi, cioè quelli che mostrano i "cambiamenti dell'età" nella loro forma estrema - escludendo "le malattie associate con l'età" e i danni da fattori estrinseci (rispettivamente le categorie 2 e 3 nella classificazione di Masoro del 1998 [Masoro 1998]) -, dovrebbero mostrare estesi e marcati segni di sindrome atrofica in tutti gli organi e tessuti.

Pertanto sarà necessario trascurare le alterazioni causate da malattie correlate con l'età e, per prudenza, i dati riferiti a organi nei quali le azioni ormonali sono rilevanti e tali da confondere la loro analisi (ghiandole endocrine, organi riproduttivi, etc.).

- Endotelio

La corretta funzionalità delle cellule endoteliali è essenziale per evitare l'aterogenesi e le sue complicazioni, come infarti cardiaci, ischemie cerebrali e altre malattie derivate dalla compromessa circolazione del sangue [Hill et al. 2003].

Il ricambio di queste importanti cellule è assicurato dalle cellule endoteliali progenitrici, originate dal midollo osseo, il cui numero è stato dimostrato essere inversamente correlato con l'età, ridotto dai fattori di rischio cardiovascolare (fumo di sigarette, diabete, ipertensione, ipercolesterolemia, etc.), e aumentato da farmaci come le statine, che proteggono l'integrità degli organi [Hill et al. 2003]. Inoltre, con correlazione negativa, il numero delle cellule endoteliali progenitrici è un predittore del rischio cardiovascolare eguale o più significativo del punteggio Framingham del rischio [Hill et al. 2003; Werner et al. 2005]. Nello stato senile le malattie derivanti da una compromessa funzione endoteliale crescono esponenzialmente in correlazione con l'età, anche se sono assenti altri fattori di rischio cardiovascolare [Tallis et al. 1998]. Questi fattori anticipano e amplificano il rischio [Tallis et al. 1998], mentre i farmaci con qualità di protezione d'organo, come statine [Davidson 2007], ACE-inibitori e sartani [Weir 2007a] contrastano i loro effetti.

- Cute

“Lo spessore dello strato corneo è immutato nell'anziano anche se il suo contenuto umido e la sua coesione sono ridotti in aggiunta a un aumento del tempo di rinnovo dello strato corneo quando è lesa. ... L'epidermide umana è altamente proliferativa ma in una condizione stabile dipendente, come per altre strutture che si autorinnovano, da cellule staminali indifferenziate che sono continuamente in lenta duplicazione. Queste cellule staminali sono localizzate entro il compartimento basale dell'epidermide - i cheratinociti non dentellati nelle punte delle creste della rete epidermica. La perdita delle creste della rete e il conseguente appiattimento della giunzione dermo-epidermica sono caratteristiche della pelle intrinsecamente invecchiata. Tale appiattimento determina una riduzione dell'area di superficie media della giunzione dermo-epidermica. Uno studio ha stimato la riduzione in mm^2 nell'area media della giunzione dermo-epidermica da 2,6 all'età fra i 21 e i 40 anni a 1,9 all'età fra i 61 e gli 80 anni. Questi cambiamenti sono accompagnati da una riduzione nei microvilli - proiezioni citoplasmiche dai cheratinociti basali nel derma. ... Il ritmo del ricambio dell'epidermide è ridotto nella pelle degli individui di 60 anni o più. ... I melanociti sono ridotti in numero nell'epidermide invecchiata intrinsecamente, sebbene le stime di questa riduzione variano da studio a studio in base alle metodologie usate per misurare i numeri dei

melanociti. Con questa riserva, la riduzione è dell'ordine dall'8 al 20 per cento per decade in confronto con la pelle di un giovane adulto. ... Il numero delle cellule di Langerhans è ridotto nell'epidermide invecchiata intrinsecamente, ... Gilchrist et al. hanno dimostrato che i soggetti con età fra i 62 e gli 86 anni hanno una riduzione del 42 per cento nel numero delle cellule di Langerhans nella pelle protetta dal sole in confronto con soggetti giovani di età fra 22 e 26 anni. ... I numeri dei fibroblasti del derma calano con l'età ... La pelle invecchiata è relativamente ipovascolarizzata, particolarmente per la perdita dei piccoli capillari che corrono perpendicolarmente alla giunzione dermo-epidermica e formano delle anse capillari. Questa mancanza è concomitante con la perdita delle creste della rete epidermica. I vasi sanguigni all'interno del derma reticolare sono ridotti in numero e le loro pareti sono assottigliate. ... Vi è approssimativamente una riduzione del 50 per cento nel numero dei mastociti nella pelle invecchiata intrinsecamente. ... Le ghiandole esocrine sono ridotte in numero e funzione nella pelle invecchiata. ... L'età probabilmente riduce e disorganizza l'innervazione della pelle; infatti, con l'età vi è approssimativamente una riduzione di due terzi nel numero dei corpuscoli del Pacini e di Meissner. ... I capelli, in particolare quelli del cuoio capelluto, si perdono con l'età in entrambi i sessi. ... Le unghie crescono più lentamente nell'anziano ... Lo studio dell'invecchiamento della pelle, in particolare come conseguenza della facile accessibilità del tessuto cutaneo rappresenta un modello per l'invecchiamento di altri organi." [Griffiths 1998]

- Occhi

“L'atrofia dei piani fasciali all'interno delle palpebre può portare all'erniazione del grasso orbitale nel tessuto della palpebra, formando le 'borse sotto gli occhi' abitualmente visibile nell'anziano. L'atrofia o la disinserzione dell'aponeurosi del muscolo elevatore della palpebra, che normalmente 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 del muscolo elevatore ... La funzione secretoria delle ghiandole lacrimali declina con l'età ...” [Brodie 1998]

Per il cristallino dell'occhio e le cellule fotorecetttrici, si veda nella sezione “Cellule o tessuti senza ricambio cellulare”.

- Tessuti e organi della bocca e della faccia

“Con l’età, i cambiamenti strutturali negli epitelii del cavo orale comprendono l’assottigliamento degli strati cellulari dell’epitelio (ad esempio, assottigliamento dell’epitelio della lingua), una diminuita cheratinizzazione, e la semplificazione della struttura epiteliale. ... Studi istologici delle ghiandole salivari invecchiate mostrano una perdita graduale degli elementi degli acini, un aumento relativo nella proporzione degli elementi dei dotti, un aumento negli infiltrati infiammatori, e un aumento nel tessuto fibroso e grasso.” [Devlin e Ferguson 1998]

“Il numero delle gemme gustative si riduce dopo l’età di 45 anni, con la conseguenza di una riduzione nelle sensazioni gustative ...” [Reinus e Brandt 1998]

- Apparato gastrointestinale

In soggetti con più di 60 anni, vi è un’accreciuta prevalenza di gastrite atrofica [Bird et al. 1997].

“Molti cambiamenti istologici sono stati dimostrati nel colon, compresa l’atrofia della *muscolaris propria* con una crescita nell’ammontare della fibrosi e dell’elastina, ...” [Tepper e Katz 1998]

“Usando materiale da autopsie, Chacko et al. (1969) trovarono che in una popolazione dell’India la forma dei villi cambiava con l’età. I soggetti più giovani avevano villi a forma di dito, ma la frequenza di villi larghi e di circonvoluzioni cresceva nei campioni da individui più anziani. Webster e Leeming (1975a) descrissero cambiamenti simili quando campioni freschi del digiuno da pazienti geriatriche erano confrontati con campioni di controllo da soggetti normali giovani. Essi riscontrarono che nell’anziano i villi più larghi erano più comuni, e inoltre che i villi erano significativamente più corti. ... Andrew e Andrew (1957) notarono un aumento nella quantità di tessuto fibroso tra le cripte di Lieberkuhn e una riduzione generale della cellularità nei topi più anziani. ... Lesher, Fry e Kohn (1961), Lesher e Sacher (1968) e Fry, Lesher e Kohn (1961), usando l’autoradiografia e la timidina tritiata, mostrarono un tempo di generazione prolungato per le cellule delle cripte duodenali negli animali anziani e un aumento del tempo di transito cellulare (cioè per la progressione delle cellule dalle cripte alle estremità dei villi). In conclusione, i possibili cambiamenti con l’età attesi nel piccolo intestino dell’uomo sono un aumento dell’ampiezza dei villi e una riduzione nella loro altezza. Questi

cambiamenti possono essere dovuti a una ridotta produzione cellulare.”
[Webster 1978]

Da quattro a sei cellule staminali per ogni cripta intestinale permettono il rinnovo dell'epitelio del digiuno [Barker et al. 2007].

- Fegato

Il volume del fegato declina con l'età [Marchesini et al. 1988], sia in valori assoluti sia in proporzione al peso del corpo [Wynne et al. 1989], e questa riduzione è stata stimata essere di circa il 37 per cento tra i 24 e i 91 anni [Marchesini et al. 1988]. Anche il flusso sanguigno del fegato si riduce con l'età, circa del 53 per cento tra i 24 e i 91 anni [Marchesini et al. 1988]. Ma, mentre il volume del fegato si riduce con l'età, il volume degli epatociti aumenta, a differenza che nell'atrofia del fegato causata dall'inedia [James 1998].

La cirrosi è lo stadio finale della distruzione cronica di epatociti causata da epatite, alcolismo o altri fattori. Quando le cellule staminali degli epatociti esauriscono le loro capacità di duplicazione, la struttura del fegato è radicalmente trasformata da un processo atrofico generale, con sostituzione degli epatociti con tessuto fibroso, spesso complicato da carcinomi derivanti dall'instabilità indotta dalla disfunzione dei telomeri [DePinho 2000; Artandi 2002].

- Diabete

La frequenza del diabete cresce in funzione dell'età [Harris et al. 1987]. Le β -cellule pancreatiche presentano ricambio cellulare [Finegood et al. 1995] ed è stato suggerito che il diabete di tipo 2 è causato dall'insufficiente sostituzione delle β -cellule uccise dallo stress metabolico [Bonner-Weir 2000; Cerasi et al. 2000]. Nella sindrome di Werner il diabete potrebbe essere causato dalla compromissione delle capacità replicative delle cellule staminali delle β -cellule con un insufficiente rimpiazzo delle β -cellule eliminate dall'apoptosi. Negli individui anziani normali, il progressivo esaurimento del rinnovo delle β -cellule potrebbe spiegare l'aumento progressivo correlato con l'età della malattia.

Farmaci efficaci nella cosiddetta “protezione di organo” (ACE-inibitori, sartani e statine) riducono il rischio di diabete [McCall et al. 2006; Ostergren 2007].

- Cuore

Nel cuore anziano vi è una perdita complessiva di miociti, con un progressivo incremento nel volume cellulare del miocita per nucleo [Olivetti et al. 1991]. “Con l’invecchiamento vi è anche una progressiva riduzione nel numero delle cellule segnapassi nel nodo del seno, con il 10 per cento del numero delle cellule presenti all’età di 20 anni rimanenti all’età di 75. ... L’ipertrofia ventricolare sinistra associata con l’età è causata da un incremento nel volume ma non nel numero dei miociti cardiaci. I fibroblasti vanno incontro a iperplasia, e il collagene si accumula nell’interstizio del miocardio.” [Aronow 1998]

Il declino delle capacità contrattili cardiache causa una dilatazione del cuore che nasconde la sottostante atrofia nel numero delle cellule contrattili.

Vi è anche “... un certo incremento nella quantità di tessuto fibroso e grasso nel miocardio atriale con una riduzione nel numero delle fibre muscolari, e una perdita delle fibre nella biforcazione del fascio principale di His, nella giunzione del fascio principale e nei suoi fascicoli di sinistra, con minore grado di perdita nelle branche dei fasci distali.” [Caird e Dall 1978]

I farmaci efficaci nella “protezione d’organo”, come ACE-inibitori, sartani e statine, sono efficaci nella prevenzione della fibrillazione atriale [Jibrini et al. 2008; Fauchier et al. 2008].

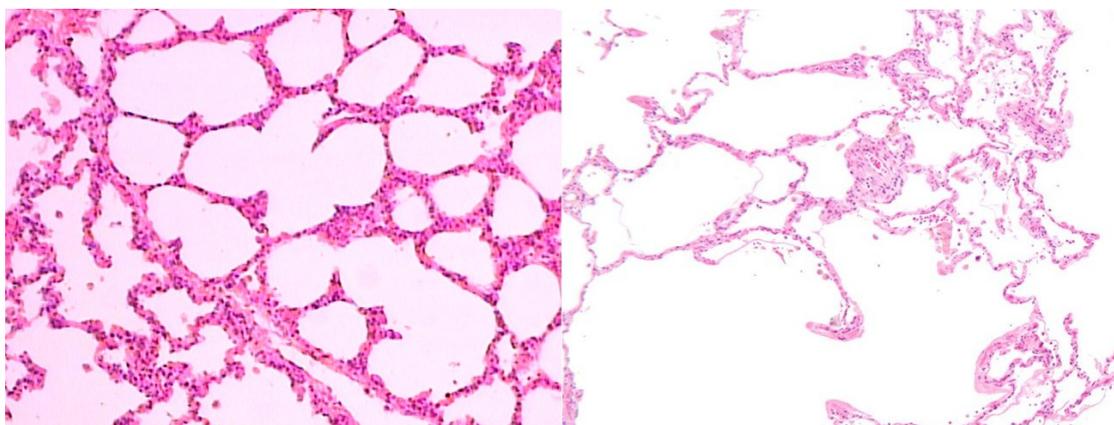


Figura 14 - Un polmone normale (a sinistra) in confronto con un polmone affetto da marcato enfisema (a destra).

- Polmoni

I volumi polmonari (FEV1, FVC) declinano con l’età [Enright al. 1993]. “Il più importante cambiamento correlato con l’età nelle vie aeree maggiori è

una riduzione nel numero delle cellule epiteliali delle ghiandole ... l'area occupata dagli alveoli crolla mentre gli alveoli e i dotti alveolari si allargano. La capacità della funzione residua, il volume residuo e la compliance aumentano. ..." [Connolly 1998] (Figura 14).

L'uso delle statine riduce il declino nelle funzioni polmonari [Alexeeff et al. 2007]. Ciò è stato spiegato come causato dalle loro proprietà antinfiammatorie e antiossidanti [Alexeeff et al. 2007], ma potrebbe essere la conseguenza di effetti sulle cellule epiteliali alveolari di tipo II analoghi a quelli sulle cellule endoteliali [Hill et al. 2003].

- Reni

"I cambiamenti nei reni causati dall'età sono manifestati macroscopicamente da una riduzione nel peso del rene e una perdita della massa parenchimale. Secondo Oliver, il peso medio dei due reni in differenti gruppi di età è come segue: 60 anni, 250 g; 70 anni, 230 g; 80 anni, 190 g. Il calo in peso nei reni corrisponde a un calo generale nelle dimensioni e nel peso di tutti gli organi. Microscopicamente, i cambiamenti che più colpiscono sono la riduzione nel numero e nelle dimensioni dei nefroni. La perdita della massa parenchimale porta a un allargamento degli spazi interstiziali tra i tubuli. Con l'età, vi è anche un aumento nel tessuto connettivo interstiziale. Il numero totale di glomeruli identificabili cala con l'età, pressappoco in accordo con i cambiamenti nel peso renale." [Jassal et al. 1998]

La microalbuminuria, un affidabile segnale di nefropatia è "predittiva, indipendentemente dai tradizionali fattori di rischio, per la mortalità da ogni causa e per quella cardiovascolare, e per gli eventi della malattia cardiovascolare entro gruppi di pazienti con diabete e ipertensione e nella popolazione generale ... Ciò può ... significare disfunzione endoteliale sistemica che predispone a futuri eventi cardiovascolari." [Weir 2007b], e ciò implica che i farmaci efficaci nella "protezione d'organo" dovrebbero tutelare anche la funzionalità renale.

- Muscolatura scheletrica

Vi è correlazione positiva tra l'età e l'atrofia muscolare, sia in termini di massa muscolare complessiva che come volume delle singole fibre [Grimby et al. 1982; Lexell et al. 1988].

“Questi cambiamenti sono in qualche misura dipendenti dalla disfunzione delle cellule delle corna anteriori del midollo che si verifica con l’età, ma ciò non spiega completamente il processo dell’atrofia senile. In studi dettagliati è stato dimostrato che la riduzione progressiva che con l’invecchiamento si verifica nel volume muscolare può essere rilevata dall’età di 25 anni e che fino al 10 per cento del volume muscolare è perso all’età di 50 anni. In seguito, il ritmo dell’atrofia del volume muscolare aumenta, di modo che a 80 anni quasi metà del muscolo è perso. ... La riduzione sia nel numero che nella taglia delle fibre è implicata nella perdita di volume muscolare.” [Cumming 1998]

Nella distrofia muscolare di Duchenne, vi è la distruzione cronica dei miociti che sono continuamente sostituiti per effetto delle cellule staminali finché la loro azione non si esaurisce [Adams et al. 2001].

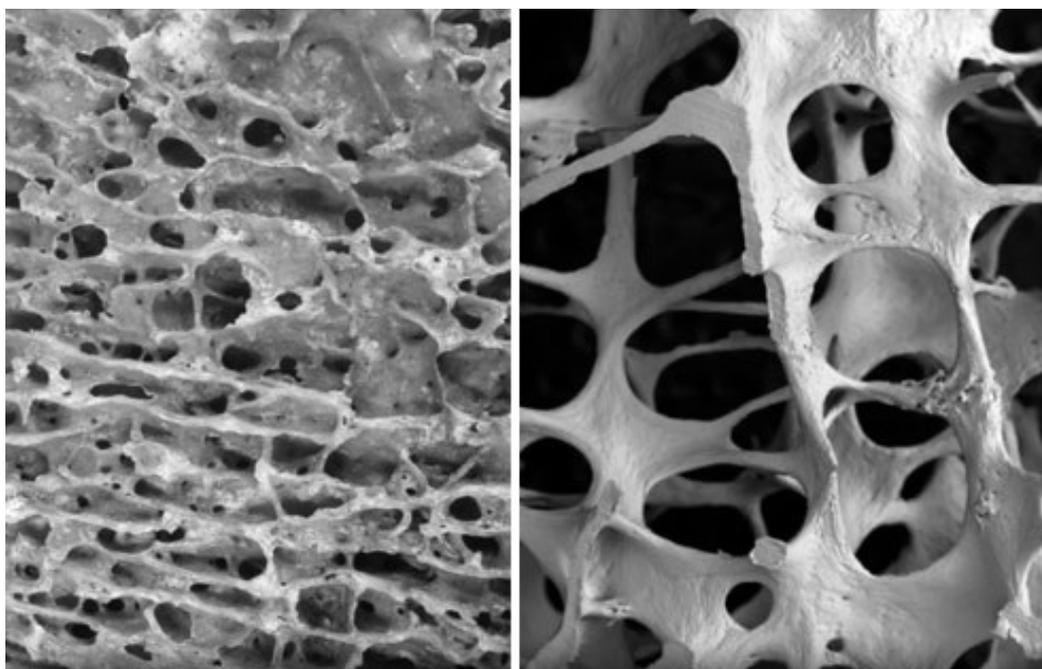


Figura 15 - A sinistra, esempio di osso normale confrontato (a destra) con osso osteoporotico. Le ossa degli anziani sono spesso erroneamente descritte come consumate mentre esse sono chiaramente atrofiche.

- Ossa

“Una volta che la mezza età è raggiunta, l’ammontare totale di calcio nello scheletro (vale a dire la massa ossea) incomincia a declinare con l’età ... Ciò è associato con cambiamenti nella struttura scheletrica, con la conseguenza che le ossa diventano più deboli e meno capaci di resistere a fratture. Ad esempio, la cortecchia dell’osso diventa più sottile con

espansione della cavità midollare interna, la rete di trabecole va scomparendo, e vi è un accumulo di microfratture. ... La perdita di osso nell'anziano è largamente il risultato di un'eccessiva attività osteoclastica, che causa sia un aumento del numero totale di siti in cui l'osso si rimodella sia un aumento della quantità di osso riassorbito per ciascun sito. ... Si pensa anche che la perdita di osso nell'anziano veda coinvolto un declino correlato con l'età nell'arruolamento e nelle capacità di sintesi degli osteoblasti" [Dieppe e Tobias 1998] (Figura 15).

“La perdita involutiva di massa ossea ... incomincia tra le età di 35 e 40 anni in entrambi i sessi, ma nelle donne vi è un'accelerazione della perdita di osso nella decade dopo la menopausa. Complessivamente le donne perdono dal 35 al 50 per cento della massa ossea trabecolare e dal 25 al 30 per cento di quella corticale con l'avanzare dell'età, mentre gli uomini perdono dal 15 al 45 per cento della massa ossea trabecolare e dal 5 al 15 per cento di quella corticale. ... La perdita di osso ... [è] forse correlata alla compromissione nella formazione di nuovo osso a causa del declino della funzione degli osteoblasti.” [Francis 1998].

- **Sangue**

“... gli indici dei globuli rossi sono ben preservati perfino nei centenari. ... le popolazioni dei linfociti nel sangue periferico di certo sembrano mostrare un significativo cambiamento con l'età, con una caduta nei numeri complessivi. Le cellule CD4+ T-ausiliarie, responsabili per il maggiore complesso di istocompatibilità classe II, riconoscimento ristretto dell'antigene estraneo e successiva attivazione dei CD8+ T-soppressori, i linfociti B, e le cellule stimolanti i granulociti della risposta immune, mostrano con l'età un declino complessivo accompagnato con una riduzione nella capacità di produrre T cellule vergini CD4+ CD45RA. ... La graduale involuzione del midollo osseo continua ma è specialmente forte dopo l'età di 70 anni quando la cellularità del midollo della cresta iliaca è ridotta a circa il 30 per cento di quella trovata in giovani adulti.” [Gilleece e Dexter 1998]

In vitro le funzioni dei neutrofili (ad esempio, aderenza all'endotelio, migrazione e capacità di fagocitosi, comportamento di secrezione dei granuli, etc.) non sono significativamente compromesse dall'età, ma *in vivo*, in studi su persone anziane, significativamente meno neutrofili arrivano nei siti in cui vi sono abrasioni della cute [MacGregor e Shalit

1990]. La capacità proliferativa dei linfociti T per mitogeni non specifici mostra una riduzione correlata con l'età [Gravenstein et al. 1998].

E' stato suggerito che il declino funzionale correlato con l'età nelle cellule staminali ematopoietiche dell'adulto limita la longevità nei mammiferi [Geiger e van Zant 2002].

- Cervello

“... il peso del cervello, in media, rimane abbastanza costante fino all'età di 60 anni, dopo di che un declino graduale porta a un'eventuale perdita di solo circa il 5 per cento del peso originale (da 60 a 70 grammi) nella nona decade. ... declino progressivo con l'età nel numero delle cellule nervose in aree come la corteccia temporale (giro temporale medio e inferiore), il giro pre- e post-frontale, la corteccia striata, e la corteccia frontale inferiore e superiore, portando nell'età anziana a perdite medie complessive che vanno da circa il 10 al 50 per cento con i massimi cambiamenti occorrenti nella corteccia frontale e temporale.” [Mann 1988].

I neuroni non hanno ricambio cellulare ma la loro sopravvivenza dipende da altre cellule con ricambio cellulare, in particolare le cellule endoteliali delle arterie cerebrali e i gliociti [Fossel 2004] (si vedano i paragrafi “Cellule fotorecettrici” e “Neuroni”).

- Cancro

Una rassegna [DePinho 2000] espone la ben documentata ipotesi della disfunzione del telomero come una causa importante di cancro nell'età anziana, specialmente per cellule con alto ricambio, le quali sono per la maggior parte di tipo epiteliale.

Cellule o tessuti senza ricambio cellulare

- Cristallino dell'occhio

Si veda la discussione a riguardo della sindrome di Werner, argomentazione 1. Inoltre, l'uso di statine riduce il rischio di cataratta nucleare, il tipo più comune di cataratta correlata con l'età [Klein et al. 2006]. Ciò è stato attribuito a “possibili proprietà antiossidative” [Klein et al. 2006], ma potrebbe essere la conseguenza di effetti sulle cellule epiteliali della lente analoghi a quelli sulle cellule endoteliali [Hill et al. 2003].

- Cellule fotorecetrici (coni e bastoncelli)

I coni e i bastoncelli della retina sono cellule nervose altamente differenziate senza alcun ricambio cellulare. La parte apicale di queste cellule poggia sulle cellule dell'epitelio pigmentato della retina (CEPR), gliociti altamente differenziati con ricambio cellulare che declina con l'età (Figura 16).

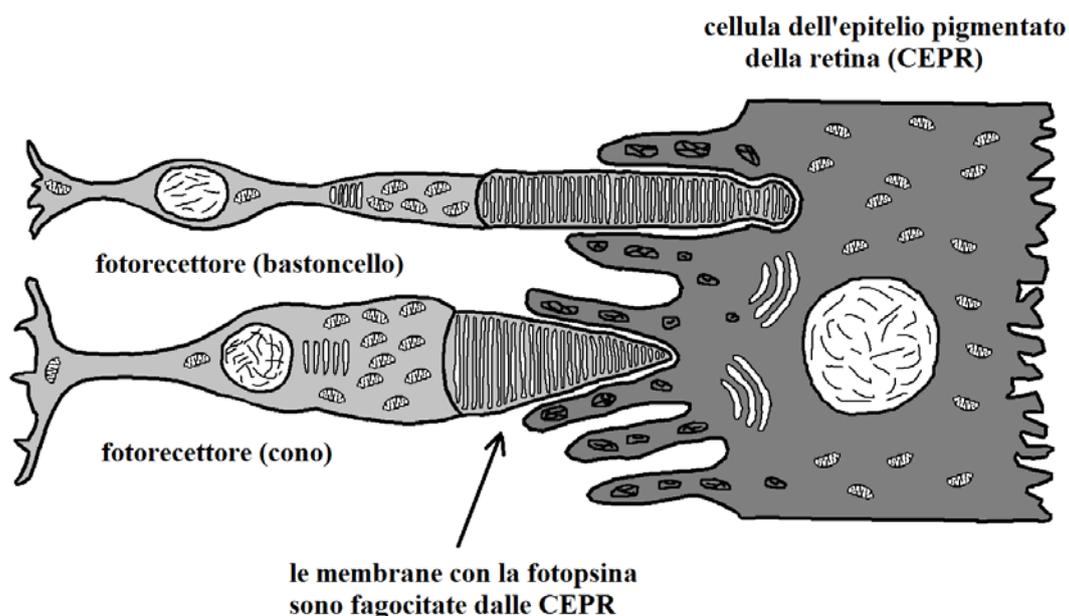


Figura 16 - Schema di un fotorecettore e di una cellula pigmentata della retina.

Ogni giorno il 10% circa delle membrane su cui poggiano le molecole di fotopsina è fagocitato dalle CEPR e sostituite da un'eguale quantità di nuove membrane. Ogni CEPR serve 50 coni o bastoncelli e pertanto ogni giorno una cellula metabolizza le membrane e le molecole di fotopsina di circa 5 coni o bastoncelli, dimostrando un altissima attività metabolica. Senza l'azione macrofagica delle CEPR, le cellule fotorecetrici non possono sopravvivere. La senescenza replicativa e la senescenza cellulare delle CEPR e delle loro cellule staminali limitano o bloccano la funzionalità dei coni e dei bastoncelli della retina e infine causa la loro morte, che si manifesta clinicamente con la degenerazione maculare legata all'età (DM) [Fine et al. 2000].

Con particolari difetti delle cellule delle CEPR, la DM insorge a età inferiori ed è considerata una malattia specifica, mentre a età più tarde la

sua frequenza cresce esponenzialmente ed è considerata una caratteristica dello stato senile.

In effetti, la DM colpisce rispettivamente il 5%, il 10% e il 20% dei soggetti di anni 60, 70 e 80 [Berger et al. 1999] ed è verosimile che una larga porzione dei centenari sia affetta da DM.

Fumo, diabete e obesità sono fattori di rischio per la DM [Klein et al. 2007].

- Neuroni

Come le cellule fotorecetrici, tipi specializzati di neuroni senza rinnovo cellulare, dipendono da altre cellule che sono tipi specializzati di gliociti con ricambio cellulare, forse altri tipi di neuroni dipendono da altri tipi di gliociti.

Se ciò è vero, la senescenza cellulare di questi gliociti dovrebbero causare patologie simili alla DM. Senza l'esempio chiave della DM, è già stato ipotizzato che la malattia di Alzheimer dipende dal declino della funzione di particolari gliociti (le cellule della microglia) in conseguenza dell'esaurimento del sistema telomero-telomerasi [Fossel 2004]: “Una funzione della microglia (Vekrellis et al., 2000) è il degrado della sostanza β -amiloide mediante l'enzima che degrada l'insulina (IDE), una funzione che è nota venir meno nella malattia di Alzheimer (Bertram et al., 2000” (p. 233), “la lunghezza dei telomeri dei monociti circolanti può servire come un predittore indipendente almeno nella demenza vascolare (von Zglinicki et al., 2000b)” (p. 235), “Un modello basato sulla senescenza cellulare potrebbe spiegare la demenza di Alzheimer senza il primario coinvolgimento vascolare.” (p. 235). Come per la DM, vi sono casi precoci familiari di Alzheimer, considerati come malattie distinte con differenti cause genetiche [Fossel 2004], e la frequenza dell'Alzheimer cresce esponenzialmente con l'età: 1,5% all'età di 65 anni e 30% a 80 anni [Gorelick 2004], con una probabilità assai alta che un centenario ne possa soffrire. Vi è anche un'associazione tra malattia di Alzheimer e fattori cardiovascolari di rischio [Vogel et al. 2006]. Farmaci con capacità di protezione d'organo come statine, ACE-inibitori e sartani sono efficaci anche contro la malattia di Alzheimer [Ellul et al. 2007].

Scartando la semplicistica deduzione che la malattia di Alzheimer è solo una conseguenza di disfunzione vascolare, è verosimile che vi sia un

comune meccanismo patogenetico: la disfunzione endoteliale causata da insufficienti cellule endoteliali progenitrici nel primo caso, e la disfunzione della microglia causata da insufficienti cellule progenitrici della microglia nel secondo caso. In entrambi i casi il sistema telomero-telomerasi è il fattore causale primario e i fattori di rischio cardiovascolare e dell'Alzheimer accelerano il venir meno dei telomeri, mentre i farmaci "protettivi" contrastano questi effetti (si veda la Figura 17).

Uno schema generale dell'invecchiamento

I fattori che, per il rinnovo di ogni tipo di cellule, accrescono o riducono i tassi di apoptosi dovrebbero rispettivamente accelerare e rallentare il declino fisiologico correlato con l'età del ricambio cellulare e, di conseguenza, l'insorgenza del relativo declino funzionale (Tabella 3 e Figura 17).

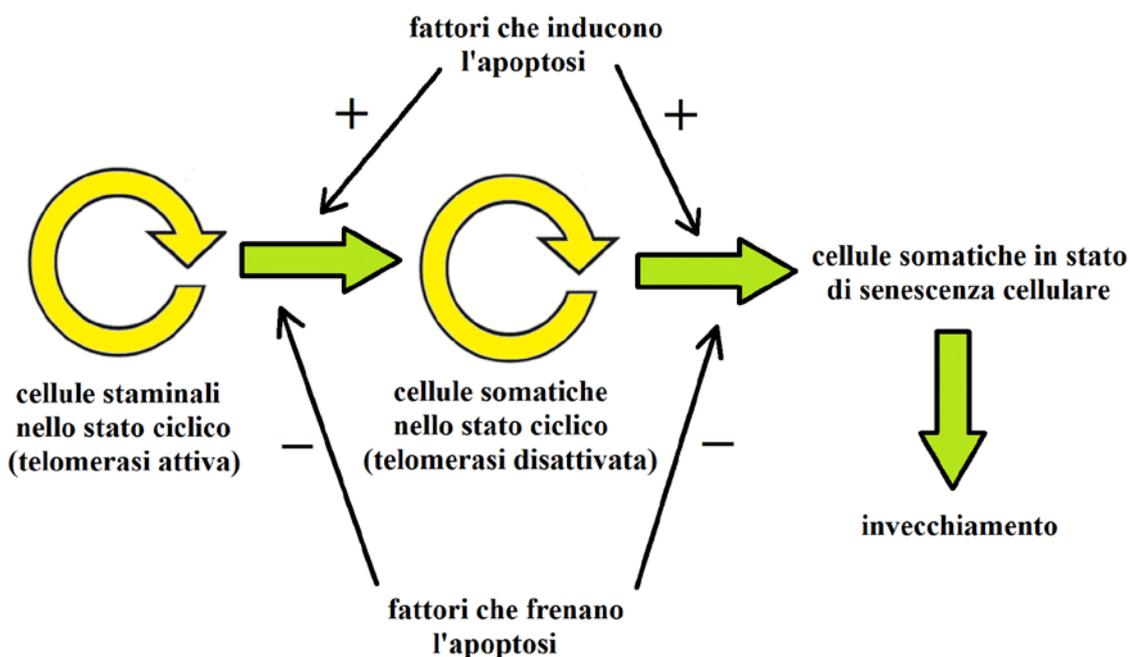


Figura 17 - Uno schema generale per l'insorgenza di varie malattie. Ad esempio, il tasso di apoptosi per le cellule endoteliali è influenzato dall'età ma anche da cambiamenti nei relativi fattori di rischio. E' la combinazione di questi fattori che determina i tempi di insorgenza delle malattie vascolari.

Tabella 3 – Alterazioni nell’anziano e in alcune patologie

Abbreviazioni: SW = sindrome di Werner; DC = discheratosi congenita; DM = degenerazione della macula legata all’età; → X = che causa X o ne accelera l’insorgenza.

CELLULE STAMINALI DI ...	ALTERAZIONI NEGLI ANZIANI	FATTORI CHE ACCRESCONO L’APOPTOSI E LORO EFFETTI
Cellule alveolari di tipo II	Enfisema	Fumo, inalazione cronica di sostanza nocive, bronchite cronica (→ enfisema); DC (→ fibrosi)
Miocardiociti	Insufficienza cardiaca	Miocardite (→ cardiomiopatia dilatativa)
Cellule endoteliali	Aterosclerosi	Fumo, ipertensione, ipercolesterolemia, diabete; SW (→ aterosclerosi)
Cellule dell’epidermide	Atrofia della cute	Eccessiva esposizione al sole (→ invecchiamento della pelle causato dall’esposizione al sole); DC (→ pigmentazione anormale, distrofia ungueale); SW (→ atrofia della cute)
Cellule glomerulari	Insufficienza renale	Lo stesso come per le cellule endoteliali (→ insufficienza renale)
Epatociti	Atrofia epatica	Epatite cronica, alcolismo; DC (→ cirrosi, epatocarcinoma)
Cellule intestinali	Atrofia intestinale	DC (→ disordini intestinali)
Cellule epiteliali del cristallino	Cataratta	Esposizione a radiazioni; SW (→ cataratta)
Cellule della microglia	M. di Alzheimer	Lo stesso come per le cellule endoteliali (→ m. di Alzheimer)
Miociti	Atrofia muscolare	Difetti genetici specifici (→ distrofia muscolare); SW (→ atrofia muscolare)
Osteoblasti	Osteoporosi	SW (→ osteoporosi)
β-cellule del pancreas	Diabete latente o lieve	Iperalimentazione, infezioni virali specifiche; SW (→ diabete)
Cellule epitelio pigmentato della retina	DM	Fumo, obesità, diabete (→ DM)

Il sistema telomero-telomerasi come fattore oncogeno

Se un declino della fitness correlato con l'età è adattativo, allora è indispensabile l'esistenza di meccanismi sofisticati che causano questo declino, quali il sistema telomero-telomerasi.

Al contrario, se un declino della fitness correlato con l'età non è adattativo, il sistema telomero-telomerasi necessita di una plausibile e accurata spiegazione evoluzionistica della sua esistenza [Libertini 2008].

Una giustificazione ipotetica per gli effetti dell'anzidetto sistema (senescenza cellulare, in particolare la senescenza replicativa) è quella di una difesa generale contro i tumori maligni [Campisi 1997; Wright e Shay 2005], in una sorta di scambio evoluzionistico tra invecchiamento e limitazione del cancro [Campisi 2000]. Comunque questa ipotesi non giustifica le grandi differenze nei limiti per la duplicazione e nel decadimento complessivo della funzionalità cellulare fra specie e specie, a meno che il rischio di tumori maligni non sia postulato come variabile da specie a specie e in diretta correlazione con i limiti imposti alle capacità di duplicazione cellulare e alla complessiva funzionalità cellulare dalla modulazione genetica del sistema telomero-telomerasi.

Inoltre, vi sono altri problemi con l'ipotesi che il sistema telomero-telomerasi sia una difesa contro il cancro:

1) Esempari “vecchi” di aragoste e di trote arcobaleno (*Oncorhynchus mykiss*), definiti “animali con senescenza non rilevabile”, hanno, allo stato selvatico, gli stessi livelli di attività telomerasica di individui giovani [Klapper, Heidorn et al. 1998; Klapper, Kühne et al. 1998] e, allo stesso tempo, non sono plausibili per loro crescenti problemi di carcinogenesi alle età maggiori perché, come dice la loro definizione, i tassi di mortalità per essi non crescono con l'età [Libertini 2008]. Per questi animali, l'azione della telomerasi non implica alcun evidente rischio oncogeno e, di conseguenza, l'idea che la telomerasi abbia un effetto oncogeno è improponibile per loro;

2) Il declino delle capacità di duplicazione e della complessiva funzionalità cellulare indebolisce l'efficienza del sistema immunitario [Fossel 2004], il che, da lungo tempo, è nota essere inversamente correlata all'incidenza del cancro [Rosen 1985];

3) Quando i telomeri sono accorciati, vi è grande vulnerabilità al cancro a causa di un'instabilità disfunzionale indotta dal telomero [DePinho 2000; Artandi 2002];

4) “Il ruolo del telomero nella stabilità cromosomica (Blagosklonny, 2001; Campisi et al., 2001; Hackett et al., 2001) è un argomento a favore del fatto che la telomerasi protegge dalla carcinogenesi (Chang et al., 2001; Gisselsson et al., 2001), specialmente nelle fasi iniziali della carcinogenesi quando la stabilità è critica (Elmore e Holt, 2000; Kim e Hruszkewycz, 2001; Rudolph et al., 2001), come pure nella protezione contro l'aneuploidia e la speciazione secondaria (Pathak et al., 2002). Il ruolo della telomerasi dipende dallo stadio di malignità come pure da cofattori (Oshimura et al., 2000); l'espressione è tarda e permissiva, non causale (Seger et al., 2002).” [Fossel 2004];

5) Il sistema telomero-telomerasi del lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), un organismo unicellulare, è ben studiato. Individui di questa specie si fermano nelle loro repliche dopo 25-35 divisioni [Jazwinski 1993], vale a dire mostrano senescenza cellulare, compreso il blocco della replicazione, sebbene ciò non sia causato dall'accorciamento del telomero ma da un altro meccanismo sconosciuto correlato al numero di duplicazioni [Lesur e Campbell 2004]. Una cellula senescente di lievito termina la sua vita mediante apoptosi [Laun et al. 2001], che è anche attivata in condizioni di difficoltà [Kaeberlein et al. 2007]. In entrambi i casi, l'apoptosi divide la cellula in parti metabolicamente attive che sono facilmente e utilmente fagocitate da altre cellule di lievito. Ciò è compiuto in modo ordinato e tale fenomeno è stato plausibilmente interpretato come adattativo [Skulachev 2002a, 2003; Herker et al. 2004; Longo et al. 2005; Skulachev e Longo 2005; Mitteldorf 2006]. Comunque, nel 1988 fu ipotizzato che meccanismi limitanti la durata della vita dovevano essere favoriti in condizioni di K-selezione [Pianka 1970], ossia: a) con una popolazione numericamente costante, in conseguenza di un limitato spazio vitale, in modo che, soltanto quando un individuo muore, vi è spazio per un nuovo individuo; b) con gli individui morti rimpiazzati prevalentemente da individui imparentati [Libertini 1988]. Colonie imparentate di cellule di lievito in un habitat saturo sono in queste condizioni e, di conseguenza, l'evidenza empirica per il lievito è una conferma di queste previsioni teoriche. Nel lievito, l'apoptosi e la senescenza cellulare, compreso il blocco della replicazione, determinati da geni che uccidono gli individui dove essi agiscono (= fitness

individuale negativa), sono modellati dalla selezione naturale con chiari scopi adattativi (= fitness complessiva, o comunque sovraindividuale, positiva) ed è inspiegabile che mentre questi fenomeni sono accettati come adattativi per specie unicellulari, la stessa spiegazione non è considerata possibile per specie multicellulari [Kirkwood e Austad 2000]. Infine, poiché il lievito è un organismo unicellulare, il sistema telomero-telomerasi e le sue azioni in questa specie non possono avere alcun valore contro il cancro e contro un inesistente rischio oncogeno.

In breve, il sistema telomero-telomerasi è difficilmente giustificabile come una difesa contro il cancro e, in mancanza di altre spiegazioni, solo l'ipotesi adattativa del declino della fitness correlato con l'età appare una causa razionale per la sua esistenza.

La confusione fra il declino della fitness correlato con l'età in condizioni naturali e l'incremento della mortalità in condizioni di laboratorio

Nelle figure 18-A1 e 18-A2, vi sono le curve di sopravvivenza allo stato naturale di specie come il leone (*Panthera leo*) e l'ippopotamo (*Hippopotamus amphibius*), che dimostrano un incremento della mortalità correlato all'età in condizioni naturali. Queste curve di sopravvivenza sono esempi tra moltissime specie, compresa la nostra, che mostrano lo stesso fenomeno. Per brevità, questo "incremento della mortalità in relazione all'età allo stato selvatico" è stato chiamato "IMICAW", usando le iniziali della definizione in inglese [Libertini 1988].

Nelle figure 18-B1 e 18-B2, vi sono le curve di sopravvivenza di animali in condizioni di laboratorio, come il nematode *Caenorhabditis elegans* [Finch 1990] e la mosca *Drosophila melanogaster* [Finch e Hayflick 1977], che in condizioni artificiali protette mostrano un incremento della mortalità correlato con l'età. Queste curve di sopravvivenza sono esempi tra moltissime specie, compresi la maggior parte degli insetti, che dimostrano un analogo incremento della mortalità in correlazione con l'età in condizioni artificiali protette. Per brevità questo "incremento della mortalità con crescente età cronologica in cattività" è stato chiamato, in base alla dizione in inglese, IMICAC [Libertini 1988].

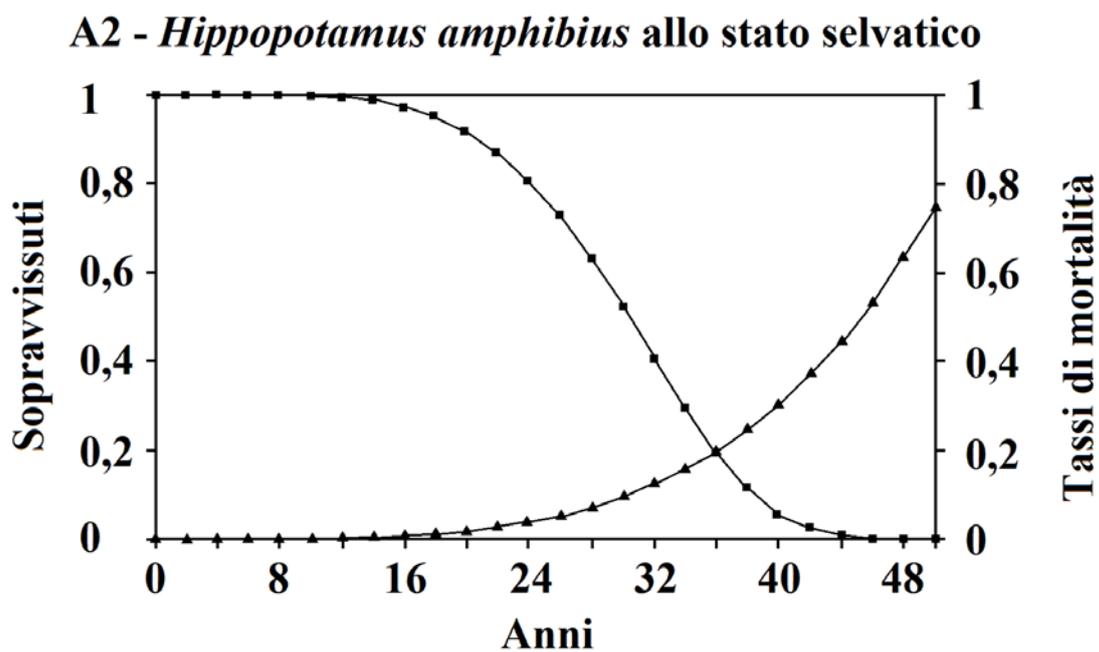
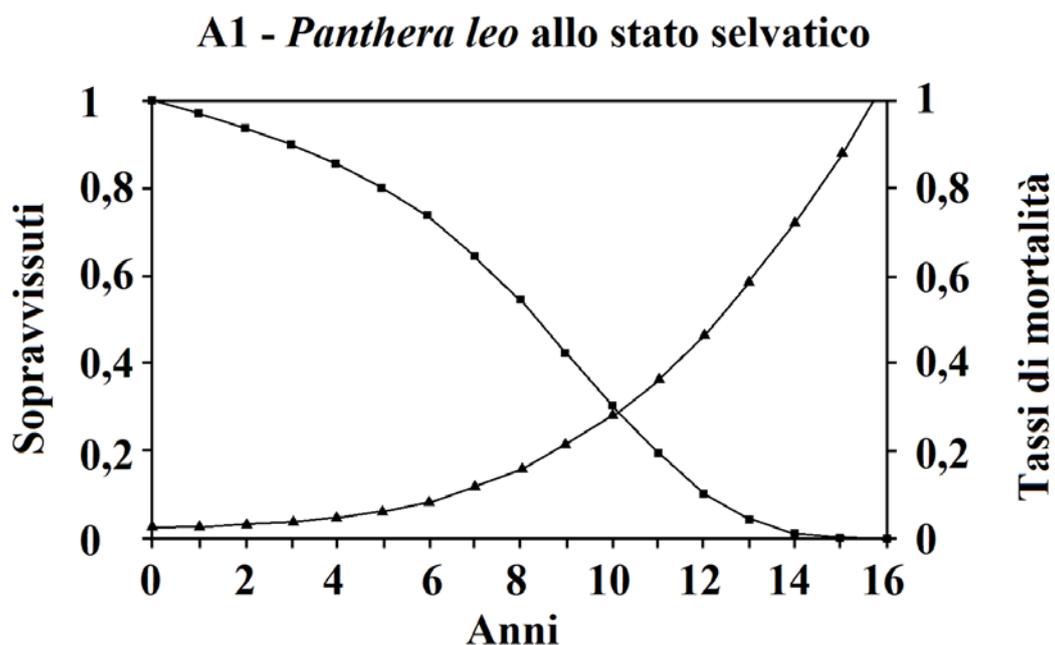


Figura 18A - Curva di sopravvivenza e tassi di mortalità di: (A1) leone (*Panthera leo*) allo stato selvatico, dati da Ricklefs [Ricklefs 1998]; (A2) ippopotamo (*Hippopotamus amphibius*) allo stato selvatico, dati da Ricklefs [Ricklefs 1998].

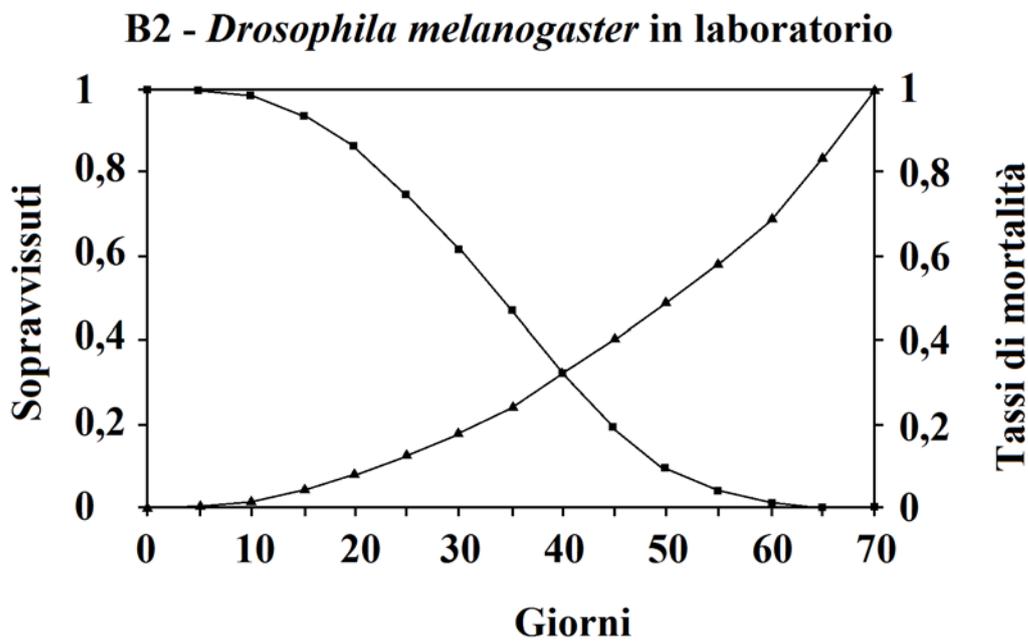
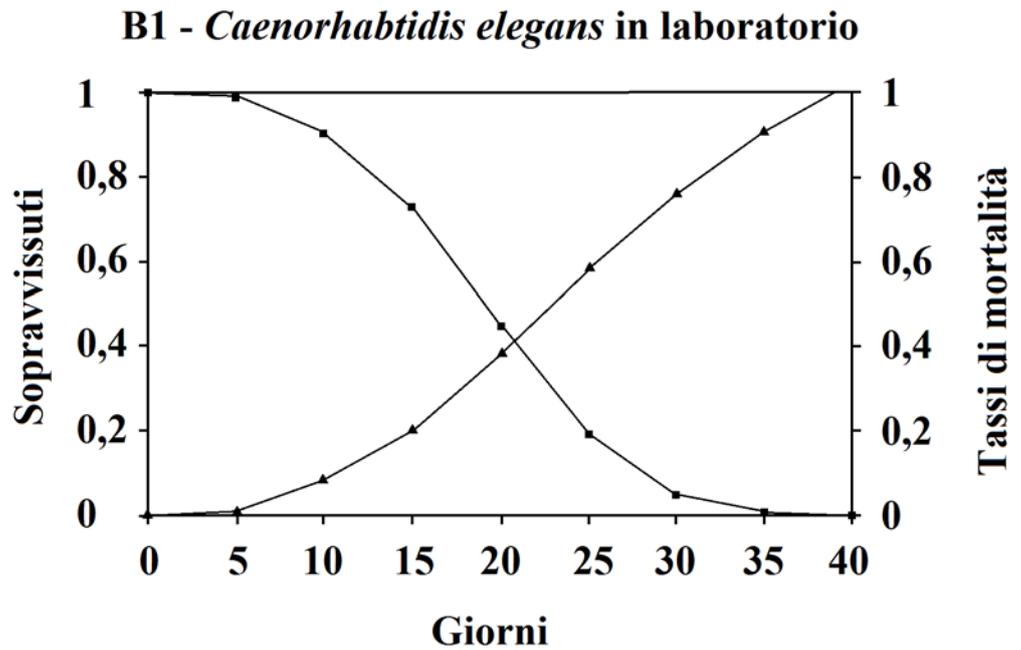


Figura 18B - Curva di sopravvivenza e tassi di mortalità di: (B1) *Caenorhabditis elegans* allevato in laboratorio, dati da Finch, Figura 6.1 [Finch 1990]; (B2) *Drosophila melanogaster* allevata in laboratorio, dati da Finch e Hayflick, Figura 10 [Finch e Hayflick 1977].

Un osservatore superficiale potrebbe supporre che l'IMICAW e l'IMICAC sono lo stesso fenomeno e pertanto studi più facilmente eseguibili sul verme o sulla mosca potrebbero spiegare ciò che avviene in specie come il leone, l'ippopotamo e l'uomo.

Ma uno studioso ben informato sa che le età in cui l'incremento della mortalità incomincia in laboratorio per il verme o per la mosca, non esistono allo stato selvatico. Infatti, la longevità del *C. elegans* "in condizioni più naturali è ridotta fino a 10 volte quando confrontata con le condizioni standard di coltura in laboratorio" [Van Voorhies et al. 2005] e pochi individui di questa specie rimangono fertili dopo i 10 giorni allo stato selvatico [Johnson 1987].

Similmente, la *D. melanogaster* ha una durata della vita osservata allo stato selvatico di 10-12 giorni [Finch 1990].

Per entrambi questi animali, la crescente mortalità in relazione all'età descritta nelle figure 18-B1 e 18-B2 incomincia a età inesistenti allo stato selvatico, il che significa che non è più di un artefatto di laboratorio.

Ebbene, se l'IMICAW esiste per definizione in condizioni naturali e perciò per definizione è influenzato dalla selezione naturale, mentre al contrario l'IMICAC è inesistente allo stato selvatico e pertanto non è influenzato dalla selezione naturale, è doveroso avere forti dubbi a riguardo delle conclusioni degli esperimenti sull'IMICAC applicate all'IMICAW.

Inoltre, vi è un'altra differenza essenziale.

Il verme e la mosca (e in generale gli insetti nella fase adulta) sono composti di cellule senza ricambio [Finch 1990; Arking 1998], mentre il leone, l'ippopotamo e l'uomo hanno cellule, tessuti e organi con ricambio cellulare. Se, come sembra probabile, il rallentamento e infine l'arresto del rinnovo cellulare, e la correlata senescenza cellulare, sono elementi chiave nel declino della fitness di specie come il leone, l'ippopotamo e la nostra, è piuttosto dubbio usare esperimenti su animali senza ricambio cellulare per spiegare il declino della fitness in animali con ricambio cellulare. Questo è un problema di fondo, certamente di estremo peso per quelli interessati alla spiegazione dei meccanismi dell'invecchiamento. Eppure, in testi rinomati sull'argomento, il problema non è per nulla considerato [Rose 1991], ed è frequente che, in giornali molto influenti, esperimenti che, in laboratorio, modificano la curva di sopravvivenza del nostro caro verme o della nostra amata mosca sono presentati come significativi progressi nella

comprensione dell'invecchiamento nell'uomo [Johnson 2007; Petrascheck et al. 2007; Kennedy 2008]!

Gli animali con senescenza non rilevabile

“Senescenza non rilevabile” è stata definita la condizione di specie - come i rockfish, gli storioni, le tartarughe, i molluschi bivalve e forse le aragoste [Finch e Austad 2001] - che allo stato selvatico mostrano “nessun osservabile incremento nei tassi di mortalità in relazione all'età o riduzione nei tassi di riproduzione dopo la maturità sessuale; e ... nessun osservabile declino correlato con l'età nelle capacità fisiologiche o nella resistenza alle malattie” [Finch e Austad 2001]. In alcuni casi addirittura la fitness aumenta con l'età, verosimilmente in funzione dell'incremento della taglia corporea [Vaupel et al. 2004].

Per una teoria che spiega il declino della fitness correlato con l'età come l'effetto di fattori dannosi che si accumulano con il passare del tempo e non sono sufficientemente contrastati dalla selezione naturale, l'esistenza di animali che raggiungono età considerevoli nello stato selvatico senza alcun rilevabile declino nella loro fitness, è una vera sfida che in nessun modo è risolta dalle tradizionali teorie dell'invecchiamento (“la senescenza non rilevabile ... può essere in conflitto con le deduzioni matematiche dalla teoria della genetica delle popolazioni” [Finch e Austad 2001]). Per tali tipi di teorie, gli “animali senza età” devono essere spiegati come eccezioni giustificate da peculiarità fisiologiche ipotetiche e non documentate. Particolari modelli di ottimizzazione delle strategie di storia della vita, basate sui presupposti della teoria del Soma Disponibile [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979] sono stati sviluppati per giustificare anche i casi di “senescenza negativa” [Vaupel et al. 2004].

Al contrario, per una teoria che spiega il declino della fitness correlato con l'età come causato da fattori selettivi che agiscono in particolari condizioni, vi è una semplice previsione: una specie che non è in quelle particolari condizioni deve essere un “animale senza età”. Ciò significa che, per queste specie, la sopravvivenza allo stato selvatico (trascorrendo possibili fattori secondari che modificano la fitness) è descritta dalla semplice formula:

$$Y_t = Y_0 (1 - \lambda)^t \quad (4)$$

dove Y_0 è la popolazione iniziale, Y_t sono i sopravvissuti al tempo t e λ è il tasso di mortalità.

La curva di sopravvivenza è determinata solo dal parametro λ . Con bassi valori di λ è previsto che, allo stato selvatico, alcuni individui raggiungeranno età veramente ragguardevoli. Ad esempio, se $\lambda = 0,011306/\text{anno}$, i sopravvissuti dopo 405 anni saranno circa l'1% e non risulterà sorprendente il caso dell'esemplare di *Arctica islandica*, un mollusco bivalve commestibile, ritrovato vicino all'Islanda nel 2007, con un'età prima stimata di 405 anni e poi corretta a 507 anni. E' da notare che il mollusco era vivo al momento del ritrovamento e fu ucciso con il congelamento prima che si capisse la sua età straordinaria ([en.wikipedia.org/wiki/Ming_\(clam\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Ming_(clam)), sciencenordic.com/new-record-world's-oldest-animal-507-years-old).

Comunque, a un'età t raggiunta allo stato selvatico da nessun individuo, o da pochissimi, vi è minima o nulla selezione naturale contro un gene con azione dannosa solo da quell'età in poi ("t-gene"). Pertanto, per l'effetto cumulativo di molti eventuali "t-geni", se una specie che non mostra alcun declino della fitness correlato con l'età allo stato selvatico è allevata in condizioni protette, essa potrebbe manifestare un progressivo incremento della mortalità a partire da età raramente o mai esistenti allo stato selvatico. In altre parole, la specie potrebbe mostrare il fenomeno IMICAC (Figura 19).

Come semplice corollario della formula (4) e di questo fenomeno, per un gruppo di specie dello stesso genere, tutte in condizioni evoluzionistiche che non favoriscono il declino della fitness, è previsto che: (i) tutte le specie avranno una fitness stabile a tutte le età esistenti allo stato naturale, con una possibile piccola riduzione nelle età massime che sono raramente presenti nello stato selvatico; (ii) per ogni specie la durata media e massima della vita in condizioni selvatiche saranno inversamente correlate con il valore λ ; (iii) in condizioni protette, per ogni specie la durata della vita sarà determinata da fattori variabili, che potrebbero incrementare la mortalità a partire da età raramente o mai esistenti allo stato selvatico e pertanto variabili da specie a specie e inversamente correlate con λ . Le curve di sopravvivenza delle specie di rockfish sono probabilmente un buon esempio di conferma di queste previsioni [Cailliet et al. 2001].

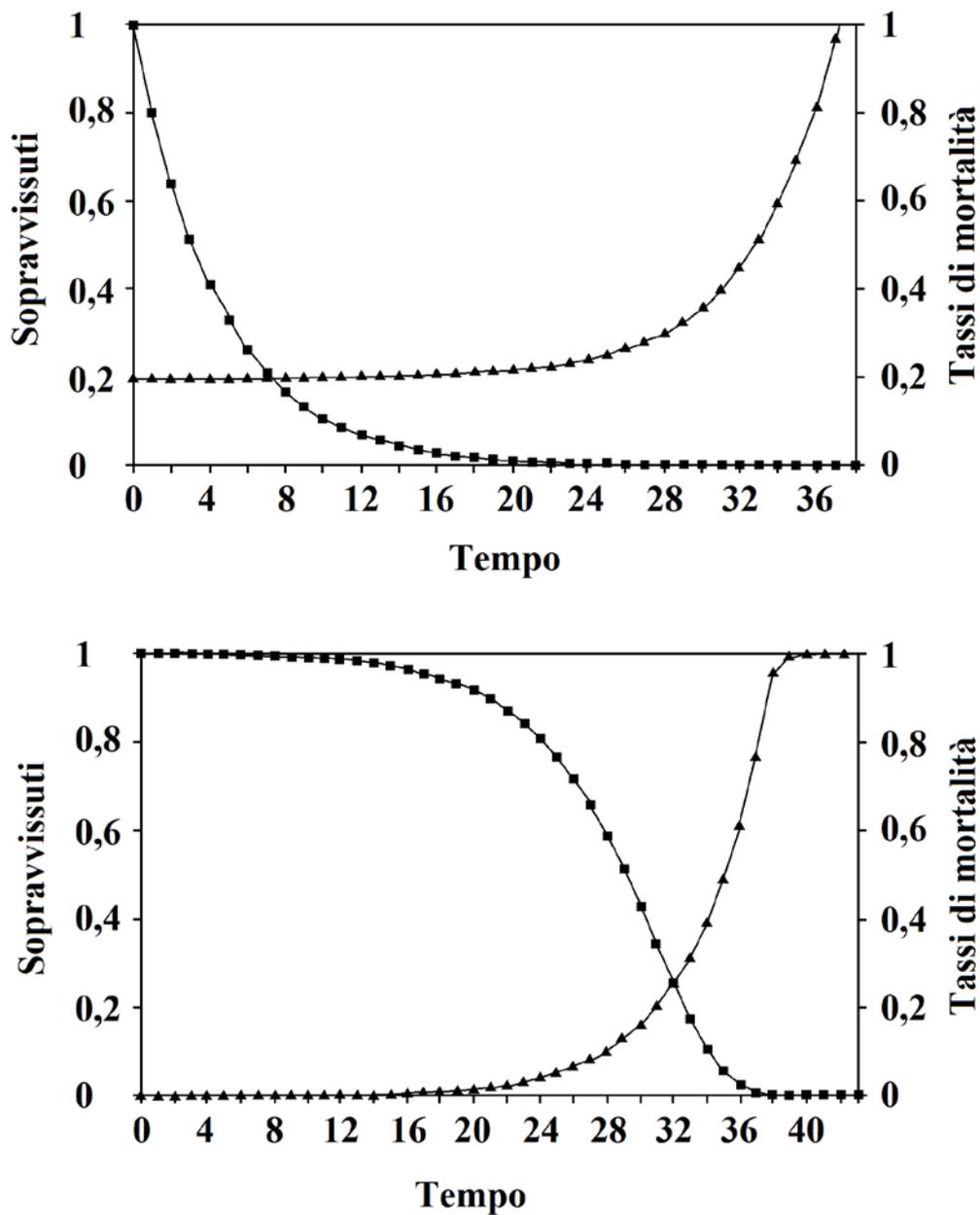


Figura 19 – Risultati ottenuti con un programma di simulazione (IMICAC.exe [Libertini 2006], scaricabile da Internet all'indirizzo www.r-site.org/ageing/simprograms.zip). Sopra: Una specie con un tasso costante di mortalità estrinseca allo stato selvatico (= 0,2 / unità di tempo), più un incremento del tasso di mortalità, a età mai o raramente esistenti in condizioni naturali, dovuti all'azione di t-geni (20 nella simulazione e con tasso di mutazione da alleli inattivi pari a 0,00001); Sotto: La stessa specie, in condizioni protette e con un tasso zero della mortalità estrinseca, mostra il fenomeno IMICAC dovuto all'azione di t-geni in età non esistenti allo stato selvatico.

E' interessante che per le specie dei rockfish, l'attività della telomerasi è costante in tutte le età esistenti allo stato selvatico [Klapper, Heidorn et al. 1998; Klapper, Kühne et al. 1998]. Inoltre, per due specie di rockfish, è stato osservato che l'oogenesi continua a età avanzate, in contrasto con assunti sostenuti da lungo tempo [De Bruin et al. 2004].

Un rockfish è mostrato nella Figura 20.



Figura 20 - Un yelloweye rockfish (pesce delle rocce con gli occhi gialli, *Sebastes ruberrimus*) appena pescato. Si veda anche il sito www.agelessanimals.org, un sito diretto da John C. Guerin e dedicato a: Un'area emergente della ricerca sull'invecchiamento: Animali con vita di lunga durata con "invecchiamento non rilevabile" (negligible senescence).

L'invecchiamento come entità distinta

E' molto frequente sentir dire da persone comuni che qualcuno è morto di vecchiaia. Ma nelle statistiche ufficiali nessuno muore per vecchiaia! Nella compilazione dei certificati ufficiali di morte, in qualsiasi nazione del mondo, un medico, come io sono, deve usare la classificazione internazionale delle malattie (*International Classification of Diseases*,

ICD), in cui, sebbene vi siano, ad esempio, i codici per la “demenza senile” o per “la cataratta senile”, una codifica per “invecchiamento” o “senescenza” è assente. Alcuni anni orsono, compilai il certificato di morte di una bisnonna di 102 anni che non aveva alcuna particolare malattia, ma non potei scrivere che era morta di vecchiaia!

Un gerontologo assai autorevole mi scrisse su tale argomento, dichiarando: “La domanda che mi stai ponendo è una vecchia questione - se la senescenza dovrebbe essere ammissibile come causa del decesso sul certificato di morte di qualcuno che muore oltre l’età di 100 anni.

Per alcune persone per cui non è possibile ritrovare la causa all’origine del decesso, di modo che tali individui mostrano quello che potrebbe apparire un collasso improvviso di tutto l’intero corpo, io direi che la senescenza sarebbe un’appropriata causa di morte da porre alla base del decesso.

Io credo che la frequenza di questa diagnosi aumenterà nelle prossime decadi. Ma se tale causa di morte fosse aggiunta alla ICD, la mia previsione è che essa sarebbe eccessivamente usata da medici curanti troppo pigri per determinare la causa originaria del decesso.”



Figura 21 - Secondo il paradigma classico questi anziani non saranno uccisi dall’invecchiamento ma da una miriade di malattie la cui frequenza cresce con l’età.

L'invecchiamento come causa distinta di morte è trascurato o considerato come inesistente dalle teorie gerontologiche classiche, e di conseguenza dall'epidemiologia ufficiale. Per tali teorie, l'invecchiamento non è un processo specifico ma solo la somma di molte differenti malattie (Figura 21). Secondo questo paradigma, dovremmo curare ciascuna di queste malattie, mentre la possibilità di agire sull'invecchiamento è impensabile poiché l'invecchiamento non esiste come entità distinta!

Bene, se si vuole comprendere quanto sarà detto nelle prossime sezioni, è necessario accettare una nuova idea, un radicale cambiamento del vecchio paradigma secondo il quale "il graduale declino nelle prestazioni con l'età avviene implicitamente" [De Grey 2007]: vale a dire, accettare l'idea che l'invecchiamento come fenomeno distinto esiste!

Antichi e attuali scenari: verso un incubo socio-medico

Fino all'inizio del XIX secolo la mortalità infantile era molto alta, la mortalità nell'adulto era maggiore di quella attuale e i tassi di mortalità degli anziani non molto differenti da quelli presente. I seguenti dati sono un esempio di questo tasso di mortalità infantile in tale epoca storica. Negli anni 1812-1815, nelle statistiche da una parte del regno di Napoli sotto re Murat [Martuscelli 1979], il numero di quelli che morivano prima dei 7 anni di età era circa il 42-46% del totale delle morti (Tabella 4):

Tabella 4 - La mortalità a Napoli e nella sua provincia all'inizio del XIX secolo

Anno		con età inferiore a 7 anni	con età superiore a 7 anni	Totale
1812	(Provincia di Napoli)	3.821 (42,62%)	5.144	8.965
1813	"	4.420 (45,44%)	5.308	9.728
1814	"	4.367 (45,24%)	5.287	9.654
1815	(Città di Napoli)	5.600 (42,22%)	7.664	13.264

Nei successivi 200 anni, con il grande miglioramento nelle condizioni economiche e igieniche e con i progressi nelle cure mediche, vi è stato un drastico calo della mortalità infantile, una forte riduzione della mortalità nell'adulto e un aumento relativamente modesto nelle aspettative di vita per

gli anziani. La triplicazione della durata media della vita in questi due secoli (da circa 25 anni nel 1800 a circa 75 anni oggi) è dovuta in larga parte a una drastica riduzione nella mortalità infantile e contrasta fortemente con una massima durata della vita apparentemente stabile. Ciò è mostrato per l'Inghilterra nella Figura 22, la quale indica che la curva della sopravvivenza sta diventando simile a quella di una linea diritta seguita da un'improvvisa caduta (curva rettangolare).

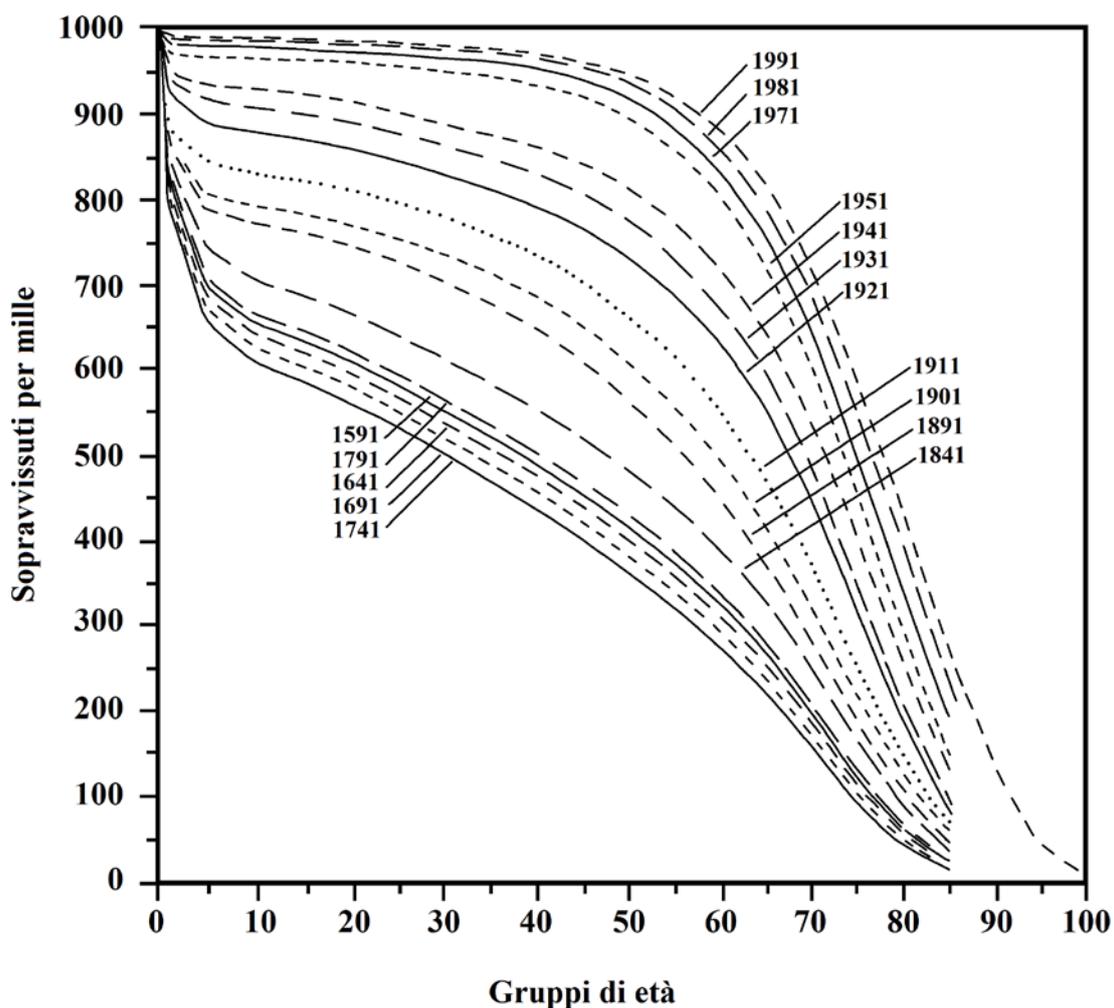


Figura 22 - Curve di sopravvivenza per gruppi di 1000 nati, per gruppi di età: Inghilterra, 1591-1991. Sono state omesse le curve relative al 1541 e al 1961, in quanto praticamente si sovrapponevano a quelle rispettivamente del 1741 e del 1971. Dati da Cambridge Group back projection files e Tabelle di sopravvivenza per l'Inghilterra fino al n. 15. Lavoro di James Oeppen [Laslett 1995].

Con il crescente controllo delle malattie oncologiche, cardiovascolari e di altro tipo (e un incremento esponenziale nei costi relativi), una maggiore rettangolarizzazione della curva di sopravvivenza è una previsione realistica per le prossime decadi.

Ciò significa che la popolazione sarà composta di un numero crescente di individui anziani con importanti disturbi e sofferenze derivanti da osteoporosi marcata, severa insufficienza cardiovascolare e respiratoria, demenza senile, deficit visivi e uditivi, incontinenza, etc. In breve, una crescente parte della popolazione sarà seriamente sofferente per molte malattie, in particolare per il decadimento delle capacità cognitive e sensoriali, e sarà pertanto dipendente da altre. Il progresso della medicina diventerà pertanto la causa di un incubo sociologico ed economico.

In un certo senso sarà la realizzazione della leggenda greca di Aurora e Titone. Aurora, una divinità, ottenne da Giove il dono dell'immortalità per il suo amato Titone, che era un uomo e quindi un mortale, ma dimenticò di chiedere per lui la perpetua giovinezza. Titone diventò sempre più vecchio ma non moriva mai. Alla fine, Giove, mosso da pietà, trasformò Titone in un animale. Nel 1979, Comfort disse: "Noi stiamo creando dei Titoni" [Comfort 1979]!

Oggi, potremmo dire che è stata avviata una produzione di massa di Titoni.

Un possibile scenario alternativo: verso il controllo dell'invecchiamento

Abbiamo due possibili opposte ipotesi generali, o paradigmi, a riguardo del declino della fitness correlato con l'età e delle sue espressioni estreme, vale a dire 'la vecchiaia' o 'stato senile'.

Per il primo paradigma, il fenomeno è qualcosa di ineluttabile, inerente in modo inevitabile alla natura della vita e insufficientemente contrastato dai meccanismi fisiologici di riparazione negli stretti limiti di altre esigenze prevalenti dettate dalla selezione naturale. Contrastare la senescenza è come opporsi alla forza di gravità nella costruzione di un grattacielo: quanto più in alto si va, tanto più necessariamente crescono le difficoltà in modo esponenziale. In altre parole, l'impegno di un tale compito diventa impossibile al di sopra di una certa altezza.

Per il secondo paradigma, il declino della fitness è una funzione: idonei meccanismi, geneticamente determinati e favoriti dalla selezione naturale

per la loro fitness complessiva positiva, limitano la durata della vita. Opporsi all'invecchiamento è come rimuovere gli ostacoli o limitare gli attriti al di sotto di una palla che corre su una superficie piana. Chiaramente la condizione naturale di un corpo che si muove in tal modo - in assenza di attrito o di altri ostacoli - è un movimento illimitato.

In base al primo paradigma, l'interpretazione dell'invecchiamento come un programma è un'assurdità in quanto non avrebbe alcun significato evolucionistico. Di conseguenza, la crescente evidenza a sostegno dell'esistenza di tale programma è trascurata e l'attenzione è rivolta solo all'accumulo casuale di danni di vario tipo.

Al contrario, in base al secondo paradigma un programma non è per nulla escluso. In effetti, senza un programma il secondo paradigma sarebbe falso, e l'attenzione è rivolta agli eventi che attivamente determinano e regolano la progressiva riduzione della fitness. Inoltre, poiché l'invecchiamento è la conseguenza di meccanismi determinati geneticamente e non la somma di eventi casuali, tali meccanismi sono oggetto razionale di utile analisi, di possibili modifiche e dell'eventuale controllo. Ciò che per il primo paradigma è un ostacolo insuperabile e un orizzonte chiuso, per il secondo paradigma è una caratteristica modificabile e controllabile, con un orizzonte senza limiti.

Per padroneggiare l'invecchiamento, a parte le prevedibili cruciali obiezioni di natura bioetica o filosofica o religiosa che saranno messe in evidenza subito dopo, tre categorie di azione sono richieste:

1) *Per le alterazioni dovute a limitazioni del ricambio cellulare* – È indispensabile una completa conoscenza dei meccanismi alla base del rinnovo cellulare e delle sue limitazioni. Attualmente, farmaci con proprietà di “protezione d'organo” sembrano agire con efficacia su alcune alterazioni del rinnovo cellulare [Hill et al. 2003]. Appare più razionale proporre come futuro trattamento la modifica dei geni regolatori prima che compaiano le manifestazioni dell'invecchiamento, con una qualche forma di “terapia” genica. Per inciso, il termine “terapia” è criticabile, in quanto il declino della fitness correlato con l'età non è propriamente una malattia. Circa dieci anni fa, alcuni esperimenti straordinari dimostrarono che l'inserimento di un gene attivo della telomerasi o, in generale, l'attivazione della telomerasi, elimina la senescenza replicativa e gli effetti della senescenza cellulare [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; de Lange e

Jacks 1999]. Ciò indica che gli effetti sull'invecchiamento di molti fattori, comprese le sostanze ossidanti, sono conseguenze reversibili della senescenza cellulare e non la causa dell'invecchiamento [Fossel 2004].

Attualmente, la terapia genica è possibile, o in sperimentazione, solo per poche malattie e con l'inserzione del gene appropriato in una posizione a caso del DNA [Meyer e Finer 2001; Fischer 2001; Flotte 2007], pertanto con possibili dannose modifiche di altri geni, ad esempio, repressori di oncogeni (Figura 23). Questa è una forte controindicazione per un uso indiscriminato di questa tecnica terapeutica.

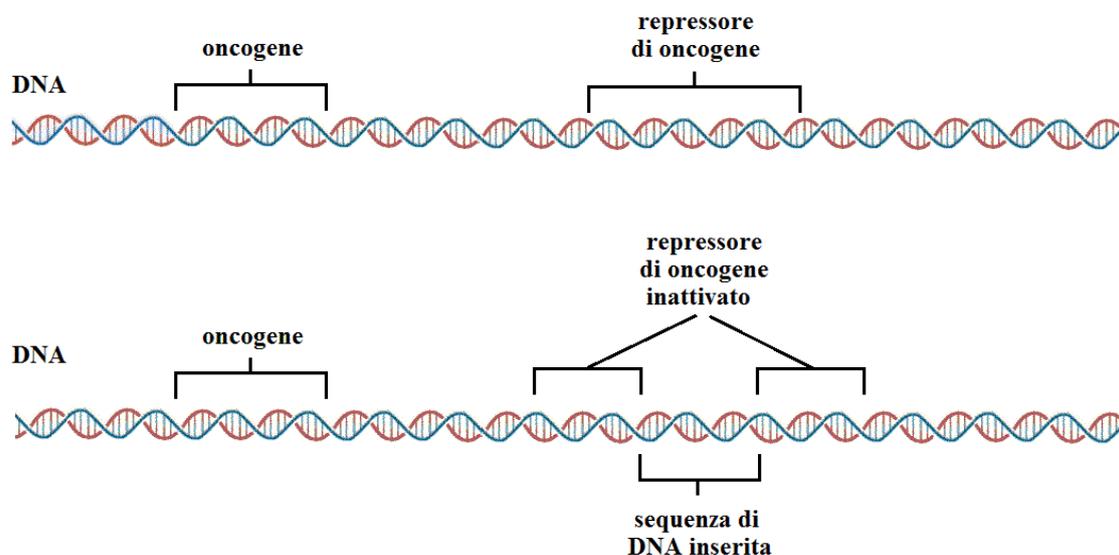


Figura 23 - L'inserimento di una sequenza di DNA in un punto casuale può determinare un danno fatale per l'intero organismo, ad esempio con l'inattivazione del repressore di un oncogene.

Inoltre, per limitare questo pericolo, il gene è inserito solo in una frazione di cellule che, se somatiche, sono sostituite dal ricambio cellulare, il che gradualmente cancella gli effetti terapeutici. Idealmente, la terapia genica dovrebbe riconoscere una sequenza che è nota essere senza alcuna funzione e che è presente come copia unica nell'intero DNA e poi, mediante un vettore sicuro, inserire il gene, spezzando la sequenza nota in un punto preciso in modo che una seconda inserzione sarebbe impossibile poiché la sequenza nota è modificata (Figura 24). Inoltre, il gene dovrebbe essere inserito nella maggioranza delle cellule, o preferibilmente in tutte, comprese le cellule staminali, in modo che la sua eliminazione per opera

del ricambio cellulare sia evitata. Con queste precisazioni, a parte ogni possibile obiezione bioetica, la terapia genica in cellule non della linea germinale potrebbe essere proposta per modificare il sistema telomero-telomerasi in modo che il declino della fitness correlato con l'età sia procrastinato o persino annullato.

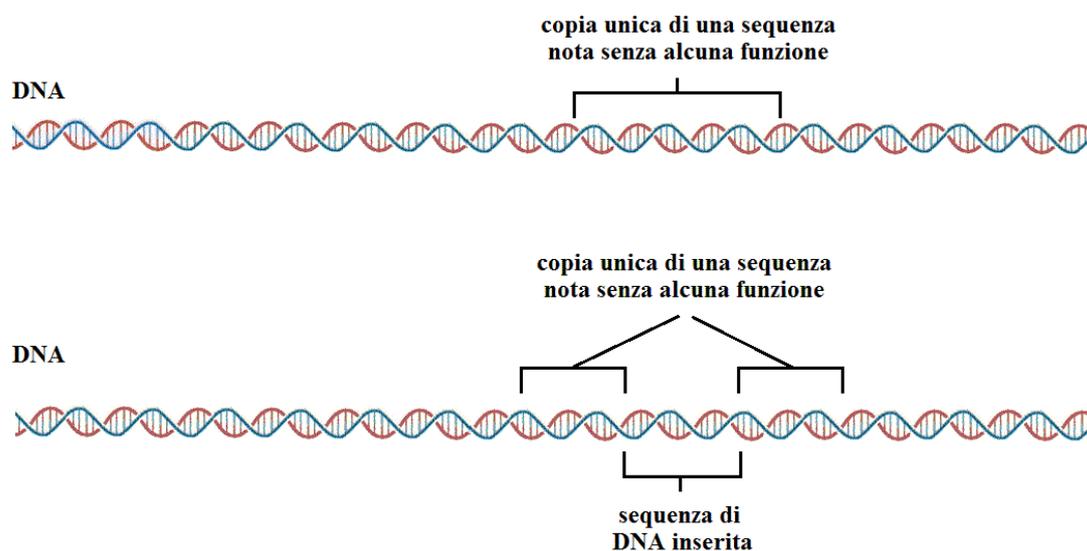


Figura 24 - La sequenza è inserita spezzando una sequenza nota che esiste come copia unica nell'intero genoma e non ha alcuna funzione. L'interruzione di questa sequenza unica rende impossibile un'altra inserzione genica nella stessa cellula.

Successivamente, la possibile applicazione delle stesse tecniche alle cellule della linea germinale, ossia la possibilità di ottenere una condizione di “senescenza non rilevabile”, probabilmente diventerà solo un problema bioetico o filosofico o religioso.

2) *Per le malattie associate con l'età* – In età raramente o mai presenti allo stato selvatico, la selezione naturale contro geni che causano una malattia in tali età è debole o inesistente. Tali malattie possono essere definite come “malattie associate con l'età” poiché esse sono una conseguenza evuzionistica delle crescente mortalità correlata con l'età allo stato selvatico. Una completa conoscenza di ciascuna di queste malattie associate è un'indubbia condizione preliminare. La fase successiva è il conseguimento di trattamenti per il loro completo controllo, vale a dire evitando che con il crescere dell'età il danno che apportano, benché ridotto,

si accumulino. Comunque, poiché le malattie associate con l'età sono comuni nell'anziano [Horan 1998] e la coesistenza di più di esse nello stesso individuo è frequente [Horan 1998], la modifica dei geni alterati prima dell'inizio dei sintomi appare il trattamento ideale. Per quanto riguarda la terapia genica, si veda il precedente paragrafo.

3) *Per le alterazioni dovute a fattori di usura e danno* – L'esempio principale è l'usura dei denti. Oltre alla loro sostituzione con protesi, sono ipotizzabili dentizioni multiple, vale a dire un periodico rinnovo dei denti come si riscontra in altre specie. “La senescenza dei denti nell'uomo consiste non nel loro consumo ma nella mancanza di sostituzione quando sono consumati.” [Williams 1957]. Un periodico rinnovo dei denti potrebbe essere possibile mediante modifiche genetiche delle cellule della linea germinale, ferme restando le obiezioni etiche che qui di seguito saranno accennate.



Figura 25 - Agire o non agire sul sistema telomero-telomerasi: questo è il problema!

Obiezioni bioetiche o filosofiche o religiose. I possibili trattamenti sopra accennati pongono grandi ostacoli tecnici, nessuno dei quali insuperabili in linea di principio, ma vi sono due problemi assai più grandi, le cui risposte non riguardano la scienza o la tecnica (Figura 25):

I – La prima è che modificare l’invecchiamento naturale portandolo a un ritmo più lento o addirittura nullo (come per gli animali con senescenza non rilevabile) costituisce un enorme cambiamento della natura umana, e non semplicemente la cura radicale di una malattia. Per tutto ciò, e persino più che per qualsiasi ipotesi di modifica delle cellule della linea germinale, è facile prevedere forti obiezioni bioetiche, filosofiche o religiose, o perfino accuse di blasfemia¹ o di ὕβρις².

II – La seconda difficoltà, ancora più grande, è che i cambiamenti nella civiltà derivanti da un rallentamento dell’invecchiamento o addirittura dalla condizione di non-senescenza, sarebbero certamente estremi e pieni di incertezze. Le radici della nostra civiltà, la struttura organizzativa e le tradizioni culturali sono basate sull’idea filosofica e sul credo religioso che i limiti nella durata della vita sono ineludibili. Il drastico cambiamento di tale realtà sarebbe una rivoluzione maggiore di qualsiasi altra rivoluzione mai sperimentata dalla nostra specie.

Conclusione

Il cambiamento di un antico paradigma appare indispensabile. Una mortalità che cresce ineluttabilmente man mano che l’età avanza, come asserisce il vecchio paradigma, non è un destino inevitabile. Al contrario il declino della fitness è una caratteristica i cui meccanismi basilari possono essere ora descritti con dettagli alquanto precisi e che è stata attivamente forgiata dall’evoluzione. Sebbene questa caratteristica possa sembrare paradossale in quanto non migliora la capacità individuale di sopravvivenza, l’ipotesi che è stata modellata dalla selezione implica che, almeno in linea di principio, è modificabile e controllabile. Il vecchio paradigma altresì considera il declino della fitness correlato con l’età come un carattere dovuto a insufficiente selezione, ossia un cattivo adattamento, e che può essere solo parzialmente contrastato [De Grey 2005]. Pertanto,

¹ “Allora Dio disse, ‘Creiamo l’uomo a Nostra immagine e somiglianza’ ” Genesi 1:26; “Così Dio creò l’uomo a Sua immagine, nell’immagine di Dio Egli Lo creò ... ” Genesi 1:27.

² Nella cultura greca classica un mortale che osava confrontarsi con gli dei, considerando se stesso o cercando di essere simile a loro, diventava colpevole di ὕβρις, vale a dire di imperdonabile empio orgoglio e arroganza nei confronti della divinità.

considerando l'invecchiamento come “una funzione biologica specifica” [Skulachev 1997], il nuovo paradigma offre un approccio più ottimistico al trattamento dell'invecchiamento.

Ma la sostituzione di un paradigma con un nuovo paradigma è sempre una rivoluzione scientifica e ciò di regola richiede una nuova generazione [Kuhn 1962].

Capitolo II

Possibilità di prolungare la vita al di là degli effetti benefici di un sano stile di vita

Riassunto

La durata media della vita e la longevità sono limitati dagli effetti di malattie e invecchiamento. Per l'obiettivo di una maggiore durata della vita, è indispensabile che una razionale analisi delle cause primarie di questi fenomeni non sia limitata alla descrizione dei loro meccanismi fisiopatologici. Se è vera l'affermazione di Dobzhansky secondo cui "niente in biologia ha un senso se non alla luce dell'evoluzione", appare logico sostenere che la teoria evoluzionistica deve essere il principale strumento per tale analisi.

Da un punto di vista evoluzionistico, le malattie sono la prevedibile conseguenza di: 1) difetti nella preservazione e trasmissione dell'informazione genetica; 2) alterazioni della nicchia ecologica a cui la specie è adattata (in particolare, per la nostra specie, dovute alla civilizzazione); 3) interazioni con altre specie (batteri, virus, funghi, protozoi, vermi parassiti, etc.); e 4) condizioni a cui la specie non è adattata.

Inoltre, la teoria evoluzionistica permette la paradossale predizione che, in particolari condizioni ecologiche, la selezione di parentela favorisce un progressivo declino della fitness, nelle sue manifestazioni più evidenti definito vecchiaia, che non deve essere classificato come una malattia. Questo declino è geneticamente determinato e regolato ed è ottenuto mediante una sofisticata modulazione del sistema telomero-telomerasi.

Uno stile di vita compatibile con la nicchia ecologica a cui la nostra specie è adattata e un buon trattamento medico permettono il conseguimento della massima durata della vita media definita dal programma genetico della nostra specie (nei limiti delle specifiche peculiarità genetiche individuali) ma non permette di superare i massimi valori della longevità definiti dallo stesso programma.

Per accrescere questi valori è indispensabile modificare il programma genetico dell'invecchiamento con una differente modulazione del sistema telomero-telomerasi.

In linea di principio, ammesso che ciò sia considerato eticamente accettabile, è possibile proporre una modifica di quella parte del programma genetico che regola l'invecchiamento in modo tale da ottenere una sopravvivenza senza limiti temporali, simile alla cosiddetta "senescenza non rilevabile" osservata in molte specie animali e vegetali. Un possibile piano per conseguire questo obiettivo e gli effetti sulla civilizzazione umana sono delineati.

Premessa

La malattia è abitualmente definita come un'alterazione di condizioni fisiologiche. Se è vero che i meccanismi evolutivisti sono indispensabili per la piena comprensione di qualsiasi fenomeno biologico [Dobzhansky 1973], è necessario investigare se e come le malattie e altri fenomeni che provocano sofferenza, disabilità e/o morte sono spiegabili e classificabili in termini evolutivisti e se da quest'approccio possono essere dedotte utili indicazioni.

Questa problematica è l'oggetto della cosiddetta medicina darwiniana o evolutivista [Williams e Nesse 1991; Nesse e Williams 1994; Stearns 1999; Trevathan et al. 1999, 2008a; Stearns e Koella 2008], proposta nel 1991 [Williams e Nesse 1991] ma con alcuni precorritori riconosciuti [Trevathan et al. 2008b].

Infatti, il principale concetto della medicina evolutivista, la "discordanza" tra le condizioni a cui la nostra specie è adattata e le attuali condizioni di vita come causa molto importante di malattia, era già stato chiaramente espresso e ben documentato prima che la definizione "medicina darwiniana" fosse formulata [Eaton, Shostak e Konner 1988].

Un altro precorritore [Libertini 1983] definì molti dei concetti espressi da Williams e Nesse [Williams e Nesse 1991; Nesse e Williams 1994], ma con una sostanziale differenza. Per l'attuale medicina evolutivista, in accordo con le idee gerontologiche prevalenti [Kirkwood e Austad 2000], l'invecchiamento è il risultato di un'insufficiente selezione per una maggiore longevità e, in particolare, per la teoria prevalente, di uno scambio fra maggiore manutenzione somatica e capacità riproduttiva contro una maggiore longevità [Austad e Finch 2008]. In alternativa, fu proposto che i meccanismi alla base dell'invecchiamento sono favoriti dalla selezione di parentela in particolari condizioni ecologiche [Libertini 1983, 1988], e di conseguenza il declino della fitness correlato con l'età dovrebbe

essere considerato una funzione fisiologica e non un insieme di condizioni patologiche non correlate fra loro e insufficientemente contrastate dalla selezione naturale. Questa differente interpretazione dell'invecchiamento, paradossale ed eretica, che è in accordo con l'ipotesi generale dell'invecchiamento come fenomeno adattativo [Weismann 1884; Skulachev 1997; Goldsmith 2003, 2004, 2006, 2008a; Longo et al. 2005], fu ribadita negli anni successivi con il sostegno di evidenza empirica che sconfessa l'interpretazione classica [Libertini 2006, 2008]. Inoltre, per quanto concerne la possibilità di drastiche modifiche della longevità nell'uomo, l'invecchiamento considerato come “una specifica funzione biologica invece che il risultato di un disordine in complessi sistemi viventi” [Skulachev 1997] permette una prospettiva totalmente nuova, basata sia su argomentazioni teoriche sia sugli straordinari progressi nella comprensione del sistema telomero-telomerasi, dell'apoptosi, del ricambio cellulare e di argomenti correlati.

L'interrogativo fondamentale

L'anatomia, la fisiologia e i comportamenti che caratterizzano ogni specie, inclusa la nostra, sono modellati e influenzati dalla selezione naturale che ha agito per innumerevoli generazioni. Poiché la selezione naturale migliora la fitness e la capacità riproduttiva, una previsione logica è che gli individui di una specie dovrebbero avere la migliore fitness e capacità riproduttiva, con l'eccezione di rari casi particolari.

