

INDICE

Capitolo		Pagina
1.	INTRODUZIONE	2
2.	APOPTOSI	15
3.	ASPETTI MOLECOLARI DELL'APOPTOSI	9
4.	RUOLO DELL'APOPTOSI NELLE PATOLOGIE	10
5.	DISFUNZIONI NEURODEGENERATIVE	15
6.	CONCLUSIONI	18
7.	BIBLIOGRAFIA	20

TRODUZIONE

Se si considera la durata della vita umana negli ultimi secoli, si scoprono notevoli differenze: la vita media delle popolazioni dell'antica Roma non superava i 30-40 anni; i romani moderni, invece, vivono circa il doppio.

Alla base di tale fenomeno non esistono cambiamenti genetici della specie umana, ma influenze ambientali, quali il miglioramento delle condizioni di vita e i progressi della medicina. Al contrario, la durata massima della vita (120 anni circa per l'uomo) è determinata geneticamente e non è cambiata nel corso della storia della nostra specie.

Ogni organismo vivente ha un suo programma di invecchiamento e di durata della vita geneticamente determinati, ad esempio, le tartarughe marine e i pappagalli superano il secolo di vita, mentre un cavallo non arriva a 30 anni.

Dal punto di vista strettamente teorico ed evolucionistico ci sono importanti considerazioni da fare sulla reale funzione dei geni che regolano l'invecchiamento, ogni specie ha, nel proprio corredo genetico, geni che limitano la durata della vita e che quindi inducono l'invecchiamento.

Nel 1920 Freud ipotizzava l'esistenza della pulsione di morte, un istinto della materia vivente a tornare allo stato inorganico che, a suo modo di vedere, avrebbe agito come primum movens di ogni azione degli organismi viventi.

Che nessuna cellula sia eterna e che tutte muoiano è un concetto da tempo valido in biologia. Che la morte svolga un ruolo decisivo nel conferire forma e funzione ai tessuti adulti, al contrario è un'evoluzione relativamente recente.

moriranno entro la prossima ora, questo fenomeno è del tutto normale, il nostro corpo si rinnova continuamente, eliminando cellule invecchiate o danneggiate e sostituendole con nuove cellule sane.

Questa operazione così normale, però, deve essere eseguita con estrema precisione, quando alla cellula giunge il segnale, comincia a smontare le strutture interne e si suddivide in piccoli frammenti che possono essere consumati rapidamente dalle cellule vicine attraverso un processo di fagocitosi operato da cellule specializzate chiamate macrofagi.

Negli ultimi trent'anni sono pochi i temi di ricerca che hanno influenzato la scienza tanto quanto il chiarimento dei meccanismi che si trovano alla base della morte cellulare.

L'iniziale studio di questo processo, che ha visto i propri albori nell'ottocento, si è sviluppato fino al 1965 attraverso la raccolta di descrizioni strettamente morfologiche e di osservazioni occasionali in sistemi cellulari molto distanti tra loro.

Tra gli anni '60 e '70 si verificano due importanti eventi in grado di dare un'accelerazione decisa agli studi sulla morte cellulare: nel 1965 Lockshin e Williams affermano per la prima volta che la morte delle cellule durante lo sviluppo di organismi pluricellulari avviene tramite l'attuazione di un programma ideato appositamente per tale scopo, tale fenomeno fu chiamato da allora in poi morte cellulare programmata.

Circa trent'anni prima, in un laboratorio spartano, Rita Levi Montalcini descrisse dettagliatamente il processo di morte di intere popolazioni nervose nella fase iniziale dello sviluppo embrionale.

Solo nel 1972 però, Kerr e Wyllie, raccogliendo l'eredità di numerose osservazioni, affermano che la morte della singola cellula è un processo inducibile in diverse situazioni fisiologiche e che è costantemente accompagnato dalla espressione sequenziale di specifici caratteri morfologici.

...nine di apoptosi che fu definitivamente provato da

H.M. EMS e U.R. HOLVIZ, nel nematode *Caenorhabditis Elegans* nel 1986.

