



La lunga vita

Biomedicina della longevità: verso una società di centenari.

Claudio Franceschi

Professore Dipartimento di Patologia Sperimentale Università di Bologna

16

Attraverso la cultura, la scienza, abbiamo modificato la natura, migliorato le condizioni di vita e viviamo considerevolmente più a lungo; siamo però diventati dei disadattati evolutivi e sono aumentate enormemente le patologie cronicodegenerative, fenomeno del quale analizzeremo le cause.

A livello planetario abbiamo creato una grande disparità tra paesi ricchi e poveri, anche per quanto riguarda l'aspettativa di vita e la longevità, e questo è uno degli ulteriori problemi di giustizia che si vanno a sommare ai tanti altri già presenti nel mondo.

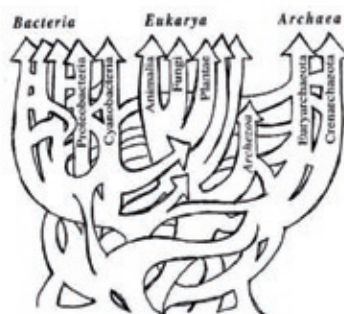
Non possiamo fare a meno di un breve accenno al fatto che in alcune nazioni povere l'aspettativa di vita è ancora intorno ai 30-40 anni e questo deve essere preso in seria considerazione.

Il nostro corpo è un'entità storica, risultato dell'evoluzione. Se andiamo a vedere, a livello del DNA, c'è scritta non solo l'informazione genetica ma anche tutta la storia evolutiva della nostra specie. Solo una piccolissima percentuale del DNA codifica per le proteine, "coding regions", quella che funziona, tutto il resto è costituito da geni troncati, pseudo-geni, introni, sequenze

ripetute, trasposoni, microsatelliti, c'è tutto di qualsiasi cosa; di tre miliardi di basi, solo 100 milioni sono codificanti.

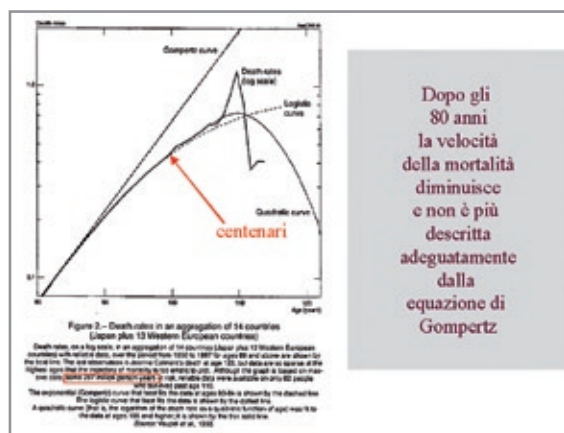
La storia evolutiva della vita sul nostro pianeta e di conseguenza anche la nostra, non è stata lineare ma ha visto contaminazioni genetiche orizzontali di tutti i generi, ci sono stati virus invasori che sono passati da una specie all'altra contaminandole e quindi l'albero della vita è meglio rappresentato da un reticolato e da una rete piuttosto che dalle forme verticali solitamente modellizzate.

La storia evolutiva della vita sulla terra è una storia di contaminazioni genetiche "orizzontali" meglio rappresentata da un albero reticolato o da una rete



Su questo sfondo si sta sviluppando una nuova visione molto attraente, indicata come medicina evolutiva, che parte dal fatto che il nostro corpo è il risultato di un processo di adattamento, durato molti milioni di anni, in un ambiente che però è stato drasticamente modificato soprattutto negli ultimi decenni. In particolare si è che detto che in alcune zone del globo abbiamo 'ottimizzato' l'ambiente per la nutrizione, l'igiene, la medicina, le condizioni di lavoro ed il risultato è che a partire dal 1800 c'è stato questo aumento dell'aspettativa di vita, ma la cosa veramente interessante non è di essere arrivati a più di ottanta anni, ma che non c'è nessuna tendenza alla diminuzione.

Questo è un altro modo di rappresentare le cose, sapete che la curva della mortalità viene definita da un'equazione, detta di Gompers, che fu scritta nel 1825: mostra una scala semi-logaritmica c'è questa retta, significa che la velocità della mortalità aumentava esponenzialmente e questo è vero perchè la gente viveva al massimo fino a 80 anni.