Eppure gli individui della nostra specie sono afflitti da molte malattie e da altre condizioni disabilitanti, e la morte è un termine comune a molte di queste affezioni (Figura 1).

L'incredibile complessità e le meravigliose capacità degli occhi, del cervello, delle vie metaboliche e delle innumerevoli altre caratteristiche degli esseri viventi sono un frutto straordinario della selezione naturale, ma le malattie e altre condizioni disabilitanti sono una chiara sfida per la nostra fiducia nel potere della selezione naturale [Nesse e Williams 1994].

In breve, il disegno evolutivistico della nostra specie, sebbene complesso e ammirevole, è forse un parziale fallimento giacché siamo afflitti da molte imperfezioni e da severi difetti? In alternativa, queste imperfezioni e severi difetti sono intrinseci al processo evolutivistico?

La questione è particolarmente importante per la comprensione delle cause delle malattie che tormentano la nostra specie.

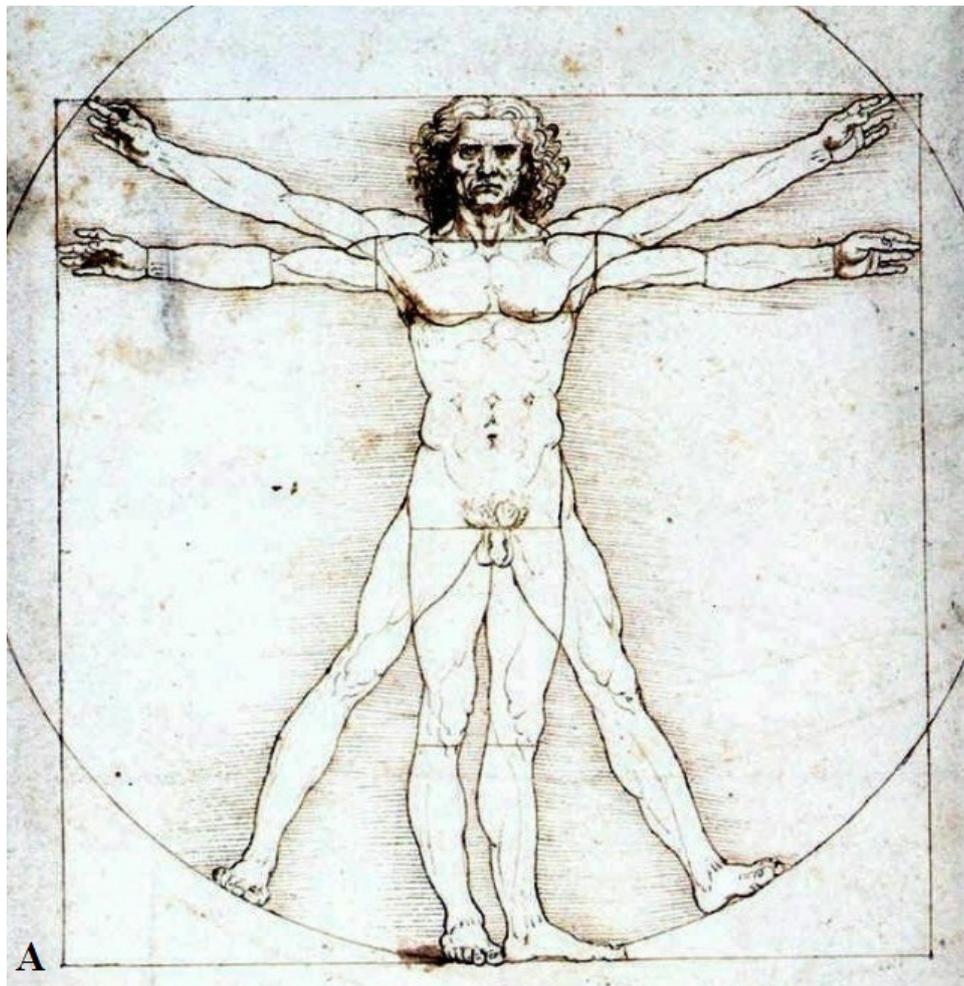


Figura 1 - A) Uomo di Vitruvio (Leonardo da Vinci). Questa immagine potrebbe essere il simbolo della selezione naturale che modella un organismo senza indebite imperfezioni. B-E) Immagini che illustrano alcune delle molte condizioni che affliggono la nostra specie e che sembrano indicare il fallimento della selezione naturale.

Il problema non è un'inutile disquisizione teorica [Nesse 2008]: una risposta razionale a questo interrogativo è la base per la comprensione delle cause primarie delle malattie e di condizioni similari, per elaborare corrette strategie per limitarne morbilità e mortalità, e per aumentare la durata media della vita e la longevità (la massima durata della vita).



Figura 2 – Una modifica casuale in un struttura complessa è una causa probabile di alterazioni.

Classificazione evolucionistica delle malattie e di altri fenomeni che causano sofferenza, disabilità e morte

1 - Malattie causate da alterazioni del genotipo

La preservazione dell'informazione genetica, compreso il suo fedele trasferimento da una generazione alla successiva, è imperfetta, un fatto che è fondamentale per l'intera teoria evolucionistica poiché senza diversità genetica la selezione naturale sarebbe impossibile. L'informazione genetica governa un programma sofisticato che determina lo sviluppo e le funzioni dell'organismo, entrambi fenomeni molto complicati. Una modifica casuale

in una struttura molto complessa sarà, come evento più probabile se non neutrale, una causa di disfunzione (Figura 2). Comunque, la selezione naturale opera contro il diffondersi di mutazioni dannose e di conseguenza è prevedibile che in una specie vi saranno molte alterazioni dell'informazione genetica, ciascuna con una bassa frequenza per effetto della selezione naturale.

La frequenza di equilibrio tra l'insorgenza di nuovi casi di alterazioni genetiche e la loro eliminazione ad opera della selezione naturale è facilmente calcolabile. Se il gene C dannoso è recessivo, la sua frequenza di equilibrio (C_e) sarà:

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

dove v = tasso di mutazione da un allele inattivo (C'); $-s$ = danno causato da C (il valore è negativo poiché C è dannoso); $[s]$ = valore assoluto di $-s$ (per il calcolo delle formule 1-7, si veda l'Appendice).

Usando 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:

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

Se C è dominante, la sua frequenza di equilibrio sarà:

$$C_e = \frac{2s + 2\sqrt{s^2 + 3sv}}{6s} = \frac{1 - \sqrt{1 - 3v/[s]}}{3} \approx 0.5 v/[s] \quad (3)$$

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

$$P_e = C_e^2 + 2C_e(1-C_e) = 2C_e - C_e^2 = \frac{(1 - \sqrt{1 + 3v/s})(5 + \sqrt{1 + 3v/s})}{9} \approx v/[s] \quad (4)$$

Queste frequenze di equilibrio sono illustrate nella Figura 3.

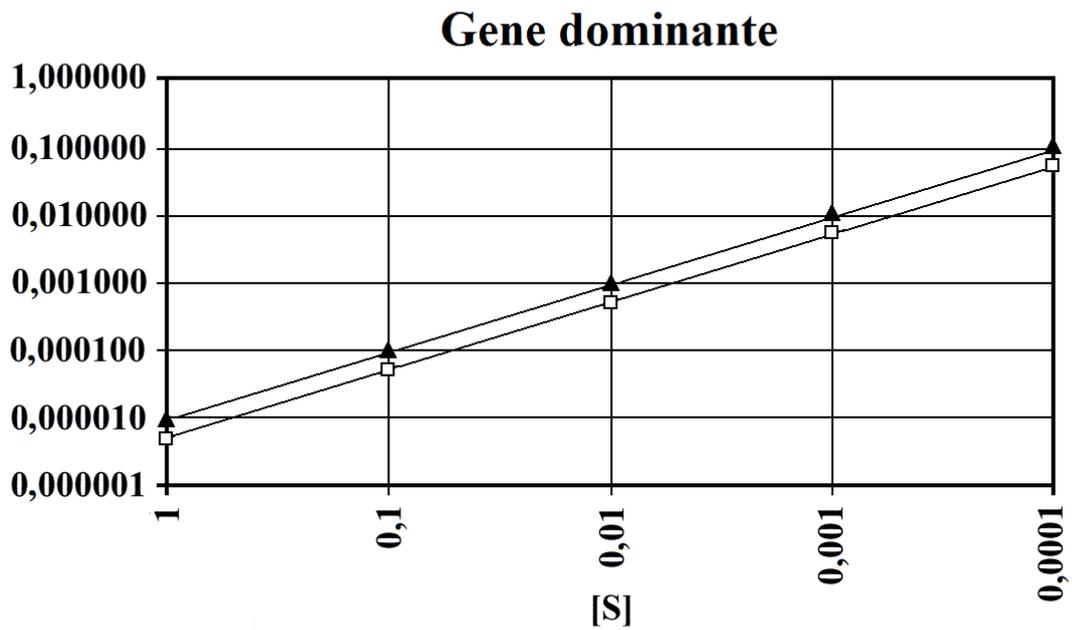
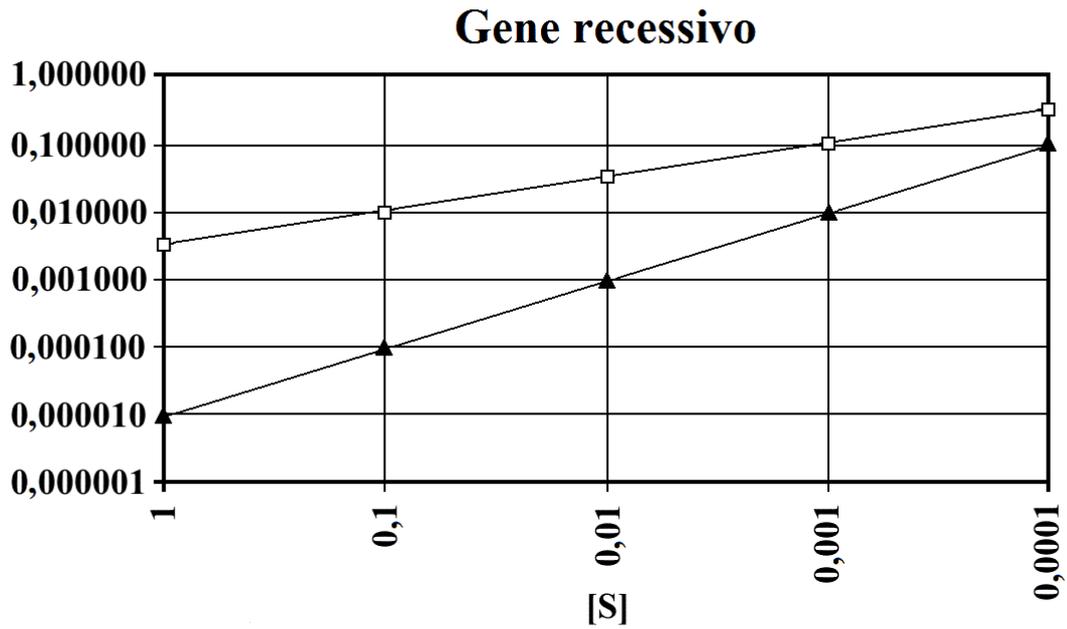


Figura 3 – Frequenze di equilibrio (C_e) e frequenze fenotipiche di equilibrio (P_e): sopra, per un gene C recessivo e dannoso; sotto, per un gene C dominante e dannoso.

Per le alterazioni cromosomiche, ν può essere interpretato come la frequenza di insorgenza di un'alterazione cromosomica e la sua frequenza di equilibrio, che coincide con la sua frequenza fenotipica, è:

$$P_e = C_e = \nu/[s] \quad (5)$$

come per un gene dannoso in un organismo aploide.

Se n tipi di mutazioni, con un tasso medio di mutazione ν , possono trasformare alleli neutrali in C , la frequenza di equilibrio fenotipica di C sarà:

$$P_e = n (\nu/[s]) \quad (6)$$

Queste formule significano che con piccoli valori di ν (ad esempio, $\nu < 0,00001$), se $[s]$ non è molto piccolo, la frequenza prevista per una malattia (P_e) causata da particolari alterazioni del genotipo è molto piccola, cioè gli alleli dannosi sono costantemente ed efficacemente rimossi dalla selezione naturale.

Ciò non è vero in due casi.

1) Se il valore di $[s]$ è molto piccolo, ad esempio nel caso in cui l'espressione dannosa del gene avviene a età in cui solo pochi individui sopravvivono e pertanto sono piccole le loro rimanenti aspettativa di vita e capacità riproduttiva, P_e sarà non piccolo. Questo è l'argomentazione della teoria dell'invecchiamento detta "Accumulo di Mutazioni" (v. dopo).

2) Se C è svantaggioso nello stato omozigote ($s < 0$) e vantaggioso nello stato eterozigote ($s' > 0$), la sua frequenza di equilibrio sarà:

$$C_e = - \frac{2 s'}{s - 4 s'} = \frac{2 s'}{[s] + 4 s'} \quad (7)$$

ed è facile calcolare le frequenze di equilibrio nelle condizioni omozigote (CC) ed eterozigote (CC'). L'alta frequenza di alcuni tipi di anemia geneticamente determinati (anemia con cellule falciformi, talassemia, deficienza di G6PD, etc.), che sono di lieve impatto per la salute nello stato eterozigote e mortali nello stato omozigote, è spiegata come conseguenza del loro vantaggio nella resistenza alla malaria nello stato eterozigote

[Trevathan et al. 2008b]. Da notare che, diversamente, se $s > 0$ e $s' < 0$, $C_e=1$.

Comunque, trascurando questi casi particolari, la predizione teorica è che in una specie vi saranno molte malattie causate da alterazioni del genotipo, ciascuna con una frequenza molto bassa (maggiore quando molte diverse mutazioni alterano lo stesso gene o la stessa via metabolica) ma con una frequenza complessiva non piccola.

2 - Malattie causate da alterazioni della nicchia ecologica

Una modifica delle condizioni a cui una specie è adattata, è un cambiamento in un sistema molto complesso e ordinato. Pertanto, una modifica della nicchia ecologica sarà, come evento più probabile se non neutrale, una causa di disfunzione (Figura 4).



Figura 4. Una modifica casuale in una sequenza ordinata e complessa è una probabile causa di alterazioni.

L'evoluzione è un lento processo. Se una specie è stata per lungo tempo (centinaia o migliaia di generazioni) in una particolare nicchia ecologica

(condizioni climatiche, comportamenti, abitudini nutrizionali, relazioni con altre specie, etc.), la specie dovrebbe essere considerata come ben adattata. Se la nicchia ecologica si modifica, l'adattamento alle nuove condizioni può richiedere tempi molto lunghi per le misure umane, ad esempio, centinaia o migliaia di generazioni, il che significa 2.000-3.000 anni per ogni cento generazioni.

Dalle origini fino a circa 10.000 anni fa, la nostra specie ha vissuto nelle condizioni del Paleolitico (Età della Pietra) e presumibilmente era ben adattata a questa "condizione ancestrale". Con la rivoluzione neolitica, l'agricoltura e l'allevamento modificarono grandemente la nostra nicchia ecologica. Successivamente, la massiva urbanizzazione, l'enorme incremento nella densità demografica, le innovazioni tecnologiche, la rivoluzione industriale, etc., hanno causato cambiamenti ancora maggiori.

Solo un parziale adattamento alle nuove condizioni è documentato o plausibile. Ad esempio, gli uomini dell'Età della Pietra non erano capaci di digerire il latte fresco dopo lo svezzamento e la maggior parte degli uomini moderni hanno la stessa incapacità, con l'eccezione di molte popolazioni dell'Europa, della parte occidentale dell'India e dell'Africa sub-sahariana, le quali, poiché allevano bestiame da migliaia di anni, hanno acquisito la capacità di digerire il latte fresco anche da adulti [Stearns et al. 2008].

La radicale modifica delle nostre condizioni di vita ha nettamente peggiorato lo stato di salute degli uomini moderni rispetto a popolazioni viventi nelle condizioni dell'Età della Pietra (cacciatori-raccoglitori). Alcuni anni orsono, vi erano poche popolazioni rimaste con questo stile di vita (ad esempio, parte degli aborigeni australiani, gli Hadza in Tanzania, i !Kung del Botswana, gli Ache del Paraguay, gli Efè della Repubblica Democratica del Congo, e gli Agta delle Filippine [Trevathan et al. 2008b]) ed esse non mostravano quasi carie dentaria [Price 1939], ipertensione, diabete mellito, obesità, affezioni cardiovascolari, cancro, disturbi psicologici ed emotivi [Eaton, Shostak e Konner 1988], nonostante più dell'8% degli individui superasse i 60 anni di età [Blurton Jones et al. 2002].

Alcuni esempi di particolari alterazioni della nostra nicchia ecologica e delle conseguenti malattie sono riportati nella Tabella 1. Una lista completa con la discussione del possibile meccanismo patologico particolare per ciascuna malattia richiederebbe un trattato.

Tabella 1 - Alterazioni della nicchia ecologica → Malattia

Eccessiva assunzione di sale → ipertensione [Eaton, Shostak e Konner 1988; Bragulat e de la Sierra 2002; Rodriguez-Iturbe et al. 2007] (→ ipertrofia cardiaca, scompenso cardiaco congestizio, aritmie e morte improvvisa [Morse et al. 2005]) (Figura 5)
Tempo eccessivo passato nella focalizzazione di oggetti vicini o in condizioni inappropriate per la vista → miopia [Fredrick 2002] (colpisce fino al 70-90% di una popolazione [Chow et al. 1990; Wong et al. 2000]), difetti refrattivi (miopia, astigmatismo, ipermetropia) [Kee e Deng 2008]
Eccessiva assunzione di grassi insaturi, cibi ipercalorici, carne con alto contenuto di grassi → obesità (→ carcinoma delle cellule renali [Lipworth et al. 2006], ipertrofia cardiaca, scompenso cardiaco congestizio, aritmie e morte improvvisa [Morse et al. 2005]) (Figura 6), diabete tipo 2 (Figura 7) e aumentato rischio vascolare (→ infarto del miocardio, ischemia cerebrale, infarti in tutti i distretti vascolari, ipertrofia cardiaca e scompenso cardiaco, etc.) [Eaton, Shostak e Konner 1988]
Rumore nei posti di lavoro, fumo, alto indice di massa corporea (BMI) → riduzione delle capacità uditive [Fransen et al. 2008]
Eccessiva esposizione al rumore → riduzione delle capacità uditive [Eaton, Shostak e Konner 1988; Daniel 2007]
Fumo e/o inquinamento dell'aria → bronchite cronica [Viegi et al. 2006], enfisema [Taraseviciene-Stewart e Voelkel 2008]
Fumo → malattie delle coronarie e altre malattie cardiovascolari, malattie croniche respiratorie, complicazioni della gravidanza, e malattie respiratorie nei bambini [Giovino 2007], carcinoma del polmone [Giovino 2007; Clavel 2007] / della laringe [Clavel 2007; La Vecchia et al. 2008] / della vescica [Clavel 2007; Janković e Radosavljević 2007] / del rene [Lipworth et al. 2006] / del pancreas [Hart et al. 2008], ulcera peptica [Halter e Brignoli 1998; Parasher ed Eastwood 2000]
Eccessiva ingestione di carboidrati semplici e raffinati (in particolare zucchero) e altre alterazioni della dieta → carie dentale, piorrea, disodontiasi [Eaton, Shostak e Konner 1988; Price 1939] (Figura 8)
Scarsa assunzione di fibre → stipsi, diverticolosi del colon, carcinoma del colon e dello stomaco, diabete tipo 2, sindrome metabolica e malattie cardiovascolari [Trepel 2004], appendicite [Arnbjörnsson 1983; Adamidis et al. 2000]

Scarsa ingestione di calcio e attività fisica ridotta → osteoporosi [Eaton, Shostak e Konner 1988; NIH 2000], mal di schiena [Eaton, Shostak e Konner 1988]

Ridotta esposizione ad allergeni naturali nell'infanzia → allergie [Janeway et al. 2001]

Esposizione a sostanze chimiche sintetizzate artificialmente → malattie allergiche [Kirchner 2002]

Alterate condizioni di socializzazione, stress della moderna civilizzazione → disordini mentali e psichiatrici [Eaton, Shostak e Konner 1988; Nesse e Williams 1994]

Vari fattori → aumentata incidenza di vari tipi di malattie neoplastiche maligne [Eaton, Shostak e Konner 1988; Greaves 2000]

Alcolismo → steatosi epatica, epatite steatosica, cirrosi [Adachi e Brenner 2005], carcinoma della laringe [La Vecchia et al. 2008]

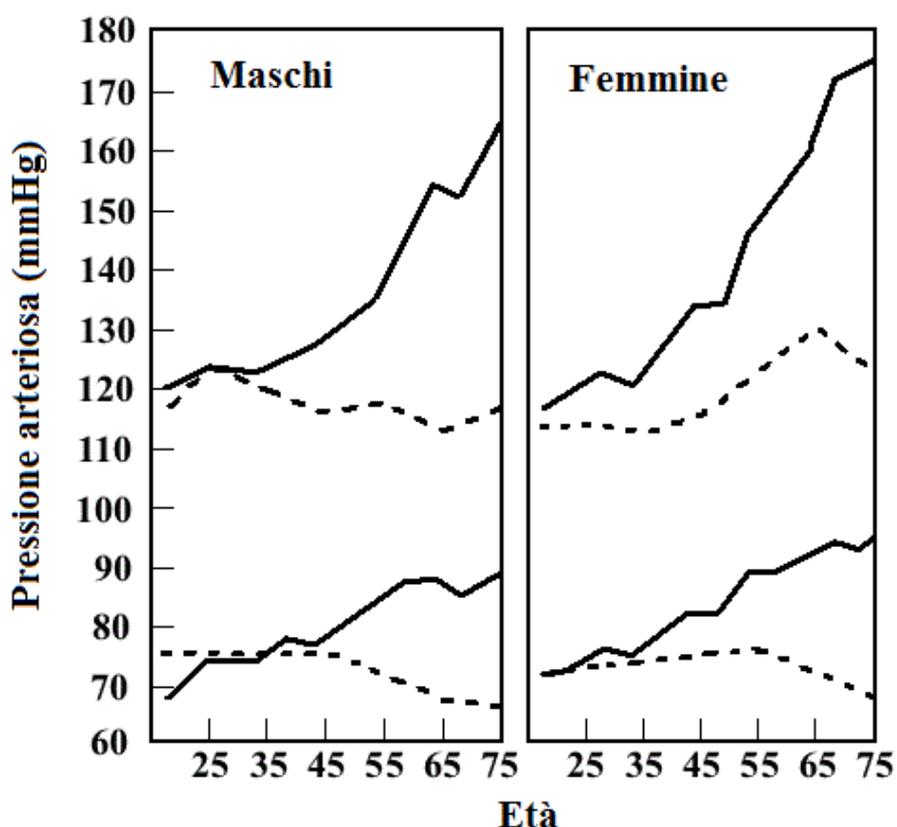


Figura 5 – Pressione arteriosa sanguigna sistolica (in alto) e diastolica (in basso) in individui del popolo !Kung (linee tratteggiate) e in cittadini di Londra (linee continue) [Truswell et al. 1972] (figura parzialmente ridisegnata).

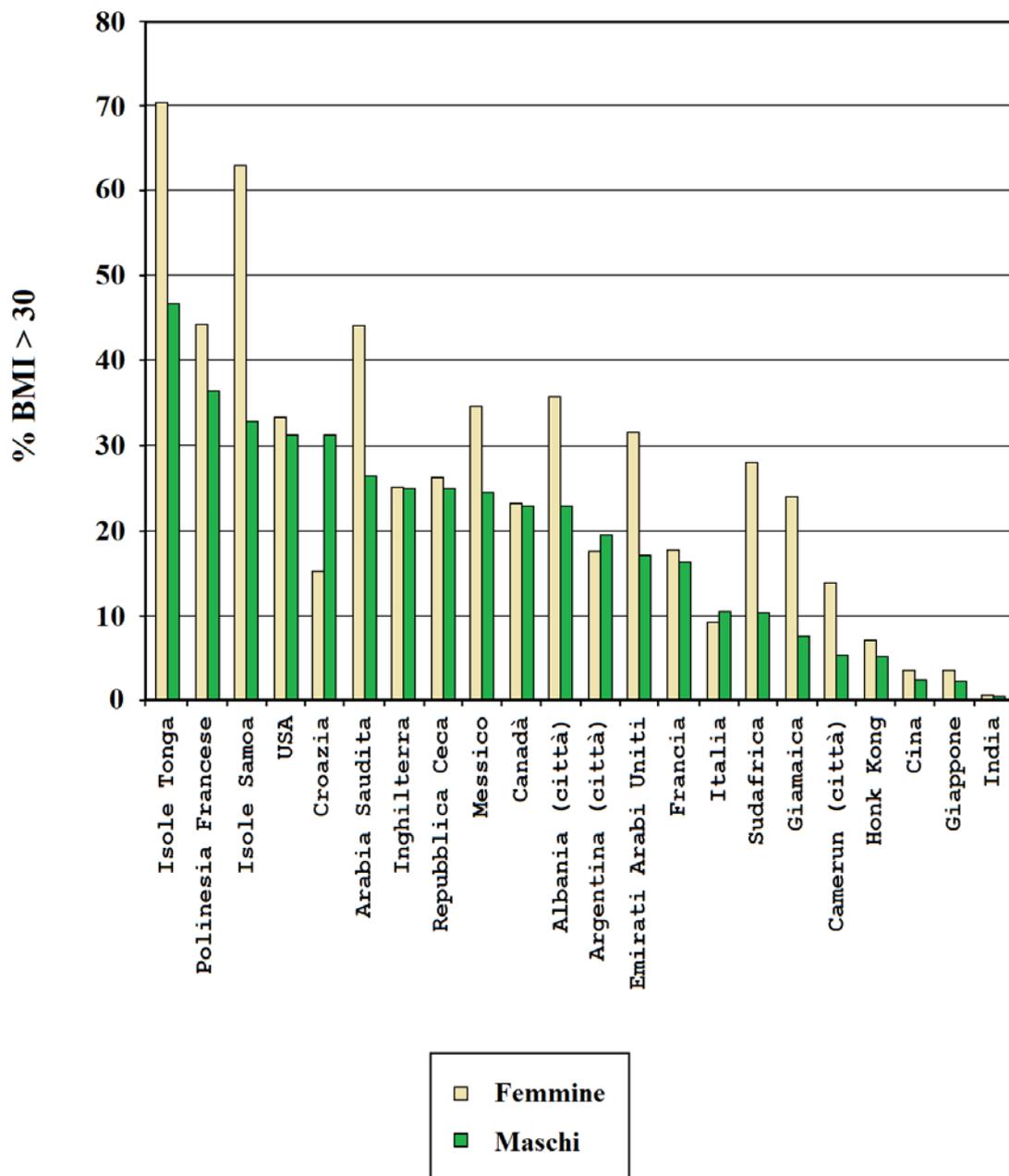


Figura 6 – Frequenze dell'indice di massa corporea (BMI) > 30 in alcuni paesi (Dati dalla International Obesity Task Force, dagli ultimi anni dei '90 al 2002; www.iof.org/database/documents/GlobalPrevalenceofAdultObesityJuly08pdfv2.pdf). Alcuni anni fa, per le poche popolazioni rimaste di cacciatori-raccoglitori, l'obesità era una rarità [Eaton, Konner e Shostak 1988].

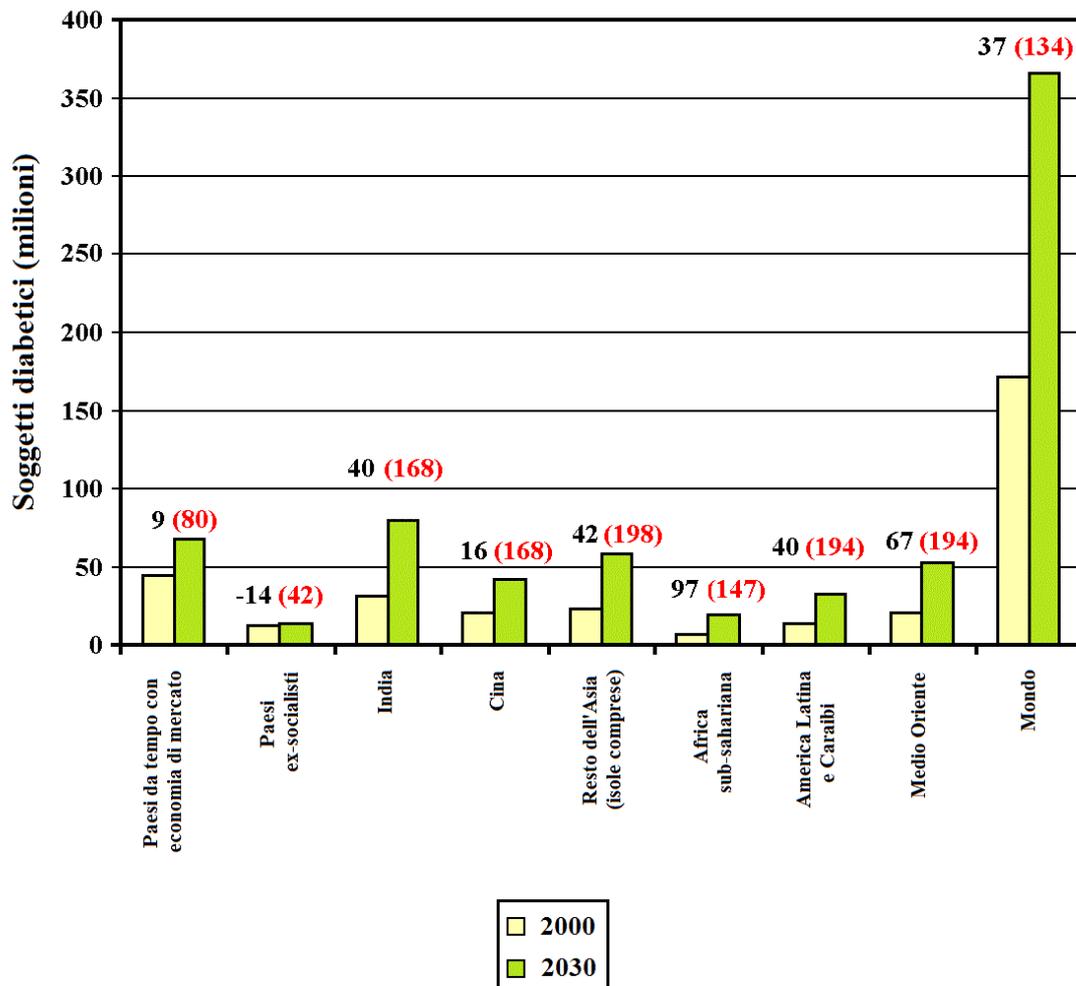


Figura 7 - Numero stimato (in milioni) di persone con il diabete a seconda delle regioni per il 2000 e il 2030. Sono anche indicati la percentuale di incremento della malattia nella popolazione complessiva e (tra parentesi) la percentuale di incremento fra gli individui con più di 65 anni [Wild et al. 2004]. Il diabete era una rarità nelle poche popolazioni rimaste di cacciatori raccoglitori [Eaton, Konner e Shostak 1988].

E' essenziale una distinzione fra cause "prossimali" e "evoluzionistiche" di una malattia [Nesse e Williams 1994]. Le cause evoluzionistiche (o più lontane o primarie) spiegano "perché" le malattie si originano. Le cause prossimali (o vicine) spiegano "come" le malattie si manifestano.

I geni che rendono un individuo vulnerabile a una malattia in condizioni particolari sono le cause "prossimali", mentre la causa "evoluzionistica" è che l'individuo è esposto a condizioni ecologiche a cui la specie non è adattata. Ad esempio, una dieta moderna "normale" comprende

un'assunzione di sale più di dieci volte quella che si stima fosse ingerita nei tempi preistorici o di quella assunta nelle attuali società superstiti di cacciatori-raccoglitori. Il nostro corpo è adattato a questa normale assunzione di sale e non alla “normale” quantità odierna, e dopo anni di eccessivo uso di sale, i geni “che predispongono all’ipertensione” determinano per l’appunto l’ipertensione. La vera causa dell’ipertensione è l’anormale eccessiva assunzione di sale a cui l’organismo non è adattato (causa primaria o evolutivistica), e non l’esistenza e l’azione di geni “che predispongono all’ipertensione” (causa prossimale).

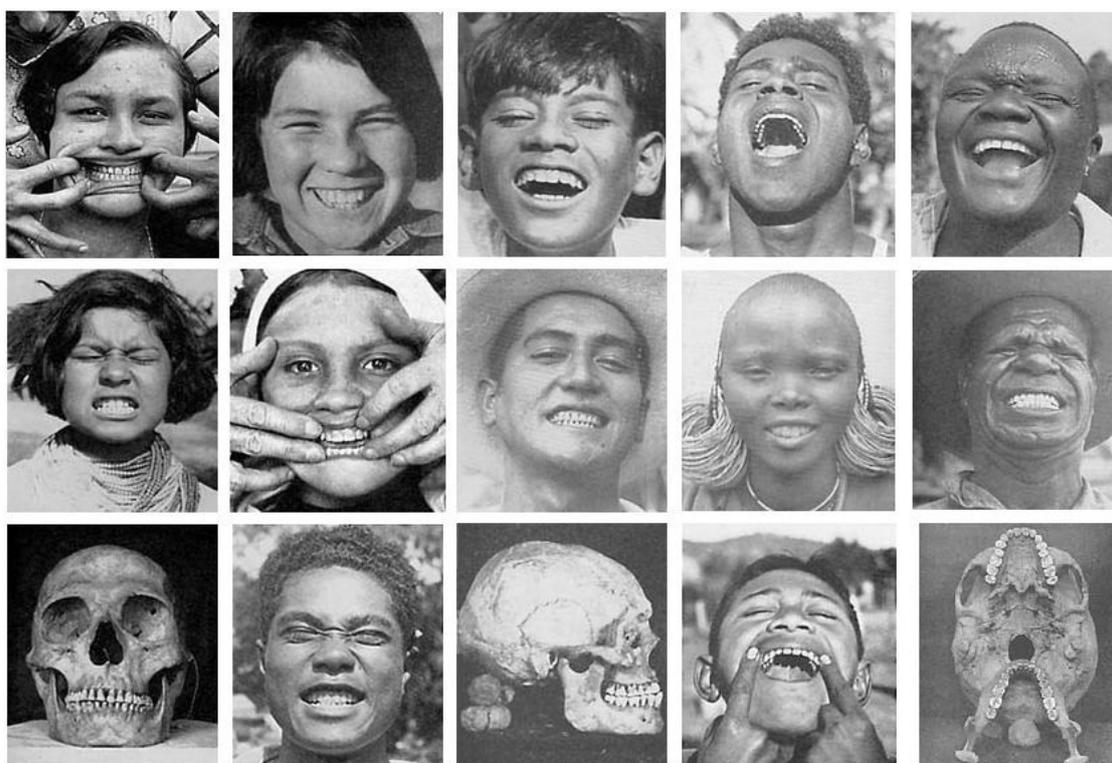


Figura 8A – Foto di indigeni e di crani da popolazioni fedeli alle consuetudini dietetiche ancestrali (“dentatura ... eccellente ed esente da carie dentale”) [Price 1939].

La “normalità” della dieta moderna è corretta nel suo significato statistico (media assunzione di sale in una popolazione moderna) così come è corretto dire che la cecità è statisticamente “normale” in una comunità di uomini ciechi. Altresì dovrebbe essere evidenziato che la “normale” dieta moderna è largamente anormale in termini evolutivistici e che i geni “che

“predispongono all’ipertensione” non sono per niente patologici ma nelle moderne dannose condizioni di vita causano ipertensione. La condizione patologica è la moderna dieta “normale” e non i geni “che predispongono all’ipertensione”: l’attenzione dovrebbe essere pertanto focalizzata sulle cause reali, vale a dire sulle cause primarie, e sulla loro possibile correzione e non sulle cause prossimali (Figura 9).



Figura 8B – Foto di indigeni che seguono le abitudini dietetiche moderne (carie dentale multipla, “accavallamento dei denti”, “cambiamenti nella forma della faccia”, piorrea) [Price 1939]. Dopo circa 70 anni dalla pubblicazione, l’evidenza e l’insegnamento dello straordinario libro di Price (chiamato il “Charles Darwin della nutrizione”) sono ancora perfettamente attuali e possono essere un simbolo dei danni causati dagli irresponsabili cambiamenti della nostra nicchia ecologica.

La discordanza (“*mismatch*”) tra la nicchia ecologica a cui i nostri geni sono ben adattati e le attuali condizioni e abitudini di vita è la vera (“*primaria*”) causa di larga parte delle nostre malattie (“*Ipotesi della Discordanza*”) [Eaton, Shostak e Konner 1988] (Figura 10).



Figura 9 –A sinistra: Le vittime dell’Olocausto furono milioni (Ebrei, zingari, omosessuali, dissidenti politici, etc.). Interpretazione sbagliata della loro morte (causa prossima): le privazioni e le sofferenze dei campi di concentramento, i mezzi utilizzati per la loro uccisione, etc. Interpretazione corretta (causa primaria): fu causata da un’ideologia infame e criminale che perseguitava chi era differente per razza, credo religioso, etc. A destra: Le vittime del diabete, dell’ipertensione, dell’aterosclerosi, e delle loro complicazioni assommano a decine di milioni. Interpretazione sbagliata (causa prossima): questo è causata dai loro geni che li predispongono al diabete, all’ipertensione e all’aterosclerosi. Interpretazione corretta (causa primaria): ciò è causato dalle alterazioni della nicchia ecologica (troppe calorie, troppi grassi insaturi e sale, etc.) a cui l’organismo non è adattato.

3 - Malattie causate da interazioni con altre specie

Poiché vi è una continua competizione tra specie con esigenze evuzionistiche contrapposte e, in particolare, tra un organismo e i suoi parassiti (batteri, virus, funghi, protozoi, vermi parassiti, etc.), una terza causa generale di malattia è prevedibile.

Il numero di batteri che vivono nell’intestino di ogni uomo è stato stimato essere dieci volte il numero delle sue cellule [Mullard 2008] e vi sono innumerevoli altri batteri che vivono sulla nostra pelle e sulle nostre mucose e altrove, su o nel nostro corpo. La massima parte di questi batteri vivono con noi senza essere dannosi e spesso sono utili, ad esempio ostacolando l’insediamento e l’attacco di specie batteriche patogene.

“L’insieme complessivo di oltre 1400 specie patogene si suddivide in più di 200 virus, 500 batteri e rickettsie, 300 funghi, 50 protozoi, quasi 300 elminti, e almeno 2 tipi di prioni” [Woolhouse e Antia 2008].

In questa categoria di malattie, la selezione naturale agisce sia sul lato dell’ospite che su quello dei suoi parassiti. Il risultato deve essere un compromesso tra le contrapposte esigenze di sopravvivere e propagarsi sia dell’ospite che dei parassiti.

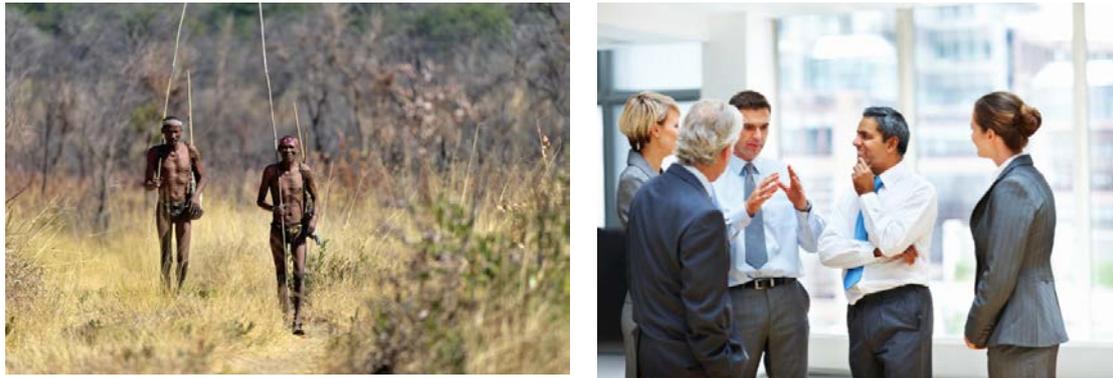


Figura 10 – A sinistra: Gli uomini di una tribù di Boscimani (!Kung San, Botswana), una delle poche popolazioni rimaste di cacciatori-raccoglitori, hanno uno stile di vita analogo a quello delle popolazioni paleolitiche. Essi sono adattati assai bene alla loro antica nicchia ecologica e malattie come ipertensione, diabete, obesità, affezioni cardiovascolari, cancro, disturbi psicologici ed emotivi, carie dentale, miopia, astigmatismo, etc., erano per loro evenienze rare o inesistenti. A destra: Uomini moderni. I loro geni sono praticamente gli stessi delle popolazioni cacciatrici-raccoglitrici ma vi è una dannosa “discordanza” tra le loro abitudini di vita e la nicchia ecologica a cui i loro geni sono adattati: le anzidette malattie, e molte altre, ne sono la terribile conseguenza [Eaton, Shostak e Konner 1988].

La relazione tra un organismo e i suoi parassiti è analoga a quella tra una preda e i suoi predatori, e in essa noi abbiamo una posizione scomoda analoga a quella di una preda. Comunque, è prevedibile che, in modo simile a ciò che accade nel caso preda-predatore [Wilson 1975], per minimizzare gli svantaggi e massimizzare i vantaggi sia per l’ospite che per il parassita, i parassiti danneggeranno maggiormente gli individui molto giovani, ammalati e anziani, che hanno minore potenziale riproduttivo, e meno le età intermedie e gli individui sani che hanno maggiore potenziale riproduttivo.

4 - Malattie causate da condizioni al di là dell'ambito di adattamento

Condizioni al di là di quelle a cui una specie è adattata (ad esempio, la caduta di un uomo da un'altezza eccessiva, il trauma di un violento incidente automobilistico, etc.) sono una causa sicura di disfunzione fisiologica e anche morte.

5 - Fenomeni simili a malattie causati dalla selezione naturale

La selezione naturale può determinare fenomeni simili a malattie, che possono essere in apparenza dannosi o, altresì, che sono sicuramente dannosi in termini di fitness individuale.

Per questa categoria di fenomeni, che non possono essere definiti come malattie, una suddivisione è necessaria sulla base del meccanismo selettivo coinvolto.

5A - Fenomeni che sono difese contro agenti dannosi

La selezione naturale favorisce meccanismi fisiologici che sono difensivi contro infezioni e altre condizioni o agenti dannosi (ad esempio, febbre, tosse, starnuti, prurito, fenomeni infiammatori, dolore nocicettivo, diarrea, carenza di ferro, nausea, emozioni come ansia, paura, etc.) [Williams e Nesse 1991].

In particolare: 1) la carenza di ferro, specialmente in gravidanza, appare una difesa efficace contro le malattie infettive [Nesse e Williams 1994; Denic e Agarwal 2007] perché: “L’acquisizione di ferro è una fase fondamentale nello sviluppo di un patogeno, e la complessità e la ridondanza, sia nell’ospite sia nel patogeno, di meccanismi per acquisire il ferro e per controllarne il flusso e la disponibilità illustrano la lunga e perdurante battaglia per il ferro.” [Doherty 2007]; 2) la nausea della donna in gravidanza protegge l’embrione da cibi che contengono sostanze chimiche teratogene (ad esempio, sostanze chimiche naturali tossiche nei vegetali) o potenzialmente infette (ad esempio, carne, pesce, pollame e uova) [Flaxman e Sherman 2000, 2008].

In certi casi, che devono essere considerati come dannose condizioni patologiche di alterazione di funzioni fisiologiche benefiche, il meccanismo difensivo è eccessivo o inappropriato oppure dannosamente - per l’ospite - alterato da un parassita per accrescere la sua propagazione (ad esempio, la diarrea in infezioni da *Vibrio cholerae* [Vanden Broeck et al. 2007]).

5B - Fenomeni che danneggiano altri individui geneticamente imparentati ma che migliorano la fitness complessiva della progenie

Il sistema immunitario dei vertebrati deve discriminare tra gli antigeni di ciascun individuo ospite e quelli dei parassiti, che cercano di superare le difese immunologiche usando nei propri rivestimenti esterni proteine con la stessa antigenicità di quelle dell'ospite (mimetismo antigene). La difesa dell'ospite contro il mimetismo antigene è quella di avere la massima variabilità tra gli individui delle formule antigeni in modo che un mimetismo adatto a infettare tutti i potenziali ospiti sia impossibile [Libertini 1983]. Il maggiore complesso di istocompatibilità (MHC) è il principale mezzo con cui l'organismo ospite umano ottiene una straordinaria variabilità antigenica. Le differenze tra le formule antigeniche di ospite e parassita determinano una maggiore resistenza all'infezione mentre le somiglianze la riducono. I rapporti tra resistenza o suscettibilità a molteplici malattie infettive o tra infezioni e specifici alleli MHC umani sono ben documentati [Lechler e Warrens 2000; Shiina et al. 2004].

La migliore progenie è quella con la maggiore variabilità antigenica. Ciò può essere conseguito mediante scelta del partner in funzione dell'antigenicità MHC e con selezione dopo il concepimento. Il primo fenomeno è stato osservato in molti gruppi di vertebrati ed è largamente diffuso in natura [Slev et al. 2006]. I geni MHC influenzano le preferenze umane nell'accoppiamento. Le studentesse di un collegio valutavano gli odori di uomini con differenti antigeni MHC come 'più piacevoli' rispetto a quelli degli uomini con simili antigeni MHC [Wedekind et al. 1995; Wedekind e Furi 1997]. In una comunità isolata, etnicamente omogenea, furono osservate in misura significativa meno coppie formarsi avendo simili aplotipi MHC di 16 loci [Ober, Weitkamp et al. 1997; Ober, Weitkamp e Cox 1999].

Con il secondo fenomeno, anche definito 'scelta criptica della femmina' [Loisel et al. 2008], l'aborto elimina lo sviluppo di progenie con meno variabilità antigenica che ha una ridotta fitness futura a causa della potenziale ridotta resistenza a malattie [Apanius et al. 1997]. Per gli animali, la selezione dopo il concepimento è ben documentata [Tregenza e Wedell 2000]. Per l'uomo, in uno studio, un eccesso di eterozigosi per gli antigeni MHC fu riscontrato nei neonati maschi [Dorak et al. 2002]. Una serie di studi su una comunità isolata ed etnicamente omogenea ha documentato

che le coppie con alleli HLA-DR condivisi nei confronti con coppie che non avevano in comune gli stessi alleli, in misura significativa avevano meno bambini [Ober e van der Ven 1997], un maggiore intervallo tra le gravidanze [Ober 1992] e un maggiore tasso di aborti [Ober, Hyslop et al. 1998].

In questa sottocategoria, la selezione naturale determina la morte di embrioni sani per ottimizzare la potenzialità di sopravvivenza della progenie superstita.

L'infanticidio o l'abbandono di neonati sani quando le risorse sono insufficienti rappresentano comportamenti antichi e largamente diffusi [Scrimshaw 1984], verosimilmente determinati da analoghe necessità evoluzionistiche di non dare spazio a progenie con ridotte possibilità di sopravvivenza e che potrebbe sottrarre risorse preziose a individui imparentati [Eaton, Shostak e Konner 1988]. Analoghi comportamenti sono ben noti per gli animali [Woolhouse e Antia 2008].

Questa sottocategoria indica che la selezione naturale causa eventi fisiologici che potrebbero essere interpretati come patologici o comportamenti considerati eticamente inaccettabili nella nostra cultura. Questo implica che da un punto di vista etico non tutti gli effetti della selezione naturale possono essere accettati in modo acritico o considerati in linea di principio come da non essere modificati.

5C - Fenomeni che danneggiano l'individuo ma sono favoriti dalla selezione di parentela

Nella definizione classica di selezione naturale, la variazione della frequenza di un gene X tra due generazioni successive (Δ_x) dipende dal vantaggio o svantaggio S causato da X , vale a dire la differenza di fitness rispetto a un allele neutrale, e dal valore riproduttivo P dell'individuo in cui X agisce:

$$\Delta_x \propto S P \quad (8)$$

Le definizioni di fitness complessiva e selezione di parentela hanno fortemente modificato questo concetto [Hamilton 1964, 1970; Trivers 1971; Wilson 1975; Trivers e Hare 1976]. Se un gene X , presente nell'individuo I_1 , determina degli effetti oltre che su I_1 anche su altri n individui I_2, I_3, \dots, I_n geneticamente imparentati con I_1 , con coefficienti di

parentela (ossia la probabilità di avere geni in comune) pari rispettivamente a $r_2, r_3, \dots r_n$, e con valori riproduttivi rispettivamente pari a $P_2, P_3, \dots P_n$, per valutare la diffusione o l'eliminazione di X all'interno della specie, devono essere considerati gli effetti di X sulle fitness di tutti gli n individui coinvolti, vale a dire:

$$\Delta_x \propto \sum_{z=1}^n (S_z P_z r_z) \quad (9)$$

Se non vi è altro individuo al di fuori di I_1 coinvolto nell'azione di X, la formula (9) si trasforma nella formula classica (8), poiché $r_1 = 1$.

Questa rivoluzione concettuale permise una convincente spiegazione per l'organizzazione sociale di formiche e api e per molti altri fenomeni altrimenti inspiegabili [Wilson 1975].

La fitness complessiva e la selezione di parentela sono indispensabili per comprendere i fenomeni discussi in questa sottocategoria.

5C.1 - Azioni altruistiche

Per gli animali son ben documentati comportamenti o azioni che danneggiano o uccidono gli individui che le esprimono, ma accrescono le possibilità di sopravvivenza di individui consanguinei [Wilson 1975], ad esempio, la difesa dai predatori di un branco di babbuini gialli (*Papio cynocephalus*) [Altman e Altmann 1970] o di babbuini chacma (*Papio ursinus*) [Hall 1960] per opera dei maschi dominanti con grande rischio individuale.

Azioni che danneggiano un individuo e nel contempo favoriscono individui imparentati non necessitano di una scelta dettata dalla volontà e nemmeno dell'esistenza di un sistema nervoso. Ad esempio, l'apoptosi è una forma di morte cellulare, determinata e strettamente regolata geneticamente, che fu descritta per la prima volta come fenomeno differente dalla necrosi in epatociti di fegato normale [Kerr et al. 1972] e che è tipica degli organismi eucarioti, anche se monocellulari [Fröhlich et al. 2007]. Nel lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), la scarsità di nutrienti fa scattare l'apoptosi degli individui definibili come più anziani (vale a dire quelli della linea madre con più duplicazioni precedenti) aumentando in tal modo "le possibilità del resto della popolazione di sopravvivere e di formare sporule,

accrescendo così la probabilità che il clone sopravviva” [Büttner et al. 2006] e ciò è spiegato come “morte cellulare altruistica” [Büttner et al. 2006], ossia come “comportamento altruistico” [Fröhlich e Madeo 2000] causato da un meccanismo di selezione di parentela.

Per gli esseri umani, comportamenti e azioni che riducono la fitness o mettono in pericolo la salute e persino la vita degli individui che li manifestano, sono ben conosciuti e possono essere interpretati come comportamenti altruistici determinati dalla selezione di parentela [Silk 1980; Rachlin e Jones 2008].

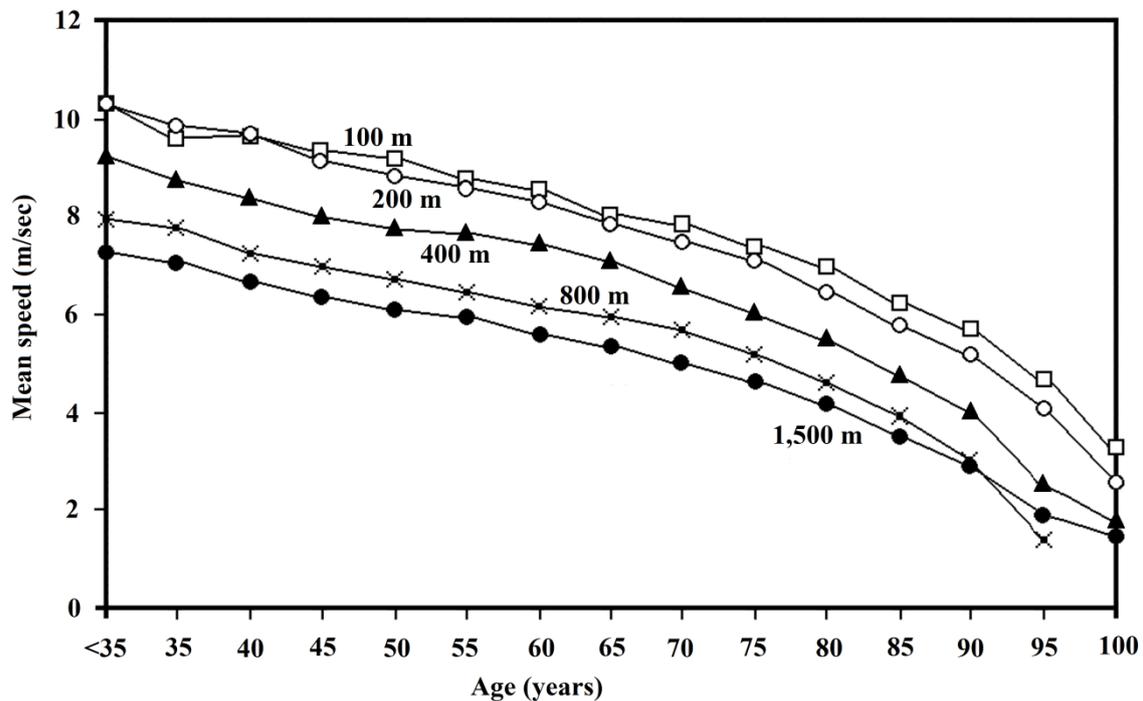


Figura 11 – Declino della fitness correlato con l’età. Fonte dei dati per età inferiori a 35 anni (record mondiali): [Record mondiali di atletica leggera 2017]; per gli altri gruppi con età maggiore: [Record mondiali in atletica distinti per gruppi di età 2017].

5C.2 - Invecchiamento

Per molte specie, compresa la nostra, un declino della fitness correlato con l’età è ben documentato in condizioni selvatiche [Deevey 1947; Laws 1966, 1968; Laws e Parker 1968; Spingale 1970, 1972; Finch 1990; Holmes e Austad 1995; Ricklefs 1998] oltre che in condizioni protette. Questo declino della fitness è illustrato dal continuo declino correlato con l’età delle prestazioni atletiche (Figura 11), che si rispecchia nell’incremento

della mortalità correlato con l'età: "Nessuno considererebbe un uomo nella sua terza decade di vita come senile, eppure, in base ai record dell'atletica e alle tabelle di sopravvivenza, la senescenza è rampante durante questa decade." [Williams 1957].

Nelle sue manifestazioni più avanzate, questo fenomeno è ben noto come invecchiamento o senescenza, ma l'uso di questi termini è scientificamente insidioso in quanto spesso è riferito solo alle espressioni più evidenti del declino della fitness, raramente osservabili allo stato selvatico ("... vi è scarsa evidenza che la senescenza contribuisca significativamente alla mortalità nello stato selvatico ... Di regola gli animali selvatici semplicemente non vivono abbastanza a lungo da diventare vecchi." [Kirkwood e Austad 2000]). Per evitare fraintendimenti, è preferibile, o meglio necessario, usare altre definizioni che descrivono più precisamente il fenomeno come "crescente mortalità con crescente età cronologica in condizioni naturali" (abbreviato in IMICAW usando la definizione in inglese) [Libertini 1988] o "senescenza attuariale nello stato selvatico" [Holmes e Austad 1995; Ricklefs 1998] o "declino della fitness correlato con l'età allo stato selvatico". Tali definizioni non fanno riferimento a valori limiti, arbitrariamente stabiliti, per il grado di declino della fitness a partire dai quali inizia l'invecchiamento.

Una convinzione largamente diffusa è che il declino della fitness correlato con l'età è il risultato di insufficiente selezione nelle età più anziane contro mutazioni dannose accumulate in tempi evolutivisti (teoria dell'Accumulo di Mutazioni) [Medawar 1952; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Mueller 1987; Partridge e Barton 1993].

Contro questa ipotesi è stato dimostrato che persino con un gran numero di geni dannosi che esprimono la loro azione nociva a età in cui i sopravvissuti vanno calando, la selezione naturale riduce grandemente le frequenze e gli effetti di tali geni di modo che la curva di sopravvivenza è scarsamente modificata dalla loro azione (Figura 12). La conclusione, finora mai dimostrata erronea, è che la teoria dell'Accumulo di Mutazioni è insostenibile come spiegazione del declino della fitness correlato con l'età allo stato selvatico [Libertini 1983, 1988, 2006].

Per superare la debolezza della teoria dell'Accumulo di Mutazioni, due nuove ipotesi furono proposte. La prima (teoria della Pleiotropia Antagonistica) propose che il declino della fitness era determinato da geni pleiotropici, vale a dire con molteplici azioni, benefiche nelle prime età e

dannose nelle età più tarde [Williams 1957; Rose 1991]. La seconda (teoria del Soma Disponibile) suggeriva che le cause del declino della fitness erano ambientali o somatiche e che nelle età più anziane la selezione era limitata da restrizioni fisiologiche o ambientali di modo che, nella suddivisione delle risorse metaboliche tra riproduzione e manutenzione del soma, la riproduzione era preferita [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979].

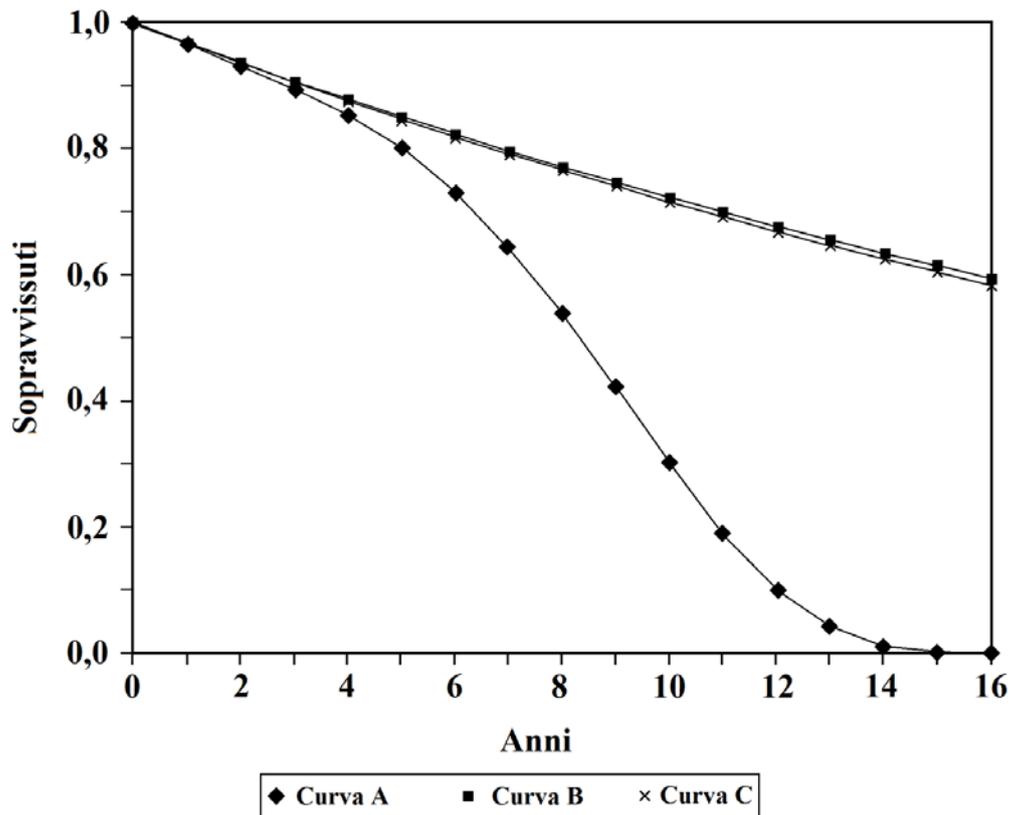


Figura 12 - La curva A è la tabella di sopravvivenza osservata allo stato selvatico per una specie che mostra un declino della fitness correlato con l'età. La curva B è un'ipotetica tabella di sopravvivenza ricavata dalla stessa specie e basata solo sulla mortalità estrinseca nel suo valore più basso mentre è escluso il declino della fitness correlato con l'età. La curva C è un'ipotetica tabella di sopravvivenza con la stessa mortalità della curva B più gli effetti di un gran numero ($n = 500/\text{anno}$) di geni dannosi che agiscono negli anni t_1, t_2, \dots . La curva A è del tutto differente dalla curva C e pertanto non può essere giustificata come l'effetto di geni dannosi che agiscono negli anni t_1, t_2 e sono insufficientemente eliminati dalla selezione naturale [Libertini 2006].

Comunque, “Pochi plausibili candidati come geni antagonisticamente pleiotropici sono stati individuati, e i meccanismi fisiologici che connettono opposti effetti, precoci e tardivi, sulla fitness non sono ben caratterizzati ...” [Ricklefs 1998] e non vi è alcuna prova di uno scambio tra maggiore riproduzione e minore longevità per i primati e per gli uomini [Le Bourg 2001]. In un autorevole articolo [Kirkwood e Austad 2000], nessun esempio di scambio è riportato per animali che mostrano un declino della fitness correlato con l’età allo stato selvatico. E’ riportata altresì la documentazione di alcuni scambi per animali che mostrano incremento della mortalità correlato con l’età in condizioni artificiali e per età inesistenti in natura, ma questo è un fenomeno differente non soggetto a selezione naturale [Libertini 2006, 2008].

La visione comune di queste tre teorie è che esse considerano il declino della fitness correlato con l’età come un fenomeno non adattativo. Le attuali teorie gerontologiche rispondono al “dilemma di Darwin” [Goldsmith 2003, 2006] (E’ l’invecchiamento non adattativo e pertanto un grande esempio di fallimento della selezione naturale o, al contrario, adattativo poiché in qualche modo è evolutivamente vantaggioso?) sostenendo che la selezione naturale è fallimentare nel rendere gli individui assai longevi e nel far sì che essi non presentino un declino della fitness correlato con l’età.

In chiaro contrasto con quest’idea, il declino della fitness correlato con l’età è stato interpretato come evolutivamente vantaggioso in termini di selezione di parentela in particolari condizioni ecologiche [Libertini 1983, 1988, 2006]. Successivamente, in accordo con le argomentazioni teoriche ma indipendentemente dalle stesse, sono stati presentati dati empirici a sostegno di un significato adattativo del declino della fitness e contro le ipotesi che spiegano come non adattativo il declino della fitness correlato con l’età [Libertini 2008].

In verità, solo l’idea eretica che il declino della fitness correlato con l’età è adattativo, idea proposta da vari autori [Weismann 1884; Libertini 1988, 2006; Skulachev 1997; Longo et al. 2005], permette di spiegare:

1) *l’esistenza di specie senza alcun declino della fitness correlato con l’età in condizioni naturali.* Gli individui di molte specie sopravvivono allo stato selvatico fino a notevoli età senza mostrare alcun segno rilevabile di

declino della fitness (ad esempio, lo storione, i rockfish, le tartarughe, i molluschi bivalve, certi alberi perenni, etc.; “animali con senescenza non rilevabile” [Finch 1990]). Per questo fenomeno, veramente strano per le teorie non adattative [Finch e Austad 2001], sono state sviluppate particolari varianti della teoria del Soma Disponibile [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979], perfino per giustificare i casi in cui il tasso di mortalità decresce alle età maggiori [Vaupel et al. 2004]. Comunque, queste varianti hanno il sapore di modifiche *ad hoc* per giustificare dati in contrasto con le previsioni teoriche.

2) *la relazione inversa fra mortalità estrinseca e la riduzione della vita media dovuta alla mortalità intrinseca documentata per alcune specie di uccelli e mammiferi allo stato selvatico* [Ricklefs 1998]. Le attuali teorie non adattative prevedono esplicitamente una relazione diretta e Ricklefs afferma chiaramente nella sua discussione che questa previsione è sconfessata dai dati empirici [Ricklefs 1998]. Al contrario, la teoria adattativa prevede la relazione inversa osservata [Libertini 1983, 1988, 2006, 2008].

3) *l'esistenza di sofisticati meccanismi, geneticamente determinati e regolati, che progressivamente limitano il ricambio e la funzionalità cellulare.* Il sistema telomero-telomerasi limita le capacità di duplicazione cellulare mediante la senescenza replicativa e, di conseguenza, il ricambio cellulare. Inoltre la senescenza cellulare causa un progressivo declino della funzionalità cellulare [Fossel 2004]. Questi meccanismi, geneticamente modulati e determinati, che sono una causa plausibile del declino della fitness correlato con l'età [Fossel 2004; Libertini 2006], non sono spiegati dall'ipotesi non adattativa mentre sono necessari per la validità dell'ipotesi adattativa [Libertini 2008]. In particolare, l'ipotesi non adattativa cerca di spiegare la senescenza replicativa come una difesa contro le neoplasie maligne [Campisi 1997; Wright e Shay 2005], cioè come un terribile scambio evuzionistico tra invecchiamento e difesa contro il cancro [Campisi 2000], ma: a) gli individui anziani di “animali con senescenza non rilevabile” come la trota arcobaleno, i rockfish e l'aragosta, mostrano allo stato selvatico la stessa attività telomerasica degli individui giovani [Klapper, Heidorn et al. 1998; Klapper, Kühne et al. 1998] e nessun incremento nella vulnerabilità al cancro, come è provato dai loro costanti tassi di mortalità; b) la senescenza cellulare e la senescenza replicativa che ne fa parte indeboliscono l'efficienza del sistema immunitario [Fossel

2004], un fattore inversamente correlato con la vulnerabilità al cancro e con la sua incidenza [Rosen 1985]; c) i telomeri accorciati accrescono le probabilità del cancro in conseguenza dell'instabilità indotta dalla disfunzione del telomero [DePinho 2000; Artandi 2002]. Inoltre, la senescenza cellulare e la senescenza replicativa, sebbene non causate dall'accorciamento del telomero ma da un altro meccanismo correlato con il numero di duplicazioni, sono ben documentate in specie eucarioti come il lievito [Jazwinski 1993; Laun et al. 2007; Fabrizio e Longo 2007], che essendo unicellulari non possono essere affette da cancro. Comunque, questi fenomeni, e altri strettamente associati osservati nel lievito [Laun et al. 2001; Kaeberlain et al. 2007], sono stati interpretati come adattativi [Skulachev 2002a, 2003; Herker et al. 2004; Skulachev e Longo 2005; Mitteldorf 2006] e sono compatibili con la spiegazione che essi determinano una maggiore velocità di evoluzione e sono favoriti in condizioni di K-selezione [Libertini 1988].

Il sistema telomero-telomerasi

E' noto da molti anni che, in generale, le cellule normali hanno una limitata capacità di duplicazione (limite di Hayflick) *in vitro* [Hayflick e Moorhead 1961; Hayflick 1965] e *in vivo* [Schneider e Mitsui 1976], documentata per molti tipi di cellule [Rheinwald e Green 1975; Bierman 1978; Tassin et al. 1979], correlata alla durata della vita della specie da cui sono derivate [Röhme 1981], inversamente correlata alle età dei donatori da cui sono ricavate [Martin et al. 1970] e causata da qualcosa che agisce nel nucleo [Wright e Hayflick 1975].

La spiegazione del limite di Hayflick fu ipotizzata che fosse il progressivo accorciamento della molecola di DNA a ogni duplicazione [Olovnikov 1971, 1973], poiché l'enzima DNA polimerasi non può replicare per intero una molecola di DNA e una piccola porzione terminale del DNA è ignorata nella replicazione [Watson 1972].

La parte finale della molecola di DNA, il telomero, è costituita da una sequenza ripetitiva, che fu dimostrata essere TTGGGG in un protozoo [Blackburn e Gall 1978], e successivamente nei mammiferi, uomo compreso, solo di poco differente (TTAGGG) [Moyzis et al. 1988] ma comune a molte altre specie [Blackburn 1991]. Come ipotizzato, si

dimostrò che il telomero si accorciava a ogni duplicazione [Harley et al. 1990].

Un enzima, la telomerasi, capace di allungare il telomero a ogni duplicazione, annullando l'insufficienza della DNA polimerasi, spiegava l'esistenza di cellule con capacità di duplicazioni illimitate, come le cellule della linea germinale [Greider e Blackburn 1985]. Fu dimostrato che la telomerasi è attiva in linee cellulari immortali umane [Morin 1989] e che è repressa da proteine regolatrici [van Steensel e de Lange 1997]. La sua disattivazione causa l'accorciamento del telomero a ogni replicazione e la riduzione delle capacità di duplicazione [Yu et al. 1990], mentre con la sua attivazione i telomeri risultavano allungati e le cellule acquisivano capacità illimitate di duplicazione [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999].

Il blocco finale delle duplicazioni cellulari (senescenza replicativa) non è un fenomeno improvviso dopo un certo numero di duplicazioni ma un progressivo incremento nella probabilità del blocco dipendente dalla lunghezza residua del telomero [Pontèn et al. 1983; Jones et al. 1985]. Il telomero è incappucciato da particolari nucleoproteine protettive e oscilla tra le condizioni "incappucciata" e "non incappucciata", con la durata dello stato incappucciato in relazione diretta con la lunghezza del telomero e con vulnerabilità al passaggio allo "stato non ciclico" (senescenza replicativa) nella condizione non incappucciata [Blackburn 2000].

Poiché le cellule staminali, a differenza delle cellule della linea germinale, hanno livelli di attività della telomerasi capaci di ripristinare solo parzialmente la lunghezza del telomero [Holt et al. 1996], *in vivo* le cellule staminali non potrebbero, e in effetti non possono, duplicarsi illimitatamente [Fossil 2004].

La modulazione della funzionalità del sistema telomero-telomerasi è verosimilmente differente da specie a specie [Fossil 2004] e questo potrebbe spiegare perché specie con lunghi telomeri [Slijepcevic e Hande 1999] invecchiano precocemente.

In correlazione con l'accorciamento del telomero, la funzionalità complessiva della cellula declina. Questo declino, come la senescenza replicativa, è certamente in correlazione con l'accorciamento relativo del telomero ("modello limitato della senescenza cellulare" di Fossil) [Fossil 2004]. In particolare, vi sono esperimenti in cui l'attivazione della telomerasi fa regredire la senescenza cellulare, compresa la senescenza

replicativa [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; de Lange e Jacks 1999]. Il meccanismo della senescenza cellulare è verosimilmente la progressiva repressione di una porzione del DNA subtelomerico DNA (silenziamento trascrizionale) che regola la complessiva funzionalità cellulare, causata dal progressivo scivolamento delle nucleoproteine protettive (“cappuccio eterocromatinico”), verosimilmente di lunghezza fissa, che incappucciano il telomero e poi l’adiacente DNA in correlazione con l’accorciamento del telomero [Fosel 2004] (Figura 13).

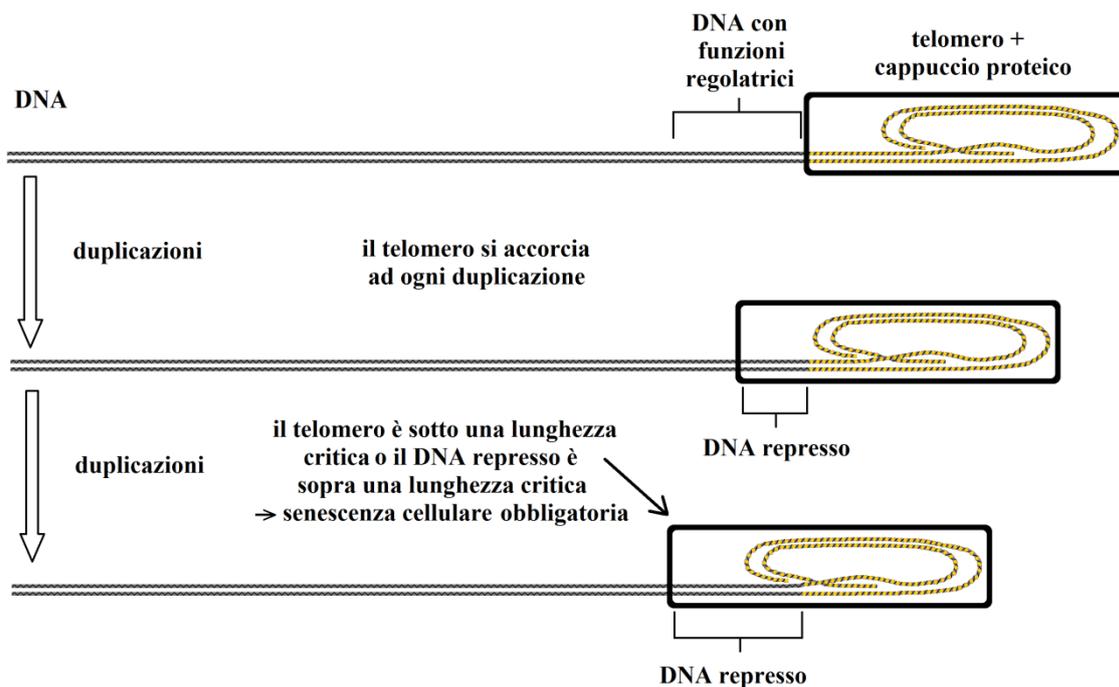


Figura 13 – Il progressivo accorciamento del telomero compromette l’espressione di molti geni. E’ verosimile l’esistenza vicino al telomero di un segmento di DNA che regola la funzionalità complessiva della cellula: con l’accorciamento del telomero il cappuccio proteico che ricopre il telomero scivola lungo la molecola di DNA e altera questa regolazione.

La collocazione di una porzione di DNA con essenziali attività regolatrici in una posizione che è progressivamente menomata dall’accorciamento del telomero è un forte elemento a sostegno dell’ipotesi che i limiti del sistema telomero-telomerasi sono adattativi.

In breve, la limitazione e la modulazione delle capacità di duplicazione cellulare appaiono chiaramente non essere causate da insuperabili

restrizioni fisiologiche ma determinate e regolate da geni specificamente favoriti dalla selezione naturale in quanto adattativi.

Il ricambio (turnover) cellulare

Il nostro corpo è composto di cellule in continuo rinnovo, con ritmi differenti per ogni tipo di cellule. E' stato stimato che ogni anno una massa di cellule pari a quella del nostro intero corpo è persa e sostituita [Reed 1999]. Perfino per alcuni tipi di cellule un tempo considerate perenni, vi è ora evidenza che sono soggette a rinnovo (miociti del cuore [Anversa e Nadal-Ginard 2002], miociti dei muscoli [Anversa e Nadal-Ginard 2002; Carlson e Faulkner 1989; Adams et al. 2001]). Per altri tipi di cellule che sono sicuramente perenni, vi è dipendenza da altre cellule con ricambio cellulare, come per i neuroni che dipendono dai gliociti [Fossel 2004].

In condizioni normali l'eliminazione delle cellule è il risultato di varie forme di "morte cellulare programmata" (MCP), come la rimozione degli eritrociti da parte dei macrofagi, la cheratinizzazione e il distacco dalle superfici corporee per le cellule dell'epidermide e l'apoptosi. In particolare, l'apoptosi, un ordinato processo di autodistruzione con eliminazione non dannosa dei detriti cellulari, fu descritta per la prima volta, differenziandola dalla necrosi, in un fegato sano [Kerr et al. 1972]. Essa è correlata al ricambio cellulare in organi sani dell'adulto [Wyllie et al. 1980; Lynch et al. 1986; Medh e Thompson 2000] ed è documentata per molti organi e tessuti sani [Pontèn et al. 1983; Benedetti et al. 1988; Dremier et al. 1994; Finegood et al. 1995; Migheli et al. 1997; Prins e O'Rahilly 1997; Spelsberg et al. 1999; Cardani e Zavanella 2000; Harada et al. 2000; Héraud et al. 2000; Pollack e Leeuwenburgh 2001; Sutherland et al. 2001; Xia et al. 2001].

La continua eliminazione delle cellule per opera della MCP deve essere bilanciata con la replicazione di appropriate cellule staminali e questo ricambio cellulare è limitato dalla regolazione genetica del sistema telomero-telomerasi.

In breve, per i vertebrati, ma non per tutti gli animali (ad esempio, lo stadio adulto del verme *Caenorhabditis elegans* ha un numero fisso di cellule), tre categorie di cellule sono attualmente distinte:

- 1) Quelle con rapido ricambio: ad esempio, le cellule delle cripte intestinali [Andreeff et al. 2000];

2) Quelle con ricambio moderato: ad esempio, le cellule degli strati profondi della cute e le cellule endoteliali [Marciniak e Guarente 2001], i miociti del cuore [Anversa e Nadal-Ginard 2002], i miociti dei muscoli [Schultz e Lipton 1982; Carlson e Faulkner 1989; Adams et al. 2001].

3) Quelle senza ricambio, ad esempio, i neuroni, con alcune possibili eccezioni [Horner e Gage 2000], ma sempre con dipendenza funzionale o metabolica da gliociti che sono cellule con rinnovo [Fossel 2004].

La sindrome atrofica

Il progressivo accorciamento dei telomeri, se accettiamo il modello limitato della senescenza cellulare di Fossel [Fossel 2004], causa una “sindrome atrofica” caratterizzata da:

- a) crescente numero di cellule in senescenza replicativa (riduzione complessiva delle capacità di duplicazione cellulare);
- b) rallentamento del ricambio cellulare;
- c) riduzione del numero complessivo delle cellule (atrofia nel numero delle cellule);
- d) ipertrofia delle rimanenti cellule specifiche;
- e) possibile sostituzione delle cellule mancanti con cellule non specifiche;
- f) crescente numero di cellule con funzioni alterate;
- g) instabilità indotta dalla disfunzione del telomero con conseguente vulnerabilità al cancro [DePinho 2000].

Uno schema generale per l'invecchiamento

E' facile supporre che le limitazioni del rinnovo cellulare causate dal sistema telomero-telomerasi e i fenomeni connessi o derivati (senescenza cellulare, sindrome atrofica, etc.) causano tutte le alterazioni morfologiche e funzionali che determinano il declino della fitness e, nella loro espressione più avanzata, lo stato senile (modello generale dell'invecchiamento basato sulla senescenza cellulare di Fossel [Fossel 2004; Libertini 2006]) (Figura 14).

A sostegno di questa ipotesi:

- 1) nei topi, un fattore che induce l'apoptosi e l'arresto del ciclo cellulare, provoca osteoporosi, una ridotta tolleranza allo stress, l'atrofia di tutti gli organi e una ridotta longevità [Tyner et al. 2002];

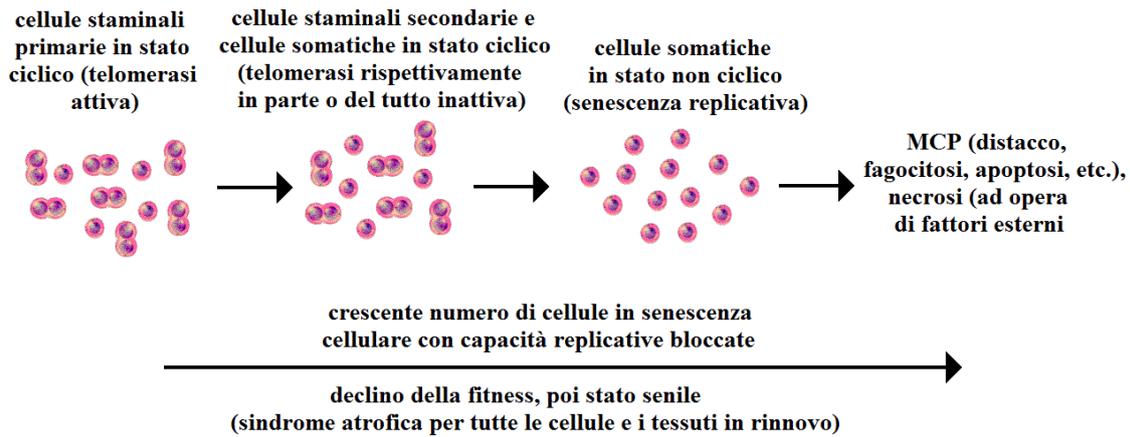


Figura 14 – Dalle cellule staminali primarie con telomerasi attiva si originano cellule staminali secondarie e cellule somatiche con capacità replicativa, ma con telomerasi rispettivamente attiva solo in parte o del tutto inattivata. Da questi tipi di cellule si originano cellule somatiche in senescenza replicativa. La senescenza cellulare graduale e la senescenza cellulare (senescenza replicativa + senescenza cellulare graduale al massimo grado) contribuiscono al declino della fitness che gradualmente porta allo stato senile.

2) nell'uomo, in una rara malattia genetica (la discheratosi congenita [Dokal 2000]), in cui l'attività telomerasica è bassa e i telomeri sono più corti del normale [Mitchell et al. 1999], i tessuti in cui le cellule si moltiplicano rapidamente (pelle, unghie, capelli, intestino, midollo osseo, etc.) manifestano precocemente gravi disfunzioni (alopecia, distrofia delle unghie, disordini intestinali, insufficiente produzione di cellule del sangue, etc.) [Marciniak e Guarente 2001]. In questa sindrome vi è anche un'alta incidenza del cancro dovuta al difetto della telomerasi che causa instabilità dei cromosomi [de Lange e Jacks 1999; Artandi et al. 2000].

3) in un'altra malattia genetica, la sindrome di Werner, in cui la replicazione cellulare è alterata [Yu et al. 1996; Fukuchi et al. 1989] e vi è una limitata capacità replicativa [Martin et al. 1970], i tessuti composti di cellule con moderato ricambio soffrono di gravi disturbi (ad esempio, alterazioni nelle cellule epiteliali del cristallino, delle cellule endoteliali, delle β -cellule di Langherans, e di vari tipi di cellule del derma, provocano

rispettivamente cataratta, aterosclerosi, diabete mellito di tipo 2, atrofia regionale del tessuto sottocutaneo e della cute) [Martin e Oshima 2000].

Esempi di tessuti nel loro normale invecchiamento

- Villi intestinali

In ciascuna cripta intestinale, vi sono da quattro a sei cellule staminali che con la loro intensa attività di duplicazione rinnovano continuamente l'epitelio del piccolo intestino [Barker et al. 2007]. In individui anziani sani, nel confronto con individui giovani il tempo di transito delle cellule dalle cripte alle punte dei villi aumenta e questi diventano più larghi, più corti e con minore cellularità [Webster 1978] (Figura 15). Tali cambiamenti, sicuramente dovuti a una declinante attività mitotica delle cellule staminali delle cripte, come ipotizzato da lungo tempo [Webster 1978], riducono la funzionalità dell'intestino e verosimilmente la fitness complessiva.

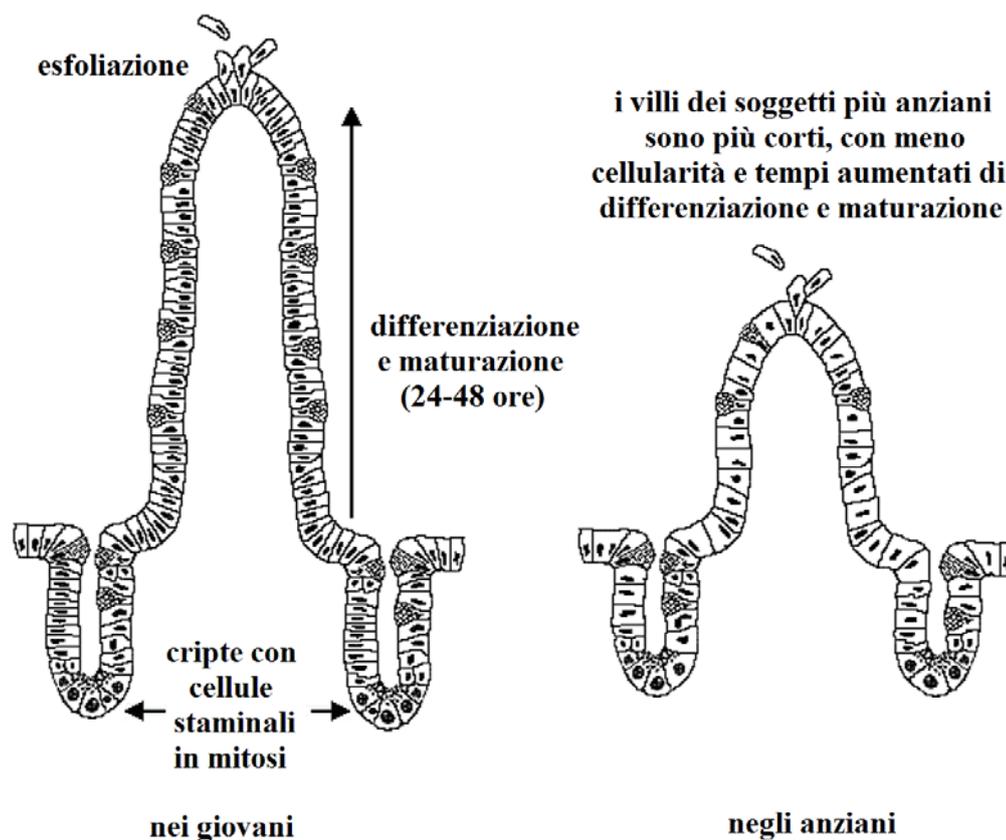


Figura 15 – Villi intestinali in individui giovani (a sinistra) e anziani (a destra).

- Endotelio

Le cellule endoteliali manifestano un continuo ricambio per azione delle cellule endoteliali progenitrici, derivate da cellule staminali primarie del midollo osseo e che sono numericamente in relazione inversa con l'età [Hill et al. 2003]. Un ricambio rallentato delle cellule endoteliali accresce la probabilità della disfunzione endoteliale e, di conseguenza, delle malattie derivate da alterata circolazione del sangue, come l'infarto del miocardio e l'ischemia cerebrale: in effetti, il numero delle cellule endoteliali progenitrici è un predittore del rischio cardiovascolare affidabile quanto il punteggio Framingham del rischio [Hill et al. 2003; Werner et al. 2005]. Le malattie derivate dalla compromessa circolazione del sangue sono un termine comune della vita di individui anziani sani e senza particolari fattori di rischio [Tallis et al. 1998].

- Cute

Nell'uomo, il rinnovo dell'epidermide è determinato da cellule staminali poste nella giunzione dermo-epidermica, che è una superficie corrugata. Nei soggetti anziani, la giunzione dermo-epidermica è spianata, un segno indiretto della riduzione del numero e dell'attività delle cellule staminali dell'epidermide, e il ritmo del rinnovo dell'epidermide è ridotto [Griffiths 1998]. Nel derma, come verosimile conseguenza dell'esaurimento di specifiche cellule staminali, è riportata una generale riduzione di tutte le sue componenti (melanociti, cellule di Langerhans, fibroblasti dermali, capillari, vasi sanguigni all'interno del derma reticolare, mastociti, ghiandole eccrine, peli, etc.) e le unghie crescono più lentamente [Griffiths 1998].

- Cellule fotorecetrici

Le cellule fotorecetrici (coni e bastoncelli) sono cellule nervose altamente differenziate, senza rinnovo cellulare ma metabolicamente dipendenti da altre cellule con ricambio cellulare, le cellule dell'epitelio pigmentato della retina (CEPR), che sono gliociti altamente differenziati. Ogni giorno, con una straordinaria attività metabolica, ogni CEPR fagocita circa il 10% delle membrane con molecole di fotopsina di circa 50 cellule fotorecetrici. Con il declino correlato con l'età del ricambio delle CEPR, la mancanza della loro funzione uccide i fotorecettori non serviti. Ciò è innanzitutto manifestato nella perdita di funzionalità della parte più sensitiva della

retina, la macula, da cui il nome “degenerazione maculare legata all’età” (DM) [Fine et al. 2000]. La DM colpisce il 5%, il 10% e il 20% dei soggetti rispettivamente di 60, 70 e 80 anni [Berger et al. 1999], ed è verosimile che una larga parte degli individui ancora più anziani sia sofferente per DM.

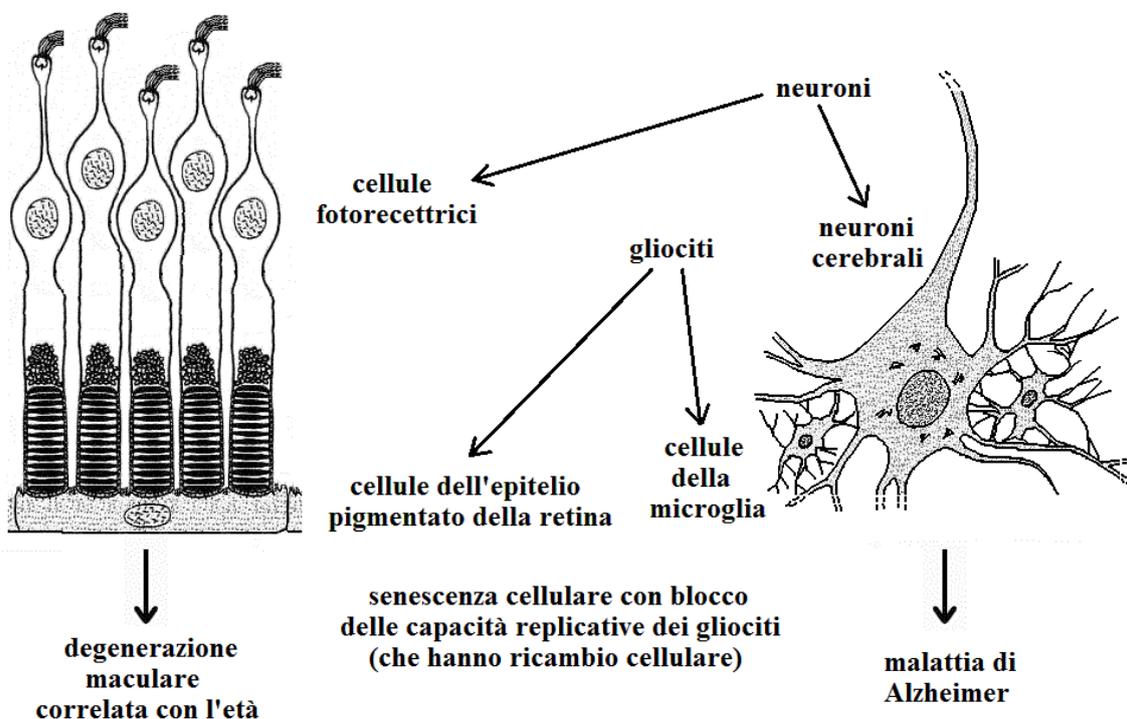


Figura 16 – Schema dei fotorecettori della retina e di un neurone del cervello (sono entrambi neuroni) serviti da due tipi di gliociti differenziati, le cellule dell’epitelio pigmentato della retina (CEPR) e le cellule della microglia. La senescenza cellulare graduale e la senescenza replicativa delle CEPR e delle cellule della microglia causano rispettivamente la degenerazione maculare legata all’età e la malattia di Alzheimer.

- Neuroni

I neuroni sono cellule perenni ma la loro vitalità dipende da altre cellule (ad esempio, le cellule della microglia, un tipo di gliociti) che mostrano rinnovo cellulare. E’ stata proposta l’ipotesi che la malattia di Alzheimer (MA) è causata dalla senescenza cellulare delle cellule della microglia [Fossel 1996, 2004].

Le cellule della microglia degradano la proteina β -amiloide [Qiu et al. 1998; Vekrellis et al. 2000] ed è noto che questa funzione è alterata nella MA [Bertran et al. 2000] con conseguente nocivo accumulo della proteina.

E' stato dimostrato che i telomeri sono significativamente più corti in pazienti con probabile MA nei confronti di soggetti di controllo apparentemente sani [von Zglinicki et al. 2000]. La MA potrebbe avere, almeno in parte, un'eziologia vascolare dovuta a disfunzione endoteliale correlata con l'età [Fossel 2004], ma "Un modello di senescenza cellulare potrebbe spiegare la demenza di Alzheimer senza un primario coinvolgimento vascolare." [Fossel 2004]

Un interessante confronto fra MA e DM è possibile: entrambe sono probabilmente determinate dalla morte di cellule senza rinnovo cellulare come verosimile conseguenza del venir meno, in relazione all'età, di cellule trofiche con rinnovo cellulare (Figura 16).

Inoltre, come frequenza, la MA, analogamente alla DM, colpisce l'1,5% della popolazione degli USA e dell'Europa all'età di 65 anni e il 30% a 80 anni [Gorelick 2004], e un centenario ha un'alta probabilità di soffrirne.