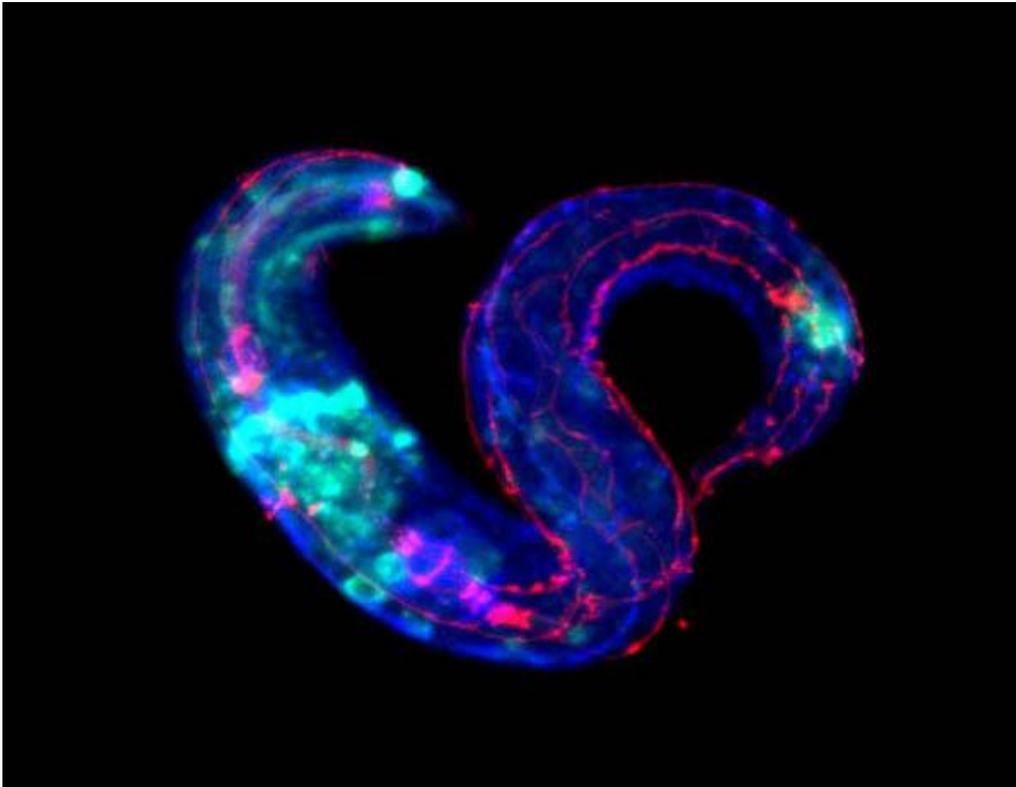


Figura 1 Lo studio dell'apoptosi parte dal più famoso dei vermi trasparenti, il *Caenorhabditis Elegans*, durante il suo sviluppo si formano 1090 cellule: 959 resteranno a far parte del verme adulto e 131 vanno incontro ad apoptosi. Esperimenti di mutagenesi in cui il pattern di morte cellulare è alterato ha dato un grosso aiuto all'identificazione di regolazioni apoptotiche ritrovate anche nei mammiferi per analoghi.

Secondo questo studio la morte della cellula appare essere l'esito finale di una serie di reazioni programmate secondo uno schema genetico il cui fine precipuo sarebbe quello di eliminare cellule che potrebbero essere pericolose.

Grazie a tali definizioni si è entrati a pieno titolo nella moderna ricerca nel campo della morte cellulare, che ha portato alla progressiva scoperta dei processi biochimici e genetici che regolano la PCD, (Programmed Cell Death).

onente molecolare nel sistema della morte cellulare, (Bcl-2), è diventato via, via più chiaro che la comprensione di un numero crescente di fenomeni cellulari fisiologici, e delle loro aberrazioni patologiche, sarebbe stato possibile solo attraverso la descrizione dei sistemi molecolari che controllano il meccanismo apoptotico.

Oggi è conoscenza scientifica consolidata che molte malattie derivano da un'errata realizzazione dell'apoptosi, nei termini sia di un'eccessiva eliminazione di cellule necessarie all'organismo, sia della impossibilità di eliminare cellule potenzialmente dannose.

L'evoluzione ha messo a punto complesse strategie che sottopongono frequentemente le cellule del sistema immunitario a cicli di proliferazione-selezione allo scopo di riconoscere con efficienza ed efficacia elementi estranei ed attuare gli specifici meccanismi di difesa, si tratta di un continuo turnover cellulare che è fondamentale sia nell'acquisizione delle competenze immunologiche, durante lo sviluppo e nell'adulto, sia nel controllo della risposta immunitaria.

