

24. Senescenza

I edizione



(vale per tutto il capitolo)

24. Senescenza.....	1	24.4.6. Telomeri e vita proliferativa.....	11
24.1. INVECCHIAMENTO E LONGEVITÀ.....	3	24.4.7. Telomeri: checkpoint.....	12
24.2. INVECCHIAMENTO ED EVOLUZIONE DELL'UOMO.....	4	24.4.8. Teoria della mutagenesi intrinseca.....	13
24.2.1. Invecchiamento, appeal sessuale ed evoluzione.....	5	24.4.9. Influenza ambientale.....	14
24.3. INVECCHIAMENTO DI TESSUTO E CELLULARE.....	6	24.4.10. Teoria di Martin.....	16
24.3.1. Modificazioni funzionali nella senescenza.....	6	24.4.11. Autoimmunità.....	16
24.3.2. Modificazioni morfologiche nella senescenza.....	6	24.4.12. Teoria di Denkla: orologio neuroendocrino.....	17
24.4. TEORIE SULLA SENESCENZA.....	7	24.4.13. Modificazioni post-traduzionali.....	17
24.4.1. Teoria di Hayflick: senescenza replicativa.....	8	24.4.14. Stress: heat shock proteins.....	18
24.4.2. Contare le replicazioni.....	9	24.4.15. Schema riassuntivo sulla senescenza cellulare.....	19
24.4.3. I geni orologio.....	9	24.4.16. Invecchiamento a livello biomolecolare.....	20
24.4.4. Espressione genica nelle cellule senescenti.....	10	24.4.17. Cromosoma 1: la senescenza è dominante sull'immortalità.....	21
24.4.5. Accorciamento telomerico.....	10	24.4.18. Dolly e la senescenza.....	22
		24.5. PRINCIPALI FONTI UTILIZZATE.....	23



24.1. Invecchiamento e longevità

 Fisiologicamente l'inizio della perdita delle capacità funzionali e di recupero dell'organismo si può identificare col momento stesso della nascita della cellula

L'invecchiamento inizia con il concepimento, implica il differenziamento e la maturazione dell'organismo e delle sue cellule, porta alla perdita progressiva delle capacità caratteristica della vecchiaia, e termina con la morte

 L'invecchiamento nei singoli individui è in gran parte condizionato da fattori genetici, dalla dieta, dalle condizioni sociali, dal verificarsi di patologie legate all'età, come l'aterosclerosi, il diabete e l'osteoartrite

Con l'età si verificano alterazioni fisiologiche e strutturali in quasi tutti gli organi

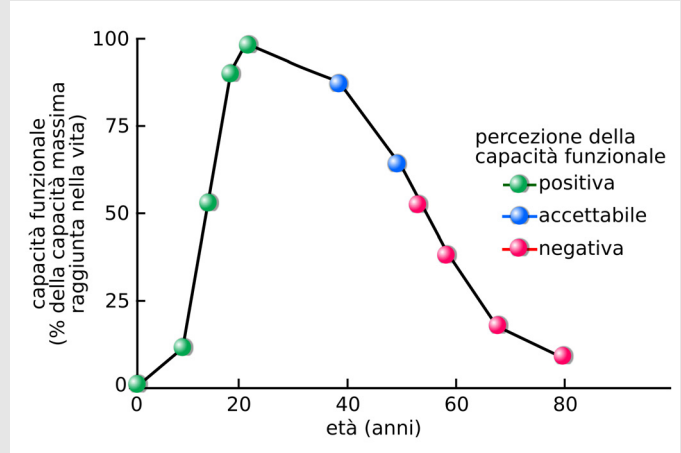


Figura 24.1. Percezione delle capacità funzionali in funzione dell'età

Definizione di Invecchiamento e longevità

L'invecchiamento non va confuso con la **longevità**:

per **invecchiamento** o senescenza si intende l'insieme dei processi che portano a una riduzione funzionale legata all'età

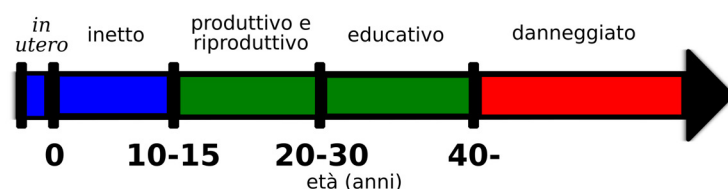
per **longevità** si intende la durata della vita, che è sì legata all'invecchiamento, ma che non corrisponde ad esso

24.2. Invecchiamento ed evoluzione dell'uomo

 Da un punto di vista evolutivo, la decadenza delle funzioni, e quindi della capacità di sopravvivere, non rappresenta un evento negativo se avviene ad una età in cui siano già state completate riproduzione e accudimento della prole sino all'età adulta, anzi la morte di un soggetto anziano costituisce un vantaggio in quanto la sua nicchia ecologica può essere occupata da un soggetto giovane in grado di assicurare migliore efficienza, e quindi maggiori prospettive di sopravvivenza a tutto il gruppo