- Altri organi o tessuti

In relazione al progressivo venir meno del ricambio cellulare, la senescenza nei soggetti sani è anche caratterizzata dai seguenti disturbi crescenti con l'età: perdita di massa ossea (→ osteoporosi), atrofia muscolare (→ sarcopenia), riduzione nel numero e nelle dimensioni dei nefroni con conseguente declino della funzione renale (→ insufficienza renale), atrofia degli alveoli polmonari (→ latente o manifesto enfisema), declino del volume epatico con aumentato volume dei rimanenti epatociti (→ latente o manifesta insufficienza epatica), perdita di miociti con ipertrofia dei rimanenti miociti e ingrandimento delle cavità cardiache (→ insufficienza cardiaca), riduzione nel numero delle cellule segnapassi nel nodo del seno (→ blocco atrioventricolare e altre aritmie), declino nel numero e nell'attività delle β -cellule del pancreas (→ latente o manifesto diabete mellito), atrofia della mucosa gastrica (→ gastrite atrofica), declino nell'attività delle cellule dell'epitelio del cristallino (→ cataratta nucleare), atrofia del tenue e del colon, atrofia delle ghiandole salivari, riduzione del numero delle gemme gustative, assottigliamento dell'epitelio della lingua, involuzione del midollo osseo con declino del numero e dell'attività delle cellule con funzioni ematologiche e immunologiche, etc. [Tallis et al. 1998].

Inoltre, la disfunzione del telomero nelle cellule in senescenza replicativa, in particolare quelle, per lo più epiteliali, con alto ricambio cellulare, è una causa significativa di cancro negli individui più anziani [DePinho 2000]. Infine, è necessario considerare le innumerevoli complicazioni per moltissimi organi derivanti dalla progressiva compromissione delle funzioni endoteliali, neuronali e immunologiche e, in generale, dall'intreccio del declino di più funzioni [Tallis et al. 1998].

L'invecchiamento in breve

L'evidenza empirica mostra che un individuo anziano soffre per una sindrome atrofica generalizzata e che la morte sarà causata dal declino di una o più funzioni compromesse in misura critica. L'atrofia di ciascun tessuto o organo è spiegata dal declino nel rinnovo cellulare ("modello generale dell'invecchiamento basato sulla senescenza cellulare" di Fossel [Fossel 2004; Libertini 2006]), che è causato dai limiti nella duplicazione cellulare determinati dal sistema telomero-telomerasi ("modello limitato della senescenza cellulare" di Fossel [Fossel 2004]).

Il fenomeno dell'invecchiamento è pertanto causato da limiti geneticamente determinati e regolati in un sistema complesso [Libertini 2006] e questi limiti possono essere giustificati evolutivamente solo accettando un significato adattativo per il declino della fitness [Goldsmith 2003, 2004; Libertini 2006, 2008].

Questa concezione è radicalmente differente da quella che è correntemente accettata, per la quale:

1) *Il termine invecchiamento non descrive una distinta entità ed è solo un'utile parola per descrivere le innumerevoli affezioni dell'età anziana.* Infatti, nella Classificazione Internazionale delle Malattie (*International Classification of Diseases*, ICD-9-CM, icd9cm.chrisendres.com/), che ha dei codici per ciascuna malattia e anche per ciascun evento fisiologico che necessita di consiglio medico (ad esempio, gravidanza, parto, etc.), non vi è un codice per l'invecchiamento o la senescenza ma solo un codice per senilità/età anziana (797) nella categoria "Sintomi, segni e condizioni mal definite". Parimenti, nell'ICD-10 (www.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/), vi è solo un codice per la senilità/età anziana (R54) nel capitolo XVIII, intitolato "Sintomi, segnali e altri reperti clinici o di laboratorio, non classificati altrove (R00-R99)", parte "Sintomi e segni

generali (R50-R69)”, e pertanto non comprendente distinte malattie o eventi fisiologici. In effetti, per la medicina attuale e per le classificazioni ufficiali, l’invecchiamento come entità distinta è inesistente e gli individui anziani non muoiono mai per invecchiamento ma sempre e solo per una o più malattie tipiche dell’età anziana.

2) *Gli individui anziani hanno tessuti e organi che sono stati progressivamente compromessi da molti differenti fattori dannosi, in particolare gli agenti ossidanti.* Questa tesi sembra ignorare il rinnovo cellulare e gli esperimenti in cui cellule in senescenza replicativa e con tutte le manifestazioni della senescenza cellulare sono trasformate dall’attivazione della telomerasi in cellule con illimitate capacità di replicazione e senza i segni biochimici e funzionali della senescenza cellulare [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999]. “... vi è qualcosa di fondamentale che controlla l’occorrenza o l’accumulo del danno cellulare da radicali liberi, qualcosa che controlla l’equilibrio tra danno e omeostasi. Il danno da radicali liberi si accumula nelle cellule somatiche, ma l’omeostasi è sufficiente a bilanciarla nelle linee cellulari germinali. Un’alterazione nell’espressione dei geni, modulata dalla lunghezza del telomero, è un verosimile candidato per tale controllo.” [Fossel 2004] Il danno ossidativo diventa un problema quando il ricambio cellulare rallenta e le cellule in senescenza cellulare aumentano: i limiti determinati dal sistema telomero-telomerasi sono la causa primaria e il danno ossidativo solo una conseguenza [Fossel 2004].

3) *L’invecchiamento, essendo la conseguenza di innumerevoli fattori casuali, in linea di principio non è controllabile e anche un enorme impegno potrebbe ottenere solo il rallentamento di un processo inevitabile.* Ciò è in contrasto con l’evidenza del sistema telomero-telomerasi, del rinnovo cellulare, della sindrome atrofica causata dal declino del ricambio cellulare, e degli esperimenti che mostrano come la senescenza cellulare sia del tutto reversibile ed evitabile [Fossel 2004].

4) *L’invecchiamento è qualcosa di intrinseco alla condizione dell’essere vivente, in particolare degli organismi multicellulari, e pertanto è inevitabile.* Ciò è in netta contraddizione con l’esistenza di molte specie che in condizioni naturali non mostrano alcun incremento della mortalità (ad esempio, rockfish, storione, tartarughe, molluschi bivalve, etc. [Finch e Austad 2001]) e definiti, se presentano una considerevole durata della vita,

“animali con senescenza non rilevabile” [Finch 1990] o “animali senza età” (www.agelessanimals.org/). Vi sono persino specie con mortalità che cala con l’età, ad esempio, come conseguenza di una dimensione del corpo crescente [Vaupel et al. 2004]. Al contrario, individui di alcune specie unicellulari eucarioti invecchiano: ad esempio nel lievito, nelle cellule della linea madre è permesso solo un numero limitato di duplicazioni e, in relazione al precedente numero di duplicazioni, vi è un declino nella funzionalità complessiva della cellula (senescenza cellulare graduale) con una crescente sensibilità agli stimoli apoptotici [Jazwinski 1993; Laun et al. 2007; Fabrizio e Longo 2007].

5) *La mortalità crescente, o declino della fitness, in correlazione con l’età, non può essere adattativa in quanto la selezione naturale favorisce gli individui con maggiore fitness.* La selezione naturale favorisce i geni che determinano una maggiore fitness complessiva, anche se comportano una fitness individuale negativa [Hamilton 1964, 1970; Trivers 1971; Wilson 1975; Trivers e Hare 1976], e, di conseguenza, in linea di principio un gene che causa un declino della fitness correlato con l’età, vale a dire una fitness individuale negativa, potrebbe essere favorito dalla selezione naturale in termini di selezione sovraindividuale e in particolari condizioni ecologiche [Libertini 2006]. L’esistenza, allo stato selvatico, sia di specie con declino della fitness sia di specie senza declino della fitness correlato con l’età è una dimostrazione che sono inverosimili fattori inevitabili e universali che causano la senescenza e che altresì entrambi i casi sono in qualche modo adattativi. E’ da notare che, nel lievito, la senescenza cellulare graduale e l’apoptosi sono considerati come adattativi [Longo et al. 2005; Mitteldorf 2006; Skulachev 2002a, 2003; Herker et al. 2004; Skulachev e Longo 2005] e la logica conseguenza sarebbe accettare come possibile che anche gli effetti del sistema telomero-telomerasi negli organismi multicellulari siano adattativi.

Influenza dell’invecchiamento sulla durata della vita e sulla longevità

Gli effetti del declino della fitness sulla durata della vita (più precisamente, durata media della vita, VM) e sulla longevità (durata massima della vita) sono notevoli e spesso sottostimati. Per una specie con un tasso di mortalità fisso (λ), i sopravvissuti al tempo t (Y_t) sono dati dalla formula:

$$Y_t = Y_0 (1 - \lambda)^t \tag{10}$$

Con $Y_0 = 1$, la durata media della vita (VM) è:

$$VM = \int_{t=0}^{\infty} [(1 - \lambda)^t]^{t-h} dt = -1 / [\text{Log}_e(1 - \lambda)] \quad (11)$$

e il tempo t in cui Y_t individui sopravvivono è:

$$t = \text{Log}(Y_t) / [\text{Log}(1 - \lambda)] \quad (12)$$

Negli USA, le statistiche del 2005 dicono che per la popolazione totale la probabilità di morire fra le età da 20 a 25 anni e fra le età di 25 e 30 anni furono pari rispettivamente a 0,004869 e 0,004865, che è circa 0,00097/anno [National vital statistics reports 2008]. Con $\lambda = 0,00097$, senza l'incremento della mortalità correlato con l'età, l'attesa di vita media degli individui di 20-30 anni (VM_{20-30}) sarebbe circa 1,030 anni e l'1% degli individui sarebbe vivo dopo 4,745 anni.

Escludendo gli accidenti (lesioni non intenzionali) e gli omicidi, che causarono nel 2005 circa la metà delle morti per gli individui fra i 20 e i 30 anni [National vital statistics reports 2008], il che significa pressappoco dimezzare il valore di λ a 0,0005, la VM_{20-30} sarebbe circa 1,999 anni e l'1% degli individui sarebbe vivo dopo 9,208 anni!

Le stesse statistiche dicono che la probabilità di morire tra le età di 55 e 60 anni fu 0,036299, che è circa 0,00726/anno [National vital statistics reports 2008], 7,45 volte la mortalità dei gruppi da 20 a 25 anni e da 25 a 30 anni. Con questi valori la VM_{55-60} sarebbe circa 137 anni e l'1% degli individui sarebbe vivo dopo 632 anni.

Deve essere sottolineato che un individuo senza un tasso di mortalità crescente con l'età avrebbe una "longevità illimitata", ma questo non dovrebbe essere confuso con il concetto di "immortalità". Infatti, un individuo di una specie con senescenza non rilevabile (animali senza età) o perfino di una specie con mortalità decrescente con l'età (imprecisamente detta senescenza negativa [Vaupel et al. 2004]) muore per eventi che sono letali in ogni età (gravi infezioni o intossicazioni, accidenti, predazione, uccisione da parte di altri individui della stessa specie, etc.; in breve, la mortalità estrinseca) e, inoltre, a età in cui praticamente nessun individuo sopravvive allo stato selvatico per la mortalità estrinseca e pertanto non vi è alcuna selezione naturale per tali età, se l'individuo sopravvive perché

allevato in condizioni protette, è possibile l'insorgenza di squilibri interni imprevedibili e mortali che non sono corretti da alcun meccanismo sviluppabile da una selezione naturale inesistente per tali età per il motivo anzidetto.

Interazioni fra malattie di diverse categorie e tra invecchiamento e malattie

Sono importanti le interazioni evuzionistiche tra malattie di differenti categorie e tra malattie e fenomeni simili alle malattie, in particolare la senescenza. Per brevità solo alcune interazioni saranno accennate.

A - Interazioni tra malattie causate da alterazioni del genotipo (Categoria 1) e invecchiamento (Categoria 5C.2)

La frequenza di equilibrio di un gene dannoso C (C_e) e della sua espressione fenotipica (P_e) sono entrambi in correlazione inversa a $[s]$ (valore assoluto dello svantaggio s ; si vedano le formule 1-7) e al valore riproduttivo dell'individuo danneggiato da C . In specie con declino della fitness correlato con l'età, poiché gli individui più anziani hanno una minore aspettativa di vita e pertanto un minore valore riproduttivo, se C danneggia individui più anziani, C_e e P_e saranno maggiori di quelli di un altro gene dannoso che colpisce individui più giovani, vale a dire un'alterazione del genotipo che si manifesta fenotipicamente in età più anziane (ad esempio, la corea di Huntington) è previsto che abbia una frequenza di equilibrio maggiore.

In termini numerici, se un gene dominante dannoso C uccide ($s = -1$) a un'età in cui nello stato selvatico (o nella condizione ancestrale) solo l'1% della popolazione sopravvive e la frequenza di mutazione in C da alleli neutrali è 0,00001, supponendo che il valore riproduttivo cali in misura pari al ridursi della popolazione, la frequenza della malattia (P_e) è prevista essere:

$$P_e \approx 0,00001 / [0,01 \cdot -1] = 0,001 \quad (13)$$

Il concetto opposto, vale a dire l'ipotesi che l'incremento della mortalità correlato con l'età è causato dall'effetto combinato di molti geni dannosi che agiscono alle età maggiori e sono insufficientemente eliminati dalla selezione naturale (teoria dell'Accumulo di Mutazioni), è insostenibile

perché contraddetto da argomentazioni teoriche [Libertini 1983, 1988, 2006] e non sostenuto da evidenza empirica.

B - Interazioni tra malattie causate da interazioni con altre specie (Categoria 3) e invecchiamento (Categoria 5C.2)

Un parassita che danneggia un individuo più anziano di una specie ospite con declino della fitness correlata all'età, causa uno svantaggio minore di quello di un parassita che danneggia un individuo più giovane, poiché gli individui più anziani hanno minore valore riproduttivo. Pertanto, è prevedibile che gli individui più anziani soffriranno per gli effetti del parassita più severamente degli individui più giovani, poiché la selezione naturale è meno efficace quando il valore riproduttivo è più basso. Per la nostra specie, la maggiore gravità delle infezioni negli individui più anziani è ben nota e documentata [Tallis et al. 1998].

C - Interazioni tra malattie causate da alterazioni della nicchia ecologica (Categoria 2) e malattie causate da interazioni con altre specie (Categoria 3)

Le enormi e continue modifiche della nicchia ecologica umana, causate da innovazioni tecnologiche, urbanizzazione, crescita demografica, cambiamenti dello stile di vita, modifiche dell'alimentazione, abitudini igieniche, etc., hanno grandemente alterato le condizioni a cui la specie è adattata. Fragili e intricati equilibri evolutivisti tra l'uomo e i suoi numerosi parassiti, conseguiti dopo migliaia di generazioni umane (e milioni di generazioni di parassiti) sono stati spezzati, con risultati catastrofici, peggiori di quelli di qualsiasi evento calamitoso o disastro, guerre comprese. Alcuni esempi:

1) La straordinaria crescita della popolazione umana e della sua densità demografica, la sua aggregazione in folle urbane con acque inquinate e abitazione infestate da animali infetti, la coabitazione o la stretta vicinanza con gli animali allevati, pericolose abitudini igieniche, etc., hanno provocato, fin dai tempi antichi, terribili epidemie (Morte Nera, peste bubbonica, vaiolo, tifo, colera, influenza, epatite A, tubercolosi, HIV, etc.) con la morte di centinaia di milioni di esseri umani. Dal 1347 al 1640, la Morte Nera, una malattia forse differente dalla peste bubbonica [Cohn 2002], fu il flagello dell'Europa e di altre parti del mondo, con più di 100 milioni di vittime (Figura 17). Nel 1918-1920 una singola epidemia di

influenza (l'influenza cosiddetta Spagnola) uccise forse 40-50 milioni di persone in tutto il mondo [Patterson e Pyle 1991] o, in base a stime correnti, 50-100 milioni [Knobler et al. 2005], che è da 2 a 5 volte il numero di morti causati dalla prima Guerra Mondiale in cinque anni. Quando gli Europei raggiunsero l'America, erano stati selezionati, molto più dei popoli indigeni dell'America, da secoli di terribili epidemie. I germi che involontariamente diffusero nelle Americhe erano pericolosi per gli Europei ma assai spesso letali per le popolazioni indigene, che furono quasi sterminate da vaiolo, morbillo, influenza e altre malattie per le quali non avevano alcuna esperienza evolutivistica [McMichael 2004].



Figura 17 – La peste al largo del Mercatello, Napoli 1656, dipinto di Domenico Gargiulo detto Micco Spadaro.

2) I dati statistici mostrano che le correzioni delle alterazioni della nicchia ecologica possono essere molto più importanti dei trattamenti medici non preventivi, antibiotici compresi. In effetti, negli USA la mortalità da malattie infettive era fortemente calata prima dell'introduzione dei sulfamidici e della penicillina, e l'uso di questi farmaci e di molti nuovi antibiotici non ha modificato in misura sensibile il declino della mortalità causata da infezioni [Armstrong et al. 1999]. In anni recenti, la mortalità da

infezioni è stata crescente a causa della diffusione dell'HIV e, forse, di un'aumentata resistenza agli antibiotici (Figura 18).

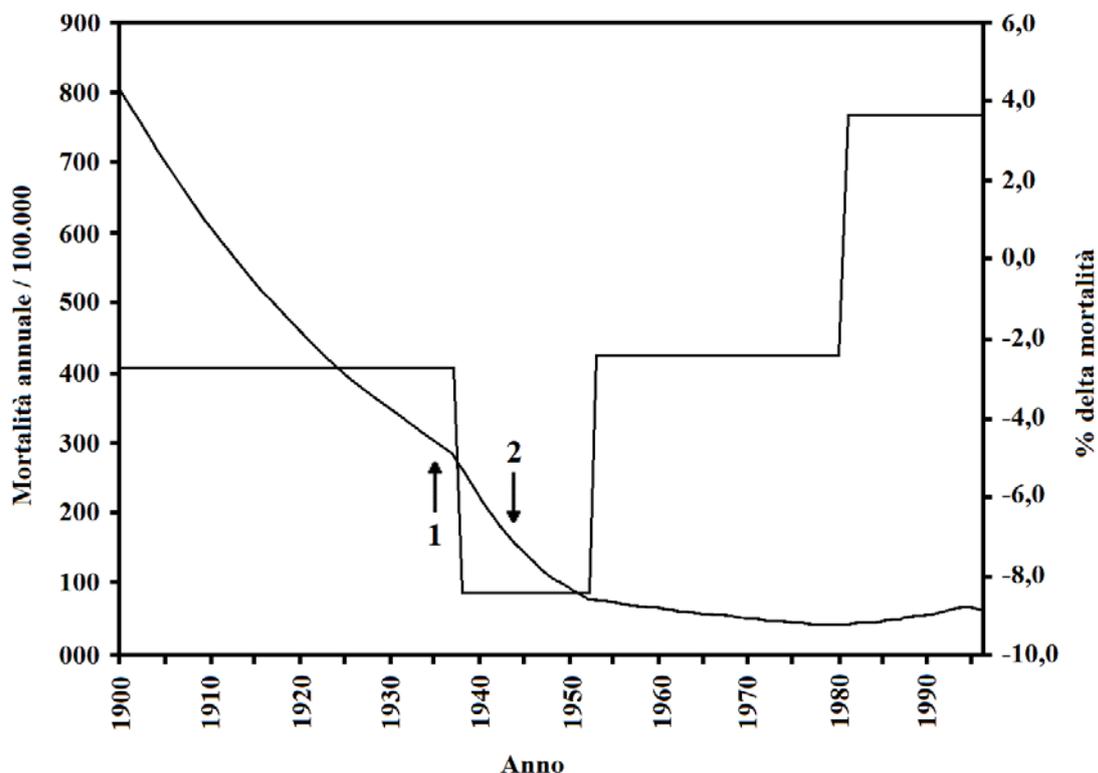


Figura 18 – *Tendenza complessiva del tasso di mortalità da malattie infettive e variazione percentuale della mortalità negli USA dal 1900 al 1996 [Armstrong et al. 1999]. Il forte incremento episodico nella mortalità dovuta alla pandemia influenzale del 1918 è stato omissis. I sulfamidici furono impiegati dal 1935 (freccia 1) e l'inizio dell'uso clinico della penicillina fu nel 1943 (freccia 2) ma non vi è alcun chiaro effetto del loro impiego sui tassi di mortalità.*

Infatti, l'uso e l'abuso di antibiotici hanno selezionato batteri resistenti agli antibiotici con pesanti conseguenze (circa 90.000 residenti negli USA muoiono ogni anno per infezioni nosocomiali [Bergstrom e Feldgarden 2008]). Perfino i vaccini, un trionfo della medicina, se non propriamente progettati o usati, possono “provocare evoluzione di patogeni e perfino essere superati dalla stessa” [Read e Mackinnon 2008].

3) Abitudini igieniche o iperigieniche restringono e ritardano la prima esposizione a microbi e vermi parassiti, oppure rendono impossibili infezioni o infestazioni. Queste modifiche della nicchia ecologica, in linea

di principio considerate sempre benefiche dalla medicina tradizionale, al contrario per la medicina evolucionistica sono potenzialmente dannose e pericolose.

La ritardata esposizione al poliovirus è la verosimile causa delle moderne epidemie di poliomielite, un flagello fino all'applicazione a livello mondiale dei vaccini antipolio [McMichael 2004]. Il poliovirus è stato per migliaia di anni un patogeno endemico, che raramente causava la poliomielite o paralisi infantile, fino agli anni dopo il 1880, quando maggiori epidemie di poliomielite incominciarono a verificarsi in Europa e subito dopo negli USA [Trevelyan et al. 2005].

La ridotta esposizione agli allergeni, specialmente nelle prime fasi della vita, causata dall'estrema igiene moderna, è un significativo fattore di rischio per l'allergia e la più verosimile spiegazione, al momento, per lo straordinario incremento a livello mondiale dei casi di allergia atopica [Janeway et al. 2001].

L'ipotesi dell'igiene eccessiva (*"Hygiene hypothesis"*) sostiene che l'esposizione a batteri, virus e vermi parassiti durante l'infanzia e successivamente, protegge contro lo sviluppo di allergie [Cooper 2004] e malattie atopiche [von Mutius 2002]. Le allergie potrebbero anche essere causate da un ritardato impianto della flora intestinale nei bambini [Emanuelsson e Spangfort 2007].

Per il diabete mellito di tipo 1, un disordine autoimmune, è stato ipotizzato che "... l'accresciuta igiene può contribuire a uno squilibrio del sistema immunitario, facilitando reazioni autoimmuni [contro le β -cellule] quando provocate da infezioni virali o proteine simili al latte o al glutine." [Ludvigsson 2006]

Alcuni vermi intestinali secernono sostanze chimiche che reprimono il sistema immunitario per prevenire che l'ospite attacchi il parassita [Carvalho et al. 2006] e senza queste sostanze il sistema immunitario diventa squilibrato ed eccessivamente sensibile [Yazdanbakhsh et al. 2002]. Sperimentazioni cliniche sono state iniziate per testare l'efficacia di certi vermi nel trattare alcune allergie [Falcone e Pritchard 2005].

La deliberata infestazione con un verme parassita (terapia elmintica) è un promettente trattamento per varie malattie autoimmuni o allergiche come il morbo di Crohn [Hunter e McKay 2004; Croese et al. 2006; Summers et al. 2005], la colite ulcerativa [Summers et al. 2005], la sclerosi multipla [Correale e Farez 2007], l'asma allergico [Falcone e Pritchard 2005;

Leonardi-Bee et al. 2006], etc., la cui incidenza è fortemente cresciuta negli anni recenti e, inoltre, è assai più grande nei paesi industrializzati nei confronti dei paesi in via di sviluppo con meno rigorose abitudini igieniche [Pugliatti et al. 2002; Weinstock et al. 2004; Leonardi-Bee et al. 2006; Zaccone et al. 2006]. Questi disordini autoimmuni e allergici, e altri sono spiegati dalla *Hygiene hypothesis*, che in breve è un'ipotesi di medicina evolutivista.

4) L'abuso di saponi, deodoranti, detergenti, disinfettanti, etc., modifica la normale flora microbica dell'epidermide e delle mucose esterne (specialmente delle ascelle, dell'inguine, della bocca, dei genitali e delle mani) e causa il diffondersi di germi patogeni, in particolare funghi (osservazione personale).

D. Interazioni tra malattie causate da alterazioni della nicchia ecologica (Categoria 2) e invecchiamento (Categoria 5C.2)

Varie alterazioni della nicchia ecologica (fumo, alimentazione insalubre, eccessiva assunzione di sale e alcool, etc.), per le malattie da loro causate (bronchiti croniche, cancro in varie sedi, diabete mellito, ipertensione, ipercolesterolemia, obesità, alcolismo, etc.) sono considerate "fattori di rischio". Essi, fra l'altro, verosimilmente accrescono il fisiologico ricambio cellulare, provocando un maggiore tasso di apoptosi e così accelerando l'insorgere di disturbi che senza di loro sarebbero presenti solo in individui anziani [Hill et al. 2003]. Gli effetti dei fattori di rischio sono contrastati da farmaci con capacità di protezione d'organo ("farmaci protettivi degli organi") come le statine [Hill et al. 2003; Davidson 2007], gli ACE-inibitori e i sartani [Weir 2007a], probabilmente per normalizzazione dei tassi di apoptosi.

I fattori di rischio accrescono la frequenza delle malattie cardiovascolari e accelerano la loro insorgenza [Tallis et al. 1998]. Il fumo, il diabete e l'obesità sono fattori di rischio per la degenerazione maculare [Klein et al. 2007]. Vi è associazione tra la malattia di Alzheimer e i fattori di rischio [Vogel et al. 2006].

I farmaci protettivi riducono il rischio di malattie cardiovascolari [Davidson 2007; Weir 2007a] e di diabete [McCall et al. 2006; Ostergren 2007], sono efficaci nella prevenzione della fibrillazione atriale [Jibrini et al. 2008; Fauchier et al. 2008] e contro la malattia di Alzheimer [Ellul et al. 2007].

Le statine riducono il declino nelle funzioni polmonari [Alexeeff et al. 2007] e abbassano il rischio della cataratta nucleare [Klein et al. 2006]. Alcune malattie causate da alterazioni del genotipo, come la sindrome di Werner e la discheratosi congenita hanno effetti analoghi ai fattori di rischio, rispettivamente sulle cellule con moderato e alto ritmo di rinnovo [Marciniak e Guarente 2001] (Figura 19).

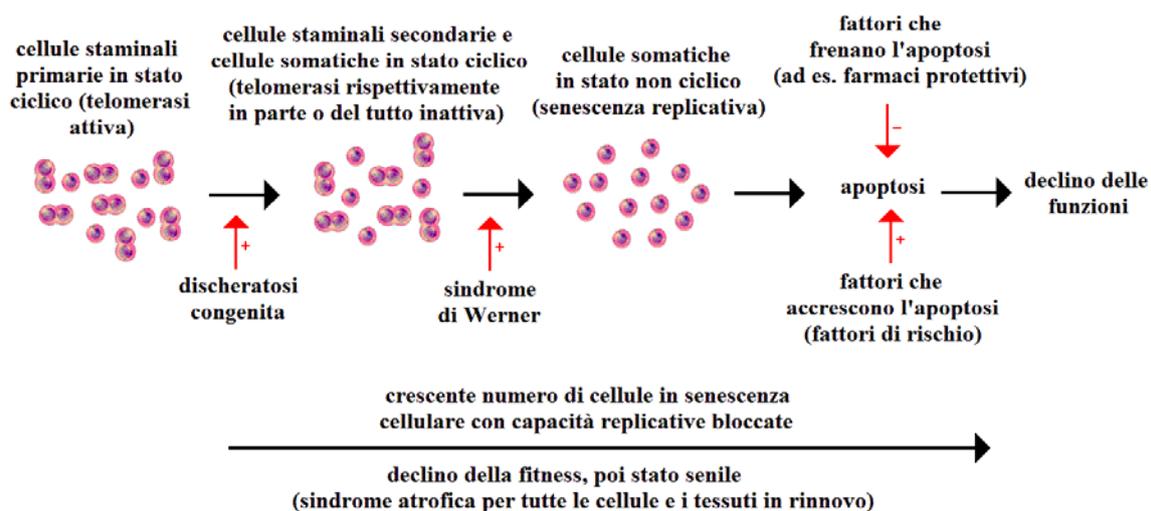


Figura 19 – I fattori di rischio (e alcune malattie genetiche) accrescono il tasso di apoptosi e il ricambio cellulare. I farmaci protettivi contrastano gli effetti dei fattori di rischio ma non è documentata la capacità di ridurre il tasso fisiologico di ricambio cellulare.

Confronto fra le categorie evuzionistiche delle malattie e i tipi di avaria di una macchina

E' possibile un confronto fra le categorie di malattie classificate in termini evuzionistici e vari tipi di guasti di una macchina (ad esempio, un'automobile) (Figura 20).

L'industriale è certamente assai attento nella sua manifattura, ma è inevitabile che alcune automobili saranno vendute con uno o più difetti costruttivi. Poiché per i difetti più frequenti il fabbricante adotterà di certo opportune misure, è prevedibile che ciascun particolare difetto avrà una frequenza limitata. I guasti causati da questi difetti sono analoghi alle malattie causate da alterazioni del genotipo.

Un'automobile ha un ambito di condizioni operative e d'uso, ad esempio, specifici tipi di olio, lubrificante e combustibile da usare, particolari operazioni di manutenzione da osservare, condotta di guida da rispettare, etc. I proprietari che non rispettano le indicazioni del fabbricante espongono le loro automobili a condizioni per le quali l'automobile non è progettata e pertanto rischieranno dei guasti. Le avarie con queste cause sono analoghe alle malattie causate da alterazioni della nicchia ecologica. Nel loro uso, le automobili possono collidere con altri autoveicoli o essere danneggiate da vandali o anche rubate. Questi danni sono analoghi alle malattie causate da interazioni con altre specie.

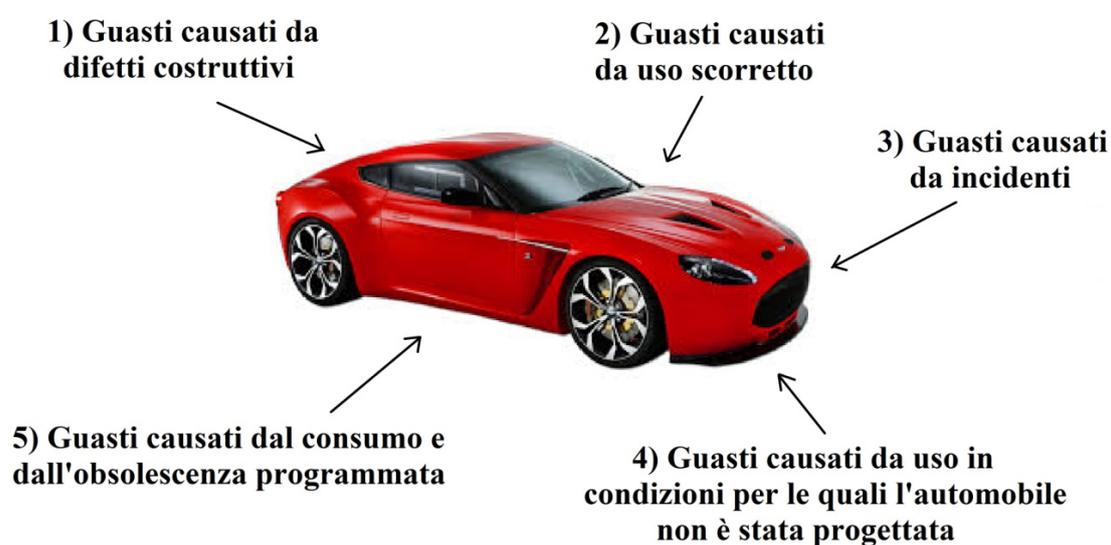


Figura 20 – Categorie di avaria di un'automobile, in analogia con la classificazione evuzionistica delle malattie e il peculiare fenomeno dell'invecchiamento.

Se il proprietario utilizza l'automobile su strade con la pavimentazione gravemente sconnessa o al di fuori delle sedi stradali oppure per attraversare un torrente o in altre condizioni per le quali l'automobile non è in alcun modo progettata, è probabile che vi sarà un danno, che è analogo alle malattie causate da condizioni al di là dell'ambito di adattamento.

Man mano che gli anni passano, le automobili si usurano, le avarie diventano sempre più frequenti, le riparazioni sempre più costose e difficoltose, le parti di ricambio diventano sempre più difficili da trovare, finché l'automobile diventa inutilizzabile e deve essere rottamata. In parte,

questo è dovuto a usura meccanica e a componenti che non possono essere sostituiti (o necessitano di ricambi troppo costosi). In parte, questo è perché le automobili hanno un'obsolescenza programmata, vale a dire non sono progettate per la massima durata ma per durare solo per un certo periodo dopo il quale incominciano ad avere guasti con frequenza e costi crescenti finché il proprietario non è indotto a comprare una nuova macchina. L'obsolescenza programmata e le sue conseguenze sono analoghe alle manifestazioni dell'invecchiamento.

Il concetto dell'obsolescenza di un prodotto pianificata e specificamente predisposta è meno conosciuto e ovvio di quello dell'usura meccanica.

Scrissi nel 1983:

“L'obsolescenza programmata (*built-in obsolescence* nella dizione in inglese) è quella proprietà di un prodotto industriale, specificamente progettata e perseguita, per cui il prodotto stesso si deteriora e diventa sempre più difficilmente riparabile dopo un periodo di tempo determinato, pur essendo affidabile e pienamente utilizzabile prima di tale periodo.

L'obsolescenza programmata porta nell'immediato a uno spreco di risorse e a un carico economico non indifferente per il consumatore, ma comporta almeno tre importanti vantaggi.

Il primo è quello di evitare che la quota annuale di rinnovo di un prodotto in un mercato stabile sia minimale. Ad esempio, un paese dove vi sono 10 milioni di autoveicoli con durata media di utilizzo di 10 anni, richiede la produzione annua di rimpiazzo di 1 milione di autoveicoli. Se si portasse la durata di un autoveicolo a 20 anni, la produzione annua dovrebbe calare a mezzo milione di autoveicoli con catastrofiche conseguenze per i ricavi e per l'occupazione.

Il secondo vantaggio è quello di introdurre nuove tecnologie con rapidità inversamente proporzionale alla durata media del prodotto. Un prodotto di durata illimitata ritarderebbe o addirittura renderebbe economicamente svantaggioso l'utilizzo di nuove e più efficaci tecnologie.

Il terzo vantaggio è che un sistema produttivo strutturato sulla base di un veloce e continuo rinnovo è facilmente adattabile: a) a un'improvvisa espansione del mercato; b) all'apertura di nuovi mercati; c) alla conversione alla produzione di altri manufatti; d) alla trasformazione in industria bellica, etc. Al contrario, una produzione di beni di durata massimale, avendo una produzione annua minima, è poco adatta alle suddette evenienze.

A riguardo ho le seguenti convinzioni.

L'obsolescenza programmata è un pilastro nascosto dell'attuale 'civiltà dei consumi'. Né l'industriale, né i sindacati, né i politici hanno interesse a pubblicizzare tale pilastro.

Il consumatore crede che non sia possibile costruire prodotti che durino di più o almeno che le modifiche necessarie renderebbero il prodotto troppo costoso. Queste convinzioni sono erranee e al contrario importanti sforzi nella progettazione di un prodotto industriale di consumo sono rivolti a rendere il prodotto contemporaneamente sicuro e affidabile fino a un certo periodo e successivamente poco affidabile e sempre più costosamente riparabile.

L'obsolescenza programmata di un prodotto industriale e la senescenza programmata di un essere vivente sono due fenomeni ben differenti. Eppure le analogie sono notevoli e non superficiali. Modificando opportunamente i termini di espressione, lo scopo principale comune è quello di permettere al prodotto industriale o al vivente la massima evoluzione, la massima adattabilità a nuove situazioni, la massima competitività in condizioni di lotta.

Se sono vere le considerazioni espresse a riguardo della senescenza:

- E' tragico osservare che un uomo e le sue macchine sono accomunati da un destino finale simile nella sua essenza.
- E' ironico pensare che la tecnologia moderna anche in questo sia stata preceduta e superata dalla Natura.
- E' incredibile che in una civiltà in cui l'obsolescenza programmata è basilare, non sia noto che il mondo vivente segue da sempre una logica parallela." [Libertini 1983]

Da Wikipedia (14/08/2008)

Articolo: Obsolescenza

“L'obsolescenza programmata (anche *built-in obsolescence* nel Regno Unito) è il processo di un prodotto che diventa obsoleto e/o non funzionale dopo un certo periodo di tempo o ammontare di uso in un modo che è pianificato o progettato dal fabbricante. L'obsolescenza programmata ha potenziali benefici per il fabbricante perché il prodotto viene meno e il consumatore è spinto a un nuovo acquisto, o presso lo stesso fabbricante (un pezzo di ricambio o un modello più nuovo), o presso un concorrente,

che pure potrebbe basarsi sull'obsolescenza programmata. Per un'industria, l'obsolescenza programmata stimola la domanda spingendo gli acquirenti a comprare di nuovo anticipatamente se vogliono ancora un prodotto funzionante. L'obsolescenza programmata è in molti differenti prodotti, dagli autoveicoli alle lampadine, dagli edifici al software. Vi è comunque la potenziale reazione dei consumatori che si rendono conto che il fabbricante ha investito risorse per rendere il prodotto obsoleto più rapidamente; tali consumatori potrebbero rivolgersi a un possibile fabbricante che offrisse un'alternativa più durevole.

L'obsolescenza programmata fu sviluppata per la prima volta negli anni '20 e '30 del XX secolo quando la produzione di massa aveva aperto a un'analisi esatta ogni minuto aspetto del processo produttivo.

Le stime dell'obsolescenza programmata possono influenzare le decisioni della compagnia a riguardo dell'ingegneria del prodotto. Pertanto la compagnia può usare i componenti meno costosi che soddisfano le proiezioni della durata del prodotto. Tali decisioni sono parte di una disciplina più ampia conosciuta come ingegneria del valore.

L'uso dell'obsolescenza programmata non è sempre facile da individuare con precisione, ed è complicato da problemi correlati, come tecnologie in competizione oppure aumento delle caratteristiche, che espande la funzionalità in versioni del prodotto più nuove.

- Razionale alla base della strategia

La strategia di sviluppo di un nuovo prodotto che cerca di rendere obsoleti i prodotti esistenti può sembrare controintuitiva, particolarmente se proveniente da un fabbricante leader dei prodotti esistenti. Perché un'azienda dovrebbe deliberatamente sforzarsi di ridurre il valore del suo attuale insieme di prodotti?

Il razionale alla base della strategia è di generare volumi di vendita a lungo termine riducendo il tempo fra acquisti successivi (azione definita come accorciamento del ciclo di sostituzione). Le aziende che seguono questa strategia ritengono che i proventi dalle vendite aggiuntive che crea ben superano i costi addizionali di ricerca e sviluppo e i costi necessari per la cannibalizzazione delle esistenti linee di prodotto. Comunque, le ricompense non sono in alcun modo certe: in un'industria competitiva, questa può essere una strategia rischiosa perché i consumatori possono decidere di comprare dai concorrenti. A causa di ciò, avvantaggiarsi con

questa strategia richiede l'inganno dei consumatori sul costo effettivo per l'uso del prodotto nel confronto con la concorrenza.

L'accorciamento del ciclo di sostituzione ha molti critici come anche molti sostenitori. Critici come Vance Packard affermano che il processo spreca risorse e sfrutta i consumatori. Le risorse sono utilizzate per operare dei cambiamenti, spesso solo cambiamenti di facciata che non sono di grande valore per il cliente. I sostenitori affermano che ciò stimola progressi tecnologici e contribuisce al benessere materiale. Essi sostengono che una struttura di mercato di obsolescenza programmata e rapida innovazione può essere preferita a prodotti di lunga durata e lenta innovazione. In un'industria competitiva con passo veloce, il successo di mercato richiede che i prodotti siano resi obsoleti mediante lo sviluppo attivo di sostituti. Aspettare che sia un concorrente a rendere i prodotti obsoleti è una sicura garanzia di futuro fallimento ...”

Un esempio di differenza fra la corrente classificazione delle malattie e la classificazione evoluzionistica

Alcuni soggetti sono colpiti in età giovanile da infarto del miocardio o da ischemia cerebrale come conseguenza di una grave ipercolesterolemia ereditaria o di altre malattie genetiche. Altri soggetti di media età, fumatori, obesi, diabetici o ipertesi, sono colpiti dalle stesse malattie. Altri soggetti ancora, che non sono fumatori, obesi, diabetici o ipertesi ma soltanto anziani, sono afflitti dagli stessi disturbi.

Nella classificazione tradizionale, i tre gruppi di pazienti sono classificati insieme, mentre nella classificazione evoluzionistica i loro disturbi sono divisi in tre distinti gruppi di malattie.

E' bene chiarire che le anzidette malattie nelle loro manifestazioni sono trattate nello stesso modo, ma nella loro classificazione evoluzionistica vi è una netta distinzione.

Nel primo caso, abbiamo malattie derivanti da alterazioni del genotipo: in pratica esse non sono facilmente o completamente prevenibili con misure dietetiche o modifiche dello stile di vita, è possibile un'identificazione precoce, trattamenti farmacologici riducono il rischio, la terapia ideale è genetica, la prevenzione ideale è l'eugenica prima della concezione mentre l'aborto terapeutico non è esattamente una prevenzione.

Nel secondo caso, abbiamo malattie derivanti da alterazioni della nicchia ecologica. Un'efficace prevenzione è possibile e dovrebbe essere la prima scelta. Il trattamento con farmaci riduce il rischio di nuovi eventi patologici ma la correzione delle alterazioni della nicchia ecologica dovrebbe essere di gran lunga il provvedimento principale.

Nel terzo caso, abbiamo disturbi (non esattamente malattie) che fanno parte di una funzione fisiologica come l'invecchiamento appare essere. La prevenzione non è possibile. Il trattamento farmacologico potrebbe ridurre ma non cancellare il rischio, che cresce con l'età. Il solo provvedimento efficace potrebbe essere una diversa regolazione mediante farmaci o una modifica genetica dei meccanismi che regolano e determinano l'invecchiamento.

Strategie per ridurre i tassi di morbilità e per accrescere la longevità

1 - Azioni per la Categoria 1 (malattie causate da alterazioni del genotipo)

Oggi: Se possibile, precoce identificazione dei soggetti con malattie genetiche e loro trattamento farmacologico. Aborto terapeutico in alcuni casi.

In futuro:

Opzione A – Superando i limiti della corrente terapia genica [Dropulic e Carter 2008], in particolare il successo transitorio della terapia, causato dal ricambio cellulare se il gene corretto non è inserito nelle cellule staminali, e la possibilità che un'inserzione possa inattivare il soppressore di un oncogene e scatenare un cancro (oncogenesi inserzionale) [Porteus et al. 2006] (Figura 21), sviluppo di metodi con cui sarà possibile inserire in modo sicuro nel genoma del paziente il gene corretto in una posizione che non causi possibili pericolose interferenze con altri geni. Trattamento delle malattie genetiche con la terapia genica, con metodologia che sia in larga parte invariante e cambiando solo la sequenza genetica da inserire. Limitazione della riproduzione dei soggetti con alterazioni genetiche, subordinando la riproduzione a possibili controlli della condizione genetica del feto.

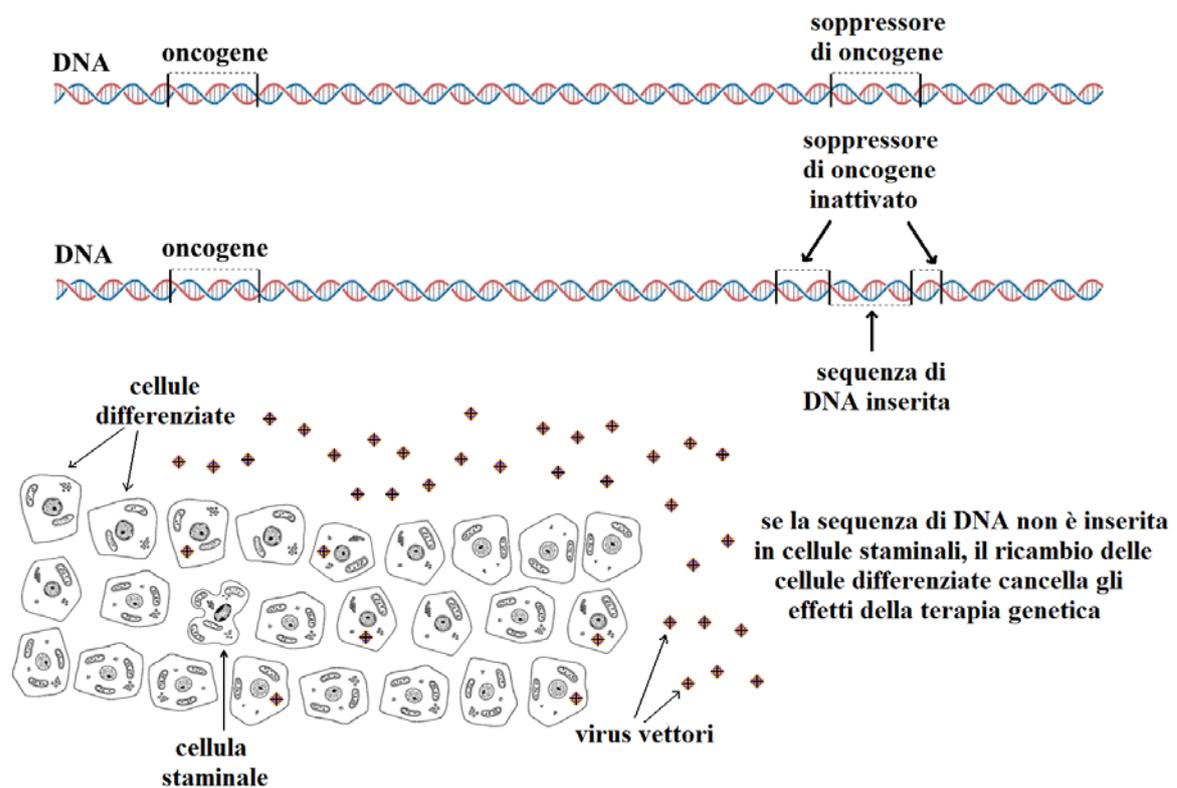


Figura 21. Terapia genica corrente. La sequenza di DNA è inserita in una posizione casuale da un virus vettore. Se un'inserzione inattiva una sequenza che reprime un oncogene, ciò può causare un cancro. Il tipo di virus vettore e/o i limiti nella dose del virus inoculato possono causare la trasformazione solo di cellule differenziate e non delle poche cellule staminali e, di conseguenza, il successo transitorio della terapia, poiché il ricambio cellulare gradualmente sostituisce le cellule differenziate con nuove cellule originate da cellule staminali non trasformate.

Opzione B – Sviluppi di metodi con i quali sia possibile sostituire in modo sicuro il gene alterato con il gene corretto nel genoma del paziente in tutte le sue cellule, comprese quelle germinali (Figure 22 e 23). Riproduzione senza restrizioni se si verifica che la sostituzione è stata operata correttamente.

Effetti: Limitazione della morbidità e mortalità derivanti dalle malattie genetiche. Limitazione del progressivo incremento della loro incidenza nelle future generazioni. Incremento limitato della durata media della vita. Nessun aumento della longevità.

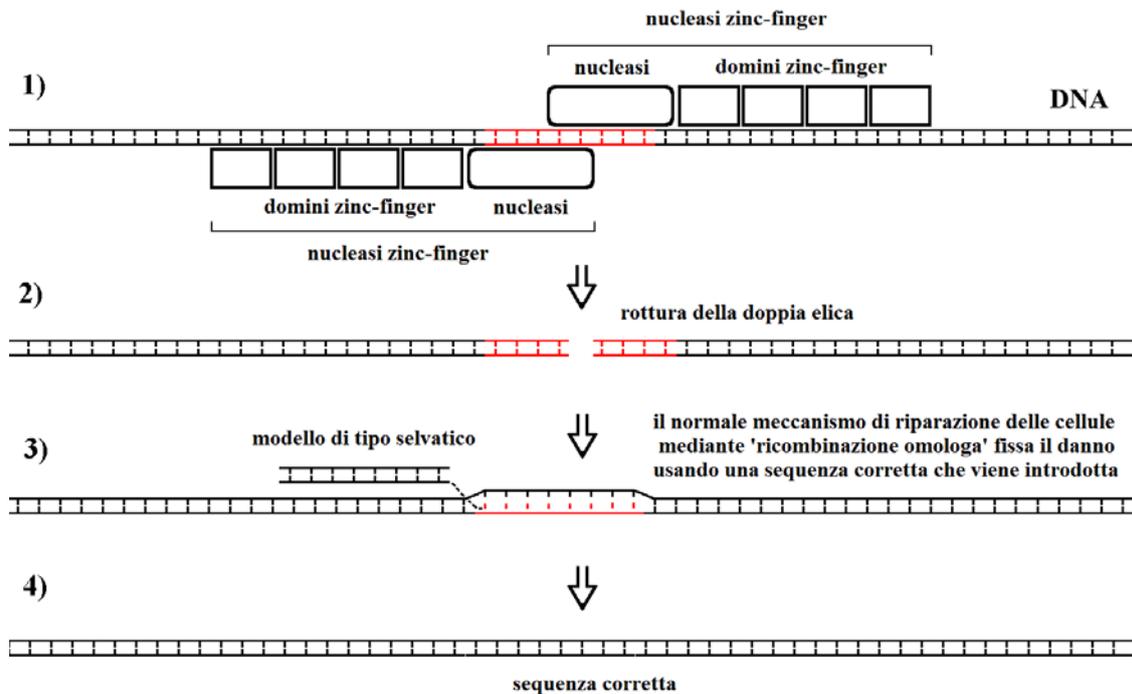


Figura 22 - Opzione B. Il gene corretto è inserito in sostituzione del gene alterato. Con l'uso di due nucleasi zinc-finger, composte di domini zinc-finger (ciascuno specifico per una particolare sequenza di DNA di tre basi) e una nucleasi (un enzima di restrizione del Tipo IIS), è possibile spezzare il doppio filamento di DNA in un punto preciso con la successiva correzione da parte del normale sistema di riparazione cellulare del DNA utilizzando una sequenza DNA corretta che si è introdotta [Urnov et al. 2005]. Questo metodo appare molto promettente [High 2005].

2 - Azioni per la Categoria 2 (malattie causate da alterazioni della nicchia ecologica)

Oggi: In genere, dopo il manifestarsi della malattia, si consiglia fortemente di evitare i fattori di rischio e si trattano le manifestazioni patologiche. Le persone e molti medici non hanno una precisa conoscenza del significato profondo del concetto di fattore di rischio. Non vi è piena consapevolezza del fatto che la condizione patologica è l'alterazione della nicchia ecologica e che i meccanismi patologici che sono attivati da tali alterazioni sono la conseguenza (cause secondarie) e non la vera origine (causa primaria) della malattia.

In futuro: Ottimale conoscenza delle condizioni ecologiche a cui la nostra specie è adattata. E' necessario definire il rischio per ciascuna alterazione

della nicchia ecologica e diffondere nella popolazione e nelle categorie mediche la conoscenza dei rischi. Prevalente utilizzazione delle risorse per la prevenzione. Adozione di misure che scorraggino i comportamenti rischiosi. Le cure per i soggetti ammalati per non aver osservato le misure preventive e i relativi consigli devono essere l'ultimo bastione di difesa. Effetti: Drastica riduzione di tutte le patologie classificabili in questa categoria con parallela riduzione di morbilità e mortalità. Riduzione dei costi sanitari correlati. Aumento della durata media della vita. Nessun aumento della longevità.

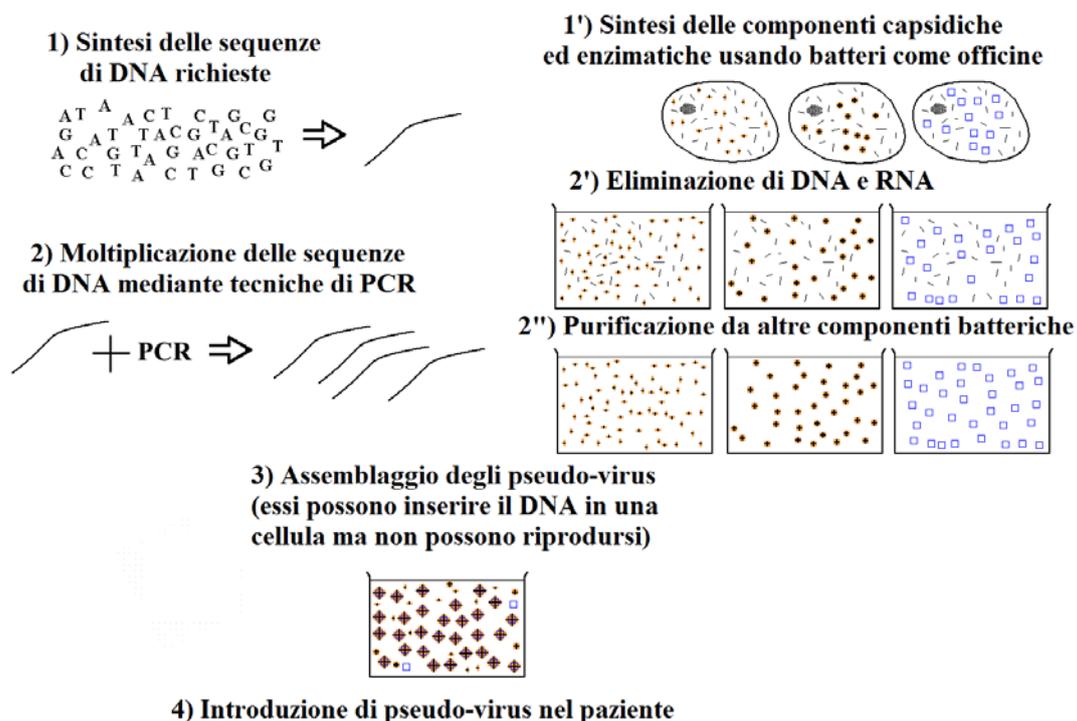


Figura 23 – Creazione di vettori di geni (schema ipotetico). Le richieste sequenze di DNA (per le specifiche nucleasi zinc-finger, per il gene che deve essere modificato, etc.) sono create a partire da sequenze virali difettive e da singoli nucleotidi e moltiplicate mediante tecniche di PCR (polymerase chain reaction). I componenti del capsid e gli enzimi essenziali per l'assemblaggio e l'attivazione degli pseudo-virus sono sintetizzati usando batteri trasformati e successivamente eliminando DNA, RNA e gli altri componenti batterici. La sequenza DNA e i componenti capsidici ed enzimatici sono assemblati creando pseudo-virus capaci di inserire o sostituire una sequenza DNA in un cromosoma cellulare ma non di riprodursi.

3 - Azioni per la Categoria 3 (malattie causate da interazioni con altre specie)

Oggi: Azioni indiscriminate contro qualsiasi tipo di infezione o parassitosi. Eccessivo e/o inappropriato uso degli antibiotici. Scarsa o nulla attenzione alle relazioni ecologiche ancestrali tra l'uomo e innumerevoli specie microbiche e molti vermi parassiti.

In futuro: Approfondimento dello studio delle relazioni tra l'uomo e i suoi parassiti. Riduzione o eliminazione delle circostanze che aumentano il pericolo di epidemie. Limitazioni nell'eccessivo o inappropriato uso degli antibiotici. Un maggiore e prevalente uso di misure preventive e di vaccini. Effetti: Riduzione della morbilità e della mortalità. Riduzione dei casi di resistenza agli antibiotici. Aumento della durata media della vita. Nessun aumento della longevità.

4 - Azioni per la Categoria 4 (malattie causate da condizioni al di là dell'ambito di adattamento)

Oggi: Azioni che riducono le condizioni di rischio.

Nel futuro: Azioni più attente per ridurre le condizioni di rischio (ad esempio, auto e strade più sicure, maggiore severità e osservanza delle misure di sicurezza sul lavoro, etc.)

Effetti: Riduzione della morbilità e della mortalità. Aumento nella durata media della vita. Nessun incremento della longevità.

5 - Azioni per l'invecchiamento

Oggi: L'invecchiamento è considerato non un evento fisiologico ma un insieme eterogeneo di malattie con frequenza e gravità che cresce in correlazione con l'età. Le manifestazioni dell'invecchiamento sono empiricamente trattate per le loro disfunzioni e in analogia con malattie che mostrano le stesse disfunzioni. Le cure spesso permettono un aumento dei tempi di sopravvivenza ma in condizioni sempre peggiori, ossia con bassa o insopportabile qualità della vita.

In futuro: E' indispensabile, in via preliminare, acquisire la consapevolezza che l'invecchiamento è qualcosa di diverso dalle malattie e che pertanto necessita di provvedimenti specifici. E' possibile concepire un progetto ambizioso per la soluzione del problema in quattro fasi:

- Fase 1

Perseguimento parallelo di vari obiettivi (durata: almeno una decade)

- a) Approfondimento degli studi sul sistema telomero-telomerasi;
- b) Lo stesso per il fenomeno apoptosi;
- c) Lo stesso per il rinnovo cellulare in tutti i tessuti e del suo effetto sulle funzioni degli organi;
- d) Lo stesso per la morfogenesi degli organi, in particolare per la dentizione;
- e) Sviluppo di tecniche genetiche per l'efficace e preciso inserimento di una sequenza genetica in un punto del genoma senza causare pericolose alterazioni;
- f) Sviluppo di tecniche genetiche per l'efficace e precisa sostituzione di una sequenza genetica con un'altra sequenza;
- g) Ricerca di possibili farmaci sicuri per modificare il sistema telomero-telomerasi e/o il ricambio cellulare (o altro) in modo che la longevità sia accresciuta.

- Fase 2

Perseguimento parallelo di vari obiettivi (durata: almeno una decade)

- a) Esperimenti su animali di inserimento di sequenze genetiche per modificare la modulazione del sistema telomero-telomerasi allo scopo di accrescere la longevità;
- b) Lo stesso con tecniche di sostituzione genetica;
- c) Prime applicazioni delle anzidette tecniche per il trattamento di gravi malattie genetiche;
- d) Prime applicazioni delle anzidette tecniche per il trattamento di gravi malattie correlate con l'età come la degenerazione maculare correlata con l'età e la malattia di Alzheimer;
- e) Come per (a) e (b) per ottenere multiple dentizioni;
- f) Esperimenti su animali di possibili farmaci con capacità di accrescere la longevità.

- Fase 3

Durata: almeno due decenni

- a) Primi esperimenti sull'uomo di terapia genica (ma non su cellule germinali) e di possibili farmaci con capacità di accrescere la longevità;
- b) Verifica dei risultati e progressivo ampliamento delle sperimentazioni.

- Fase 4

Durata: indeterminata

a) Possibile sperimentazione e applicazione di terapia genica sulle cellule umane germinali;

b) Applicazioni su larga scala di tecniche e farmaci sicuri e sperimentati.

Effetti: Incremento della durata media della vita derivante dall'aumento della longevità.

Per l'estrema importanza dell'argomento, seguendo l'esempio e gli splendidi risultati della NASA, potrebbe essere utile la creazione di un apposito organismo internazionale, adeguatamente finanziato, con lo specifico obiettivo di conseguire il controllo dell'invecchiamento e, come corollario assai importante, le malattie genetiche (Figura 24).



Figura 24 – Il presidente degli USA John F. Kennedy indirizzò gli sforzi della NASA, fondata nel 1958 da Eisenhower, sull'obiettivo di inviare astronauti sulla luna entro la fine degli anni '60. Quest'obiettivo fu conseguito il 20 luglio 1969 (dal sito ufficiale della NASA: www.nasa.gov/).

Caratteristiche di un'epoca futura con una longevità illimitata

Quando Mosè, ormai vecchissimo e alla vigilia della morte, vide dalla montagna di Nebo la Terra Promessa [*Deuteronomio*, 34], certamente gli

Ebrei piansero per la gioia e immaginarono la fine di tutte le loro sofferenze. Comunque, l'entrata nella Terra Promessa, sebbene pose termine alle innumerevoli afflizioni che avevano sofferto nel Sinai, fu l'inizio di molte altre sofferenze, lotte e disillusioni.

Un mondo con una longevità illimitata sarebbe come la Terra Promessa: molte sofferenze di oggi avrebbero fine, ma molte altre inizierebbero. I nostri discendenti potrebbero commiserarci per la limitata durata della nostra vita, ma ci invidierebbero per molte altre cose.

Una società composta da individui con lunghissima durata della vita non può essere semplicemente la stessa società di oggi. Tutto, o quasi, dovrebbe cambiare.

Un rischio assai piccolo per la vita, oggi considerato accettabile poiché l'aspettativa di vita è di pochi decenni, diventa inaccettabile se vi è una lunghissima aspettativa di vita. Rigorose misure per prevenire gli incidenti - con una severità oggi inimmaginabile - sarebbero la regola.

Oggi la procreazione è libera ed è uno dei diritti considerati inviolabile. La limitazione a solo un figlio per famiglia imposta in Cina per molti anni sembra alla maggior parte delle persone una limitazione inaccettabile. In una società con una durata della vita assai lunga, le nascite sarebbero regolate e limitate in proporzione. I bambini sarebbero una rara eccezione, coccolati e protetti da intere comunità. La maternità diventerebbe un raro privilegio.

Oggi il matrimonio è un giuramento valido per tutta la vita e la sua rottura è un trauma fortemente scoraggiato. Il matrimonio si trasformerebbe in un rapporto temporaneo con specifiche regole e limitazioni.

Le persone potenti e/o ricche potrebbero conseguire picchi di potere e/o ricchezza oggi inconcepibili. Molte regole dovrebbero essere predisposte per limitare gli eccessi e per assicurare il ricambio nella gestione del potere. Oggi un uomo studia per un certo periodo della sua vita, poi lavora per un certo periodo e successivamente si ritira in pensione, godendo dei frutti del suo lavoro. Questo modo di vivere non sarebbe più possibile. Forse vi sarebbe un'alternanza fra periodi di lavoro e altri di riposo o studio.

Il livello medio di educazione crescerebbe enormemente, come pure i casi di persone con più lauree e specializzazioni, anche perché dopo un certo periodo vi sarebbe l'esigenza psicologica di cambiare l'oggetto di studio e di lavoro.

Vi sarebbe un'estrema attenzione a cose belle, artistiche e poetiche, e vi sarebbero esempi supremi di appassionati delle discipline artistiche, ma anche esempi mostruosi di egoismo e malvagità.

Ma vi sarebbe anche il dilagare di ciò che i Romani chiamavano *taedium vitae*, e forse il suicidio diventerebbe la causa principale di morte.

Le guerre - nel ricordo - diventerebbero un simbolo di estrema pazzia, ma il mondo sarebbe statico e uniforme. I nostri discendenti ci commisererebbero per le innumerevoli guerre passate, eppure nella rappresentazione di eventi storici ricercherebbero quelle emozioni che mancherebbero del tutto nella vita di ogni giorno - un po' come quando noi deploriamo le lotte dei secoli passati ma siamo affascinati dagli spettacoli di guerrieri che lottano con spade, archi e altre armi antiche.

E che cosa possiamo dire di filosofia, religione, politica, poesia, sociologia, psicologia, etc.? Tutto cambia se l'aspettativa della durata della vita è immensamente più grande.

I cinici e i non credenti affermerebbero che Dio, la religione e la filosofia sono riformulati e adattati alla nuova società, dimostrando con ciò ancora una volta di essere solo creazioni della mente umana.

I mistici e i credenti dichiarerebbero invece che Dio, la religione e la filosofia sono immutati nella loro essenza e che una vita illimitata nella sua durata permette un miglior livello di comprensione, giacché saremmo meno limitati dai vincoli fisici.

L'economia e la politica avrebbero obiettivi radicalmente differenti. Oggi noi pianifichiamo per la generazione contemporanea e un po' - se si è lungimiranti - per quella successiva. In futuro, gli uomini penserebbero innanzitutto al futuro, poiché la generazione contemporanea dovrebbe vivere in quel tempo.

Conclusione

Lo sviluppo e l'effettiva applicazione su larga scala di tecniche sicure di terapia genica ridurrebbero le conseguenze delle malattie della categoria 1 (malattie causate da alterazioni del genotipo).

Il rispetto delle condizioni ecologiche a cui la specie umana è adattata ridurrebbe grandemente l'incidenza, la gravità e la mortalità delle malattie della categoria 2 (malattie causate da alterazioni della nicchia ecologica).

Una migliore comprensione delle interazioni tra la nostra specie e le specie che, parassite o commensali, si sono coevolute con noi, e delle condizioni

ecologiche che minimizzano il loro danno e migliorano le interazioni per noi positive, un maggior impiego di vaccini e un uso più attento e ridotto al minimo degli antibiotici ridurrebbero l'impatto delle malattie della categoria 3 (malattie causate da interazioni con altre specie).

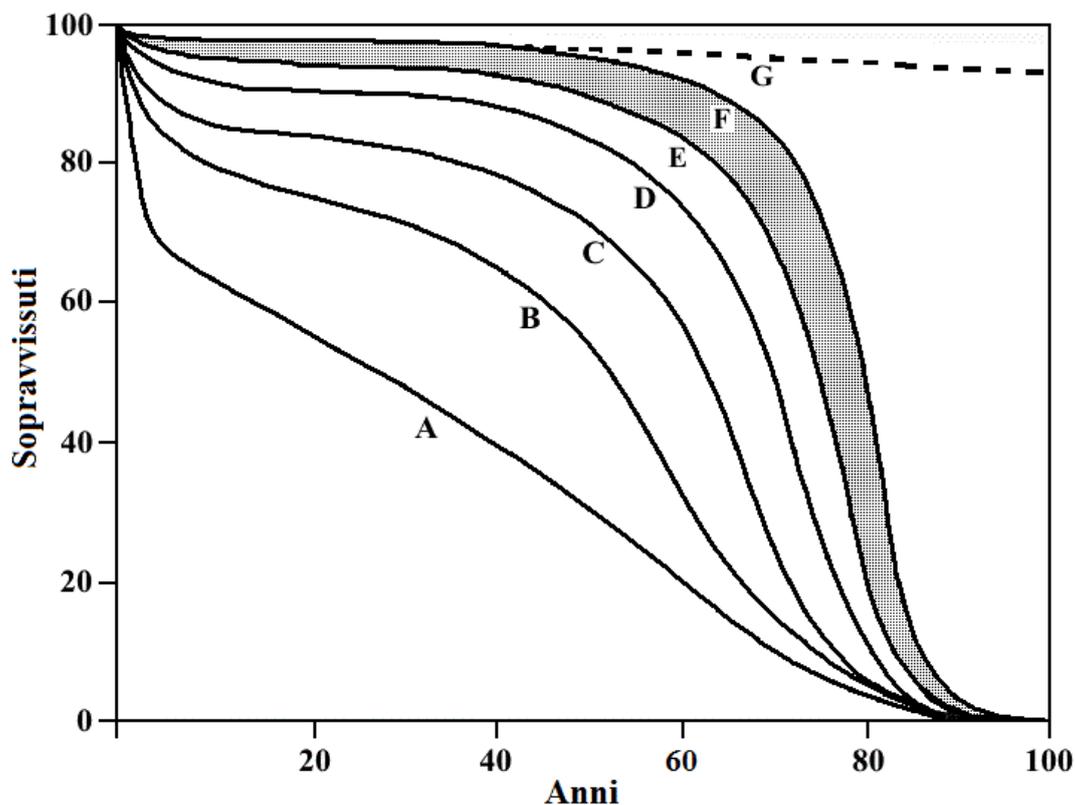


Figura 25 – Curve di sopravvivenza della specie umana in varie epoche (ispirata dalla Figura 0.1 in [Comfort 1979]) che schematizzano un progressivo incremento nella durata della vita mentre la longevità appare immutata (curve A-E). L'attuale condizione nei paesi sviluppati è pressappoco modo indicata dalla curva E. Con buone misure di prevenzione e con migliori trattamenti curativi la curva F è un risultato verosimile, con ulteriore modesto incremento della durata della vita (area ombreggiata) ma non della longevità. Solo con una modifica del progressivo incremento della mortalità correlata con l'età e causata da fattori intrinseci (invecchiamento) sarà possibile un forte incremento della durata della vita e della longevità (curva G).

Forti misure preventive ridurrebbero l'impatto delle malattie della categoria 4 (malattie causate da condizioni al di là dell'ambito a cui siamo adattati).

Miglioramenti nelle cure sanitarie e una maggiore assistenza sociale migliorerebbero la sopravvivenza e la qualità della vita delle persone anziane.

Tutto l'insieme delle anzidette misure accrescerebbe la durata media della vita, ma la longevità, vale a dire la durata massima della vita, rimarrebbe immodificata (Figura 25), eccetto una maggiore sopravvivenza delle persone più anziane ma in condizioni di salute assai compromesse.

Una modifica del nostro programma genetico nella parte che fa decrescere progressivamente la fitness e limita la longevità incrementerebbe la durata della vita media e la longevità senza un limite teorico. Sarà di certo necessario assumere decisioni a riguardo della natura etica e della convenienza di questa possibilità, ma qui vi è un confine tra la scienza e la politica, la religione e le scelte che può operare il libero arbitrio.

Appendice: Calcolo delle frequenze di equilibrio di un gene

C è un gene che comporta un vantaggio o uno svantaggio s nella condizione omozigote e s' nella condizione eterozigote. C' è il suo allele inattivo. Le scritture C_n e C'_n indicano rispettivamente la frequenza di C e C' alla generazione n. La frequenza di mutazione di C' in C è indicata con v e quella di C in C' con u .

Le frequenze di C_{n+1} e C'_{n+1} sono date da:

$$C_{n+1} = (C_n + C_n^2 s + 2 C_n C'_n s' + C'_n v - C_n u) / T \quad (A1)$$

$$C'_{n+1} = (C'_n + 2 C_n C'_n s' - C'_n v + C_n u) / T \quad (A2)$$

dove T è la somma dei numeratori.

La formula (A1) può essere scritta come:

$$C_{n+1} = (C_n [1 + C_n s + 2 (1 - C_n) s' - v - u] + v) / [1 + 4 C_n s' + C_n^2 (s - 4 s')] \quad (A3)$$

Vi è una condizione di equilibrio quando la frequenza di C non cambia passando da una generazione alla successiva, vale a dire quando:

$$C_{n+1} = C_n = C_e \quad (A4)$$

Sostituendo in (A3), abbiamo:

$$C_e [1 + 4C_e s' + C_e^2 (s-4s')] = C_e [1 + C_e s + 2 (1-C_e) s' - v - u] + v \quad (A5)$$

Le soluzioni di questa equazione di terzo grado sono lunghe e complesse. Con un gene recessivo dannoso ($s' = 0$; $s < 0$), ponendo la semplificazione $u = 0$, la formula (A5) diventa:

$$C_e (1 + C_e^2 s) = C_e (1 + C_e s - v) + v \quad (A6)$$

e le soluzioni sono:

$$1, -\sqrt{-v/s}, \sqrt{-v/s} \quad (A7)$$

Scartando le soluzioni 1 e 2 e ricordando che $s < 0$, possiamo scrivere:

$$C_e = \sqrt{v/[s]} \quad (A8)$$

dove $[s]$ significa il valore assoluto di s .

Per la legge (o equilibrio) di Hardy-Weinberg ($CC + 2 CC' + C'C' = 1$), la frequenza di equilibrio del fenotipo che esprime la condizione svantaggiosa sarà:

$$P_e = C_e^2 = v/[s] \quad (A9)$$

Nel caso di un gene dannoso dominante ($s = s' < 0$), con la semplificazione $u = 0$, la formula (A5) diventa:

$$C_e (1 - 3 C_e^2 s + 4 C_e s) = C_e (1 - C_e s + 2 s - v) + v \quad (A10)$$

e le soluzioni sono:

$$1, (2s - 2\sqrt{s^2 + 3sv}) / (6s), (2s + 2\sqrt{s^2 + 3sv}) / (6s) \quad (A11)$$

Scartando le soluzioni 1 e 2, e considerando che $s = -[s]$:

$$\begin{aligned}
C_e &= (2s + 2\sqrt{s^2 + 3sv}) / (6s) = (1 - \sqrt{1 - 3v/[s]}) / 3 = \\
&= (1 - \sqrt{1 - 3v/[s]})(1 + \sqrt{1 - 3v/[s]}) / 3(1 + \sqrt{1 - 3v/[s]}) = \\
&= (1 - 1 + 3v/[s]) / (3 + 3\sqrt{1 - 3v/[s]}) \approx 3v/[s] / (3 + 3) = 0,5 v/[s] \quad (A12)
\end{aligned}$$

Per la legge di Hardy-Weinberg, la frequenza di equilibrio del fenotipo che esprime la condizione svantaggiosa (P_e) sarà:

$$P_e = C_e C_e + 2 C_e C'_e = 2 C_e - C_e^2 \approx 2 (0,5 v/[s]) - (0,5 v/[s])^2 \approx v/[s] \quad (A13)$$

vale a dire, per un gene dannoso dominante la frequenza di equilibrio del fenotipo è praticamente identica a quella per un gene recessivo.

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 (A5) diventa:

$$C_e [1 + 4 C_e s' + C_e^2 (s - 4 s')] = C_e [1 + C_e s + 2 (1 - C_e) s'] \quad (A14)$$

e le soluzioni sono:

$$0, \quad 1, \quad -(2 s') / (s - 4 s') \quad (A15)$$

La prima soluzione è valida se $s < 0$ e $s' < 0$. La seconda soluzione è valida se $s > 0$ e $s' \leq 0$. La terza soluzione è valida se $s' > 0$. Pertanto, scartando le soluzioni 1 e 2:

$$C_e = -(2 s') / (s - 4 s') = (2 s') / ([s] + 4 s') \quad (A16)$$

Per la legge di Hardy-Weinberg, le frequenze di equilibrio dei fenotipi nelle condizioni omozigote ed eterozigote sono date rispettivamente da C_e^2 e $2 C_e (1 - C_e)$.

Per le alterazioni cromosomiche, è conveniente considerare un'alterazione cromosomica come un gene alterato in un organismo aploide, sottolineando che la frequenza di equilibrio di un'alterazione cromosomica (C_e) e la frequenza di equilibrio dell'alterazione fenotipica (P_e) coincidono.

Pertanto, ponendo $s < 0$ e $u = 0$:

$$C_{n+1} = [C_n - C_n s + (1 - C_n) v] / [C_n - C_n s + (1 - C_n) v - (1 - C_n) v] =$$

$$= [C_n (1 - s - v) + v] / (1 - C_n s) \quad (\text{A17})$$

$$C_e (1 - C_e s) = C_e (1 - s - v) + v \quad (\text{A18})$$

Le soluzioni sono:

$$1, \quad -v/s \quad (\text{A19})$$

$$\text{vale a dire: } C_e = P_e = v/[s] \quad (\text{A20})$$

come per la P_e di un gene recessivo o dominante in un organismo diploide.

Capitolo III

Classificazione dei fenomeni fenoptotici

Riassunto

La fenoptosi è definita come la morte programmata di un organismo. In una più approfondita e dettagliata formulazione del concetto, vi è fenoptosi quando si ha la morte di un individuo causata dalle sue stesse azioni o da quelle di parenti stretti (e non da accidenti o malattie). Essa è determinata da geni favoriti dalla selezione naturale e in certi casi accresce la capacità di evoluzione (evolubilità) degli organismi.

Questa categoria di fenomeni non può essere spiegata in termini di selezione individuale e necessita inderogabilmente di una giustificazione in termini di selezione sovraindividuale.

Quattro tipi di fenoptosi sono proposti (A: Obbligatoria e rapida; B: Obbligatoria e lenta; C: Opzionale; D: Indiretta). Sono proposti esempi di ciascun tipo e dei relativi sottotipi.

La classificazione è discussa nel suo significato e nelle sue implicazioni e confrontata con un'altra classificazione dei vari tipi di fine della vita largamente basata sul concetto classico dell'invecchiamento quale evento che è la somma di inevitabili processi degenerativi.

Introduzione

Nel concetto darwiniano della selezione naturale, come formulato all'inizio, un carattere è favorito quando determina una maggiore attitudine alla sopravvivenza (fitness) e/o una maggiore capacità riproduttiva per l'individuo che lo manifesta [Darwin 1859].

In questa visione, dopo la scoperta che i caratteri sono determinati da geni, una formula generale che illustra la variazione di frequenza (Δ_c) da una generazione alla successiva, determinata dalla selezione naturale, di un gene C che agisce su un individuo I, potrebbe essere:

$$\Delta_c \propto S P \tag{1}$$

dove:

S = vantaggio/svantaggio per I causato dal gene C; P = capacità residua di I di avere una progenie all'età in cui il gene manifesta la sua azione (valore riproduttivo).

Comunque questa formula non spiega le azioni altruistiche delle attenzioni dei genitori nei confronti della prole, o dei casi in cui la riproduzione comporta obbligatoriamente la morte di un genitore, o quando l'individuo adulto muore più o meno rapidamente subito dopo la riproduzione. In questi casi, con un'interpretazione estesa un po' forzata, è necessario che il significato del termine S non sia limitato strettamente al vantaggio/svantaggio individuale ma comprenda i vantaggi/svantaggi determinati dagli effetti del gene C su altri individui geneticamente imparentati.

Una soluzione esplicita e coerente per queste difficoltà è nel concetto di "fitness complessiva" ("inclusive fitness") [Hamilton 1964, 1970; Trivers 1971; Wilson 1975], dove il calcolo delle forze selettive considera tutti gli individui per i quali le azioni del carattere (vale a dire del gene C o dei geni che determinano il carattere) hanno qualche effetto:

$$\Delta_c \propto \sum_{x=1}^n (S_x P_x r_x) \quad (2)$$

dove:

n = numero degli individui per i quali il carattere ha qualche effetto; S_x = vantaggio/svantaggio per I_x ; P_x = valore riproduttivo dell'individuo x ; r_x = coefficiente di parentela tra I_x e I_1 .

Questa formula spiega molto bene le cure parentali e molti altri comportamenti altruistici (ed egoistici), compresi i casi della morte di un genitore connessi alla riproduzione. Il concetto della fitness complessiva (vale a dire la selezione di parentela) non è un'alternativa alla visione classica, ma un'estensione della stessa: la fitness individuale è un caso particolare della fitness complessiva in cui solo l'individuo I_1 è coinvolto negli effetti del carattere. In termini matematici, con $n = 1$ e considerando che $r_1 = 1$, la formula (2) coincide con la (1).

Il concetto della selezione di parentela è stato largamente usato per alcuni decenni anche per spiegare l'eusocialità, in particolare utilizzando l' "ipotesi dell'aplodiploidia"¹ per spiegare l'eusocialità in molte specie di *Hymenoptera* (formiche, vespe e api). Ma le formule basate sulla fitness complessiva diventano complicate e intrattabili quando devono essere

¹ Tale termine indica le specie in cui i maschi sono aploidi e le femmine diploidi.

considerati molteplici effetti sinergistici nelle interazioni tra individui. Inoltre molte specie non aplodiploidi mostrano l'eusocialità (ad esempio, le termiti) e “L'associazione tra aplodiploidia ed eusocialità va al di sotto del livello di significatività statistica.” [Nowak et al. 2010]. E' stato dimostrato che “la teoria standard della selezione naturale nel contesto di precisi modelli di popolazioni strutturate rappresenta un approccio più semplice e migliore” [Nowak et al. 2010].

D'altro canto, la selezione di parentela applicata a popolazioni composte di uno o pochi cloni è una forma di selezione di gruppo che non implica inaccettabili postulati. E altri casi sono proponibili dove questo o quel tipo di approccio matematico sarebbero ammissibili.

Questa piccola premessa non vuole discutere la validità e i limiti dei vari metodi e concetti della genetica di popolazione utilizzati per descrivere e studiare atti e comportamenti che implicano azioni altruistiche, ma solo evidenziare due caratteristiche comuni:

1) E' importante considerare i possibili effetti delle azioni di un carattere, o di un gene, su altri individui, vale a dire è necessario considerare meccanismi di selezione sovraindividuale. Essi possono essere variamente definiti e calcolati (selezione di parentela, precisi modelli basati su popolazioni strutturate, selezione di gruppo, meccanismi che favoriscono la velocità e le possibilità di evoluzione, o evolubilità [Kirschner e Gerhart 1998], condizioni che favoriscono la semelparità o il sacrificio di un genitore, etc.), sebbene ciò non escluda che nella maggior parte dei casi un carattere, o un gene, non abbia alcun effetto su altri individui;

2) La selezione può favorire in casi particolari un carattere, o un gene, che è dannoso per la sopravvivenza dell'individuo in cui il carattere agisce. Ciò non esclude che nella maggior parte dei casi un carattere favorito dalla selezione naturale è non dannoso per la fitness individuale.

Queste idee generali non sono del tutto nuove nel concetto darwiniano di evoluzione, come appare da quanto dice lo stesso Darwin: “Una tribù che include molti membri che ... fossero sempre pronti ad aiutarsi l'uno con l'altro, e a sacrificare se stessi per il bene comune, sarebbe per lo più vittoriosa contro altre tribù; e questo sarebbe selezione naturale.” [Darwin 1871]

Inoltre, l'idea di un sacrificio individuale per il bene comune è vecchia come la civilizzazione umana e fu anche espressa da una mente filosofica in termini che in qualche modo anticipano il darwinismo, come già evidenziato in un recente convegno:

“Schopenhauer scrisse: *L'individuo non è ... solo esposto alla distruzione in mille modi differenti e per i più insignificanti accidenti, ma è anche destinato a ciò e vi è condotto dalla stessa natura, allorché l'individuo ha tutelato il mantenimento della specie* [Schopenhauer 1819]. Oggi quest'affermazione necessita solo di una precisazione, vale a dire il termine 'specie' dovrebbe essere rimpiazzato con il concetto di 'programma genetico inerente alla specie'. Di regola gli interessi dell'individuo coincidono con quelli del programma genetico, i quali richiedono che l'individuo esista, si moltiplichi ed evolva. Ma in certi casi vi è contrasto tra i due tipi di interesse, e di conseguenza il programma genetico forza l'individuo a operare in un modo che è controproducente per se stesso. In casi estremi ... esso favorisce l'eliminazione, invece che la sopravvivenza di un individuo.” [Skulachev 2010]

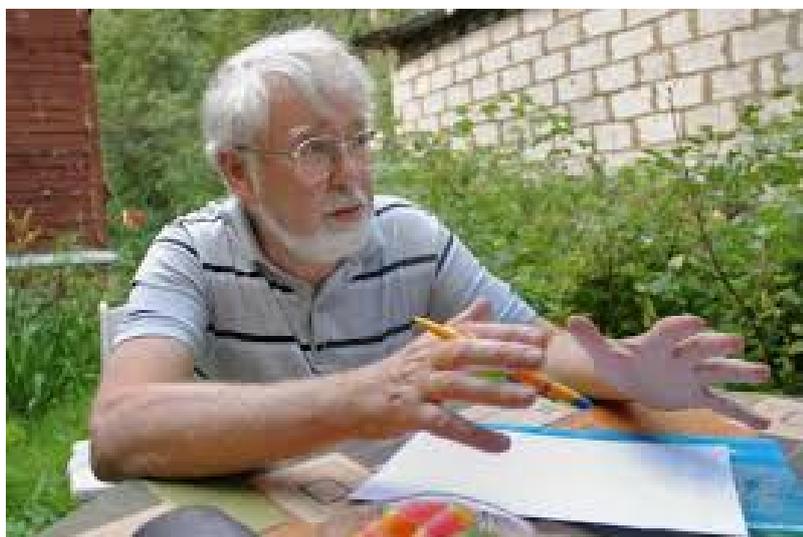


Figura 1 - Il prof. Vladimir Skulachev.

Definizione di “fenoptosi”

E' incredibile che fino a pochi anni orsono, vale a dire fino alla proposta del neologismo “fenoptosi” da parte di Skulachev (Figura 1) nel 1997 [Skulachev 1997, 1999a], nell'immenso vocabolario scientifico, non vi era alcun termine indicante la morte di un individuo - quando non determinata da accidenti o malattie - come un evento provocato da particolari meccanismi geneticamente regolati, vale a dire programmati, e pertanto in qualche modo favoriti dalla selezione naturale.

Ciò è anche più strano se si considera che, da molti anni prima del 1997, innumerevoli casi di individui morenti per effetto di meccanismi chiaramente programmati erano conosciuti sia nel mondo vegetale che in quello animale. Ad esempio, nel monumentale e assai ben documentato

testo di Finch del 1990 [Finch 1990], un intero lungo capitolo è dedicato alla “Rapida senescenza e improvvisa morte”, ma l’Autore non considerò necessario coniare un nome specifico per questo frequente tipo di eventi.

E’ anche vero che, relativamente solo pochi anni prima, vi era stata la descrizione dell’apoptosi [Kerr et al. 1972], vale a dire la morte di una cellula non causata da accidenti ma come fenomeno geneticamente programmato e avente un insieme di funzioni, cioè un fenomeno adattativo (Successivamente, altre forme di “morte cellulare programmata” sono state definite e studiate, ma questo è un argomento al di là dello scopo di queste pagine). Inoltre, la descrizione di un tipo di morte cellulare programmata nei procarioti (la “proapoptosi” [Hochman 1997]) e la definizione della morte programmata di un mitocondrio (“mitoptosi”, [Skulachev 1999b]) sono stati ancora più recenti.

In realtà occorre che sia considerata la resistenza scientifica e culturale ad accettare completamente il concetto che la selezione naturale per un carattere può portare anche a fenomeni in cui è favorita la morte dell’individuo che manifesta il carattere: apparentemente questo è l’esatto contrario del concetto cardine del darwinismo, vale a dire che la selezione naturale favorisce tutto ciò che è utile per la sopravvivenza e la riproduzione di un individuo, mentre ciò che è dannoso per la sopravvivenza e la riproduzione è contrastato.

Comunque, al di là di queste considerazioni, nella definizione originale di Skulachev, “La fenoptosi” è “la morte programmata di un individuo” [Skulachev 1999a]. Il termine fu coniato in analogia con apoptosi, mitoptosi e proapoptosi. Il successivo termine “organoptosi” [Skulachev 2003] fu coniato in analogia con gli stessi.

Una più dettagliata definizione del concetto è come segue:

“La fenoptosi è la morte di un individuo causata dalle sue stesse azioni o per azioni di parenti stretti (in particolare, la morte causata da un genitore di una parte della prole, o infanticidio filiale) e non causata primariamente da accidenti o malattie o fattori esterni, che è determinata, regolata o influenzata da geni favoriti dalla selezione naturale. ”

La fenoptosi non può essere giustificata in termini di selezione individuale e richiede sempre una giustificazione in termini di selezione sovraindividuale. Al contrario, un tipo di morte senza alcuna spiegazione in termini di selezione sovraindividuale deve avere specifici determinanti non selettivi.

Come considerazioni parallele:

- a) L'apoptosi in organismi monocellulari e la proapoptosi nei procarioti, quando questi fenomeni hanno un significato adattativo, sono sinonimi di fenoptosi relativamente agli individui uccisi da questi fenomeni;
- b) In tutte le sue funzioni negli eucarioti multicellulari, l'apoptosi e altre forme di morte cellulare programmata possono essere considerate come fenomeni analoghi o, meglio, come un'evoluzione della morte di un individuo unicellulare in un clone dove la riproduzione è riservata a individui specializzati. Inoltre, è possibile un'analogia con il sacrificio di un individuo in una specie eusociale, dove la riproduzione è riservata a pochi individui.
- c) L'organoptosi è la morte organizzata di molte cellule per apoptosi nello stesso organo e dovrebbe essere considerata non un fenomeno differente ma solo come una manifestazione coordinata fra più cellule dell'apoptosi;
- d) Al contrario, la mitoptosi è un fenomeno simile ma differente, e dovrebbe essere analizzato nel difficile contesto evuzionistico delle interazioni tra un ospite complesso (l'eucariota multicellulare) e i cloni di simbionti (i mitocondri in ciascuna cellula).

Classificazione dei fenomeni fenoptotici

E' possibile proporre una classificazione dei fenomeni fenoptotici.

Il suo scopo non è la definizione di confini arbitrari fra tipi e sottotipi del fenomeno, bensì quello di evidenziare diversi tipi di fenoptosi che in generale richiedono differenti spiegazioni in termini di selezione naturale.

Al termine della classificazione dei fenomeni fenoptotici, si esporrà il caso dell'assenza della fenoptosi lenta come ultima diversa categoria.

A) Fenoptosi obbligatoria e rapida

A-1) *Correlata con il ciclo riproduttivo;*

A-2) *Causata in generale da caratteristiche del ciclo vitale;*

B) Fenoptosi obbligatoria e lenta

B-1) *Probabilità crescente di apoptosi in funzione del numero di duplicazioni in eucarioti monocellulari;*

B-2) *Mortalità crescente in correlazione con l'età in eucarioti multicellulari;*

C) Fenoptosi opzionale

C-1) *Determinata da meccanismi biochimici;*

C-2) *Determinata da meccanismi comportamentali;*

D) Fenoptosi indiretta

D-1) *Determinata da meccanismi biochimici;*

D-2) *Determinata da meccanismi comportamentali;*

e, al contrario:

E) Assenza di fenoptosi

E-1) *Con tasso di mortalità costante e alto;*

E-2) *Con tasso di mortalità costante e piccolo o moderato;*

E-2) *Con tasso di mortalità decrescente in funzione dell'età.*

A) Fenoptosi obbligatoria e rapida

Definizione

La fenoptosi è definita come obbligatoria e rapida quando di regola accade in tutti gli individui di una specie in un tempo relativamente breve.

Questo tipo di fenoptosi è nell'ambito dei fenomeni definiti da Finch come "Rapida senescenza e morte improvvisa" [Finch 1990]. In alcuni casi di semelparità e rapida senescenza, il fenomeno è attivato da particolari segnali ambientali o fisiologici [Finch 1990], ma ciò è solo una modulazione temporale di un ciclo di vita prestabilito e non una forma di fenoptosi opzionale (si veda dopo). Il concetto di fenoptosi rapida non implica una breve durata della vita. Ad esempio: "Varie specie di bambù con il fusto spesso (*Phyllostachys*) hanno fasi prolungate di crescita vegetativa che perdurano per molti anni o decenni (7, 30, 60, o 120 anni) a seconda della specie, prima di fiorire all'improvviso e morire ..." [Finch 1990]

Sottotipi

A-1) *Correlata con il ciclo riproduttivo*

Esempi:

- Semelparità e morte improvvisa dopo la riproduzione in molte specie di Salmoniformi e Anguilliformi, in alcune specie di marsupiali dasyuridi e di roditori, in molte specie di piante, in particolare angiosperme monocarpiche [Finch 1990]. A riguardo Finch dichiara: "Molti botanici sottolineano che la senescenza delle piante è un processo ordinato e attivo (Leopold, 1961; Noodén, 1988a, 1988b, 1988c)" [Finch 1990];

- Nel matricidio endotochico, che è la morte della madre come risultato obbligatorio della nascita e che si presenta in alcuni invertebrati, "I piccoli uccidono la loro madre passando attraverso le pareti del suo corpo" o cannibalizzando il suo corpo [Finch 1990].

A-2) *Causata in generale da caratteristiche del ciclo vitale*

Esempi:

- L'afagia negli insetti adulti: "L'afagia causata da parti difettive dell'apparato buccale o degli organi digestivi è molto comune durante le

fasi adulte degli insetti (Weismann, 1889b; Metchnikoff, 1915; Norris, 1934; Brues, 1946; Wigglesworth, 1972; Dunlap-Pianka et al., 1977) ed è *il* fattore limitante della durata della vita degli adulti in molte specie con breve longevità. Questo fenomeno è, senza alcun dubbio, senescenza programmata ...” [Finch 1990];

- La mancanza di parti anatomiche nei maschi dei rotiferi [Finch 1990].

B) Fenotipi obbligatoria e lenta (o, in breve, fenotipi lenta)

Definizione

La fenotipi è definita come obbligatoria e lenta quando è caratterizzata da una probabilità di morte crescente in modo progressivo in correlazione con l'età, vale a dire una fitness progressivamente decrescente. L'espressione “fenotipi lenta”, in relazione alla mortalità crescente in relazione all'età mostrata da molte specie, fu proposta da Skulachev [Skulachev 2002b, 2010].

Sottotipi

B-1) *Probabilità crescente di apoptosi in funzione del numero di duplicazioni in eucarioti monocellulari*

Esempi:

- Nelle cellule della linea madre del lievito, la morte per apoptosi segue una dinamica esponenziale in relazione al numero di duplicazioni [Laun et al. 2007] che è analoga all'incremento del tasso di mortalità in relazione all'età di molti eucarioti multicellulari. Nella classificazione dei fenomeni di senescenza di Finch [Finch 1990], questo sottotipo di fenotipi è riportato nel capitolo “Rapida senescenza e morte improvvisa”, sezione “Rapida senescenza e morte improvvisa correlata con la riproduzione”, poiché le morti sono correlate alle duplicazioni relative alla riproduzione nelle cellule della linea madre.