Il meccanismo attraverso cui il sistema immunitario opera, è basato sull'eliminazione sia di cellule inefficaci o non più utili, sia di quelle potenzialmente autoreattive, tramite l'induzione dell'apoptosi.

Non a caso la maggior parte delle conoscenze disponibili sul processo apoptotico derivano proprio dallo studio di modelli in vitro che si basano sull'uso di cellule di origine immunitaria.

Se òuttaviaö il processo apoptotico degenera o non è più controllabile, si verificano disfunzioni così gravi da condurre alla morte il soggetto.

ute e croniche vengono affrontate in questa tesi in quanto conseguenza di malattie con alto rischio di mortalità e determinate da errori nei meccanismi di controllo della morte cellulare.

Una caratteristica di molte di queste disfunzioni - che comprendono le conseguenze di traumi cerebrali, di danni vertebrali, la sclerosi laterale amiotrofica (ALS), il morbo di Huntington, il morbo di Alzheimer, il morbo di Parkinson- è la morte di cellule neuronali.

Il tessuto del Sistema Nervoso Centrale è a numero limitato di cellule, è quindi di importanza prioritaria per il nostro organismo limitare i danni causati dalla morte cellulare dello stesso.

Nel corso del processo di senescenza vi è un coinvolgimento differenziale delle varie funzioni vitali: quelle vegetative restano invariate o con scarse variazioni di rilievo, un gruppo di funzioni invece, come quella renale, quella muscolare e quella cerebrale, risentono della riduzione della massa attiva tissutale (la massa cerebrale presenta una diminuzione di circa il 15% in volume), mentre un terzo gruppo, quello delle cosiddette funzioni di riserva ó per esempio la riserva cardiaca ó presenta un declino spiccato.

Lo studio dell'invecchiamento cellulare è un'area cruciale per la comprensione del processo di senescenza; occorre tener presente, tuttavia, che nel nostro organismo esistono tipi di cellule diverse che reagiscono in maniera diversa al trascorrere del tempo.

Invecchiamento e longevità sarebbero quindi il risultato di un equilibrio modificatosi nel corso dell'evoluzione fra meccanismi pro e anti invecchiamento costituiti in una sorta di rete di difesa organica la cui efficienza è indispensabile per il funzionamento del sistema immunitario e neuro-endocrino, che contrastano le malattie senili.

Il sistema immunitario, infatti, è uno dei settori in cui il processo di senescenza incide di più: i linfociti T prodotti dal timo, una ghiandola che con l'età va incontro ad involuzione, diminuiscono, le reazioni auto-immuni sembrano aumentare con l'età, determinando tutta

quali: sclerosi multipla, artrite, infiammazioni della tiroide, ecc.

Le molecole ossidate, che sono le più reattive, sono anch'esse implicate in disturbi tipici della senescenza, tra cui l'arteriosclerosi, il cancro e varie forme artritiche.

In molte di queste malattie sono implicati lipidi ossidati che si accumulano nelle cellule più vecchie comportandosi come radicali liberi.