 Tutte le alterazioni che presumibilmente sarebbero comparse dopo la fine probabile della vita durante la nostra evoluzione (40 anni ?) non hanno influito sulla capacità di riprodursi e di sopravvivere del genere umano

Figura 24.2. Età dell'uomo dal punto di vista evolutivo



● **I. Inizio:** Pressione evolutiva: solo chi ha un genoma valido sfugge ai meccanismi abortivi (vedi sindrome di Down)

● **II. Investimento.** Pressione evolutiva: entra in questo gruppo un numero di soggetti più numeroso di quello che entrerà nel periodo III, solo una parte dei meglio adattati alla situazione contingente sopravvive

● **III. Produzione e riproduzione.** Pressione evolutiva: competizione tra i maschi per le femmine, si riproducono i più forti. Rappresenta il periodo che costituisce la forza del gruppo

● **IV. Educazione.** Allevamento della prole e trasmissione culturale

● **V. Danneggiamento.** Tutti i compiti primari sono esauriti. Il soggetto è probabilmente danneggiato dagli accadimenti di una vita dura. Occupa uno spazio meglio utilizzabile da uno più giovane. Pressione evolutiva: liberare lo spazio al più presto, non c'è vantaggio nella capacità di resistere alle malattie degenerative che compaiono in questo periodo. Apoptosi a livello di individui in un tessuto sociale, in analogia all'apoptosi programmata delle cellule vecchie in un tessuto (vedi mucosa intestinale)

24.2.1. INVECCHIAMENTO, *APPEAL* SESSUALE ED EVOLUZIONE



Un particolare aspetto dell'invecchiamento è rappresentato dalla perdita dell'*appeal* sessuale personale

- Un accoppiamento con una donna non fertile non è evolutivamente vantaggioso: è una occasione perduta per la riproduzione.
- D'altra parte il particolare processo meiotico dei gameti femminili li rende suscettibili all'accumulo di danni nel corso degli anni sino a che la probabilità di avere una progenie sana si riduce sensibilmente
- Qui interviene il meccanismo della menopausa femminile che difende la specie da questa situazione svantaggiosa
- Il maschio invece continua a sostituire i suoi gameti, che quindi sono meno soggetti all'accumulo di danni. Inoltre dovendo gli spermatozoi subire una selezione fortissima per fecondare la cellula uovo, solo cellule in perfetta salute riescono a sopravvivere
- Come corollario di questa situazione l'evoluzione ha premiato una caduta dell'*appeal* sessuale femminile con la menopausa assai più marcata della equivalente caduta maschile a parità di età, in modo da preservare le attenzioni sessuali dei maschi verso le femmine più giovani, con maggiori probabilità di successo riproduttivo
- Analogamente il giovane maschio ha un *appeal* più forte dell'anziano, e questo corrisponde ad una maggiore capacità di occupare la nicchia ecologica con successo

24.3. Invecchiamento di tessuto e cellulare



Le alterazioni cellulari legate all'età correlano con l'invecchiamento dell'intero organismo. Si dividono in:

- modificazioni funzionali
- modificazioni morfologiche

24.3.1. MODIFICAZIONI FUNZIONALI NELLA SENESCENZA



La senescenza può essere vista come un deterioramento progressivo delle capacità funzionali dell'organismo, dovuto alla incapacitazione cellulare a far fronte pienamente alle richieste metaboliche fisiologiche

Molte funzioni cellulari progressivamente rallentano con l'età, tra cui:

- ↓ fosforilazione ossidativa
- ↓ sintesi di DNA, sintesi RNA-mediata di proteine e recettori cellulari
- ↓ riparazione dei danni cromosomiali
- ↓ uptake dei nutrienti

24.3.2. MODIFICAZIONI MORFOLOGICHE NELLA SENESCENZA



- nuclei irregolari con lobature anomale
- mitocondri vacuolati e pleiomorfi
- riduzione del reticolo endoplasmatico
- accumulo di lipofusina, un prodotto della perossidazione lipidica, che è espressione di danno ossidativo
- accumulo di prodotti finali della glicosilazione non enzimatica delle proteine

24.4. Teorie sulla senescenza

- ☞ Esistono moltissime teorie sulla senescenza: ognuna di esse spesso rende conto di un solo specifico aspetto del fenomeno
- ☞ Non possono essere viste come mutualmente esclusive, anzi spesso sono complementari
- ☞ Quello che segue è un elenco assolutamente incompleto di alcune teorie che storicamente hanno rappresentato un approccio particolarmente interessante
 - Teoria di Hayflick
 - Teoria della mutagenesi intrinseca
 - Influenza ambientale
 - Teoria di Martin
 - Autoimmunità
 - Teoria di Denkla
 - Modificazioni post-traduzionali
 - Stress: **heat shock proteins**