Il fenomeno è stato ipotizzato come adattativo [Büttner et al. 2006]: “l'apoptosi unita all'invecchiamento cronologico e replicativo limita la longevità che manterrebbe varianti genetiche antiche nella popolazione e di conseguenza favorirebbe il conservatorismo genetico.”

Lewis contesta questa interpretazione [Lewis 2000] con l'argomento che una cellula di lievito della linea madre muore per apoptosi dopo n duplicazioni ($n = 25-35$ in condizioni di laboratorio [Jazwinski 1993]) e che la morte di un singolo individuo tra $2^n = 10^7-10^{10}$ discendenti è irrilevante per qualsiasi ipotesi che voglia considerare il fenomeno come qualcosa di favorito dalla selezione naturale. Contro quest'argomentazione: è

importante non la morte di un singolo individuo tra innumerevoli discendenti, ma la probabilità di apoptosi che cresce progressivamente in misura esponenziale, la quale causa un più rapido susseguirsi delle generazioni e contrasta il “conservatorismo genetico” menzionato da Büttner et al.

B-2) *Mortalità crescente in correlazione con l'età in eucarioti multicellulari*

Esempi:

- Molte specie di eucarioti pluricellulari mostrano un “incremento della mortalità con il crescere dell'età cronologica allo stato selvatico” [Libertini 2006, 2008], definita in breve “IMICAW” dall'acronimo di tale definizione in inglese [Libertini 1988], anche detta “senescenza attuariale” [Holmes e Austad 1995] o “declino della fitness correlata con l'età allo stato selvatico” [Libertini 2009a], o descritta come “Senescenza graduale con durata della vita definita” [Finch 1990].

Le prime tre definizioni sono descrittive e non implicano alcuna spiegazione del fenomeno. Al contrario, in base al significato abituale attribuito al termine senescenza/invecchiamento, vale a dire l'inevitabile deterioramento correlato con l'età di ogni cosa, sia animata che inanimata, la definizione di Finch sembra significare, intenzionalmente o no, un graduale inevitabile deterioramento causato da fattori non determinati dalla selezione naturale. Altresì, la definizione “fenoptosi lenta” usata in questa classificazione presume un vantaggio selettivo per il fenomeno, come sottolineato nella sezione Definizione di “fenoptosi”.

Vi sono alcuni fatti da ricordare:

a) Il progressivo declino della fitness in relazione all'età è ben documentato in condizioni naturali. Sulla base dei dati di Ricklefs [Ricklefs 1998] è possibile definire le tabelle di sopravvivenza per molti animali in condizioni naturali (v. Figura 2): poiché questo fenomeno esiste in condizioni naturali, esso è soggetto alla selezione naturale e pertanto necessita di una spiegazione basata sulle pressioni selettive, positive e negative, a livello individuale e sovraindividuale, a cui è sottoposto;

b) Allo stato selvatico, gli individui più anziani, che mostrano i segni marcati di ciò che comunemente è chiamata vecchiaia, sono rari o, nelle loro espressioni più estreme, inesistenti; ma questo fatto non contraddice l'esistenza allo stato selvatico dell'incremento di mortalità correlato con l'età;

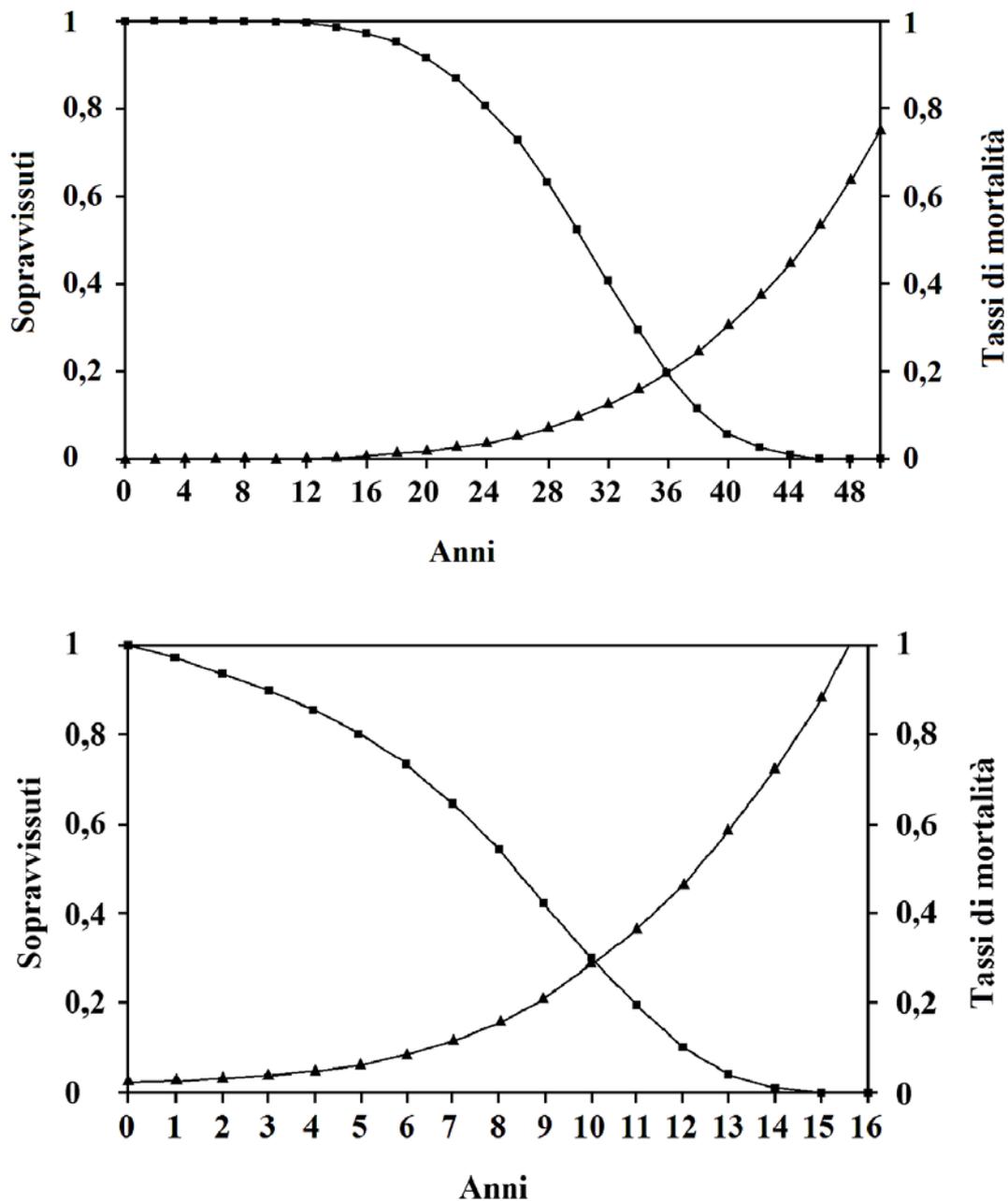


Figura 2 – Curve di sopravvivenza e tassi di mortalità allo stato naturale dell'ippopotamo (*Hippopotamus amphibius*, sopra) e del leone (*Panthera leo*, sotto); dati da Ricklefs [Ricklefs 1998].

c) A riguardo del fenomeno, è stato osservato che esso non può essere spiegato dalla selezione naturale in quanto è certamente dannoso per le capacità di sopravvivenza e di riproduzione dell'individuo che lo presenta [Kirkwood e Austad 2000]. Questa considerazione è inaccettabile in quanto trascura possibili spiegazioni basate su forme sovraindividuali di selezione.

C) Fenoptosi opzionale

Definizione

La fenoptosi è definita come opzionale quando è attivata solo in particolari condizioni sulla base di meccanismi geneticamente determinati che favoriscono oppure rendono obbligatorio il fenomeno.

Sottotipi

C-1) *Determinata da meccanismi biochimici*

La fenoptosi è attivata solo in particolari condizioni in cui comporta un vantaggio per individui dello stesso gruppo/deme/tribù (verosimilmente consanguinei) o dello stesso clone (per definizione consanguinei).

Esempi:

- Proapoptosi negli eubatteri, come ad esempio:

a) suicidio di massa del fitoplancton batterico come difesa contro i virus [Lane 2008]. In particolare, “Poiché la massima parte degli individui del plancton in una fioritura sono quasi identici geneticamente, dal punto di vista dei loro geni, una moria che crea abbastanza terreno bruciato da bloccare l'avanzata di un virus può avere una logica” [Lane 2008];

b) suicidio batterico scatenato dall'infezione di fagi, “in tal modo stroncando la moltiplicazione virale e proteggendo dall'infezione i vicini *E. coli*” [Raff 1998];

c) il “modulo di suicidio incorporato” attivato dagli antibiotici in *E. coli* [Engelberg-Kulka et al. 2004] e in altri batteri [Lewis 2000].

La morte cellulare programmata nei procarioti è stata definita come “proapoptosi” e ipotizzata come precursore filogenetico dell'apoptosi degli eucarioti [Hochman 1997], con cui condivide varie caratteristiche [Koonin e Aravind 2002]. E' stato evidenziato che questo tipo di fenomeni è geneticamente determinato e programmato [Lewis 2000; Skulachev 2003].

- Apoptosi negli eucarioti monocellulari

Nel lievito, un individuo, composto di una singola cellula, si divide in una cellula madre e una cellula figlia. Per le cellule della linea madre, in relazione al numero di duplicazioni, vi è una crescente vulnerabilità all'apoptosi [Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008; Herker et al. 2004; Laun e tal. 2001] e l'incremento del tasso di mortalità segue una dinamica esponenziale [Laun et al. 2007]. In combinazione con questa crescente propensione all'apoptosi, il fenomeno è attivato da: a) insuccesso nell'accoppiamento [Büttner et al. 2006]; b) scarsità dei nutrienti [Granot e tal. 2003]; c) alterazioni chimiche [Madeo et al. 1999].

I frammenti cellulari degli individui morti per apoptosi non danneggiano le cellule vicine e sono utilmente fagocitati da esse che, di conseguenza,

“sono capaci di sopravvivere più a lungo con le sostanze rilasciate dalle cellule morenti” [Herker et al. 2004].

L'apoptosi del lievito è interpretata come adattativa essendo utile per la sopravvivenza del clone, verosimilmente composto di individui imparentati [Skulachev 1999b, 2002a, 2003; Herker et al. 2004; Fabrizio et al. 2004; Longo et al. 2005; Skulachev e Longo 2005; Mitteldorf 2006]. Al contrario, l'apoptosi attivata da tossine secrete da tribù di lievito in competizione [Büttner et al. 2006], non è adattativa per la tribù attaccata e chiaramente significa uno sfruttamento dei meccanismi apoptotici da parte degli assalitori.

C-2) *Determinata da meccanismi comportamentali*

In particolari condizioni, la selezione favorisce comportamenti che sono rischiosi o mortali per gli individui che li manifestano, ma che aumentano le probabilità di sopravvivenza di individui consanguinei.

Il termine “comportamenti” significa che i meccanismi richiedono l'azione di un sistema nervoso, con o senza l'azione di istinti e/o intelligenza e/o consapevolezza, comunque essi siano definiti o concepiti. Il termine non implica che le funzioni del sistema nervoso non sono basate su oppure influenzate da meccanismi biochimici, ormoni inclusi.

Esempi:

- Comportamenti altruistici e mortali/potenzialmente mortali negli invertebrati

Sacrifici individuali in specie di insetti eusociali (formiche, api, termiti, etc.) sono ben conosciuti [Wilson 1975].

- Comportamenti altruistici e mortali/potenzialmente mortali nei vertebrati

Comportamenti altruistici che mettono in pericolo la propria sopravvivenza a beneficio di altri sono comuni nelle specie di vertebrati con organizzazione sociale. Ad esempio, con grande rischio individuale, i maschi dominanti di due specie di babbuini, *Papio cynocephalus* [Altmann e Altmann 1970] e *Papio ursinus* [Hall 1960] si collocano nelle posizioni più esposte per difendere il loro branco dai predatori.

Per varie specie di uccelli, vi sono comportamenti mostrati dai genitori per distrarre l'attenzione dei predatori, con grande rischio individuale, per salvare la progenie minacciata [Armstrong 1947; Brown 1962; Gramza 1967].

- Comportamenti altruistici e mortali/potenzialmente mortali nell'uomo

Vi sono innumerevoli casi in cui uno o più individui sacrificano la loro vita, o almeno la mettono in serio pericolo, per salvare la vita di altri. Quando un uomo compie tali atti di sacrificio, ciò è abitualmente attribuito

alla scelta dell'individuo, come espressione di libera volontà, e non a meccanismi determinati da geni, poiché questa seconda interpretazione sarebbe in effetti una negazione del cosiddetto libero arbitrio. La questione diventa religiosa e filosofica e qualsiasi valore scientifico è perso. Comunque, una plausibile tesi scientifica è che, per i comportamenti sociali sia dei vertebrati che dell'uomo, non vi sono geni che determinano rigidamente particolari comportamenti in specifiche condizioni, ma che particolari combinazioni di geni determinano uno sviluppo neuroendocrino (o in qualsiasi modo sia corretto descriverlo) che in certe condizioni tende a favorire determinati tipi di reazione o di strategie.

Ad esempio, in una condizione di imminente pericolo, alcuni moriranno tentando di salvare quelli che sono a loro vicini, altri fuggiranno nel tentativo di salvare le loro vite, perfino se ciò compromette le possibilità di sopravvivenza di altri. La scelta tra queste due opposte strategie è anche fortemente influenzata dal grado di consanguineità fra l'individuo che deve scegliere la strategia e le persone la cui sopravvivenza è minacciata: è molto verosimile che la prima strategia sia scelta se sono minacciati dei figli e meno verosimile che ciò avvenga se sono in pericolo persone estranee.

Negli animali, analoghi comportamenti sono interpretati come determinati dagli istinti, vale a dire è riconosciuto che in qualche modo il comportamento è stato modellato dalla selezione naturale. Negli esseri umani, nel riconoscere che in larga parte essi sono determinati da atti di volontà, sarebbe obiettivo ammettere che vi sono componenti istintive forgiate dalla selezione naturale così come per gli animali. Inoltre, volendo essere più rigorosi, per la parte che è determinata dalla volontà, forse non è sbagliato argomentare che l'intelligenza, la coscienza, la volontà, e tutte quelle caratteristiche che in qualche modo ci differenziano da altre specie evolutivamente vicine, siano un risultato della selezione naturale e pertanto, sebbene più indirettamente, siano state modellate da analoghe pressioni selettive.

D) Fenoptosi indiretta

Definizione

La fenoptosi è indiretta quando, in particolari condizioni, vi è la morte di un individuo causata da un suo stretto consanguineo, in particolare il caso della morte della progenie causata dal genitore.

Sottotipi

D-1) *Determinata da meccanismi biochimici*

Esempi:

- Nel topo, un nuovo compagno di una femmina uccide la prole appena nata e quindi appartenente al precedente partner. Pertanto, quando vi è un nuovo compagno, una femmina abortisce i suoi feti. Ciò è interpretato come adattativo poiché fa risparmiare alla madre tempo ed energia, in base alla prevedibile uccisione dei neonati dopo la nascita [Bruce 1959].

- Nei vertebrati, è indispensabile che il sistema immunitario discrimini tra gli antigeni di ciascun individuo ospite e quelli dei parassiti, i quali cercano di superare le difese immunologiche usando per i loro rivestimenti proteici con la stessa antigenicità delle proteine dell'ospite (mimetismo antigenico). La difesa dell'ospite contro il mimetismo antigenico è l'aver la massima variabilità interindividuale delle formule antigeniche in modo che risulti impossibile un mimetismo adatto a infettare tutti i potenziali ospiti. Il maggiore complesso di istocompatibilità (MHC) è il principale strumento mediante il quale l'organismo ospite ottiene una straordinaria variabilità antigenica. Le differenze tra le formule antigeniche dell'ospite e del parassita conferiscono maggiore resistenza alle infezioni mentre le similarità accrescono la suscettibilità. Le correlazioni tra specifici alleli umani del sistema MHC e la resistenza o la suscettibilità a molte infezioni, o malattie legate a infezioni, sono ben documentate [Lechler e Warrens 2000; Shiina et al. 2004].

Poiché la migliore prole è quella con la maggiore variabilità antigenica, la scelta del partner in funzione dell'antigenicità MHC e la selezione dopo il concepimento cercano di ottenere questo risultato. Il primo mezzo è largamente diffuso in natura ed è documentato per molti gruppi di vertebrati [Slev et al. 2006], e anche per la nostra specie: a) Le studentesse di un collegio valutavano gli odori di uomini con differenti antigeni MHC come 'più piacevoli' rispetto a quelli di uomini con simili antigeni MHC [Wedekind et al. 1995; Wedekind e Furi 1997]; b) In una comunità isolata ed etnicamente omogenea, significativamente meno coppie furono osservate accoppiarsi avendo simili alleli MHC di 16 loci [Ober et al. 1997; Ober, Weitkamp e Cox 1999].

Nel secondo caso, anche definito 'scelta criptica della femmina' [Loisel et al. 2008], aborti spontanei e non patologici eliminano la prole con meno variabilità antigenica e quindi con ridotta fitness futura a causa della ridotta resistenza potenziale a malattie infettive [Apanius et al. 1997]. La selezione dopo il concepimento è ben documentata negli animali [Tregenza e Wedell 2000]. Uno studio su soggetti della nostra specie documentò un eccesso di

eterozigosi per il sistema MHC nei neonati maschi [Dorak et al. 2002]. Molti studi su una comunità etnicamente omogenea e isolata hanno documentato che le coppie con alleli HLA-DR condivisi nei confronti con coppie che non dividevano gli stessi alleli hanno: 1) significativamente meno bambini [Ober e van der Ven 1997]; 2) un maggiore intervallo tra le gravidanze [Ober 1992]; 3) un maggiore tasso di aborti [Ober et al. 1998].

- "... le ecografie delle donne nel primo trimestre di gravidanza rivelano che i gemelli sono concepiti da due a quattro volte più di frequente di quanto si presentino alla nascita; nella maggioranza dei casi il più piccolo dei due feti scompare entro il terzo trimestre e a quanto pare è riassorbito dalla madre (Robinson e Caines, 1977; Varma, 1979)." [Hausfater e Hrdy 1984]. Il fenomeno (il "gemello che scompare", riconsiderato nel 1998 [Landy e Keith 1998]) dovrebbe essere valutato considerando che uno dei comuni determinanti dell'infanticidio filiale (si veda dopo) è la nascita di gemelli poiché la scarsità di risorse non permette di far crescere con successo due bambini allo stesso tempo.

D-2) *Determinata da meccanismi comportamentali*

Per il significato attribuito al termine "comportamento", si veda il sottotipo C-2.

L'infanticidio filiale è l'uccisione di un piccolo da parte dei suoi stessi genitori.

Esempi:

- Per la nostra specie, l'abbandono di neonati sani o l'infanticidio diretto di un figlio quando le risorse risultano insufficienti sono comportamenti antichissimi e largamente diffusi [Scrimshaw 1984]. La plausibile interpretazione evuzionistica di queste azioni, che sono presenti anche nelle società moderne, è che la progenie con ridotte possibilità di sopravvivenza sottrae preziose risorse ai genitori e ad altri individui consanguinei [Eaton, Shostak e Konner 1988].

- Negli animali, l'infanticidio filiale è largamente diffuso e spesso si associa a cannibalismo [Hausfater e Hrdy 1984].

E) Assenza di fenoptosi

Definizione

In assenza di altre forme di fenoptosi, la fenoptosi lenta è per definizione assente quando nella condizione selvatica il tasso di mortalità non cresce in relazione all'età.

Sottotipi

E-1) *Con tasso di mortalità costante e alto*

In questo caso, che è molto comune tra gli insetti e molti altri invertebrati, come ad esempio il famoso *C. elegans*, allo stato selvatico la mortalità è così alta che è rara o praticamente inesistente la possibilità che un individuo raggiunga le età in cui, in condizioni protette di laboratorio, è possibile osservare un progressivo incremento della mortalità [Finch 1990]. Questa “crescente mortalità con crescente età cronologica in cattività” (definita IMICAC dalle iniziali della definizione in inglese [Libertini 1988]) è chiaramente differente dal fenomeno IMICAW in quanto, essendo per definizione inesistente in condizioni naturali, non può essere influenzata dalla selezione naturale, mentre il contrario è vero per l’IMICAW. Comunque, poiché per queste specie non vi è quasi alcun ricambio cellulare, né capacità di riparare parti del loro corpo che sono consumate o danneggiate, potrebbe discutersi se le caratteristiche del loro ciclo vitale dovrebbero essere classificate nell’ambito della categoria “A) Fenoptosi obbligatoria e rapida”, sottotipo “A-2) *Derivante in generale da caratteristiche del ciclo vitale*”. Nel suo testo [Finch 1990], Finch scelse di classificare questi fenomeni all’interno della categoria “Rapida senescenza e morte improvvisa” ma è necessario sottolineare che molte delle osservazioni che riporta sono riferite a età esistenti solo in condizioni di laboratorio. Volendo un’esatta osservanza dei criteri di classificazione di questo lavoro, che si riferiscono al fenomeno fenoptosi e non alla senescenza nel suo ampio significato usato nel testo di Finch, se per una specie la morte derivante da un inesistente ricambio cellulare oppure da usura o danno meccanico non riparato, accade in condizioni naturali (almeno in una percentuale non minima), dovremmo scegliere la classificazione nel sottotipo A-2, poiché in questo caso è una parte programmata del ciclo vitale, essendo direttamente influenzata dalla selezione naturale. Al contrario, se la morte per le anzidette cause è in pratica solo un fenomeno di laboratorio, la classificazione dovrebbe essere nel presente sottotipo E-1, poiché la morte è dovuta all’assenza di una selezione utile per una vita estesa ad età inesistenti in condizioni naturali. Comunque, la differenza non è importante nella sua essenza. In entrambe le interpretazioni, la selezione naturale non può agire o non agisce per una maggiore durata della vita, ad esempio favorendo meccanismi di ricambio cellulare o di riparazione delle parti usurate o danneggiate, poiché il ciclo vitale è tale che una maggiore durata della vita non implica alcun vantaggio.

E-2) *Con tasso di mortalità costante e piccolo o moderato*

Finch fornisce un'ampia rassegna di animali e piante per i quali in condizioni naturali un declino della fitness correlato con l'età, vale a dire una crescente mortalità, non si osserva. Questa condizione è definita come "senescenza non rilevabile" [Finch 1990], cioè l'assenza di segni dell'invecchiamento che siano osservabili o presenti in misura statisticamente significativa. L'assenza di una mortalità crescente in correlazione con l'età non significa per una specie che gli individui che la compongono sono immortali. Dopo un certo tempo t , in funzione del tasso di mortalità ambientale o estrinseco, la probabilità che un individuo sia ancora vivo diventa minima o irrilevante. Inoltre, da quel tempo t , per definizione la selezione naturale non può avere alcun effetto ed è quindi impossibile che un ipotetico evento dannoso agente dopo l'età t favorisca lo sviluppo di un carattere che contrasti il danno.

Per i sostenitori dell'idea che l'invecchiamento è qualcosa di inevitabile, ciò è interpretato come una conferma dell'idea. Per i sostenitori dell'idea opposta che l'invecchiamento è qualcosa di geneticamente programmato, il fenomeno del decadimento delle funzioni per specie che non mostrano tale declino a età esistenti allo stato selvatico e che poi mostrano il declino a età successive esistenti solo in condizioni di cattività, è indicato con un nome specifico (IMICAC) e non è confuso con il fenomeno IMICAW [Libertini 1988].

E-3) *Con tasso di mortalità decrescente in funzione dell'età*

Il fenomeno per cui il tasso di mortalità decresce con l'età, anche definito "senescenza negativa" [Vaupel et al. 2004], è mostrato da alcune specie per le quali non vi è alcun declino delle funzioni correlato con l'età e, al contrario, altri fattori, come un corpo di maggiori dimensioni man mano che l'età aumenta, causano una ridotta predazione e pertanto un tasso di mortalità che cala con l'età.

La definizione "senescenza negativa" è fuorviante, in quanto si potrebbe intendere come un qualcosa che è inverso all'invecchiamento. In effetti, è un caso in cui vi è una mortalità costante, piccola o moderata (sottotipo E-2) con l'aggiunta di una riduzione della mortalità dovuta a fattori esterni quali una ridotta predazione. Pertanto il sottotipo E-3 dovrebbe essere considerato solo una variante del precedente sottotipo.

Manifestazioni di più tipi di fenoptosi nella stessa specie

Un singolo individuo può morire solo una volta, ma i molti individui di una specie possono morire secondo più di un tipo di fenoptosi, in quanto non vi

è alcun motivo per il quale molteplici tipi di fenoptosi non possano coesistere in una singola specie.

In particolare, limitando come esempio la discussione alla nostra specie, siamo soggetti a (i) fenoptosi opzionale (sottotipo C-2: *Determinata da meccanismi comportamentali*); (ii) fenoptosi lenta (sottotipo B-2: *Crescente mortalità correlata con l'età negli eucarioti multicellulari*); (iii) fenoptosi indiretta (sottotipo D-1: *Determinata da meccanismi biochimici*, e D-2: *Determinata da meccanismi comportamentali*).

Inoltre, all'interno del nostro corpo, vi sono innumerevoli casi di fenomeni che sono affini alla fenoptosi: a) ogni giorno, innumerevoli eventi apoptotici per il ricambio delle cellule; b) in casi particolari, mitoptosi (eliminazione di mitocondri); c) nelle fasi morfogenetiche, organoptosi (eliminazione di un organo o di parte di esso); e d) assai verosimilmente, nell'ambito dei miliardi di eubatteri che vivono sulla nostra cute o dentro le nostre cavità, casi di proapoptosi.

Schema generale per lo studio di un fenomeno fenoptotico

Innanzitutto è necessario stabilire se un fenomeno X è entro i limiti della definizione di fenoptosi.

Successivamente, è importante distinguere tra:

- I) Cause primarie, vale a dire i determinanti evolutivisti degli specifici meccanismi genetici favoriti dalla selezione naturale;
- II) Cause secondarie, vale a dire i meccanismi fisiologici che determinano e modulano il fenomeno;
- III) Cause terziarie, e cioè le cause finali della morte.

Ad esempio, negli insetti con afagia, i quali nello stadio adulto difettano di parti dell'apparato buccale o degli organi digestivi e possono sopravvivere solo un tempo limitato, abbiamo: I) i determinanti evolutivisti che favoriscono una condizione così strana (dal nostro punto di vista); II) i meccanismi molecolari, geneticamente determinati e regolati, che causano gli anzidetti difetti; III) la conseguente inedia che conduce a morte.

Infine, è necessario confrontare insieme di specie simili dove la fenoptosi è presente solo in alcune di esse (o, per una singola specie, solo in particolari condizioni), e studiare i determinanti evolutivisti (cause primarie) e fisiologici (cause secondarie) della presenza o assenza del fenomeno.

Ad esempio, nei Salmoniformi, dieci su novanta generi manifestano semelparità seguita da morte mentre gli altri generi mostrano iteroparità [Finch 1990]; *Alosa sapidissima*, una specie di aringhe, mostra semelparità

alle latitudini più basse “mentre l’eteroparità cresce linearmente con il grado di latitudine” [Finch 1990].

Conclusione

La schematica classificazione dei fenomeni fenoptotici esposta in queste pagine non è per niente in competizione per completezza e documentazione con il testo di Finch che tratta ampiamente le innumerevoli varietà di modi secondo i quali gli individui delle varie specie terminano la loro vita [Finch 1990], o con analoghi manuali.

Gli approcci dei due tipi di classificazione sono sostanzialmente differenti e ciò in qualche modo deve essere discusso.

Finch descrive i vari tipi del termine della vita, definendoli come differenti tipi di invecchiamento. E’ implicito in quest’approccio che tutti gli organismi sono considerati come inevitabilmente soggetti a senescenza: il fatto che molte specie di animali e piante non mostrano segni rilevabili di invecchiamento è riportato da Finch, ma non ne è data alcuna spiegazione plausibile e/o generale.

Al contrario, la classificazione esposta in queste pagine è basata sul concetto che ogni fenomeno fenoptotico mostrato da una specie presume un definito vantaggio evolutivo, in quanto senza di esso il fenomeno non potrebbe esistere e dovrebbe pertanto essere applicato il principio generale secondo il quale la selezione naturale favorisce chi è più adatto a sopravvivere.

Nella visione alternativa di queste pagine, la condizione base (“default”) favorita dalla selezione naturale è l’assenza del declino della fitness correlato con l’età, ovviamente nelle età presenti in condizioni naturali, vale a dire quella che Finch chiama “senescenza non rilevabile” ma che più precisamente dovrebbe essere chiamata “assenza della senescenza”: al contrario, la presenza dei fenomeni in conseguenza dei quali la fitness è ridotta, improvvisamente o lentamente, sempre o in particolari condizioni, è necessariamente dovuta a speciali necessità evolutive che in qualche modo giustificano la loro esistenza.

Dovrebbe essere notato che, per la massima parte dei fenomeni fenoptotici, l’interpretazione prevalente del mondo scientifico è che essi sono determinati da specifiche necessità evolutive. L’unica grossa eccezione in questa abituale interpretazione è la fenoptosi lenta mostrata da molti eucarioti multicellulari, vale a dire ciò che comunemente è chiamato invecchiamento. Per questo particolare tipo di eventi, l’opinione prevalente

è che essi sono il risultato di insufficiente selezione a favore di una vita media più lunga.

Pochi e isolati “eretici”, una piccola minoranza, sono sull'opposta posizione - con vari argomenti e in vari modi - sostenendo che la fenoptosi lenta è il risultato attivo della selezione naturale, come per altri tipi di fenoptosi, e non il risultato di insufficiente selezione a favore di una vita media più lunga.

E' ironico e beffardo osservare che questi isolati “eretici” nel più largo contesto delle posizioni scientifiche a riguardo dei fenomeni fenoptotici sono parte di una larga maggioranza e, al contrario, i non “eretici” a riguardo della fenoptosi lenta sono “eretici” nel più ampio contesto della fenoptosi.

Comunque il concetto di fenoptosi ha anche un grande significato pratico. Esso è un punto di svolta da:

- un paradigma in cui la senescenza è considerata un fenomeno non fisiologico, l'effetto della sommatoria di molte differenti forme di decadimento e usura, in breve semplicemente un nome sopra una congerie di vari processi incontrollabili,
- a un nuovo paradigma per il quale l'invecchiamento è determinato e regolato da geni, ha un significato evolucionistico, meccanismi fisiologici e correlazioni filogenetiche, ed è una particolare espressione di una più ampia categoria di fenomeni, riassunti nel nome fenoptosi, che ha un'importanza centrale in biologia e merita le ricerche più attente.

Capitolo IV

Fenoptosi, un altro neologismo specialistico, o il segnale di una rivoluzione globale?

Riassunto

L'approccio classico dell'evoluzionismo è basato sul concetto della sopravvivenza degli individui più adatti a sopravvivere e riprodursi. Una mole crescente di dati indica che la selezione naturale spesso opera mediante meccanismi sovraindividuali che favoriscono azioni e geni dannosi per l'individuo o per la progenie. I casi più eclatanti sono quelli in cui un individuo uccide se stesso o la sua prole mediante azioni determinate o favorite da geni.

Il neologismo "fenoptosi" descrive questi eventi e implica che essi non sono anomalie evoluzionistiche ma fenomeni fisiologici determinati dalla selezione naturale.

Il tipo di fenoptosi che per noi è più importante e familiare, vale a dire l'invecchiamento, anche definito "fenoptosi lenta", attualmente è considerato un evento inevitabile e scarsamente modificabile. Questa differente interpretazione lo trasforma in una funzione che, in quanto tale, in linea di principio è modificabile e controllabile.

Forse il neologismo "fenoptosi" rappresenterà, insieme con il termine selezione sovraindividuale, il segnale di un vitale arricchimento dell'evoluzionismo, concepito in termini più ampi in cui la selezione individuale è solo un caso particolare, e sarà considerato come il marchio e il modello per l'inizio di una nuova era.

Nella formulazione classica del darwinismo, l'evoluzione deriva dalla sopravvivenza del più adatto a sopravvivere e riprodursi. Chiaramente questo è un concetto basato fondamentalmente sulla selezione a livello individuale.

Ma, fin dalla sua iniziale concezione, era impossibile l'idea di selezione solo a livello individuale. Infatti, la riproduzione necessariamente richiede azioni che coinvolgono due genitori – o almeno uno nei casi di partenogenesi – e uno o più piccoli, e anche solo con due individui coinvolti la selezione non è più riguardante un solo individuo. Come esempio banale, una madre che allatta un neonato sottrae risorse a se stessa per permettere la sopravvivenza del piccolo, e dovrebbe limitare questa perdita di risorse per aumentare le sue possibilità di sopravvivenza e di

futura riproduzione, mentre il piccolo ha opposte necessità. Un rimedio semplicistico è considerare la prole come un'estensione genetica dell'individuo, che rimane l'oggetto della selezione, e il problema sembra risolto, almeno con qualche forzatura.

Comunque la situazione diventa rapidamente assai più complessa, con conseguenze alquanto sconcertanti persino per casi apparentemente assai semplici. Consideriamo l'aquila nera (*Aquila verreauxii*) (Figura 1 A) che può nutrire e far crescere solo un pulcino per volta, in quanto le difficoltà di trovare cibo per due o più piccoli causerebbe la morte di tutta la progenie. In una valutazione affrettata, l'azione più logica - in termini evolutivisti - può sembrare il deporre un singolo uovo e fornire il meglio della nutrizione e delle possibilità di sopravvivenza solo a quel singolo uovo e al successivo piccolo che ne esce. Ma l'uccello depone due uova e una di quelle, a quanto pare per puro caso, si schiude prima dell'altra. Il piccolo che nasce per primo uccide il fratello con colpi alla faccia e al corpo finché questi non giace inerte o morto, il tutto senza che la madre cerchi in alcun modo di fermarlo [Gargett 1990]. Questo comportamento sembra strano e crudele senza che ve ne sia alcuna necessità, ma ha la sua logica. Il secondo uovo ha una funzione di riserva: è utile nei casi in cui il primo uovo non si schiude o nei casi in cui il primo nato è incapace di attaccare o difendersi. L'eliminazione dell'altro piccolo della covata è essenziale per la sopravvivenza del primo. L'apparente spreco di risorse e la crudeltà dell'azione possono essere giustificati in termini evolutivisti solo facendo ricorso a meccanismi sovraindividuali.

Questa evenienza non è limitata alle aquile nere o anche agli uccelli come categoria: "Una femmina di panda [*Ailuropoda melanoleuca*] di regola partorisce due gemelli ma ne allatta solo uno. Il secondo è fatto cadere al suolo e lasciato morire ... [Figura 1 B]. In molti uccelli predatori - pellicani, aquile, sule, gru - i germani hanno il ruolo di carnefici. Due uova sono deposte e si schiudono a intervalli insolitamente lunghi per gli uccelli, anche di più giorni. Il primo pulcino che nasce ottiene un rapido vantaggio di taglia e di forza rispetto al suo più giovane germano. Quando il secondo pulcino nasce, esso subisce un inesorabile assalto dal suo fratello o sorella che termina solo quando muore uno dei due, quasi sempre il più giovane" [Forbes 2005]; nel caso dello squalo toro (*Carcharias taurus*), il primo che esce dall'uovo nell'utero materno cerca e uccide tutti i suoi fratelli e sorelle [Gilmore et al. 1983] (Figura 1 C).

Anche la nostra specie è fortemente interessata da questo tipo di fenomeni.

Al menarca, è stato stimato che una donna ha 300,000 cellule uovo (oociti). Ogni mese un gruppo di oociti è stimolato da un ormone (FSH), ma la cellula uovo che per prima raggiunge una certa dimensione elimina tutti gli altri oociti inducendo biochimicamente il loro suicidio mediante apoptosi. Inoltre, nelle prime fasi della formazione dell’embrione, solo a quelle uova fertilizzate senza difetti genetici è permesso l’impianto nelle pareti dell’utero. In altri termini, vi sono molti aborti precoci che in genere non sono riconosciuti come tali. Nelle settimane successive, molti feti sono eliminati perché sono in qualche modo difettosi, o anche soltanto perché fanno parte di una coppia di gemelli: “Le nascite di gemelli sono rare nella specie umana, ma i concepimenti multipli non lo sono. Circa 1 su 8 gravidanze inizia come un concepimento gemellare, ma poche rimangono tali alla nascita; i gemelli costituiscono solo 1 su 80-100 nascite di nati vivi ...” [Forbes 2005] (Figura 1 D).

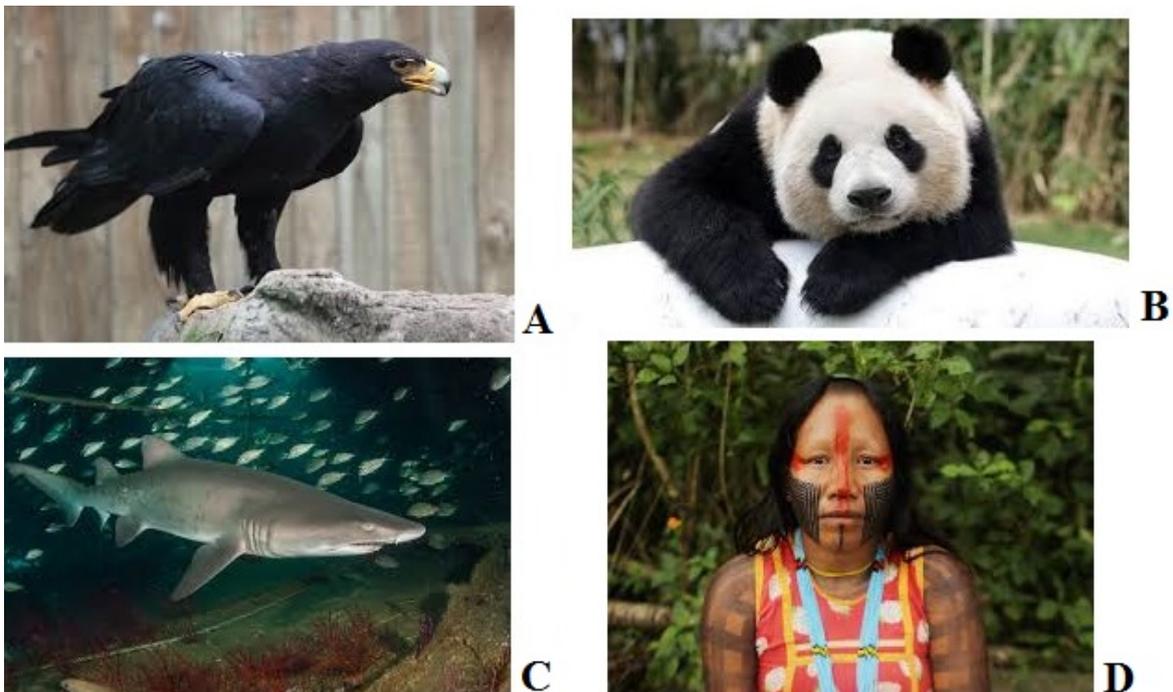


Figura 1 – A: aquila nera (*Aquila verreauxii*); B: panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*); C: squalo toro (*Carcharias taurus*); D = femmina di *Homo sapiens*. Queste quattro specie di vertebrati mostrano tutte fenomeni di fenoptosi caratterizzati dall’eliminazione di parte della progenie.

Altri feti sono eliminati perché hanno scarsa variabilità antigenica che riduce la loro futura resistenza a malattie infettive [Apanius et al. 1997]. L’evidenza empirica di questo fenomeno (‘scelta criptica della femmina’

[Loisel et al. 2008]) fu ben documentata in una comunità isolata [Ober 1992; Ober e van der Ven 1997; Ober et al. 1998].

Dopo la nascita, l'uccisione della prole continua. Nello studio di 60 società primitive, furono descritte 112 condizioni (non singoli casi!) in cui i neonati erano abitualmente uccisi. Vi erano varie motivazioni per queste uccisioni, che comprendevano risorse inadeguate dei genitori (40), neonati deformati o malati (21), o la nascita di due gemelli (14) [Hausfater e Hrdy 1984].

Questo insieme di fenomeni è solo un elemento di una vasta categoria di eventi per i quali la selezione concepita solo in termini individuali è chiaramente inadeguata. Infatti, le innumerevoli forme di organizzazioni in gruppi e di comportamenti sociali a tutti i livelli e di ogni tipo, e in particolare l'elevata organizzazione sociale, o eusocialità, di molte specie di formiche, api e termiti, sono del tutto inspiegabili senza utilizzare meccanismi di selezione sovraindividuale.

In molti casi per spiegare questi fenomeni si è ricercata la giustificazione in benefici a livello di gruppo o persino di specie. Queste argomentazioni furono contestate in generale [Maynard Smith 1964, 1976], ma fu proposto un nuovo modello che risolse molte di queste difficoltà e sembrò fornire una risposta conclusiva.

Questa nuova teoria, "la selezione di parentela" [Hamilton 1964, 1970; Trivers 1971], considerò il gene e non più l'individuo come punto centrale della selezione. Da questa prospettiva, il ricercatore deve considerare che un gene è presente sia nell'individuo in cui agisce sia, con una certa probabilità commisurata alla parentela o consanguineità, negli individui imparentati su cui le sue azioni hanno un qualche impatto. I vantaggi e svantaggi per tutti questi individui, e quindi sia per il primo individuo dove il gene è di certo presente, ma anche per le copie del gene eventualmente presenti negli individui imparentati, devono essere complessivamente considerati nel valutare se un gene è favorito o no dalla selezione naturale.

La selezione di parentela è un potente strumento per fornire valide spiegazioni e chiarire con relativa facilità molti comportamenti e fenomeni inspiegabili in una logica di sola selezione individuale. Per questo motivo è considerata la teoria che è alla base della sociobiologia, e per un certo tempo è stata considerata la chiave per spiegare l'eusocialità, osservata in molte specie di insetti (api e formiche in particolare) [Wilson 1975; Trivers e Hare 1976].

Comunque, il giustificare l'eusocialità degli insetti appellandosi all'aplodiploidia (maschi aploidi e femmine diploidi) - il che accade quando si vuole spiegare il fenomeno mediante la selezione di parentela - in seguito è stato contestato. Ciò perché molte specie non aplodiploidi (ad esempio, le termiti) sono eusociali e nel complesso l'associazione tra eusocialità e aplodiploidia non appare statisticamente significativa. Inoltre, modelli basati su popolazioni strutturate appaiono un migliore approccio per giustificare e studiare l'eusocialità [Nowak et al. 2010].

A parte ciò, la selezione di parentela fra demi in competizione composti di uno o pochi cloni, in effetti, è una forma di selezione di gruppo. Pertanto la selezione di parentela non può sempre essere considerata come un'alternativa al tabù della selezione di gruppo.

Vi sono altre ipotesi, modelli o tipi di approccio matematico che anche sono stati proposti per tenere conto della selezione sovraindividuale (ad esempio, meccanismi selettivi che accrescono la velocità e le possibilità di evoluzione, o evolubilità [Earl e Deem 2004; Colegrave e Collins 2008]).

Tutte queste considerazioni non sono per niente né vogliono essere un'attenta e accurata descrizione e nemmeno una sintesi del dibattito teorico che vi è a riguardo dell'analisi dei meccanismi evuzionistici basati sulla selezione sovraindividuale. Il loro obiettivo è semplicemente di evidenziare che l'evoluzionismo è stato gradualmente trasformato da una valutazione dei meccanismi selettivi formulata esclusivamente, o primariamente, in termini di selezione individuale, in una più ampia valutazione a livello sovraindividuale, di cui il livello di selezione strettamente individuale è solo un caso speciale.

* * *

Come parte di questa trasformazione, un fatto molto importante era mancante e viceversa mancava la conseguente inclusione di questo fatto in un contesto molto più ampio.

E' ben noto che molte specie di animali e piante hanno una durata della vita che è strettamente e chiaramente pianificata. Nel suo autorevole testo, Finch dedicò un intero lungo capitolo a queste specie [Finch 1990]. Pertanto il fatto che per molte specie la morte degli individui è geneticamente programmata e favorita dalla selezione naturale non è per niente una novità.

Ma è anche ben noto che per molte specie, compresa la nostra, vi è, a partire da una certa età (30 anni circa per la nostra specie), un graduale

declino della fitness correlato con il passare del tempo, vale a dire un incremento del tasso di mortalità correlato con l'età. L'opinione oggi prevalente è che questo fenomeno è il risultato della debolezza della selezione alle età in cui pochi individui sopravvivono, o, in alternativa, della selezione di caratteri che sono vantaggiosi nei periodi giovanili ma dannosi nelle età più anziane. Complessivamente, la visione corrente è pertanto che questa mortalità crescente in relazione all'età è un fenomeno causato da fattori inevitabili, che sono o indirettamente favoriti dalla selezione o insufficientemente contrastati da essa. Comunque vi sono molti elementi basati sull'evidenza empirica che sono contro queste interpretazioni prevalenti - evidenza che altresì suggerisce che il fenomeno è pianificato e direttamente favorito dalla selezione. Questa evidenza empirica comprende:

1) L'esistenza di molte specie in cui il fenomeno non esiste e vi è un'eguale fitness a qualsiasi età [Comfort 1979; Congdon et al. 2003], specie definite come aventi una "senescenza non rilevabile" [Finch 1990]. Per alcune vi è persino un incremento della fitness correlato con l'età, chiamato "senescenza negativa" [Vaupel et al. 2004]. Ciò non è per niente spiegato dalle teorie correnti;

2) In base alla visione prevalente, vi dovrebbe essere una correlazione positiva fra più alta mortalità ambientale (o estrinseca) e riduzione della durata della vita dovuta alla mortalità intrinseca, ma i dati empirici mostrano che la correlazione è inversa [Ricklefs 1998], come dovrebbe essere se il fenomeno fosse programmato e favorito dalla selezione [Libertini 1988, 2008]. Nessuno dei sostenitori delle teorie correnti ha mai tentato di spiegare questa contraddizione, o persino ammesso che un problema esiste, salvo lo stesso Ricklefs [Ricklefs 1998];

3) L'interpretazione del fenomeno come qualcosa di programmato richiede necessariamente l'esistenza di meccanismi specifici, geneticamente determinati e regolati, che causano il declino della fitness. Al contrario, se il fenomeno non è programmato, l'esistenza di meccanismi specifici che causano l'invecchiamento non è prevista, e in verità essi sarebbero in totale contrasto con questa interpretazione [Libertini 2008]. A riguardo di questi meccanismi, vi è crescente documentazione e consapevolezza che il declino delle funzioni è determinato da limitazioni nel ricambio cellulare, le quali a loro volta sono controllate dal sistema telomero-telomerasi e dalla progressiva attivazione di uno specifico programma, del tipo acceso/spento (on/off), definito come senescenza cellulare [Fossel 2004]. In particolare, la senescenza cellulare, che è stata definita un "fondamentale programma

cellulare” [Ben-Porath e Weinberg 2005], è riportata alla condizione off, con il ritorno alle condizioni giovanili e con la riattivazione delle capacità di duplicazione cellulare, mediante l’introduzione della telomerasi nelle cellule somatiche [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999]. Inoltre la riattivazione della telomerasi in topi anziani con la telomerasi artificialmente bloccata mostra una marcata regressione di tutte le manifestazioni degenerative, perfino per il sistema nervoso [Jaskelioff et al. 2011]. Questi risultati sono difficilmente giustificabili come compatibili con le ipotesi della senescenza non programmata: l’interpretazione del sistema telomero-telomerasi come una difesa generale contro il cancro, l’unica spiegazione che è stata proposta, è debole e contraddetta da dati empirici e argomentazioni teoriche [Libertini 2008; Milewski 2010].

4) Inoltre, le correnti interpretazioni evoluzionistiche dell’invecchiamento (specificamente, le ipotesi della Pleiotropia Antagonistica e del Soma Disponibile) sono basate sull’assunto che l’effetto benefico di una durata della vita più lunga non può essere ottenuto senza incorrere in un costo [Goldsmith 2008b]. Ma questo dovrebbe essere provato. Attualmente non soltanto è mancante l’evidenza empirica a sostegno di questo assunto, ma vi è anche una chiara evidenza contro di esso in particolari casi importanti. Ad esempio: i) vi è contraddizione tra le previsioni della teoria del Soma Disponibile e l’associazione fra restrizione calorica e una maggiore durata della vita [Mitteldorf 2001]; ii) vi è la possibilità di evolvere “sia una lunga vita sia difese alternative contro il cancro” [Milewski 2010].

Per sottolineare e definire esplicitamente l’idea che gli individui sono spesso sacrificati da meccanismi di selezione sovraindividuale, fu coniato il neologismo “fenoptosi” [Skulachev 1999a].

Stranamente, nessuno prima di Skulachev - che non è un biologo evoluzionista - aveva pensato di unificare sotto un unico termine fenomeni assai differenti fra loro sia nei meccanismi sia nelle espressioni fenotipiche ma strettamente uniti da una logica evoluzionistica comune e ben conosciuta: l’individuo è del tutto sacrificabile se meccanismi selettivi sovraindividuali lo richiedono.

Con la stessa logica, l’incremento della mortalità in correlazione con l’età in specie come la nostra è stata definita “fenoptosi lenta”, una bella espressione coniata dallo stesso studioso [Skulachev 2002b; 2010], contrassegnando l’analogia evoluzionistica con molte altre forme di fenoptosi che sono del tutto differenti nei loro specifici meccanismi e nelle loro cause.

L'analogia tra i termini fenoptosi e apoptosi (la parola che ispirò il neologismo) non è solo semantica.

Considerando un organismo multicellulare come un immenso clone altamente organizzato e differenziato (e qui dovrebbe essere notato che i primi organismi multicellulari sono verosimilmente derivati da cloni che gradualmente hanno acquisito una crescente specializzazione e organizzazione cellulare), l'apoptosi di una cella in un organismo multicellulare è filogeneticamente simile alla fenoptosi di un individuo all'interno di un clone.

Inoltre, se si considera la proapoptosi dei batteri [Hochman 1997], che a volte si manifesta nella forma del suicidio di massa [Lane 2008] e che è modulata da meccanismi chiaramente correlati filogeneticamente con l'apoptosi negli eucarioti unicellulari [Koonin e Aravind 2002], la quale anche determina forme di suicidio di singoli individui [Büttner et al. 2006] e di massa [Granot et al. 2003], i legami sotterranei e le analogie tra la proapoptosi batterica (ossia la fenoptosi in questi organismi unicellulare), l'apoptosi degli eucarioti unicellulari (vale a dire fenoptosi anche in questo caso), l'apoptosi in organismi multicellulari, e la fenoptosi di organismi multicellulari, risultano ancora più evidenti.

Come è possibile contrassegnare con parole che costituiscano un marchio la distinzione tra un'idea di evoluzione focalizzata sull'individuo e una differente concezione basata principalmente su meccanismi di selezione sovraindividuale (e di cui la selezione individuale è solo un caso speciale)? Il termine "selezione di parentela" è troppo restrittivo e indica solo un metodo, sebbene assai importante, di analisi della selezione a livello sovraindividuale. L'espressione "gene egoista" ha troppo il sapore di una selezione basata sul singolo gene, invece che sul singolo individuo, e non esprime bene la presupposta grande importanza della selezione sovraindividuale.

Forse vi sono due termini che al meglio interpretano il nuovo concetto nella sua distinzione dalla vecchia idea.

Il primo è proprio l'espressione "selezione sovraindividuale" che descrive una categoria di strumenti di analisi e valutazione (qui non precisamente

definiti) in contrasto con la visione eccessivamente semplificata della più antica concezione.

Il secondo è proprio il termine “fenoptosi”, sia perché dà risalto al sacrificio degli individui come una caratteristica chiave dell’evoluzione, sia perché pone al centro dell’attenzione un particolare tipo di fenoptosi, la fenoptosi lenta, o invecchiamento. Un’importante implicazione è che se l’invecchiamento, come ogni altra forma di fenoptosi, è una funzione geneticamente programmata e regolata, ciò significa che vi è la possibilità di sue modifiche e anche di un suo pieno controllo.

In un contesto più generale, in particolare al di fuori del mondo scientifico, il passaggio da metodologie focalizzate sulla selezione individuale ad altre incentrate sulla selezione sovraindividuale non appare in grado di suscitare notevole o ampia attenzione. Ma se consideriamo che questa transizione genera la trasformazione dall’idea che l’invecchiamento è un evento inevitabile e scarsamente modificabile a una nuova prospettiva in cui l’invecchiamento è una funzione, in linea di principio modificabile e trattabile, ciò sarà certamente oggetto del massimo interesse anche al di fuori del mondo scientifico.

Per questi motivi il neologismo “fenoptosi”, a cui è stato dedicato il nome di numeri speciali di *Biochemistry (Moscow)*, non è per niente solo un altro nome tecnico da usare in ristretti circoli di studiosi specializzati ma potenzialmente un termine che potrebbe essere considerato come il marchio e la bandiera per l’inizio di una nuova era.

Capitolo V

Evidenza per le teorie sull'invecchiamento dallo studio di un popolo cacciatore-raccoglitore

Riassunto

Alla fine degli anni settanta, fu oggetto di studio una piccola popolazione tribale del Paraguay, gli Ache, che allora viveva allo stato selvatico. I dati dallo studio di questa popolazione si rivelano utili per considerazioni a riguardo delle ipotesi evuzionistiche sull'invecchiamento:

1) Gli Ache mostrano un incremento della mortalità in relazione all'età che limita fortemente la durata media della vita, così come osservato in altri studi su varie specie di mammiferi e uccelli;

2) In base alle prevalenti teorie sull'invecchiamento, allo stato selvatico nessuno o pochissimi individui raggiungono l'età anziana e pertanto l'invecchiamento non può essere direttamente influenzato dalla selezione naturale. Ma i dati dalla suddetta popolazione mostrano che una significativa quota di individui raggiungono i 60 e i 70 anni di età in condizioni naturali;

3) I dati ottenuti agli Ache sono anche in accordo con l'osservazione a riguardo di una correlazione inversa, nel confronto fra diverse specie, tra mortalità da cause estrinseche e riduzione della vita media causata dalla mortalità intrinseca, cioè dalle morti dovute all'incremento della mortalità in relazione all'età;

4) Il declino in relazione all'età delle funzioni vitali è una conseguenza del graduale declino del rinnovo cellulare, che è geneticamente determinato e regolato dal declino delle capacità di duplicazione delle cellule staminali. L'attuale interpretazione è che queste restrizioni costituiscono una difesa generale contro la proliferazione di qualsiasi massa tumorale. Comunque, tra gli Ache, in condizioni naturali, il cancro è praticamente sconosciuto nei soggetti non anziani e solo tra i soggetti più anziani vi sono morti che potrebbero essere attribuiti a malattie oncologiche. Inoltre il declino della fitness, cioè l'incremento della mortalità, inizia molto prima che eventuali malattie oncologiche possano determinare effetti fatali in un numero di casi rilevante. Ciò è del tutto in contrasto con le attuali teorie, in quanto non è ammissibile che un'ipotetica difesa contro una malattia mortale uccida larga parte di una popolazione prima che tale malattia inizi a essere causa sensibile di mortalità.

Questi dati sono coerenti con dati simili da altre specie studiate in condizioni naturali e forniscono nuovi argomenti contro l'interpretazione non adattiva dell'invecchiamento e a sostegno dell'opposta interpretazione adattativa del fenomeno.

Introduzione

Per lo studio di una specie è fondamentale studiarla in condizioni naturali. Per la specie umana, la condizione più vicina alla naturale è quella di una delle poche popolazioni rimaste di cacciatori-raccoglitori, che è equivalente alla condizione umana nel periodo paleolitico.

Queste popolazioni vivono in aree di difficile accesso e pertanto è molto arduo prendere contatto con loro e studiarle. Inoltre, quando vengono in contatto con soggetti “civilizzati”, molti fra loro cadono vittime di malattie infettive a cui non sono adattati. E' anche necessario ricordare che queste popolazioni non hanno memorie scritte, non usano la numerazione o conoscono solo numeri molto piccoli, e non hanno annotazioni specifiche di eventi passati.

Lo studio preciso di una popolazione cacciatrice-raccoglitrice mai avvicinata prima è pertanto una formidabile sfida scientifica.

Uno degli studi più esaurienti in questo campo fu condotto nella seconda metà degli anni settanta su una piccola popolazione divisa in tribù del Paraguay, gli Ache, meglio conosciuti con il nome spregiativo Guayaki usato dai loro vicini “civilizzati”. La relazione di questo studio fu pubblicata nel 1996 [Hill e Hurtado 1996].

Molti dati sono unici o con pochi paragoni in altri studi analoghi [Howell 1979; Melancon 1982; Early e Peters 1990].

In questo capitolo si vuole riassumere alcuni dei dati dall'anzidetto studio di Hill e Hurtado che riguardano le tabelle di sopravvivenza di questo popolo cacciatore-raccoglitore in condizioni selvatiche e le cause della loro mortalità. Questi dati saranno usati per considerazioni a riguardo delle ipotesi evuzionistiche sul fenomeno dell'invecchiamento.

Parte 1

Dati dalle tabelle di sopravvivenza del popolo Ache e loro implicazioni per le ipotesi evuzionistiche a riguardo dell'invecchiamento

L'assai impegnativo studio di Hill e Hurtado (“quattordici anni di raccolta di dati” sul campo tra gli Ache e “quasi cinque anni per la redazione del

testo” [Hill e Hurtado 1996]) è un lavoro di grande valore e una fonte quasi unica di informazioni.

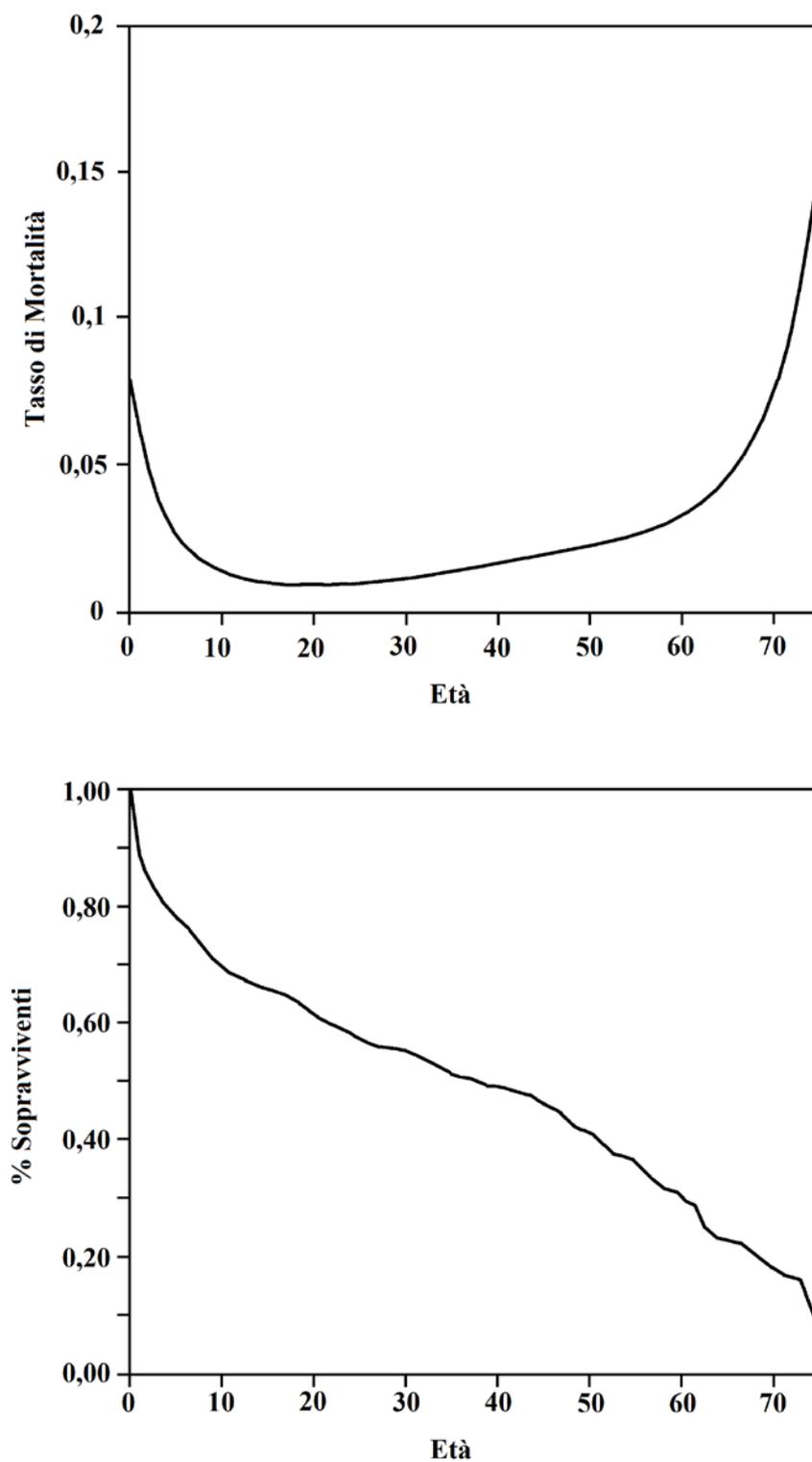


Figura 1 – Probabilità di morte in funzione dell’età (sopra) e curva di sopravvivenza (sotto) del popolo Ache in condizioni selvatiche (periodo della foresta). Dati da Hill e Hurtado [Hill e Hurtado 1996].

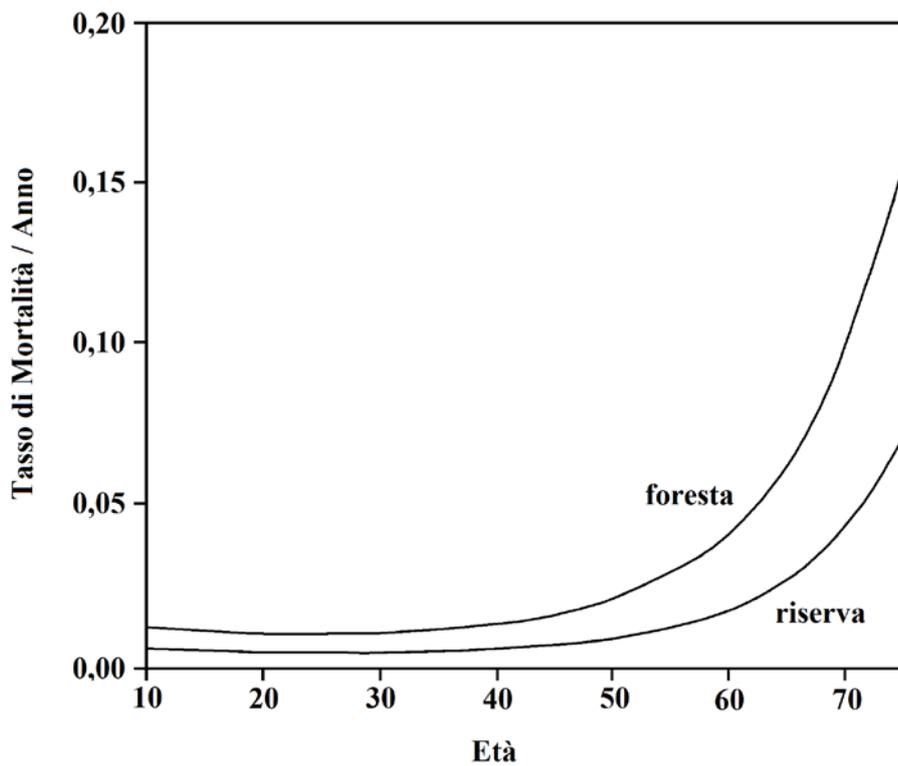
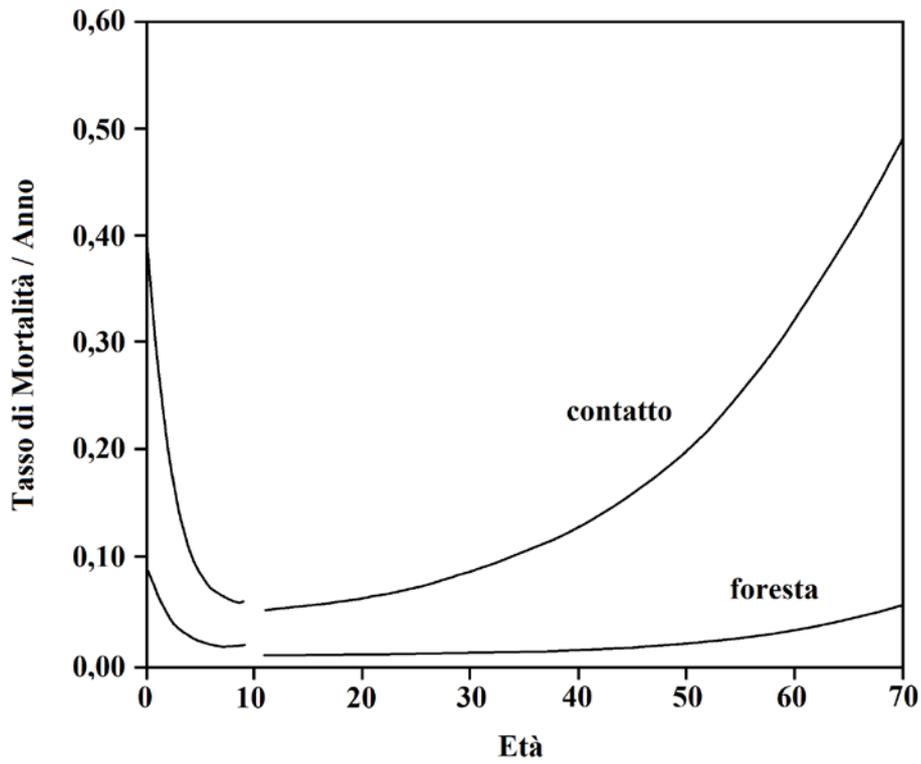


Figura 2 – Confronto fra i tassi di mortalità a seconda dell'età tra il periodo vissuto nella foresta e durante il primo contatto (sopra) o durante la vita nella riserva (sotto). Dati da Hill e Hurtado [Hill e Hurtado 1996].

Un tale studio sarebbe difficilmente ripetibile, poiché le popolazioni primitive raccoglitrice-cacciatrici stanno scomparendo. Le Figure 1 e 2 riassumono la tabella di sopravvivenza degli Ache in condizioni naturali prima del contatto da vicino e amichevole con popolazioni moderne (Contatti non amichevoli con popolazioni “civilizzate” si verificavano da molti anni, come anche le uccisioni indiscriminate di Ache non appena erano individuati dai Paraguayani o, in altri casi, la loro cattura e riduzione in schiavitù). La Figura 3 confronta i dati ottenuti dagli Ache con quelli ricavati dagli Yanomamo, una delle poche altre popolazioni studiate in condizioni naturali.

I dati documentano che, in condizioni naturali, gli Ache – nonostante le spietate uccisioni e le catture ad opera dei Paraguayani, le quali causavano circa un terzo della mortalità complessiva (comprese le persone scomparse) – avevano una tabella di sopravvivenza simile a quella di popolazioni moderne, con un’alta e decrescente mortalità nella prima parte della vita, poi una fase in cui la mortalità era bassa e stabile, con un minimo di circa lo 0,9% all’anno intorno ai 15-20 anni, e infine una terza fase in cui la mortalità cresceva dapprima lentamente e poi in modo deciso.

E’ da notare che alle età di 60 e 70 anni, rispettivamente circa il 30% e il 20% degli Ache era ancora vivente, il che significa in condizioni fisiche sufficienti a sopravvivere nella foresta.

Un altro importante fatto è che l’accresciuta mortalità riportata per gli Ache in condizioni naturali nella terza fase della vita non è per nulla indifferente per la durata media complessiva della vita (VM).

La Figura 4 mostra la tabella di sopravvivenza degli Ache in condizioni naturali e l’ipotetica tabella di sopravvivenza che si avrebbe nel caso in cui non vi fosse stato alcun incremento della mortalità correlato con l’età, vale a dire nel caso ipotetico dell’assenza di invecchiamento. Nella reale tabella di sopravvivenza, la VM è pari a 38,8 anni, mentre nell’ipotetica tabella di sopravvivenza la VM è pari a 87,75 anni, con un rapporto (Rapporto 1) tra i due valori eguale a 2,260. E’ opportuno notare che la lunghezza delle ascisse è estesa fino a 600 anni, giacché - con un tasso di mortalità dello 0,858% all’anno, che è all’incirca il minimo stimato di mortalità in condizioni naturali - all’età di 580 anni circa lo 0,5% della popolazione sarebbe stato ancora sopravvivente!

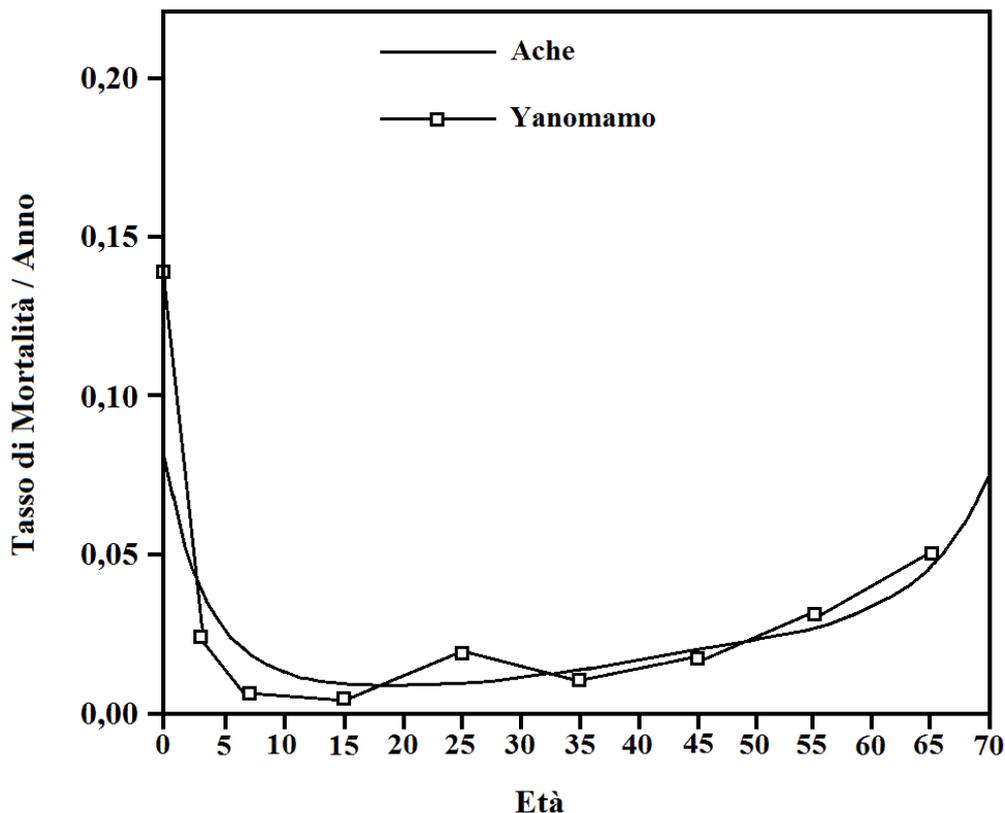


Figura 3 – Confronto fra le curve di sopravvivenza di Ache e Yanomamo, un'altra popolazione cacciatrice-raccoglitrice. Le curve all'incirca si sovrappongono. Dati da Hill e Hurtado [Hill e Hurtado 1996], ed Early e Peters [Early e Peters 1990].

Se poi consideriamo solo gli individui sopravvissuti all'età di 20 anni (Figura 5), la VM degli Ache in condizioni naturali risultò pari a $20+38,1 = 58,11$ anni, mentre per la curva ipotetica la VM è pari a $20+116,04 = 136,04$ anni (!), con un rapporto (Rapporto 2) tra i due valori pari a 3,044. Nella figura, la lunghezza delle ascisse è estesa fino a 660 anni poiché all'età di 634 anni i sopravvissuti sarebbero stati circa lo 0,5% e all'età di 660 anni circa lo 0,4%.

Le ipotetiche curve delle figure 4 e 5, nelle curve di sopravvivenza in cui la mortalità è posta come costante, sono calcolate usando la semplice formula:

$$Y_t = Y_0 (1 - m_0)^t \quad (1)$$

dove Y_0 = popolazione iniziale al tempo 0; Y_t = sopravvissuti al tempo t; m_0 = mortalità minima; t = tempo.

I Rapporti 1 e 2 possono essere visualizzati, in ciascuna figura, come il rapporto tra l'area definita dalla curva ipotetica e l'area sottesa dalla curva della popolazione reale.

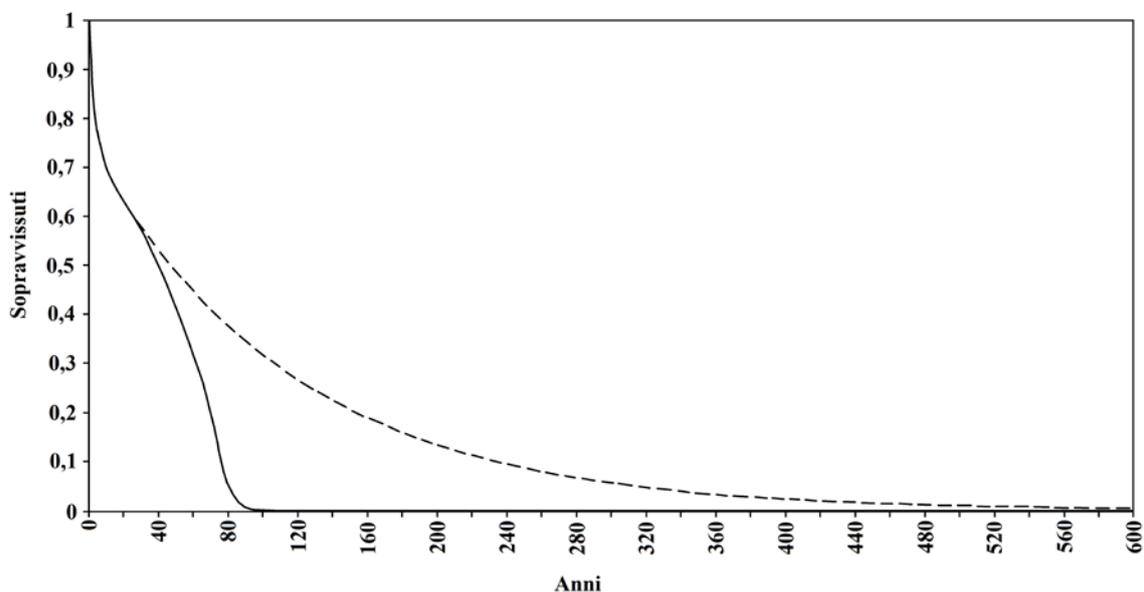


Figura 4 – Linea continua: curva di sopravvivenza degli Ache in condizioni naturali (periodo della foresta, dati da Hill e Hurtado [Hill e Hurtado 1996]); linea tratteggiata: ipotetica curva di sopravvivenza senza l'incremento della mortalità correlato con l'età.

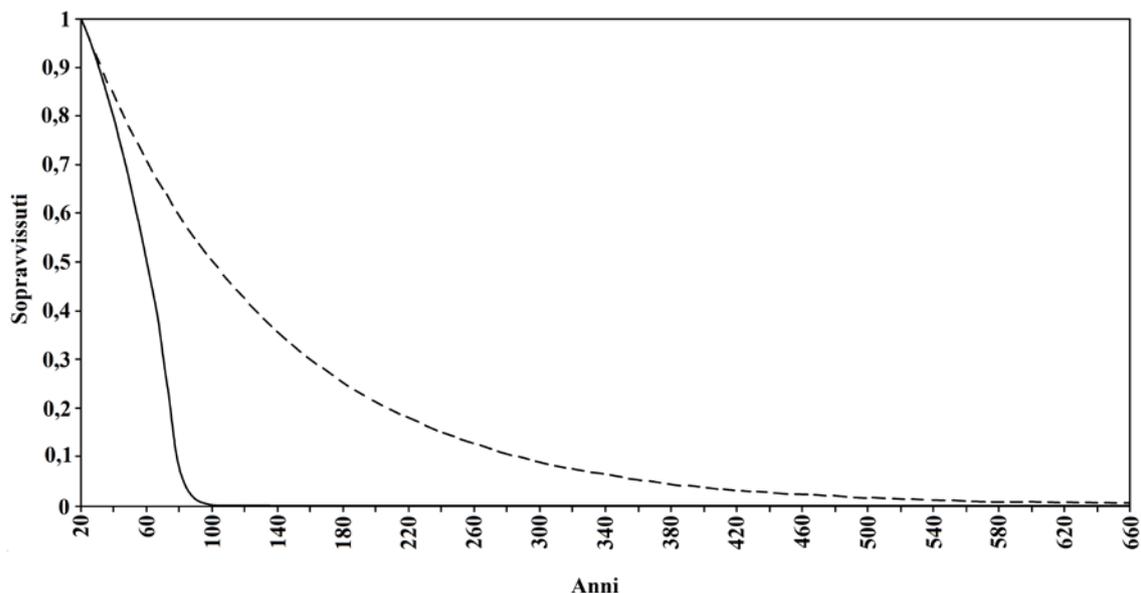


Figura 5 – Gli stessi della Figura 4, ma solo gli individui sopravvissuti all'età di 20 anni sono considerati.

Questi risultati, per una popolazione umana allo stato naturale, sono concordanti con quelli riportati in un precedente lavoro per varie specie di mammiferi [Libertini 1988], dove l'ambito del Rapporto 1 e del Rapporto 2 erano rispettivamente 1,55-3,21 e 2,42-5,09 (Tabella 1).

Tabella 1 – *Rapporto 1: per varie specie di mammiferi, rapporto fra la VM in condizioni naturali e la VM nell'ipotetica condizione secondo cui il tasso di mortalità rimane stabile nel suo valore minimo; Rapporto 2: lo stesso del Rapporto 1 ma escludendo i primi periodi della vita, vale a dire prima che la mortalità raggiunga il suo valore più basso. Calcoli da Libertini [Libertini 1988], fonti: (a) Spinage, 1972; (b) Laws, 1966; (c) Laws, 1968; (d) Spinage, 1970; (e) Deevey, 1947, e da Hill e Hurtado (in corsivo). Per tutti: dati non distinti per sesso.*

Specie	Fonte dei dati	Rapporto 1	Rapporto 2
Zebra	a	2,03	3,20
Ippopotamo	c	2,81	4,45
Elefante	b	1,67	2,42
Antilope d'acqua	d	2,57	4,02
Facocero	a	1,55	2,85
Impala	a	2,64	3,85
Bufalo	a	2,21	3,46
Pecora di montagna di Dall	e	3,21	5,09
<i>H. sapiens</i> (popolo Ache)	<i>[Hill e Hurtado 1996]</i>	2,26	3,04

Questi dati mostrano, per il popolo Ache in condizioni naturali, che:

- 1) l'incremento della mortalità è evidente in età esistenti allo stato selvatico;
- 2) tale incremento della mortalità riduce fortemente la VM;
- 3) una parte considerevole della popolazione raggiunge età comunemente considerate come senili.

Poiché l'incremento della mortalità correlato con l'età, vale a dire la riduzione della fitness correlata con l'età o invecchiamento, è chiaramente presente in condizioni naturali, certamente è soggetto alla selezione naturale. Ciò contraddice un assunto di base delle teorie non adattative

dell'invecchiamento (teoria dell'Accumulo di Mutazioni [Medawar 1952; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Mueller 1987; Partridge e Barton 1993], teoria della Pleiotropia Antagonistica [Williams 1957; Rose 1991], teoria del Soma Disponibile [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979]), secondo le quali l'invecchiamento non è soggetto alla selezione naturale per la rarità degli individui anziani in condizioni naturali: "... vi è scarsa evidenza che la senescenza contribuisca significativamente alla mortalità nello stato selvatico ... Di regola gli animali selvatici semplicemente non vivono abbastanza a lungo da diventare vecchi. Pertanto la selezione naturale ha una limitata possibilità di esercitare una diretta influenza sul processo dell'invecchiamento." [Kirkwood e Austad 2000]

E' opportuno sottolineare quanto segue.

Benché le percentuali degli Ache che raggiungono le età di 60 e 70 anni sono di certo notevoli e forse sorprendenti (si veda la Figura 1), il punto fondamentale non è tanto la percentuale di individui che raggiungono quelle età ma la percentuale di individui che muoiono anche prima per effetto della riduzione della fitness correlata con l'età. E' importante evitare la confusione tra il graduale declino della fitness, o invecchiamento, e il risultato finale di questo processo, vale a dire gli individui anziani (si veda la precedente citazione).

Il declino della fitness correlato con l'età è chiaramente un fenomeno soggetto alla selezione naturale e che necessita di una spiegazione evoluzionistica, a prescindere dalla percentuale - allo stato selvatico - di individui definiti come "anziani" in quanto hanno raggiunto un certo livello soglia, arbitrariamente definito, di declino.

Un altro fatto importante è che questi risultati sono anche in accordo con l'osservazione di Ricklefs [Ricklefs 1998] a riguardo di una correlazione inversa - documentata per alcune specie di mammiferi e di uccelli - tra la mortalità estrinseca (m_0) e la proporzione di riduzione della vita dovuta alle morti per senescenza (P_s), vale a dire le morti in eccesso dovute all'incremento della mortalità correlato con l'età. Tale correlazione inversa contraddice le ipotesi non adattive dell'invecchiamento mentre è in accordo con le ipotesi adattative [Libertini 2008], le quali considerano l'invecchiamento nei vertebrati un tipo di fenoptosi, o morte programmata di un individuo [Skulachev 1997, 1999a].

Con una mortalità minima (m_0) pari circa all'1% per anno e un valore della P_s di circa il 67%, la posizione della specie umana (popolo Ache) nella Figura 6 (ricavata con modifiche dalla Figura 7 di Ricklefs [Ricklefs 1998]) è evidenziata con un quadrato vuoto.

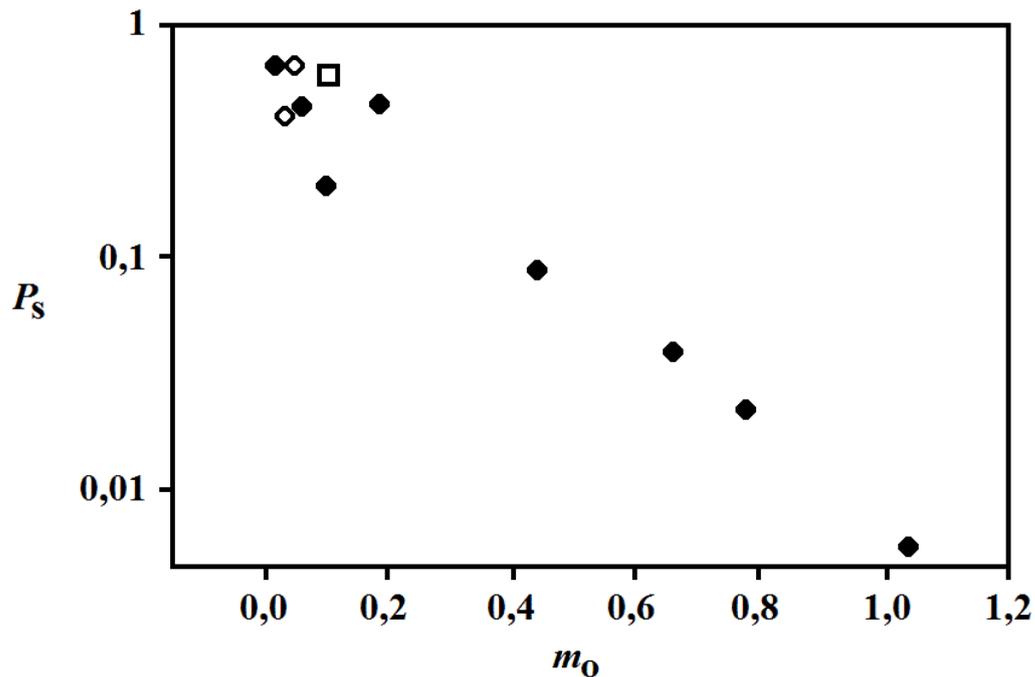


Figura 6 – Nel confronto fra specie diverse, relazione inversa tra mortalità estrinseca (m_0) e la proporzione di riduzione della vita dovuta alle morti per senescenza (P_s) causata dalla mortalità intrinseca (m_i), vale a dire le morti in eccesso dovute all'incremento della mortalità correlato con l'età. Rombi vuoti = specie di mammiferi; rombi pieni = specie di uccelli; quadrato vuoto = popolo Ache in condizioni selvatiche. I dati per mammiferi e uccelli sono da Ricklefs [Ricklefs 1998], Tabella 2 (p. 30). La Figura 7 di Ricklefs (p. 34) è stata ridisegnata ed è stato aggiunto il dato dal popolo Ache [Hill e Hurtado 1996]. Le ordinate sono in scala logaritmica.

Parte 2

Dati a riguardo delle cause di morte nel popolo Ache e loro implicazioni per le ipotesi del declino della fitness correlato con l'età come difesa contro il cancro

Le cause di morte per il popolo Ache in condizioni naturali (periodo della foresta) sono riassunte nella Tabella 2 [Hill e Hurtado 1996].

Tabella 2 – Cause di morte per il popolo Ache in condizioni naturali (periodo della foresta). Dati da Hill e Hurtado [Hill e Hurtado 1996]

Nei bambini di 0-3 anni

Violenza e accidenti	n.	%
Omicidio/abbandono	52	
Catturati/sparati dai Paraguayani	21	
Accidenti	3	
Totale:	76	58,02
Infezioni/Intossicazioni		
Varie cause	36	
Totale:	36	27,48
Cause congenite		
Morte non specificata del neonato/malformazioni	17	
Parto/madre senza latte	2	
Totale:	19	14,50
Totale:	13	100
	1	

Nei bambini di 4-14 anni

Violenza e accidenti	n.	%
Omicidio/abbandono	17	
Catturati/sparati dai Paraguayani	56	
Accidenti	11	
Totale:	84	84,85
Infezioni/Intossicazioni		
Varie cause	11	
Totale:	11	11,11
Altre cause		
Malattia non specificata/malato nei polmoni	4	
Totale:	4	4,04
Totale:	99	100

Negli adulti di 15-59 anni

Violenza e accidenti	n.	%
Seppelliti vivi	1	
Abbandonati	1	
Lotte con le clave	6	
Omicidio, uccisi da altri Ache	3	
Sparati dai Paraguayani	46	
Catturati dai Paraguayani	1	
Morso di serpente	15	
Mangiati dai giaguari	8	
Colpiti da un fulmine	3	
Caduti da un albero/	2	

Negli adulti di 60+ anni

Violenza e accidenti	n.	%
Seppelliti vivi	1	
Abbandonati	2	
Lotte con le clave	2	
Sparati dai Paraguayani	4	
Mangiati dai giaguari	1	
Morso di serpente	3	
Dispersi	3	
Totale:	16	59,26

colpiti da un albero caduto		
Dispersi	1	
Totale:	87	69,05
Infezioni / Intossicazioni		
Febbre dopo mangiato larve di <i>pichu</i>	8	
Febbre dopo mangiato larve di <i>kracho</i>	5	
Febbre dopo mangiato miele	6	
Febbre dopo mangiato amido di palma/cereali	2	
Malaria	2	
Febbre dopo aver toccato del sangue	3	
Infezioni della pelle/ulcere 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	
Malattia non specificata	1	
Età anziana	1	
Totale:	8	6,35
Totale:	126	100

Altre cause		
Diarrea	3	
Malattia non specificata	2	
Età anziana	6	
Totale:	11	40,74
Totale:	27	100

Numero complessivo di morti

Periodo della vita	n.	%
0-3 anni	131	34,20
4-14 anni	99	25,85
15-59 anni	126	32,90
60+ anni	27	7,05
Totale:	383	100

E' importante notare che, per il popolo Ache in condizioni naturali, le principali cause di morte nelle popolazioni moderne occidentali (infarti, diabete, ipertensione, etc.) sono assenti. Inoltre, casi di morte per cancro non sono riportati, sebbene, nel gruppo "adulti di 60+ anni", alcune morti attribuite genericamente a cause non specificate o all' "età anziana" potrebbero essere il risultato di malattie neoplastiche. In ogni caso, i dati indicano che le malattie neoplastiche erano eventi rari, se non inesistenti, fra il popolo Ache nel periodo della foresta. Questa rarità del cancro in condizioni primitive non è una notizia nuova ed è confermata altrove.

Ad esempio, alcune notizie, aneddotiche ma autorevoli, a riguardo dell'immunità dal cancro in popolazioni primitive sono riportate da Price [Price 1939]:

Il dott. J. Romig, "un chirurgo [di Anchorage] di grande capacità e con un'esperienza tra gli Eschimesi e gli Indiani, sia quelli con stile di vita primitivo che quelli modernizzati ... dichiarò che nei suoi trentasei anni di contatti con questi popoli non aveva mai visto un caso di malattia maligna tra gli Eschimesi e gli Indiani veramente primitivi, sebbene ciò capitasse di frequente quando diventano modernizzati." (p. 83)

Il dott. J. R. Nimmo, il medico funzionario di governo in carica per le popolazioni delle isole dello stretto di Torres disse al dott. Price che: "nei suoi tredici anni con loro non aveva visto un singolo caso di tumore maligno, e aveva visto solo un caso che aveva sospettato potesse essere un tumore maligno nell'intera popolazione dei nativi di circa quattromila persone. Egli dichiarò che durante lo stesso periodo aveva operato su qualche dozzina di tumori maligni nella popolazione bianca, che era di circa trecento individui." (p. 179)

Questi dati possono essere utilizzati per definire la disputa tra interpretazioni adattative e non adattative dell'invecchiamento. Le teorie non adattative non predicono in alcun modo l'esistenza di meccanismi geneticamente determinati e regolati che progressivamente riducono la fitness. L'esistenza di meccanismi di tale tipo dimostrerebbe la falsità delle teorie non adattative, forzando al loro totale abbandono.

Al contrario, per la plausibilità delle teorie adattative dell'invecchiamento (ad esempio, [Libertini 1988]), è indispensabile l'esistenza di meccanismi geneticamente determinati e regolati per l'incremento della mortalità correlato con l'età [Libertini 2006, 2009a].

Il declino correlato con l'età delle funzioni vitali è ben spiegabile come una conseguenza del graduale declino del ricambio cellulare, determinato dal

ridursi delle capacità di duplicazione cellulare per effetto del sistema telomero-telomerasi [Fossel 2004; Libertini 2009a]. Questo declino del ricambio cellulare è in accordo con l'interpretazione adattativa dell'invecchiamento, mentre per l'interpretazione non adattativa esso non può essere accettato come un meccanismo che causa l'invecchiamento e di conseguenza una differente ragione è assolutamente necessaria.

L'assenza di una valida o per lo meno plausibile spiegazione per questi meccanismi, in effetti invaliderebbe tutte le teorie non adattative dell'invecchiamento, trasformandole in modo definitivo da teorie potenzialmente valide in ipotesi solo di valore storico.

Ciò cambierebbe la validità di un gran numero di lavori ed esperienze basate sull'assunto dell'invecchiamento come fenomeno non adattativo. Alcuni dei migliori ricercatori hanno pertanto cercato una giustificazione plausibile per i meccanismi anzidetti che fosse differente da quella che li spiega puramente e semplicemente come elementi determinanti dell'invecchiamento.

L'autorevole giustificazione corrente, in effetti la sola largamente diffusa e sostenuta nel mondo scientifico, è che queste restrizioni sono una difesa generale contro il cancro, in quanto esse limiterebbero la proliferazione patologica di qualsiasi massa tumorale [Campisi 1997, 2000; Wright e Shay 2005].

Se confrontiamo l'incremento della mortalità correlato con l'età in condizioni naturali (popolazione Ache, Figura 7, in alto) con l'incidenza del cancro e le morti che ne derivano in una popolazione moderna (Regno Unito, Figura 7, in basso), a prima vista questa spiegazione potrebbe sembrare plausibile.

L'apparenza è fuorviante e i dati presentati in un certo modo inducono a un'erronea conferma dell'opinione corrente. E' indispensabile disegnare in un singolo grafico e usando un'unica scala, i tassi della: A) mortalità totale degli Ache in condizioni naturali; B) plausibili tassi di morte per cancro negli Ache in condizioni naturali; e, per confronto, C) i tassi di morte per cancro nella popolazione moderna (Figura 8). E' evidente che, in condizioni naturali, l'incremento della mortalità complessiva (rispetto al valore minimo di circa l'1% nella seconda decade di vita) anticipa ed è di molto maggiore di quello della mortalità da cancro sia nella popolazione allo stato selvatico sia nella popolazione moderna.