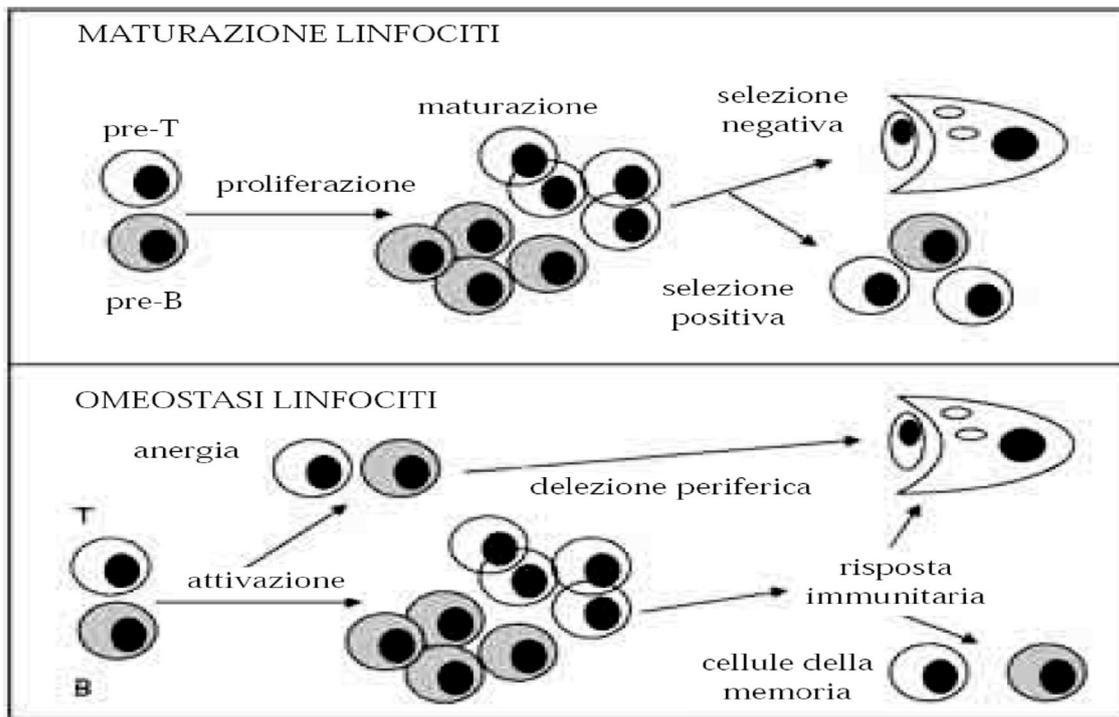


Figura 2 - Alternarsi di fasi di proliferazione e delezione in due momenti della vita del sistema immunitario. La maturazione dei linfociti nel midollo osseo e nel timo presuppone la selezione negativa dei linfociti autoimmuni o non funzionali (pannello superiore). Nell'omeostasi dei linfociti si assiste ad un continuo controllo selettivo che nelle fasi di quiete si realizza a carico delle cellule native e della memoria, mentre nella fase finale di una risposta immunitaria, prevede la delezione dei linfociti in eccesso. La mancata realizzazione dell'attivazione dei linfociti porta al fenomeno dell'anergia e della delezione periferica.

Gli effetti dei radicali liberi sono: distruzione di particolari enzimi, la perossidazione dei lipidi con effetti sulle membrane e sul DNA di mitocondri, che, come è noto, forniscono l'energia necessaria ai processi cellulari.

ti organuli cellulari viene danneggiata, la cellula comincerebbe ad avere problemi energetici e quando un certo numero di cellule fosse messo fuori uso, l'organo di appartenenza comincerebbe il declino della propria attività.

Disturbi cronici della terza età, come ad esempio il diabete, sarebbero da ricondurre ad una mancata funzionalità mitocondriale dovuta all'azione dei radicali.

In una ricerca condotta sui linfociti di diciassette centenari, esposti all'azione di radicali liberi, si è potuto verificare che la loro capacità di resistere agli stress ossidativi era del tutto fuori standard, superiore cioè alla media di quella di soggetti giovani, inoltre la presenza di lipoproteine ossidate nel sangue era significativamente inferiore.¹

Sembra comunque che il processo di senescenza generale sia controllato da un numero limitato di meccanismi di difesa a livello molecolare e cellulare, caratterizzati dal fatto di essere ancestrali ed universalmente presenti in tutte le specie viventi, essi sono:

- Meccanismi di riparazione del DNA
- Produzione di proteine da stress ó immunoglobuline e citochine
- Antiossidanti enzimatici e non
- Attivazione dell'enzima nucleari poli (ADP- ribosio) polimerasi
- Induzione della morte cellulare programmata o apoptosi.

Le maggiori modificazioni che si possono osservare nell'invecchiamento sono:

- il tessuto connettivo che circonda i vari organi subisce modificazioni strutturali indurendosi, ciò favorisce deposito di grasso sulle pareti dei vasi sanguigni che restringono il lume determinando minor apporto di sangue a tutti gli organi, cervello compreso;

¹ Centro Nazionale Ricerche, Studio Longitudinale Italiano sull'Invecchiamento – ILSA