24.4.1. TEORIA DI HAYFLICK: SENESCENZA REPLICATIVA

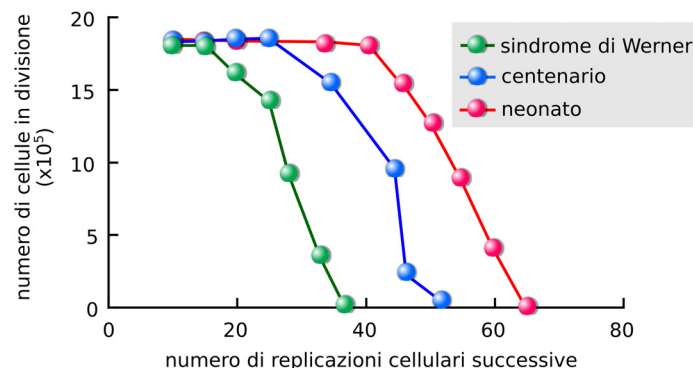
- ☞ Le cellule sono programmate per maturare, differenziarsi e morire dopo un certo numero finito di duplicazioni (teoria di Hayflick)
- ☞ Tale teoria si basa sull'osservazione secondo cui i fibroblasti coltivati in vitro subiscono 50 +/- 10 duplicazioni e quindi cessano di replicarsi

Figura 24.3. Divisioni cellulari in culture primarie di fibroblasti umani

Modificato da Dice (1993)

I pazienti con la sindrome di Werner mostrano invecchiamento precoce: il prodotto del gene mancante è una elicasa, una proteina coinvolta nella duplicazione e riparazione del DNA e in altre funzioni che ne richiedono lo srotolamento

Difetti a carico di questo enzima provocano il rapido accumularsi di alterazioni cromosomiche simili a quelle che si verificano durante l'invecchiamento cellulare



24.4.2. CONTARE LE REPLICAZIONI

 Sono stati proposti vari meccanismi per come le cellule possano “contare” le proprie divisioni:

- attivazione di geni senescenza-specifici (*c-fos* e *Rb*)
- induzione di inibitori della crescita
- accorciamento telomerico dei cromosomi
- altri meccanismi cromosomiali

24.4.3. I GENI OROLOGIO

 Orologi biologici geneticamente programmati paiono controllare il grado e la velocità dell'invecchiamento: *clk-1*, un gene del nematode *Caenorhabditis elegans*, modifica la velocità di crescita e la durata del processo di sviluppo. I nematodi che hanno una particolare forma mutata del gene hanno:

- una vita del 50% più lunga
- una velocità di sviluppo inferiore
- un rallentamento di comportamenti ritmici

Probabilmente quindi il nematode mutante vive più di prima ma più lentamente: è dubitabile che soggettivamente in un essere senziente questo si trasformi in una percezione di vita più lunga

24.4.4. ESPRESSIONE GENICA NELLE CELLULE SENESCENTI

 Dopo un numero determinato di divisioni, tutte le cellule si arrestano in uno stadio finale di quiescenza genetica, conosciuto come senescenza cellulare

Le cellule senescenti presentano molte modificazioni dell'espressione genica, ma il problema chiave è capire quali modificazioni sono cause e quali sono effetti della senescenza cellulare

- es.: alcune delle proteine che inibiscono la progressione nel ciclo cellulare (prodotti dei geni che codificano gli inibitori delle chinasi ciclina-dipendenti (es.: p21)), sono espressi ad un livello maggiore nelle cellule senescenti

24.4.5. ACCORCIAMENTO TELOMERICO

 I telomeri svolgono una funzione critica nella stabilizzazione della porzione terminale dei cromosomi e nell'ancoraggio di questi ultimi alla matrice nucleare

- i telomeri sono ridotti in lunghezza nelle cellule provenienti da colture primarie terminali o provenienti da soggetti in età avanzata
- i telomeri più lunghi si trovano nello sperma, e sono più lunghi nelle cellule fetali che in quelle adulte
- la loro *de novo* sintesi è regolata dall'enzima telomerasi
- c'è correlazione tra la lunghezza dei telomeri ed il contenuto cellulare di telomerasi

È stato quindi proposto che la perdita delle porzioni terminali dei cromosomi porti ad una perdita genica a cui corrisponde una diminuita capacità vitale