Adesso che si raggiungono i cento anni, i dati 'veri' si discostano in maniera estremamente sensibile dall'equazione di Gompers, quindi la velocità della mortalità non aumenta esponenzialmente con l'età, ma tende a diminuire. I dati non sono molti perchè le persone con più di 100-110 anni non sono proprio tantissime ed è impossibile modellizzare adeguatamente, ma alcuni modelli matematici prevedono addirittura un'inversione della curva.

La cosa più incredibile degli ultimi cinquanta anni è stata la diminuzione del 50% della mor-

talità tra gli ultra ottantenni che sono quindi il segmento della popolazione che cresce di più. Tom Kirkwood, grande studioso di questi fenomeni, suggerisce che siamo stati selezionati per un ambiente ostile che non prevedeva l'invecchiamento tranne che in zone protette, come avviene per gli animali negli zoo e soprattutto in condizioni non naturali. La forza della selezione naturale, diminuisce con l'avanzare dell'età ed è massima nel periodo riproduttivo, fino ad azzerarsi nell'ultima parte della vita; ciò significa che probabilmente non ci sono geni che sono stati selezionati per produrre l'invecchiamento. I geni dell'invecchiamento sono importanti ma fanno qualche altra cosa e cioè impattano in maniera indiretta, sono lì per contrastare gli stress.

Riprendendo un argomento che mi sembra essenziale, quello dell'immunologia, le persone che invecchiano sono esposte ad un carico immunologico, infezioni croniche, batteriche, virali, per un periodo di diverse decadi non previsto dall'evoluzione. Il nostro corpo era modellato per vivere intorno ai 40-50 anni, ora viviamo molti decenni in più, siamo bersagliati da virus e tumori ed il nostro organismo non è preparato per questo che è il motivo per cui dicevo prima "disadattati evolutivi", cioè abbiamo un corpo ma non è adatto a quello che abbiamo creato con la cultura.

In un recente lavoro (L Girdi, et al., Chronic Antigenic Load and Apoptosis in Immunosenesence. *Trends in Immunology*, Vol. 26, no. 2, Feb 2005) abbiamo cercato di evidenziare che con l'aumento del bombardamento immunologico che sopraggiunge con l'età, tutto il corpo si adatta e c'è un incremento di molte risposte immunitarie, non una diminuzione come ci si potrebbe attendere, in particolare delle forme infiammatorie; ovviamente questo è anche causato da un aumento dello stress ossidativo ed infatti le due cose procedono abbastanza in parallelo.

Siamo in una situazione che ricorda molto "the red queen ipotesi", ricorderete che in "Alice nel paese delle meraviglie" ad un certo momento lei dice: "Come vedi bisogna correre più forte possibile per rimanere nello stesso posto", cioè uno corre, corre, corre, però si ritrova sempre lì. Naturalmente

lungo tutto il corso dell'evoluzione c'è stato un adeguamento continuo, i parassiti cercavano di aggredirci e di ucciderci e noi abbiamo reagito. I parassiti mutavano, diventavano più aggressivi e noi di nuovo a rispondere con un sistema immunitario più forte, in una continua rincorsa per ricostruire equilibrio, raggiungiamo un compromesso, ma ognuno deve correre moltissimo.

Il nostro organismo non è quindi preparato a fronteggiare questa nuova situazione, ad esempio i geni del sistema immunitario richiedono tempi lunghi per adattarsi, sono stati necessari milioni di anni per ottenere questo sistematicamente. Non si può cambiare in un attimo, come è stato per le condizioni di vita. Il risultato è un disadattamento. Ho cercato di concettualizzare tutto questo in una recente *review*, dove ho cercato di analizzare l'effetto dello stress antigenico cronico sull'apoptosi, cioè sulla morte cellulare e sull'immuno-senescenza, diciamo che si può schematizzare in questo modo: ripetuti episodi di stress acuto cronico, siano essi fisici, psicologici o antigenici perchè gli stress non hanno etichetta, impattano tutti, il nostro corpo reagisce, aumenta la produzione di tutta una serie di citochine e di ormoni ed il risultato è uno stato di infiammazione cronica che ho chiamato *inflammaging*, un nuovo termine che abbiamo coniato per sottolineare questa estrema correlazione fra invecchiamento e infiammazione.