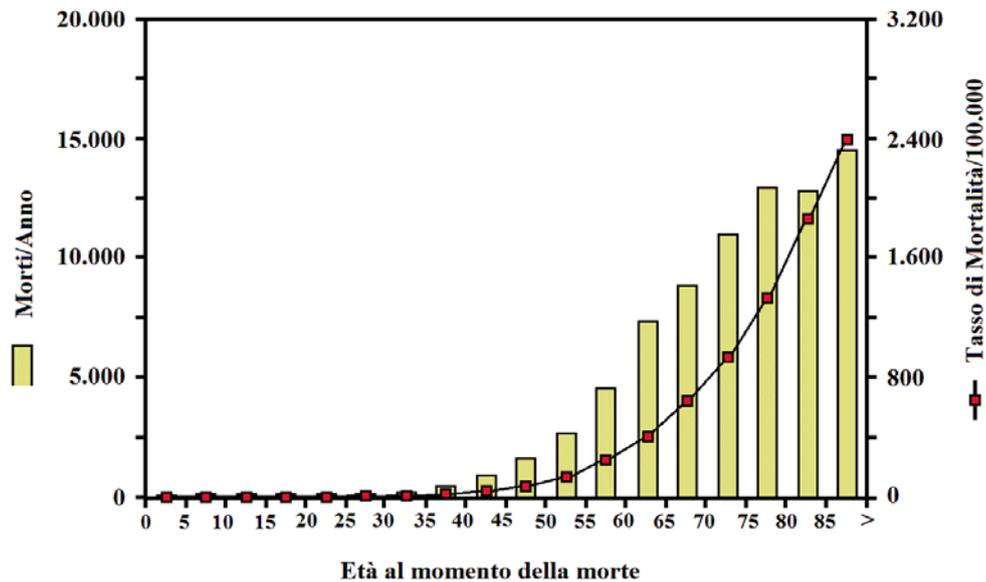
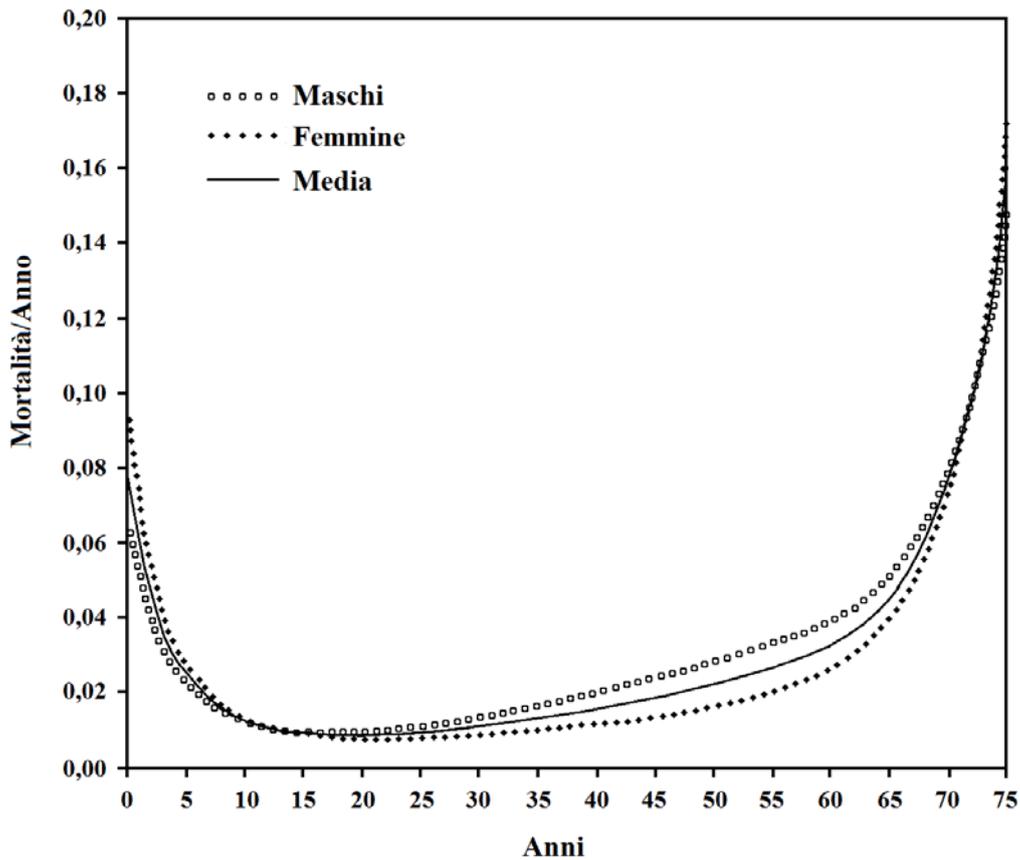


Figura 7 – Sopra: Curva di sopravvivenza del popolo Ache in condizioni naturali (periodo della foresta); dati da Hill e Hurtado [Hill e Hurtado 1996]. Sotto: Incidenza del cancro e morti per cancro in una moderna popolazione occidentale (Regno Unito) [Office for National Statistics 2010; General Register Office for Scotland 2010; Northern Ireland Statistics and Research Agency 2010; 27-29].

Inoltre, in condizioni naturali, quando vi sono i primi casi possibili di morte per cancro, il declino della fitness ha già determinato la morte di buona parte degli individui.

Ciò contraddice completamente l'ipotesi che la riduzione delle capacità di duplicazione cellulare sarebbe una difesa contro il cancro: sarebbe come voler sostenere che una difesa contro una malattia fatale ha come effetto la morte di un gran numero di individui prima che la malattia incominci a uccidere!

Altresì, secondo l'ipotesi adattativa dell'invecchiamento, il declino della difesa contro il cancro deriva anche dal declino delle capacità di duplicazione cellulare e i casi di cancro nell'età anziana sono parte delle caratteristiche dell'invecchiamento [Libertini 2009a].

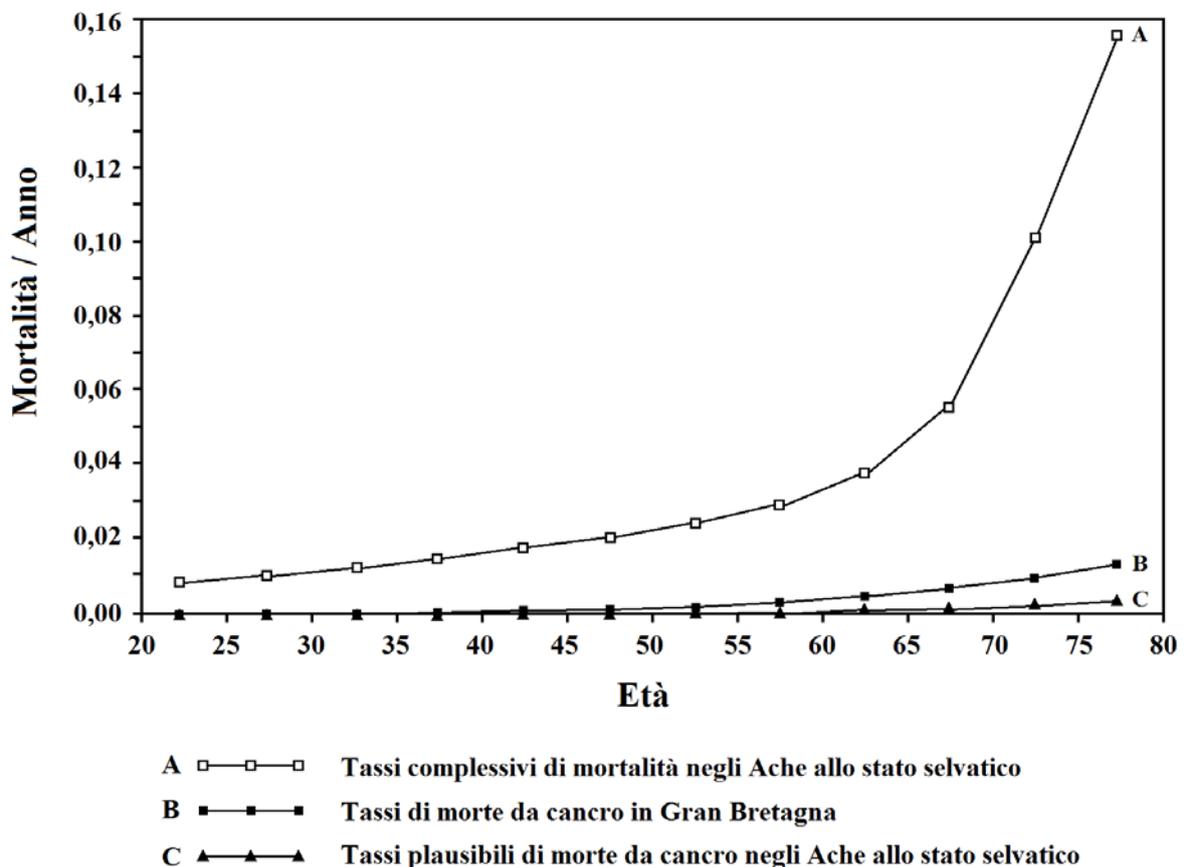


Figura 8 – (A) Mortalità complessiva e (C) massimi plausibili tassi di mortalità dovuta a cancro per gli Ache in condizioni naturali; (B) tassi di mortalità per cancro in una popolazione moderna (Regno Unito).

Conclusione

Per la ricerca sull'invecchiamento, lo studio di una specie in condizioni naturali è essenziale poiché permette la valutazione del fenomeno nelle

reali condizioni in cui la selezione naturale agisce. Ciò permette di evitare possibili errori concettuali che renderebbero ingannevole qualsiasi costruzione teorica e di verificare se in condizioni naturali alcune predizioni teoriche sono confermate o smentite.

Lo studio della specie umana in condizioni naturali dovrebbe dare, e dà, risultati analoghi a quelli ottenuti dallo studio di altre specie di vertebrati:

1) In base alla corrente interpretazione non adattativa dell'invecchiamento, pochissimi individui raggiungono l'età anziana e di conseguenza l'invecchiamento non può essere direttamente influenzato dalla selezione naturale [Kirkwood e Austad 2000].

Ma i dati da una popolazione umana in condizioni naturali mostrano che una significativa parte della popolazione raggiunge i 60 e 70 anni (rispettivamente circa il 30% e il 20%).

Inoltre, se consideriamo non l'impreciso concetto di "età anziana" ma l'incremento della mortalità correlato con l'età, un parametro che è perfettamente definibile, questo fenomeno risulta ridurre grandemente la durata media della vita (il 67% per il popolo Ache in condizioni naturali!). Di conseguenza è assurdo considerare questo incremento della mortalità come un qualcosa che non è influenzato dalla selezione naturale o che non riveste importanza per il processo selettivo.

Questi dati sono coerenti con dati analoghi da altre specie di vertebrati studiati in condizioni naturali [Ricklefs 1998] e invalidano il principale assunto teorico delle correnti ipotesi evoluzionistiche a riguardo dell'invecchiamento.

2) Le teorie non adattative dell'invecchiamento predicono una relazione diretta tra la mortalità estrinseca e la riduzione della vita dovuta alle morti causate dall'incremento della mortalità correlato con l'età [Kirkwood e Austad 2000], mentre le teorie adattative dell'invecchiamento prevedono una relazione inversa [Libertini 1988, 2008]. I dati di Ricklefs su alcune specie di mammiferi e uccelli [Ricklefs 1998] confermano la predizione dell'ipotesi dell'invecchiamento adattativo e si oppongono alla tesi opposta. La tabella di sopravvivenza degli Ache è perfettamente coerente con i dati di Ricklefs per le specie animali.

3) Le teorie non adattative dell'invecchiamento non offrono alcuna valida spiegazione evoluzionistica per i noti limiti nella capacità di replicazione cellulare e nel turnover cellulare che sono la più plausibile interpretazione del meccanismo base del declino della fitness correlato con l'età.

I sostenitori delle teorie non adattative dell'invecchiamento, nel tentativo di formulare una spiegazione plausibile, ipotizzano che questi limiti

costituiscono una difesa generale contro il cancro. Comunque, i dati da una popolazione in condizioni naturali, e perfino da popolazioni moderne in cui l'incidenza del cancro è grandemente aumentata, mostrano che le morti causate dal cancro sono cronologicamente successive all'incremento della mortalità correlato con l'età e hanno una frequenza molto più bassa delle morti determinate da questo incremento della mortalità. Ciò dimostra che da un punto di vista logico l'ipotesi che gli anzidetti limiti siano una difesa generale contro il cancro è insostenibile.

In breve, lo studio di una popolazione umana in condizioni naturali fornisce nuove argomentazioni contro l'interpretazione non adattativa dell'invecchiamento. Tale ipotesi (in effetti, un gruppo di teorie mal definite) è comunemente presentata come la vera e unica spiegazione scientifica dell'invecchiamento: eppure quando un'ipotesi è largamente e ripetutamente smentita dai dati empirici, il metodo scientifico richiede che essa sia considerata come non più accettabile scientificamente e confinata nell'ambito delle ipotesi di interesse storico.

Le armi degli umili Ache hanno un veleno che si rivela fatale per credenze vecchie e largamente diffuse (Figura 9).



Figura 9 – Un guerriero Ache.

Capitolo VI

Come invecchiamo secondo il paradigma dell'invecchiamento programmato

Riassunto

In base alle spiegazioni tradizionali (“vecchio paradigma”), l'invecchiamento è dovuto al progressivo accumulo di danni di vario tipo che sono insufficientemente contrastati dalla selezione naturale. Un'interpretazione opposta (“nuovo paradigma”) vede l'invecchiamento come selettivamente vantaggioso in termini di selezione sovraindividuale, e questo implica l'indispensabile esistenza di specifici meccanismi, geneticamente controllati e modulati, che lo determinano. L'obiettivo di questo capitolo è di esporre in modo sintetico le progressive alterazioni che caratterizzano l'invecchiamento, mostrando come questi cambiamenti sono chiaramente definiti e regolati da geni. La possibilità di una tale descrizione, che è basata su una solida evidenza empirica, è un elemento essenziale per la plausibilità del nuovo paradigma e un argomento fondamentale contro la sostenibilità del vecchio paradigma.

Introduzione

Per “l'invecchiamento”, qui precisamente definito come “progressivo declino della fitness, o incremento della mortalità, in correlazione con l'età”, vi sono due spiegazioni generali antitetiche [Goldsmith 2013], che hanno implicazioni opposte molto importanti e pertanto meritano il nome di paradigmi.

La prima, che chiameremo “vecchio paradigma”, spiega l'invecchiamento come l'effetto di svariati fattori dannosi che sono insufficientemente contrastati dalla selezione naturale [Kirkwood e Austad 2000]. Questo paradigma implica che la selezione naturale ha successo nel modellare innumerevoli straordinari organi e funzioni, mentre nel contrastare l'invecchiamento dimostra solo una limitata efficacia!

La seconda spiegazione, che definiremo “nuovo paradigma”, interpreta l'invecchiamento come un fenomeno fisiologico determinato e favorito dalla selezione a livello sovraindividuale in particolari condizioni [Libertini 1988]. Questo paradigma implica che la selezione naturale ha successo nel conseguimento dell'invecchiamento così come per innumerevoli altri straordinari organi e funzioni!

I due paradigmi, per definizione, sono alternativi e incompatibili l'uno con l'altro.

Per il nuovo paradigma, l'invecchiamento è un particolare tipo di “fenoptosi”, un importante neologismo coniato da Skulachev [Skulachev 1997; Libertini 2012a], che include una vasta categoria di fenomeni ben noti [Finch 1990], caratterizzati dall'autosacrificio di un individuo, geneticamente causato/indotto e regolato, e favorito dalla selezione naturale, chiaramente in termini di selezione sovraindividuale. Esempi di tipi di fenoptosi, ben descritti da Finch [Finch 1990], sono:

- l'afagia (incapacità di alimentarsi nella fase adulta di molti invertebrati che è destinata esclusivamente alla riproduzione);
 - l'autogenia (animali, in particolare insetti, che completano lo sviluppo degli oociti senza alcuna assunzione di alimenti dopo la schiusa e quindi morendo nell'assolvimento di tale funzione);
 - la rapida senescenza scatenata da ormoni nelle piante;
 - la morte dopo la fecondazione;
 - la morte del maschio associata con l'accoppiamento o la riproduzione;
 - il matricidio endotochico (la prole uccide la madre al momento della nascita utilizzando il suo corpo per ricavare nutrimento);
- e, secondo il nuovo paradigma:
- l'invecchiamento, anche definito “fenoptosi lenta” [Skulachev 2002b].

In queste pagine non si vuole discutere le argomentazioni o l'evidenza empirica a sostegno o contro i due paradigmi, ma solo focalizzare l'attenzione su un aspetto chiave: “come” invecchiamo, vale a dire una descrizione generale del processo dell'invecchiamento nella nostra specie (così come per i mammiferi in generale) sulla base di meccanismi geneticamente determinati e regolati.

In effetti, il nuovo paradigma prevede e richiede l'esistenza di specifici meccanismi, geneticamente determinati e regolati, che causino l'invecchiamento [Libertini 2008]. Al contrario il vecchio paradigma esclude la possibilità che tali meccanismi possano esistere e la loro esistenza pertanto dimostrerebbe che il vecchio paradigma è erraneo [Kirkwood e Austad 2000].

Solo le evidenze empiriche chiare e accettate saranno utilizzate nella successiva esposizione.

Evidenza

1) Morte cellulare programmata

Le cellule possono morire per necrosi, come risultato di eventi contingenti o accidentali (infezioni, stress meccanico, trauma, ischemia, etc.), o mediante uno fra vari tipi di morte cellulare programmata (MCP), quali ad esempio:

- la cheratinizzazione delle cellule dell'epidermide e dei capelli;
- il distacco delle cellule dalle pareti interne dell'intestino e di altre cavità del corpo;
- gli osteociti fagocitati dagli osteoclasti;
- la trasformazione di eritroblasti in eritrociti e loro successiva rimozione da parte di macrofagi;
- l'apoptosi, un processo ordinato di autodistruzione con smaltimento non dannoso dei detriti cellulari, uno degli aspetti che la rende differente dalla necrosi. Il fenomeno per la prima volta fu descritto e chiaramente differenziato dalla necrosi nell'osservazione degli epatociti in un fegato normale [Kerr et al. 1972]. Una funzione chiave dell'apoptosi nei vertebrati è correlata al ricambio cellulare negli organi sani dell'adulto, come ben documentato per molti tessuti e organi [Libertini 2009a].

Deve essere evidenziato che il termine MCP è spesso usato come sinonimo di apoptosi, ma questa è un'erronea semplificazione!

2) Ricambio cellulare

Le morte continua delle cellule per opera della MCP è bilanciata da un'equivalente proliferazione di specifiche cellule staminali: "Ogni giorno, da 50 a 70 miliardi circa di cellule muoiono nell'adulto medio per effetto della morte cellulare programmata (MCP). La morte delle cellule nei tessuti che si autorinnovano, come l'epidermide, l'intestino e il midollo osseo, è necessaria per liberare spazio per i miliardi di nuove cellule prodotte quotidianamente. Così massiccio è il flusso di cellule attraverso i nostri corpi che, in un anno normale, ciascuno di noi produrrà e, in parallelo, eliminerà una massa di cellule pari al peso del nostro intero corpo" [Reed 1999].

Questo "massiccio" ricambio (circa 690.000 cellule al secondo!) è frenato dai limiti nella duplicazione cellulare causati dal sistema telomero-telomerasi (si veda sotto).

Il ricambio cellulare è un tipo di fenomeno generale nei vertebrati, ma non presente in tutti gli animali (ad esempio, lo stato adulto del verme

Caenorhabditis elegans ha un numero fisso di cellule senza alcuna forma di rinnovo) [Finch 1990].

Il ritmo del ricambio cellulare varia grandemente a seconda del tipo di cellula e dell'organo. Ad esempio, nell'epitelio intestinale “le cellule sono sostituite in un periodo da tre a sei giorni” [Alberts et al. 2013], mentre “l'osso ha un tempo di ricambio di circa dieci anni negli uomini” [Alberts et al. 2013] e “il cuore è rinnovato all'incirca ogni 4,5 anni” [Anversa et al. 2006]. Ulteriori dati a riguardo dei ritmi di ricambio cellulare sono riportati altrove [Richardson et al. 2014].

3) Limiti nella duplicazione cellulare

La replicazione cellulare, che è essenziale per il ricambio cellulare, è frenata da meccanismi noti. Limiti nel numero di duplicazioni cellulari furono dimostrati da Hayflick nel 1961 [Hayflick e Moorhead 1961]. Olovnikov ipotizzò che, poiché la molecola di DNA si accorcia a ogni duplicazione, questo potrebbe spiegare il numero finito delle duplicazioni [Olovnikov 1973]. Infatti, come fu documentato successivamente, per molti tipi di cellule, la lunghezza del telomero mostra un progressivo accorciamento correlato con l'età [Takubo et al. 2010]. Ciascun estremo di una molecola di DNA (telomero) fu dimostrato, dapprima in una specie di protozoi, che era una semplice sequenza ripetuta di nucleotidi [Blackburn e Gall 1978]. La scoperta dell'enzima telomerasi, che aggiungeva altre di queste sequenze di nucleotidi, fu una necessaria spiegazione per le cellule, come quelle della linea germinale, capaci di un numero illimitato di divisioni [Greider e Blackburn 1985]. Fu anche dimostrato che la telomerasi era repressa da proteine regolatrici [van Steensel e de Lange 1997].

Nelle cellule in cui la telomerasi non è attiva, un numero illimitato di duplicazioni è impossibile per il progressivo accorciarsi del telomero. Prima che i telomeri raggiungano la loro lunghezza minima, due fenomeni sono descritti:

A) Senescenza cellulare

In una cellula in stato “ciclico”, cioè con capacità di un ciclo di duplicazione, il telomero, qualunque sia la sua lunghezza, oscilla tra due condizioni: “incappucciato” e “non incappucciato” da un complesso proteico. La probabilità della condizione “non incappucciata”, cioè la durata percentuale di tale fase, è inversamente proporzionale alla riduzione relativa della lunghezza del telomero. Nella condizione “non

incappucciata”, la cellula è vulnerabile alla transizione allo stato “non ciclico”, vale a dire all’attivazione del programma di senescenza cellulare [Blackburn 2000] (Figura 1).

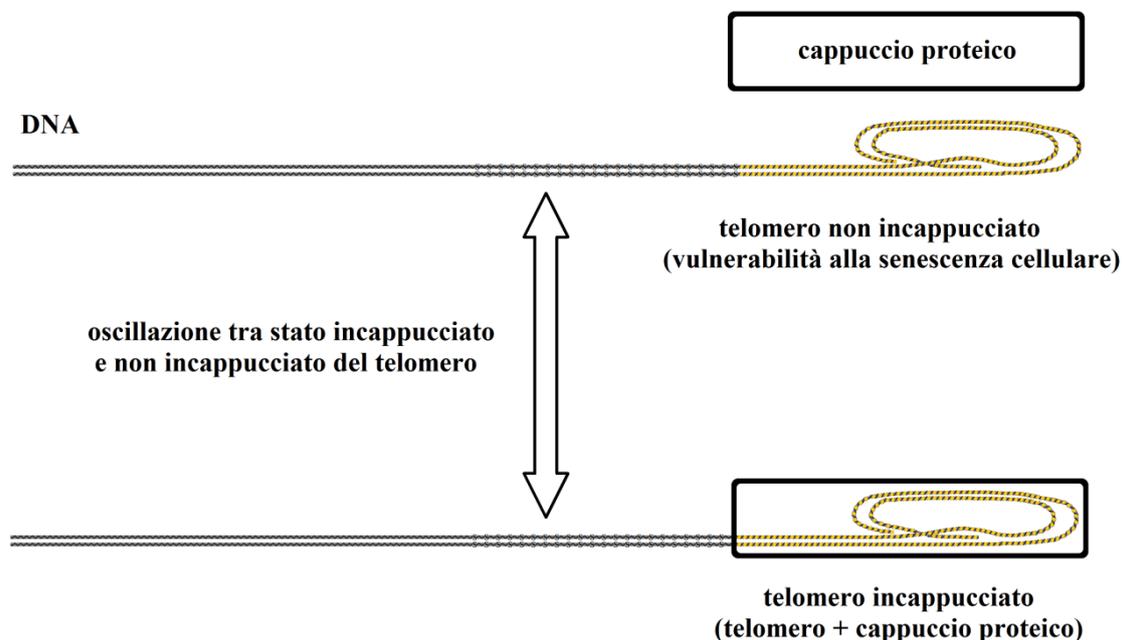


Figura 1 – Senescenza cellulare. Il telomero (parte terminale del DNA) oscilla tra due stati: “incappucciato” e “non incappucciato” da un complesso proteico. Man mano che il telomero si accorcia, la probabilità di trovarsi nello stato non incappucciato aumenta. In questa condizione il DNA cromosomico è vulnerabile alla ricombinazione con altri capi liberi e pertanto all’attivazione del programma di senescenza cellulare [Blackburn 2000].

La senescenza cellulare, che può essere attivata anche da altri fattori, è determinata da un meccanismo in cui è coinvolta la proteina p53 ed è caratterizzata dal blocco del ciclo cellulare oltre a una lunga serie di cambiamenti nell’espressione dei geni cellulari. Questi cambiamenti comprendono anche modifiche delle secrezioni cellulari che causano: alterazioni della matrice extracellulare, infiammazione, ridotta secrezione di importanti proteine strutturali come l’elastina e il collagene, e compromissione delle cellule vicine [Fossel 2004].

La senescenza cellulare con le sue stereotipate e prevedibili alterazioni è stata descritta come un “fondamentale programma cellulare” [Ben-Porath e Weinberg 2005].

B) Senescenza cellulare “graduale”

Il progressivo accorciamento dei telomeri ha un altro effetto. Il telomero è coperto (incappucciato) da un complesso proteico che, man mano che il telomero si accorcia, scivola sul DNA subtelomerico, lo copre e causa il blocco della trascrizione (Figura 2).

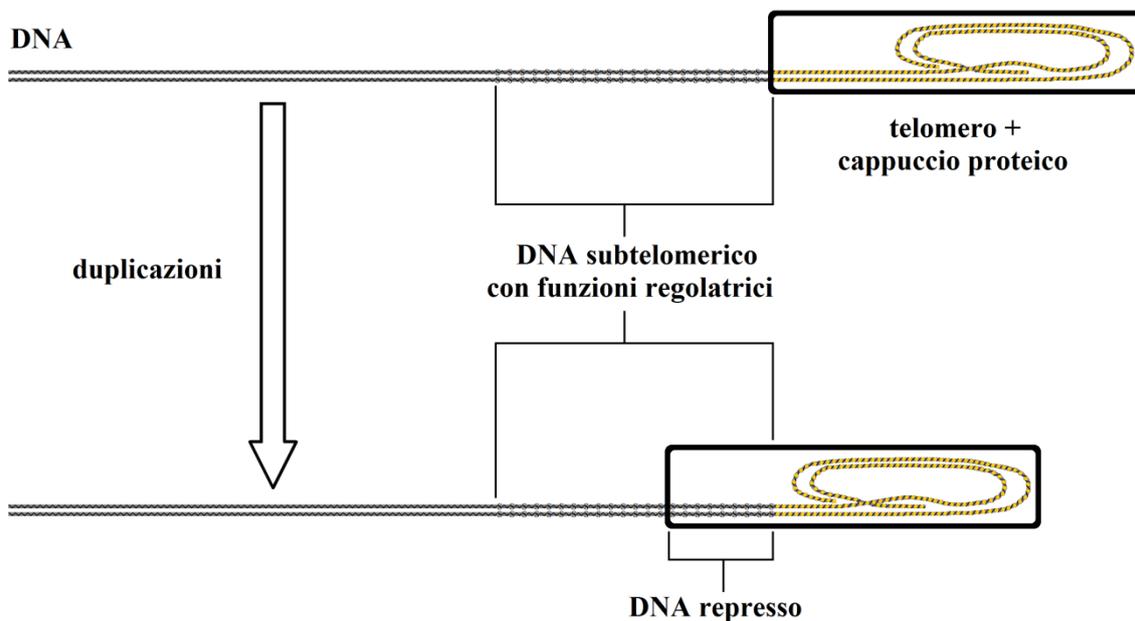


Figura 2 - Senescenza cellulare graduale. Il telomero (parte terminale del DNA) è ricoperto da un cappuccio proteico. Man mano che il telomero si accorcia, una crescente parte del DNA subtelomerico è ricoperta dal cappuccio proteico. E' verosimile che il DNA subtelomerico abbia funzioni regolatrici e che la sua progressiva copertura alteri questa capacità regolatrice e pertanto l'espressione di molti geni [Fossel 2004].

“Man mano che il telomero si accorcia, il cappuccio scivola ulteriormente giù lungo il cromosoma il risultato è un’alterazione della trascrizione dalle parti del cromosoma immediatamente adiacenti al complesso telomerico, abitualmente causando il blocco della trascrizione di tali parti, sebbene il controllo è senza dubbio più complesso che semplicemente l’effetto del telomero mediante la vicinanza ... Questi geni bloccati a loro volta possono modulare altri e più distanti geni (o gruppi di geni). Vi è qualche evidenza diretta per una tale modulazione nel subtelomero ...” [Fossel 2004]

Questi fenomeni (senescenza cellulare e senescenza cellulare graduale) compromettono progressivamente la funzionalità media delle cellule in un

tessuto e l'ambiente intercellulare. Ma, con l'attivazione della telomerasi, la senescenza cellulare e tutte le alterazioni correlate sono completamente cancellate [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999].

“La transfezione con il gene della telomerasi (telomerizzazione) è un determinante sperimentale che trasforma le cellule somatiche da mortali a immortali senza lo sconvolgimento del resto dell'espressione genica ... Questo processo di controllo genico è centrale per l'invecchiamento cellulare e per l'intervento sperimentale. Il ripristino dell'espressione dei geni si verifica con la telomerizzazione nei topi con telomerasi bloccata (*knockout mice*), nella clonazione e in altri interventi, e ciò ci permette di comprendere come la senescenza cellulare causa l'invecchiamento negli organismi.” [Fossel 2004], p. 37. “Le cellule non invecchiano a causa dei danni e dell'usura, ma perché permettono che i danni e l'usura si verifichino in conseguenza di un'alterata espressione dei geni. La telomerizzazione ripristina efficacemente le condizioni originarie, permettendo al gene di esprimersi secondo le modalità precedenti. ... le cellule non invecchiano perché sono danneggiate, ma permettono il danno perché invecchiano. I processi omeostatici sono sufficienti per un tempo illimitato nelle cellule della linea germinale; essi sono sufficienti anche nelle cellule somatiche se la senescenza è eliminata.” [Fossel 2004], p. 53. Con il passare del tempo (e con ritmi molto differenti, variabili a seconda degli organi e dei tipi di cellule), in un tessuto vi è un aumento delle percentuali di cellule:

- nello stato di senescenza cellulare;
- che presentano le funzioni più o meno alterate dall'accorciamento dei telomeri e dalla conseguente repressione della regione subtelomerica (senescenza cellulare graduale);
- sofferenti per le secrezioni alterate di altre cellule (Figura 3).

Ciò conduce, per ogni tessuto e organo, alla “sindrome atrofica”, che è caratterizzata da [Libertini 2009a]:

- a) ridotta capacità media di duplicazione cellulare e rallentato ricambio cellulare;
- b) ridotto numero di cellule specifiche (atrofia nel numero delle cellule);
- c) sostituzione delle cellule specifiche mancanti con cellule non specifiche;
- d) ipertrofia delle restanti cellule specifiche;
- e) alterate funzioni delle cellule con telomeri accorciati o definitivamente in senescenza replicativa;

dalle cellule endoteliali progenitrici (CEP), che sono originate dal midollo osseo. Il numero delle CEP è inversamente correlato con l'età, ridotto dai fattori di rischio cardiovascolare (fumo, diabete, ipertensione, ipercolesterolemia, etc.), e accresciuto da farmaci, come le statine, che proteggono l'integrità degli organi [Hill et al. 2003].

Un rallentato ricambio delle cellule endoteliali accresce le probabilità di disfunzione endoteliale e, di conseguenza, delle malattie che derivano da una circolazione alterata del sangue (ischemie cerebrali, infarti cardiaci, e altre malattie causate dalla compromessa circolazione sanguigna). Inoltre, con correlazione negativa, il numero delle CEP è un predittore del rischio cardiovascolare equivalente al punteggio Framingham del rischio o anche più significativo [Hill et al. 2003; Werner et al. 2005].

Nello stato senile, le malattie che derivano da una funzione endoteliale compromessa crescono esponenzialmente in correlazione con l'età, anche se sono assenti gli anzidetti fattori di rischio cardiovascolare [Tallis et al. 1998]. Questi fattori anticipano e amplificano il rischio correlato con l'età [Tallis et al. 1998], mentre i farmaci con capacità di protezione d'organo, come le statine [Davidson 2007], gli ACE-inibitori e i sartani [Weir 2007a] contrastano i loro effetti.

B) Cuore

Un'opinione vecchia e fortemente radicata è che il cuore sia un organo incapace di rigenerazione e senza ricambio cellulare. Al contrario, "Il cuore è un organo che si autorinova" [Anversa et al. 2006]: in un cuore normale, ogni giorno circa 3 milioni di miociti muoiono per apoptosi e sono sostituiti mediante l'azione di cellule staminali cardiache: "l'intera popolazione cellulare del cuore è sostituita approssimativamente ogni 4,6 anni ... Il cuore umano rinnova completamente la sua popolazione di miociti circa 18 volte durante il corso della vita, indipendentemente da malattie cardiache." [Anversa et al. 2006].

Le cellule staminali cardiache si duplicano e differenziano, permettendo il rinnovo dei miociti, e mostrano accorciamento dei telomeri correlato con l'età e senescenza cellulare [Urbanek et al. 2003; Leri et al. 2001; Chimenti et al. 2003]. Nel cuore anziano vi è una perdita complessiva di miociti, con un progressivo incremento nel volume cellulare del miocita per nucleo [Olivetti et al. 1991]. Il numero decrescente dei miociti è dovuto al progressivo declino nelle capacità di duplicazioni delle cellule staminali cardiache [Anversa et al. 2006].

Il declino delle capacità contrattili cardiache causa una dilatazione del cuore che nasconde la sottostante atrofia nel numero delle cellule contrattili. Pertanto, in apparente contraddizione, le camere cardiache sono dilatate e il cuore senile, benché atrofico come numero di cellule, è morfologicamente ipertrofico [Aronow 1998].

“Con l’invecchiamento vi è anche una progressiva riduzione nel numero delle cellule segnapassi nel nodo del seno, con il 10 per cento del numero delle cellule presenti all’età di 20 anni rimanenti all’età di 75. ... L’ipertrofia ventricolare sinistra associata con l’età è causata da un incremento nel volume ma non nel numero dei miociti cardiaci. I fibroblasti vanno incontro a iperplasia, e il collagene si accumula nell’interstizio del miocardio.” [Aronow 1998]

Il cuore mostra “... un certo incremento nella quantità di tessuto fibroso e grasso nel miocardio atriale con una riduzione nel numero delle fibre muscolari, e una perdita delle fibre nella biforcazione del fascio principale di His, nella giunzione del fascio principale e nei suoi fascicoli di sinistra, con minore grado di perdita nelle branche dei fasci distali.” [Caird e Dall 1978].

I farmaci efficaci nella “protezione d’organo”, come ACE-inibitori, sartani e statine, sono efficaci nella prevenzione della fibrillazione atriale [Jibrini et al. 2008; Fauchier et al. 2008].

C) Cute

“Lo spessore dello strato corneo è immutato nell’anziano anche se il suo contenuto umido e la sua coesione sono ridotti in aggiunta a un aumento del tempo di rinnovo dello strato corneo quando è lesa. ... L’epidermide umana è altamente proliferativa ma in una condizione stabile dipendente, come per altre strutture che si autorinnovano, da cellule staminali indifferenziate che sono continuamente in lenta duplicazione. Queste cellule staminali sono localizzate entro il compartimento basale dell’epidermide - i cheratinociti non dentellati nelle punte delle creste della rete epidermica. La perdita delle creste della rete e il conseguente appiattimento della giunzione dermo-epidermica sono una caratteristica della pelle intrinsecamente invecchiata. Tale appiattimento determina una riduzione dell’area di superficie media della giunzione dermo-epidermica. Uno studio ha stimato la riduzione in mm^2 nell’area media della giunzione dermo-epidermica da 2,6 all’età fra i 21 e i 40 anni a 1,9 all’età fra i 61 e gli 80 anni. Questi cambiamenti sono accompagnati da una riduzione nei

microvilli - proiezioni citoplasmiche dai cheratinociti basali nel derma. ... Il ritmo del ricambio dell'epidermide è ridotto nella pelle degli individui di 60 anni o più. ... I melanociti sono ridotti in numero nell'epidermide invecchiata intrinsecamente, sebbene le stime di questa riduzione variano da studio a studio in base alle metodologie usate per misurare i numeri dei melanociti. Con questa riserva, la riduzione è dell'ordine dall'8 al 20 per cento per decade in confronto con la pelle di un giovane adulto. ... Il numero delle cellule di Langerhans è ridotto nell'epidermide invecchiata intrinsecamente, ... Gilchrist et al. hanno dimostrato che i soggetti con età fra i 62 e gli 86 anni hanno una riduzione del 42 per cento nel numero delle cellule di Langerhans nella pelle protetta dal sole in confronto con soggetti giovani di età fra 22 e 26 anni. ... I numeri dei fibroblasti del derma calano con l'età ... La pelle invecchiata è relativamente ipovascolarizzata, particolarmente per la perdita dei piccoli capillari che corrono perpendicolarmente alla giunzione dermo-epidermica e formano delle anse capillari. Questa perdita è concomitante con la perdita delle creste della rete epidermica. I vasi sanguigni all'interno del derma reticolare sono ridotti in numero e le loro pareti sono assottigliate. ... Vi è approssimativamente una riduzione del 50 per cento nel numero dei mastociti nella pelle invecchiata intrinsecamente. ... Le ghiandole esocrine sono ridotte in numero e funzione nella pelle invecchiata. ... L'età probabilmente riduce e disorganizza l'innervazione della pelle; infatti, con l'età vi è approssimativamente una riduzione di due terzi nel numero dei corpuscoli del Pacini e di Meissner. ... I capelli, in particolare quelli del cuoio capelluto, si perdono con l'età in entrambi i sessi. ... Le unghie crescono più lentamente nell'anziano ... Lo studio dell'invecchiamento della pelle, in particolare come conseguenza della facile accessibilità del tessuto cutaneo, rappresenta un modello per l'invecchiamento di altri organi." [Griffiths 1998]

In sintesi, nel derma, come verosimile conseguenza dell'esaurimento di specifiche cellule staminali, è riportata una riduzione generale di tutte le sue componenti (melanociti, cellule di Langerhans, fibroblasti del derma, capillari, vasi sanguigni nel derma reticolare, mastociti, ghiandole esocrine, peli, etc.) e le unghie crescono più lentamente [Griffiths 1998].

D) Tessuti e organi del cavo orale e della faccia

“L'atrofia dei piani fasciali all'interno delle palpebre può portare all'erniazione del grasso orbitale nel tessuto della palpebra, formando le 'borse sotto gli occhi' abitualmente visibili nell'anziano. L'atrofia o la

disinserzione dell'aponeurosi del muscolo elevatore della palpebra, che normalmente 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 del muscolo elevatore ... La funzione secretoria delle ghiandole lacrimali declina con l'età ...” [Brodie 1998]

“Con l'età, i cambiamenti strutturali negli epitelii del cavo orale comprendono l'assottigliamento degli strati cellulari dell'epitelio (ad esempio, assottigliamento dell'epitelio della lingua), una diminuita cheratinizzazione, e la semplificazione della struttura epiteliale. ... Studi istologici delle ghiandole salivari invecchiate mostrano una perdita graduale degli elementi degli acini, un aumento relativo nella proporzione degli elementi dei dotti, un aumento negli infiltrati infiammatori, e un aumento nel tessuto fibroso e grasso.” [Devlin e Ferguson 1998]

“Il numero delle gemme gustative si riduce dopo l'età di 45 anni, con la conseguenza di una riduzione nelle sensazioni gustative ...” [Reinus e Brandt 1998]

E) Cellule ematopoietiche

“ ... le popolazioni dei linfociti nel sangue periferico di certo sembrano mostrare un significativo cambiamento con l'età, con una caduta nei numeri complessivi. Le cellule CD4+ T-auxiliarie, responsabili per il maggiore complesso di istocompatibilità classe II, riconoscimento ristretto dell'antigene estraneo e successiva attivazione dei CD8+ T-soppressori, i linfociti B, e le cellule stimolanti i granulociti della risposta immune, mostrano con l'età un declino complessivo accompagnato con una riduzione nella capacità di produrre T cellule vergini CD4+ CD45RA. ... La graduale involuzione del midollo osseo continua ma è specialmente forte dopo l'età di 70 anni quando la cellularità del midollo della cresta iliaca è ridotta a circa il 30 per cento di quella trovata in giovani adulti.” [Gilleece e Dexter 1998]

Nelle persone più anziane, meno neutrofili arrivano nei siti in cui vi sono abrasioni della cute [MacGregor e Shalit 1990]. La capacità proliferativa dei linfociti T per mitogeni non specifici mostra una riduzione correlata con l'età [Schwab et al. 1985; Murasko et al. 1986].

Il declino funzionale correlato con l'età nelle cellule staminali ematopoietiche è verosimilmente un fattore limitante per la longevità nei mammiferi [Geiger e van Zant 2002].

F) Apparato gastrointestinale

In individui anziani, vari tipi di cellule dello stomaco mostrano telomeri progressivamente più corti, e l'atrofia della mucosa gastrica, con o senza infezione da *Helicobacter pylori*, è associata con telomeri più corti [Takubo et al. 2010].

“Usando materiale da autopsie, Chacko et al. (1969) trovarono che in una popolazione dell'India la forma dei villi cambiava con l'età. I soggetti più giovani avevano villi a forma di dito, ma la frequenza di villi larghi e di circonvoluzioni cresceva nei campioni da individui più anziani. Webster e Leeming (1975a) descrissero cambiamenti simili quando campioni freschi del digiuno da pazienti geriatrici erano confrontati con campioni di controllo da soggetti normali giovani. Essi riscontrarono che nell'anziano i villi più larghi erano più comuni, e inoltre che i villi erano significativamente più corti. ... Andrew e Andrew (1957) notarono un aumento nella quantità di tessuto fibroso tra le cripte di Lieberkuhn e una riduzione generale della cellularità nei topi più anziani. ... Lesher, Fry e Kohn (1961), Lesher e Sacher (1968) e Fry, Lesher e Kohn (1961), usando l'autoradiografia e la timidina tritiata, mostrarono un tempo di generazione prolungato per le cellule delle cripte duodenali negli animali anziani e un aumento del tempo di transito cellulare (cioè per la progressione delle cellule dalle cripte alle estremità dei villi). In conclusione, i possibili cambiamenti con l'età attesi nel piccolo intestino dell'uomo sono un aumento dell'ampiezza dei villi e una riduzione nella loro altezza. Questi cambiamenti possono essere dovuti a una ridotta produzione cellulare.” [Webster 1978]

Nel colon, l'atrofia della *muscularis propria* e una crescita nell'ammontare della fibrosi e dell'elastina sono state dimostrate [Baime et al. 1994].

In ciascuna cripta intestinale vi sono da quattro a sei cellule staminali che, mediante la loro intensa attività di duplicazione, rinnovano continuamente l'epitelio del piccolo intestino [Barker et al. 2007]. Questi cambiamenti, sicuramente dovuti alla declinante attività mitotica delle cellule staminali delle cripte, come ipotizzato da lungo tempo [Webster 1998], riducono la funzionalità intestinale e verosimilmente la fitness complessiva.

G) Muscolatura scheletrica

E' ben nota l'atrofia della muscolatura correlata con l'età, sia in termini di massa complessiva muscolare sia nella dimensione delle singole fibre [Grimby et al. 1982; Lexell et al. 1988] (Figura 4).

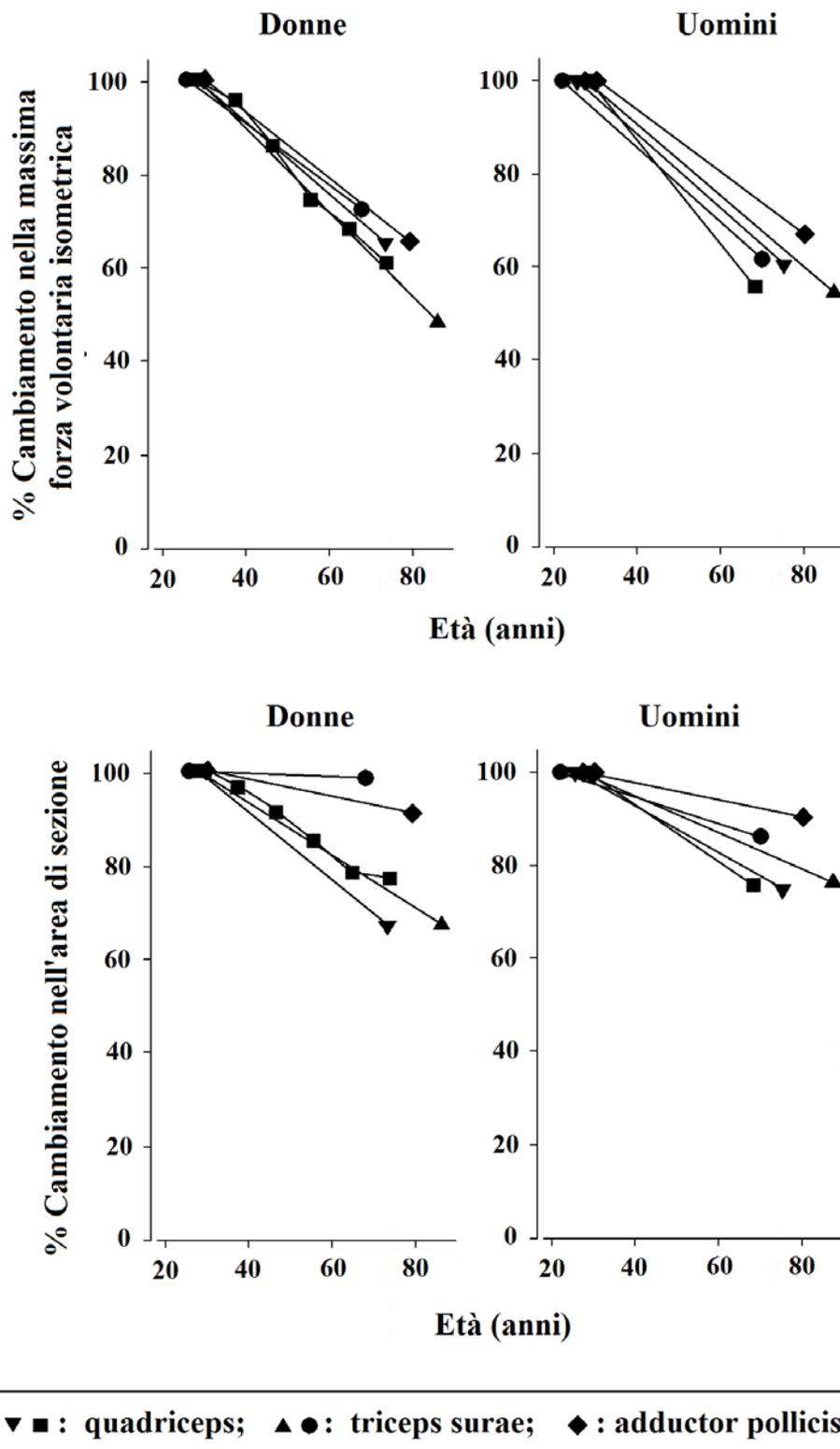


Figura 4 – Declino correlato con l'età della massima forza volontaria isometrica e dell'area trasversa di sezione per vari muscoli [Young, Stokes e Crowe 1984, 1985; Vandervoort e McComas 1986; Davies et al. 1986; Klitgaard et al. 1990; Rutherford e Jones 1992; Philips et al. 1992].

“Questi cambiamenti sono in qualche misura dipendenti dalla disfunzione delle cellule delle corna anteriori del midollo che si verifica con l’età, ma ciò non spiega completamente il processo dell’atrofia senile. In studi dettagliati è stato dimostrato che la riduzione progressiva che con l’invecchiamento si verifica nel volume muscolare può essere rilevata dall’età di 25 anni e che fino al 10 per cento del volume muscolare è perso all’età di 50 anni. Successivamente il ritmo dell’atrofia del volume muscolare aumenta, di modo che a 80 anni quasi metà del muscolo è perso. ... La riduzione sia nel numero che nella taglia delle fibre è implicata nella perdita di volume muscolare.” [Cumming 1998]

Nella distrofia muscolare di Duchenne, è stata descritta la distruzione cronica dei miociti, continuamente sostituiti per effetto delle capacità di duplicazione delle cellule staminali finché esse non sono esaurite [Adams et al. 2001].

H) Fegato

Il volume del fegato mostra un declino correlato con l’età [Marchesini et al. 1988], sia in proporzione al peso del corpo che come valori assoluti [Wynne et al. 1989]. Questa riduzione è stata stimata di circa il 37 per cento tra le età di 24 e 91 anni [Marchesini et al. 1988]. Anche il flusso sanguigno del fegato declina con l’età, di circa il 53 per cento nello stesso periodo [Marchesini et al. 1988] ma, mentre la grandezza del fegato si riduce con l’età, gli epatociti aumentano come dimensione, a differenza che nell’atrofia del fegato causata da inedia [David e Reinke 1988; Watanabe e Tanaka 1982].

La distruzione cronica di epatociti causata dalle epatiti virali, dall’alcolismo e da altri fattori è una causa conosciuta di cirrosi: per esaurimento delle capacità di duplicazione delle cellule staminali degli epatociti, la sindrome atrofica trasforma la struttura del fegato, spesso con la complicazione di epatocarcinomi causati dall’instabilità disfunzionale indotta dal telomero accorciato [DePinho 2000; Artandi 2002].

I) β -cellule pancreatiche

Le β -cellule pancreatiche mostrano ricambio cellulare [Finegood et al. 1995] e un’insufficiente sostituzione delle β -cellule esaurite dallo stress metabolico è stata proposta come causa del diabete mellito di tipo 2 [Bonner-Weir 2000; Cerasi et al. 2000]. Il diabete è una manifestazione della sindrome di Werner [Martin e Oshima 2000], come verosimile conseguenza di un’insufficiente sostituzione delle β -cellule eliminate

dall'apoptosi a causa della compromessa replicazione delle cellule staminali di tali cellule. La frequenza del diabete mostra un incremento correlato con l'età [Harris et al. 1987] verosimilmente causato dal progressivo esaurimento del ricambio delle β -cellule.

I farmaci che sono efficaci nella "protezione d'organo", come ACE-inibitori, sartani e statine, riducono il rischio di diabete [McCall et al. 2006; Ostergren 2007].

J) Ossa

"Una volta che la mezza età è raggiunta, l'ammontare totale di calcio nello scheletro (vale a dire la massa ossea) incomincia a declinare con l'età ... Ciò è associato con cambiamenti nella struttura scheletrica, con la conseguenza che le ossa diventano più deboli e meno capaci di resistere a fratture. Ad esempio, la cortecchia dell'osso diventa più sottile con espansione della cavità midollare interna, la rete di trabecole va scomparendo, e vi è un accumulo di microfratture. ... La perdita di osso nell'anziano è largamente il risultato di un'eccessiva attività osteoclastica, che causa sia un aumento del numero totale di siti in cui l'osso si rimodella sia un aumento della quantità di osso riassorbito per ciascun sito. ... Si pensa anche che la perdita di osso nell'anziano veda coinvolto un declino correlato con l'età nell'arruolamento e nelle capacità di sintesi degli osteoblasti." [Dieppe e Tobias 1998]

"La perdita involutiva di massa ossea ... incomincia tra le età di 35 e 40 anni in entrambi i sessi, ma nelle donne vi è un'accelerazione della perdita di osso nella decade dopo la menopausa. Complessivamente le donne perdono dal 35 al 50 per cento della massa ossea trabecolare e dal 25 al 30 per cento di quella corticale con l'avanzare dell'età, mentre gli uomini perdono dal 15 al 45 per cento della massa ossea trabecolare e dal 5 al 15 per cento di quella corticale. ... La perdita di osso ... [è] forse correlata alla compromissione nella formazione di nuovo osso a causa del declino della funzione degli osteoblasti." [Francis 1998]

K) Polmoni

"Il più importante cambiamento correlato con l'età nelle vie aeree maggiori è una riduzione nel numero delle cellule epiteliali delle ghiandole ... l'area occupata dagli alveoli crolla mentre gli alveoli e i dotti alveolari si allargano. La capacità della funzione residua, il volume residuo e la compliance aumentano. ..." [Connolly 1998] I volumi polmonari (FEV1, FVC) mostrano una riduzione correlata con l'età [Enright et al. 1993].

Le statine contrastano il declino della funzione polmonare, e le loro proprietà antinfiammatorie e antiossidanti potrebbero spiegare questo effetto [Alexeeff et al. 2007]. In alternativa, ciò potrebbe essere la conseguenza di azioni sulle cellule epiteliali alveolari di tipo II analoghe a quelle sulle cellule endoteliali [Hill et al. 2003].

L) Reni

“I cambiamenti nei reni causati dall’età sono manifestati macroscopicamente da una riduzione nel peso del rene e una perdita della massa parenchimale. Secondo Oliver, il peso medio dei due reni in differenti gruppi di età è come segue: 60 anni, 250 g; 70 anni, 230 g; 80 anni, 190 g. Il calo in peso nei reni corrisponde a un calo generale nelle dimensioni e nel peso di tutti gli organi. Microscopicamente, i cambiamenti che più colpiscono sono la riduzione nel numero e nelle dimensioni dei nefroni. La perdita della massa parenchimale porta a un allargamento degli spazi interstiziali tra i tubuli. Con l’età, vi è anche un aumento nel tessuto connettivo interstiziale. Il numero totale di glomeruli identificabili cala con l’età, pressappoco in accordo con i cambiamenti nel peso renale.” [Jassal et al. 1998]

La microalbuminuria, un affidabile segnale di nefropatia è “predittiva, indipendentemente dai tradizionali fattori di rischio, per la mortalità da ogni causa e per quella cardiovascolare, e per gli eventi della malattia cardiovascolare entro gruppi di pazienti con diabete e ipertensione e nella popolazione generale ... Ciò può ... significare disfunzione endoteliale sistemica che predispone a futuri eventi cardiovascolari.” [Weir 2007b].

M) Tipi di cellule senza ricambio

M-1) Cellule fotorecetrici

Le cellule fotorecetrici (coni e bastoncelli) sono cellule nervose altamente differenziate senza ricambio cellulare ma metabolicamente dipendenti da altre cellule con ricambio cellulare, le cellule dell’epitelio pigmentato della retina (CEPR), che sono gliociti altamente differenziati.

Ogni giorno, con una straordinaria attività metabolica, ciascuna CEPR fagocita circa il 10% delle membrane con sopra molecole di fotopsina di circa 50 fotorecettori. A causa del declino correlato con l’età del ricambio delle CEPR, il venir meno della loro funzione uccide i fotorecettori non più serviti [Berger et al. 1999]. Ciò è manifestato innanzitutto nella funzionalità della parte più sensitiva della retina, la macula, da cui il nome “degenerazione maculare legata all’età” (DM) [Fine et al. 2000].

La DM colpisce il 5%, il 10% e il 20% dei soggetti rispettivamente con 60, 70 e 80 anni d'età [Berger et al. 1999], ed è verosimile che una larga porzione degli individui più anziani è affetta dalla DM.

I fattori di rischio per le cellule endoteliali come fumo, diabete e obesità sono fattori di rischio anche per la DM [Klein et al. 2007].

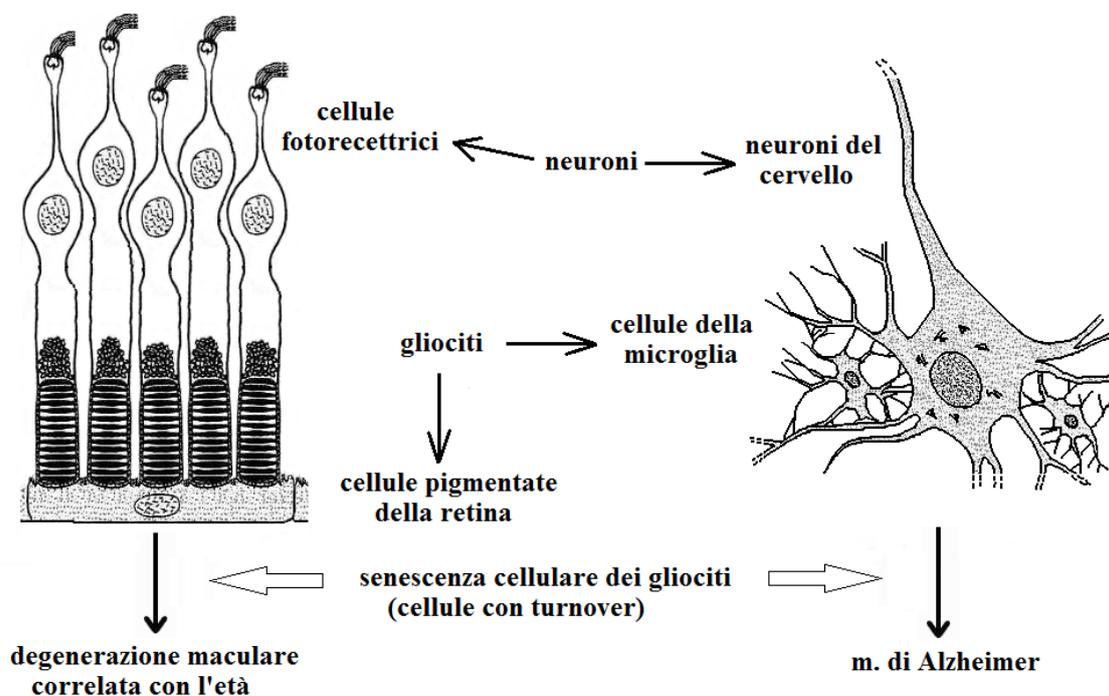


Figura 5 – Alcune cellule fotorecentriche della retina e un neurone del cervello (entrambi tipi specializzati di neuroni) serviti da due tipi di gliociti differenziati, le cellule dell'epitelio pigmentato della retina (CEPR) e le cellule della microglia. La senescenza cellulare delle CEPR e delle cellule della microglia causano rispettivamente la degenerazione maculare legata all'età (DM) e la malattia di Alzheimer (MA).

M-2) Neuroni del sistema nervoso centrale

I neuroni sono cellule perenni ma la loro vitalità dipende da altre cellule (ad esempio, le cellule della microglia, un tipo di gliociti) che sono soggette a rinnovo cellulare. E' stata proposta l'ipotesi che la malattia di Alzheimer (MA) è causata dalla senescenza cellulare delle cellule della microglia [Fossel 1996, 2004; Libertini 2009a; Flanary 2009].

Le cellule della microglia degradano la proteina β -amiloide [Qiu et al. 1998; Vekrellis et al. 2000] ed è noto che questa funzione è alterata nella MA [Bertram et al. 2000] con il conseguente dannoso accumulo della proteina.

E' stato dimostrato che i telomeri sono significativamente più corti in pazienti con probabile MA nei confronti di soggetti di controllo apparentemente sani [von Zglinicki 2000]. La MA potrebbe avere, almeno parzialmente, un'eziologia vascolare dovuta a disfunzione endoteliale correlata con l'età [Fossel 2004], ma "Un modello basato sulla senescenza cellulare potrebbe spiegare la demenza di Alzheimer senza un coinvolgimento vascolare primario." [Fossel 2004]

Un interessante confronto tra MA e DM è possibile: entrambe sono probabilmente determinate dalla morte di cellule senza rinnovo cellulare come verosimile conseguenza del venir meno correlato con l'età di cellule con ricambio cellulare (Figura 5) [Libertini 2009a]. Inoltre la MA mostra una frequenza crescente correlata con l'età come la DM: essa colpisce l'1,5% della popolazione degli USA e dell'Europa all'età di 65 anni e il 30% a 80 anni [Gorelick 2004] e un centenario ha un'alta probabilità di esserne affetto.

M-3) Lente del cristallino

Il cristallino dell'occhio non ha cellule nella sua parte centrale ma la sua funzionalità dipende dalle cellule dell'epitelio della lente che hanno ricambio cellulare [Gorelick 2004]. "Molti ricercatori hanno evidenziato alterazioni post-traslazionali di proteine del cristallino di lunga vita come la base per la cataratta oculare negli anziani. E' evidente nella sindrome di Werner che la cataratta deriva da alterazioni nelle cellule epiteliali del cristallino" [Martin e Oshima 2000], che è compatibile con la riduzione correlata con l'età dei potenziali di crescita delle cellule dell'epitelio del cristallino riportata per soggetti umani normali [Tassin et al. 1979].

Le statine riducono il rischio di cataratta nucleare, il tipo più comune di cataratta correlata con l'età [Klein et al. 2006]. Ciò è stato attribuito a "possibili proprietà antiossidative" [Klein et al. 2006], ma potrebbe essere la conseguenza di effetti sulle cellule epiteliali della lente analoghi a quelli sulle cellule endoteliali [Hill et al. 2003].

N) Altri organi o tessuti

La disfunzione del telomero per cellule in senescenza replicativa, in particolare quelle, per lo più epiteliali, con alti ritmi di rinnovo cellulare, è una causa significativa di cancro negli individui più anziani [DePinho 2000].

Tabella 1 – Manifestazioni dell'invecchiamento e sue patologie

Abbreviazioni: MA = m. Alzheimer;

DM = degenerazione maculare correlata con l'età.

Tipo di cellula	Manifestazioni dell'invecchiamento [Tallis et al. 1998; Fillit et al. 2010]	Fattori di rischio e loro effetti (si vedano i riferimenti nella sezione "Invecchiamento nella nostra specie")	Sindrome di Werner [Martin e Oshima 2000]	Discheratosi congenita [Marciniak e Guarente 2001]
Cellule endoteliali	Aterosclerosi (→ infarto miocardico e altri problemi vascolari)	Fumo, ipertensione, ipercolesterolemia, diabete (→ aterosclerosi)	Aterosclerosi	
Cellule alveolari di tipo II	Enfisema	Fumo, inalazione cronica di sostanze nocive (bronchite cronica, enfisema);		Fibrosi
Miociti cardiaci	Insufficienza cardiaca	Miocardite (→ cardiomiopatia dilatativa)		
Cellule della cute	Atrofia della cute	Eccessiva esposizione al sole (→ invecchiamento della pelle da esposizione al sole)	Atrofia della cute, atrofia regionale del tessuto sottocutaneo, ulcerazioni in parti esposte a traumi	Pigmentazione anormale, distrofia ungueale
Cellule glomerulari	Insufficienza renale	Lo stesso come per le cellule endoteliali (→ insufficienza renale)		
Epatociti	Atrofia epatica	Epatite cronica, alcolismo (→ cirrosi)		Cirrosi, carcinoma epatico

Cellule intestinali	Atrofia intestinale			Disturbi intestinali
Cellule epiteliali del cristallino	Cataratta	Esposizione alle radiazioni (→ cataratta)	Cataratta	
Cellule della microglia	MA	Lo stesso come per le cellule endoteliali (→ MA)		
Cellule pigmentate della retina	DM	Lo stesso come per le cellule endoteliali (→ DM)		
Miociti	Atrofia muscolare	Specifici difetti genetici (→ distrofie muscolari)	atrofia muscolare	
Osteoblasti	Osteoporosi		Osteoporosi	
Cellule β del pancreas	Diabete latente o lieve	Iperalimentazione, infezioni virali specifiche	Diabete mellito tipo 2	
Capelli	Progressiva calvizie		Prematuro invecchiamento e diradamento dei capelli	Alopecia
Testicoli	Diminuita fertilità, atrofia testicolare		Diminuita fertilità, prematura atrofia testicolare	Ipogonadismo
Midollo osseo	Riduzioni di vari tipi cellulari del sangue			Declino nella produzione delle cellule del sangue
Cavità orale	Atrofia della mucosa orale			Leucoplachia (lesione orale precancerosa)

Infine dovremmo considerare le innumerevoli complicazioni per molti organi derivanti dalla progressiva compromissione delle funzioni endoteliali, neuronali e immunitarie e, in generale, dall'intreccio del declino di più funzioni [Tallis et al. 1998].

Patologia del fenomeno invecchiamento

Come ogni funzione, l'invecchiamento deve avere la sua patologia. Ad esempio:

A) Vari fattori non genetici accrescono i tassi di apoptosi e di conseguenza le manifestazioni dell'invecchiamento (si vedano i "fattori di rischio" nella precedente sezione).

B) Tra le varie malattie genetiche che si manifestano con le caratteristiche dell'invecchiamento, due sono particolarmente interessanti: la discheratosi congenita (DC) la sindrome di Werner (SW). Nella DC, vi è un difetto ereditario nella funzionalità della telomerasi: "i problemi tendono a capitare nei tessuti in cui le cellule si moltiplicano rapidamente – cute, unghie, capelli, intestino e midollo osseo ... I soggetti con DC, così come i topi con deficienza di telomerasi nelle ultime generazioni, sono affetti anche da un'alta incidenza di cancro. Ciò può essere analogamente spiegato dalla carenza di telomerasi, che ha come esito cromosomi instabili - nei soggetti affetti da DC e nei topi mutanti, molti cromosomi si fondono insieme per gli estremi -, probabilmente perché gli estremi dei loro telomeri sono erosi (de Lange e Jacks 1999)" [Marciniak e Guarente 2001]. Nella DC, non vi è alterazione nei tessuti in cui non vi è espressione della telomerasi. Al contrario, nella SW, vi sono problemi per il processo di ricombinazione del DNA e di conseguenza per la preservazione del telomero, e la malattia mostra alterazioni per i tessuti con più moderato ricambio cellulare e caratteristiche più vicine a quelle dell'invecchiamento normale [Martin e Oshima 2000; Marciniak e Guarente 2001].

Questi fatti sono riassunti nella Tabella 1.

Conclusioni

Più di un secolo fa, Weismann propose che l'invecchiamento era causato da una limitazione nelle capacità replicative delle cellule determinata dall'evoluzione [Weismann 1892]. Come ben discusso altrove [Kirkwood e Cremer 1982], i famosi esperimenti sbagliati di Carrel ed Ebeling [Carrel 1913; Carrel ed Ebeling 1921a, 1921b], le incertezze e le contraddizioni dello stesso Weismann e varie obiezioni teoriche cancellarono questa ipotesi e anche il suo ricordo nella comunità scientifica.

Nel 1959, il grande fisico Leo Szilard propose che, per azione di alcuni fattori, le cellule somatiche decrescono progressivamente come numero in relazione all'età e che questo fosse il fattore chiave nell'invecchiamento [Szilard 1959]. In tempi recenti, questa idea è stata sviluppata e rafforzata da dati sperimentali [Skulachev 2012].

Ciò mostra che l'importanza della relazione tra invecchiamento e il declino del numero delle cellule in relazione all'età è già stata prospettata da altri. Comunque, la questione principale è se questa correlazione e le sue cause sono a sostegno o contro, compatibili o incompatibili, con ciascuno dei due opposti paradigmi.

La morte cellulare programmata, la senescenza cellulare graduale e il programma di senescenza cellulare, i limiti nella duplicazione cellulare (variabili in base al tipo di cellula e influenzati da varie condizioni fisiologiche e patologiche), il ricambio cellulare e le sue limitazioni (variabili in base al tipo di cellula) sono tutti fenomeni geneticamente determinati e regolati (con evidenti differenze fra le varie specie).

Alcuni aspetti di questi fenomeni non hanno alcuna giustificazione in termini di fattori fisiologici se non quella di essere elementi determinanti dell'invecchiamento. In particolare i sostenitori del vecchio paradigma cercano di giustificare i limiti nella replicazione cellulare interpretandoli come una difesa generale contro il cancro [Campisi 1997; Wright e Shay 2005].

Contro tale ipotesi:

- le specie con senescenza non rilevabile (vale a dire con individui che non mostrano alcuna alterazione in relazione all'età) non hanno alcuna riduzione dell'attività telomerasica in funzione dell'età e nessun incremento nella mortalità dovuta al cancro [Libertini 2008];
- nella specie umana studiata in condizioni naturali, il decadimento della fitness (o incremento della mortalità, o invecchiamento) raggiunge livelli significativi senza una contemporanea rilevabile incidenza della mortalità da cancro. Non è sostenibile che una difesa contro il cancro uccida larga parte della popolazione prima che il cancro come causa di morte diventi rilevabile [Libertini 2013].

Inoltre l'anzidetta giustificazione è ancora più inverosimile come spiegazione:

- della senescenza cellulare graduale e del programma di senescenza cellulare e dei relativi effetti dannosi;
- della funzione regolatrice del DNA subtelomerico (una condizione indispensabile per la senescenza cellulare graduale), vale a dire la posizione

di parti chiave del DNA laddove esse sono più vulnerabili quando il telomero si accorcia.

I meccanismi geneticamente determinati e regolati, che qui sono stati esposti sommariamente, sono una verosimile causa del progressivo deterioramento correlato con l'età di tutte le funzioni, vale a dire dell'invecchiamento. La loro esistenza è prevista dal nuovo paradigma e invero essi sono essenziali per la sua validità.

Al contrario, meccanismi di tale natura non sono previsti dal vecchio paradigma e sono inoltre in completo contrasto con lo stesso.

La spiegazione dell'invecchiamento mediante il nuovo paradigma permette:

- un'interpretazione razionale e coerente delle manifestazioni dell'invecchiamento, ivi comprese le sue patologie (ad esempio, MA, DM, discheratosi congenita, sindrome di Werner);
- la prospettiva di poter modificare le manifestazioni dell'invecchiamento e anche di ottenere un pieno controllo dell'invecchiamento mediante procedure scientifiche che sono tecnicamente attuabili [Libertini 2009a, 2009b]. L'esposizione e la discussione di quest'ultima possibilità, già brevemente discussa altrove [Libertini 2009a, 2009b], è comunque al di là dei limiti di tempo e di argomento di queste pagine.

Capitolo VII

Evidenza empirica e argomenti teorici a sostegno o contro i due paradigmi dell'invecchiamento (non programmato e programmato)

Riassunto

Vi sono due opposti paradigmi per giustificare l'invecchiamento, qui precisamente definito come "incremento progressivo della mortalità (ossia declino della fitness) correlato con l'età, in condizioni naturali". Il primo paradigma (invecchiamento non programmato) sostiene che la selezione naturale è incapace di preservare la fitness man mano che l'età aumenta. Il secondo paradigma (invecchiamento programmato) asserisce che, in particolari condizioni ecologiche, la selezione naturale favorisce specifici meccanismi per limitare la durata della vita. Le previsioni derivate dai due paradigmi sono piuttosto differenti e spesso opposte. Un insieme di dati empirici e alcune considerazioni teoriche (non universalità dell'invecchiamento; grande variazione fra le specie dei ritmi di invecchiamento; effetti della restrizione calorica sulla durata media della vita; danno esplicito dall'invecchiamento sugli individui che invecchiano ma suo vantaggio in termini di selezione sovraindividuale; esistenza del declino della fitness correlato con l'età in condizioni naturali; nel confronto fra diverse specie, riduzione della vita media a causa delle morti dovute alla mortalità intrinseca inversamente correlata con la mortalità estrinseca; impossibilità di spiegare il declino della fitness correlato con l'età come la conseguenza di geni che sono dannosi a una certa età; declino progressivo correlato con l'età delle capacità di rinnovo cellulare; senescenza cellulare; senescenza cellulare graduale) sono confrontate con le previsioni dei due paradigmi ed è considerata la loro compatibilità con ciascun paradigma. Il risultato è che gli anzidetti dati empirici e le considerazioni teoriche sono in forte contrasto e sconfessano in molti modi tutte le teorie appartenenti al primo paradigma. Al contrario, essi sono in accordo o compatibili con le previsioni del secondo paradigma.

Introduzione

L'invecchiamento, qui definito come "incremento della mortalità con il crescere dell'età cronologica in popolazioni allo stato selvatico" [Libertini 1988], o "progressivo incremento della mortalità - vale a dire declino della

fitness - correlato con l'età, allo stato naturale", è un fenomeno che è interpretato in due modi completamente opposti [Libertini 2008].

Il primo, qui definito come "vecchio paradigma" o paradigma dell'invecchiamento non programmato, vede l'invecchiamento come dovuto a un insieme di fattori dannosi che, con il passare del tempo, progressivamente minano l'efficienza dell'organismo. Le azioni dannose sono contrastate da meccanismi riparativi favoriti dalla selezione naturale, ma ciò è sufficiente solo in parte e in misura decrescente nelle età più anziane. Per alcune ipotesi la selezione naturale contro l'invecchiamento è frenata da geni pleiotropici o da contrastanti esigenze fisiologiche e biochimiche.

Il secondo, qui definito come "nuovo paradigma" o paradigma dell'invecchiamento programmato, vede il graduale declino delle funzioni vitali come un fenomeno geneticamente programmato, vale a dire qualcosa che è determinato e modellato dalla selezione naturale in quanto è vantaggioso in particolari condizioni ecologiche.

L'evidenza empirica a sostegno o contro i due opposti paradigmi è già stata discussa in precedenza [Libertini 2008]. Qui si vuole aggiornare e approfondire la discussione alla luce di quanto è successivamente emerso.

In questo lavoro per quanto concerne il vecchio paradigma, le principali ipotesi, o categorie di ipotesi, saranno considerate:

- *Ipotesi dell'Accumulo del Danno.* L'invecchiamento è causato dall'accumulo di danni di vario tipo. Le ipotesi più datate interpretavano l'invecchiamento come causato da usura meccanica oppure da vari tipi di danno biochimico e/o di degenerazione dei tessuti, ad esempio "usura e danneggiamento" senza ulteriori specificazioni, deterioramento meccanico-chimico nelle cellule colloidali, cambiamenti in specifici organi o tessuti (nervoso, endocrino, vascolare, connettivo, etc.), accumulo di sostanze tossiche prodotte dai batteri intestinali, accumulo di vari metaboliti, effetto di raggi cosmici, etc. [Comfort 1979].

Le teorie più recenti spiegano l'invecchiamento come una conseguenza dell'accumulo di danno chimico dovuto a errori nella trascrizione del DNA [Weinert e Timiras 2003], oppure come causato da effetti ossidativi dei radicali liberi sull'intero organismo [Harman 1972; Croteau e Bohr 1997; Beckman e Ames 1998; Oliveira et al. 2010] o 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].

- *Ipotesi della Cessazione della Crescita Somatica*. Per organismi con una crescita prestabilita, vale a dire che termina quando una determinata taglia è stata conseguita, la senescenza inizia quanto la crescita di nuovi tessuti si ferma. Al contrario, per le specie la cui crescita è senza un limite, come per molti vertebrati inferiori, non vi è alcun declino della fitness correlato con l'età [Minot 1907; Carrel ed Ebeling 1921a; Brody 1924; Bidder 1932; Lansing 1948, 1951].

- *Ipotesi dell'Accumulo di Mutazioni*. L'invecchiamento è dovuto all'effetto congiunto di molti geni dannosi che agiscono tardi nella vita e sono insufficientemente eliminati dalla selezione naturale [Medawar 1952; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Mueller 1987; Partridge e Barton 1993].

- *Ipotesi della Pleiotropia Antagonistica*. L'invecchiamento è causato da geni che sono contemporaneamente vantaggiosi in gioventù o nello stato adulto e svantaggiosi nelle età successive, e pertanto sono solo parzialmente contrastati dalla selezione naturale [Williams 1957; Rose 1991].

- *Ipotesi del Soma Disponibile*. Restrizioni fisiologiche e/o biochimiche limitano e ostacolano il mantenimento di un'ottimale efficienza dei sistemi di manutenzione dell'organismo nell'età anziana. Il corpo, nella ripartizione di limitate risorse - non ben definite nella loro natura - deve scegliere fra una maggiore capacità riproduttiva e una maggiore efficienza dei sistemi di manutenzione. Di conseguenza le limitate risorse compromettono la conservazione di un'efficienza ottimale nell'età anziana [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979].

- *Ipotesi dell'Invecchiamento Quasi-Programmato* [Blagosklonny 2006]. Per questa teoria, una variante dell'ipotesi del Soma Disponibile: “la natura seleziona ciecamente per i benefici a breve termine di una forte crescita inerente allo sviluppo ... l'invecchiamento è una continuazione inutile e senza scopo della crescita inerente allo sviluppo” [Blagosklonny 2013].

Per quanto riguarda il nuovo paradigma:

- Il concetto che l'invecchiamento ha le caratteristiche di un adattamento, vale a dire di qualcosa determinato e modulato dalla selezione naturale, è stato sottolineato da vari Autori [Skulachev 1997; Bredesen 2004; Mitteldorf 2004; Longo et al. 2005]. Skulachev coniò il pregnante neologismo “fenoptosi” [Skulachev 1999a] per definire il vasto e ben noto [Finch 1990] gruppo di fenomeni in cui un individuo sacrifica se stesso o

un vicino parente mediante meccanismi favoriti dalla selezione naturale a un livello sovraindividuale [Skulachev 1997, 1999a; Libertini 2012a].

- Fu Wallace, lo scopritore insieme a Darwin dell'evoluzione per selezione naturale, che, nel 1865-1879, propose la morte per invecchiamento come fenomeno programmato [Skulachev e Longo 2005]. Nel 1889, Weismann, sebbene senza una precisa esposizione e senza alcuna solida prova, propose che l'invecchiamento era evoluzionisticamente utile in quanto la morte degli individui anziani liberava spazio per la generazione successiva [Weismann 1889; Kirkwood e Cremer 1982]. Inoltre, a riguardo dei meccanismi dell'invecchiamento, suggerì che il ricambio cellulare rallentava o si fermava nell'età più anziana e che questo determinava una perdita di funzionalità per i tessuti e gli organi e di conseguenza il declino della fitness [Kirkwood e Cremer 1982]. Successivamente però egli ripudiò queste idee rivoluzionarie [Weismann 1892; Kirkwood e Cremer 1982].

- Nel 1988 (anticipato nel 1983 da un libro non sottoposto a giudizio da parte di pari [Libertini 1983]), fu proposta una teoria che spiegava l'invecchiamento come adattativo in termini di selezione di parentela in popolazioni strutturate nello spazio [Libertini 1988]. In seguito, fu ribadita questa ipotesi, che per la prima volta prevedeva una relazione inversa fra la mortalità estrinseca e la proporzione della riduzione della vita media dovuta alle morti per senescenza [Libertini 2006, 2008, 2009a, 2013].

- Altre teorie che sottolineano un vantaggio evolutivo per la morte programmata in popolazioni strutturate nello spazio furono proposte nel 2004 e successivamente [Travis 2004; Martins 2011; Mitteldorf e Martins 2014].

- Nel contesto dell'invecchiamento interpretato come un fenomeno programmato favorito dalla selezione naturale, il danno indotto dai ROS mitocondriali fu visto come il meccanismo chiave [Skulachev 1999b, 2001, 2005].

- Un'altra teoria, sulla scia dell'intuizione di Weismann, sostiene che l'invecchiamento è favorito dalla selezione naturale perché aumenta la potenzialità di evoluzione, ossia l'evolubilità [Goldsmith 2004, 2008a].

- Nel 2009, l'invecchiamento fu interpretato come un adattamento per limitare la diffusione delle malattie, in analogia con l'ipotesi della Regina Rossa sul significato adattativo del sesso [Mitteldorf e Pepper 2009].

- Nel 2008 furono evidenziate alcune logiche previsioni in comune fra tutte le ipotesi a riguardo dell'invecchiamento programmato: i) l'esistenza di specie senza incremento della mortalità correlato con l'età; ii) nel confronto fra specie differenti, una relazione inversa fra la mortalità estrinseca e la

proporzione della riduzione della vita media dovuta alle morti per senescenza; iii) l'esistenza di meccanismi specifici, geneticamente determinati e modulati, che causano l'invecchiamento. Inoltre fu sottolineato che: (i) sarebbe stato difficilmente giustificabile da una delle tante teorie dell'invecchiamento non programmato; (ii) e (iii) erano in completo contrasto con le stesse [Libertini 2008].

Evidenza empirica e argomenti a sostegno o contro i due paradigmi

In questa sezione saranno considerati vari argomenti teorici e fenomeni ben documentati. Ognuno di loro sarà valutato nel confronto con le previsioni dei due paradigmi, esaminando la loro compatibilità o incompatibilità con ciascuno di essi.

1) Non universalità dell'invecchiamento

Evidenza empirica: In un suo autorevole testo, Finch riporta, allo stato selvatico, per molte specie (che comprendono piante vascolari, invertebrati e vertebrati) "longevità illimitata e senescenza non rilevabile", vale a dire una curva di sopravvivenza senza alcun incremento di mortalità correlato con l'età [Finch 1990]. In alcuni casi, in relazione con un incremento della taglia corporea correlato con l'età, che riduce il rischio di morte per predazione da parte di altre specie, il tasso di mortalità addirittura decresce nelle età più anziane [Vaupel et al. 2004].

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: Secondo le varie teorie del vecchio paradigma, l'invecchiamento dovrebbe essere presente in tutte le specie in cui le cause ipotizzate sono presenti. Le eccezioni dovrebbero essere spiegate con precisione, in particolare nei termini della correlazione tra assenza/presenza dell'invecchiamento con assenza/presenza della causa ipotizzata. I dati non sembrano giustificare le numerose eccezioni documentate.

Per quanto riguarda le molte ipotesi sull'invecchiamento, non evolutivistiche e più datate, che sono basate sugli assunti dell'accumulo di danni, è sufficiente consultare il ben documentato testo classico di Comfort [Comfort 1979]: l'assenza di declino della fitness correlato con l'età mostrata da molte specie in condizioni selvatiche non è per niente considerato o giustificato da queste teorie. Un'eccezione è il gruppo di teorie che spiegano l'invecchiamento come causato dall'arresto della crescita somatica. Bidder evidenziò che, per molti vertebrati inferiori, non vi era alcun incremento della mortalità correlato con l'età e suggerì che vi

era “qualche meccanismo per arrestare la crescita naturale non appena una specifica taglia era raggiunta. Questo meccanismo può essere chiamato il regolatore ... la senescenza è il risultato dell’azione continuata del regolatore dopo che la crescita è arrestata” [Bidder 1932].

Per quanto riguarda le ipotesi “più nuove”, almeno per quelle che dichiarano di considerare le dinamiche evoluzionistiche, l’insufficiente attenzione a riguardo della non universalità dell’invecchiamento e la mancanza di plausibili spiegazioni per tale fenomeno è già stata sottolineata da altri: “La possibilità della senescenza non rilevabile non è stata largamente discussa e può essere in contrasto con le deduzioni matematiche della teoria della genetica di popolazioni” [Finch e Austad 2001].

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: In base al nuovo paradigma, quando sono assenti le condizioni ecologiche per l’ipotizzato vantaggio dell’invecchiamento, la selezione naturale favorisce sempre gli individui con la migliore capacità di sopravvivenza, o fitness, fino alle età in cui, allo stato selvatico, la frazione di individui sopravvissuti è così piccola da rendere la selezione inefficace. Pertanto, in assenza di particolari circostanze selettive che favoriscono restrizioni della durata della vita, la condizione base è quella del non invecchiamento, vale a dire la fitness non dovrebbe mostrare un declino correlato con l’età per quei periodi della vita esistenti in condizioni naturali.

Al contrario, una durata della vita con limiti programmati (vale a dire geneticamente determinati e controllati, o influenzati in base a specifici periodi, o condizionati da eventi particolari), entro quella larga categoria di fenomeni ora in generale definiti come “fenoptosi” [Skulachev 1997], descritti da Finch e da tempo conosciuti dai ricercatori [Finch 1990], è una condizione evoluta che esige specifici vantaggi evoluzionistici, ovviamente in termini di selezione sovraindividuale.

In breve, i casi di non invecchiamento, che per il vecchio paradigma costituiscono un vasto gruppo di eccezioni alla regola generale dell’invecchiamento per tutte le specie (con discutibili tentativi di giustificarli), al contrario, per il nuovo paradigma costituiscono la condizione più semplice, la condizione base, da cui si sono evolute molte eccezioni quando particolari condizioni ecologiche hanno favorito uno dei vari tipi di fenoptosi.

2) Grande variazione dei ritmi di invecchiamento nel confronto fra le specie

Evidenza empirica: Tra le specie con individui che invecchiano, vi è un'ampia variazione dei ritmi di invecchiamento, anche all'interno dello stesso *phylum*. Per comodità di discussione, è opportuno precisare che il ritmo di invecchiamento è inversamente correlato con la durata media della vita (VM).

La VM: (A) è correlata con il peso del corpo dell'adulto nei vertebrati [Bourlière 1957, 1960; Sacher 1959]; (B) è correlata con il peso del cervello dell'adulto nei mammiferi (con verosimile correlazione con la capacità di apprendimento) [Sacher 1959; Comfort 1979]; (C) non risulta inversamente correlata con il tasso metabolico (ad esempio, gli uccelli hanno un alto tasso metabolico e spesso una lunga VM) [Comfort 1979].

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: Per ciascuna teoria il ritmo dell'invecchiamento dovrebbe dipendere dalla causa ipotizzata per il fenomeno. Per molte teorie più datate e non evoluzionistiche vi è una chiara contraddizione oppure assenza di correlazione tra i tassi di invecchiamento e le cause ipotizzate [Comfort 1979].

Molte delle più recenti teorie evoluzionistiche del vecchio paradigma potrebbero essere compatibili con (A) e (B) (una maggiore massa corporea e una maggiore capacità di apprendimento implicano pressioni selettive più forti in favore di una maggiore VM), ma non appaiono compatibili con (C) [Comfort 1979].

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: La VM deve dipendere dalle condizioni ecologiche che favoriscono l'invecchiamento. Inoltre, nel bilancio tra benefici (sovraindividuali) e svantaggi (individuali) dell'invecchiamento, sia una maggiore massa corporea sia una maggiore capacità di apprendimento aumentano gli svantaggi di una minore VM e pertanto (A) e (B) sono previsti e giustificati [Libertini 1988]. Al contrario, (C) non è previsto e non è necessario.

3) Effetti della restrizione calorica sulla durata della vita

Evidenza empirica: Da molto tempo è noto che gli animali allevati in condizioni di restrizione calorica (RC) hanno una maggiore durata della vita rispetto ad animali che si nutrono *ad libitum* [McCay et al. 1935; Ribarič 2012; Lee e Min 2013]. E' possibile interpretare questo dato come una correlazione tra RC e aumento della durata della vita o, in alternativa, nei modi seguenti: 1) E' un fenomeno artificiale dovuto all'eccesso di nutrimento degli animali di controllo poiché la condizione normale (vale a dire quella che esiste allo stato selvatico) è equivalente alla RC e "invece di confrontare animali di controllo con animali con nutrizione ristretta, in

effetti stiamo confrontando animali nutriti in eccesso con animali adeguatamente nutriti e, non sorprendentemente, quelli nutriti in eccesso muoiono più giovani.” [Austad 2001]; 2) La nutrizione *ad libitum* è, in effetti, un’iperalimentazione, che riduce la durata della vita in quanto favorisce varie condizioni patologiche [Ribarič 2012; Masoro 2005]; 3) L’aumento della durata della vita è solo un artefatto di laboratorio in quanto la RC in condizioni naturali non avrebbe l’effetto di accrescere la durata della vita [Adler e Bonduriansky 2014].

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: In base all’ipotesi del Soma Disponibile, l’invecchiamento è dovuto alla ridotta disponibilità di risorse che obbliga a una scelta evuzionistica, cioè se indirizzare le limitate risorse verso la riproduzione o verso la sopravvivenza. Favorendo la riproduzione, le risorse destinate alle riparazioni dell’organismo risultano ridotte e l’invecchiamento ne è la conseguenza. Da ciò deriva che una riduzione delle risorse dovrebbe portare a una riduzione della longevità e viceversa. Gli effetti della RC appaiono essere un aumento, o per lo meno la non riduzione della durata della vita. Qualunque sia l’interpretazione del fenomeno, l’evidenza empirica non appare compatibile con le previsioni dell’ipotesi del Soma Disponibile. Una speciale formulazione di tale teoria è stata proposta per risolvere questa contraddizione [Kirkwood et al. 2000], ma la soluzione ipotizzata è stata criticata come contraddittoria e insufficiente [Mitteldorf 2001].

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: Per il nuovo paradigma, l’invecchiamento non è dipendente dalla maggiore o minore disponibilità di calorie o di altre risorse metaboliche come fattori limitanti. In accordo con ciò, gli effetti della RC non sono in contraddizione con il nuovo paradigma, qualunque sia l’interpretazione di questi effetti e il meccanismo che li causa. Questo non esclude (al contrario, è previsto come verosimile) che condizioni ecologiche a cui una specie non è adattata (ad esempio, un eccesso di nutrimento) possano essere dannose e pertanto ridurre la durata della vita [Libertini 2009b].

4) Danno dell’invecchiamento per gli individui che invecchiano ma suo vantaggio in termini di selezione sovraindividuale

Evidenza empirica: L’osservazione naturale mostra uno straordinario numero di fenomeni in cui un individuo, o un diretto consanguineo, è chiaramente sacrificato [Finch 1990]. Ciò prova al di là di ogni dubbio che la selezione naturale può favorire fenomeni che sono del tutto ingiustificabili in termini di pura selezione individuale.

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: Autorevoli sostenitori del vecchio paradigma, in un importante giornale scientifico, dichiararono inverosimile che fenomeni dannosi per l'individuo potessero essere favoriti dalla selezione naturale: “qualsiasi ipotetico ‘gene che accelerasse l'invecchiamento’ sarebbe svantaggioso per l'individuo. Pertanto è difficile vedere come geni per un invecchiamento accelerato potrebbero essere mantenuti in un equilibrio stabile, poiché gli individui in cui i geni fossero inattivati da mutazioni godrebbero di un vantaggio selettivo” [Kirkwood e Austad 2000]. Più recentemente questa convinzione è stata confermata: “La natura anomala dell'invecchiamento come apparente adattamento è che esso è dannoso per l'individuo in cui il processo si manifesta. Un animale che cresce fino alla maturità e dopo si riproduce per un tempo indefinito ha, a parità di altre condizioni, una maggiore fitness darwiniana di un altro che cresce fino alla maturità e poi sopravvive e si riproduce solo per un periodo limitato.” [Kirkwood e Melov 2011]

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: Fenomeni in cui un individuo sacrifica se stesso o un diretto consanguineo, sebbene ampiamente conosciuti e descritti da tempo [Finch 1990], solo in un periodo alquanto recente sono stati definiti complessivamente con il termine unificante di “fenoptosi” [Skulachev 1997], con l'esplicita affermazione che questi fenomeni sono geneticamente determinati e nel frattempo dannosi per l'individuo interessato (o per i suoi diretti consanguinei [Libertini 2012a]). Il nuovo paradigma sostiene che l'invecchiamento è solo uno tra molti tipi di fenomeni fenoptotici (“fenoptosi lenta” nella definizione di Skulachev [Skulachev 2002b]), e pertanto deve necessariamente essere interpretato in termini di selezione sovraindividuale [Libertini 2012a]. L'erronea esclusione della possibilità che un carattere possa essere favorito dalla selezione naturale perché è dannoso a livello individuale (= fitness ‘darwiniana’ negativa) implica una concezione ristretta e del tutto inaccettabile dei meccanismi della selezione naturale [Skulachev 2002b; Libertini 2014b].

5) Esistenza in condizioni naturali del declino progressivo della fitness in correlazione con l'età

Evidenza empirica: Per molte specie animali, è ben documentato un progressivo incremento della mortalità in età che esistono in condizioni naturali [Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013]. Come esempio, la Figura 1 mostra la curva di sopravvivenza e la mortalità del leone (*Panthera leo*) allo stato selvatico.