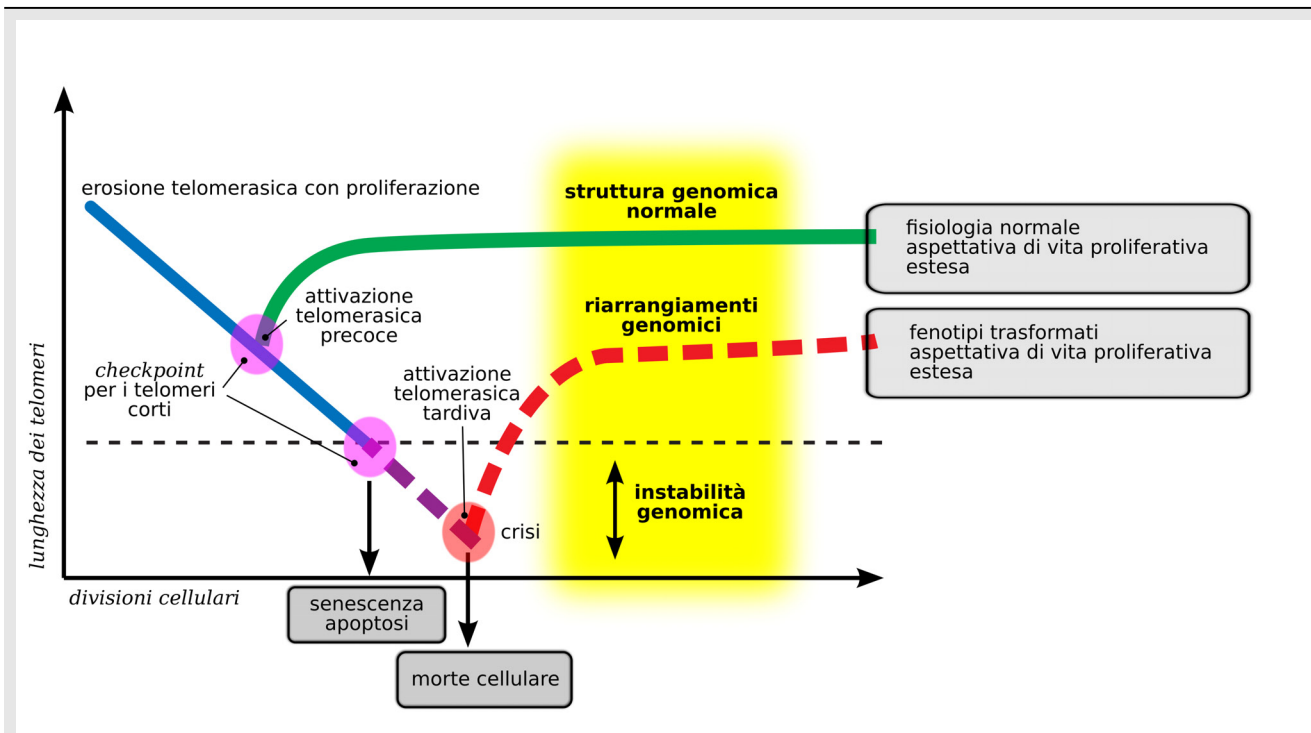
24.4.6. TELOMERI E VITA PROLIFERATIVA

Figura 24.4. Telomeri: effetto sull'aspettativa di vita proliferativa. Modificato da Wong (2003)