Questa teoria ha forti basi evolutive e non è un'osservazione. Nella mia esperienza ho fatto molti studi sull'immunologia degli invertebrati, dei pesci e dell'uomo. È importante scendere nei particolari: una cellula dell'immunità innata, il macrofago è al centro di qualcosa che riguarda l'infiammazione e la risposta allo stress. Normalmente categorizziamo questi fenomeni con tre parole diverse, li studiamo in tre corsi universitari diversi, ma la natura, che non conosce l'accademia, dà un'unica risposta integrata. Queste sono scoperte realizzate da individui diversi in *setting* storici diversi, ma in effetti costituiscono un tipo di unica e integrata risposta ancestrale.

L'altro argomento importante su cui inquadrare queste cose è che **il sistema immunitario non**

è svincolato dal cervello e dagli ormoni, ma in effetti noi parliamo di sistema immuno-neuro-endocrino. Uno stressore emotivo che impatta sul cervello butta fuori a sua volta tutta una serie di ormoni e produce una immuno-depressione. Se però viene stimolato il sistema immunitario, attraverso le citochine, riscontriamo effetti sull'encefalo, il più clamoroso dei quali è la febbre. Le due cose sono integrate, quando un batterio penetra nel sistema immunitario, si attiva il cervello che produce la febbre, un grande meccanismo ancestrale antibatterico.

Esiste moltissima letteratura sul fatto che uno stress emotivo impatta sul sistema immunitario; ultimamente ho pubblicato un lavoro sugli effetti a lungo termine del lutto. Abbiamo studiato qualche decina di persone e potuto dimostrare che gli effetti immunologici, specialmente sulle cellule NK, sono evidenti ancora dopo sei mesi dall'evento, ma abbiamo anche dimostrato che non tutti gli individui rispondono in maniera uguale allo stesso lutto. La perdita improvvisa di un familiare ha fortissime ripercussioni sul sistema immunitario e questa immuno-depressione non coincide con i livelli di corticosteroidi. E' anche interessante che un puro stimolo immunologico impatti sul sistema nervoso. In uno studio pubblicato da "Vaccine", ho preso degli studenti volontari e li ho immunizzati con il vaccino dell'epatite. Ho misurato con un computer come risolvevano problemi attenzionali, con test stimolo-risposta; quelli immunizzati rispondono sensibilmente in modo più rapido, con minore tempo di latenza. Quindi anche se non ci accorgiamo degli stimoli immunologici presenti nell'ambiente, virus e batteri, hanno effetto sul cervello, il circuito si chiude.

Volevo sottolineare che non tutti gli stress fanno male, oggi c'è un largo consenso su una visione molto importante per l'invecchiamento e per tutta la medicina che riguarda questa parola "ormesi". La parola viene dal greco, volgarmente è quello che si conosce come mitridatismo, cioè piccoli stress ripetuti rafforzano l'organismo mentre al contrario, un forte stress ha effetti devastanti. Quindi si può pensare che una parte della *chemical pollution*, potrebbe essere addirittura favorevole. Noi ricercatori siamo abituati ai paradossi e se tutti dicono che la *pollution* fa

male, un bravo ricercatore deve andare a vedere se un pochino fa anche bene, una provocazione appunto.

il nuovo paradigma della medicina evolutiva

Le più importanti patologie sono in larga misura la conseguenza del fatto che il nostro corpo è costituito da geni e varianti genetiche (polimorfismi) che si sono selezionate per adattarsi ad un ambiente caratterizzato da:

- **Carestie (oggi opulenza e facile accesso al cibo)**
- **Infezioni (oggi ambiente "igienizzato")**
- **Grande dispendio di energie fisiche (oggi sedentarietà)**

Il nuovo paradigma della medicina evolutiva è che le più importanti patologie, sono in larga misura la conseguenza del fatto che il nostro corpo è costituito da geni e da varianti genetiche che chiamiamo polimorfismi, che si sono selezionate per adattarsi ad un ambiente caratterizzato da carestie, infezioni, grande dispendio di energia fisica, tutto questo non esiste più.