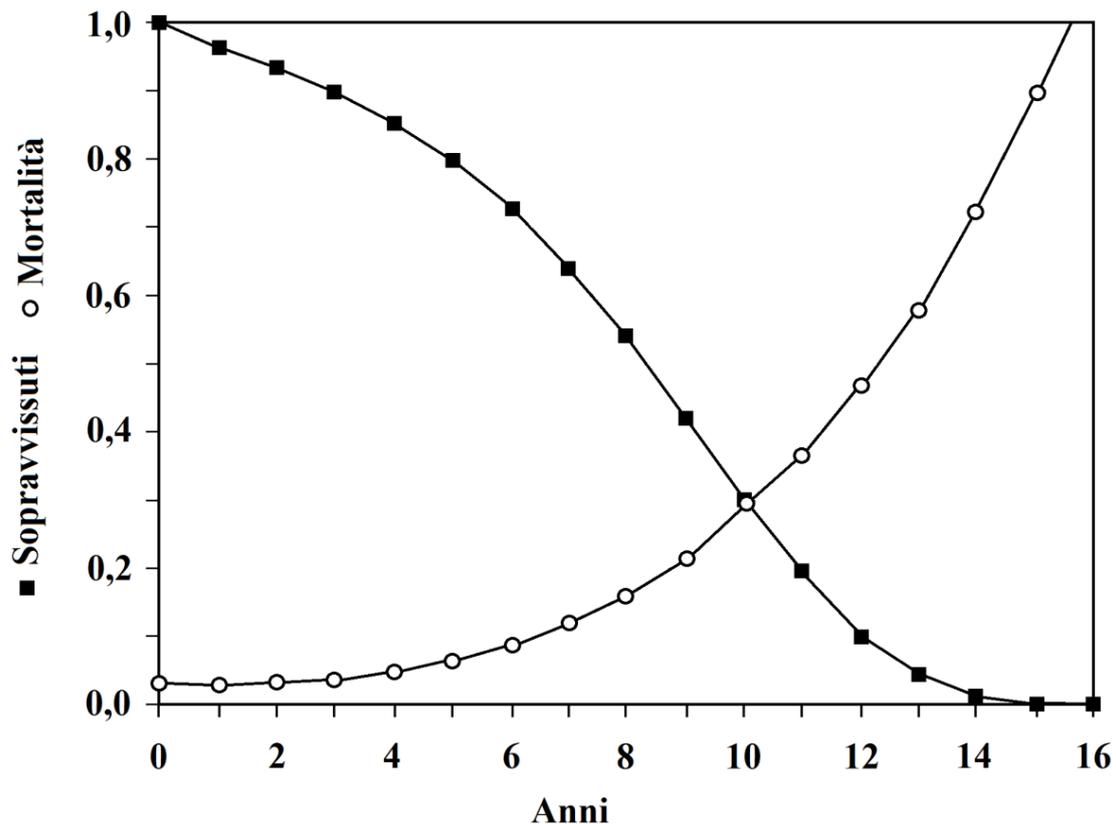


Figura 1 - Curva di sopravvivenza e mortalità del leone (*Panthera leo*) in condizioni naturali (dati da Ricklefs [Ricklefs 1998]).

Per la nostra specie, abbiamo i dati dallo studio di una popolazione umana (gli Ache del Paraguay) in condizioni naturali. Questo studio mostra che le frazioni di individui sopravvissuti alle età di 65, 70 e 75 anni, erano state rispettivamente il 27%, il 20% e il 12%. Escludendo gli individui che erano morti prima dei venti anni d'età, i sopravvissuti alle stesse età erano stati rispettivamente il 42%, il 32% e il 18% (si veda la Figura 2) [Hill e Hurtado 1996].

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: In un articolo pubblicato su *Nature* nel 2000, influenti sostenitori del vecchio paradigma, dichiararono l'impossibilità di un vantaggio evolutivistico di qualsiasi tipo per l'invecchiamento perché: "vi è scarsa evidenza che la senescenza contribuisca significativamente alla mortalità in condizioni naturali ... Di regola gli animali selvatici semplicemente non vivono abbastanza a lungo da diventare vecchi ... Pertanto la selezione naturale ha limitata opportunità di esercitare una diretta influenza sul processo della senescenza" [Kirkwood e Austad 2000].

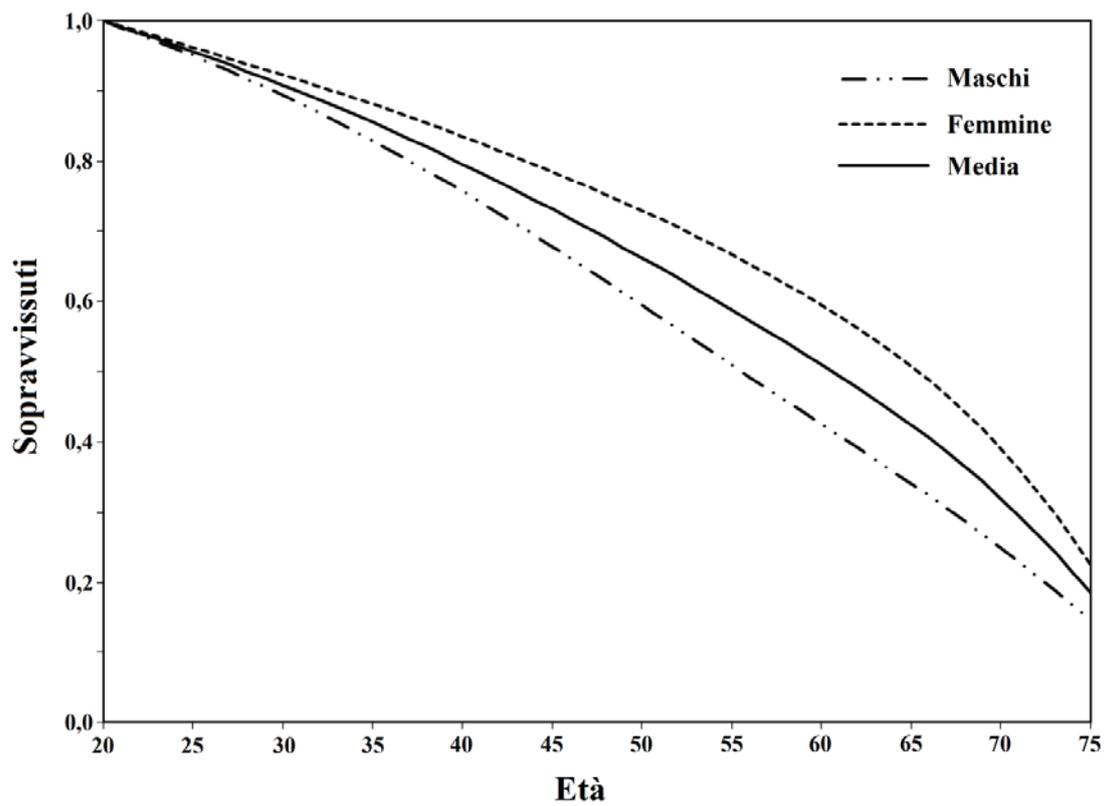
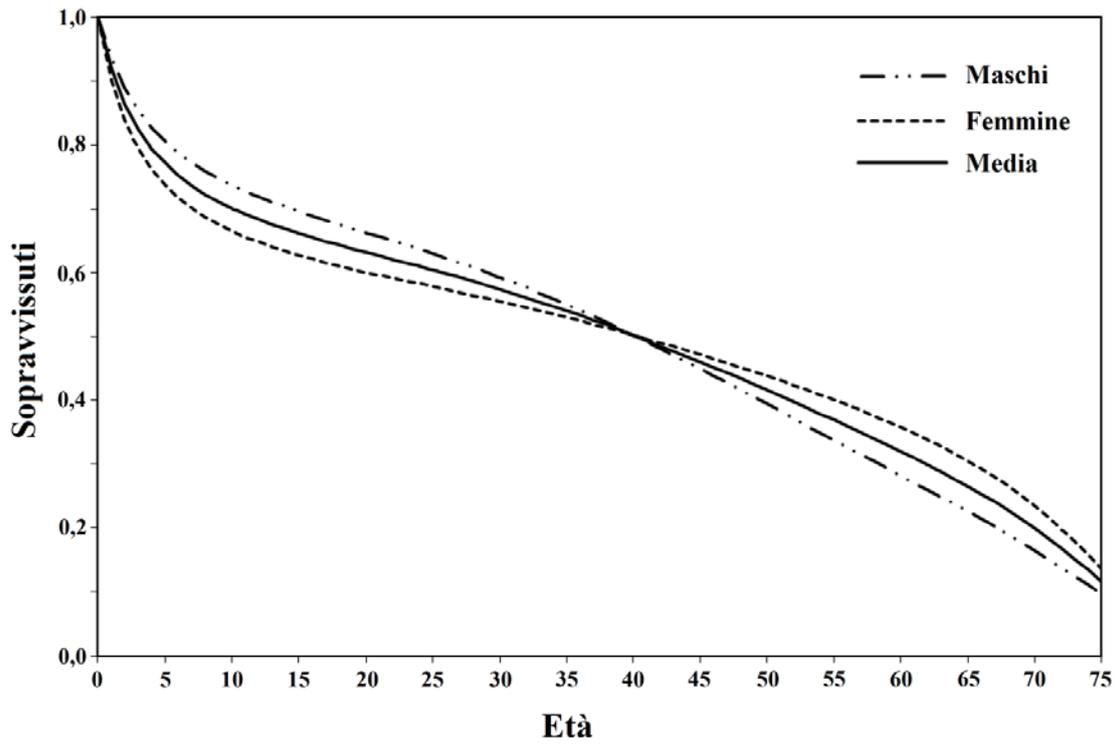


Figura 2 – Curva di sopravvivenza di *Homo sapiens* in condizioni di vita selvatica: sopra, tutta la popolazione; sotto, limitata ai sopravvissuti all'età di 20 anni. Dati dal popolo Ache (Paraguay) [Hill e Hurtado 1996].

Il concetto è stato ribadito negli anni successivi: “I dati sulla mortalità correlata con l’età in popolazioni animali allo stato selvatico rivelano che, in molte specie, gli individui raramente sopravvivono in età in cui il deterioramento della senescenza diventa evidente ...” [Kirkwood 2005]; “gli incrementi nella mortalità correlati con l’età e associati all’invecchiamento sono lontani dall’essere ubiquitari, e ..., anche quando sono osservati, essi contribuiscono solo a una frazione relativamente piccola di morti nell’ambito di una popolazione, ...” [Kirkwood e Melov 2011].

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: Tredici anni più tardi, uno dei due Autori dell’anzidetto articolo del 2000 [Kirkwood e Austad 2000], insieme con altri Autori, dice e documenta esattamente l’opposto: “La recente apparizione di studi a lungo termine sul campo presenta evidenza inconfutabile che la senescenza è comunemente rilevata in natura. Abbiamo trovato tale evidenza in 175 differenti specie animali da 340 studi separati.” [Nussey et al. 2013]

In ogni caso, l’anzidetta obiezione a riguardo dell’assenza dell’invecchiamento in condizioni naturali potrebbe essere compatibile nell’ambito della concezione ristretta dell’invecchiamento erroneamente limitata all’esistenza di individui con estremo decadimento delle funzioni, vale a dire con livelli di fitness ridotti a valori minimi arbitrariamente stabiliti, i quali - per definizione - sono incompatibili con la sopravvivenza in condizioni naturali. Ma l’invecchiamento è stato definito come un progressivo declino, correlato con l’età, della fitness, ossia del grado di funzionalità dell’organismo, e pertanto non può essere confuso con gli estremi risultati di questo decadimento.

I dati empirici mostrano che l’incremento della mortalità (vale a dire il declino della fitness) è ben documentato nello stato selvatico, e pertanto è fortemente influenzato (vale a dire, opposto o favorito) dalla selezione naturale. Inoltre, se limitiamo la discussione alla nostra specie, in condizioni naturali la frazione di individui in avanzate fasi dell’invecchiamento è certamente notevole, e questo è un altro motivo per cui il concetto *a priori* dell’inefficacia della selezione sull’invecchiamento è inaccettabile.

6) Correlazione inversa fra mortalità estrinseca e riduzione della vita media a causa delle morti dovute alla mortalità intrinseca

Evidenza empirica: Per specie che mostrano un incremento della mortalità correlato con l’età in condizioni naturali (vale a dire l’invecchiamento), è

stata documentata una correlazione inversa tra mortalità estrinseca (o ambientale) e la riduzione della vita media dovuta all'incremento della mortalità correlata con l'età [Ricklefs 1998]. Questa correlazione è confermata dall'inclusione dei dati da una popolazione umana studiata in condizioni naturali [Libertini 2013].

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: Una correlazione diretta è chiaramente prevista: “Il principale determinante nell'evoluzione della longevità è previsto che sia il livello di mortalità estrinseca. Se questo livello è alto, l'aspettativa di vita nello stato selvatico è breve, la forza della selezione si indebolisce velocemente, gli effetti dei geni dannosi si accumulano a età più precoci, e vi è poca selezione per un alto livello di riparazione del soma. Di conseguenza è previsto che l'organismo sia di breve vita anche quando studiato in un ambiente protetto. Al contrario se il livello di mortalità estrinseca è basso, è previsto che la selezione ritardi gli effetti dei geni dannosi e indirizzi maggiori investimenti nella costruzione e nel mantenimento di un soma durevole” [Kirkwood e Austad 2000]. La contraddizione tra le ipotesi del vecchio paradigma e l'anzidetta inversa relazione osservata è esplicitamente dichiarata da Ricklefs che, dopo aver riferito i suoi dati - un colpo fatale contro convinzioni consolidate - fa un debole tentativo per salvare solo l'ipotesi del Soma Disponibile [Ricklefs 1998].

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: Se l'invecchiamento è un fenomeno programmato, una paradossale correlazione inversa fu prevista molto tempo fa [Libertini 1983, 1988], ben prima che i dati di Ricklefs [Ricklefs 1998] fossero pubblicati. Questa relazione inversa è anche prevista da un modello che mostra l'invecchiamento vantaggioso in popolazioni strutturate spazialmente [Mitteldorf e Martins 2014]. E' stato sottolineato che questa correlazione inversa è implicitamente una previsione generale delle teorie dell'invecchiamento programmato e che vi è una chiara contraddizione con le previsioni delle ipotesi dell'invecchiamento non programmato: “l'ipotesi adattativa ... appare indispensabile per spiegare l'osservata correlazione inversa tra mortalità estrinseca e la proporzione di morti dovuta alla mortalità intrinseca” [Libertini 2008]; “questa relazione complementare tra mortalità ambientale e morti dovute alla senescenza è caratteristica delle teorie adattative dell'invecchiamento. Un alto tasso di mortalità ambientale porta a una *più lunga* durata della vita determinata dall'evoluzione. Ciò contrasta con le teorie classiche, in cui un alto tasso di mortalità ambientale porta a una *più breve* durata della vita determinata dall'evoluzione.” [Mitteldorf e Martins

2014]. Comunque, mai una spiegazione compatibile con le teorie del vecchio paradigma è stata proposta.

7) Impossibilità di spiegare il declino della fitness correlato con l'età come la conseguenza di geni che sono dannosi a una certa età

Evidenza empirica: Questo argomento è stato già discusso in un altro lavoro [Libertini 1988], ma è utile e necessario ribadirlo ed esporlo meglio in queste pagine, giacché non è mai stato confutato, anche se il suo rigetto sarebbe essenziale per l'accettabilità dell'ipotesi dell'Accumulo di Mutazioni.

Consideriamo un gene dannoso (C), che riduce la fitness di un valore s , e il suo allele neutrale (C'). Se v è la frequenza della mutazione di C' in C, e la frequenza della mutazione inversa è considerata, per semplicità, di valore trascurabile, è possibile calcolare la frequenza di equilibrio tra le nuove mutazioni di C' in C e l'eliminazione di C per opera della selezione naturale. E' anche possibile calcolare la frequenza dell'espressione fenotipica del gene (P_e) sia nel caso in cui C è recessivo:

$$P_e = v/s \quad (1)$$

e nel caso in cui C è dominante:

$$P_e \approx v/s \quad (2)$$

Il ricavo di queste formule è spiegato in dettaglio altrove [Libertini 2009b].

Definendo "t-gene" un gene ipotetico che è dannoso, per un valore s , all'età o tempo t e neutrale nelle età precedenti, poiché un t-gene danneggia solo quella parte di individui che sopravvivono al tempo t (Y_t), supponendo per semplicità che il potenziale riproduttivo e quindi il danno s cala in parallelo alla percentuale di sopravvivenza, la selezione naturale riduce la frequenza del t-gene in funzione del prodotto di s per Y_t , e le formule (1) e (2) diventano:

$$P_e \approx v/(s Y_t) \quad (3)$$

Consideriamo ora una popolazione con un tasso di mortalità (λ) costante in ogni età (ossia una popolazione che non invecchia) e verifichiamo se l'azione di un considerevole numero di t-geneti può determinare una curva

simile a quella di specie che mostrano un incremento della mortalità correlato con l'età.

La curva base della tabella di sopravvivenza della popolazione è data dall'equazione:

$$Y_{t+1} = Y_t (1 - \lambda) \quad (4)$$

dove: Y_x = sopravvissuti al tempo x ; λ = tasso di mortalità.

Ora, supponendo che vi siano n t-geni che agiscono al tempo t , altrettanti geni al tempo $t+1$, e così via, ciascuno con un'azione dannosa pari a s (per semplicità si assume che s sia eguale per tutti i t-geni), i sopravvissuti in qualsiasi tempo $t+1$ saranno:

$$Y_{t+1} = Y_t (1 - \lambda - n s P_e) \approx Y_t (1 - \lambda - n v/Y_t) \quad (5)$$

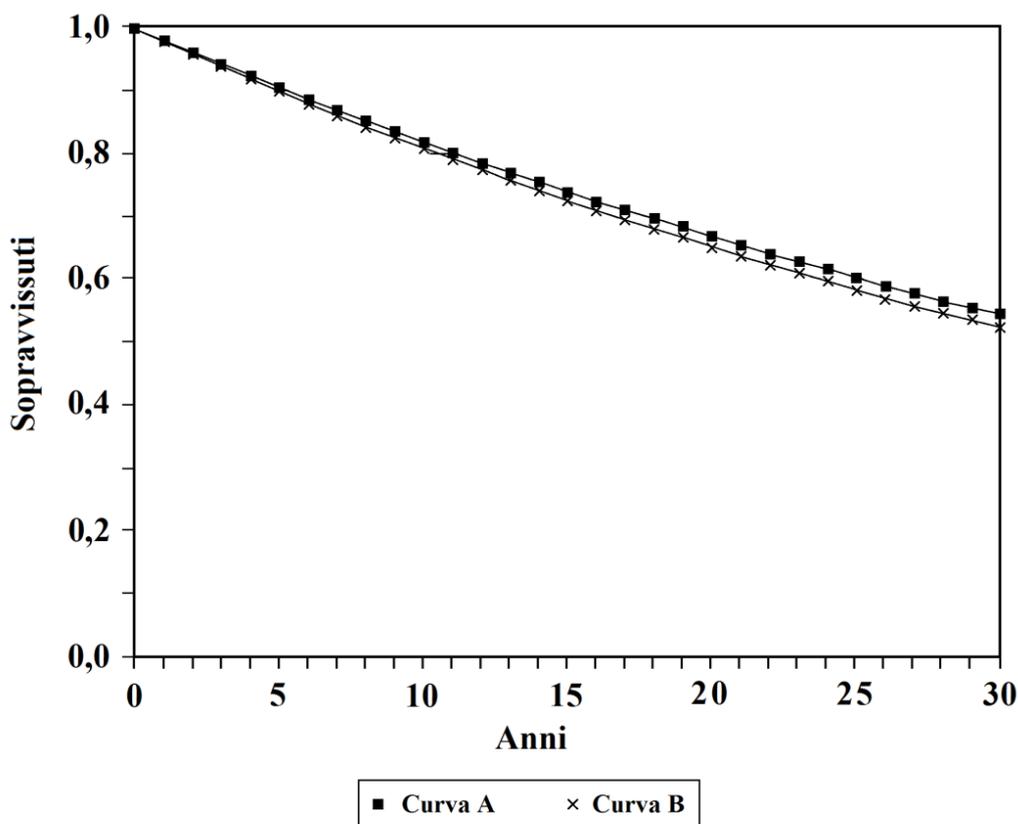


Figura 3 - Curva A: tabella ideale di sopravvivenza ottenuta mediante la formula 4, con $\lambda = 0,02$. Curva B: effetti sulla curva A di un gran numero di t-geni, calcolati mediante la formula 5, con $\lambda = 0,02$; $n = 1000$; $v = 0,000001$.

L'equazione (5) non include il valore di s , che è pertanto irrilevante, e, poiché il valore di v si presume che sia molto piccolo, la riduzione di Y in ogni unità di tempo, oltre al valore di λ , sarà sensibile solo quanto il valore di Y_t è piccolo.

La Figura 3 mostra un'ipotetica curva di sopravvivenza con una mortalità costante e le modifiche causate da un gran numero di ipotetici t-gei.

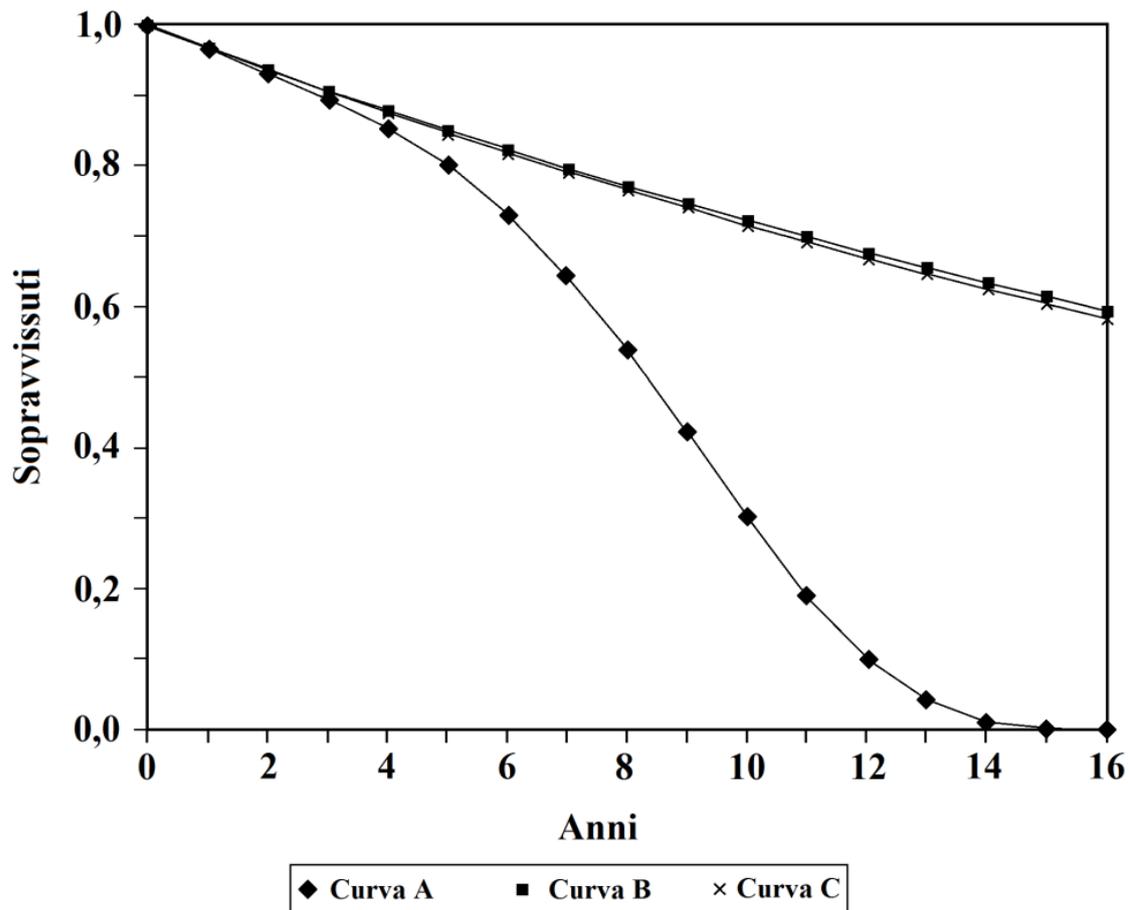


Figura 4 - Ipotetico effetto di un gran numero di t-gei sulla curva di sopravvivenza di una specie. La curva A, che mostra la sopravvivenza allo stato selvatico del leone (*Panthera leo*), con la mortalità descritta dall'equazione di Weibull ($m_t = m_0 + \alpha \cdot t^\beta$), usando i valori $m_0 = 0,032$; $\alpha = 0,000252$; $\beta = 3$; dati da Ricklefs [Ricklefs 1998]. La curva B, ipotetica, mostra la stessa curva di sopravvivenza senza l'incremento della mortalità correlato con l'età, vale a dire con una costante mortalità ($m_0 = 0,032$). La curva C, ipotetica, mostra l'effetto sulla curva B di un gran numero di t-gei ($n = 1000$; $v = 0,000001$).

La Figura 4 mostra: A) parte della curva di sopravvivenza di una specie (*Panthera leo*) studiata in condizioni naturali; B) la stessa curva di sopravvivenza senza l'incremento della mortalità dovuto alla mortalità intrinseca e quindi solo con la costante mortalità estrinseca; C) la curva B più l'effetto di un gran numero di ipotetici t-geni. In entrambe le figure è evidente che gli effetti degli ipotetici t-geni non causano curve che sono compatibili con quella di una specie che invecchia.

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: Per l'ipotesi dell'Accumulo di Mutazioni, l'invecchiamento sarebbe causato dagli effetti cumulativi di molti t-geni, il che è in contrasto con quanto appena detto.

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: L'argomentazione proposta dall'ipotesi dell'Accumulo di Mutazioni è totalmente inaccettabile per età esistenti allo stato naturale e pertanto non può essere considerata una plausibile spiegazione per l'invecchiamento. Come interessante corollario, la selezione naturale - per definizione - non può eliminare un t-gene che esplica la sua azione in età non esistenti allo stato naturale. Ne consegue che una specie che non mostra alcun incremento della mortalità nello stato selvatico, in condizioni artificiali protette e in età successive a quelle esistenti in condizioni naturali può mostrare un incremento della mortalità correlato con l'età dovuto a t-geni che non possono essere eliminati dalla selezione naturale. Questa predizione teorica, già proposta in precedenza [Libertini 1988], riguarda un fenomeno che dovrebbe essere nettamente distinto dall'invecchiamento.

8) Declino progressivo correlato con l'età della capacità di ricambio cellulare

Evidenza empirica: In condizioni normali, nei vertebrati, le cellule muoiono continuamente a seguito di vari tipi di morte cellulare programmata (MCP). Il tipo più studiato di MCP è l'apoptosi, per la prima volta descritta negli epatociti [Kerr et al. 1972], ma ben documentata in molti altri tessuti e organi [Libertini 2009a]. Altri tipi di MCP sono la cheratinizzazione delle cellule dell'epidermide con il loro successivo distacco, il distacco di cellule dalle muscose, la fagocitosi degli eritrociti e degli osteociti, etc. La continua morte delle cellule (50-70 miliardi al giorno [Reed 1999] è bilanciata dalla continua duplicazione delle cellule staminali con ritmi che variano per ogni tipo cellulare e organo [Richardson et al. 2014]. A un estremo, le cellule dell'epitelio intestinale sono rinnovate in 3-6 giorni [Alberts et al. 2013], mentre i miociti del cuore in circa 4,5

anni [Anversa et al. 2006] e gli osteociti in circa 10 anni [Alberts et al. 2013].

I pochi tipi di cellula che non sono soggetti a rinnovo cellulare (ad esempio, i neuroni del sistema nervoso centrale e i fotorecettori della retina) sono fortemente dipendenti da altre cellule con ricambio cellulare e che attivamente rinnovano le parti critiche delle cellule senza ricambio cellulare [Libertini 2009a].

Comunque, il rinnovo cellulare declina man mano che un individuo diventa più anziano in conseguenza dei limiti nella replicazione cellulare, per la prima volta dimostrati da Hayflick nel suo importante lavoro [Hayflick e Moorhead 1961].

L'invecchiamento può essere descritto come il risultato del declino graduale del ricambio cellulare, che ha come esito una progressiva atrofia di tutti i tessuti e organi [Libertini 2009a, 2014b], associato con l'incremento della percentuale delle cellule in senescenza cellulare e in senescenza cellulare graduale (si veda sotto). In ogni caso, il ricambio cellulare e il suo graduale declino sono chiaramente soggetti a una regolazione genetica che è di certo molto complessa e sofisticata.

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: L'invecchiamento non è spiegato come derivante da un progressivo rallentamento nel ricambio cellulare. Per il vecchio paradigma, i limiti nel ricambio cellulare, che sono chiaramente determinati e modulati geneticamente e causano un declino della fitness correlato con l'età, non possono essere spiegati come dovuti all'accumulo di effetti dannosi e pertanto devono avere una differente spiegazione che sia plausibile. La sola spiegazione proposta è che questi limiti della replicazione cellulare difendano l'organismo dal cancro [Campisi 1997; Wright e Shay 2005].

Questa giustificazione, proposta e/o accettata da eminenti studiosi, non spiega l'esistenza di specie senza il declino della fitness correlato con l'età (specie con senescenza non rilevabile), le quali non mostrano alcun declino correlato con l'età dell'attività telomerasica ma neanche alcun incremento correlato con l'età nella mortalità da cancro [Libertini 2008]. Inoltre, per la nostra specie studiata nello stato selvatico, il declino della fitness - vale a dire l'invecchiamento - uccide quasi tutti gli individui prima che i casi di cancro diventino una causa rilevabile di morte ed è inverosimile che una difesa contro il cancro possa uccidere su larga scala prima dell'età in cui il cancro incominci a mietere le sue vittime [Libertini 2013]. Altre forti obiezioni contro l'anzidetta giustificazione per i limiti nell'azione della telomerasi, e di conseguenza nel ricambio cellulare, sono state evidenziate

con chiare conclusioni: “L’ipotesi che la telomerasi sia limitata nella sua azione per ottenere un aumento netto nella durata della vita mediante la prevenzione del cancro è certamente falsa. Se non fosse per l’inammissibilità dell’alternativa - la morte programmata - la teoria sarebbe già cancellata del tutto.” [Mitteldorf 2013]

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: Il nuovo paradigma prevede e, invero, richiede senza riserve che l’invecchiamento sia geneticamente determinato e regolato. Pertanto i fenomeni prima menzionati, che gradualmente riducono la fitness, non sono in contrasto con il nuovo paradigma ma al contrario sono essenziali per la sua plausibilità [Libertini 2008].

9) Senescenza cellulare

Evidenza empirica: Le cellule passano da uno “stato ciclico”, in cui possono duplicarsi, a uno stato “non ciclico”, in cui non possono duplicarsi, mediante l’attivazione casuale di un meccanismo con una probabilità inversamente proporzionale alla riduzione della lunghezza del telomero [Blackburn 2000].

L’inattivazione delle capacità di replicazione è parte di uno specifico complesso meccanismo, la senescenza cellulare, che è caratterizzato da modificazioni prevedibili e stereotipate ed è considerato un “fondamentale programma cellulare” [Ben-Porath e Weinberg 2005].

Nello stato senescente, le cellule sono caratterizzate da complesse alterazioni del transcriptoma, con molte funzioni cellulari compromesse, comprese le secrezioni cellulari nella matrice intercellulare con il conseguente danno per altre cellule e per la funzionalità dei tessuti o organi di cui le cellule senescenti fanno parte [Campisi e d’Adda di Fagagna 2007]. Tra le altre cose, la senescenza cellulare ha come conseguenza una minore resistenza alle sostanze ossidative e un accumulo di danno ossidativo. Comunque, è importante notare che il danno causato dall’ossidazione è una conseguenza e non la causa della senescenza cellulare [Fossel 2004]. Inoltre è ben assodato che la senescenza cellulare e tutte le sue manifestazioni, compreso il danno ossidativo, sono totalmente reversibili mediante l’attivazione dell’enzima telomerasi [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998].

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: Per il vecchio paradigma, l’invecchiamento è causato dall’accumulo di vari tipi di danno in molte sedi (dipendenti dai vari assunti delle ipotesi). E’ del tutto inaspettato che una cellula passi dalla condizione dello “stato ciclico”/non senescenza

(nessun danno evidente) a quella dello “stato non ciclico”/senescenza (danni di molti tipi), come conseguenza dell’attivazione di uno specifico programma. Egualmente impreveduto è che questo programma sia completamente reversibile, con la totale scomparsa del danno causato dalla senescenza cellulare e la perfetta riattivazione della capacità di replicazione. Inoltre la senescenza cellulare è attivata nelle cellule somatiche e non nelle cellule della linea germinale e questo significa che il meccanismo non è un’inevitabile caratteristica delle cellule viventi o un’inevitabile conseguenza delle replicazioni, ma un programma sofisticato che richiede specifici vantaggi selettivi per giustificare la sua esistenza e non può assolutamente essere la conseguenza dell’accumulo di danni. Questi fenomeni sono in chiaro e completo contrasto con le previsioni delle teorie del vecchio paradigma. La senescenza cellulare richiede tassativamente una spiegazione, diversa dai suoi supposti ma inverosimili poteri anticancro, per annullare questa contraddizione.

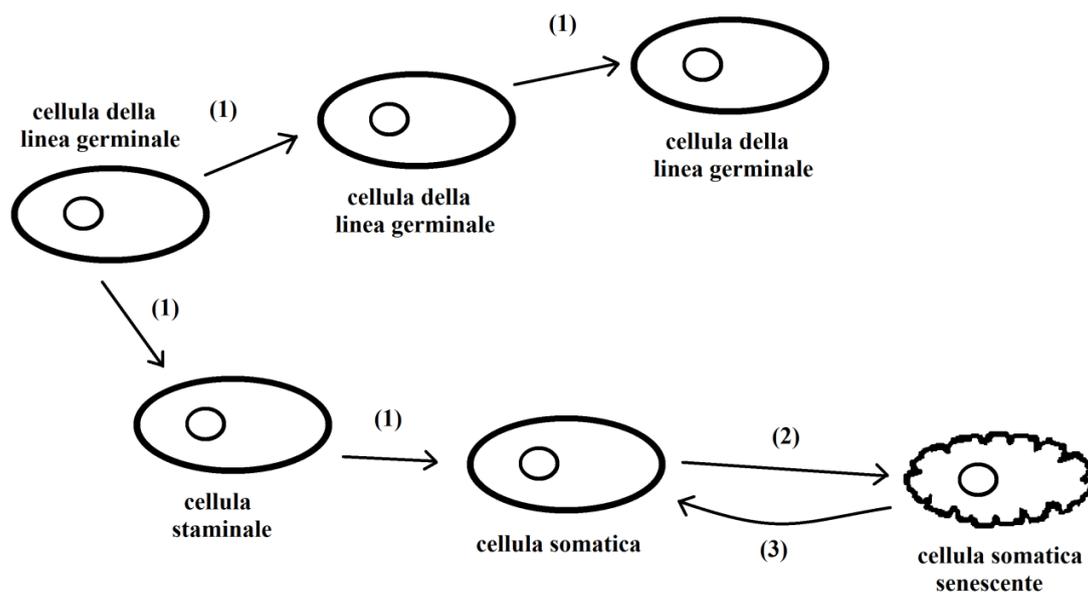


Figura 5 – Le cellule della linea germinale e, entro certi limiti, le cellule staminali si duplicano senza diventare cellule senescenti (1). Al contrario, le cellule somatiche sono soggette al fenomeno della senescenza cellulare (2). Questa differenza non è facilmente spiegabile se si propone che la senescenza cellulare è causata da fattori dannosi. Analogamente, la completa reversibilità della senescenza cellulare (3), mediante l’attivazione della telomerasi, è spiegabile solo se la senescenza cellulare è un fenomeno programmato. Ciò è in chiaro contrasto con il vecchio paradigma.

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: Il nuovo paradigma prevede e, in verità, richiede in modo assoluto che l'invecchiamento sia determinato e regolato geneticamente. Pertanto gli anzidetti fenomeni, che gradualmente riducono la fitness, non sono in contrasto con il nuovo paradigma ma al contrario sono essenziali per la sua plausibilità. Alcuni di questi concetti sono illustrati nella Figura 5.

10) Senescenza cellulare graduale

Evidenza empirica: Nel lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), la telomerasi è sempre attiva e la lunghezza del telomero non si riduce con le duplicazioni [D'Mello e Jazwinski 1991; Smeal et al. 1996]. Inoltre vi è una divisione asimmetrica tra cellula 'madre' e cellula 'figlia': mentre la linea della cellula madre può continuare solo per un limitato numero di generazioni e vi è un progressivo declino nella capacità di sopportare gli stress [Jazwinski 1993], le cellule figlie ("budding") del lievito si dividono illimitatamente [Maringele e Lydall 2004].

Nelle cellule della linea madre, i circoli di DNA extracromosomici ribosomali (CER) si accumulano a ogni duplicazione [Sinclair e Guarente 1997], "molteplici linee di evidenza suggeriscono che l'accumulo dei CER è un determinante della durata della vita", e, in proporzione al numero di duplicazioni, crescenti alterazioni metaboliche, definibili come senescenza cellulare graduale, sono evidenti [Lesur e Campbell 2004].

Queste alterazioni sono una verosimile conseguenza dell'accumulo dei CER che interferisce con l'espressione genica di parti critiche del DNA subtelomerico. Infatti, i mutanti *dna2-1* del lievito, con anomalie nella duplicazione del DNA e pertanto con accresciuti ritmi di accumulo dei CER, mostrano precoci alterazioni dell'espressione genica. In particolare, il transcriptoma degli individui più anziani (in termini di precedenti duplicazioni) della linea materna nei ceppi selvatici è simile a quello degli individui giovani della linea materna dei mutanti *dna2-1* [Lesur e Campbell 2004].

Nel lievito, i mutanti *tlc1Δ*, che sono difettivi per l'attività telomerasica, sia quelli della linea madre sia quelli della linea figlia, mostrano accorciamento del telomero e gli individui della linea figlia, che non hanno alcun accumulo dei CER, hanno un transcriptoma simile a quello degli individui più anziani della linea madre del ceppo selvatico e a quello degli individui dei mutanti *dna2-1* [Lesur e Campbell 2004]. E' possibile che nei mutanti *tlc1Δ*, l'accorciamento del telomero causa lo scivolamento del cappuccio

eterocromatinico del telomero che interferisce con il DNA subtelomerico, mentre nel lievito del ceppo selvatico il DNA subtelomerico è in qualche modo represso dai CER.

Negli organismi eucarioti multicellulari, in proporzione al numero di duplicazioni vi è una crescente probabilità di senescenza replicativa e una crescente alterazione nell'espressione di molti geni, ossia un'alterazione del transcriptoma, che compromette la funzionalità cellulare complessiva e ha conseguenze dannose sulla matrice cellulare e su altre cellule che sono fisiologicamente interdipendenti. Tutto questo è certamente in relazione all'accorciamento relativo del telomero (“modello ristretto della senescenza cellulare” di Fossel) [Fossel 2004].

“Un modello del legame fra telomero ed espressione genica è un'alterata struttura del cromosoma (Ferguson et al., 1991), come ad esempio un 'cappuccio' eterocromatinico che copre il telomero e una parte variabile del cromosoma subtelomerico (Fossel, 1996; Villeponteau, 1997; Wright et al., 1999). Man mano che il telomero si accorcia, il cappuccio scivola sempre più lungo il cromosoma (il cappuccio eterocromatinico rimane invariante come dimensione e semplicemente si muove con il capo terminale del cromosoma che si accorcia) ... il risultato è un'alterazione della trascrizione dalle parti del cromosoma immediatamente adiacenti al complesso telomerico, di regola causando silenzio trascrizionale, sebbene il controllo è senza dubbio più complesso del semplice effetto dovuto alla contiguità del telomero (Aparicio e Gottschling, 1994; Singer et al., 1998; Stevenson e Gottschling, 1999). Questi geni resi silenti possono a loro volta modulare altri e più distanti geni (o gruppi di geni). Vi è qualche diretta evidenza per tale modulazione nel subtelomero ...” [Fossel 2004].

Risultati recenti confermano l'influenza della lunghezza del telomero sul DNA subtelomerico: “I nostri risultati dimostrano che l'espressione di una parte dei geni subtelomerici è dipendente dalla lunghezza del telomero e che molteplici cambiamenti nell'espressione genica sono indotti dall'accorciamento del telomero molto prima che i telomeri diventino fattore limitante per la divisione o prima che i telomeri inizino a segnalare un danno del DNA. Questi cambiamenti comprendono la regolazione in aumento e in diminuzione dei livelli di espressione genica.” [Robin et al. 2014]

In breve, nel lievito e negli organismi eucarioti multicellulari, il DNA subtelomerico ha un'importanza chiave per la funzionalità cellulare

complessiva ed è vulnerabile all'inattivazione in conseguenza dell'accorciamento del telomero o dell'accumulo dei CER intorno al telomero. Escludendo la possibilità di un'assurda illogicità evolutivistica, questa vulnerabilità posizionale deve in qualche modo essere spiegata in termini di selezione naturale.

Questi risultati empirici e i concetti che se ne deducono sono illustrati nella Figura 6.

Previsioni delle teorie del vecchio paradigma: Se l'invecchiamento è contrastato dalla selezione naturale, è alquanto illogico e inverosimile che parti fondamentali del DNA con funzioni regolatrici generali, siano poste nella posizione più esposta alle conseguenze dell'accorciamento del telomero, in quanto lo scivolamento del cappuccio telomerico sul segmento subtelomerico (oppure, nel lievito, l'accumulo dei CER) compromette la regolazione di geni che sono critici per le funzioni cellulari.

Previsioni delle teorie del nuovo paradigma: La graduale compromissione delle funzioni cellulari in relazione all'accorciamento del telomero (o all'accumulo dei CER nel lievito), fenomeni basati su meccanismi determinati geneticamente, è perfettamente compatibile con il nuovo paradigma e, in effetti, rappresenta un ulteriore elemento di sofisticazione del sistema. Per quanto riguarda l'ipotesi che ciò potrebbe essere parte di un'ipotetica difesa generale contro il cancro, si veda quanto è stato detto nella precedente sottosezione. Inoltre, in specie unicellulari come il lievito, il cancro per definizione è impossibile, eppure in queste specie, che mostrano invecchiamento nelle cellule della linea madre, vi è un meccanismo simile in cui la vulnerabilità del segmento di DNA subtelomerico, segmento che è di cruciale importanza per il funzionamento generale della cellula, non è stata contrastata dalla selezione naturale. Inverosimilmente per i sostenitori del vecchio paradigma, sebbene gli antenati comuni dei mammiferi e del lievito risalgano a oltre 600 milioni di anni fa [Minkoff 1983], (i) la vulnerabilità del segmento subtelomerico; (ii) la sua cruciale importanza per la funzionalità dell'intera cellula; e (iii) il progressivo danno a questo segmento in relazione alle duplicazioni cellulari (nelle cellule della linea madre per il lievito e nelle cellule in cui la telomerasi non è attiva per i mammiferi e tante altre specie) sono caratteristiche altamente conservate nel corso dell'evoluzione, sebbene siano chiaramente dannose in termini individuali.

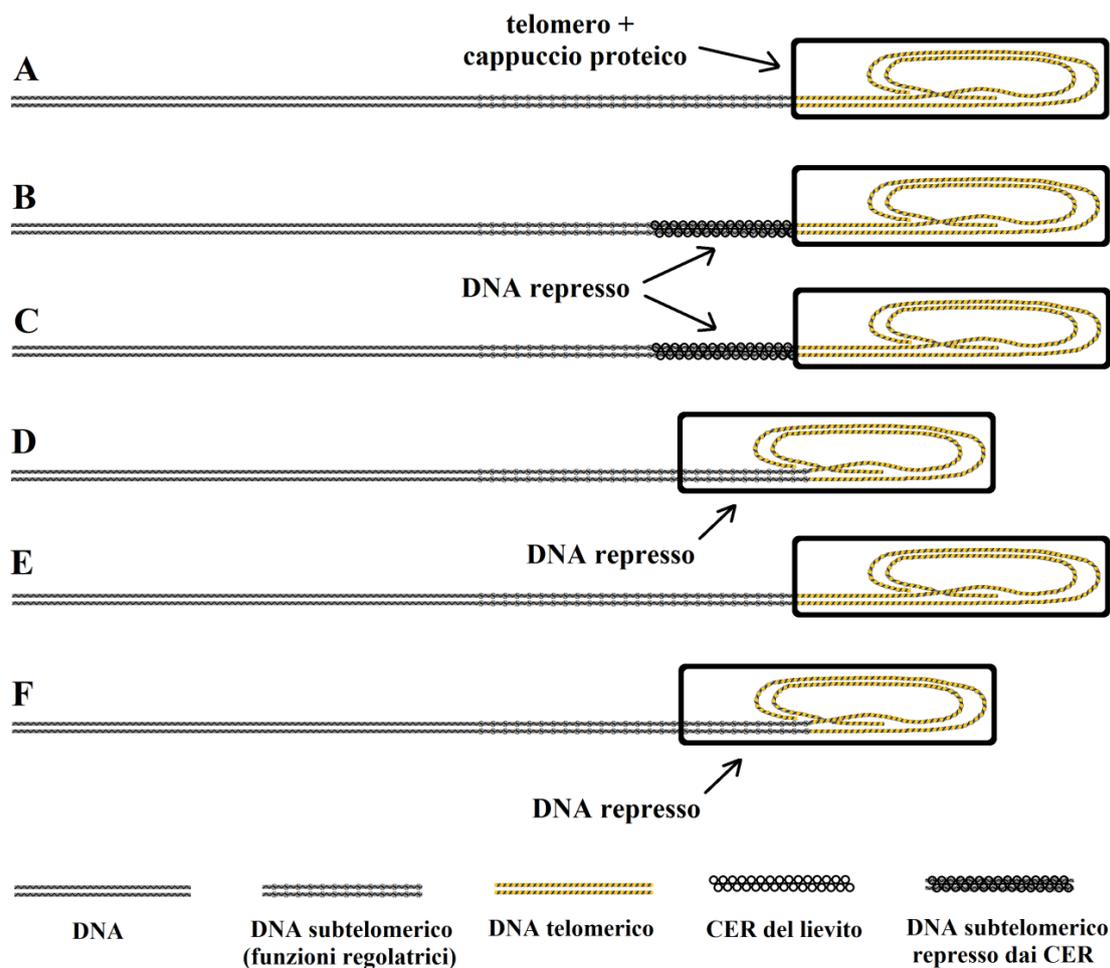


Figura 6 – A) lievito, ceppo normale, cellule figlie; B) lievito, ceppo normale, vecchi individui della linea materna; C) lievito, mutanti *dna2-1*, giovani individui della linea materna; D) lievito, mutanti *tlc1Δ*, cellule figlie; E) eucarioti multicellulari, ceppo normale, cellule germinali; F) eucarioti multicellulari, ceppo normale, cellule somatiche. In A ed E, i telomeri non sono accorciati e il DNA subtelomerico non è represso. In B e C, il DNA subtelomerico è represso dall'accumulo dei CER. In D e F, i telomeri sono accorciati e il DNA subtelomerico è represso dal cappuccio proteico.

Conclusione

In relazione ai punti evidenziati:

1 - L'assenza in molte specie di un incremento della mortalità correlato con l'età richiede, per le ipotesi dell'invecchiamento non programmato, giustificazioni specifiche che sono inesistenti, con la sola eccezione dell'ipotesi della Cessazione della Crescita Somatica (CCS). Ciò non esclude che possano esistere particolari e valide spiegazioni per ogni caso, ma, finché non saranno evidenziate, la loro assenza dovrebbe essere considerata un elemento contro le ipotesi dell'invecchiamento non

programmato. L'ipotesi della CCS è un'eccezione in quanto essa spiegherebbe la condizione di non invecchiamento nelle specie che presentano una crescita somatica continua e senza interruzione.

2 - Nel confronto fra le specie, in particolare all'interno dello stesso *phylum*, la grande variabilità dei ritmi di invecchiamento dovrebbe essere in diretta correlazione con l'entità delle cause ipotizzate per l'invecchiamento da ciascuna ipotesi. Ma, in molti casi, le teorie del vecchio paradigma non mostrano una relazione diretta tra ritmi dell'invecchiamento e cause ipotizzate e, inoltre, in alcuni casi si riscontra la relazione opposta [Comfort 1979]. Anche per questo punto l'ipotesi della CCS è un'eccezione, in quanto essa potrebbe giustificare le variazioni dei ritmi di invecchiamento come correlate alle differenze nei tassi di crescita.

3 - Gli effetti della restrizione calorica sulla longevità, vale a dire l'osservato incremento o almeno non incremento della longevità, sono in palese contrasto con l'ipotesi del Soma Disponibile.

4, 5 – Le teorie del vecchio paradigma sono basate su due assunti che sono del tutto infondati: A) l'invecchiamento non esiste in condizioni naturali; B) un carattere che è svantaggioso in termini di selezione individuale non può essere favorito dalla selezione naturale. Questi assunti comporterebbero come deduzione obbligatoria l'inammissibilità di qualsiasi teoria dell'invecchiamento programmato e l'assoluta necessità di rimanere nell'ambito del vecchio paradigma per spiegare l'invecchiamento. Poiché i due assunti sono clamorosamente erronei, ne consegue che un declino della fitness correlato con l'età non può essere giustificato senza una qualche forma di vantaggio evolutivistico. Pertanto le due anzidette argomentazioni avanzate a sostegno del vecchio paradigma e contro il nuovo paradigma si trasformano nell'opposto, vale a dire argomentazioni contro il vecchio paradigma e a sostegno del nuovo paradigma.

Tra le teorie più datate, l'ipotesi della CCS non pretende o richiede l'assenza dell'invecchiamento in condizioni naturali e pertanto non può essere oggetto di critica a riguardo di questo punto.

6 – La previsione di una relazione diretta tra tassi di mortalità estrinseca e la proporzione di riduzione della vita dovuta a morti per invecchiamento è intrinseca a tutte le teorie del vecchio paradigma mentre l'opposto è previsto dalle teorie del nuovo paradigma [Libertini 2008]. L'evidenza

empirica [Ricklefs 1998] è contro il vecchio paradigma e a sostegno del nuovo. Inoltre vi è la completa assenza di una spiegazione compatibile con le teorie del vecchio paradigma, i cui sostenitori appaiono ignorare o sorvolare l'argomento.

7 – L'esistenza di un forte argomento teorico [Libertini 1988], mai dimostrato come non valido, contro l'ipotesi che l'invecchiamento è in tutto, o almeno parzialmente, la conseguenza dell'indebolimento della forza della selezione naturale man mano che con l'età si riduce il numero dei sopravvissuti, è un colpo insuperabile contro l'ipotesi dell'Accumulo di Mutazioni. Vi è forse una nascosta consapevolezza di questa debolezza, che è alla base dell'origine delle ipotesi della Pleiotropia Antagonistica e del Soma Disponibile, la prima delle quali postula l'esistenza di geni vantaggiosi a età più giovani e dannosi in età maggiori, e la seconda che postula limiti insuperabili nella disponibilità di mal definite risorse. I sostenitori di queste due ipotesi non riescono a dimostrare l'esistenza di quanto postulato, vale a dire i geni pleiotropici e le limitate risorse. Inoltre le anzidette ipotesi non spiegano per niente la grande variabilità dei ritmi di invecchiamento nel confronto tra le specie, il che significa che vi è forse un assunto implicito che i geni pleiotropici e le risorse limitate sono variabili da specie a specie a seconda della maggiore o minore longevità (un'inaccettabile ipotesi *ad hoc*). In ogni caso, è necessario evidenziare che ipotesi basati su postulati, o addirittura su strati multipli di postulati, non possono essere considerate scientifiche.

8, 9, 10 – Il progressivo declino nelle capacità di ricambio cellulare, la senescenza cellulare graduale e il programma di senescenza cellulare, mentre da un lato sono pienamente compatibili e invero necessari per il nuovo paradigma, al contrario sono totalmente incompatibili con le teorie del vecchio paradigma, almeno finché non sarà proposta una valida giustificazione della loro esistenza che sia diversa da quella di essere parte dei meccanismi dell'invecchiamento. L'ipotesi che essi sono una difesa generale contro il cancro è insostenibile. Inoltre, per la senescenza cellulare graduale, l'anzidetta spiegazione non potrebbe giustificare perché segmenti del DNA con effetti regolatori fondamentali sulle funzioni cellulari sono localizzati nella parte subtelomerica, che è la più vulnerabile man mano che aumenta il numero di replicazioni. Per di più, tale localizzazione è filogeneticamente molto antica ed è anche presente in specie unicellulari in cui il cancro è impossibile.

Tutte queste considerazioni sono riassunte nella Tabella 1.

Tabella 1 - Corrispondenza tra dati empirici o argomentazioni teoriche e le predizioni di alcune teorie

Abbreviazioni: 1 = teoria dell'Accumulo del Danno; 2 = t. della Cessazione della Crescita Somatica; 3 = t. dell'Accumulo di Mutazioni; 4 = t. della Pleiotropia Antagonistica; 5 = t. del Soma Disponibile.; 6 = t. dell'Invecchiamento Quasi-Programmato; 7 = nuovo paradigma o teoria dell'Invecchiamento Programmato; N = non spiegato o predetto dalla teoria o in contrasto con le sue predizioni; - = irrilevante per l'accettazione o il rigetto della teoria; S = predetto dalla teoria o compatibile con essa.

Dati empirici/argomenti teorici	1	2	3	4	5	6	7
1) Non universalità dell'invecchiamento	N/-	S	N/-	N/-	N/-	N/-	S
2) Grande variazione fra le specie dei ritmi di invecchiamento	N/-	S	N/-	N/-	N/-	N/-	S
3) Effetti della restrizione calorica sulla durata della vita	-	-	-	-	N	-	S
4) Danno dell'invecchiamento per gli individui che invecchiano ma suo vantaggio in termini di selezione sovraindividuale	N	-	N	N	N	N	S
5) Esistenza in condizioni naturali del declino progressivo della fitness in correlazione con l'età	N	S	N	N	N	N	S
6) Nel confronto fra diverse specie, correlazione inversa fra mortalità estrinseca e riduzione della vita media a causa delle morti dovute alla mortalità intrinseca	N	N	N	N	N	N	S
7) Impossibilità di spiegare il declino della fitness correlato con l'età come la conseguenza di geni che sono dannosi a una certa età	-	-	N	-	-	-	S
8) Declino progressivo correlato con l'età del ricambio cellulare	N	N	N	N	N	N	S
9) Senescenza cellulare	N	N	N	N	N	N	S
10) Senescenza cellulare graduale	N	N	N	N	N	N	S

In breve, le ipotesi del vecchio paradigma appaiono essere del tutto insostenibili e solo di valore storico, mentre il nuovo paradigma è chiaramente compatibile con i dati empirici e con le argomentazioni teoriche.

Capitolo VIII

Appunti per la filogenesi dell'invecchiamento e dei fenomeni fenoptotici correlati

Riassunto

L'interpretazione dell'invecchiamento come fenomeno adattativo, vale a dire come un qualcosa geneticamente determinato e modulato, e con un vantaggio evolutivistico, implica che l'invecchiamento, allo stesso modo di qualsiasi meccanismo fisiologico, deve avere connessioni filogenetiche con fenomeni simili.

Questo capitolo cerca di trovare le connessioni filogenetiche tra l'invecchiamento nei vertebrati e alcuni fenomeni correlati in altre specie, specialmente con quei fenomeni definiti come fenoptotici, vale a dire che implicano la morte di uno o più individui per il beneficio di altri individui imparentati.

In particolare, ci si propone l'obiettivo di sottolineare e analizzare similarità e connessioni, nei meccanismi e nelle cause evolutivistiche, tra: 1) proapoptosi nei procarioti e apoptosi negli eucarioti monocellulari; 2) apoptosi negli eucarioti monocellulari e multicellulari; 3) invecchiamento nel lievito e nei vertebrati; e 4) importanza critica del segmento subtelomerico del DNA negli eucarioti monocellulari e multicellulari.

In sintesi, vi è forte evidenza che l'invecchiamento nei vertebrati ha chiare similarità e connessioni con fenomeni presenti in organismi con più semplice organizzazione. Queste connessioni filogenetiche sono un elemento necessario per la sostenibilità della tesi che spiega l'invecchiamento come un fenomeno adattativo e, al contrario, sono incompatibili con l'interpretazione opposta dell'invecchiamento come fenomeno causato dall'accumulo di danni casuali di vario tipo insufficientemente contrastati dalla selezione naturale.

Introduzione

L'invecchiamento, qui precisamente definito come "incremento della mortalità con l'aumento dell'età cronologica in popolazioni allo stato selvatico" ("IMICAW" dalle iniziali della traduzione in inglese [Libertini 1988]), è osservato in molte specie in condizioni naturali [Deevey 1947; Laws e Parker 1968; Spingale 1970, 1972; Finch 1990; Holmes e Austad

1995; Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013], compresa la nostra specie [Hill e Hurtado 1996]. Le definizioni “senescenza attuariale allo stato selvatico” [Holmes e Austad 1995] e “progressiva perdita della funzionalità accompagnata da fertilità decrescente e mortalità crescente con l’avanzare dell’età” [Kirkwood e Austad 2000] sono sinonimi dell’anzidetta definizione descrittiva dell’invecchiamento. Al contrario, affermazioni come: “L’invecchiamento, o senescenza, deriva dal venir meno della forza della selezione naturale in funzione dell’età in cui si manifestano gli effetti di un gene” [Martin e Oshima 2000] o “l’invecchiamento è causato ... da limiti nella manutenzione del corpo determinati dall’evoluzione, che hanno come effetto l’accumularsi del danno.” [Kirkwood 2005] non descrivono l’invecchiamento in modo neutrale ma sono solo espressioni concise di ipotesi non provate a riguardo dell’invecchiamento (si veda sotto).

In effetti, l’invecchiamento è interpretato in due modi molto differenti [Libertini 2008], che, per le loro opposte innumerevoli implicazioni e per l’importanza dell’argomento, meritano di essere considerati interpretazioni incompatibili o paradigmi, nel significato del termine “paradigma” proposto da Kuhn [Kuhn 1962].

Il primo (“vecchio paradigma”) comprende un vasto insieme di ipotesi disparate che cercano di spiegare l’invecchiamento come l’inevitabile conseguenza di fattori dannosi che progressivamente compromettono la fitness [Minot 1967; Carrel ed Ebeling 1921b; Brody 1924; Bidder 1932; Lansing 1948, 1951; Medawar 1952; Williams 1957; Hamilton 1966; Edney e Gill 1968; Harman 1972; Kirkwood 1977; Comfort 1979; Miquel et al. 1980; Mueller 1987; Rose 1991; Partridge e Barton 1993; Bohr e Anson 1995; Croteau e Bohr 1997; Beckman e Ames 1998; Weinert e Timiras 2003; Trifunovic et al. 2004; Balaban et al. 2005; Blagosklonny 2006, 2013; Sanz e Stefanatos 2008; Oliveira et al. 2010]. Nelle teorie più datate l’accumulo del danno è concepito senza alcuna considerazione dei meccanismi evuzionistici, con l’implicito erroneo assunto che l’invecchiamento e la selezione naturale agiscano in due contesti differenti. Le teorie più recenti, o almeno alcune di esse, cercano di tener conto dei meccanismi della selezione naturale, che, secondo tali ipotesi, sarebbero in grado di contrastare i fattori dannosi solo in parte e in misura decrescente in correlazione con l’età, anche come conseguenza di effetti pleiotropici e di contrastanti esigenze fisiologiche.

Il secondo paradigma (“nuovo paradigma”) comprende ipotesi che definiscono e interpretano l’invecchiamento come un fenomeno fisiologico, vale a dire un fenomeno che, nonostante i suoi indiscutibili svantaggi per

l'individuo che invecchia, è determinato e modulato dalla selezione naturale, essendo evolutivamente vantaggioso in termini di selezione sovraindividuale [Weismann 1889, 1892; Kirkwood e Cremer 1982; Libertini 1983, 1988, 2006, 2012a, 2012b, 2013; Skulachev 1997, 1999a, 1999b, 2001; Bredesen 2004; Goldsmith 2004, 2008a, 2013; Mitteldorf 2004; Travis 2004; Longo et al. 2005; Skulachev e Longo 2005; Mitteldorf e Pepper 2009; Martins 2011; Mitteldorf e Martins 2014], sebbene per alcune ipotesi solo in particolari condizioni [Libertini 1988; Mitteldorf e Martins 2014].

Il nuovo paradigma vede l'invecchiamento come un tipo particolare di fenoptosi (v. definizione sotto), un termine coniato nel 1997 da Skulachev [Skulachev 1997]. Successivamente, lo stesso autore, per sottolineare la peculiarità del fenomeno senescenza all'interno dell'universo fenoptotico, propose per l'invecchiamento la definizione di "fenoptosi lenta" [Skulachev 2002b].

Il concetto di fenoptosi può essere definito concisamente "la morte programmata di un individuo" [Skulachev 1999a], o descritto più estesamente: "La fenoptosi è la morte di un individuo causata dalle sue stesse azioni o da azioni di individui strettamente imparentati (in particolare, la morte della progenie causata da un genitore ossia l'infanticidio di un figlio) e non causata primariamente da accidenti o malattie o fattori esterni, che è determinata, regolata o influenzata da geni favoriti dalla selezione naturale." [Libertini 2012a]. Esso comprende una categoria di fenomeni larga e assai eterogenea, di cui la massima parte sono ben conosciuti e documentati da molto tempo [Finch 1990], ma non valutati, prima della definizione di Skulachev, nella loro unitarietà e nei termini delle loro importanti implicazioni [Libertini 2012a, 2012b].

Per il nuovo paradigma, l'invecchiamento è un fenomeno fisiologico e deve necessariamente avere, come ogni altro fenomeno di questa natura: a) una normale funzione (o fisiologia); b) alterazioni patologiche in specifici casi; c) cause evolutivistiche; e, infine, d) una filogenesi.

In questo capitolo non si discutono o ripetono le argomentazioni o le evidenze empiriche a sostegno del nuovo paradigma e contro il vecchio paradigma, cose già discusse altrove [Libertini 2008, 2015a], né una descrizione della fisiologia e della patologia dell'invecchiamento, già esposte in generale in altri lavori [Libertini 2009a, 2009b, 2014a].

Lo scopo di queste pagine è solo quello di indicare, o almeno di ipotizzare, aspetti filogenetici dell'invecchiamento in relazione ad altri fenomeni fenoptotici simili o correlati.

E' opportuno sottolineare che la definizione di fenoptosi comprende un vasto ed eterogeneo insieme di fenomeni che non implicano necessariamente gli stessi vantaggi evolutivisti o un'unica origine monofiletica. Infatti, scegliendo come esempi fra i molti fenomeni fenoptotici:

1) Il matricidio endotochico, un particolare fenomeno mostrato da alcuni invertebrati, in cui la morte della madre è obbligatoria nella riproduzione: "i giovani uccidono la loro madre uscendo all'esterno attraverso le pareti del suo corpo" o cannibalizzando il suo corpo [Finch 1990];

2) La 'scelta criptica della femmina' [Loisel et al. 2008], vale a dire aborti non patologici per eliminare prima della nascita la progenie con minore variabilità antigenica e una possibile ridotta resistenza alle infezioni [Apanius et al. 1997];

3) La semelparità e morte improvvisa dopo la riproduzione mostrata da molte specie di *Anguilliformes*, *Salmoniformes*, marsupiali dasiuridi, roditori e piante [Finch 1990];

4) L'afagia in insetti adulti: "L'afagia derivante da parti difettive dell'apparato buccale o degli organi digestivi è molto comune durante le fasi adulte degli insetti ... ed è *il* fattore limitante per la durata della vita nella fase adulta di molte specie con breve durata della vita. Questo fenomeno è, senza alcun dubbio, senescenza programmata." [Finch 1990];

5) Il suicidio batterico attivato dall'infezione di un fago [Raff 1998];

6) L'infanticidio di un figlio [Hausfater e Hrdy 1984];

è inverosimile che questi fenomeni possano essere spiegati sulla base di comuni vantaggi evolutivisti e/o con una singola origine filogenetica.

Pertanto, la ricerca filogenetica sarà ristretta alle relazioni e alle similarità tra l'invecchiamento e certi tipi di fenomeni fenoptotici che appaiono avere una probabile comune origine filogenetica, con o senza un comune vantaggio evolutivistico.

Il mondo procariota

La fenoptosi è ben documentata fra i procarioti. Ad esempio:

1) Il suicidio batterico attivato dall'infezione di fagi "in tal modo stroncando la moltiplicazione virale e proteggendo dall'infezione i vicini *E. coli*" [Raff 1998]; "Nell'*E. coli*, sono stati descritti tre meccanismi di suicidio che sono attivati dalla comparsa di un fago all'interno della cellula" [Skulachev 2003];

2) Il suicidio di massa del fitoplancton batterico come difesa contro i virus [Lane 2008];

3) Nell'*E. coli*, il “modulo di suicidio incorporato” che è attivato dagli antibiotici [Engelberg-Kulka et al. 2004].

I meccanismi che attivano la fenoptosi nei batteri sono stati definiti “proapoptosi” e proposti come precursori filogenetici dell’apoptosi negli eucarioti [Hochman 1997], in quanto condividono con l’apoptosi varie caratteristiche: “Molti enzimi chiave del meccanismo apoptotico, comprese le famiglie di paracaspasi e metacaspasi della superfamiglia delle proteasi caspasi-simili, le ATPasi apoptotiche e le NTPasi della famiglia NACHT, e le proteasi mitocondriali HtrA-simili, hanno diversi omologhi negli eubatteri, ma non negli archeobatteri. L’analisi filogenetica suggerisce fortemente un’origine mitocondriale per le metacaspasi e le proteasi HtrA-simili, mentre l’acquisizione dagli Attinomiceti sembra essere lo scenario più verosimile per le ATPasi apoptotiche. Gli omologhi delle proteine apoptotiche sono particolarmente abbondanti e molteplici nei batteri che mostrano uno sviluppo complesso, come gli Attinomiceti, i Cianobatteri e gli alfa-proteobatteri, gli ultimi essendo i progenitori dei mitocondri.” [Koonin e Aravind 2002].

Nel mondo procariota, la fenoptosi non è per niente una curiosità limitata a pochi rari casi, ma appare essere un’evenienza molto comune che determina spettacolari suicidi di massa [Lane 2008].

Intrinseca alla definizione di fenoptosi e di conseguenza necessaria a spiegare la “morte programmata nei batteri” [Skulachev 2003; Lewis 2000] è che questi fenomeni sono favoriti dalla selezione naturale.

Nei procarioti, le principali cause delle pressioni selettive a favore della fenoptosi appaiono essere: 1) la difesa contro le infezioni da fagi [Raff 1998; Lane 2008]; 2) l’eliminazione di individui in qualche modo compromessi che sottraggono risorse agli altri individui: “La massima parte delle specie batteriche effettivamente non vivono come sospensioni planctoniche ma formano complesse pellicole biologiche, vale a dire comunità di cellule strettamente connesse. Da questa prospettiva, la morte programmata di cellule danneggiate può essere benefica per una comunità batterica multicellulare.” [Lewis 2000]

In entrambi i casi, è essenziale immaginare meccanismi di selezione di parentela o di gruppo (come già proposto da altri: “Poiché la massima parte degli individui del plancton in una fioritura sono quasi identici geneticamente, dal punto di vista dei loro geni, una moria che crea abbastanza terreno bruciato da bloccare l’avanzata di un virus può avere

una logica” [Lane 2008]), nonostante il vecchio anatema teorico di Maynard Smith contro la selezione di gruppo [Maynard Smith 1964, 1976]. A riguardo del tipo di selezione che favorirebbe questi fenomeni, è importante sottolineare che per la selezione di parentela, fenomeno ben conosciuto e accettato [Hamilton 1964, 1970; Trivers 1971; Trivers e Hare 1976], se una specie è divisa in demi, ciascuno costituito da individui strettamente imparentati o addirittura con origine monoclonale, la distinzione tra selezione di parentela e selezione di gruppo si assottiglia o scompare.

In effetti, la selezione di parentela calcola la fitness complessiva di un gene C che agisce nell’individuo definito come I_1 , e che ha anche qualche conseguenza sulla fitness di altri individui ($I_2, I_3, \dots I_n$) in cui la probabilità che vi sia C è pari al coefficiente di parentela fra I_1 e I_x (r_x). In ciascuna generazione, C è favorito dalla selezione naturale se la variazione della fitness complessiva è positiva, vale a dire se:

$$\sum_{x=1}^n (S_x P_x r_x) > 0 \quad (1)$$

dove S_x = vantaggio/svantaggio per l’individuo I_x ($-1 \geq S_x \leq +1$); P_x = valore riproduttivo dell’individuo I_x ($0 \geq P_x \leq 1$); r_x = coefficiente di parentela fra I_1 e I_x ($0 \geq r_x \leq 1$).

Nei casi in cui il gene C agisce solo su I_1 , poiché per definizione $r_1 = 1$, la formula (1) diventa:

$$S_1 P_1 > 0 \quad (2)$$

che è la formula classica per la selezione individuale.

Consideriamo ora una specie divisa in demi monoclonali e soggetta a un evento catastrofico. In tali casi, per ciascuno di loro, se non vi è sacrificio di alcun individuo, si pone che vi è uno svantaggio per ciascun individuo pari a S .

Al contrario, se per azione di un gene C, tra n individui che hanno il gene C, alcuni (n_d) si sacrificano e muoiono ($S_d = -1$) mentre ciascuno dei sopravviventi (n_s) gode di un vantaggio S_s , poiché si può assumere per i batteri un valore riproduttivo costante a qualsiasi età ($P_x = 1$) e in un deme monoclonale r_x è sempre uguale a 1, il gene C sarà favorito dalla selezione naturale se:

$$\sum_{x=1}^{n_d} S_d + \sum_{x=1}^{n_s} S_s > S n \quad (3)$$

vale a dire se:

$$n_d S_d + n_s S_s > S n \quad (4)$$

formula che è uno sviluppo di (1).

Nei casi in cui il deme è composto di più cloni (1, 2, ..., z), se C esiste in tutti gli individui del clone 1, lo stesso esisterà in un clone x con una probabilità pari al coefficiente di parentela fra il clone 1 e il clone x (r_x), e il gene C è favorito dalla selezione naturale se:

$$(n_{1,d} S_d + n_{1,s} S_s) + (n_{2,d} r_2 S_d + n_{2,s} r_2 S_s) \dots + (n_{z,d} r_z S_d + n_{z,s} r_z S_s) > S \quad (5)$$

dove, in un clone x, $n_{x,d}$ sono gli individui che si sacrificano e $n_{x,s}$ i sopravvivenuti.

E' necessario notare che la formula della selezione di parentela (1) è stata trasformata nelle formule (4) e (5) che descrivono due casi di selezione di gruppo. In definitiva, non vi è alcuna insormontabile distinzione tra selezione di parentela e selezione individuale, v. formula (2), e almeno alcuni tipi di selezione di gruppo, v. formule (4) e (5).

Il mondo eucariota unicellulare

Per essere concisi nel proporre su basi solide l'evidenza empirica e le argomentazioni, in questa sezione la discussione sarà limitata a una singola ma ben studiata specie unicellulare eucariota, vale a dire il lievito (*Saccharomyces cerevisiae*).

In questa specie, un fenomeno che somiglia strettamente all'apoptosi degli eucarioti multicellulari è un ritrovato relativamente recente [Madeo et al. 1997]. In particolare, fu mostrato che il fenomeno era scatenato dall'espressione amplificata di un fattore che attivava l'apoptosi (il BAX dei mammiferi) [Ligr et al. 1998], mentre l'espressione amplificata di un altro fattore che inibiva l'apoptosi (il Bcl-2 dell'uomo) appariva ritardare il processo che conduceva a esso [Longo et al. 1997].

La somiglianza tra questo fenomeno e l'apoptosi negli eucarioti multicellulari è rafforzata da un corpo crescente di evidenza empirica. Ciò

implica che i due tipi di fenomeni meritano lo stesso nome e inoltre suggerisce una comune origine filogenetica [Madeo et al. 1999; Longo et al. 2005; Kaeberlein et al. 2007]: “... dal tempo della prima descrizione dell’apoptosi in un ceppo di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) che aveva la mutazione CDC48 ..., nel lievito sono stati scoperti molti ortologi di proteine chiave dell’apoptosi nei mammiferi ..., e sono state delineate vie metaboliche apoptotiche conservate proteosomali, mitocondriali, e regolate da istoni ...” [Büttner et al. 2006]

Nel lievito, l’apoptosi è attivata o favorita da: a) dannose alterazioni chimiche dell’habitat [Madeo et al. 1999]; b) un calo critico nei nutrienti [Granot et al. 2003]; c) l’accoppiamento senza successo [Büttner et al. 2006]; e d) tossine assassine che sono secrete da tribù di lievito in competizione [Büttner et al. 2006].

Un fatto cruciale, analogo a quanto avviene negli eucarioti multicellulari, è che quando una cellula di lievito muore per apoptosi, le sue parti non sono dannose per gli altri individui e al contrario sono utilmente fagocitate o assorbite dalle altre cellule che, di conseguenza, “sono capaci di sopravvivere più a lungo con le sostanze rilasciate dalle cellule che muoiono” [Herker et al. 2004].

Le modalità dell’apoptosi nel lievito sono state interpretate come adattative perché appaiono essere utili per la sopravvivenza del deme [Skulachev 2002a, 2003; Herker et al. 2004; Fabrizio et al. 2004; Longo et al. 2005; Skulachev e Longo 2005; Mitteldorf 2006]. L’interpretazione adattativa del suicidio di massa per apoptosi appare plausibile in molti casi se la specie di lievito è divisa in piccoli demi, ciascuno costituito da uno o pochi cloni. Un caso differente è il suicidio per apoptosi scatenato da tossine che sono secrete da tribù di lievito nemiche, in cui l’anzidetto meccanismo adattativo è chiaramente sfruttato dagli avversari [Büttner et al. 2006].

Fin qui è possibile notare evidenti analogie tra la fenoptosi di massa dei procarioti mediante proapoptosi e la fenoptosi di massa del lievito mediante apoptosi, e in entrambi i casi la selezione di gruppo è una verosimile causa evuzionistica di questi fenomeni. Ma il lievito mostra meccanismi più sofisticati e qualcos’altro che, come vedremo, è connesso con fenomeni mostrati da organismi multicellulari.

La riproduzione nel lievito si attua per divisione asimmetrica in due cellule, una definita come “madre” e l’altra come “figlia”. Le cellule della linea figlia non mostrano limiti nella capacità di riproduzione, mentre quelle della linea madre possono riprodursi solo un numero limitato di volte. Jazwinski trovò un limite di 25-35 duplicazioni nel periodo di circa 3 giorni

[Jazwinski 1993]. Man mano che aumenta il numero di duplicazioni, vi è una crescente vulnerabilità all'apoptosi e alla senescenza replicativa [Laun et al. 2001; Herker et al. 2004; Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008], e ciò spiega come in particolari condizioni di stress parte della popolazione muore e il resto sopravvive.

Comunque ciò è più di un meccanismo sofisticato per selezionare un elenco ordinato degli individui che devono sacrificarsi se necessario (con una priorità per il sacrificio che è proporzionale al numero delle precedenti duplicazioni nella linea madre).

Nel lievito, le cellule della linea madre mostrano, in proporzione al numero di duplicazioni, oltre a una crescente suscettibilità alla senescenza replicativa e all'apoptosi, crescenti alterazioni metaboliche [Laun et al. 2001; Lesur e Campbell 2004; Herker et al. 2004; Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008]. Il conseguente tasso di mortalità correlato con il numero di duplicazioni segue una dinamica esponenziale [Laun et al. 2007], simile a quella mostrata dagli individui di molte specie multicellulari [Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013]. Le cellule della linea madre di ceppi selvatici di lievito mostrano un declino della fitness, vale a dire un incremento della mortalità, che è proporzionale al numero di duplicazioni, e pertanto il fenomeno è in qualche modo nei limiti del concetto di invecchiamento ("crescente mortalità con crescente età cronologica in popolazioni allo stato selvatico" [Libertini 1988]). Dovrebbe essere notato che mentre in qualche modo è possibile dire che il lievito invecchia, questo è inappropriato per i batteri.

Ora è essenziale considerare come questo accade nel lievito.

Le cellule eucarioti, sia delle specie unicellulari sia di quelle multicellulari, a differenza dei procarioti che hanno un DNA circolare, hanno un DNA lineare. E' ben noto che, a ogni replicazione, l'enzima DNA polimerasi lascia fuori parte della sezione terminale del DNA lineare (telomero) e la molecola diventa più corta [Olovnikov 1971; Watson 1972]. Il progressivo accorciamento del DNA conduce all'impossibilità a duplicarsi e pertanto fu predetto che un indispensabile ma ipotetico enzima ripristinava la parte perduta del telomero [Olovnikov 1973]. L'enzima (telomerasi) fu successivamente scoperto [Greider e Blackburn 1985].

Nel lievito, la telomerasi è sempre attiva e a ogni duplicazione ripristina fedelmente la lunghezza della molecola di DNA. Di conseguenza le cellule di lievito sia della linea madre sia di quella figlia non mostrano alcuna riduzione della lunghezza del telomero a ogni replicazione [D'Mello e Jazwinski 1991; Smeal et al. 1996; Maringele e Lydall 2004].

Ciò indica che le alterazioni metaboliche e la vulnerabilità all'apoptosi e alla senescenza replicativa mostrate, in proporzione al numero di divisioni, dagli individui della linea madre sono dovuti a un altro meccanismo, che è stato poi identificato.

Nelle cellule madri del lievito di tipo selvatico, particolari molecole, vale a dire i circoli di DNA extracromosomici ribosomali (CER), si accumulano in proporzione al numero di duplicazioni [Sinclair e Guarente 1997] e “molteplici linee di evidenza suggeriscono che l'accumulo dei CER è un determinante della durata della vita” [Lesur e Campbell 2004].

A riguardo di ciò, due tipi di mutanti di lievito presentano dati interessanti. I mutanti del tipo *dna2-1* sono affetti da un'anomala replicazione del DNA e pertanto manifestano ritmi accresciuti di accumulo dei CER, i quali causano precoci alterazioni nelle espressioni dei geni. In breve, nelle cellule della linea madre, gli individui giovani di questi mutanti hanno un transcriptoma che è simile a quello degli individui più anziani (si intenda con più duplicazioni) del lievito normale [Lesur e Campbell 2004].

Un altro tipo di lievito mutante, i mutanti *tlc1Δ*, in cui la telomerasi è deficitaria, mostrano l'accorciamento del telomero sia nelle cellule madri sia in quelle figlie. Inoltre, gli individui più anziani appartenenti alla linea delle cellule figlie, che - come i ceppi normali - non hanno alcun accumulo dei CER, manifestano un'espressione complessiva dei geni, vale a dire un transcriptoma, simile a quello degli individui più anziani della linea materna dei ceppi normali e degli individui giovani della linea materna dei mutanti *dna2-1* [Lesur e Campbell 2004].

Come si vedrà sotto per gli eucarioti multicellulari, è possibile che nei mutanti del lievito che sono deficitari di telomerasi, come nelle cellule degli eucarioti multicellulari con telomerasi inattiva, l'accorciamento del telomero determina lo scivolamento del cappuccio eterocromatinico sul telomero e ciò interferisce con parti critiche del DNA subtelomerico.

Da evidenza empirica largamente basata su esperimenti sul lievito: “Un modello del legame fra telomero ed espressione genica è un'alterata struttura del cromosoma ..., come ad esempio un 'cappuccio' eterocromatinico che copre il telomero e una parte variabile del cromosoma subtelomerico Man mano che il telomero si accorcia, il cappuccio scivola sempre più lungo il cromosoma (il cappuccio eterocromatinico rimane invariante come dimensione e semplicemente si muove con il capo terminale del cromosoma che si accorcia) oppure il cappuccio si accorcia (poiché il telomero è meno in grado di trattenere l'eterocromatina). In entrambi i casi il risultato è un'alterazione della trascrizione delle parti del

cromosoma immediatamente adiacenti al complesso telomerico, di regola causando silenzio trascrizionale, sebbene il controllo è senza dubbio più complesso del semplice effetto dovuto alla contiguità del telomero ... Questi geni resi silenti possono a loro volta modulare altri e più distanti geni (o gruppi di geni). Vi è qualche diretta evidenza per tale modulazione nel subtelomero ...” [Fosset 2004].

Mentre nei mutanti del lievito *tlc1Δ* il silenziamento del DNA subtelomerico potrebbe essere una conseguenza dell'accorciamento del telomero, nelle cellule di lievito non mutanti della linea madre il silenziamento potrebbe essere determinato dal progressivo accumulo dei CER che ricopre e inibisce la regione subtelomerica (per ulteriori considerazioni a riguardo del graduale silenziamento del subtelomero e le alterazioni metaboliche correlate, si veda la successiva sezione, nella sottosezione senescenza cellulare “graduale”).

A riguardo della crescente suscettibilità all'apoptosi e alla senescenza replicativa, in proporzione al numero di duplicazioni, un meccanismo analogo a quello trovato negli eucarioti multicellulari potrebbe essere proposto (si veda la prossima sezione, sottosezione “senescenza cellulare”). Comunque questi dati fanno nascere un importante interrogativo. Un meccanismo che causa una resistenza differenziata all'apoptosi e di conseguenza stabilisce una sorta di lista priorità per il sacrificio individuale in caso di necessità è perfettamente coerente con la logica della selezione di gruppo che appare favorire la fenoptosi di massa se ciò è utile per la sopravvivenza del deme.

Al contrario, il fatto che lo stesso meccanismo (o qualcosa di correlato) progressivamente compromette il metabolismo cellulare e la resistenza alla senescenza replicativa, e pertanto la fitness, non appare essere necessario per gli scopi del possibile sacrificio e, pertanto, non è spiegato dall'anzidetta selezione di gruppo. Si deve di conseguenza presumere:

- o un vincolo obbligatorio tra la crescente vulnerabilità alla senescenza replicativa e alla progressiva compromissione metabolica (e analogamente all'importanza critica della regione subtelomerica del DNA);
- o che vi è una spiegazione evoluzionistica alternativa.

In effetti, Büttner et al. già suggerirono che “l'apoptosi unitamente all'invecchiamento cronologico e replicativo limitano la longevità che manterrebbe le antiche varianti geniche nella popolazione e di conseguenza favoriscono il conservatorismo genetico.” [Büttner et al. 2006]

Questa non è per nulla una nuova ipotesi.

Ben prima dell'acquisizione degli anzidetti dati dal lievito, fu proposto che, per specie soggette a K-selezione (in breve, selezione in un habitat saturo e demograficamente stabile) [Pianka 1970], un declino della fitness correlato con l'età, vale a dire l'invecchiamento, sarebbe stato adattativo [Libertini 1988, 2006]. I lavori originali dovrebbero essere letti, ma qui una breve esposizione può essere utile.

Nell'ambito di una specie, la velocità di diffusione di un qualsivoglia gene C dipende sia dal suo vantaggio (S) su un allele C', ipotizzato come neutrale, sia dal tempo di generazione, vale a dire il reciproco della "durata media della vita" (= 1/VM; si veda la Figura 1).

Ora, un ipotetico gene C che comporti la morte prematura dell'individuo I in cui C è presente, e pertanto riduce la VM di I e causa uno svantaggio S', accelera la diffusione di qualsiasi gene vantaggioso G nell'individuo I' che sostituisce I. Se I' è imparentato con I, C sarà accresciuto nella sua frequenza dalla selezione naturale se:

$$\sum_{x=1}^n [r S_x (1/VM_C - 1/VM_{C'})] > S' \quad (6)$$

dove: VM_C indica la VM degli individui che hanno C e $VM_{C'}$ è la VM di quelli che hanno un allele neutrale C'; S_x è il vantaggio di uno fra gli n geni favorevoli G che sono in diffusione nell'ambito della specie; S' è lo svantaggio di una più breve VM; e r indica il coefficiente medio di parentela fra gli individui I che muoiono anticipatamente per azione di C e gli individui I' che li sostituiscono.

Tre brevi annotazioni: (i) la formula (6) è un altro sviluppo della formula generale (1) per la selezione di parentela; ii) se G è un gene dannoso, C accelera la sua eliminazione e in tal caso il valore S_x deve intendersi il vantaggio dell'allele non dannoso rispetto a G; iii) la selezione di parentela come spiegazione evolucionistica per l'invecchiamento non dovrebbe essere confusa con il suo impiego per giustificare la sopravvivenza di individui in età post-riproduttiva, ad esempio come già proposto in altro lavoro [Lee 2008].

Questa ipotesi fu proposta per gli eucarioti multicellulari, ma per la sua applicazione anche agli eucarioti unicellulari non vi è alcuna argomentazione teorica che vi si oppone. Büttner et al. non propongono spiegazioni evolucionistiche alternative oltre al suggerimento prima menzionato [Büttner et al. 1999], che può essere considerato

un'espressione abbreviata dell'ipotesi appena descritta [Libertini 1988], in particolare se, per il lievito, si suppongono condizioni ecologiche di vita del tipo della K-selezione.

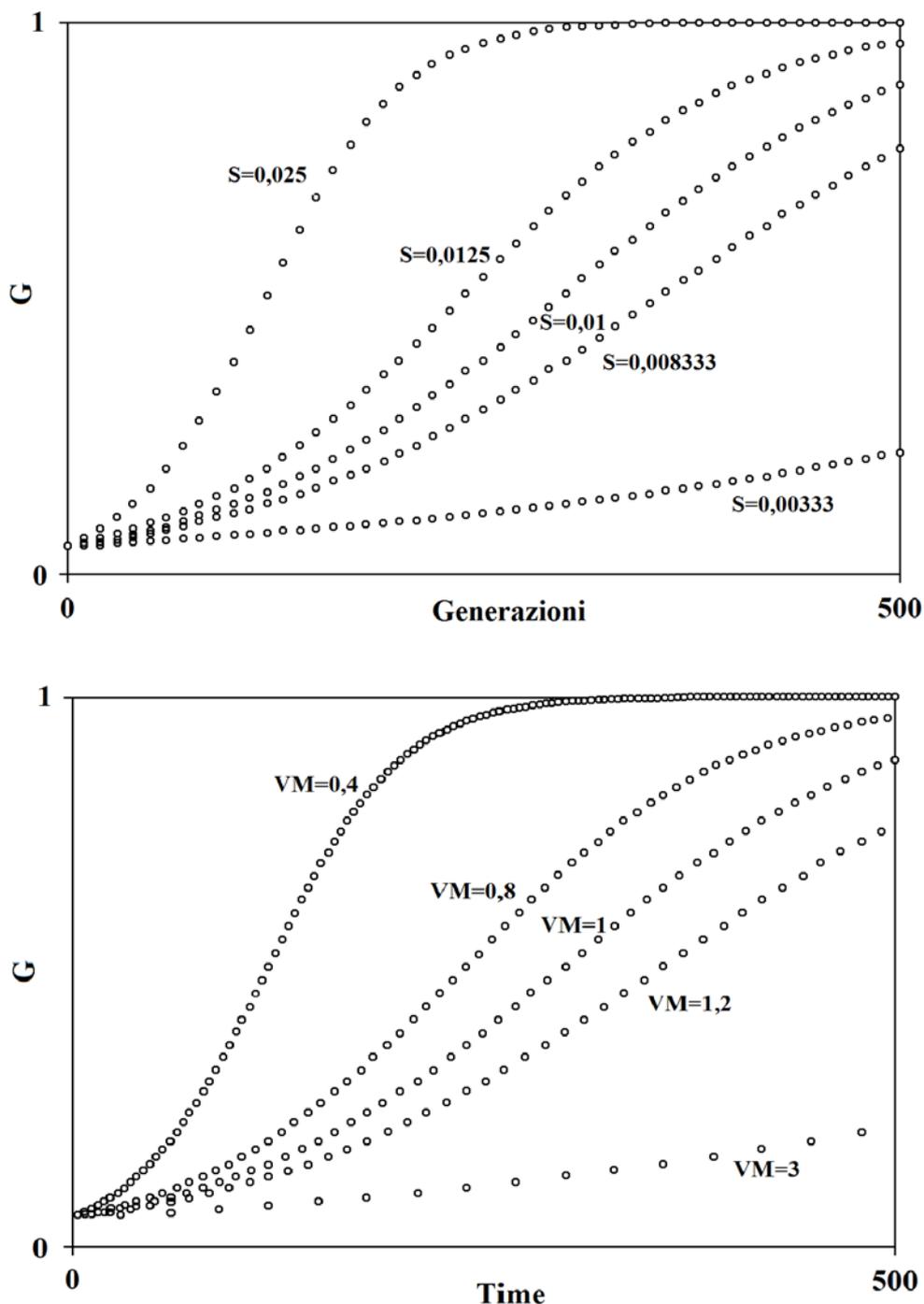


Figura 1 – Sopra: Diffusione di un gene in relazione al valore di S ; Sotto: Diffusione di un gene in relazione alla variazione della VM . Un incremento/decremento di S o dell'inverso del valore della VM comportano gli stessi risultati sulla velocità di diffusione di un gene nell'ambito di una specie (figura ridisegnata da [Libertini 1988]).

Viceversa, l'anzidetta interpretazione adattativa dell'invecchiamento applicata al lievito può essere considerata conforme all'ipotesi proposta da Büttner et al. ma formulata in termini di selezione di parentela.

Lewis, nella sua critica dell'ipotesi, argomenta contro il “suggerimento che le cellule di lievito forniscono un precedente per la morte programmata” [Lewis 2000], proposto da altri [Sinclair et al. 1998], con la seguente osservazione: se una cellula di lievito della linea madre muore dopo le 25-35 duplicazioni riportate in condizioni di laboratorio [Jazwinski 1993], la presenza di un singolo individuo con il massimo numero possibile di duplicazioni tra 2^{25} - 2^{35} ($= 3,36 \cdot 10^7$ - $3,44 \cdot 10^{10}$) discendenti appare inverosimile e pertanto la sua morte sarebbe irrilevante per qualsiasi teoria adattativa della morte programmata.

Comunque l'argomento di Lewis non coglie il punto chiave: la morte al momento dell'ultima duplicazione possibile di un singolo individuo fra innumerevoli altri è un evento rarissimo o impossibile, o anche solo teorico, mentre la crescente probabilità di apoptosi – proporzionalmente, in misura progressiva, al numero di duplicazioni -, più le differenze nella fitness (vale a dire nei tassi di mortalità) e nella capacità di avere progenie nel confronto tra individui “più giovani” e “più anziani”, è reale: “in una popolazione di cellule [di lievito] la distribuzione dei valori della vita media segue la legge di Gompertz” [Laun et al. 2007], ossia un progressivo aumento della mortalità correlato con l'età; “La probabilità che una cellula di lievito produca figlie cala esponenzialmente in funzione della sua età in termini di divisioni cellulari o generazioni (Jazwinski et al., 1998).” [Lesur e Campbell 2004]. Se, allo stato selvatico, la morte degli individui “più anziani” riduce significativamente la *VM* del lievito e pertanto determina un più rapido ricambio delle generazioni, l'argomentazione di Lewis risulta irrilevante per l'ipotesi che nel lievito la crescente mortalità in relazione al numero di duplicazioni ha un valore selettivo favorevole. Comunque l'obiezione di Lewis è assai interessante in quanto riecheggia un'analogia obiezione contro l'ipotesi dell'invecchiamento programmato negli organismi multicellulari, la quale sarà discussa nella successiva sezione.

Un'altra possibile critica è che nel lievito una generazione succede a un'altra entro pochi giorni, un ritmo assai veloce quando confrontato con specie come la nostra, e pertanto la riduzione dei pochi giorni della *VM* del lievito potrebbe apparire irrilevante. Ma questa obiezione non considera che la teoria adattativa dell'invecchiamento proposta nel 1988 [Libertini 1988] (illustrata nella Figura 1), è basata sull'accelerazione relativa del

ritmo dell'evoluzione e non sul valore assoluto di tale ritmo. Per esempio, se la VM di una specie passa da un valore t a un valore $t/2$, la velocità di diffusione di un gene all'interno della specie raddoppia sia se $t = 30$ anni, sia se $t = 5$ giorni, sia se t ha qualsiasi altro valore.

La transizione dagli eucarioti unicellulari ai multicellulari

La transizione da un deme eucariota unicellulare e monoclonale a un organismo eucariota multicellulare con cellule indifferenziate o minimamente differenziate verosimilmente significa una transizione graduale e non una rottura drastica.

In un deme monoclonale composto di individui unicellulari, il sacrificio di un individuo per apoptosi è chiaramente un fenomeno fenoptotico spiegabile in termini di selezione di gruppo. In un individuo multicellulare con cellule indifferenziate, è possibile definire il sacrificio di alcune cellule, ad esempio per apoptosi, come un fenomeno distinto dalla fenoptosi ma la differenza di questo sacrificio nel confronto con l'apoptosi-fenoptosi di un individuo in un deme monoclonale di individui unicellulari è piccola e difficile da definire.

Poiché, nelle specie multicellulari, nel corso dell'evoluzione le cellule di un individuo accrescono man mano la loro differenziazione e, in particolare, come punto fondamentale di svolta, quando la funzione riproduttiva viene affidata solo ad alcune cellule differenziate, l'apoptosi si allontana sempre più nel suo significato dall'apoptosi-fenoptosi degli organismi unicellulari e acquisisce le sue distinte funzioni nel contesto della più complessa organizzazione di un organismo multicellulare con cellule e organi differenziati.

Il mondo eucariota multicellulare con cellule differenziate

Gli eucarioti multicellulari mostrano una serie di fenomeni che sono importanti per la nostra discussione.