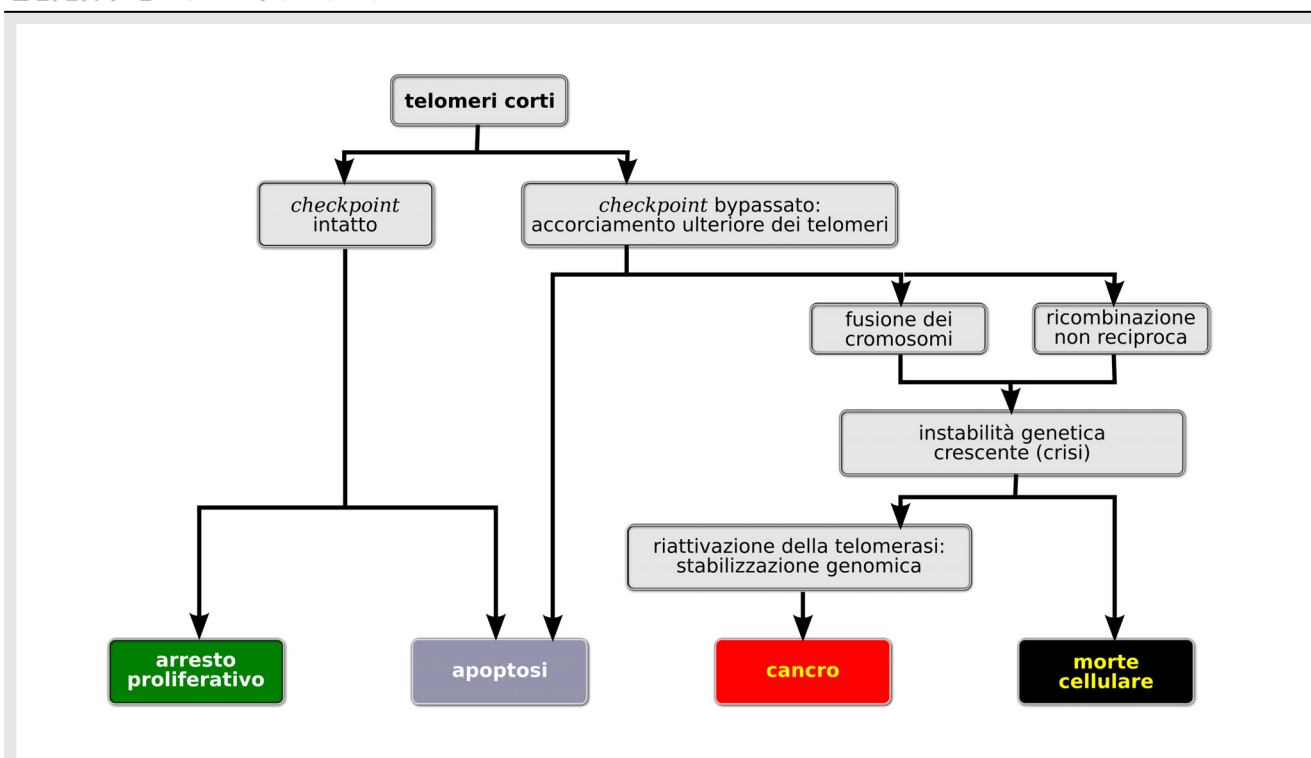
24.4.7. TELOMERI: CHECKPOINT

Figura 24.5: Telomeri: checkpoint. Modificato da Wong (2003)

24.4.8. TEORIA DELLA MUTAGENESI INTRINSECA

Definizione di senescenza cellulare derivata dalla teoria della mutagenesi intrinseca

La senescenza cellulare è la conseguenza dell'acquisizione progressiva, durante l'arco di vita dell'individuo, di inappropriate informazioni genetiche in grado di ostacolare la normale funzionalità cellulare e la sua sopravvivenza, o, in alternativa, di privare la cellula di programmi genetici ad essa necessari

-  Le cellule sarebbero potenzialmente immortali; alcune però vedono modificato il loro arco vitale da infinito a finito in seguito a insorgenza di errori mitotici
Le cellule con errori mitotici, sostituiscono completamente le precedenti, rendendo possibile il manifestarsi del processo d'invecchiamento cellulare
-  La teoria della mutagenesi intrinseca, come altre teorie peraltro, non spiega perché la linea germinale sia immune dall'accumulo di errori, e, generazione dopo generazione, il suo orologio biologico riparta sempre da zero, senza provocare un accumulo di errori trans-generazionale

24.4.9. INFLUENZA AMBIENTALE

-  L'influenza ambientale esercita un ruolo importante
-  Nell'animale da esperimento si può dimostrare un rallentamento nel processo dell'invecchiamento dovuto a:
 - restrizioni nell'alimentazione
 - somministrazione di anti-ossidanti
 - abbassamento della temperatura corporea
 - attraverso opportuni presidi, l'applicazione delle condizioni sopra riportate allunga la vita media di ratti da 24 a 36 mesi (+50%)

Radicali ossidanti

-  Il loro accumulo dipende prevalentemente da:
 - ripetute esposizioni ambientali a radiazioni ionizzanti
 - forme ridotte dell'ossigeno sono responsabili di circa 10,000 modificazioni di basi nel DNA per singola cellula/giorno, ed alla lunga superano la capacità di riparazione della cellula
-  Si realizzano quindi le seguenti condizioni:
 - l'accumulo di pigmenti di lipofusina (derivati dalla perossidazione dei lipidi), anche se questi residui non sono di per sé tossici.
 - mutazioni e delezioni nel DNA mitocondriale che aumentano significativamente con l'età
 - i radicali dell'ossigeno favoriscono l'ossidazione di proteine, inclusi enzimi, riducendone la emivita