Le condizioni sono quelle più importanti: aterosclerosi, malattie cardio-cerebro-vascolari, sindrome metabolica, obesità, diabete di tipo 2, osteoporosi, osteoartrite, neuro-degenerazione, malattia di Alzheimer e anche tumori.

L'idea che molti ricercatori perseguono, compresi noi, è che queste patologie età-associate sono un esempio della teoria generale che fu avanzata circa 50 anni fa, da Williams, un grandissimo studioso, secondo cui varianti geniche benefiche da giovani e quindi su cui si è esercitata la forza della selezione, ad esempio forti risposte immunitarie, poi richiedono il pagamento di un prezzo che è l'aumentato rischio di quelle patologie citate prima. Un solo esempio per tutti che riguarda il gene TLR 4, i *TALL receptor* sono dei recettori dell'immunità innata per fare una *pattern recognition* dei batteri e noi abbiamo dimostrato che quelle varianti che stimolano una risposta immunitaria più debole, chiamate alleli, sono molto frequenti nei centenari, 14-15%, e sono bassissime nei soggetti con infarto del miocardio.

I casi di infarto riguardano chi ha un genotipo pro-infiammatorio, che però si rivela vantaggioso

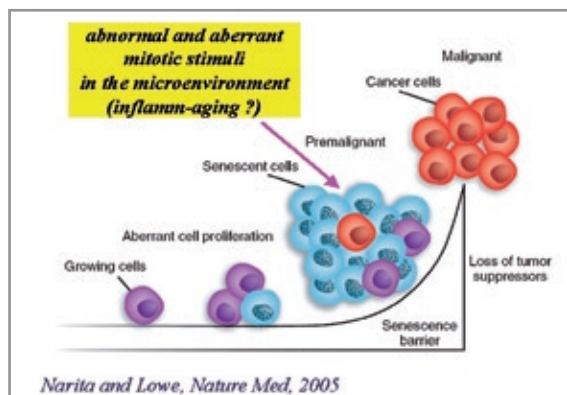
so nelle patologie infettive, si ammala di meno. Ovviamente stiamo raccogliendo dati non è una verità sacrosanta, tutto il mondo scientifico ci sta lavorando ed è tutto molto complesso ma questa ipotesi è la via maestra.

Il corpo non solo si adatta ma si auto-ripara. I paesi avanzati stanno spendendo milioni per potenziare i laboratori sulle cellule staminali, che nella medicina rigenerativa rappresentano una grande prospettiva per l'invecchiamento e per la medicina in generale.

Certamente questo stato infiammatorio cronico, che non è l'unica causa, porta a dei drastici cambiamenti del micro-ambiente dell'organismo e quindi il problema che ci si può porre è del contesto, cioè che cosa è più importante che cambi nell'invecchiamento. Abbiamo delle cellule vecchie, non tutte e non in ugual misura, il nostro organismo è un mosaico in tal senso, in corpi vecchi. La domanda è: "Quanto è dovuto alle cellule e quanto invece all'ambiente in cui queste sono immerse e cos'è più importante?"

Mentre sulle cellule esiste una fiorente letteratura, sull'ambiente molto meno e diciamo che c'è una sempre maggiore attenzione al problema del contesto e, dal punto di vista immunologico, abbiamo avanzato l'idea del rumore immunologico. Questa abbondanza di citochine, di fattori di crescita, ecc, presenti nell'ambiente può avere degli effetti sia locali che sistemici.

Si è visto oggi che la senescenza cellulare e il fatto che le cellule si riducano in questo stato e non si dividano più, è probabilmente il maggiore meccanismo antitumorale "normale" che noi possediamo. In tutti i tumori benigni ci sono cellule in senescenza e se ciò non accade si sviluppa un tumore maligno, la relazione tra senescenza e cancro è fortissima.



Ora si può pensare che le alterazioni del microambiente compreso l'*inflammaging*, potrebbero essere un fattore fondamentale per stabilire come il tumore si manifesterà, in forma benigna o maligna.

Ci siamo accorti che nelle cellule staminali dei muscoli, chiamate cellule satelliti, le cellule "vecchie" funzionano benissimo in un ambiente di topo giovane e viceversa le cellule staminali del muscolo di un topo giovane non svolgono per niente bene la loro funzione se inserite in ambiente vecchio.