1) Morte cellulare programmata

Oltre all'apoptosi, gli organismi multicellulari mostrano vari tipi di morte cellulare programmata (MCP), ad esempio: cheratinizzazione dell'epidermide e delle cellule dei capelli, fagocitosi degli osteociti da parte degli osteoblasti, distacco delle cellule dalle pareti interne delle cavità del corpo, e gli eritrociti, che sono cellule specializzate che perdono il loro nucleo e sono successivamente (dopo circa tre mesi) rimosse dai macrofagi.

Per la prima volta, in eucarioti multicellulari, l'apoptosi fu descritta e chiaramente differenziata dalla necrosi in uno studio sul fegato normale [Kerr et al. 1972]. Mentre la necrosi è la morte della cellula determinata da danno cellulare, l'apoptosi può essere definita come una forma ordinata di autodistruzione cellulare. Essa è ubiquitaria nelle specie eucarioti [Longo et al. 2005] e, similmente a quanto accade nel lievito [Herker et al. 2004], una cellula che muore per apoptosi non danneggia le altre cellule; i frammenti cellulari sono rimossi dai fagociti in un modo ordinato e non suscitano risposta infiammatoria [Erwig e Henson 2008].

La MCP per effetto dell'apoptosi, che è selettivamente attivata in tempi specifici e per specifiche cellule, è indispensabile per una serie di funzioni che necessariamente rappresentano uno sviluppo e un adattamento delle funzioni originarie negli organismi con una singola cellula: meccanismi morfogenetici (ad esempio, sviluppo neurale nell'embrione [Nijhawan et al. 2000], guarigione di ferite [Greenhalgh 1998], etc.), selezione dei linfociti [Cohen 1993; Opferman 2008], eliminazione di cellule infette o danneggiate [Tesfaigzi 2006; White 2006], etc.

Nei vertebrati l'apoptosi è documentata in molti tessuti e organi [Pontèn et al. 1983; Benedetti et al. 1988; Dremier et al. 1994; Finegood et al. 1995; Migheli et al. 1997; Prins e O'Rahilly 1997; Spelsberg et al. 1999; Cardani e Zavanella 2000; Harada et al. 2000; Héraud et al. 2000; Pollack e Leeuwenburgh 2001; Sutherland et al. 2001; Xia et al. 2001], ed è un fenomeno essenziale per il rinnovo cellulare in organi e tessuti sani [Wyllie et al. 1980; Lynch et al. 1986; Israels e Israels 1999; Medh e Thompson 2000].

Telomeri corti e telomerasi inattivata accrescono la probabilità di apoptosi [Ozen et al. 1998; Holt et al. 1999; Seimiya et al. 1999; Ren et al. 2001; Fossel 2004].

2) Limiti alle capacità di duplicazione cellulare e al turnover cellulare

Negli organi e tessuti sani, per assicurare il normale ricambio cellulare, la continua morte delle cellule per apoptosi e altri tipi di MCP deve essere bilanciata dalla sostituzione con un eguale numero di cellule prodotte dalla duplicazione di specifiche cellule staminali.

Prima degli anni '60, era accettata da tutti la vecchia tesi del premio Nobel Alexis Carrel di un'illimitata capacità di duplicazione anche nelle cellule non della linea germinale degli organismi multicellulari [Carrel 1913; Carrel ed Ebeling 1921a, 1921b], ma proprio in quel tempo il cosiddetto limite di Hayflick della capacità di duplicazione cellulare fu dimostrato *in*

vitro [Hayflick e Moorhead 1961; Hayflick 1965] e poi *in vivo* [Schneider e Mitsui 1976]. Questo limite è documentato per molti tipi di cellule [Rheinwald e Green 1975; Bierman 1978; Tassin et al. 1979], è in relazione inversa con l'età dell'individuo [Martin et al. 1970] e, approssimativamente, in relazione diretta con la longevità della specie [Röhme 1981]. Come accennato nella precedente sezione, questo limite è la conseguenza dell'incompleta duplicazione del telomero per azione della polimerasi.

I telomeri, sequenze ripetitive di DNA altamente conservate nel corso dell'evoluzione [Blackburn e Gall 1978; Moyzis et al. 1988; Blackburn 1991], si accorciano a ogni replicazione cellulare [Harley et al. 1990], ma la telomerasi, se attiva, ripristina la lunghezza dei telomeri a ogni replicazione. Ciò spiega perché le cellule della linea germinale hanno capacità di duplicazione illimitate [Greider e Blackburn 1985]. Se la telomerasi è inattiva, le duplicazioni causano l'accorciamento del telomero e una coltura cellulare o un tessuto mostrano una riduzione nelle proprie capacità di duplicazione [Yu et al. 1990], mentre una cellula con telomerasi attivata diventa capace di un numero illimitato di duplicazioni [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999].

L'attività della telomerasi è regolata da proteine specifiche [van Steensel e de Lange 1997] e, nell'uomo, è senza restrizioni nelle linee cellulari immortali [Morin 1989]. Al contrario, per la massima parte dei tipi cellulari, l'attività della telomerasi è limitata, verosimilmente in proporzione inversa al ritmo di ricambio cellulare. Infatti, è ben noto che il ritmo di rinnovo cellulare è alquanto variabile in base al tipo di cellula, tessuto e organo: “l'osso ha un tempo di rinnovo di circa dieci anni nell'uomo” [Alberts et al. 2013] e “il cuore è rinnovato circa ogni 4,5 anni” [Anversa et al. 2006], ma “le cellule [dell'epitelio intestinale] sono sostituite in un tempo fra i tre e i sei giorni” [Alberts et al. 2013] (per altri dati a riguardo dei ritmi di rinnovo, si veda [Richardson et al. 2014]). Questo implica che i vari tipi di cellule staminali devono permettere la regolazione dell'attività telomerasica che varia quindi enormemente a seconda del tipo cellulare. Pertanto ogni limitazione nell'attività della telomerasi deve essere geneticamente determinata e finemente modulata e non può essere il risultato di insuperabili restrizioni biochimiche.

In breve, negli eucarioti multicellulari, i limiti della replicazione cellulare sono determinati e modulati da restrizioni nell'attività telomerasica.

Ciò è differente da quanto accade nel lievito, dove, come già sottolineato, la telomerasi è sempre attiva e la progressiva limitazione della capacità di replicazione è determinata dall'accumulo - che è proporzionale al numero di duplicazione e accade solo negli individui della linea madre - di particolari molecole (i CER) sul segmento subtelomerico.

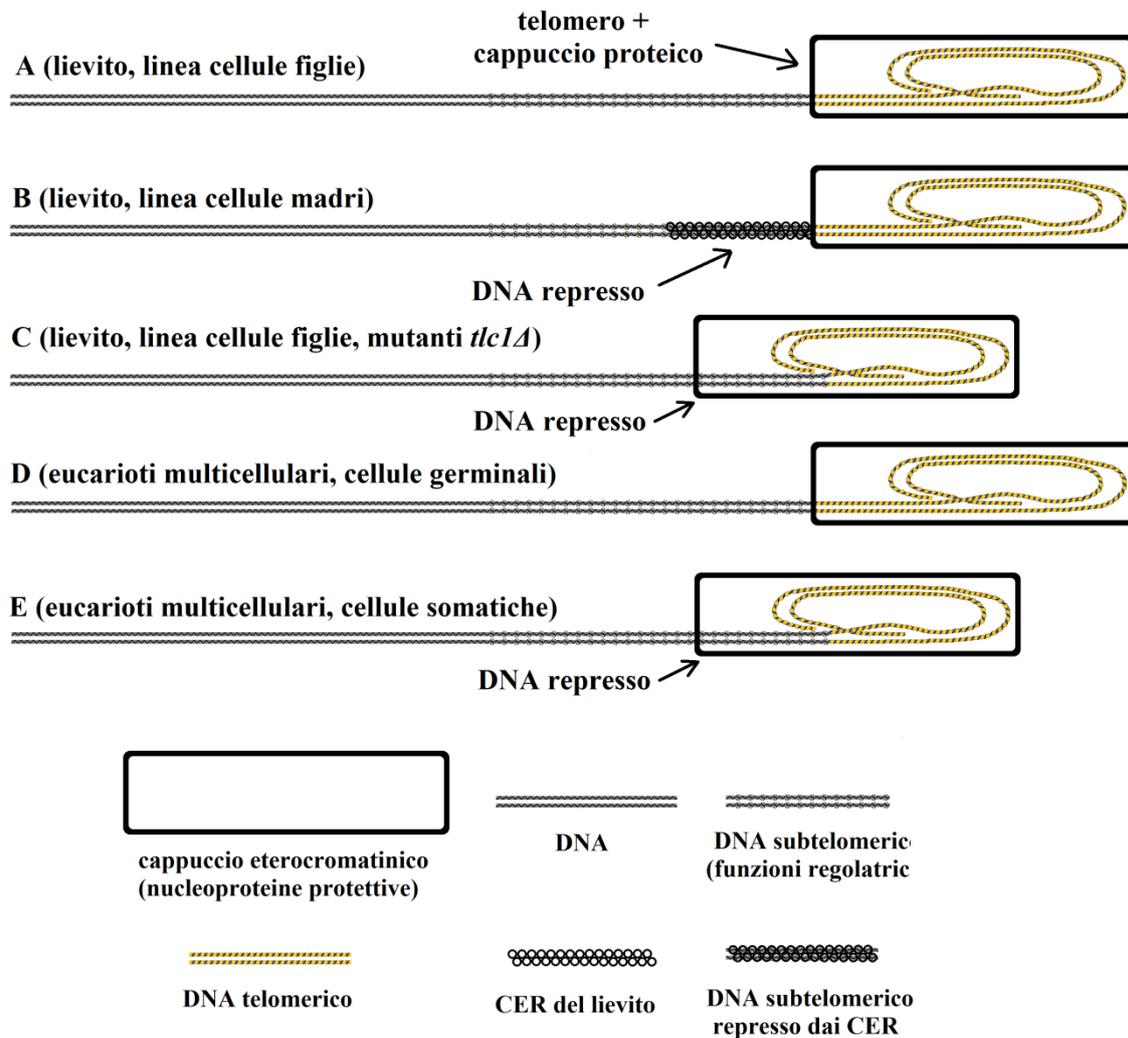


Figura 2 (modificata e ridisegnata dalla Figura 6 di [Libertini 2015a]) - In A e D, i telomeri non sono accorciati e il subtelomero (porzione adiacente al telomero della molecola di DNA) non è represso. In C ed E, i telomeri sono accorciati e il subtelomero è represso a causa dello scivolamento del cappuccio proteico. In B, il subtelomero è represso dall'accumulo dei CER. I "simboli" nella parte in basso sono usati anche nelle figure successive.

Comunque, è stato anche sottolineato che nei mutanti *tlc1Δ* del lievito, caratterizzati dall'inattivazione della telomerasi, le cellule della linea figlia, che non hanno alcun accumulo dei CER, mostrano accorciamento del

telomero e limitazioni nella loro capacità di duplicarsi e altre alterazioni come quelle causate dall'accumulo dei CER nelle cellule della linea madre (Figura 2). Le similarità tra i mutanti *tlc1Δ* del lievito e le cellule degli organismi multicellulari sono evidentissime e ci permettono di ipotizzare una comune origine filogenetica.

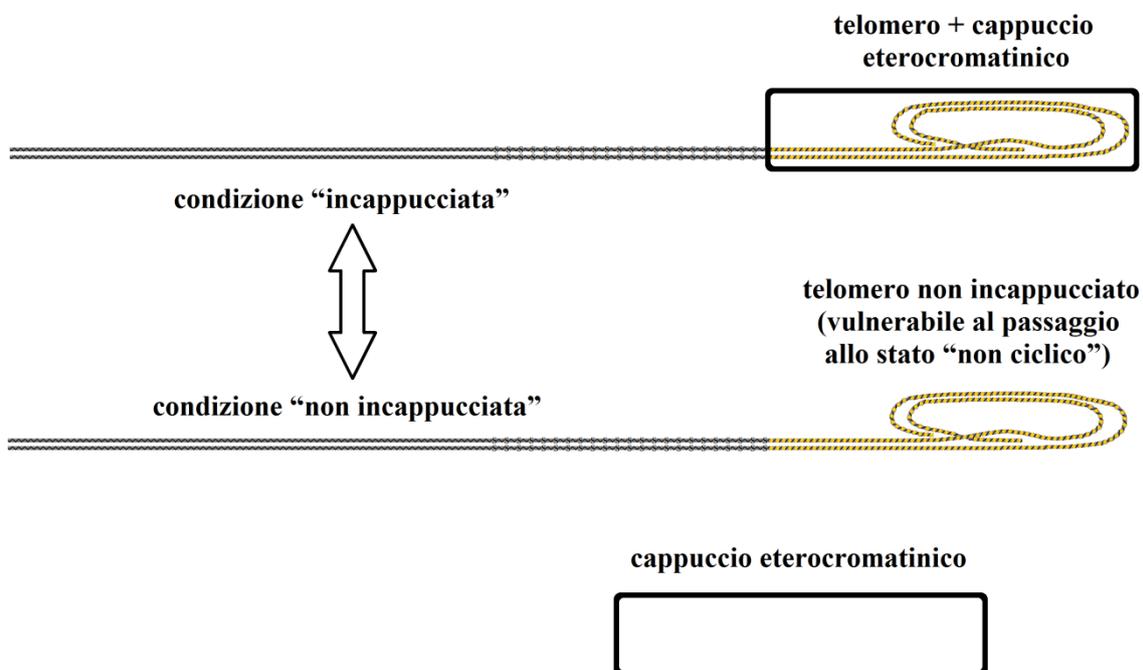


Figura 3 – Il telomero oscilla tra le condizioni "capped" (ricoperto dal cappuccio eterocromatinico) e "uncapped" (non ricoperto). La probabilità della condizione uncapped cresce in proporzione all'accorciamento del telomero. Un telomero uncapped, vale a dire non protetto, è un capo libero della molecola di DNA ed è suscettibile di una fusione fra due capi liberi che blocca la replicazione cellulare.

3) Senescenza cellulare

In una coltura cellulare, fu dimostrato che la senescenza replicativa, vale a dire l'incapacità definitiva alla duplicazione cellulare, era una progressiva riduzione del potenziale di crescita della coltura cellulare, correlata con la riduzione della lunghezza del telomero, e non un improvviso evento contemporaneo per tutte le cellule [Pontèn et al. 1983; Jones et al. 1985].

In base al modello proposto da Blackburn [Blackburn 2000], un cappuccio proteico ricopre il telomero, che oscilla tra le condizioni "non incappucciato" e "incappucciato": il primo stato è vulnerabile al passaggio alla senescenza replicativa, vale a dire alla condizione non ciclica, mentre la durata dell'altro stato è direttamente correlata alla lunghezza del

telomero (Figura 3). Perfino se le cellule hanno la telomerasi attivata e mantengono i telomeri al massimo della loro lunghezza, a ogni divisione una piccola percentuale di esse può passare alla condizione non ciclica [Blackburn 2000].

Per una popolazione cellulare con telomerasi inattiva e i telomeri al massimo della loro lunghezza, fu dimostrato un progressivo declino delle capacità di replicazione, proporzionale al numero di duplicazioni. Inoltre le cellule staminali, a differenza delle cellule germinali, mostrerebbero livelli di attività della telomerasi solo parzialmente in grado di preservare la lunghezza del telomero [Holt et al. 1996] e, di conseguenza, non possono illimitatamente rimpiazzare gli elementi eliminati dalla MCP in popolazioni cellulari in rinnovo [Fossel 2004].

La lunghezza assoluta dei telomeri e anche i livelli di attività telomerasica non sono costantemente o strettamente correlati con la durata della vita di una specie. Ad esempio, a) i criceti e i topi hanno lunghi telomeri [Slijepcevic e Hande 1999], ma invecchiano molto prima degli uomini che hanno telomeri più corti; b) nei roditori, non vi è relazione tra l'attività della telomerasi e la massima durata della vita [Gorbunova et al. 2008].

In relazione al numero medio di duplicazioni cellulari in un tessuto o in una coltura cellulare, vi è una crescente probabilità di senescenza cellulare, che è stata indicata come un “fondamentale programma cellulare” [Ben-Porath e Weinberg 2005] ed è caratterizzata dall'espressione modificata di molti geni, in un modo che compromette le funzioni cellulari, e dalla senescenza replicativa (vale a dire, la “condizione non ciclica” di Blackburn [Blackburn 2000]). Una cellula senescente comporta conseguenze dannose sia per la matrice extracellulare sia per altre cellule che sono fisiologicamente interdipendenti o fisicamente vicine. La senescenza cellulare (compresa la senescenza replicativa che ne è la principale caratteristica), certamente è originata in qualche modo dall'accorciamento relativo del telomero (“modello limitato della senescenza cellulare” di Fossel) [Fossel 2004].

4) Senescenza cellulare “graduale”

L'accorciamento del telomero influenza l'espressione del DNA subtelomerico. Questo fenomeno è conosciuto da lungo tempo ed è stato chiamato “effetto di posizione del telomero” [Gottschling et al. 1990], ma è forse preferibile l'espressione “senescenza cellulare graduale” a questa definizione alquanto prudente. Oltre ai riferimenti riportati nella sezione dedicata agli eucarioti unicellulari, un lavoro recente [Robin et al. 2014]

conferma questo fenomeno: “I nostri risultati dimostrano che l’espressione di una parte dei geni subtelomerici è dipendente dalla lunghezza dei telomeri e che ampi cambiamenti nell’espressione genica sono indotti dall’accorciamento del telomero molto prima che i telomeri diventino un fattore limitante per la divisione o che i telomeri corti inizino a segnalare un danno del DNA. Questi cambiamenti includono la regolazione in aumento o in diminuzione dei livelli di espressione genica.”, ed evidenzia che l’accorciamento del telomero, mediante la repressione del DNA subtelomerico, modifica l’espressione genica anche per parti distanti e non subtelomeriche del DNA.

Inoltre, la verosimiglianza di un meccanismo di questo tipo anche per gli eucarioti multicellulari è discussa estesamente da Fossel (si vedano le pagg. 45-56 in [Fossel 2004]; uno schema del fenomeno è illustrato nella Figura 4).

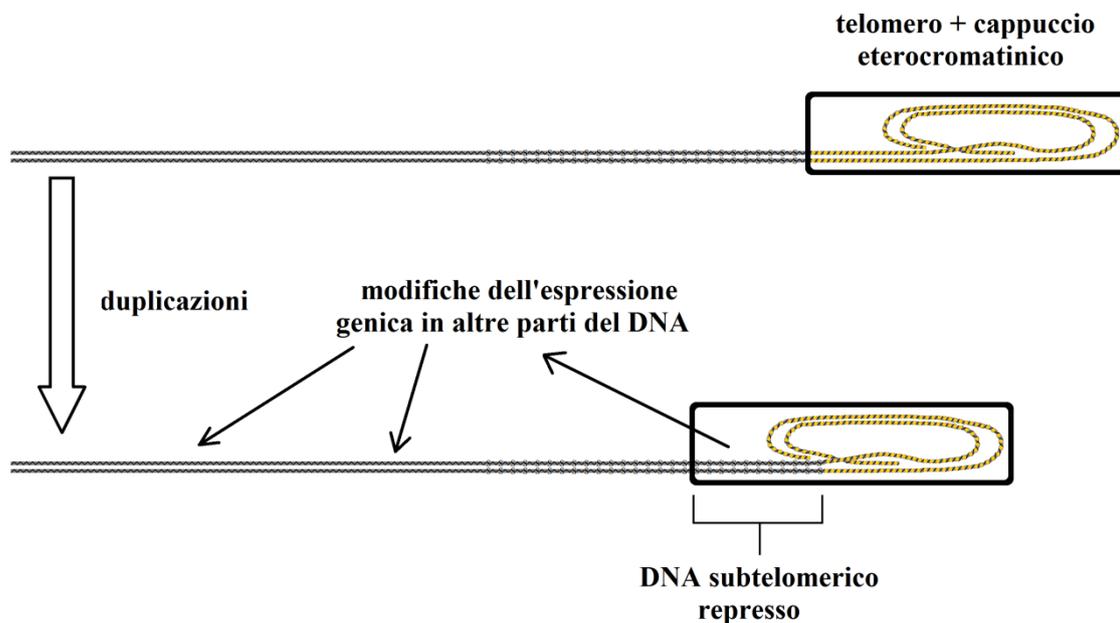


Figura 4 – Il telomero si accorcia a ogni duplicazione e reprime una porzione crescente del DNA subtelomerico. Ciò determina alterazioni nell’espressione genica in diverse e distanti parti della molecola di DNA.

Le nucleoproteine del cappuccio delle senescenza cellulare [Blackburn 2000] e il cappuccio eterocromatinico della senescenza cellulare graduale [Fossel 2004] sono assai verosimilmente la stessa cosa poiché: 1) necessariamente ricoprono la stessa parte terminale della molecola di DNA; e 2) l’attivazione della telomerasi e il conseguente allungamento del telomero determinano l’annullamento di tutte le caratteristiche della senescenza cellulare e della senescenza cellulare graduale [Bodnar et al.

1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999].

5) Relazione tra invecchiamento e accorciamento relativo del telomero e non con la lunghezza assoluta del telomero

Per le cellule della linea germinale e per le cellule somatiche di un donatore da cui è originato un animale clonato, il reset dell'orologio telomerico è un indispensabile preliminare per la prima duplicazione cellulare [Fossel 2004]. La lunghezza iniziale del telomero deve essere stabilita nella fase di reset poiché con ogni successivo accorciamento del telomero la probabilità della senescenza cellulare aumenterà. Nella fase di “reset”, il valore assoluto della “lunghezza del telomero è irrilevante” [Fossel 2004]. Ad esempio, due ceppi di *Mus*, con una lunghezza del telomero rispettivamente di 10 e 20 kb, hanno eguale durata media della vita ed eguali modalità nei tempi di attivazione della senescenza cellulare; lo stesso è stato dimostrato per animali clonati derivati da cellule somatiche con telomeri accorciati e per i rispettivi animali donatori [Fossel 2004]. Nella fase di “reset”, un appropriato modellamento del cappuccio eterocromatinico basato sulla lunghezza del telomero potrebbe giustificare i tempi analoghi della senescenza cellulare graduale e della senescenza cellulare nonostante la differente lunghezza dei loro telomeri (Figura 5).

I topi e altri animali nei confronti con la nostra specie mostrano una durata della vita più breve nonostante abbiano telomeri molto più lunghi [Slijepcevic e Hande 1999] e un'attività di fondo della telomerasi nella massima parte delle cellule somatiche [Prowse e Greider 1995]. (Ma, nelle cellule della microglia del topo, è stato osservato che i telomeri si accorciano con l'età e che “i bassi livelli dell'attività telomerasica presenti possono essere preferenzialmente utilizzati per preservare i telomeri più corti mentre si permette che quelli più lunghi si accorcino più rapidamente” [Flanary 2003].) Inoltre nei topi *knockout* (*mTR*^{-/-}), caratterizzati dalla telomerasi geneticamente inattivata, si osserva che solo da dopo quattro [Herrera et al. 1999] a sei [Blasco et al. 1997] generazioni, quando i telomeri diventano assai corti, la fertilità e la vitalità sono compromesse.

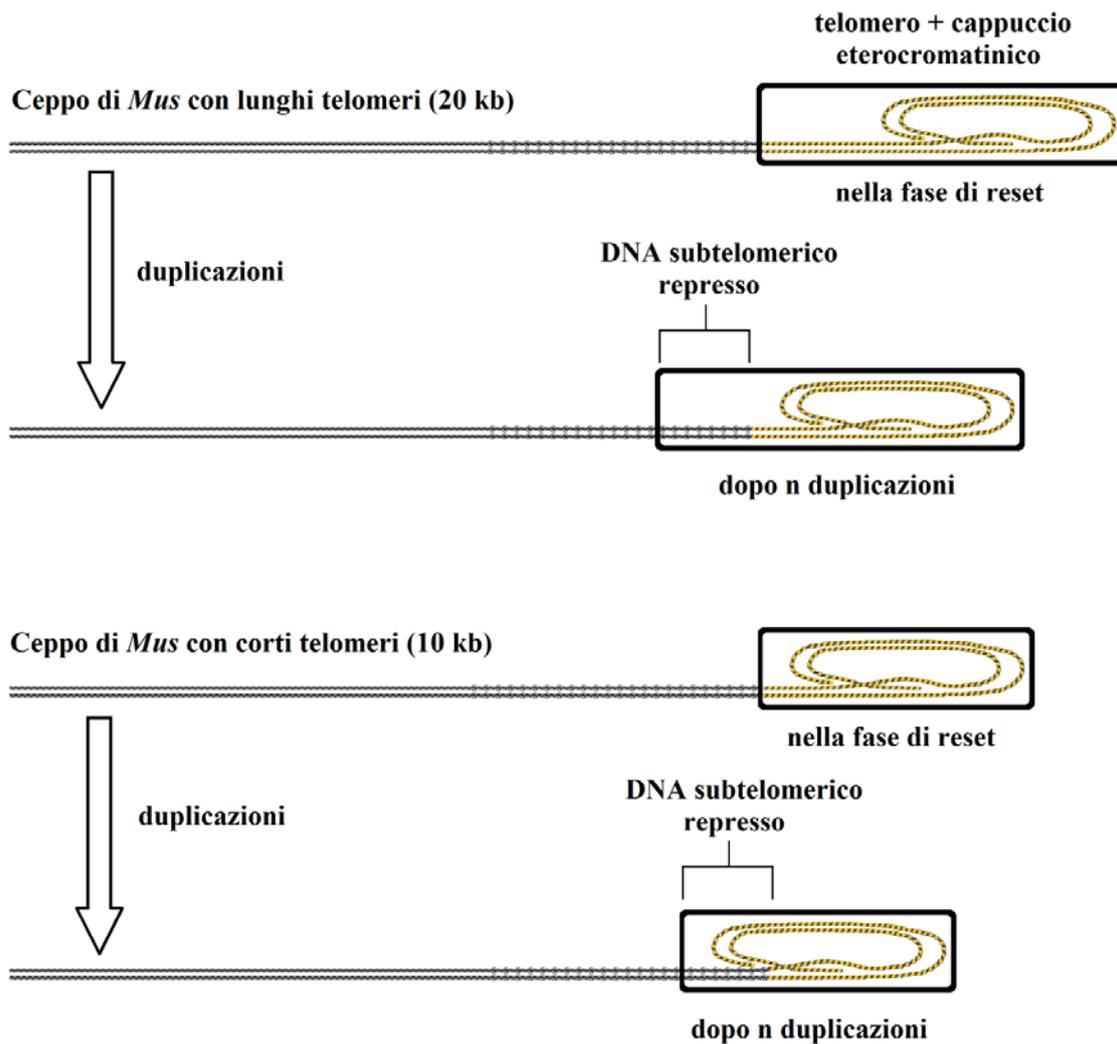


Figura 5 – Quando, nella cellula germinale, l'orologio telomerico è resettato, il cappuccio eterocromatinico verosimilmente è modellato in proporzione alla lunghezza del telomero. Esso necessariamente dovrebbe avere la stessa dimensione durante tutta la vita della cellula primaria e, dopo ogni duplicazione, nelle cellule che ne sono generate. L'accorciamento del telomero relativo a ogni duplicazione determina lo scivolamento del cappuccio eterocromatinico sul DNA subtelomerico con le anzidette conseguenze negative sulle funzioni cellulari e sull'equilibrio fra le fasi capped/uncapped del telomero. Questo modello ipotetico può spiegare l'irrelevanza della lunghezza iniziale del telomero per quanto riguarda gli effetti del suo successivo accorciamento a ogni replicazione [Fossel 2004].

Ma in organi con forte rinnovo cellulare le disfunzioni compaiono nelle prime generazioni [Herrera et al. 1999; Lee et al. 1998]. In ogni caso, la riduzione della fitness causata da queste alterazioni dovrebbe essere

considerata in relazione alle condizioni nello stato selvatico e non nelle artificiali condizioni protette del laboratorio. Il modello della Figura 5, come sviluppato nella Figura 6, potrebbe facilmente spiegare questo fenomeno apparentemente paradossale.

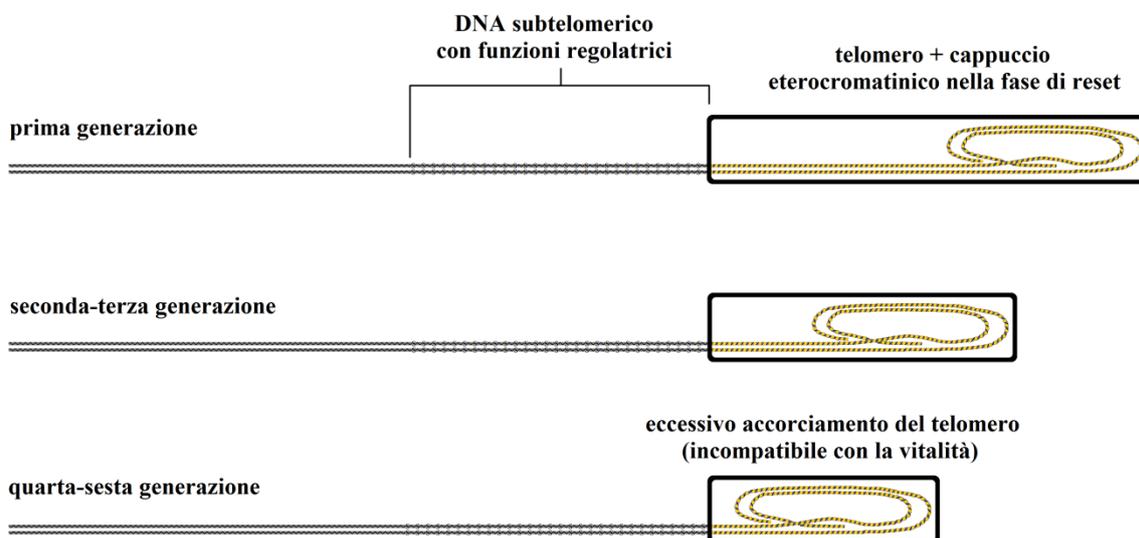


Figura 6 – Nei topi con telomerasi inattivata (knockout mice), la lunghezza del cappuccio eterocromatinico, che è definita nella fase di reset, deve essere proporzionale alla lunghezza del telomero. Successivamente il cappuccio eterocromatinico scivola sopra il DNA subtelomerico e progressivamente lo reprime, ma ciò non è influenzato dalla lunghezza del cappuccio. Se il telomero, nella fase di reset, è eccessivamente accorciato, il meccanismo è compromesso e così pure la vitalità della cellula.

L'evidenza empirica prima evidenziata (con le sue apparenti contraddizioni che possono essere fuorvianti) conduce a un'immediata cruciale considerazione. Se:

- la lunghezza del telomero nella fase di reset (purché non sia al di sotto di un livello critico) non modifica la durata della vita;
- l'invecchiamento è proporzionale all'accorciamento del telomero dopo la fase di reset;
- l'accorciamento del telomero è direttamente correlato con la repressione graduale del DNA subtelomerico;

la semplice conclusione è che per la maggiore o minore longevità dovremmo studiare la relazione non con la lunghezza del telomero ma con la lunghezza e le altre proprietà del segmento subtelomerico.

Quest'ipotesi, limitatamente alla lunghezza della regione subtelomerica, è illustrata nella Figura 7 ed è compatibile con l'evidenza empirica e le argomentazioni prima esposte e illustrate nelle Figure 2-6. Inoltre, dovremmo ricordare che nel lievito, che ha una lunghezza fissa del telomero, l'invecchiamento è causato soltanto dall'accumulo dei CER sul segmento subtelomerico, che anche qui rivela la sua importanza centrale nel fenomeno.

Un'implicazione di questa ipotesi è che non si prevede alcuna necessaria correlazione tra lunghezza del telomero e longevità; in effetti, una correlazione è contraddetta dall'evidenza empirica [Slijepcevic e Hande 1999; Gorbunova et al. 2008].

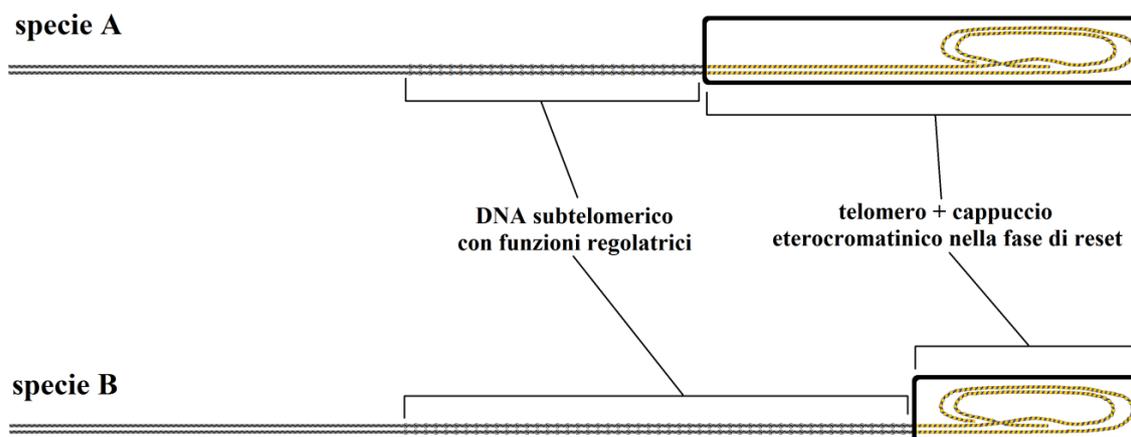


Figura 7 – La specie A ha telomeri più lunghi e subtelomeri più corti rispetto alla specie B. Per la specie A, l'accorciamento del telomero causa una maggiore compromissione relativa del segmento subtelomerico e questo dovrebbe risultare in un invecchiamento più precoce.

In breve, il DNA subtelomerico è stato dimostrato avere sia un'importanza essenziale per le funzioni cellulari sia una posizione vulnerabile alla repressione per opera dell'accorciamento del telomero. Se escludiamo inammissibili contraddizioni evoluzionistiche, questa coincidenza può essere giustificata solo come qualcosa favorito dalla selezione per determinare la senescenza cellulare graduale e la senescenza cellulare. Una verosimile interpretazione dell'evoluzione del sistema che comprende telomero, telomerasi, DNA subtelomerico e senescenza cellulare è ora ipotizzabile.

Un meccanismo proposto e assai probabile per il declino della fitness correlato con l'età è il progressivo rallentamento del ricambio cellulare, che

significa una progressiva prevalenza degli eventi di MCP sulla sostituzione cellulare originata dalla duplicazione delle cellule staminali (“modello generale dell’invecchiamento basato sulla senescenza cellulare” di Fossel [Fossel 2004; Libertini 2006]) unitamente a una crescente quota di cellule più o meno alterate dalla senescenza cellulare graduale e dalla senescenza cellulare [Fossel 2004; Libertini 2014a].

A sostegno di questa ipotesi, in alcune specie (rockfish e aragoste), sia i tassi di mortalità sia la lunghezza dei telomeri non cambiano con l’età [Klapper, Heidorn et al. 1998; Klapper, Kühne et al. 1998].

Vi sono argomenti a sostegno del vantaggio evolutivo del fenomeno di un aumento della mortalità correlato con l’età [Libertini 2008; 2015a], che nelle sue manifestazioni più avanzate, comuni in condizioni artificiali protette, è abitualmente definito “invecchiamento”, un termine che non è preciso in questo contesto [Libertini 2006]. Una teoria, identica a quella menzionata prima per spiegare la senescenza cellulare graduale e la senescenza cellulare nel lievito, spiega questo declino della fitness, o incremento della mortalità, come evolutivamente vantaggioso, in termini di selezione sovraindividuale, mediante un meccanismo basato sulla selezione di parentela che, per il più veloce susseguirsi delle generazioni, permette una più veloce diffusione di qualsiasi mutazione vantaggiosa. In base alla teoria, questo vantaggio esiste solo quando vi è K-selezione, vale a dire quando la specie è divisa in demi che sono composti di individui imparentati e che vivono in habitat demograficamente saturi dove solo la scomparsa di un individuo permette la sopravvivenza di un nuovo individuo [Libertini 1988, 2006].

Un’obiezione contro questa ipotesi è che “Di regola, gli animali selvatici semplicemente non vivono abbastanza da diventare vecchi. Pertanto la selezione naturale ha una limitata possibilità di esercitare un’influenza diretta sul processo dell’invecchiamento.” [Kirkwood e Austad 2000]. Questa critica, analoga all’argomentazione di Lewis per il lievito prima menzionata, trascura un punto essenziale: l’assenza in condizioni selvatiche di individui “anziani” (ad esempio, per *P. leo*, individui che sono più vecchi di 15 anni) è irrilevante. Individui di *P. leo* con un’età inferiore a 15 anni son individui “non anziani” secondo la concezione di Kirkwood e Austad [Kirkwood e Austad 2000], eppure mostrano una mortalità crescente a età che esistono in condizioni naturali: ciò riduce in modo significativo la VM con un conseguente più veloce susseguirsi delle generazioni e il vantaggio selettivo proposto.

“La senescenza riduce la durata media della vita ... di circa l’80% quando la mortalità estrinseca (m_0) è pari a 0,01/anno” [Ricklefs 1998]. Per gli individui che sono sopravvissuti all’alta mortalità delle prime fasi della vita, in otto specie di mammiferi studiati allo stato selvatico, le proporzioni tra la condizione ipotetica in cui la VM è misurata senza l’incremento della mortalità e la VM con la mortalità crescente in correlazione con l’età, in condizioni naturali, sono state stimate nell’intervallo tra 2,5 e 5. Se non tralasciamo gli individui che muoiono nelle prime fasi della vita, le proporzioni risultano nell’intervallo tra 1,55 e 3,21 [Libertini 1988]. Inoltre, lo studio di una popolazione umana in condizioni naturali [Hill e Hurtado 1996; Libertini 2013] ha mostrato che: (i) la sopravvivenza degli individui di 60 e 70 anni di età era rispettivamente circa il 30% e quasi il 20%; e (ii) la proporzione della riduzione della VM era considerevole e pertanto indubbiamente soggetta alla selezione naturale (Figura 8).

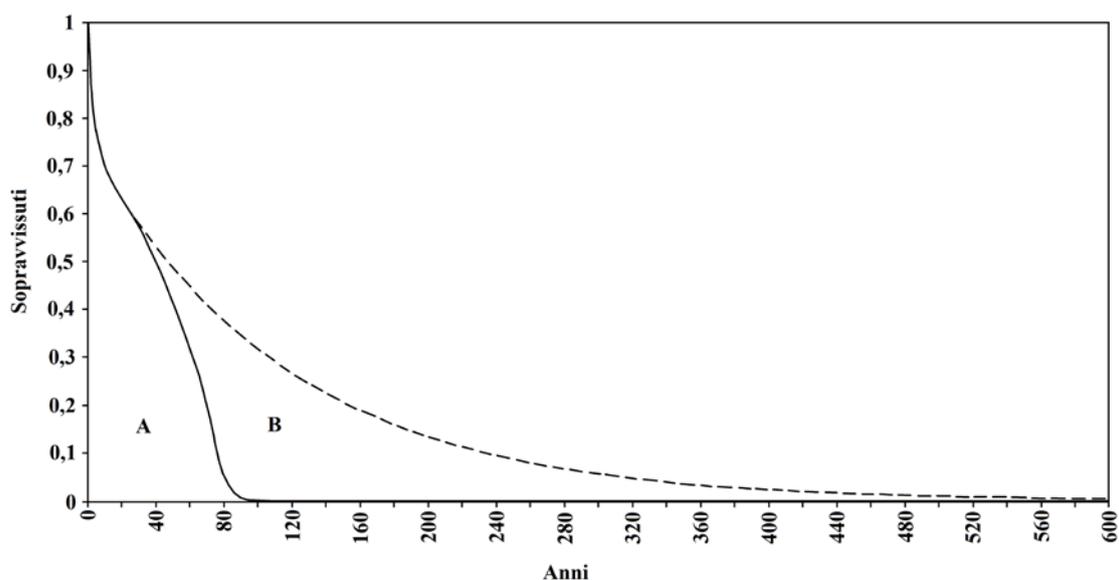


Figura 8 – Area A (delimitata dalla linea continua): curva di sopravvivenza degli Ache in condizioni naturali, dati da Hill e Hurtado [Hill e Hurtado 1996], figura, modificata da [Libertini 2013]; Area B (delimitata dalla linea tratteggiata): ipotetica curva di sopravvivenza senza l’incremento della mortalità correlato all’età. La proporzione della riduzione della vita media dovuta alla senescenza (P_s , come definita da Ricklefs [Ricklefs 1998]) è data dal rapporto $B/(A+B)$.

In breve, allo stato selvatico, la riduzione della VM determinata dal declino della fitness correlata con l’età non è per niente trascurabile, sebbene gli

equivalenti per gli animali dei centenari o di individui ancora più anziani sono verosimilmente per lo più inesistenti in condizioni naturali.

Conclusione

I punti principali delle argomentazioni e dell'evidenza empirica prima menzionati possono essere riassunti come segue:

a) La fenoptosi di massa nei procarioti mediante proapoptosi e la fenoptosi di massa degli eucarioti unicellulari mediante fenoptosi in casi particolari, sono favoriti da simili meccanismi selettivi sovraindividuali che verosimilmente hanno un'origine filogenetica comune [Hochman 1997].

b) Per entrambi i tipi di fenomeni, un meccanismo che attiva il suicidio come evento indispensabile solo in una frazione della popolazione dovrebbe essere proporzionale alla necessità (ad esempio, la scarsità di una risorsa critica). Nel lievito si è evoluto un meccanismo efficace che dipende dal numero delle precedenti duplicazioni e dall'accumulo dei CER sul DNA subtelomerico, che crea una sorta di graduatoria per gli individui destinati a un possibile autosacrificio [Herker et al. 2004; Büttner et al. 2006; Laun et al. 2007; Fabrizio e Longo 2008].

c) L'apoptosi negli eucarioti multicellulari ha un'evidente relazione filogenetica con l'apoptosi degli eucarioti unicellulari [Longo e Finch 2003] ma l'orologio creato dall'evoluzione è basato non sull'accumulo dei CER ma sull'accorciamento del telomero causato dalle restrizioni nell'attività della telomerasi analogamente al caso dei mutanti *tlc1Δ* del lievito in cui la telomerasi è inattiva [Fossel 2004]. In entrambi i casi, gli effetti dannosi sulla cellula sono causati dalla progressiva repressione del DNA subtelomerico, che è chiaramente un aspetto chiave dei meccanismi dell'invecchiamento.

d) Negli organismi eucarioti multicellulari con funzioni cellulari indifferenziate, se consideriamo ciascun individuo come un clone che ha tutte le cellule con gli stessi geni, l'apoptosi di una cellula può essere considerata come causata da meccanismi analoghi a quelli della selezione di parentela. Negli organismi eucarioti multicellulari, man mano che le cellule assumono differenti funzioni e, in particolare, con la limitazione della funzione riproduttiva ad alcune cellule specifiche, questa

interpretazione è inappropriata e l'individuo multicellulare è soggetto alla selezione naturale come una singola entità.

e) Negli organismi eucarioti multicellulari, l'apoptosi assume una lunga serie di funzioni (meccanismi morfogenetici, selezioni dei linfociti, rimozione delle cellule danneggiate o infette, etc.), che sono indiscutibilmente funzioni derivate in quanto impossibili in organismi unicellulari.

f) Nel lievito, l'apoptosi è essenziale per il fenomeno menzionato in (a). Inoltre, i fenomeni definiti come senescenza cellulare graduale e senescenza cellulare, causano un progressivo declino della fitness correlato con il numero delle duplicazioni, che può essere definito "invecchiamento". Ciò risulta contrastare il "conservatorismo genetico" [Büttner et al. 2006] e potrebbe essere spiegato nello stesso modo dell'invecchiamento negli organismi multicellulari [Libertini 1988, 2006] (v. il paragrafo successivo).

g) Negli organismi eucarioti multicellulari, la MCP (mediante apoptosi e altri tipi di MCP), la senescenza cellulare graduale, la senescenza cellulare e i limiti alle capacità di duplicazione cellulare appaiono essere elementi di un sistema altamente sofisticato che è essenziale sia per il ricambio cellulare (vale a dire il continuo rinnovo dell'organismo) sia per il progressivo declino della fitness correlato con l'età [Fossil 2004; Libertini 2006]. Questo declino, vale a dire l'invecchiamento, potrebbe essere spiegato come un potente sistema per accelerare l'evoluzione mediante selezione sovraindividuale, che è possibile solo in condizioni di K-selezione [Libertini 1988, 2006].

h) L'invecchiamento nel lievito è stato proposto come adattativo [Büttner et al. 2006]. Per gli eucarioti multicellulari l'invecchiamento come fenomeno adattativo è escluso dal paradigma gerontologico prevalente [Kirkwood e Austad 2000], ma ciò è contraddetto sia dall'evidenza empirica sia da argomentazioni teoriche [Libertini 1988, 2006, 2008, 2013, 2015a; Skulachev 1997; Goldsmith 2003; Longo et al. 2005; Mitteldorf 2006].

i) I limiti per le capacità di duplicazione cellulare determinate dal sistema telomero-telomerasi sono abitualmente spiegati come un meccanismo difensivo generale contro il cancro [Campisi 1997, 2003; Troen 2003;

Wright e Shay 2005] ma l'evidenza e forti argomentazioni contraddicono questa ipotesi [Fossel 2004; Libertini 2008, 2013; Milewski 2010; Mitteldorf 2013]. Ad esempio: la secrezione da parte delle cellule senescenti di sostanze che accrescono sia i tassi di mutazione sia il rischio oncogene [Parrinello et al. 2005; Coppé et al. 2008]. L'ostinato attaccamento da parte dei difensori dell'interpretazione non adattativa dell'invecchiamento all'ipotetico ruolo anti-cancro delle restrizioni dell'attività telomerasica è verosimilmente causato dalla mancanza di qualsiasi spiegazione compatibile con l'ipotesi non adattativa e come conseguenza di un pregiudizio filosofico [Parrinello et al. 2005]. "L'ipotesi che l'attività telomerasica è limitata per conseguire un incremento complessivo della durata della vita mediante una prevenzione del cancro è certamente falsa. Se non fosse per l'inconcepibilità dell'alternativa - la morte programmata - la teoria sarebbe già del tutto esclusa." [Mitteldorf 2013]

In breve, l'invecchiamento mostra chiare connessioni filogenetiche che riguardano sia i meccanismi fisiologici che ne sono alla base sia le cause evoluzionistiche. Ciò rappresenta un ulteriore insieme di argomentazioni e di evidenze empiriche a sostegno del paradigma che interpreta l'invecchiamento come un fenomeno fenoptotico, vale a dire un tipo di morte che è geneticamente determinato e modulato con specifiche cause evoluzionistiche.

Capitolo IX

Possibili azioni per controllare l'invecchiamento

Giacinto Libertini, Nicola Ferrara

Riassunto

Il paradigma dell'invecchiamento programmato interpreta l'invecchiamento come una funzione favorita dalla selezione naturale a livello sovraindividuale. Questa funzione è implementata, secondo la teoria telomerica, mediante meccanismi che sono basati sul sistema subtelomero-telomero-telomerasi. Dopo aver considerato qualche necessaria riserva tecnica ed etica, e dopo una concisa descrizione dei meccanismi che determinano l'invecchiamento, questo capitolo esamina le azioni che potrebbero portare al controllo di alcune manifestazioni fortemente disabilitanti dell'invecchiamento, quali malattia di Alzheimer, morbo di Parkinson e degenerazione maculare correlata con l'età, e successivamente a un pieno controllo dell'invecchiamento, fino a una condizione equivalente a quella delle specie definite "con invecchiamento non rilevabile". Le varie fasi necessarie per lo sviluppo di tali azioni sono descritte nelle loro linee generali.

Introduzione

L'invecchiamento, definito come "mortalità crescente con l'aumento dell'età cronologica in popolazioni allo stato selvatico" [Libertini 1988], anche noto come "senescenza attuariale allo stato selvatico" [Holmes e Austad 1995], o "progressiva perdita di funzionalità accompagnata da fertilità decrescente e aumento della mortalità con l'età che avanza" [Kirkwood e Austad 2000], è osservato allo stato selvatico per molte specie [Libertini 1988; Finch 1990; Ricklefs 1998; Nussey 2013], compresa la nostra [Hill e Hurtado 1996].

Le teorie che cercano di spiegare l'invecchiamento sono molte [Comfort 1979; Medvedev 1990; Libertini 2015b] e, di massima, appartengono a una fra solo due interpretazioni generali molto differenti [Libertini 2008, 2015a]. Esse, per le loro importanti e opposte implicazioni, meritano la definizione di paradigmi nel significato proposto da Kuhn [Kuhn 1962].

Il primo, o "vecchio", paradigma comprende varie ipotesi che spiegano l'invecchiamento come dovuto a inevitabili fattori dannosi che per vari motivi sono insufficientemente contrastati dalla selezione naturale. Il

secondo, o “nuovo”, paradigma comprende teorie che spiegano l’invecchiamento come una funzione o programma specifico, che è favorito dalla selezione naturale, a livello sovraindividuale, in particolari condizioni [Libertini 2015a, 2015b]. Il nuovo paradigma interpreta l’invecchiamento come un particolare tipo di fenoptosi [Skulachev 1997] (“morte programmata di un individuo” [Skulachev 1999a]), un concetto che comprende molti differenti fenomeni, noti da molto tempo [Finch 1990], ma non considerati nelle loro unitarietà e nelle loro importanti implicazioni fino a tempi recenti [Libertini 2012a, 2012b].

In questo capitolo, l’evidenza a sostegno del nuovo paradigma e contro il vecchio paradigma [Libertini 2008, 2015a] e una meno concisa descrizione della fisiologia dell’invecchiamento [Libertini 2014a] non sono esposti per brevità. Qui si cerca di proporre interventi fattibili a riguardo del processo di invecchiamento che sono conseguenti al principale concetto del nuovo paradigma: in effetti, se l’invecchiamento è una funzione, vale a dire un programma fisiologico che è geneticamente determinato e regolato, e ammesso che i meccanismi dell’invecchiamento siano sufficientemente conosciuti, dovrebbe essere possibile ideare possibili modifiche di questo programma che potrebbero frenare o persino cancellare il declino della fitness correlato con l’età. Al contrario, ciò non è per nulla verosimile se l’invecchiamento, come proposto dal vecchio paradigma, è un’inevitabile conseguenza dell’effetto cumulativo di vari fattori dannosi che agiscono su molti processi a livello cellulare e nell’intero organismo [Libertini 2009b]. Nell’ambito del nuovo paradigma, la teoria che spiega l’invecchiamento come un effetto dell’accorciamento del telomero e le conseguenti: (i) progressiva inibizione delle funzioni cellulari (senescenza cellulare graduale); e (ii) senescenza cellulare (“modello generale dell’invecchiamento basato sulla senescenza cellulare” di Fossel [Fossel 2004; Libertini 2009a, 2014a]), sarà definita come “teoria telomerica” dell’invecchiamento e descritta in breve nella successiva sezione. Dopo saranno proposti alcuni possibili metodi efficaci.

Premesse

- Riserve tecniche

I metodi che successivamente saranno descritti, in varie fasi richiedono modifiche di segmenti del DNA con mezzi appropriati. Attualmente, la tecnica che appare più opportuna sia per i costi sia per le possibilità di attuazione, in confronto con altre metodiche precedenti come la ZFNs (*zinc*

finger nucleases) e la TALENs (*transcriptional activator-like effector nucleases*), è la cosiddetta tecnica CRISPR-CAS9 (*clustered regularly interspaced short palindromic repeat–CRISPR-associated nuclease 9*) [Harrison et al. 2014; Zhang et al. 2014].

A riguardo di questa tecnica o di qualsiasi altra possibile metodica, in particolare per l'eventuale necessità di inserire segmenti di DNA alquanto lunghi, un elemento critico è la precisione e l'affidabilità delle modifiche del DNA che la metodica comporta [O'Geen et al. 2015; Chandrasegaran e Carroll 2016]. Comunque, recenti lavori hanno mostrato delle vie per migliorare grandemente la precisione della tecnica CRISPR-CAS9 [Kleinstiver et al. 2016; Slaymaker et al. 2016].

Questa criticità varia in modo fondamentale a seconda del tipo di esperimento:

- Livello 1: Ad esempio, se operiamo su cellule di lievito o su cellule coltivate o su animali, possibili errori nelle modifiche del DNA riducono la certezza e l'accuratezza dei risultati ma non implicano conseguenze di rilevanza patologica o etica;

- Livello 2: Se agiamo su individui della nostra specie non più nell'età riproduttiva e che soffrono di gravi malattie per le quali si è disperatamente alla ricerca di una cura, l'imprecisione delle modifiche potrebbe ridurre l'efficacia dei risultati o perfino portare a risultati negativi sulla salute dei soggetti ammalati come conseguenza di inaspettate alterazioni del DNA, ma non avrebbe alcun effetto sull'eredità genetica;

- Livello 3: Altresì, operando su soggetti umani con capacità riproduttive, le desiderate modifiche genetiche nelle cellule della linea germinale (in aggiunta alle riserve etiche del punto successivo) potrebbero essere accompagnate da inaspettati e indesiderati cambiamenti in altri segmenti delle molecole di DNA che sarebbero trasmessi alle successive generazioni.

Queste considerazioni implicano che il grado di affidabilità delle possibili tecniche per modificare il DNA: (i) non è critico per gli esperimenti di livello 1; (ii) è critico e da affrontare in via preliminare per gli esperimenti o trattamenti di livello 2; (iii) è estremamente critico e da affrontare in via preliminare con il massimo rigore per gli esperimenti e le azioni di livello 3.

Le osservazioni qui delineate in termini assai generali dovrebbero sempre essere considerate per le possibili azioni discusse in queste pagine. Esse non saranno ripetute ma devono essere ritenute sempre implicite in ogni proposta che sarà formulata.

- Riserve etiche

Qualsiasi esperimento o trattamento o azione sugli esseri umani, o sugli esseri viventi in generale, richiede una valutazione etica; ciò ancor di più per interventi sull'informazione genetica che sarà trasmessa alle successive generazioni. Per le proposte avanzate in queste pagine, vi è necessità di due tipi di valutazioni etiche, abbastanza differenti fra loro.

Il primo tipo è in relazione ai possibili pericoli per la salute dei soggetti coinvolti negli esperimenti o nelle azioni proposte. In generale, per questo tipo di pericolo, è essenziale in via preliminare condurre una serie di esperimenti a livello di cellule coltivate e/o su altre specie. Solo in una fase successiva saranno ammissibili esperimenti su individui che soffrono di malattie gravi e incurabili e che, in via precauzionale, non siano in condizioni di riprodursi.

Il secondo tipo di valutazioni etiche è radicalmente differente. Secondo la concezione prevalente, vale a dire secondo il vecchio paradigma, la senescenza deriva dall'effetto cumulativo di vari processi degenerativi e di conseguenza la cura di uno o più (o persino di tutti) gli aspetti dell'invecchiamento è solo la cura di varie malattie. In base a questo paradigma, non vi è alcun problema etico intrinseco in procedure che contrastano il processo dell'invecchiamento. Al contrario, se l'invecchiamento è concepito come un fenomeno geneticamente determinato e regolato, un'idea che è implicita in una dettagliata descrizione dei meccanismi fisiologici che ne sono alla base ed è un prerequisito per le proposte che successivamente saranno formulate, non è più possibile concepire l'invecchiamento come la somma di più malattie o, nel suo insieme, come una complessa malattia. Se definiamo la malattia come un'alterazione di un normale processo fisiologico, ne consegue che l'invecchiamento può essere "modificato" ma non "curato" in quanto l'invecchiamento è un normale processo fisiologico e non una malattia. Sarebbe differente se l'invecchiamento, pur ammettendo la sua normalità fisiologica, fosse considerato eguale a una condizione medica in quanto comporta sofferenze e menomazioni. Comunque, anche questa diversa definizione dovrebbe essere attentamente valutata dal punto di vista etico.

Di conseguenza, azioni che modificano l'invecchiamento richiedono una particolare valutazione etica. Ancor di più, possibili azioni che cambiano i ritmi e le manifestazioni dell'invecchiamento mediante modifiche genetiche che possano essere trasmesse alle generazioni successive, poiché

costituiscono modifiche della natura umana richiedono una particolare valutazione etica che è al di là dei limiti della scienza e ricade nei campi dell'etica, della religione, della filosofia e della politica. Di conseguenza, la possibilità di modificare l'invecchiamento, a parte la fattibilità tecnica e i possibili pericoli connessi con le procedure, richiede valutazioni e decisioni che sono al di là del mero campo scientifico.

Meccanismi dell'invecchiamento in base alla teoria telomerica

- Meccanismi dell'invecchiamento in *Saccharomyces cerevisiae*

Il lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), una specie unicellulare, mostra alcuni fenomeni che possono essere in qualche modo considerati come invecchiamento, se questo è precisamente definito, come detto prima, "crescente mortalità con il crescere dell'età cronologica in popolazioni allo stato selvatico" [Libertini 1988].

Infatti, ogni cellula di lievito si riproduce per divisione in due cellule, dette "madre" e "figlia", che non sono perfettamente eguali. La cellula figlia è identica alla cellula genitrice, mentre le cellule della linea materna possono dividersi solo un numero limitato di volte (in 3 giorni, con circa 25-35 duplicazioni [Jazwinski 1993]). In proporzione al numero di duplicazioni, due fenomeni sono osservati: i) crescenti alterazioni metaboliche [Laun et al. 2001; Herker et al. 2004; Lesur e Campbell 2004; Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008]; ii) crescente vulnerabilità alla senescenza replicativa e all'apoptosi [Laun et al. 2001; Herker et al. 2004; Büttner et al. 2006; Fabrizio e Longo 2008]. Questi fenomeni sono una verosimile spiegazione del perché alcuni individui muoiono e altri sopravvivono in particolari condizioni di stress. Comunque, nella linea madre, il tasso di mortalità cresce con una dinamica esponenziale in funzione del numero di duplicazioni [Laun et al. 2007]. Ciò è simile all'incremento della mortalità correlato con l'età mostrato da molte specie multicellulari [Ricklefs 1998; Nussey et al. 2013] e può essere considerato nell'ambito del concetto di invecchiamento, come sottolineato prima.

Nel lievito, il DNA è lineare, come in tutte le cellule eucarioti, e non circolare come nei procarioti. Ad ogni replicazione, l'enzima DNA polimerasi non duplica una piccola parte del segmento terminale (telomero) della molecola di DNA [Olovnikov 1971; Watson 1972]. La necessità di un enzima capace di ripristinare l'integrità del telomero fu predetta nel 1973 [Olovnikov 1973] e alcuni anni più tardi l'esistenza di questo enzima (telomerasi) fu dimostrata [Greider e Blackburn 1985].

La telomerasi del lievito è sempre perfettamente attiva sia nelle cellule madri sia in quelle figlie e non vi è alcuna riduzione nella lunghezza del telomero a ogni duplicazione [D’Mello e Jazwinski 1991; Smeal et al. 1996; Maringele e Lydall 2004].

Nelle cellule della linea madre, le alterazioni metaboliche e la vulnerabilità alla senescenza replicativa e all’apoptosi, che aumentano dopo ogni duplicazione, sono causate da un meccanismo particolare che non è correlato all’accorciamento del telomero, come altresì si osserva negli eucarioti multicellulari (si veda sotto). Nelle cellule madri del lievito, in proporzione al numero di replicazioni, vi è l’accumulo di particolari molecole, descritte come circoli di DNA extracromosomici ribosomali (CER) [Sinclair e Guarente 1997]: “molteplici linee di evidenza suggeriscono che l’accumulo dei CER è un determinante della durata della vita” [Lesur e Campbell 2004].

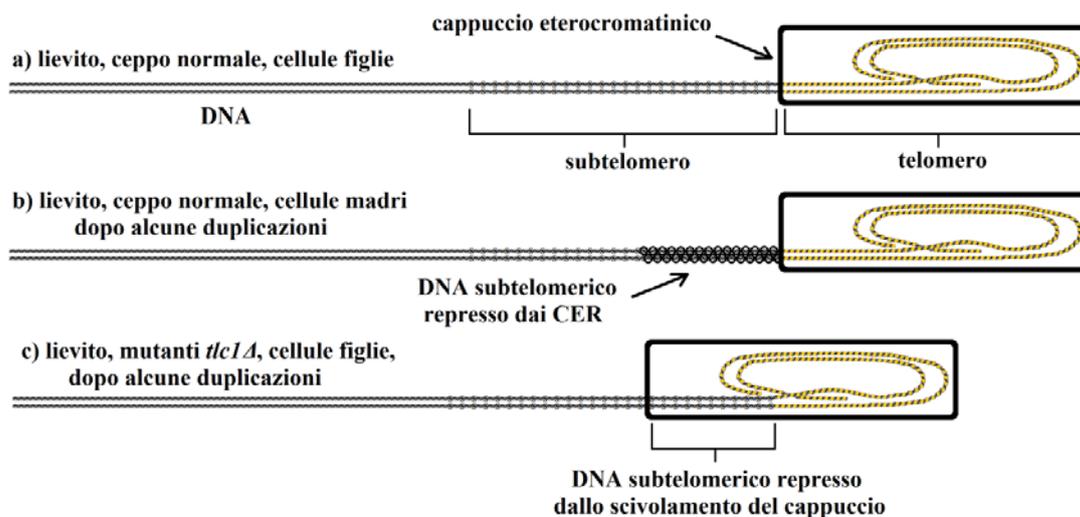
Specificamente, un particolare tipo di mutante del lievito mostra che l’accumulo dei CER interferisce con l’azione di quella parte della molecola di DNA adiacente al telomero, vale a dire il subtelomero, e che in questi mutanti l’interferenza è analoga a ciò che avviene negli organismi eucarioti multicellulari, in cui la repressione del subtelomero è una conseguenza dell’accorciamento del telomero se vi è inattività della telomerasi. Infatti, i mutanti *tlc1Δ* del lievito, in cui la telomerasi è inattiva, mostrano l’accorciamento del telomero sia nelle cellule madri sia in quelle figlie. Per tali mutanti, le cellule della linea figlia, sebbene non mostrino alcun accumulo dei CER come nei ceppi normali, manifestano tutte le alterazioni delle cellule della linea madre con un pari numero di duplicazioni. In particolare, l’espressione complessiva dei geni, il transcriptoma, è simile [Lesur e Campbell 2004].

Gli esperimenti nel lievito ci hanno permesso di ipotizzare che: “Un modello del legame fra telomero ed espressione genica è un’alterata struttura del cromosoma (Ferguson et al., 1991), come ad esempio un ‘cappuccio’ eterocromatinico che copre il telomero e una parte variabile del cromosoma subtelomerico (Fossil, 1996; Villeponteau, 1997; Wright et al., 1999). Man mano che il telomero si accorcia, il cappuccio scivola sempre più lungo il cromosoma (il cappuccio eterocromatinico rimane invariante come dimensione e semplicemente si muove con il capo terminale del cromosoma che si accorcia) ... il risultato è un’alterazione della trascrizione dalle parti del cromosoma immediatamente adiacenti al complesso telomerico, di regola causando silenzio trascrizionale, sebbene il controllo è senza dubbio più complesso del semplice effetto dovuto alla contiguità del

telomero (Aparicio e Gottschling, 1994; Singer et al., 1998; Stevenson e Gottschling, 1999). Questi geni resi silenti possono a loro volta modulare altri e più distanti geni (o gruppi di geni). Vi è qualche diretta evidenza per tale modulazione nel subtelomero ...” [Fossel 2004] (p. 50).

La graduale repressione del DNA subtelomerico, causata dall’accumulo dei CER nel lievito normale o dall’accorciamento del telomero e dallo scivolamento del cappuccio eterocromatinico nei mutanti *tlc1Δ* del lievito, è conosciuto da parecchio tempo ed è stato definito come “effetto di posizione del telomero” [Gottschling et al. 1990]. Esso comporta effetti regolatori sull’espressione di geni posti in parti distanti della molecola di DNA [Robin et al. 2014]. Forse, in base a tali effetti, sarebbe meglio sostituire l’espressione neutrale “effetto di posizione del telomero” con quella di “senescenza cellulare graduale”, che ha un valore descrittivo e interpretativo [Libertini 2015b].

Questi concetti sono illustrati nella Figura 1.



*Figura 1 – Nel lievito: a) ceppo normale, cellule figlie, il telomero non si accorcia e il subtelomero non è represso; b) ceppo normale, cellule madri, dopo ogni replicazione il telomero non si accorcia ma il subtelomero è progressivamente represso dall’accumulo dei CER; c) mutanti *tlc1Δ*, cellule figlie, a ogni duplicazione il telomero si accorcia e il subtelomero è represso dallo scivolamento del cappuccio eterocromatinico e non dall’accumulo dei CER.*

Per quanto riguarda il passaggio dallo stato normale alla senescenza replicativa e all’apoptosi, sono state proposte possibili analogie con il

programma della senescenza cellulare (senescenza replicativa + senescenza cellulare graduale al massimo grado; si veda sotto).

- Meccanismi dell'invecchiamento negli eucarioti multicellulari

--- “senescenza cellulare graduale”

Nei vertebrati, nelle cellule dove la telomerasi è inattiva o parzialmente attiva, il telomero si accorcia a ogni duplicazione e lo scivolamento del cappuccio eterocromatinico progressivamente reprime il subtelomero. Al contrario, nelle cellule in cui la telomerasi è perfettamente attiva (ad esempio, le cellule della linea germinale), il telomero non si accorcia e il subtelomero non è represso [Fossil 2004]. Il primo caso è analogo a quello dei mutanti *tlc1Δ* del lievito, cellule figlie, mentre il secondo caso è analogo a quelle delle cellule figlie dei ceppi normali di lievito (Figura 2).

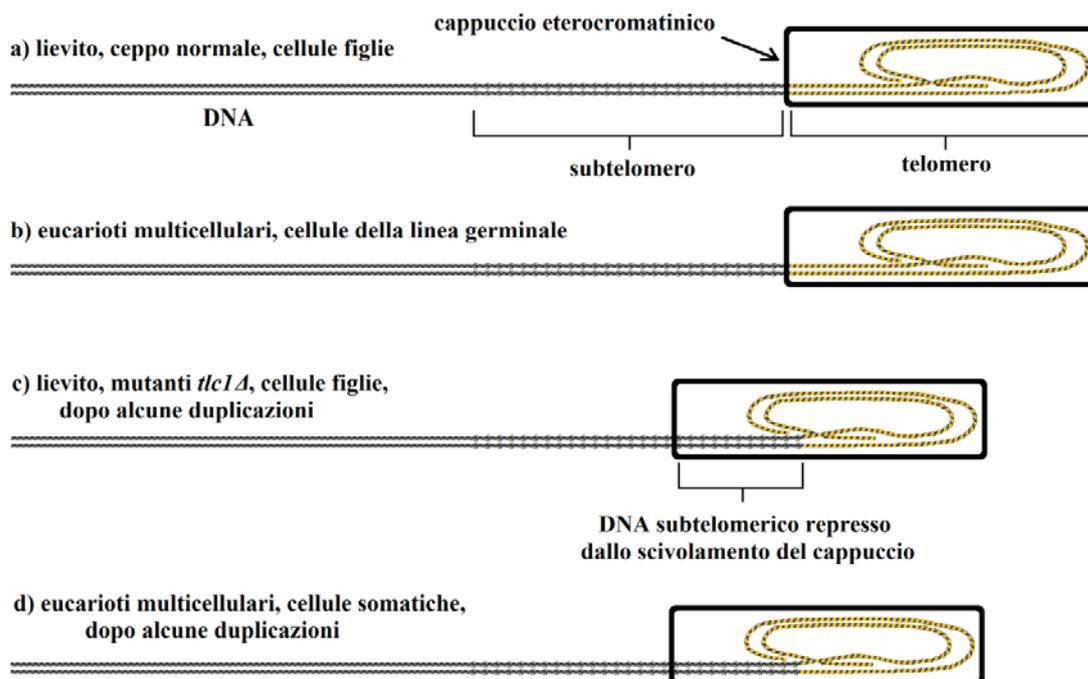


Figura 2 – (a) e (b): analogia tra il lievito normale, cellule figlie, e le cellule germinali nei vertebrati (o, in generale, negli eucarioti multicellulari); (c) e (d): analogia tra i mutanti *tlc1Δ* del lievito, cellule figlie, e le cellule somatiche dei vertebrati.

A riguardo delle alterazioni delle capacità regolatrici del subtelomero causate dal progressivo scivolamento del cappuccio eterocromatinico, è possibile ipotizzare che il subtelomero abbia una serie di sequenze

regolatrici (“r”) le quali esplicano le loro azioni su parti diverse e distanti del DNA e che, una dopo l’altra, sono progressivamente coperte e represses dallo scivolamento del cappuccio eterocromatinico (Figura 3).

L’ipotesi dell’esistenza delle sequenze “r” è in accordo con la struttura del subtelomero, che ha una “struttura inconsueta: mosaici di blocchi che sono duplicati” [Mefford e Trask 2002]. Inoltre: “Una caratteristica comune associata con le regioni subtelomeriche in differenti eucarioti è la presenza di lunghe schiere di sequenze satelliti ripetute in serie.” [Torres et al. 2011] Queste “lunghe schiere di sequenze satelliti ripetute in serie”, una “struttura inconsueta” che caratterizza il telomero e che è in apparenza senza significato e inutile, sarebbero pertanto un regolatore generale delle funzioni cellulari progressivamente inibito dalla manopola dell’accorciamento del telomero (o, nel lievito dall’accumulo dei CER) e dunque questo sarebbe il meccanismo cardine dell’invecchiamento.

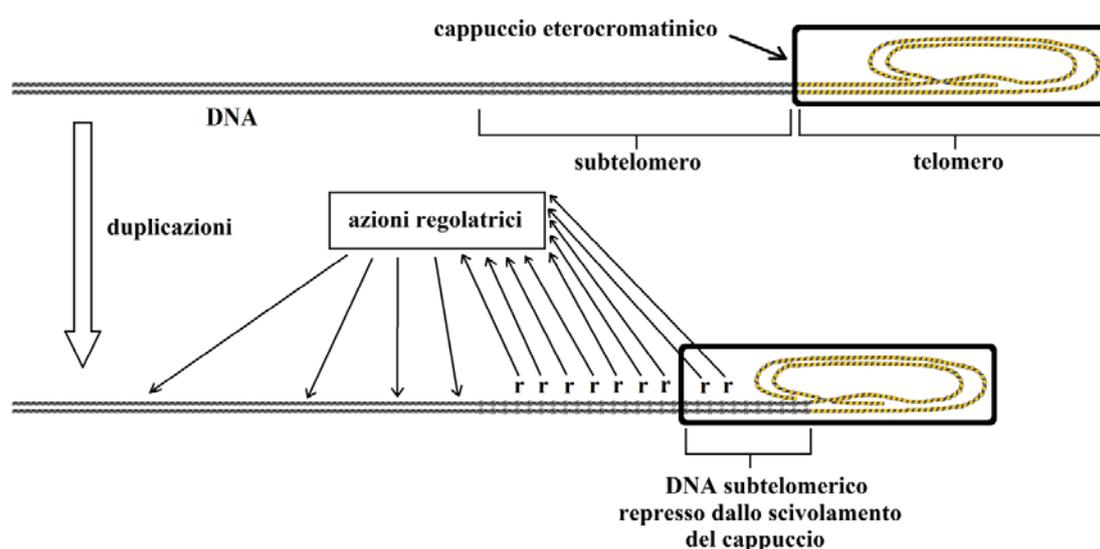


Figura 3– Il telomero si accorcia a ogni replicazione e il cappuccio eterocromatinico scivola sul subtelomero, con repressione di una porzione crescente del subtelomero, il che verosimilmente significa la repressione delle ipotetiche sequenze “r”. Ciò comporta alterazioni nell’espressione genica in parti differenti e distanti della molecola di DNA. Figura modificate e ridisegnata dalla Figura 4 di [Libertini 2015b].

In base a questa interpretazione, il subtelomero potrebbe essere definito come quella parte del DNA che è contigua al telomero ed ha funzioni regolatrici generali per la cellula. Uno dei suoi capi è facilmente definito dall’inizio della sequenza monotona del telomero, mentre l’altro capo è

dove la repressione del subtelomero è al massimo livello possibile prima dell'attivazione obbligatoria del meccanismo della senescenza cellulare causata dall'eccessivo accorciamento del telomero.

--- programma della senescenza cellulare (senescenza replicativa + senescenza graduale al massimo grado)

Un'ipotesi semplicistica potrebbe essere che la cellula diventa incapace di duplicarsi (senescenza replicativa) solo quando il telomero nell'accorciarsi raggiunge un valore critico. Comunque, il potenziale di crescita di una coltura cellulare non mostra un improvviso collasso delle capacità di duplicazione cellulare, ossia la contemporanea senescenza replicativa per tutte le cellule dopo un certo numero di duplicazioni, ma un calo progressivo correlato alla riduzione della lunghezza del telomero [Pontèn et al. 1983; Jones et al. 1985]. Una brillante spiegazione per questo fenomeno fu proposta da Blackburn [Blackburn 2000].

Un cappuccio proteico (verosimilmente lo stesso anzidetto cappuccio eterocromatinico [Libertini 2015b]) copre il telomero, e vi è una continua alternanza fra due stati del telomero: “non incappucciato” (*uncapped*) e “incappucciato” (*capped*). La prima condizione, la cui durata è correlata con l'accorciamento del telomero, è vulnerabile al passaggio alla senescenza replicativa (stato “non ciclico”), mentre l'altra condizione è resistente alla senescenza replicativa. Perfino con la telomerasi attivata e i telomeri al massimo della loro lunghezza, a ogni divisione vi è un breve periodo di stato non incappucciato e una piccola percentuale delle cellule mostra senescenza replicativa [Blackburn 2000].

Poiché la percentuale di tempo in cui il telomero non è incappucciato ed è vulnerabile è correlata alla progressiva repressione del subtelomero, e poiché questa repressione è correlata alla riduzione relativa della lunghezza del telomero (si veda prima) e non alla lunghezza iniziale del telomero (si veda la sezione successiva), appare lecito ipotizzare che l'oscillazione tra le condizioni del telomero incappucciato e non incappucciato è in qualche modo regolata da sequenze ripetitive del subtelomero, le quali potrebbero essere le stesse prima definite come “r”. Nella Figura 4, queste sequenze sono per l'appunto indicate con la lettera “r”.

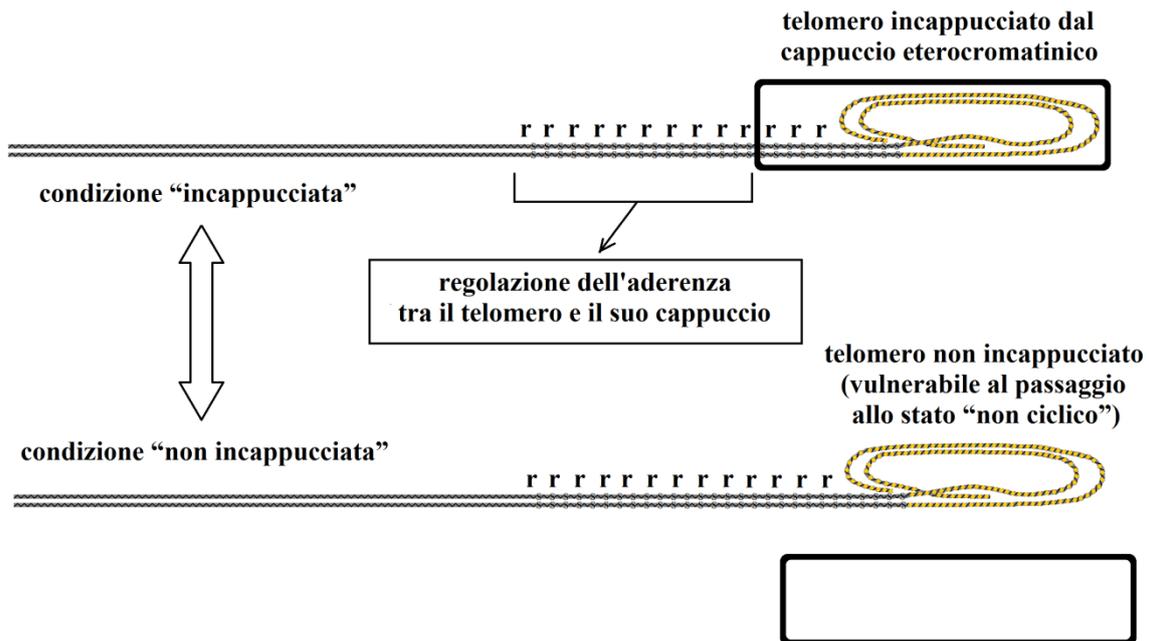


Figura 4 – Il telomero oscilla fra le condizioni “capped” (ricoperto dal cappuccio eterocromatinico) e “uncapped” (non ricoperto). La probabilità del telomero nella condizione uncapped cresce in proporzione alla repressione nel subtelomero di ipotetiche sequenze ripetitive (“r”) che regolano il grado di adesione tra il cappuccio eterocromatinico e il telomero. Nella condizione uncapped, il telomero non protetto è un capo libero della molecola di DNA ed è suscettibile di una fusione con altri capi liberi che blocca la replicazione cellulare [Blackburn 2000] e attiva il programma di senescenza cellulare.

Le cellule staminali, le quali, a differenza delle cellule della linea germinale, mostrano un’attività telomerasica che preserva solo parzialmente la lunghezza del telomero [Holt et al. 1996], sono di conseguenza limitate nelle loro capacità di rimpiazzo degli elementi eliminati dai vari tipi di morte cellulare programmata [Fossel 2004].

Il fenomeno cellulare descritto da Blackburn come il passaggio allo “stato non ciclico”, vale a dire la senescenza replicativa, in effetti è parte della cosiddetta “senescenza cellulare”, ben valutata come un “fondamentale programma cellulare” [Ben-Porath e Weinberg 2005]. Esso è caratterizzato sia dalla senescenza replicativa sia dall’alterata espressione di molti geni in un modo che compromette le funzioni cellulari, comprese le secrezioni cellulari - e pertanto anche la matrice extracellulare e quelle cellule fisiologicamente dipendenti dalle cellule alterate o semplicemente vicine - fino al massimo grado che può essere causato dalla senescenza cellulare

graduale. Poiché la transizione alle alterate condizioni fisiologiche determinata dalla senescenza cellulare, e la transizione inversa - per attivazione della telomerasi [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999] - verso una condizione in cui tutte le funzioni cellulari sono nuovamente intatte, è una trasformazione bidirezionale del tipo on/off, questo tipo di alterazione cellulare è stato anche definito “senescenza on/off” [Libertini 2015b].

--- Assenza di una relazione fra lunghezza iniziale del telomero / grado di attività telomerasica e longevità

Nel confronto fra le specie, una facile previsione, contraddetta però dall'evidenza, è una relazione diretta tra longevità e lunghezza iniziale del telomero (vale a dire quella che vi è nella cellula germinale) e, similmente, tra longevità e grado di attività telomerasica.

Comunque, molti fatti sono in contrasto con queste previsioni:

- a) i criceti e i topi hanno telomeri più lunghi di quelli della nostra specie ma invecchiano più precocemente [Slijepcevic e Hande 1999];
- b) tra i roditori non vi è alcuna relazione tra attività telomerasica e longevità [Gorbunova et al. 2008];
- c) i topi mostrano un'attività basale della telomerasi nella massima parte delle cellule somatiche [Prowse e Greider 1995], ma hanno una longevità limitata;
- d) due ceppi di topo, il primo con la lunghezza del telomero di 20 kb e l'altro di soli 10 kb, mostrano eguale durata della vita e gli stessi tempi nella comparsa della senescenza cellulare [Fossel 2004];
- e) analogamente, animali clonati derivati da cellule somatiche, che hanno telomeri accorciati, mostrano gli stessi tempi di invecchiamento degli animali donatori [Fossel 2004];
- f) nei topi *knockout* (*mTR*^{-/-}), che hanno geneticamente la telomerasi inattivata, solo dalla quarta [Herrera et al. 1999] alla sesta [Blasco et al. 1997] generazione, quando i telomeri sono molto accorciati, è possibile osservare, nelle condizioni protette di laboratorio, che la fertilità e la vitalità sono compromesse. Comunque, in organi con notevole ricambio cellulare, le alterazioni sono riscontrate già nelle prime generazioni [Lee et al. 1998; Herrera et al. 1999], e pertanto è verosimile che la fitness sarebbe ridotta in condizioni naturali.

Questi fenomeni, che sono apparentemente inspiegabili se si vuole assegnare un ruolo esclusivo nella determinazione della longevità alla lunghezza del telomero, al contrario sono completamente spiegabili se si

assume che nella cellula germinale, nel periodo - definibile come fase “reset” - antecedente alla prima replicazione cellulare, si forma il cappuccio eterocromatinico con una dimensione proporzionale alla lunghezza del telomero. In questa fase reset, per quanto riguarda la longevità, la “lunghezza [assoluta] del telomero è irrilevante” [Fossel 2004], purché ovviamente la lunghezza del telomero non sia minore di una misura critica [Fossel 2004]. Successivamente, in proporzione al numero di duplicazioni e quindi al progressivo accorciamento del telomero (se non è allungato dalla telomerasi), vi è un progressivo scivolamento del cappuccio eterocromatinico, e pertanto una proporzionale repressione del subtelomero, che causa le manifestazioni della senescenza cellulare graduale e aumenta le probabilità della senescenza cellulare, vale a dire la senescenza replicativa più la senescenza cellulare graduale al massimo grado.

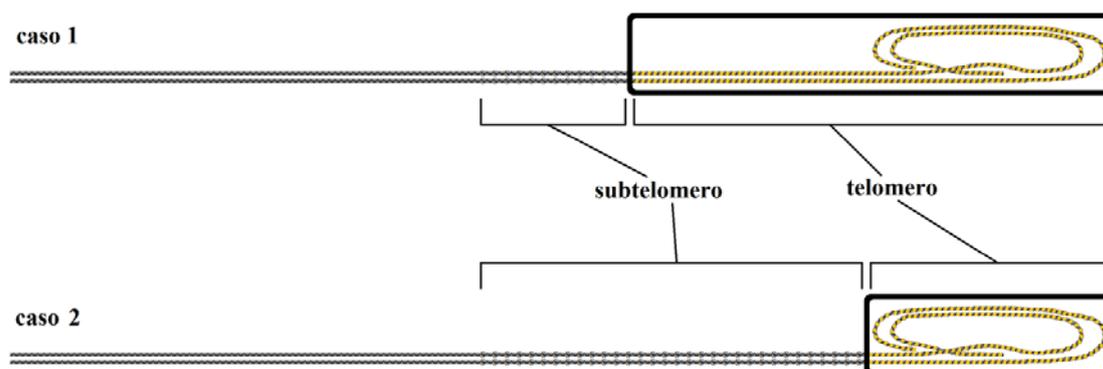


Figura 5 – Nel caso 1, vi sono subtelomeri più corti e telomeri più lunghi rispetto al caso 2. Dopo un certo numero di duplicazioni, assumendo che nei due casi i telomeri si sono egualmente accorciati a ogni generazione, nel caso 1 i subtelomeri più corti sono maggiormente compromessi dallo scivolamento del cappuccio eterocromatinico, il che dovrebbe portare a un più precoce invecchiamento. Se assumiamo inoltre per il caso 1 una maggiore attività telomerasica, che contrasta l'accorciamento del telomero, questo potrebbe essere insufficiente a compensare per l'anzidetta maggiore repressione del telomero. Questo modello è una facile spiegazione per i fenomeni (a), (b) e (c).

Per questo modello è necessario che: i) il cappuccio eterocromatinico deve avere una lunghezza fissa in tutte le cellule dell'organismo, determinata nella fase di reset della cellula germinale da cui si è originato l'organismo;

ii) l'allungamento del telomero per effetto della telomerasi fino alla lunghezza iniziale deve avere in qualche modo come fattore limitante la lunghezza del cappuccio. Di certo è necessario studiare a fondo i meccanismi alla base di questi fenomeni, che dovrebbero essere filogeneticamente molto antichi.

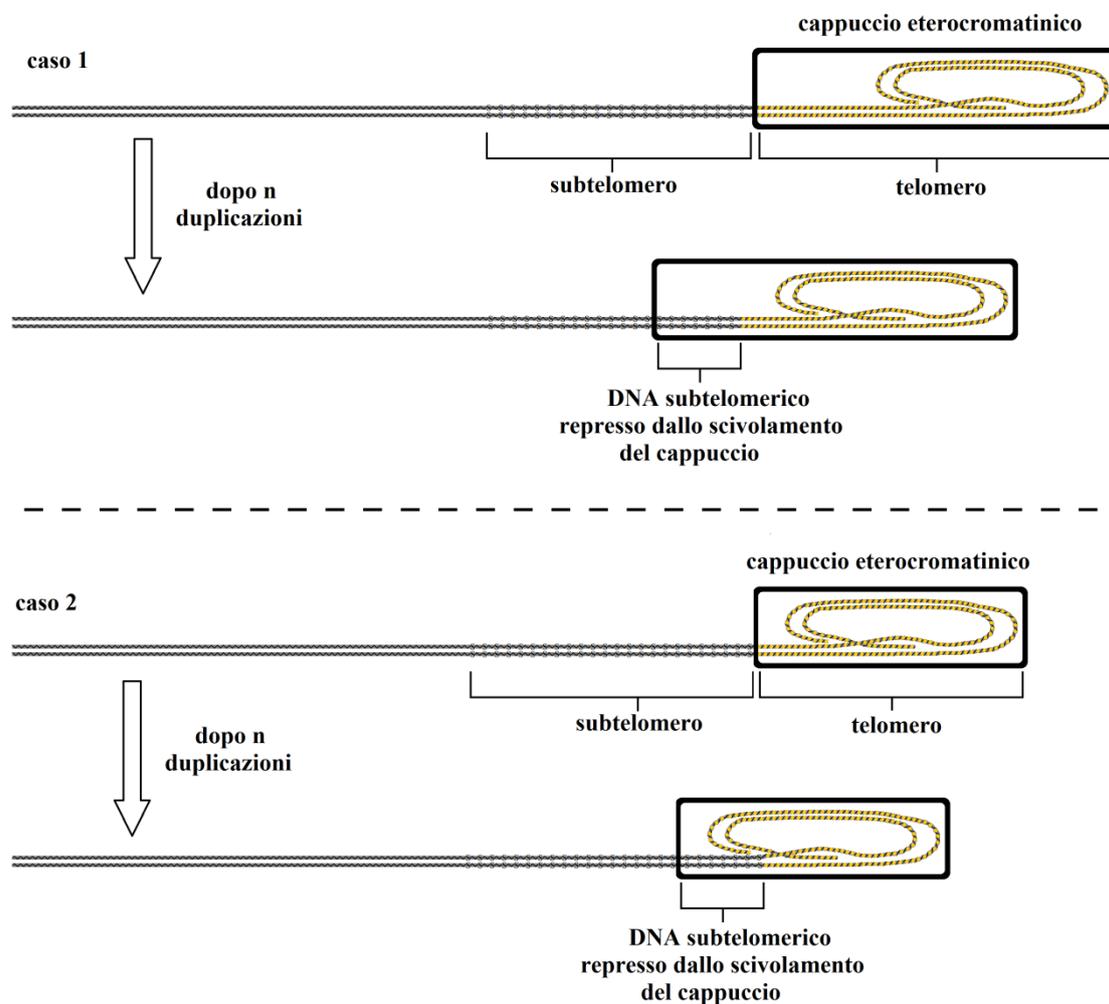


Figura 6 - Caso 1: ceppo di Mus con telomeri di 20 kb; caso 2: ceppo di Mus con telomeri di 10 kb (oppure, caso 1: animali donatori; caso 2: animali clonati). Nel caso 1, le cellule hanno più lunghi telomeri e cappucci eterocromatinici rispetto alle cellule del caso 2, ma la longevità è la stessa: la progressiva senescenza cellulare graduale e la crescente probabilità dell'attivazione del programma di senescenza cellulare sono in funzione non della lunghezza assoluta iniziale del telomero ma della progressiva repressione del subtelomero, causata dall'accorciamento relativo del telomero. Questo modello spiega i fenomeni (d) e (e).

Infatti, come descritto sopra, nel lievito, con una storia evolutiva che diverge da quella della nostra specie almeno dall'inizio dell'era Cambriana,

vale a dire circa da 600 milioni di anni orsono [Minkoff 1983]: (i) nei ceppi normali, a ogni duplicazione, per azione della telomerasi ogni cellula ripristina la lunghezza del telomero avendo come guida la taglia del cappuccio eterocromatinico, che è mantenuta fissa nonostante il susseguirsi delle generazioni; (ii) nelle cellule figlie dei mutanti *tlc1Δ*, in cui la telomerasi è inattiva, il telomero si accorcia a ogni generazione, ma il cappuccio rimane di una lunghezza fissa e reprime il subtelomero scivolando su di esso.

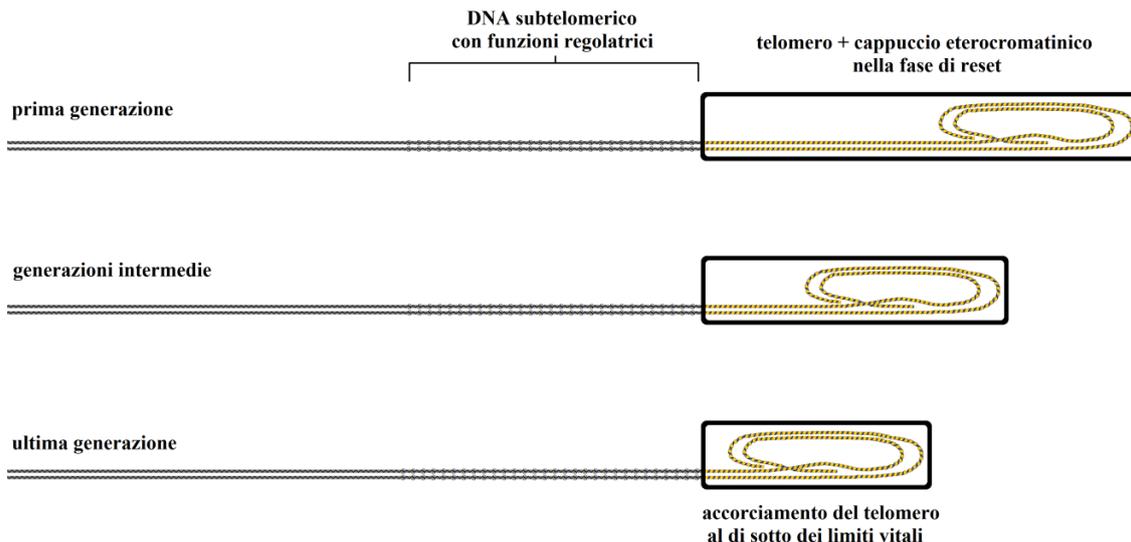


Figura 7 – Nei topi con telomerasi geneticamente inattivata, nella prima generazione e nelle cellule germinali, la lunghezza del cappuccio eterocromatinico, modellata sul telomero nella fase di reset, e quella del telomero sono eguali a quella dei ceppi normali. Poiché la telomerasi è inattiva, in ogni successiva generazione la lunghezza iniziale diventa più corta, fino alla quarta-sesta generazione quando il telomero si accorcia al di sotto dei limiti che consentono la vitalità dell'organismo. A ogni generazione, la lunghezza del subtelomero rimane invariata poiché non è influenzata dalla telomerasi. Nell'ambito di ciascuna generazione, ad ogni duplicazione cellulare il telomero si accorcia e il subtelomero è progressivamente inibito dallo scivolamento del cappuccio eterocromatinico. Pertanto, come mostrato nella precedente figura, la repressione genetica del subtelomero è una funzione del relativo accorciamento del telomero e non una funzione della lunghezza iniziale assoluta del telomero [Fossel 2004]. Ciò spiega il fenomeno (f). Figura modificata e ridisegnata dalla Figura 6 di [Libertini 2015b].

Tutto ciò indica che, per quanto riguarda la longevità, l'elemento critico non è la lunghezza iniziale in assoluto del telomero, ma la progressiva inibizione del DNA subtelomerico causata dall'accorciamento del telomero [Libertini 2009a, 2015b]. Gli anzidetti fenomeni (a-f) sono illustrati e interpretati nella Figura 5 per i fenomeni (a), (b) e (c); nella Figura 6 per (d) e (e); e nella Figura 7 per (f).

--- Conseguenze della senescenza cellulare graduale e della senescenza cellulare

Gli effetti della senescenza cellulare graduale e della senescenza cellulare (senescenza replicativa + senescenza cellulare graduale al massimo grado) sull'organismo nel suo complesso, considerate in condizioni naturali, sono la verosimile radice di tutte le manifestazioni dell'invecchiamento, come già proposto e spiegato altrove [Fossel 2004; Libertini 2009b, 2014a].