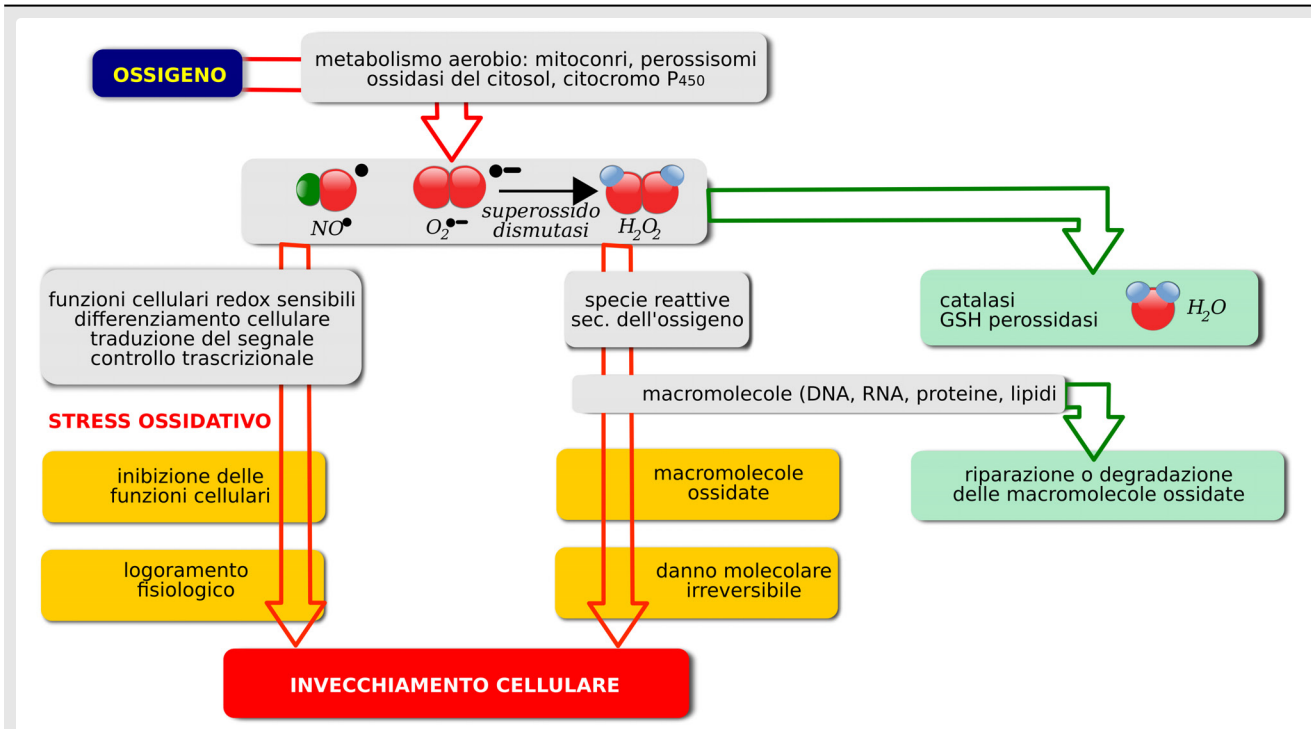
Stress ossidativo e invecchiamento

Figura 24.6. Stress ossidativo ed invecchiamento. SOD: superossido dismutasi. Da Weindruch (1997) modificato e ridisegnato

24.4.10. TEORIA DI MARTIN

- ☞ Le influenze nocive per la cellula possono favorire:
 - una maggior incidenza di errori nella trascrizione e traduzione dei programmi genetici
 - una riduzione nella efficienza dei meccanismi in grado di riparare le alterazioni insorte nel DNA
- ☞ L'ambiente esercita la sua massima influenza sui tessuti le cui cellule hanno una ridotta capacità di rinnovamento per replicazione mitotica
- ☞ Partendo da queste considerazioni Martin pone l'accento su due elementi in grado di indurre senescenza cellulare
 - una limitazione nella capacità replicativa di varie cellule somatiche normali (senescenza clonale)
 - la progressiva acquisizione di un danno cellulare (senescenza post-replicativa)

24.4.11. AUTOIMMUNITÀ

- ☞ Una variante alla teoria di Martin propone invece che siano gli errori genetici che insorgono, contemporaneamente o separatamente, in cellule bersaglio o effettrici del sistema immunitario a indurre una qualche forma di autoimmunità, a sua volta causa della progressiva senescenza cellulare e dell'intero organismo

24.4.12. TEORIA DI DENKLA: OROLOGIO NEUROENDOCRINO



Denkla ha proposto l'esistenza di una sorta di orologio neuroendocrino responsabile dell'invecchiamento cellulare ed organico

Esso sarebbe basato sulla produzione da parte dell'ipofisi, sotto il diretto controllo dell'ipotalamo, di un cosiddetto ormone letale il quale indurrebbe la perdita della immuno-competenza e la progressiva senescenza dell'organismo



L'alterazione nella produzione di melatonina che si osserva nell'età avanzata, con la correlata alterazione del ciclo sonno-veglia può essere riportata ad un'alterazione dell'orologio neuroendocrino

24.4.13. MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI



La glicosilazione non enzimatica delle proteine conduce alla formazione di prodotti terminali glicosilati capaci di *cross-linking* con le proteine adiacenti:

- questi prodotti aumentano fortemente con l'età perché difficilmente degradabili
- le proteine glicosilate sono alla base di lesioni a carico del microcircolo che si osservano nel diabete mellito
- la glicosilazione correlata all'età delle proteine del cristallino porta alla cataratta senile

24.4.14. STRESS: HEAT SHOCK PROTEINS



Le *heat shock proteins* (HSP, letteralmente proteine da *shock* termico) sono proteine espresse sulla superficie di cellule sottoposte a stress

Il loro nome deriva dal fatto di essere state individuate in una situazione di stress termico: in realtà vengono prodotte a seguito di moltissime situazioni che pongano la cellula in uno stato di stress

Possono essere incluse tra le proteine di fase acuta



Alterazioni nella induzione della produzione di *heat shock proteins*, particolarmente di HSP70, sono state dimostrate in cellule senescenti *in vitro* ed *in vivo* in animali da esperimento

Poiché la produzione di *heat shock proteins* rappresenta un importante meccanismo di risposta a molti stress, la loro diminuzione può diminuire la capacità di sopravvivenza cellulare