L'ambiente quindi fa la differenza. Il titolo di questo lavoro è "Rejuvenation", ringiovanimento dei progenitori vecchi per esposizione ad un ambiente sistemico giovane.

Alcuni anni fa siamo arrivati a conclusioni molto simili studiando l'emopoiesi nei centenari ed abbiamo rilevato che il numero di progenitori emopoietici era diminuito del 50%, ma quelle che c'erano, messe in condizioni ottimali di coltura in vitro, funzionavano perfettamente come quelle dei giovani. Ma cosa cambiava?

Cambiava, e anche pesantemente, l'ambiente e qui alcuni dei più importanti fattori, il GMC-SF, l'interleuchina 3, lo Stemuncel factor, che diminuiscono drasticamente oppure addirittura aumentano con l'età, quindi l'ambiente è totalmente cambiato. Possiamo pensare che sia presente un grosso problema di ambiente per tutta la medicina riparativa.

Riprendendo il problema dell'infiammazione, si sa, oggi, che infiammazione e obesità sono assolutamente correlate, l'*over nutrition* è probabilmente uno dei maggiori fattori di infiammazione, immuno-attivazione e suscettibilità alle patologie infiammatorie. Quando un individuo è obeso, le cellule aumentano di volume, vengono infiltrate dai macrofagi che producono sostanze, tutte infiammatorie, il grasso, soprattutto quello viscerale, è una fonte incredibile di infiammazione; fra macrofago e adipocita ci sono molte cose in comune.

L'obesità, ma anche le infezioni generano infiammazione, che a sua volta sviluppa insuli-



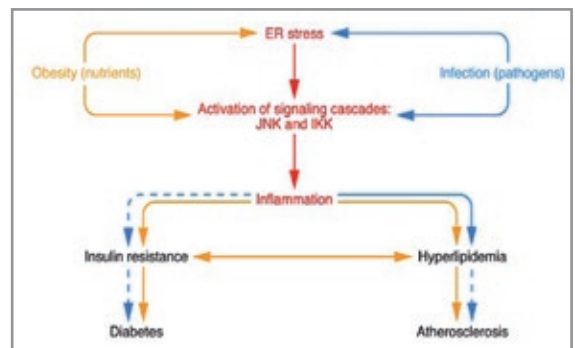
no-resistenza e diabete, oppure iperlipidemia e aterosclerosi.

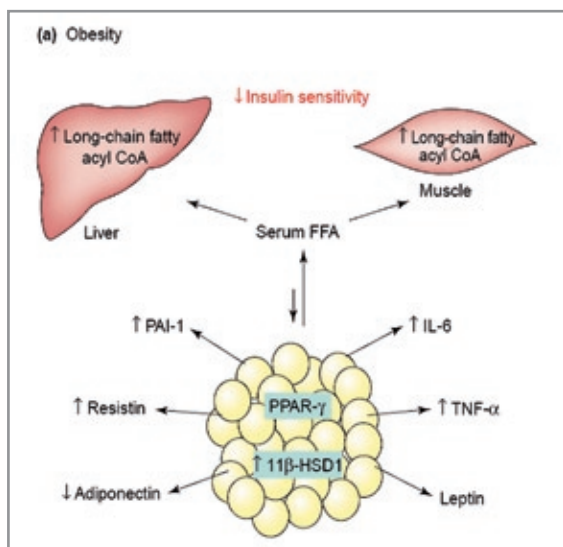
Le cellule adipose 'sparano fuori' tutta una serie di sostanze infiammatorie come l'interleuchina 6, il *tumor necrosis factor*, la resistina, ecc. Le cellule adipose infatti impattano con grossi effetti sul fegato o sul muscolo.

Abbiamo studiato alcuni di questi geni che sembrano particolarmente importanti, che si chiamano PPAR γ , attivatori del perossisomi e abbiamo visto che sono correlati con la longevità, giocano un ruolo importantissimo e interagiscono con l'interleuchina 6.

Recentemente ho cercato di concettualizzare il tutto in un *review* il cui titolo è molto preciso: "L'*inflammaging* e lo stimolo antigenico cronico come determinanti maggiori della velocità d'invecchiamento e della longevità".