In breve, abbiamo una "sindrome atrofica" di tutti i tessuti e organi, la quale è la conseguenza di:

(i) un aumento correlato con l'età nella percentuale di cellule con funzioni alterate, in varia misura, a causa della senescenza cellulare graduale e della senescenza cellulare;

(ii) un declino correlato con l'età nella velocità e nella completezza del ricambio cellulare, causato dal progressivo aumento nella percentuale di cellule staminali e somatiche in senescenza replicativa;

(iii) le cellule perenni, ossia le cellule senza ricambio cellulare (ad esempio, larga parte dei neuroni), sono compromesse e muoiono per i fenomeni di cui ai punti i) e ii) nelle cellule satelliti (i gliociti per i neuroni), che mostrano ricambio cellulare e sono essenziali per la loro funzionalità, causando problemi che sono considerati distinte malattie (m. di Alzheimer, m. di Parkinson, degenerazione maculare correlata con l'età, etc. [Libertini e Ferrara 2016a]);

(iv) la riduzione, conseguente a i), ii) e iii), delle cellule funzionali in un organo o tessuto, parzialmente sostituite da cellule non funzionali, e il correlato declino nella funzionalità dell'organo o tessuto [Libertini 2009b, 2014a].

Le alterazioni dipendenti da tutto ciò riducono la fitness, ossia la capacità di sopravvivere in condizioni naturali. Al contrario, in condizioni protette, perfino una notevole riduzione della fitness può essere compatibile con la sopravvivenza, ma, nelle età più anziane, il progressivo peggioramento delle anzidette alterazioni nei tessuti e negli organi diventa letale perfino

nelle condizioni artificiali della massima protezione, del tutto inesistenti allo stato selvatico [Libertini 2009b, 2013].

--- Distinzione tra invecchiamento e malattie la cui frequenza e gravità aumenta con l'età

E' essenziale stabilire una chiara distinzione tra il processo fisiologico dell'invecchiamento e una serie di malattie le quali sono praticamente assenti in condizioni naturali [Libertini 2009b, 2013] e che, nelle condizioni di vita moderne, spesso aumentano in frequenza e gravità nel corso degli anni (ad esempio, ipertensione, diabete di tipo 2, malattie vascolari, vari tipi di cancro, etc. [Libertini 2009b]).

Queste malattie, di regola, sono dovute a cambiamenti nella nicchia ecologica (abitudini alimentari, stili di vita, inquinanti nell'ambiente, etc.) a cui la specie non è adattata e che risultano pertanto dannosi [Libertini 2009b]. Alcune di questi cambiamenti, qui definiti come "fattori di rischio" e da considerare come alterazioni della nicchia ecologica, sono contrastati, almeno in parte, da farmaci e altre misure ("fattori protettivi").

La distinzione tra le suddette malattie e il processo dell'invecchiamento è che questi disturbi sono, almeno parzialmente, prevenibili o curabili mediante l'appropriato ripristino della corretta nicchia ecologica o mediante farmaci opportuni, mentre al contrario l'invecchiamento, in linea di principio - essendo un fenomeno fisiologico - non è contrastato da azioni preventive, protettive o curative. Stile di vita e condizioni ambientali che sono idealmente perfetti per preservare la salute permettono il conseguimento dell'invecchiamento fisiologico, vale a dire normale, ma non possono bloccare o invertire l'invecchiamento [Libertini 2009b]. Comunque i "fattori di rischio" possono causare un'accelerazione del processo di invecchiamento, mentre i "fattori protettivi" possono contrastare questa accelerazione e dare la falsa impressione di contrastare l'invecchiamento mentre altresì riducono, o anche annullano, soltanto le alterazioni patologiche dell'invecchiamento. Un esempio specifico è il graduale indebolirsi della funzione endoteliale, che è la causa maggiore delle malattie vascolari e può essere valutata contando le cellule endoteliali progenitrici (CEP) [Hill et al. 2003; Werner et al. 2005]. Il numero delle CEP, che è un predittore del rischio di malattia cardiovascolare affidabile quanto il punteggio di Framingham [Wilson et al. 1987], decresce con il passare degli anni ed è anche ridotto dai fattori di rischio. Un sano stile di vita o l'azione di vari farmaci può ripristinare il numero delle CEP normale

per l'età ma non blocca la riduzione di tale numero correlata con l'età [Hill et al. 2003].

Questi concetti sono riassunti nella Figura 8.

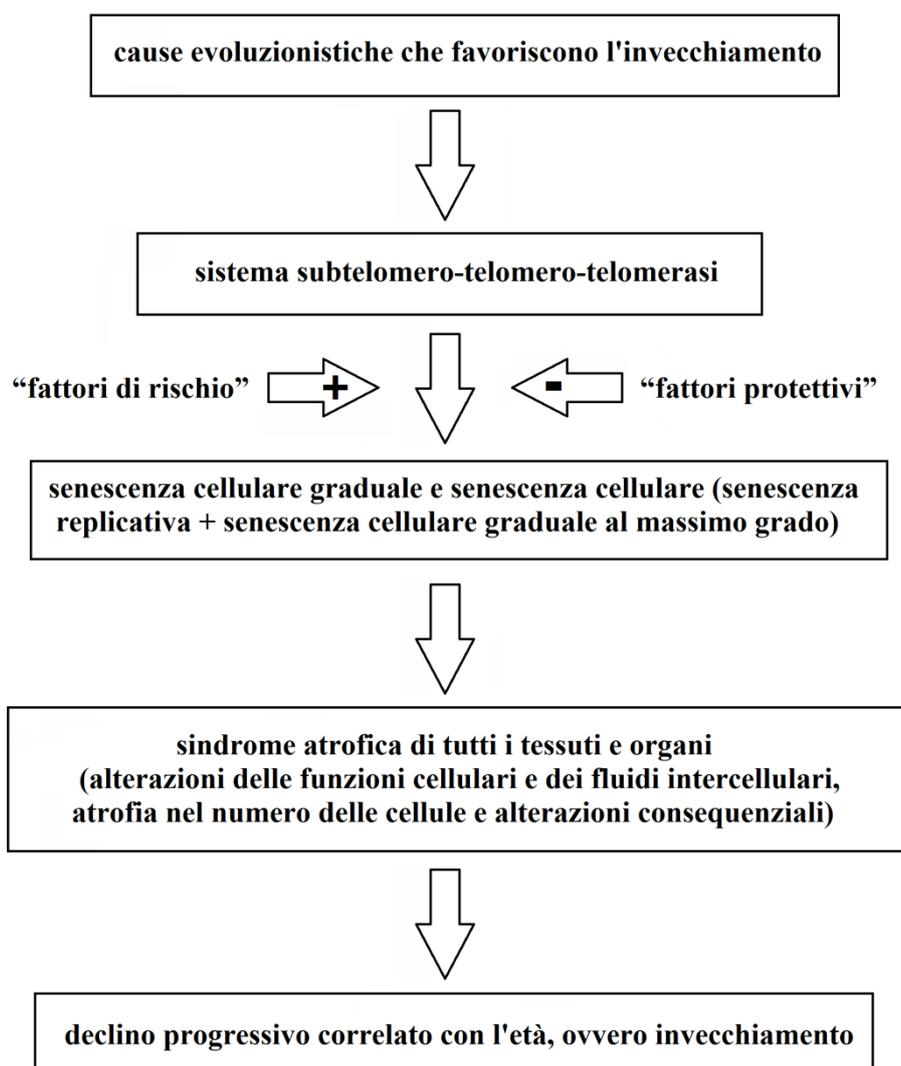


Figura 8 – Uno schema del processo di invecchiamento.

Di certo è possibile proporre interpretazioni alternative del fenomeno dell'invecchiamento che siano nell'ambito del paradigma dell'invecchiamento programmato (ad esempio, i "cronomeri" e i "printomeri" ipotizzati da Olovnikov come elementi chiave dei meccanismi dell'invecchiamento [Olovnikov 2003, 2015]), ma l'interpretazione qui prospettata appare più in accordo con l'evidenza empirica.

Possibili azioni

L'obiettivo di questo capitolo è la ricerca di metodi attuabili per rallentare, bloccare o invertire i normali meccanismi dell'invecchiamento. In premessa, deve essere sottolineato che molte comuni malattie causate da alterazioni della nicchia ecologica (ad esempio, il fumo e abitudini di vita non salutari) o da altri fattori (ad esempio, alterazioni del genoma): (i) non sono parte del normale processo dell'invecchiamento, anche se la loro frequenza e gravità spesso sono correlate con l'età; (ii) spesso possono essere prevenute o trattate con appropriate misure; (iii) non sono parte del suddetto obiettivo.

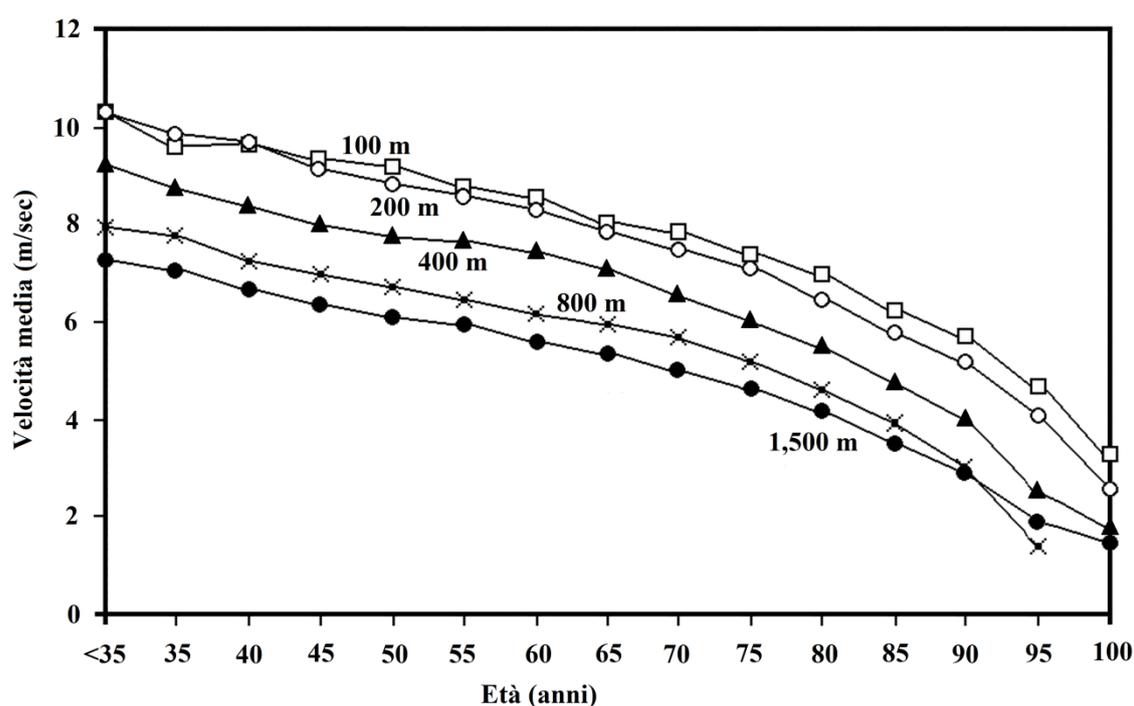


Figura 9 – Una quantificazione del declino della fitness correlato con l'età basato su dati da popolazione umane moderne, vale a dire i record di velocità su varie distanze in individui di 35 anni o meno [Record mondiali di atletica leggera 2017], e in altri gruppi con età maggiore [Record mondiali in atletica distinti per gruppi di età 2017]. Dall'inizio dell'età adulta fino a un'età di circa 30-35 anni, si osservano le massime prestazioni, vale a dire il segnale della massima fitness, e questo è il periodo con la minima mortalità osservata in condizioni naturali [Hill e Hurtado 1996].

Per la nostra specie, in individui che sono nella migliore condizione fisica possibile e che sono liberi da qualsiasi malattia che potrebbe comprometterla, vi è un progressivo declino della fitness correlato con

l'età, che inizia all'incirca dall'età di 30 anni: “Nessuno considererebbe un uomo nella sua terza decade di vita come senile, eppure, in base ai record dell'atletica e alle tabelle di sopravvivenza, la senescenza è rampante durante questa decade.” [Williams 1957]. In effetti, questo declino può essere in qualche modo quantificato osservando i record mondiali di velocità per ogni gruppo di età (Figura 9).

I metodi per invertire l'invecchiamento dovrebbero trasformare la curva del declino della fitness in una linea retta orizzontale, il che vuol dire un'invarianza con l'età della fitness, ossia del tasso di mortalità. La ricerca di questi metodi sarà basata esclusivamente sull'interpretazione dei meccanismi dell'invecchiamento così come prima delineati.

- Metodo 1: Attivazione della telomerasi

La valutazione dei meccanismi dell'invecchiamento e anche gli esperimenti eseguiti finora suggeriscono immediatamente che il modo più semplice e migliore per contrastare l'invecchiamento è l'attivazione della telomerasi, in modo da riportare la lunghezza del telomero a quella iniziale, definita dalla dimensione del cappuccio eterocromatinico.

Esperimenti ben conosciuti e già ricordati su cellule coltivate hanno dimostrato sin dal 1998 che l'attivazione della telomerasi è in grado di annullare le manifestazioni della senescenza cellulare, vale a dire di ringiovanire completamente cellule che presentano i marcatori della senescenza cellulare [Bodnar et al. 1998; Counter et al. 1998; Vaziri 1998; Vaziri e Benchimol 1998; de Lange e Jacks 1999].

A livello di tessuti, fibroblasti invecchiati *in vitro* con “sostanziali alterazioni nell'espressione dei geni” furono trattati con la telomerasi e poi “valutati mediante l'inserimento in pelle umana ricostituita”, che non mostrò alcuna differenza biologica, con i test eseguiti dagli sperimentatori, nei confronti della pelle ricavata da fibroblasti giovani [Funk et al. 2000].

A livello di organismo, in ceppi di topi invecchiati aventi la telomerasi bloccata mediante alterazioni genetiche, l'attivazione della telomerasi mostra una netta inversione delle manifestazioni degenerative, persino nel sistema nervoso [Jaskelioff et al. 2011]. Inoltre, in topi normali dell'età di uno e due anni, l'espressione della telomerasi, indotta mediante virus adeno-associati che trasportavano la transcriptasi inversa della telomerasi del topo, ritarda l'invecchiamento e aumenta la durata media della vita (rispettivamente del 24% e del 13%) senza accrescere il rischio di cancro [Bernardes de Jesus et al. 2012].

L'uso della riattivazione della telomerasi per controllare l'invecchiamento è comunque fortemente frenato da una formidabile difficoltà che non è tecnica ma trova origine nelle assunzioni del vecchio paradigma (ancora la tesi dominante benché la sua validità come teoria scientifica sia fortemente contrastata dall'evidenza empirica e da argomentazioni teoriche [Libertini 2015a]). In effetti, secondo il vecchio paradigma, meccanismi geneticamente determinati e regolati che progressivamente compromettano la fitness per ridurre la durata della vita non possono assolutamente esistere. Pertanto il sistema subtelomero-telomero-telomerasi, brevemente descritto nella precedente sezione e sostenuto da una solida evidenza empirica, per il vecchio paradigma non può avere come causa evolutivistica il conseguimento dell'invecchiamento ma deve assolutamente avere un'altra ragione che ne giustifichi l'esistenza. L'unica motivazione che finora è stata proposta per giustificare l'esistenza di questi meccanismi è la vecchia interpretazione che li vede come una difesa generale contro il cancro, poiché la senescenza replicativa sarebbe un ostacolo efficace per frenare la proliferazione cancerosa [Campisi 1997; Wright e Shay 2005]. L'invecchiamento sarebbe quindi solo un effetto collaterale di questa difesa, in una sorta di terribile scambio evolutivistico tra i gravi problemi dell'invecchiamento e la necessità di difendere l'organismo dal cancro [Campisi 2000], in eccellente compatibilità con le idee sostenute da alcune tradizionali e antiche ipotesi a riguardo delle cause evolutivistiche dell'invecchiamento (teoria della Pleiotropia Antagonistica [Williams 1957; Rose 1991]; teoria del Soma Disponibile [Kirkwood 1977; Kirkwood e Holliday 1979]).

Comunque, vi sono vari e forti elementi contro l'anzidetta interpretazione, come in parte già spiegato altrove [Libertini 2009b, 2013]:

- a) Vi sono specie animali senza alcun declino della fitness correlato con l'età ("con senescenza non rilevabile" [Finch 1990]) e gli individui vecchi di tali specie (ad esempio, i rockfish, la trota arcobaleno e l'aragosta) hanno in condizioni naturali la stessa attività telomerasica mostrata dagli individui giovani [Klapper, Heidorn et al. 1998; Klapper, Kühne et al. 1998], ma non vi è un'accresciuta vulnerabilità al cancro, come dimostrato dalla loro mortalità costante a ogni età;
- b) La senescenza cellulare graduale e la senescenza cellulare causano un progressivo indebolimento dell'efficienza del sistema immunitario [Fossel 2004], e ciò accresce la vulnerabilità al cancro e di conseguenza l'incidenza del cancro [Rosen 1985];

c) I telomeri accorciati determinano instabilità del DNA e ciò accresce le probabilità di insorgenza del cancro [DePinho 2000; Artandi 2002; Artandi e DePinho 2010];

d) Nelle specie eucarioti unicellulari come il lievito, la senescenza replicativa e l'apoptosi, non causati dall'accorciamento dei telomeri ma dall'accumulo delle molecole dei CER, sono ben documentati [Jazwinski 1993; Laun et al. 2007; Fabrizio e Longo 2007], ma non possono essere una difesa contro il cancro, che è impossibile nelle specie unicellulari;

e) La senescenza cellulare graduale, che implica l'esistenza di sequenze regolatrici critiche nel DNA subtelomerico che sono gradualmente repressi in conseguenza dell'accorciamento del telomero, è una difesa inverosimile contro la proliferazione cellulare neoplastica;

f) Nel topo, l'eliminazione selettiva delle cellule senescenti (cellule p16^{Ink4a+}) contrasta molteplici cambiamenti dipendenti dall'età, ritarda la progressione delle malattie maligne e aumenta la durata della vita [Baker et al. 2016] e tutto ciò è contro la possibilità che le cellule senescenti siano una difesa contro il cancro.

g) In una popolazione umana studiata in condizioni naturali: (i) i sopravvissuti alle età di 60 e 70 anni erano rispettivamente circa il 30% e il 20%; (ii) casi di cancro non furono riferiti e solo in pochi individui più anziani, ossia con più di 70 anni, vi era la possibilità che la morte fosse stata causata da un cancro. Nella stessa popolazione, l'incremento della mortalità correlato con l'età, vale a dire l'invecchiamento, era evidente a partire dalla terza decade di vita (come per le popolazioni umane non in condizioni primitive). L'ipotesi che i meccanismi alla base di questo incremento di mortalità potessero essere una difesa contro una rara malattia che mostra i suoi effetti mortali in età successive è palesemente illogica [Libertini 2013];

h) L'attivazione della telomerasi, che è una caratteristica frequente nel cancro, poiché è successiva all'insorgere del cancro e non lo precede, deve essere considerata un fenomeno che aggrava il cancro e non una sua causa [Fossel 2004];

E' importante sottolineare che con il rigetto della suddetta spiegazione per i meccanismi cellulari dell'invecchiamento come una difesa contro il cancro, il vecchio paradigma perde una fondamentale ultima linea di difesa e diventa ancora più insostenibile. Ciò spiega storicamente e psicologicamente, ma non giustifica scientificamente, la tenace difesa di

tale spiegazione, che attualmente è un forte e ingiustificato freno contro l'uso della telomerasi per contrastare l'invecchiamento.

Comunque, superando questa difficoltà, il miglior percorso per rallentare l'invecchiamento è chiaramente l'attivazione della telomerasi e il successivo ripristino della lunghezza iniziale del telomero [Fossel 2015].

Una prima possibilità è l'utilizzo di farmaci che siano capaci di tale azione. Alcune sostanze, gli astragalosidi, hanno dimostrato qualche azione nel riattivare la telomerasi [Harley et al. 2011; Harley et al. 2013], ma sono alquanto costose e il loro effetto è limitato [Fossel 2015].

Altresì, la tecnica che appare essere più efficace e attuabile in un tempo ragionevolmente breve è l'attivazione della telomerasi mediante la transcriptasi inversa della telomerasi (*transcriptase reverse telomerase*, TRT) introdotta nell'organismo con l'utilizzo di un adenovirus come vettore, così come in un esperimento portato a termine sul topo con rilevanti risultati positivi e già menzionato in questo capitolo [Bernardes de Jesus et al. 2012].

Ciò necessariamente deve esser conseguito mediante più fasi successive:

- 1) Nuovi esperimenti su animali per studiare: (i) le migliori tecniche per introdurre la TRT nell'organismo con i massimi standard di efficienza e sicurezza; (ii) ulteriori dettagli sui risultati, anche in funzione dell'età dell'individuo al momento in cui la tecnica è applicata;
- 2) Primi esperimenti su soggetti umani anziani che sono affetti da malattie gravemente invalidanti e che costituiscono parte del processo di invecchiamento, come la malattia di Alzheimer, il morbo di Parkinson, la degenerazione maculare correlata con l'età, etc. (escludendo i casi precoci che verosimilmente o chiaramente sono dovuti a difetti genetici o dannosi stili di vita), e in individui non in condizioni di riprodursi, per evitare la possibile trasmissione di un genoma modificato o alterato;
- 3) Esperimenti su soggetti con malattie meno disabilitanti, o persino su soggetti con capacità riproduttiva, se la possibilità di alterazioni del genoma è stata esclusa;
- 4) Esperimenti per il trattamento di soggetti affetti da altre malattie che possono essere considerate una conseguenza dell'accelerazione del processo di invecchiamento;
- 5) Esperimenti per il trattamento di individui anziani sani, vale a dire semplicemente per ringiovanirli.

Il metodo 1 permetterebbe il ringiovanimento dell'organismo con il limite che qualsiasi alterazione irreversibile già verificatasi (ad esempio: alterazioni macrostrutturali, riduzione nel numero delle cellule staminali

primarie) non sarebbe correggibile. Pertanto il metodo dovrebbe essere applicato abbastanza precocemente (ad esempio prima dell'età di 40 anni) e ripetuto successivamente abbastanza di frequente (ad esempio ogni 10 anni). Chiaramente queste sono assunzioni ragionevoli che necessitano delle dovute conferme.

Metodo 2 – Modifica del subtelomero

E' possibile formulare un metodo differente basato su modificazioni genetiche del subtelomero in modo da aumentare l'età in cui il declino della fitness incomincia a manifestarsi (vale a dire, circa l'età di 30 anni nella nostra specie [Williams 1957]). Ad esempio, se fosse possibile accrescere questa età da 30 a 60 anni, e se, unitamente a questo metodo, applichiamo il metodo 1 all'età di 60 anni e poi ogni 30 anni, si potrebbe allungare il periodo della gioventù biologica senza alcun trattamento e anche minimizzare i possibili cambiamenti irreversibili alle età in cui il metodo 1 è applicato.

Ora, esaminiamo il metodo che è qui proposto.

Alcune abbreviazioni sono necessarie per un'esposizione più concisa:

- Il telomero è costituito dalla ripetizione monotona di una sequenza, o motivo (TTAGGG nei vertebrati), che sarà indicato con "<m>". Pertanto, se il motivo è ripetuto n volte, il telomero sarà descritto come "<m>ⁿ";
- Quella parte del subtelomero che è adiacente al telomero e può essere definita come giunzione subtelomero-telomero, sarà indicata con "<J>";
- Tutta la rimanente parte del subtelomero sarà indicata con "<ST>". Utilizzando queste abbreviazioni, la parte terminale della molecola di DNA di un cromosoma sarà indicata con <ST><J><m>ⁿ;
- L'abbreviazione "<SN>" indica una sequenza neutrale, vale a dire una sequenza che non ha alcuna azione negativa o positiva sulla rimanente parte della molecola di DNA o su qualsivoglia funzione genetica o cellulare;
- Le abbreviazioni "<c1>" e "<c2>" indicano due distinte sequenze marcatrici per le quali sarà necessario verificare l'assenza di sequenze identiche nel genoma.

E' necessario specificare inoltre che:

- Lo studio della sequenza <J> è preliminare allo sviluppo del metodo. E' essenziale che la sequenza <J> sia tale, o delimitata in modo tale, che non vi sia alcuna sequenza identica nel genoma;

- Parimenti, la definizione di una o più sequenze neutrali (<SN>) sarà preliminare.

L'obiettivo del metodo 2 è ottenere l'inserimento di una o più sequenze <SN> tra <ST> e <J>, vale a dire per ottenere la seguente struttura della parte terminale della molecola di DNA del cromosoma:

$$\langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^n \Rightarrow \langle ST \rangle \langle SN \rangle^y \langle J \rangle \langle m \rangle^n,$$

dove y è un numero intero scelto secondo quanto necessario.

Per conseguire questo risultato, con l'utilizzo di una tecnica come CRISPR-CAS9, la seguente procedura potrebbe essere fattibile:

1) Sostituzione di <J> con la sequenza <c2><SN><c1>:

$$\langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^n \Rightarrow \langle ST \rangle \langle c2 \rangle \langle SN \rangle \langle c1 \rangle \langle m \rangle^n,$$

2) Sostituzione di <c1> con <J>:

$$\Rightarrow \langle ST \rangle \langle c2 \rangle \langle SN \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^n,$$

3) Sostituzione di <c2> con la sequenza <c1><SN>:

$$\Rightarrow \langle ST \rangle \langle c1 \rangle \langle SN \rangle^2 \langle J \rangle \langle m \rangle^n,$$

4) Sostituzione di <c1> con la sequenza <c2><SN>:

$$\Rightarrow \langle ST \rangle \langle c2 \rangle \langle SN \rangle^3 \langle J \rangle \langle m \rangle^n,$$

5) Ripetizione delle fasi 3 e 4 finché non si ha <SN> ripetuta y volte:

$$\Rightarrow \langle ST \rangle \langle c1 \text{ o } c2 \rangle \langle SN \rangle^y \langle J \rangle \langle m \rangle^n,$$

6) Rimozione di <c1 o c2>:

$$\Rightarrow \langle ST \rangle \langle SN \rangle^y \langle J \rangle \langle m \rangle^n,$$

che è il risultato desiderato.

E' da notare come ciascuna sequenza che contrassegna dove un'azione deve essere eseguita (ad esempio, <J> nell'azione 1) è sempre distrutta dalla stessa azione in modo che non possa essere eseguita più di una volta.

Il cambiamento determinato dal metodo, se eseguito sulle cellule germinali, avrebbe effetto sia sull'individuo in cui il metodo è applicato, sia per gli individui delle successive generazioni.

Da un punto di vista teorico, sarebbe inutile allungare il subtelomero al di là della massima lunghezza che può essere inibita dall'accorciamento del

telomero prima cioè che il telomero raggiunga una lunghezza minima critica che attiva obbligatoriamente la senescenza cellulare.

Questo metodo presenta un importante vantaggio. Poiché esso agisce sul subtelomero e non sul telomero, di conseguenza gli esperimenti potrebbero facilmente essere attuabili avendo come modello di specie eucariota il lievito *S. cerevisiae* che “invecchia” per l’inibizione del subtelomero causata non dall’accorciamento del telomero ma dal progressivo accumulo delle molecole dei CER. Come risultato ottimale, in un ceppo di *S. cerevisiae* modificato mediante questo metodo, le cellule della linea materna dovrebbero mostrare il blocco delle loro replicazioni dopo un numero di duplicazioni maggiore del limite di 25-35 trovato da Jazwinski [Jazwinski 1993].

Dopo aver acquisito una buona padronanza delle tecniche da impiegare, il metodo dovrebbe essere applicato su un modello animale multicellulare con breve durata della vita (ad esempio, i topi) e successivamente su animali la cui durata della vita e fisiologia sono più vicini alla nostra specie (ad esempio, i maiali).

Come per il metodo 1, con le riserve espresse nell’Introduzione (in particolare per la successiva fase c), le seguenti fasi possono essere concepite unitamente all’applicazione (possibilmente ripetuta) del metodo 1:

- a) applicazione su soggetti umani che sono incapaci di procreare e che sono affetti da gravi malattie quali malattia di Alzheimer, morbo di Parkinson, degenerazione della macula correlata con età, etc.; il possibile successo di quest’approccio, in particolare per malattie come quelle di Alzheimer e di Parkinson, permetterebbe anche una decisiva discriminazione tra la loro interpretazione come componenti critiche dei meccanismi dell’invecchiamento e coerenti con gli stessi [Libertini e Ferrara 2016a], e altre interpretazioni legate a eventi biochimici e disordini funzionali delle stesse malattie (ad esempio: [Femminella, Rengo et al. 2014; Pagano et al. 2015; Pagano et al. 2016; Femminella, Leosco et al. 2016]).
- b) applicazione in soggetti anziani che sono incapaci di procreare ma sani;
- c) modifica delle cellule germinali di individui sani.

Metodo 3 – Allungamento del telomero senza l’impiego della telomerasi

Operando dopo la fase di reset, la telomerasi può allungare il telomero fino alla massima lunghezza permessa dal cappuccio eterocromatinico. Utilizzando un metodo alternativo nelle cellule germinali, è possibile

prospettare l'aumento della lunghezza del telomero fino alla lunghezza desiderata. In entrambi i casi, poiché il cappuccio eterocromatinico è modellato nella fase di reset in base alla lunghezza del telomero, questo non modifica la longevità. Ma se il subtelomero è stato modificato dal metodo 2, ciò permetterebbe un maggiore accorciamento del telomero prima che la lunghezza del telomero raggiunga una misura critica. In breve, l'uso combinato del metodo 2 e del metodo 3 porterebbe a un periodo più lungo prima di raggiungere l'età in cui la fitness incomincia a declinare e vi è la necessità di ricorrere al metodo 1 per ripristinare la fitness.

Pertanto, se l'obiettivo è ottenere l'allungamento del telomero aggiungendo y ripetizioni della sequenza $\langle m \rangle^f$ (dove y e f sono numeri interi scelti in base alla necessità), vale a dire:

$$\langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^n \Leftrightarrow \langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^{n+yf},$$

la seguente procedura potrebbe essere attuabile.

1) Sostituzione di $\langle J \rangle$ con la sequenza $\langle c1 \rangle \langle m \rangle^f \langle c2 \rangle$:

$$\langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^n \Leftrightarrow \langle ST \rangle \langle c1 \rangle \langle m \rangle^f \langle c2 \rangle \langle m \rangle^n,$$

2) Sostituzione di $\langle c1 \rangle$ con $\langle J \rangle$:

$$\Leftrightarrow \langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^f \langle c2 \rangle \langle m \rangle^n,$$

3) Sostituzione di $\langle c2 \rangle$ con la sequenza $\langle m \rangle^f \langle c1 \rangle$:

$$\Leftrightarrow \langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^{2f} \langle c1 \rangle \langle m \rangle^n,$$

4) Sostituzione di $\langle c1 \rangle$ con la sequenza $\langle m \rangle^f \langle c2 \rangle$:

$$\Leftrightarrow \langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^{3f} \langle c2 \rangle \langle m \rangle^n,$$

5) Ripetizione delle azioni 3 e 4 fintantoché la sequenza $\langle m \rangle^f$ è ripetuta y volte:

$$\Leftrightarrow \langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^{yf} \langle c1 \text{ o } c2 \rangle \langle m \rangle^n,$$

6) Rimozione di $\langle c1 \text{ o } c2 \rangle$:

$$\Leftrightarrow \langle ST \rangle \langle J \rangle \langle m \rangle^{n+yf},$$

che è il risultato desiderato.

La Figura 10 illustra con degli esempi l'applicazione dei tre metodi ora delineati.

Conclusione

Di certo ciò che è stato proposto nell'ultima sezione potrebbe essere considerato eccessivamente speculativo.

Comunque, lo scopo di questo lavoro è proprio quello di prospettare cosa sarebbe possibile operare per rallentare o bloccare il processo di invecchiamento, avendo come base di partenza la condizione della verità del nuovo paradigma - condizione qui non discussa - e quanto è conosciuto a riguardo del sistema subtelomero-telomero-telomerasi quale risultato di un considerevole insieme di risultati empirici.

In nessun modo ciò sarà accettato da quelli che rigettano *a priori* il nuovo paradigma, ma agli stessi è richiesto di considerare quanto è qui proposto accettando solo come ipotesi di lavoro il nuovo paradigma, vale a dire l'idea rivoluzionaria che l'invecchiamento è un fenomeno fisiologico determinato e regolato da geni e pertanto, in linea di principio, modificabile.

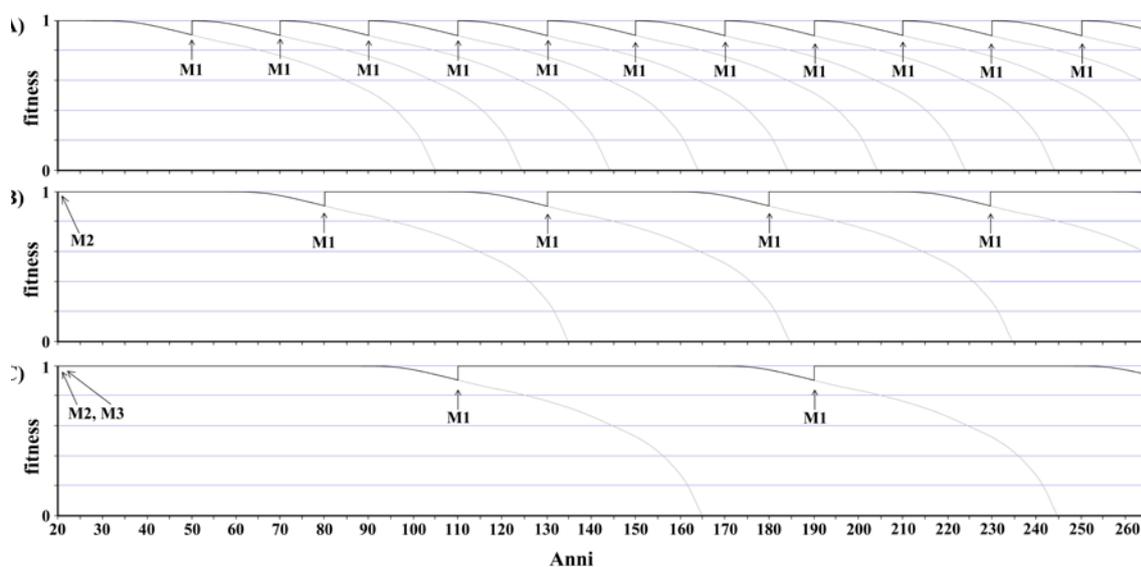


Figura 10 – A: La Metodica 1 (M1) è applicata più volte, la prima all'età di 50 anni e poi ogni 20 anni; B: il subtelomero è stato allungato mediante la Metodica 2 (M2), e poi la M1 è applicata più volte, la prima all'età di 80 anni e poi ogni 50 anni; C: il subtelomero è stato allungato con la M2 e il telomero con la Metodica 3 (M3), e poi la M1 è applicata più volte, la prima all'età di 110 anni e poi ogni 80 anni. Le linee grigie mostrano il declino della fitness quando la M1 non è applicata.

Bibliografia

- Adachi M, Brenner DA (2005) Clinical syndromes of alcoholic liver disease. *Dig. Dis.* 23, 255-63.
- Adamidis D, Roma-Giannikou E, Karamolegou K, Tselalidou E, Constantopoulos A (2000) Fiber intake and childhood appendicitis. *Int. J. Food. Sci. Nutr.* 51, 153-7.
- Adams V, Gielen S, Hambrecht R, Schuler G (2001) Apoptosis in skeletal muscle. *Front. Biosci.* 6, D1-D11.
- 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, 439-50.
- Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (eds) (2013) *Essential Cell Biology* (4th ed.), Garland Science, New York.
- Alexeeff SE, Litonjua AA, Sparrow D, Vokonas PS, Schwartz J (2007) Statin use reduces decline in lung function. *Amer. J. Respir. Crit. Care Medic.* 176, 742-7.
- Altman SA, Altmann J (1970) *Baboon ecology: African field research*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Andreeff M, Goodrich DW, Pardee AB (2000) Cell proliferation, differentiation, and apoptosis. In: Holland-Frei, *Cancer Medicine* (5th ed.), B. C. Decker Inc. ed., Hamilton, Ontario (Canada) e London.
- Anversa P, Kajstura J, Leri A, Bolli R (2006) Life and Death of Cardiac Stem Cells. *Circulation* 113, 1451-63.
- Anversa P, Nadal-Ginard B (2002) Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature* 415, 240-3.
- Apanius V, Penn D, Slev PR, Ruff LR, Potts WK (1997) The nature of selection on the major histocompatibility complex. *Crit. Rev. Immunol.* 17, 179-224.
- Arking R (1998) *Biology of aging* (2nd ed.), Sinauer Associates, Sunderland, MA (USA).
- Armstrong EA (1947) *Bird display and behaviour: an introduction to the study of bird psychology*. Lindsay Drummond, London. Ristampa (1965): Dover, New York.
- Armstrong GL, Conn LA, Pinner RW (1999) Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century. *JAMA* 281, 61-6.
- Arnbjörnsson E (1983) Acute appendicitis and dietary fiber. *Arch. Surg.* 118, 868-70.
- Aronow WS (1998) Effects of Aging on the Heart. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Artandi SE (2002) Telomere shortening and cell fates in mouse models of neoplasia. *Trends Mol. Med.* 8, 44-7.
- 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, 641-5.
- Artandi SE, DePinho RA (2010) Telomeres and telomerase in cancer, *Carcinogenesis* 31(1), 9-18.
- 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.* (6):pe3.

- Austad SN, Finch CE (2008) The evolutionary context of human aging and degenerative disease. In: Stearns CS, Koella JC (eds), *Evolution in health and disease* (2nd ed.), Oxford University Press, Oxford (UK).
- Baime MJ, Nelson JB, Castell DO (1994) Aging of the gastrointestinal system. In: Hazzard WR et al. (eds), *Principles of Geriatric Medicine and Gerontology*, (3rd ed.), pp. 665-681, McGraw-Hill, New York.
- 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, 184-9.
- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T (2005) Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 120, 483-95.
- 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, 1003-7.
- Beckman KB, Ames BN (1998) The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 78, 547-81.
- Benedetti A, Jezequel AM, Orlandi F (1988) A quantitative evaluation of apoptotic bodies in rat liver. *Liver* 8, 172-7.
- Ben-Porath I, Weinberg R (2005) The signals and pathways activating cellular senescence. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37, 961-976.
- Berger JM, Fine SL, Maguire MG (1999) *Age-related macular degeneration*. Mosby, USA.
- Bergstrom CT, Feldgarden M (2008) The ecology and evolution of antibiotic-resistant bacteria. In: Stearns SC, Koella JC (eds), *Evolution in health and disease* (2nd ed.), Oxford University Press, Oxford (UK).
- 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.
- 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, 2302-3.
- Bidder GP (1932) Senescence. *Br. Med. J.* 115, 5831-50.
- Bierman EL (1978) The effect of donor age on the in vitro life span of cultured human arterial smooth-muscle cells. *In Vitro* 14, 951-5.
- Bird T, Hall MRP, Schade ROK (1977) Gastric Histology and Its Relation to Anaemia in the Elderly. *Gerontology* 23, 309-21.
- Blackburn EH (1991) Structure and function of telomeres. *Nature* 350, 569-73.
- Blackburn EH (2000) Telomere states and cell fates. *Nature* 408, 53-6.
- Blackburn EH, Gall JG (1978) A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in *Tetrahymena*. *J Mol. Biol.* 120, 33-53.
- Blagosklonny MV (2006) Aging and immortality: quasi-programmed senescence and its pharmacologic inhibition. *Cell Cycle* 5, 2087-102.
- Blagosklonny MV (2013) MTOR-driven quasi-programmed aging as a disposable soma theory: blind watchmaker vs. intelligent designer. *Cell Cycle* 12, 1842-1847.

- 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, 25-34.
- Blurton Jones NG, Hawkes K, O'Connell JF (2002) Antiquity of postreproductive life: are there modern impacts on hunter-gatherer postreproductive life spans? *Am. J. Hum. Biol.* 14, 184-205.
- Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu C, Morin GB, Harley CB, Shay JW, Lichsteiner S, Wright WE (1998) Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 279, 349-52.
- Bohr VA, Anson RM (1995) DNA damage, mutation and fine structure DNA repair in aging. *Mutat. Res.* 338, 25-34.
- Bonner-Weir S (2000) Islet growth and development in the adult. *J. Mol. Endocrinol.* 24, 297-302.
- 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: Strehler B (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, 41-6.
- Bredesen DE (2004) The non-existent aging program: how does it work? *Aging Cell*, 3(5), 255-259.
- Brodie SE (1998) Aging and Disorders of the Eye. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Brody S (1924) The kinetics of senescence. *J. Gen. Physiol.* 6, 245-57.
- Brown RG (1962) The aggressive and distraction behaviour of the Western Sandpiper, *Ereunetes mauri*. *Ibis*, 104, 1-12.
- Bruce HM (1959) An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature* 184, 105.
- 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, 521-5.
- Cailliet GM, Andrews AH, Burton EJ, Watters DL, Kline DE, Ferry-Graham LA (2001) Age determination and validation studies of marine fishes: do deep-dwellers live longer? *Exp. Gerontol.* 36, 739-64.
- Caird FI, Dall JLC (1978) The cardiovascular system. In: Brocklehurst JC (ed), *Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology* (2nd ed.), Churchill Livingstone, New York.
- Campisi J (1997) The biology of replicative senescence. *Eur. J. Cancer* 33, 703-9.
- Campisi J (2000) Cancer, aging and cellular senescence. *In Vivo* 14, 183-8.
- Campisi J (2003) Cancer and ageing: rival demons? *Nat. Rev. Cancer* 3, 339-49.
- Campisi J, d'Adda di Fagagna F (2007) Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 729-40.

- Cardani R, Zavarella 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, 802-6.
- Carlson BM, Faulkner JA (1989) Muscle transplantation between young and old rats: age of host determines recovery. *Am. J. Physiol.* 256, C1262-6.
- Carrel A (1913) Contributions to the study of the mechanism of the growth of connective tissue. *J. Exp. Med.* 18, 287-99.
- Carrel A, Ebeling AH (1921a) Antagonistic growth principles of serum and their relation to old age. *J. Exp. Med.* 38, 419-25.
- Carrel A, Ebeling AH (1921b) Age and multiplication of fibroblasts. *J. Exp. Med.* 34, 599-623.
- Carvalho EM, Bastos LS, Araújo MI (2006). Worms and allergy. *Parasite Immunol.* 28, 525-34.
- Cerasi E, Kaiser N, Leibowitz G (2000) [Type 2 diabetes and beta cell apoptosis] [Article in French]. *Diabetes Metab.* 26, 13-6.
- Chandrasegaran S, Carroll D (2016) Origins of Programmable Nucleases for Genome Engineering, *J. Mol. Biol.* 428(5 Pt B), 963-89.
- 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, 604-13.
- Chow YC, Dhillon B, Chew PT, Chew SJ (1990) Refractive errors in Singapore medical students. *Singapore Med J.* 31, 472-3.
- Clavel, J (2007) Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in major diseases: cancer. *C. R. Biol.* 330, 306-17.
- Cohen JJ (1993) Programmed cell death and apoptosis in lymphocyte development and function. *Chest* 103, S99-101.
- Cohn, SK Jr (2002) The Black Death: end of a paradigm. *Amer. Histor. Rev.* 107, 703-38.
- Colegrave N, Collins S (2008) Experimental evolution: experimental evolution and evolvability. *Heredity (Edinb)* 100, 464-70.
- Comfort A. (1979). *The Biology of Senescence*. Livingstone, London.
- Congdon JD, Nagle RD, Kinney OM, van Loben Sels RC, Quinter T, Tinkle DW (2003) Testing hypotheses of aging in long-lived painted turtles (*Chrysemys picta*). *Exp. Gerontol.* 38, 765-72.
- Connolly MJ (1998) Age-Related Changes in the Respiratory System. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Cooper PJ (2004). Intestinal worms and human allergy. *Parasite Immunol.* 26, 455-67.
- Coppé J-P, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Muñoz DP, Goldstein J, Nelson PS, Desprez P-Y, Campisi J (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.* 6, 2853-68.
- Correale J, Farez M (2007). Association between parasite infection and immune responses in multiple sclerosis. *Annals Neurol.* 61, 97-108.

- 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. USA* 95, 14723-8.
- Croese J, O'Neil J, Masson J, Cooke S, Melrose W, Pritchard D, Speare R (2006). A proof of concept study establishing *Necator americanus* in Crohn's patients and reservoir donors. *Gut* 55: 136-7.
- Croteau DL, Bohr VA (1997) Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 272, 25409-12.
- Cumming WJK (1998) Aging and Neuromuscular Disease In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Daniel E (2007) Noise and hearing loss: a review. *J. Sch. Health* 77, 225-31.
- Darwin CR (1859) *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of the favoured races in the struggle for life*. John Murray, London.
- Darwin C. (1871) *The descent of man, and selection in relation to sex*. John Murray, London.
- 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. 143-159.
- Davidson MH (2007) Overview of prevention and treatment of atherosclerosis with lipid-altering therapy for pharmacy directors. *Am. J. Manag. Care* 13, S260-9.
- Davies CTM, Thomas DO, White MJ (1986) Mechanical properties of young and elderly human muscle. *Acta Med. Scand.* 711, S219-226.
- Davies I (1998) Cellular Mechanisms of Aging. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- De Bruin JP, Gosden RG, Finch CE, Leaman BM (2004) Ovarian aging in two species of long-lived rockfish, *Sebastes aleutianus* and *S. alutus*. *Biol. Reprod.* 71, 1036-42.
- Deevey ES Jr. (1947) Life tables for natural populations of animals. *Quart. Rev. Biol.* 22, 283-314.
- De Grey AD (2005) The SENS Challenge: \$20,000 Says the Foreseeable Defeat of Aging Is Not Laughable. *Rejuvenation Res.* 4, 207-10.
- De Grey AD (2007) Calorie restriction, post-reproductive life span, and programmed aging: a plea for rigor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1119, 293-305.
- De Lange T, Jacks T (1999) For better or worse? Telomerase inhibition and cancer. *Cell* 98, 273-5.
- De Magalhães JP, Toussaint O (2002) The evolution of mammalian aging. *Exp. Gerontol.* 37, 769-75.
- Denic S, Agarwal MM (2007) Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. *Nutrition* 23, 603-14.
- DePinho RA (2000) The age of cancer. *Nature* 408, 248-54.
- Devlin H, Ferguson MWJ (1998) Aging and the Orofacial Tissues. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Dieppe P, Tobias J (1998) Bone and Joint Aging. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- D'Mello NP, Jazwinski SM (1991) Telomere length constancy during aging of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 173, 6709-13.

- Dobzhansky T (1973) Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *Am. Biol. Teach.* 35, 125-9.
- Doherty, CP (2007) Host-pathogen interactions: the role of iron. *J. Nutr.* 137, 1341-4.
- Dokal I. (2000) Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br. J. Haematol.* 110, 768-79.
- Dorak MT, Lawson T, Machulla HK, Mills KI, Burnett AK (2002) Increased heterozygosity for MHC class II lineages in newborn males. *Genes Immun.* 3, 263-9.
- Dremier S, Golstein J, Mosselmans R, Dumont JE, Galand P, Robaye B (1994) Apoptosis in dog thyroid cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 200, 52-8.
- Dropulic B, Carter B (eds) (2008) *Concepts in Genetic Medicine*. John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey.
- Earl DJ, Deem MW (2004) Evolvability is a selectable trait. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 11531-6.
- Early J, Peters J (1990) *The Population Dynamics of the Mucajai Yanomamo*. Academic Press, New York.
- Eaton SB, Konner M, Shostak M (1988) Stone agers in the fast lane: chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. *Am. J. Med.* 84, 739-49.
- Eaton SB, Shostak M, Konner M (1988) *The paleolithic prescription: a program of diet and exercise and a design for living*. Harper and Row, New York.
- Edney EB, Gill RW (1968) Evolution of Senescence and Specific Longevity. *Nature* 220, 281-2.
- Ellul J., Archer N., Foy C.M., Poppe M., Boothby H., Nicholas H., Brown R.G. and 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, 233-9.
- Emanuelsson C, Spangfort MD (2007). Allergens as eukaryotic proteins lacking bacterial homologues. *Mol. Immunol.* 44, 3256-60.
- Engelberg-Kulka H, Sat B, Reches M, Amitai S, Hazan R (2004) Bacterial programmed cell death systems as targets for antibiotics. *Trends Microbiol.* 12, 66-71.
- 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, 125-33.
- Erwig L-P, Henson PM (2008) Clearance of apoptotic cells by phagocytes. *Cell Death Differ.* 15, 243-50.
- 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, 1055-67.
- Fabrizio P, Longo VD (2007) The chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Mol. Biol.* 371, 89-95.
- Fabrizio P, Longo VD (2008) Chronological aging-induced apoptosis in yeast. *Biochim. Biophys. Acta* 1783, 1280-5.
- Falcone FH, Pritchard DI (2005). Parasite role reversal: worms on trial. *Trends Parasitol.* 21, 15-60.
- 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, 828-35.

- Femminella GD, Leosco D, Ferrara N, Rengo G (2016) Adrenergic drugs blockers or enhancers for cognitive decline? What to choose for Alzheimer's disease patients? *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 15, 665-671.
- Femminella GD, Rengo G, Komici K, Iacotucci P, Petraglia L, Pagano G, de Lucia C, Canonico V, Bonaduce D, Leosco D, Ferrara N (2014) Autonomic dysfunction in Alzheimer's disease: tools for assessment and review of the literature, *J. Alzheimers Dis.* 42(2), 369-377.
- Fillit HM, Rockwood K, Woodhouse K (eds) (2010) *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology* (7th ed.), Saunders 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, 593-7.
- Finch CE, Hayflick L (eds) (1977) *Handbook of the biology of aging*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Fine SL, Berger JW, Maguire MG, Ho AC (2000) Age-related macular degeneration. *N. Engl. J. Med.* 342, 483-92.
- 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, 249-56.
- Fischer A (2001) Gene therapy: some results, many problems to solve. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)* 47, 1269-75.
- Flanary B (2009) Telomeres: Function, Shortening, and Lengthening. In: Mancini L (ed), *Telomeres: Function, Shortening and Lengthening*. Nova Science Publ., New York, pp. 431-438.
- Flanary BE (2003) Telomeres shorten with age in rat cerebellum and cortex in vivo. *J. Anti-Aging Medicine* 6, 299-308.
- Flaxman SM, Sherman PW (2000) Morning sickness: a mechanism for protecting mother and embryo. *Quart. Rev. Biol.* 75, 113-48.
- Flaxman SM, Sherman PW (2008) Morning sickness: adaptive cause or nonadaptive consequence of embryo viability? *Am. Nat.* 172, 54-62.
- Flotte TR (2007) Gene therapy: the first two decades and the current state-of-the-art. *J. Cell. Physiol.* 213, 301-5.
- Forbes S (2005) *A Natural History of Families*. Princeton University Press, Princeton and Oxford.
- Fossil MB (1996) *Reversing Human Aging*. William Morrow and Company, New York.
- Fossil MB (2004) *Cells, Aging and Human Disease*. Oxford University Press, New York.
- Fossil MB (2015) *The telomerase revolution*. BenBella Books, Dallas, Texas.
- Francis RM (1998) Metabolic Bone Disease. In: Tallis et al. (eds), *Brocklehurst's etc.*
- 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, Bonaconsa A, Mazzoli M, Espeso A, Verbruggen K, Huyghe J, Huygen PL, Kunst S, Manninen M, Diaz-Lacava A, Steffens M, Wienker TF, Pyykkö I, Cremers CW, Kremer H,

- Dhooge I, Stephens D, Orzan E, Pfister M, Bille M, Parving A, Sorri M, Van de Heyning P, Van Camp G (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, 264-76.
- Fredrick DR (2002) Myopia. *BMJ* 324, 1195-9.
- Fröhlich KU, Fussi H, Ruckstuhl, C (2007) Yeast apoptosis - from genes to pathways. *Semin. Cancer Biol.* 17, 112-21.
- Fröhlich KU, Madeo F (2000) Apoptosis in yeast - a monocellular organism exhibits altruistic behaviour. *FEBS Lett.* 473, 6-9.
- Fukuchi K, Martin GM, Monnat RJJr (1989) Mutator phenotype of Werner syndrome is characterized by extensive deletions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 5893-7. [Published erratum appears in *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 7994 (1989)].
- 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, 270-8.
- Gargett V (1990) *The Black Eagle*. Acorn Books, Randburg, Sudafrica.
- Geiger H, van Zant G (2002) The aging of lympho-hematopoietic stem cells. *Nat. Immunol.* 3, 329-33.
- General Register Office for Scotland 2010, Deaths Time Series Data, Deaths in Scotland in 2009.
- Gilleece MH, Dexter TM (1998) Aging and the Blood. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Gilmore RG, Dodrill JW, Linley PA (1983) Reproduction and embryonic development of the sand tiger shark, *Odontaspis taurus* (Rafinesque). *Fishery Bulletin* 81, 201-25.
- Gimbrone MAJr (1999) Endothelial Dysfunction, Hemodynamic Forces, and Atherosclerosis. *Thromb. Haemost.* 82, 722-6.
- Giovino GA (2007) The tobacco epidemic in the United States. *Am. J. Prev. Med.* 33, S318-26.
- Goldsmith TC (2003) *The Evolution of Aging: How Darwin's Dilemma is Affecting Your Chance for a Longer and Healthier Life*. iUniverse, Lincoln, Nebraska.
- Goldsmith TC (2004) Aging as an evolved characteristic – Weismann's theory reconsidered. *Med. Hypotheses* 62, 304-8.
- Goldsmith, TC (2006) *The Evolution of Aging*. Azinet Press, Lincoln, Nebraska.
- Goldsmith TC (2008a) Aging, evolvability, and the individual benefit requirement; medical implications of aging theory controversies. *J. Theor. Biol.* 252, 764-8.
- Goldsmith TC (2008b) Evolvability and programmed aging: a reply to de Grey. *Rejuvenation Res.* 11, 847-8.
- Goldsmith TC (2013) *The Evolution of Aging* (3rd ed.), Azinet Press, Lincoln, Nebraska.
- Gorbunova V, Bozzella MJ, Seluanov A (2008) Rodents for comparative aging studies: from mice to beavers. *Age* 30, 111-9.
- Gorelick PB (2004) Risk Factors for Vascular Dementia and Alzheimer Disease. *Stroke* 35, 2620-2.
- Goto M, Miller RW, Ishikawa Y, Sugano H (1996) Excess of Rare Cancers in Werner Syndrome (Adult Progeria). *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 5, 239-46.

- Gottschling DE, Aparicio OM, Billington BL, Zakian VA (1990) Position effect at *S. cerevisiae* telomeres: reversible repression of Pol II transcription. *Cell* 63: 751-62.
- Gramza AF (1967) Responses of brooding nighthawks to a disturbance stimulus. *Auk* 84, 72-86.
- Granot D, Levine A, Dor-Hefetz E (2003) Sugar-induced apoptosis in yeast cells. *FEMS Yeast Res.* 4, 7-13.
- Gravenstein S, Fillit H, Ershler WB (1998) Clinical Immunology of Aging. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Greaves MF (2000) *Cancer: The Evolutionary Legacy*. Oxford University Press, Oxford (UK).
- Greenhalgh DG (1998) The role of apoptosis in wound healing. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 30, 1019-30.
- Greider CW, Blackburn EH (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 51, 405-13.
- Griffiths CEM (1998) Aging of the Skin. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- 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, 125-34.
- Hall KR (1960) Social vigilance behaviour in of the chacma baboon, *Papio ursinus*. *Behaviour* 16, 261-94.
- Halter F, Brignoli R (1998) *Helicobacter pylori* and smoking: two additive risk factors for organic dyspepsia. *Yale J. Biol. Med.* 71, 91-9.
- Hamilton WD (1964) The Genetical Evolution of Social Behaviour, I, II. *J. Theor. Biol.* 7, 1-52.
- Hamilton WD (1966) The Moulding of Senescence by Natural Selection. *J. Theor. Biol.* 12, 12-45.
- Hamilton WD (1970) Selfish and Spiteful Behaviour in an Evolutionary Model. *Nature* 228, 1218-20.
- 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, 347-54.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW (1990) Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345, 458-60.
- 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.
- 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.
- Harman D (1972) The biologic clock: the mitochondria? *J. Am. Geriatr. Soc.* 20, 145-7.
- 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, 523-34.
- Hart AR, Kennedy H, Harvey I (2008) Pancreatic cancer: a review of the evidence on causation. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 6, 275-82.

- Hausfater G, Hrdy SB (1984) *Infanticide: Comparative and evolutionary perspectives*. Aldine, New York.
- Hayflick L (1965) The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 37, 614-36.
- Hayflick L (1977) The cellular basis for biological aging. In: *Handbook of the biology of aging*. Finch CE, Hayflick L (eds), Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Hayflick L (2000) The future of ageing. *Nature* 408, 267-9.
- Hayflick L, Moorhead PS (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25, 585-621.
- Héraud F, Héraud A, Harmand MF (2000) Apoptosis in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 59, 959-65.
- Harrison MM, Jenkins BV, O'Connor-Giles KM, Wildonger J (2014) A CRISPR view of development. *Genes Dev.*, 28, 1859-72.
- Herker E, Jungwirth H, Lehmann KA, Maldener C, Fröhlich K-U, Wissing S, Büttner S, Fehr M, Sigrist S, Madeo F (2004) Chronological aging leads to apoptosis in yeast. *J. Cell Biol.*, 164, 501-7.
- 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, 2950-60.
- High KA (2005) Gene therapy: the moving finger. *Nature* 435, 577-9.
- Hill K, Hurtado AM (1996) *Ache Life History*. Aldine De Gruyter, New York.
- Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T (2003) Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.* 348, 593-600.
- Hochman, A. (1997) Programmed cell death in prokaryotes. *Crit. Rev. Microbiol.* 23, 207-214.
- Holmes DJ, Austad SN (1995) Birds as Animal Models for the Comparative Biology of Aging: A Prospectus. *J. Gerontol. A Biol. Sci.* 50A, B59-66.
- Holt SE, Glinsky VV, Ivanova AB, Glinsky GV (1999) Resistance to apoptosis in human cells conferred by telomerase function and telomere stability. *Mol. Carcinog.* 25, 241-8.
- Holt SE, Shay JW, Wright WE (1996) Refining the telomere-telomerase hypothesis of aging and cancer. *Nature Biotechnol.* 14, 836-9.
- Horan MA (1998) Presentation of Disease in Old Age. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Horner PJ, Gage FH (2000) Regenerating the damaged central nervous system. *Nature* 407, 963-70.
- Howell N (1979) *Demography of the Dobe !Kung*. Academic Press, New York.
- Hunter MM, McKay DM (2004). Review article: helminths as therapeutic agents for inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 19, 167-77.
- Israels LG, Israels ED (1999) Apoptosis. *Stem Cells* 17, 306-13.
- James OFW (1998) The Liver. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik M (2001). *Immunobiology* (5th ed.), Garland Science, New York and London.
- Janković S, Radosavljević V (2007) Risk factors for bladder cancer. *Tumori* 93, 4-12.

- 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, 102-6.
- Jassal V, Fillit H, Oreopoulos DG (1998) Aging of the Urinary Tract. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Jazwinski SM (1993) The genetics of aging in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetica* 91, 35-51.
- 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, 36-43.
- Johnson TE (1987) Aging can be genetically dissected into component processes using long-lived lines of *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84, 3777-81.
- Johnson TE (2007) *Caenorhabditis elegans* 2007: the premier model for the study of aging. *Exp. Gerontol.* 43, 1-4.
- Jones RB, Whitney RG, Smith JR (1985) Intramitotic variation in proliferative potential: stochastic events in cellular aging. *Mech. Ageing Dev.* 29, 143-9.
- Kaeberlein M, Burtner CR, Kennedy BK (2007) Recent Developments in Yeast Aging *PLoS Genetics* 3(5): e84.
- Kee CS, Deng L (2008) Astigmatism associated with experimentally induced myopia or hyperopia in chickens. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 49, 858-67.
- Kennedy BK (2008) The genetics of ageing: insight from genome-wide approaches in invertebrate model organisms. *J. Intern. Med.* 263, 142-52.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26, 239-57.
- Kirchner, DB (2002) The spectrum of allergic disease in the chemical industry. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 75, S107-12.
- Kirkwood TB (1977) Evolution of ageing. *Nature* 270, 301-4.
- Kirkwood TB (2005) Understanding the odd science of aging. *Cell* 120, 437-447.
- Kirkwood TB, Austad SN (2000) Why do we age? *Nature* 408, 233-8.
- Kirkwood TB, Cremer T (1982) Cytogerontology Since 1881: A Reappraisal of August Weissmann and a Review of Modern Progress. *Hum. Genet.* 60, 101-21.
- Kirkwood TB, Holliday R (1979) The evolution of ageing and longevity. *Proc. R. Soc. Lond. B* 205, 531-46.
- Kirkwood TBL, Kapahi P, Shanley DP (2000) Evolution, stress, and longevity. *J. Anat.* 197, 587-90.
- Kirkwood TBL, Melov S (2011) On the programmed/non-programmed nature of ageing within the life history. *Curr. Biol.* 21, R701-7.
- Kirschner M, Gerhart J (1998) Evolvability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 8420-7.
- Klapper W, Heidorn H, Kühne K, Parwaresch R, Krupp G (1998) Telomerase in 'immortal fish'. *FEBS Letters* 434, 409-12.
- 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, 143-6.
- Klein BE, Klein R, Lee KE, Grady LM (2006) Statin use and incident nuclear cataract. *JAMA* 295, 2752-8.

- Klein R, Deng Y, Klein BE, Hyman L, Seddon J, Frank RN, Wallace RB, Hendrix SL, Kuppermann BD, Langer RD, Kuller L, Brunner R, Johnson KC, Thomas AM, Haan M (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, 473-83.
- Kleinstiver BP, Pattanayak V, Prew MS, Tsai SQ, Nguyen NT, Zheng Z, Joung JK (2016). High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects, *Nature* 529, 490-5.
- Klitgaard H, Manton 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, 41-54.
- Knobler SL, Mack A, Mahmoud A, Lemon SM (eds) (2005) *The Threat of Pandemic Influenza: Are We Ready? Workshop Summary*. The National Academies Press, Washington, D.C.
- Koonin EV, Aravind L (2002) Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: the bacterial connection. *Cell Death Differ.* 9, 394-404.
- Kuhn TS (1962) *The Structure of Scientific Revolutions*, The University of Chicago Press, Chicago.
- Landy HJ, Keith LG (1998) The vanishing twin: a review. *Human Reprod. Update* 4, 177-83.
- Lane N (2008) Marine microbiology: origins of death. *Nature* 453, 583-5.
- Lansing AI (1948) Evidence for aging as a consequence of growth cessation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 34, 304-10.
- Lansing AI (1951) Some physiological aspects of ageing. *Physiol. Rev.* 31, 274-84.
- Laslett P (1995) Necessary Knowledge: Age and Aging in the Societies of the Past. In: Kertzer DI, Laslett P (eds), *Aging in the Past: Demography, Society, and Old Age*. University of California Press, Berkeley, California.
- 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, 7514-26.
- 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, 1166-73.
- La Vecchia C, Zhang ZF, Altieri A (2008) Alcohol and laryngeal cancer: an update. *Eur. J. Cancer Prev.* 17, 116-24.
- Laws RM (1966). Age criteria for the African elephant, *Loxodonta a. africana*. *E. Afr. Wildl. J.* 4, 1-37.
- Laws RM (1968). Dentition and ageing of the hippopotamus. *E. Afr. Wildl. J.* 6, 19-52.
- Laws RM, Parker ISC (1968) Recent studies on elephant populations in East Africa. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 21, 319-59.
- Le Bourg É (2001) A mini-review of the evolutionary theories of aging. Is it the time to accept them? *Demogr. Res.* 4, 1-28.
- Lechler R, Warrens A (2000) *HLA in Health and Disease*. Academic Press, San Diego, California.

- 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, 569-74.
- Lee R (2008) Sociality, selection, and survival: simulated evolution of mortality with intergenerational transfers and food sharing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 7124-8.
- Lee SH, Min KJ (2013) Caloric restriction and its mimetics. *BMB Rep.* 46, 181-7.
- Leonardi-Bee J, Pritchard D, Britton J (2006). Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis. *Amer. J. Resp. Crit. Care Med.* 174, 512-23.
- Leopold AC. (1961). Senescence in plant development. *Science* 134, 1727-32.
- 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. USA* 98, 8626-31.
- Lesur I, Campbell JL (2004) The transcriptome of prematurely aging yeast cells is similar to that of telomerase-deficient cells. *MBC Online* 15, 1297-312.
- Lewis K (2000) Programmed death in bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 503-514.
- 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, 275-94.
- Libertini G (1983) Ragionamenti Evoluzionistici. Società Editrice Napoletana, Napoli (Italia). Edizione in inglese (2011): *Evolutionary arguments on aging, disease, and other topics*. Azinet Press, Crownsville MD (USA).
- Libertini G (1988) An Adaptive Theory of the Increasing Mortality with Increasing Chronological Age in Populations in the Wild. *J. Theor. Biol.* 132, 145-62.
- Libertini G (2006) Evolutionary explanations of the “actuarial senescence in the wild” and of the “state of senility”. *TheScientificWorld J.* 6, 1086-108.
- Libertini G (2008) Empirical evidence for various evolutionary hypotheses on species demonstrating increasing mortality with increasing chronological age in the wild. *TheScientificWorld J.* 8, 182-93.
- 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 (2012a) Classification of Phenoptotic Phenomena. *Biochem (Mosc)* 77, 707-15.
- Libertini G (2012b) Phenoptosis, Another Specialized Neologism, or the Mark of a Widespread Revolution? *Biochem (Mosc)* 77, 795-8.
- Libertini G (2013) Evidence for Aging Theories from the Study of a Hunter-Gatherer People (Ache of Paraguay). *Biochem. (Mosc.)* 78, 1023-32.
- Libertini G (2014a) Programmed aging paradigm: how we get old. *Biochem. (Mosc.)* 79(10): 1004-16.

- Libertini G (2014b) The concept of phenoptosis and its usefulness for controlling aging. *Curr. Aging Sc.* 7, 32-7.
- Libertini G (2015a) Non-programmed versus programmed aging paradigm. *Curr. Aging Sci.* 8(1): 56-68.
- Libertini G (2015b) Phylogeny of Aging and Related Phenoptotic Phenomena, *Biochem. (Mosc.)* 80(12), 1529-46.
- Libertini G, and Ferrara N (2016a) 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, and Ferrara N (2016b) Possible Interventions to Modify Aging. *Biochem. (Mosc.)* 81, 1413-28.
- Libertini G (2017) The Feasibility and Necessity of a Revolution in Geriatric Medicine, *OBM Geriatrics* 1(2), doi: 10.21926/obm.geriat.1702002
- Libertini G, Rengo G, and Ferrara N (2017) Aging and aging theories. *Journal of Gerontology and Geriatrics*, 65:59-77.
- Ligr M, Madeo F, Fröhlich E, Hilt W, Fröhlich KU, Wolf DH (1998) Mammalian Bax triggers apoptotic changes in yeast. *FEBS Lett.* 438, 61-5.
- Lipworth L, Tarone RE, McLaughlin JK (2006) The epidemiology of renal cell carcinoma. *J. Urol.* 176, 2353-8.
- 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 (UK), Oxford University Press.
- 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, 1581-8.
- Longo VD, Finch CE (2003) Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians? *Science* 299, 1342-6.
- Longo VD, Mitteldorf J, Skulachev VP (2005) Programmed and altruistic ageing. *Nat. Rev. Genet.* 6, 866-72.
- Ludvigsson J (2006) Why diabetes incidence increases - a unifying theory. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1079, 374-82.
- 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. USA* 83, 4784-8.
- MacGregor RR, Shalit M (1990) Neutrophil Function in Healthy Elderly Subjects. *J. Gerontol.* 45, M55-60.
- Madeo F, Fröhlich E, Fröhlich KU (1997) A yeast mutant showing diagnostic markers of early and late apoptosis. *J. Cell Biol.* 139, 729-34.
- 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, 757-67.
- Mann DMA (1988) Neurobiology of Aging. In: Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- 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, 1079-83.

- Marciniak R, Guarente L (2001) Human genetics. Testing telomerase. *Nature* 413, 370-2.
- Maringele L, Lydall D (2004) Telomerase- and recombination-independent immortalization of budding yeast. *Genes Dev.* 18, 2663-75.
- Martin GM, Oshima J (2000) Lessons from human progeroid syndromes. *Nature* 408, 263-6.
- 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, 86-92.
- Martins AC (2011) Change and aging senescence as an adaptation. *PLoS One*, 6(9), e24328.
- Martuscelli S (1979) La popolazione del Mezzogiorno nella statistica di Re Murat. Guida Editori, Napoli.
- Masoro EJ (1998) Physiology of aging. In Tallis et al. (eds), Brocklehurst's etc.
- Masoro EJ (2005) Overview of caloric restriction and ageing. *Mech. Ageing Dev.* 126, 913-22.
- Maynard Smith J (1964) Group selection and kin selection. *Nature* 201, 1145-7.
- Maynard Smith J (1976) Group selection. *Quart. Rev. Biol.* 51, 277-83.
- McCall KL, Craddock D, Edwards K (2006) Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor blockers on the rate of new-onset diabetes mellitus: a review and pooled analysis. *Pharmacotherapy* 26, 1297-306.
- 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, 63-79.
- McMichael AJ (2004) Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 359, 1049-58.
- Medawar PB (1952) *An Unsolved Problem in Biology*. H. K. Lewis, London. Reprinted in: Medawar PB (1957) *The Uniqueness of the Individual*, Methuen, London.
- Medvedev ZA (1990) An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 65(3), 375-98.
- Medh RD, Thompson EB (2000) Hormonal regulation of physiological cell turnover and apoptosis. *Cell Tissue Res.* 301, 101-24.
- Mefford HC, Trask BJ (2002) The complex structure and dynamic evolution of human subtelomeres, *Nat. Rev. Genet.* 3(2), 91-102.
- Melancon T (1982) *Marriage and Reproduction among the Yanomamo Indians of Venezuela*, Ph.D. Dissertation, Pennsylvania State University.
- Meyer F, Finer M (2001) Gene therapy: progress and challenges. *Cell. Mol. Biol.* (Noisy-le-grand) 47, 1277-94.
- 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, 81-7.
- Milewski LAK (2010) The evolution of ageing. *Bioscience Horizons* 3, 77-84.
- Minkoff EC (1983) *Evolutionary biology*. Addison-Wesley, Reading, Massachusetts.
- Minot CS (1907) *The problem of age, growth, and death; a study of cytomorphosis*, based on lectures at the Lowell Institute, London.

- Miquel J, Economos AC, Fleming J, Johnson JE Jr (1980) Mitochondrial role in cell aging. *Exp. Gerontol.* 15, 575-91.
- Mitchell JR, Wood E, Collins K (1999) A telomerase component is defective in the human disease dyskeratosis congenita. *Nature* 402, 551-5.
- Mitteldorf J (2001) Can experiments on caloric restriction be reconciled with the disposable soma theory for the evolution of senescence? *Evolution* 55, 1902-5.
- Mitteldorf J (2004) Aging selected for its own sake. *Evol. Ecol. Res.* 6, 1-17.
- Mitteldorf J (2006) How evolutionary thinking affects people's ideas about aging interventions. *Rejuvenation Res.* 9, 346-50.
- Mitteldorf J (2013) Telomere Biology: Cancer Firewall or Aging Clock? *Biochem. (Mosc.)* 78, 1054-60.
- Mitteldorf J, Martins AC (2014) Programmed life span in the context of evolvability. *Am. Nat.* 184, 289-302.
- Mitteldorf J, Pepper J (2009) Senescence as an adaptation to limit the spread of disease. *J. Theor. Biol.* 260, 186-195.
- Morin GB (1989) The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell* 59, 521-9.
- Morse SA, Bravo PE, Morse MC, Reisin E (2005) The heart in obesity-hypertension. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* 3, 647-58.
- 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. USA.* 85, 6622-6.
- Mueller LD (1987) Evolution of accelerated senescence in laboratory populations of *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 1974-7.
- Mullard A (2008) Microbiology: the inside story. *Nature* 453, 578-80.
- 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, 612-618.
- NIH (National Institutes of Health), USA (2000) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *NIH Consens. Statement.* 17, 1-45.
- National vital statistics reports, Vol. 56, no. 10, April 24, 2008: www.cdc.gov/nchs/data/nvsr/nvsr56/nvsr56_10.pdf.
- Nesse RM (2008) The importance of evolution for medicine. In: Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ (eds), *Evolutionary Medicine: new perspectives*. Oxford University Press, New York.
- Nesse RM, Williams GC (1994) *Why we get sick*. New York (USA), Times Books.
- Nijhawan D, Honarpour N, Wang X (2000) Apoptosis in neural development and disease. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 73-87.
- Northern Ireland Statistics and Research Agency, Registrar General Annual Report 2010.
- Nowak MA, Tarnita CE, Wilson EO (2010) The evolution of eusociality. *Nature* 466, 1057-62.
- Nussey DH, Froy H, Lemaitre JF, Gaillard JM, Austad SN (2013) Senescence in natural populations of animals: widespread evidence and its implications for biogerontology. *Ageing Res. Rev.* 12, 214-225.

- Ober C (1992) The maternal-fetal relationship in human pregnancy: an immunogenetic perspective. *Exp. Clin. Immunogenet.* 9, 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, 33-8.
- Ober C, Weitkamp L, Cox N (1999) HLA and mate choice. In: Johnston RE, Muller-Schwarze D, Sorenson PW (eds), *Advances in Chemical Signals in Vertebrates*. Kluwer Academic Press, New York.
- Ober C, Weitkamp LR, Cox N, Dytch H, Kostyu D, Elias S (1997) HLA and mate choice in humans. *Am. J. Hum. Genet.* 61, 497-504.
- Ober C, van der Ven K (1997) Immunogenetics of reproduction: an overview. In: Olding LB (ed), *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer-Verlag, Berlin.
- Office for National Statistics, Mortality Statistics: Deaths registered in 2009, England and Wales 2010.
- O'Geen H, Yu AS, Segal DJ (2015) How specific is CRISPR/Cas9 really? *Curr. Opin. Chem. Biol.* 29, 72-78.
- Oliveira BF, Nogueira-Machado, J.-A., and Chaves, M. M. (2010) The role of oxidative stress in the aging process. *TheScientificWorld J.* 10, 1121-8.
- Olivetti G, Melissari M, Capasso JM, Anversa P (1991) Cardiomyopathy of the Aging Human Heart. Myocyte Loss and Reactive Cellular Hypertrophy. *Circ. Res.* 68, 1560-8.
- Olovnikov AM (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides [in Russian]. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* 201(6), 1496-9. English version: Olovnikov, A. M. (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, 181-90.
- Olovnikov AM (2003) The redosome hypothesis of aging and the control of biological time during individual development. *Biochem. (Mosc.)* 68(1), 2-33.
- Olovnikov AM (2015) Chronographic theory of development, aging, and origin of cancer: role of chromeres and printomeres. *Curr. Aging Sci.* 8(1), 76-88.
- Opferman JT (2008) Apoptosis in the development of the immune system. *Cell Death Differ.* 15, 234-42.
- Ostergren J (2007) Renin-angiotensin-system blockade in the prevention of diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 78, S13-21.
- Ozen M, Imam SA, Datar RH, Multani AS, Narayanan R, Chung LW, von Eschenbach AC, Pathak S (1998) Telomeric DNA: marker for human prostate cancer development? *Prostate* 36, 264-271.
- Pagano G, Ferrara N, Brooks DJ, Pavese N (2016) Age at onset and Parkinson disease phenotype. *Neurology* 86(15), 1400-7.
- Pagano G, Rengo G, Pasqualetti G, Femminella GD, Monzani F, Ferrara N, Tagliati M (2015) Cholinesterase inhibitors for Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 86(7), 767-773.

- Parasher G, Eastwood GL (2000) Smoking and peptic ulcer in the *Helicobacter pylori* era. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 12, 843-53.
- 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 Biol.*, 118, 485-496.
- Partridge L, Barton NH (1993) Optimality, mutation and the evolution of ageing. *Nature* 362, 305-11.
- Patterson KD, Pyle GF (1991). The geography and mortality of the 1918 influenza pandemic. *Bull. Hist. Med.* 65, 4–21.
- Petrasccheck M, Ye X, Buck LB (2007) An antidepressant that extends lifespan in adult *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 450, 553-6.
- Philips SK, Bruce SA, Newton D, Woledge RC (1992) The weakness of old age is not due to failure of muscle activation. *J. Gerontol. Med. Sci.* 47, M45-49.
- Pianka ER (1970). On r- and K-selection. *Amer. Natur.* 104, 592-7.
- Pollack M, Leeuwenburgh C (2001) Apoptosis and aging: role of the mitochondria. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 56, B475-82.
- Pontèn J, Stein WD, Shall S (1983) A Quantitative Analysis of the Aging of Human Glial Cells in Culture. *J. Cell Phys.* 117, 342-52.
- Porteus MH, Connelly JP, Pruett SM (2006) A look to future directions in gene therapy research for monogenic diseases. *PLoS Genet.* 2(9):e133.
- Price WA (1939) *Nutrition and Physical Degeneration*. Paul B. Hoeber, New York and London.
- Prins JB, O’Rahilly S (1997) Regulation of adipose cell number in man. *Clin. Sci. (Lond.)* 92, 3-11.
- Prowse KR, Greider CW (1995) Developmental and tissue-specific regulation of mouse telomerase and telomere length. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 4818-22.
- Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G (2002). The worldwide prevalence of multiple sclerosis. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 104, 182-91.
- 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, 32730-8.
- Rachlin H, Jones BA (2008) Altruism among relatives and non-relatives. *Behav. Processes.* 79, 120-3.
- Raff MC (1998) Cell suicide for beginners. *Nature*, 396, 119-122.
- Read AF, Mackinnon MJ (2008) Pathogen evolution in a vaccinated world. In: Stearns SC, Koella JC (eds) *Evolution in health and disease* (2nd ed.), Oxford University Press, Oxford (UK).
- Record mondiali di atletica leggera (2017): www.iaaf.org/records/by-category/world-records
- Record mondiali in atletica distinti per gruppi di età (2017): www.world-masters-athletics.org/records.htm
- Reed JC (1999) Dysregulation of Apoptosis in Cancer. *J. Clin. Oncol.* 17, 2941-53.
- Reinus JF, Brandt LJ (1998) The Upper Gastrointestinal Tract. In: Tallis et al. (eds), *Brocklehurst’s etc.*

- Ren JG, Xia HL, Tian YM, Just T, Cai GP, Dai YR (2001) Expression of telomerase inhibits hydroxyl radical-induced apoptosis in normal telomerase negative human lung fibroblasts. *FEBS Lett.* 488, 133-8.
- Rheinwald JG, Green H (1975) Serial Cultivation of Strains of Human Epidermal Keratinocytes: the Formation of Keratinizing Colonies from Single Cells. *Cell* 6, 331-44.
- Ribarič S (2012) Diet and aging. *Oxid. Med. Cell Longev.* doi: 10.1155/2012/741468.
- 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.
- 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, 24-44.
- 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, 2464-2476.
- Rodriguez-Iturbe B, Romero F, Johnson RJ (2007) Pathophysiological mechanisms of salt-dependent hypertension. *Am. J. Kidney Dis.* 50, 655-72.
- 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. USA* 78, 5009-13.
- Rose MR (1991) *Evolutionary biology of aging*. Oxford University Press, New York.
- Rosen P (1985) Aging of the immune system. *Med Hypotheses* 18, 157-61.
- Rutherford OM, Jones DA (1992) The relationship of muscle and bone loss and activity levels with age in women. *Age Ageing* 21, 286-93.
- 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. Boston: Little, Brown and Co., Boston, pp. 115-41.
- Sanz A, Stefanatos RK (2008) The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr. Aging Sci.* 1, 10-21.
- Schneider EL, Mitsui Y (1976) The relationship between *in vitro* cellular aging and *in vivo* human age. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73, 3584-8.
- Schopenhauer A (1819) *Die Welt als Wille und Vorstellung: Vier Bücher, nebst einem Anhang, der die Kritik der Kantischen Philosophie enthält*. Brockhaus, Leipzig. Ristampa in inglese: *The World as Will and Representation*. Dover Publications, New York, 1969, p. 276).
- 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, 677-684.
- Schultz E, Lipton BH (1982) Skeletal muscle satellite cells: changes in proliferation potential as a function of age. *Mech. Age. Dev.* 20, 377-83.
- Scrimshaw SCM (1984) Infanticide in human populations: societal and individual concerns. In: Hausfater, G and Hrdy, S.B. (eds) *Infanticide: comparative and evolutionary perspectives*. Aldine, New York.

- Seimiya H, Tanji M, Oh-hara T, Tomida A, Naasani I, Tsuruo T (1999) Hypoxia up-regulates telomerase activity via mitogen-activated protein kinase signaling in human solid tumor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 260, 365-70.
- Shay JW, Wright WE (2000) Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 1, 72-6.
- Shiina T, Inoko H, Kulski JK (2004) An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. *Tissue Antigens* 64, 631-49.
- Silk JB (1980) Adoption and kinship in Oceania. *Am. Anthropol.* 82, 799-820.
- Sinclair DA, Guarente L (1997) Extrachromosomal rDNA circles - a cause of aging in yeast. *Cell* 91, 1033-42.
- Sinclair D, Mills K, Guarente L (1998) Aging in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annu. Rev. Microbiol.* 52, 533-60.
- 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, 1191-5.
- Skulachev VP (1999a) Phenoptosis: programmed death of an organism. *Biochem. (Mosc.)*, 64, 1418-26.
- Skulachev VP (1999b) Mitochondrial physiology and pathology; concepts of programmed death of organelles, cells and organisms. *Mol. Aspects Med.* 20, 139-84.
- Skulachev, V. P. (2001) The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology. *Exp. Gerontol.* 36, 995-1024.
- Skulachev VP (2002a) Programmed death in yeast as adaptation? *FEBS Lett.* 528, 23-6.
- Skulachev, V. P. (2002b) Programmed Death Phenomena: From Organelle to Organism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 959, 214-37.
- 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 e Heidelberg.
- 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, 827-46.
- 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.
- Slymaker IM, Gao L, Zetsche B, Scott DA, Yan WX, Zhang F (2016) Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity, *Science* 351, 84-8.
- Slev PR, Nelson AC, Potts WK (2006) Sensory neurons with MHC-like peptide binding properties: disease consequences. *Curr. Opin. Immunol.* 18, 608-16.
- Slijepcevic P, Hande MP (1999) Chinese hamster telomeres are comparable in size to mouse telomeres. *Cytogenet. Cell Genet.* 85, 196-9.
- 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, 633-42.
- 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, 819-28.

- Spinage CA (1970) Population dynamics of the Uganda Defassa Waterbuck (*Kobus defassa Ugandae* Neumann) in the Queen Elizabeth park, Uganda. *J. Anim. Ecol.* 39, 51-78.
- Spinage CA (1972) African ungulate life tables. *Ecology* 53, 645-52.
- Stearns SC (ed) (1999) *Evolution in health and disease* (1st ed.), Oxford University Press, Oxford (UK).
- Stearns SC, Koella JC (eds) (2008) *Evolution in health and disease* (2nd ed.), Oxford University Press, Oxford (UK).
- Stearns SC, Nesse RM, Haig D (2008) Introducing evolutionary thinking for medicine. In: Stearns, SC and Koella, JC (eds), *Evolution in health and disease* (2nd ed.), Oxford University Press, Oxford (UK).
- Summers RW, Elliott DE, Urban JF Jr, Thompson R, Weinstock JV (2005). *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut* 54, 87-90.
- Sutherland LM, Edwards YS, Murray AW (2001) Alveolar type II cell apoptosis. *Comp. Biochem. Physiol.* 129A, 267-85.
- Szilard L (1959) On the nature of the aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 45, 30-45.
- 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, S197-206.
- Tallis RC, Fillit HM, Brocklehurst JC (eds) (1998) *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology* (5th ed.), Churchill Livingstone, New York.
- Taraseviciene-Stewart L, Voelkel NF (2008) Molecular pathogenesis of emphysema. *J. Clin. Invest.* 118, 394-402.
- 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, 388-92.
- Tepper RE, Katz S (1998) Overview: Geriatric Gastroenterology. In: Tallis et al. (eds), *Brocklehurst's etc.*
- Tesfaigzi Y (2006) Roles of apoptosis in airway epithelia. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 34, 537-547.
- 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.
- Travis JM (2004) The evolution of programmed death in a spatially structured population. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 59, 301-5.
- Tregenza T, Wedell N (2000) Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage: invited review. *Mol. Ecol.* 9, 1013-27.
- Trepel F (2004) [Dietary fibre: more than a matter of dietetics. II. Preventative and therapeutic uses][Article in German] *Wien. Klin. Wochenschr.* 116, 511-22.
- Trevelyan B, Smallman-Raynor M, Cliff AD (2005) The Spatial Dynamics of Poliomyelitis in the United States: From Epidemic Emergence to Vaccine-Induced Retreat, 1910-1971. *Ann. Assoc. Am. Geogr.* 95, 269-93.
- Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ (eds) (1999) *Evolutionary Medicine*. Oxford University Press, New York.

- Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ (eds) (2008a) *Evolutionary Medicine: 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 (eds), *Evolutionary Medicine: new perspectives*. Oxford University Press, New York.
- 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, 417-23.
- Trivers R.L. (1971) The evolution of reciprocal altruism. *Quart. Rev. Biol.* 46, 35-57.
- Trivers RL, Hare H (1976). Haplodiploidy and the evolution of the social insect. *Science* 191, 249-63.
- Troen B (2003) The biology of aging. *Mt. Sinai J. Med.* 30, 3-22.
- Truswell AS, Kennelly BM, Hansen JD, Lee RB (1972) Blood pressure of !Kung bushmen in northern Botswana. *Am. Heart J.* 84, 5-12.
- Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, Jones S, Ghebranious N, Igelmann H, Lu X, Soron G, Cooper B, Brayton C, Hee Park S, Thompson T, Karsenty G, Bradley A, Donehower LA (2002) p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 415, 45-53.
- 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. USA* 100, 10440-5.
- Urnov FD, Miller JC, Lee YL, Beausejour CM, Rock JM, Augustus S, Jamieson AC, Porteus MH, Gregory PD, Holmes MC (2005) Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases. *Nature* 435, 646-51.
- Vanden Broeck D, Horvath C, De Wolf MJ (2007) *Vibrio cholerae*: cholera toxin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39, 1771-5.
- Vandervoort AA, McComas AJ (1986) Contractile changes in opposing muscles of the human ankle joint with aging. *J. Appl. Physiol.* 61, 361-367.
- van Steensel B, de Lange T (1997) Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature* 385, 740-3.
- van Voorhies WA, Fuchs J, Thomas S (2005) The longevity of *Caenorhabditis elegans* in soil, *Biol. Letters* 1, 247-9.
- Vaupel JW, Baudisch A, Dölling M, Roach DA, Gampe J (2004) The case for negative senescence. *Theor. Popul. Biol.* 65, 339-51.
- 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.
- Vaziri H, Benchimol S (1998) Reconstitution of telomerase activity in normal cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Cur. Biol.* 8, 279-82.
- 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, 1657-65.

- Viegi G, Maio S, Pistelli F, Baldacci S, Carrozzi L (2006) Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease: health effects of air pollution. *Respirology* 11, 523-32.
- Vogel T, Benetos A, Verreault R, Kaltenbach G, Kiesmann M, Berthel M (2006) [Risk factors for Alzheimer: towards prevention?] [Article in French]. *Presse Med.* 35, 1309-16.
- von Mutius E (2002). Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 109, S525-32.
- 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, 1739-47.
- 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, 432-5.
- Watanabe T, Tanaka Y (1982) Age-related alterations in the size of human hepatocytes: study of mononuclear and binuclear cells. *Virchow Arch.* 39, 9-20.
- Watson JD (1972) Origin of concatemeric T7 DNA. *Nature New Biol.* 239, 197-201.
- 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.
- Wedekind C, Fürti S (1997) Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? *Proc. Biol. Sci.* 264, 1471-9.
- Wedekind C, Seebeck T, Bettens F, Paepke AJ (1995) MHC-dependent mate preferences in humans. *Proc. Biol. Sci.* 260, 245-9.
- Weinert BT, Timiras PS (2003) Invited review: theories of aging. *J. Appl. Physiol.*, 95, 1706–1716.
- Weinstock JV, Summers R, Elliott DE (2004). Helminths and harmony. *Gut* 53, 7–9.
- Weir MR (2007a) Effects of renin-angiotensin system inhibition on end-organ protection: can we do better? *Clin. Ther.* 29, 1803-24.
- Weir MR (2007b) Microalbuminuria and cardiovascular disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2, 581-90.
- Weismann A (1884) *Über Leben und Tod*, Jena. Reprinted in: *Essays upon Heredity and Kindred Biological Problems* (1889). Clarendon Press, Oxford (UK).
- Weismann A (1889, 2nd ed. 1891). *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems*. Vol. I. Clarendon Press, Oxford (UK).
- Weismann A (1892). *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems*. Vol. II. Clarendon Press, Oxford (UK).
- 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, 999-1007.
- White E (2006) Mechanisms of apoptosis regulation by viral oncogenes in infection and tumorigenesis. *Cell Death Differ.* 13, 1371-7.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H (2004) Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27, 1047-53.

- Williams GC (1957) Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. *Evolution* 11, 398-411.
- Williams GC, Nesse RM (1991) The dawn of Darwinian medicine. *Quart. Rev. Biol.* 66, 1-22.
- Wilson EO (1975) *Sociobiology, The New Synthesis*. Harvard University Press, Cambridge (UK).
- Wilson PW, Castelli WP, Kannel WB (1987) Coronary risk prediction in adults (the Framingham Heart Study), *Am. J. Cardiol.* 59, 91-4G.
- 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, 2486-94.
- Woolhouse HW (1967). The nature of senescence in plants. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 21, 179-183.
- Woolhouse M, Antia R (2008) Emergence of new infectious diseases. In: Stearns CS, Koella JC (eds), *Evolution in health and disease* (2nd ed.), Oxford University Press, Oxford (UK).
- Wright WE, Shay JW (2005) Telomere biology in aging and cancer. *J. Am. Geriatr. Soc.* 53, S292-4.
- 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, 113-21.
- Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR (1980) Cell Death: The Significance of Apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* 68, 251-306.
- 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, 297-301.
- 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, 131-4.
- Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R (2002). Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 296, 490-4.
- Young A, Stokes M, Crowe M (1984) Size and strength of the quadriceps muscles of old and young women. *Eur. J. Clin. Invest.* 14, 282-7.
- Young A, Stokes M, Crowe M (1985) The size and strength of the quadriceps muscles of old and young men. *Clin. Physiol.* 5, 145-54.
- 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, 258-62.
- 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, 126-32.
- Zaccone P, Fehervari Z, Phillips JM, Dunne DW, Cooke A (2006). Parasitic worms and inflammatory diseases. *Parasite Immunol.* 28, 515-23.
- Zhang F, Wen Y, Guo X (2014) CRISPR/Cas9 for genome editing: progress, implications and challenges, *Hum. Mol. Genet.* 23, R40-46.

Come e perché invecchiamo: la via per una longevità illimitata

Cos'è l'invecchiamento? E' radicata l'idea che sia un fenomeno inevitabile che man mano altera le funzioni dell'organismo fino a causare la morte. Eppure risulta sempre più realistica, in base ad argomentazioni teoriche e a una crescente evidenza empirica, una concezione alternativa. Secondo questa diversa visione, l'invecchiamento è un fenomeno fisiologico, determinato e regolato dai geni e modellato dall'evoluzione, così come ogni altro fenomeno fisiologico. Pertanto è concepibile un organismo che non invecchi, così come accade per molte specie i cui individui, se non uccisi dai predatori, sopravvivono per un tempo indefinito. Per l'uomo, ciò significa che è possibile concepire una differente modulazione dell'invecchiamento o perfino il suo completo controllo. Queste non sono ipotesi astratte ma possibilità concrete di cui in questo libro sono esaminate e discusse in modo rigoroso le premesse teoriche, la crescente evidenza in dati dall'osservazione naturale e da esperimenti, le possibilità di interventi che ci potranno condurre a tale obiettivo. Se vorremo, poiché i dubbi non sono nella possibilità ma nell'opportunità e nell'effettivo vantaggio di una durata illimitata della vita.



Giacinto Libertini, medico, ha pubblicato numerosi lavori di storia e biologia (www.r-site.org). E' curatore del sito dell'Istituto di Studi Atellani (www.iststudiatell.org). In biologia, il suo interesse è rivolto principalmente alla medicina evoluzionistica, di cui è stato un precursore, e all'invecchiamento interpretato come fenomeno adattativo.



978-3-330-78284-6