Al contrario, uno stato di stress prolungato può mantenere le cellule ed i tessuti in uno stato omeostatico non ottimale a lungo termine (es.: una prolungata permanenza di proteine di fase acuta)

24.4.15. SCHEMA RIASSUNTIVO SULLA SENESCENZA CELLULARE

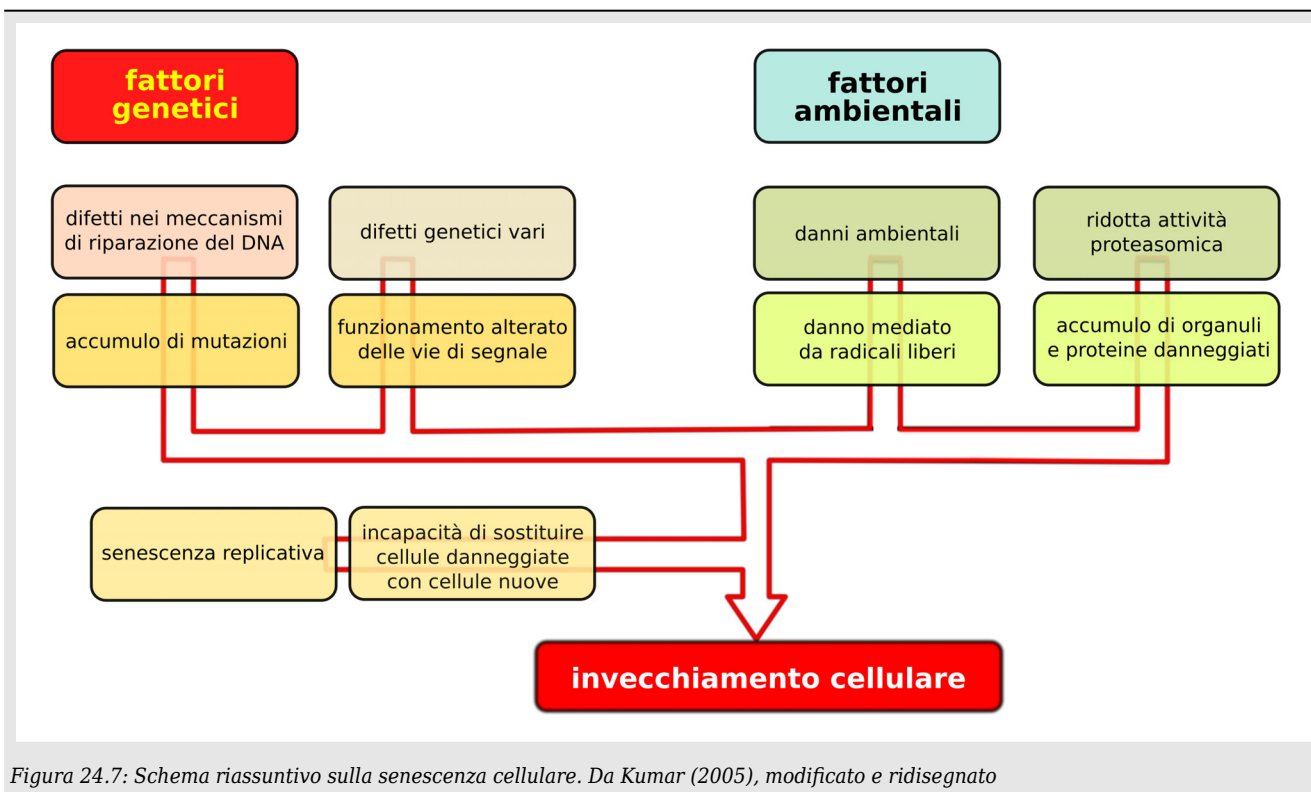


Figura 24.7: Schema riassuntivo sulla senescenza cellulare. Da Kumar (2005), modificato e ridisegnato

24.4.16. INVECCHIAMENTO A LIVELLO BIOMOLECOLARE



Seguono alcuni esempi delle molteplici alterazioni nella senescenza osservate a livello biomolecolare. L'elenco dei meccanismi biomolecolari coinvolti è in continua evoluzione: gli esempi sotto riportati hanno mero valore didattico