I centenari sono delle persone veramente eccezionali, quindi sono molto utili come modello ed in questo caso ne abbiamo studiati 168. Essi hanno un *body mass index* molto basso ed anche il glucosio, l'insulina, i trigliceridi, il colesterolo e, la cosa più importante, l'insulino-resistenza è bassissima.





Questo è un dato su più di 400 persone, l'insulino-resistenza aumenta con l'età ma dopo gli 80 anni cambia qualcosa, c'è una selezione delle persone e nei centenari è praticamente assente; probabilmente un prerequisito per arrivare a 100 anni è avere il metabolismo del glucosio e dell'insulina corretto. Del resto questa è la via metabolica che tutti gli studi sui modelli animali hanno dimostrato essere una delle più importanti per la longevità in tutte le specie ed è probabile che questo sia un qualcosa di 'conservato' lungo tutta l'evoluzione.

| CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE STUDY GROUPS (n=466) | | |
|--|---------------------|-------------------------|
| | CONTROLS n = 298 | CENTENARIANS n = 168 |
| Sex (male/female) | 148/150 | 51/117 |
| BMI (kg/m ²) | 26.1 ± 2.4 | 22.3 ± 3.1* |
| Plasma Glucose (mmol/L) | 6.0 ± 1.2 | 4.09 ± 1.1* |
| Plasma Insulin (mU/L) | 14.8 ± 6.4 | 6.9 ± 2.8* |
| Plasma triglycerides (mmol/L) | 1.5 ± 0.8 | 1.2 ± 0.4* |
| Plasma total cholesterol (mmol/L) | 5.5 ± 1.1 | 4.5 ± 1.1* |
| Plasma HDL cholesterol (mmol/L) | 1.4 ± 0.4 | 1.6 ± 0.4* |
| Plasma LDL cholesterol (mmol/L) | 3.2 ± 1.1 | 1.6 ± 0.8* |
| IR (HOMA) | 3.9 ± 1.7 | 1.5 ± 0.7* |

*p<0.01 vs control group
Paolisso et al., Exp. Gerontol., 37, 149-156, 2001

I cambiamenti associati con l'insulino-resistenza, l'infiammazione, naturalmente non da sola, hanno un ruolo molto importante ed i centenari, da questo punto di vista, ricordano animali a restrizione calorica. Questo evento è l'unico grande meccanismo che ritarda l'invecchiamento. Quindi mangiare il 30-40% di meno, negli animali, produce una sorta di adattamento or-

metico, fa vivere di più e protegge da tutte le malattie.



Alcuni parametri importantissimi, come i livelli di IGF 1, un ormone fondamentale della via dell'insulina, correlato ad un maggiore rischio di casi di cancro, sono bassi negli individui oltre i 100 anni. Non sappiamo se lo hanno sempre avuto così basso oppure se lo è diventato, per saperlo sarebbero necessari studi longitudinali molto lunghi, costosi ed in Italia si fatica a trovare i fondi.

L'equazione della longevità, quasi banale: "la longevità è uguale ad ambiente", più genetica, più stocasticità, (di quest'ultima sappiamo pochissimo), aumenta con l'età. Tutte le stime che indicano il 25% dovuto alla genetica sono in effetti sotto-stime, riguardavano ad esempio studi sui gemelli monozigoti, infatti le coppie dove entrambi erano rimasti vivi dopo gli 80 anni, non erano molte.

Dopo gli 80 anni il ruolo della genetica sicuramente aumenta come dimostrato da tutti i dati sulle famiglie dei centenari. Non sappiamo fino a quale livello arrivi ma sappiamo che aumenta la stocasticità, il caso e che l'ambiente conta moltissimo, dagli ottanta in poi influisce di meno. Quello che probabilmente conta è l'ambiente nei primissimi anni di vita, esistono moltissimi dati che suggeriscono come quello che succede durante la gravidanza e nel primo anno di vita sono estremamente importanti a lunghissimo termine perchè in quel periodo si stabilisce il numero di neuroni (delle uova nelle donne) e tutta una serie di parametri che fanno la "robustezza" o meno di quella macchina.

L'equazione della longevità

$$L = A + G + S$$

Longevità = Ambiente + Genetica + Stocasticità

La genetica della longevità è del tutto peculiare perchè è una genetica post-riproduttiva. Abbiamo trovato molti geni associati alla longevità, soprattutto riguardo alla risposta infiammatoria ed allo stress. C'è una grossa differenza tra femmine e maschi, abbiamo trovato che si appoggia maggiormente sulla genetica la popolazione maschile, come ne avesse più bisogno, per diventare centenaria.

Sono coordinatore di un grande progetto europeo in cui stiamo raccogliendo 2.800 coppie di fratelli, anche di sesso diverso, e su queste faremo l'intera scansione di tutto il genoma ed il sequenziamento completo del DNA mitocondriale, speriamo di avere dei risultati nel giro di 4-5 anni. È il massimo che si può fare oggi utilizzando queste piattaforme ad alta intensità di dati, nell'ordine di migliaia.

Il mitocondrio è quel piccolo organo che è importante per la produzione dell'energia, per l'apoptosi, ha un suo DNA cortissimo, 16.500 basi rispetto a tre miliardi.

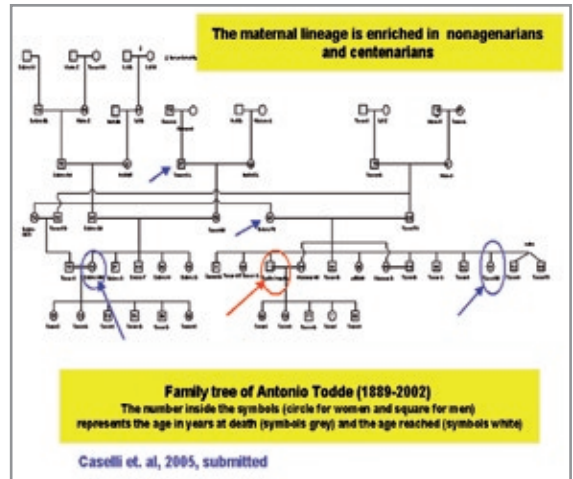
Le associazioni geni/longevità sono molto più frequenti negli uomini



Abbiamo studiato un individuo, Antonio Todde di 112 anni che vive nel nuorese, terra con alta percentuale di maschi. Nel suo albero genealogico c'è una sorella centenaria, la mamma quasi, la nonna 87 anni (ma molto tempo fa quando di media se ne vivevano quaranta) ed

un cugino sempre di parte materna; ciò non accade per caso, forse il DNA mitocondriale ha un ruolo.