Mutazioni specifiche	● non si conosce alcuna mutazione specifica singolarmente correlata con la senescenza
<i>c-fos</i> ed il blocco in G1 tardiva	● l'incapacità di duplicarsi delle cellule in senescenza, è associata alla mancata espressione del gene <i>c-fos</i> ed a un blocco del ciclo cellulare nella fase G1 tardiva. Il blocco del ciclo cellulare nella fase G ₁ tardiva può essere superato unendo <i>in vitro</i> cellule senescenti con cellule immortalizzate
Statina	● il blocco del ciclo cellulare è associato all'espressione di una proteina di 57 kDa, denominata statina, localizzata sulla superficie esterna della membrana plasmatica. Se aggiunte a proteine più giovani queste proteine bloccano la sintesi di DNA e la mitosi nella fase G ₁ tardiva
Il prodotto del gene del retinoblastoma	● il prodotto del gene del retinoblastoma è un inibitore della proliferazione cellulare che viene attivato per fosforilazione. L'incapacità di attivare alcune chinasi è caratteristica delle cellule invecchiate. Ne consegue l'incapacità di inattivare per fosforilazione i prodotti di geni che inibiscono la proliferazione
La telomerasi	● una diminuzione dell'attività telomerasica è stata strettamente associata all'aspettativa di vita non solo delle cellule ma anche dei singoli individui

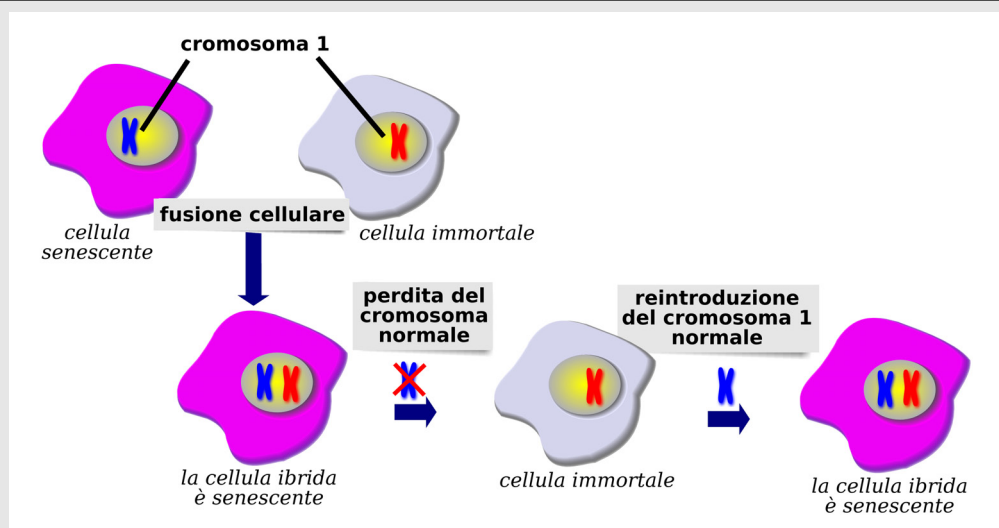
24.4.17. CROMOSOMA 1: LA SENESCENZA È DOMINANTE SULL'IMMORTALITÀ

Figura 24.8: Il ruolo del cromosoma 1 umano nella senescenza cellulare in vitro

Quando un fibroblasto umano normale con una aspettativa di vita limitata viene fuso con una cellula di criceto trasformata, la cellula ibrida che ne risulta va incontro a senescenza, dimostrando che la senescenza è dominante sull'immortalità

- La perdita del cromosoma 1 umano ristabilisce l'immortalità della cellula
- La reintroduzione di un cromosoma 1 umano normale conduce di nuovo a senescenza

Da: Sugawara (1990), ridisegnato



24.4.18. DOLLY E LA SENESCENZA



Che le nostre conoscenze sulla senescenza siano ancora scarse lo evidenzia la pecora Dolly:

- molte delle sue cellule mostravano un livello di senescenza pari non alla sua età ma a quella delle cellule da cui è stata clonata
- i suoi tessuti avevano una età apparente diversa tra loro

Il passaggio attraverso i gameti potrebbe essere quindi necessario per riportare a zero l'orologio biologico



La pecora Dolly è stata il risultato di uno dei primi esperimenti di clonazione di un mammifero che abbiano avuto successo

La clonazione somatica, partendo dal nucleo di una cellula somatica adulta inserito in una cellula uovo deprivata del proprio nucleo, fa nascere il nuovo individuo senza che il suo orologio biologico sia riportato a zero dai processi della gametogenesi e della selezione dei gameti

Presumibilmente il livello di senescenza di partenza viene influenzato dal tipo di cellula somatica da cui proviene il nucleo

24.5. Principali fonti utilizzate

Dice, J.F. (1993) Cellular and molecular mechanism of aging. *Physiol. Rev.* 73, 149-159

Kumar, V., Fausto, N, Abbas, A. (2005) *Robbins and Cotran's Pathologic basis of disease*. VII ed. Elsevier Saunders, Philadelphia

Shore, D. (1997) Telomeres. Different means to common ends. *Nature* 385, 676-677

Sugawara, O., Oshimura, M., Koi, M., Annab, L.A., Barrett, J.C. (1990) Induction of cellular senescence in immortalized cells by human chromosome 1. *Science*, 247, 707-710

Weindruch, R, Sohal, R.S. (1997) Caloric intake and aging. *N. Engl. J. Med* 337, 986-994

Wong, J.M.Y, Collins, K. (2003) Telomere maintenance and disease. *The Lancet* 362, 983-988