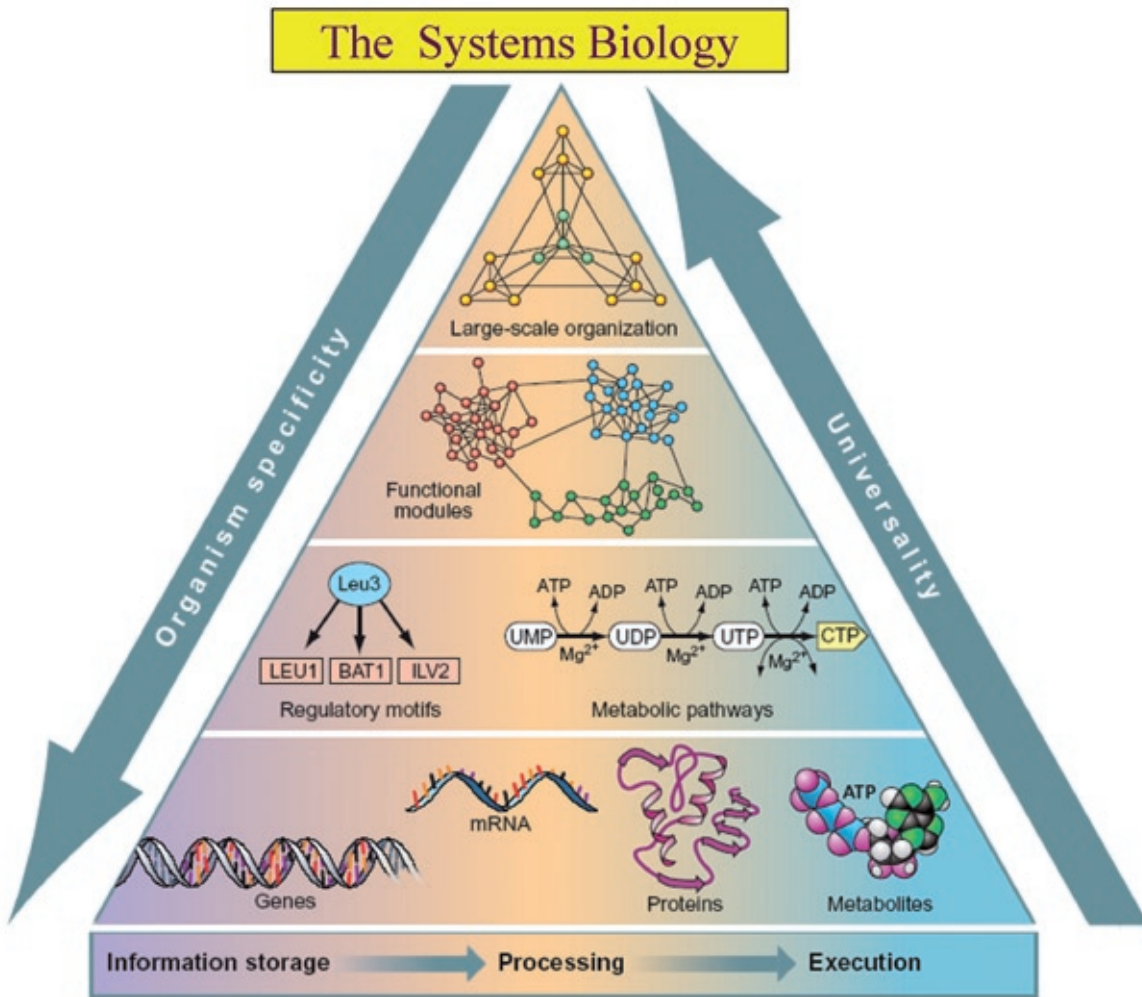
Volevo mostrare in che modo abbiamo dimostrato che le varianti del DNA mitocondriale sono associate alla longevità, che ha quindi una componente materna; questi studi sono stati riprodotti in Irlanda, Finlandia e Giappone, quindi siamo abbastanza sicuri che la cosa funzioni.



Con il professor Attardi, che ha più di 80 anni che lavora al Cal Tech di Pasadena e pubblica sui più grandi giornali del mondo, abbiamo pubblicato un lavoro in cui dimostriamo che una mutazione del DNA mitocondriale è presente nel 17% dei centenari e nel 3% dei controlli giovani, una differenza assolutamente clamorosa. Questa mutazione è molto importante perchè vicina alla seconda origine di replicazione dello "strand" pesante del DNA mitocondriale; finlandesi e giapponesi hanno trovato la stessa cosa: il 20% di questa mutazione nei centenari è associata agli apogruppi.

Ci possono essere varie spiegazioni, innanzi tutto pensiamo che le due cose si sinergizzino, perchè potrebbero ridurre l'efficienza della catena respiratoria facendo produrre meno radicali e potrebbero avere anche effetto sull'apoptosi. Probabilmente le varianti mitocondriali e le mutazioni si ri-correlano al fatto che l'homo sapiens ha avuto origine in Africa dove era caldo e poi abbia colonizzato ambienti sempre più freddi, quindi il mitocondrio doveva produrre più calore e meno ATP. Tutto questo rimaneggiamento filogenetico ha portato a queste varianti mitocon-

driali che probabilmente oggi hanno effetto sulla longevità e la cui origine va ricercata come sempre nell'evoluzione della nostra specie.



Oltvai & Barabasi, Life's complexity pyramid, *Science* 2002

Abbiamo dati, nostri, dei finlandesi, dei giapponesi, i quali suggeriscono, che una mutazione si accumula con l'età, forse non a caso, in forma omoplasmica cioè in tutte le molecole del DNA e molto probabilmente dobbiamo rivedere i nostri paradigmi.

Non è del tutto vero che tutte le mutazioni siano deleterie. Alcune potrebbero favorire la selezione di cellule e quindi la longevità dell'intero organismo. Sono dell'opinione che dobbiamo rivedere le nostre idee su tante cose perchè le mutazioni possono aiutarci a diventare centenari.