- papille gustative e la densità salivare aumenta determinando un innalzamento della soglia di elicitazione delle risposte di tipo gustativo da parte del SNC;
- la sensibilità olfattiva decresce con la perdita di cellule sensoriali nel tessuto delle cavità nasali ed una ridotta efficienza di quelle del bulbo olfattivo che producono un innalzamento della soglia per la percezione degli odori;
 - la vista subisce un declino evidente e consistente, oltre alla ptosi del sopracciglio (abbassamento della linea del sopracciglio a causa della perdita di tono del muscolo) per la perdita di tono del muscolo che regola i suoi movimenti, si assiste alla comparsa della presbiopia, astigmatismo, tendenza all'opacità del cristallino a causa del mancato apporto di ricambio sanguigno e cellulare e sclerotizzazione della cornea. La retina, a causa della diminuzione di apporto di ossigeno, tende essa pure a subire danni che comportano la supplementare perdita di acuità visiva, di percezione dei colori ó fino al 25% in meno nella sesta decade e 50 % in meno nell'ottava decade ó e la riduzione del campo visivo. Si è registrata una diminuzione delle fibre nel nervo ottico, e nella zona 17 di Brodmann, in terza età che causa un ritardo nella percezione di informazioni visive e della velocità di processamento a livello delle strutture superiori;
 - le strutture uditive e vestibolari vanno incontro ad un deterioramento che produce nelle prime, un innalzamento della intensità della soglia per toni puri ed una perdita sensibile della gamma di suoni che rientrano nelle alte frequenze; la discriminazione tra i vari suoni di un discorso, quindi, peggiora con l'età. La degenerazione delle funzioni vestibolari sembra essere inferiore e interessare proporzionalmente meno il nervo vestibolare, i problemi di vertigini ed equilibrio della postura lamentati in terza e quarta età, sarebbero da collegare a difetti di

zioni ai livelli superiori del coordinamento visivo e

- la soglia della sensibilità cutanea aumenta con l'età, sia pure in minor percentuale, nel genere femminile ma comunque con un dislivello oltre il 10 % fra la prima e la settima decade, vi è perdita di grasso sub-cutaneo e di elasticità, diminuisce la capacità di cicatrizzazione e la sua velocità;
- l'attività degli osteoblasti nell'apparato scheletrico si riduce a discapito della sua stessa generazione; di contro, aumenta l'attività osteoclastica. Spesso una reazione autoimmune localizzata nelle giunture tendinee porta alla formazione di artrite con conseguente irrigidimento delle articolazioni;
- il sistema cardiovascolare mostra degenerazioni legate alla perdita di elasticità dei vasi sanguigni e la massa muscolare cardiaca diminuisce con un concomitante aumento della massa fibrosa. Il lavoro cardiaco, il consumo di ossigeno sia a riposo che sotto sforzo e il ritmo cardiaco risultano diminuiti mentre la resistenza vascolare periferica aumenta;
- nel sistema respiratorio l'area collegata allo scambio di gas respiratori diminuisce. Vi è un decremento dell'elasticità degli alveoli e la capacità respiratoria vitale diminuisce assieme a quella di trasferimento dell'ossigeno nel sangue e del suo caricamento sulle molecole di emoglobina. Il consumo di ossigeno da parte dei tessuti diminuisce;
- nel sistema gastrointestinale si registra un'atrofia del tessuto della mucosa orale ed un deterioramento della dentatura, l'atrofia delle mucose dello stomaco e la diminuzione dell'acidità dei succhi gastrici, il tutto porta ad una ridotta e imperfetta assimilazione dei nutrienti.

- diminuisce e ciò impedisce agli anziani la corretta metabolizzazione di farmaci ed ormoni. Nel metabolismo e nella composizione organica si assiste alla diminuzione del tasso metabolico ó maggiormente negli uomini ó i liquidi cellulari e le masse cellulari diminuiscono, il sistema di regolazione della temperatura interna va incontro ad un netto declino riducendo la capacità di adattamento a stress termici.
- nel sistema endocrino l'ipofisi non risulta soggetta a variazioni di rilievo ma ad una riduzione della vascolarizzazione ed ad un aumento del tessuto connettivo. I valori ematici di alcuni ormoni tendono ad elevarsi, come quelli dell'ormone follicolostimolante, luteinizzante ed antidiuretico.
 - La somatotropina, presente in maniera consistente nella corteccia pre-frontale, cessa di entrare in circolo in maggiori quantità durante l'esercizio fisico come accade in soggetti giovani, solo la somministrazione di L-Dopa può riportare nella norma l'erogazione di questo ormone facendo così sospettare deficit nel processo di attivazione ipotalamico mediato da dopamina². Le ghiandole surrenali vanno incontro a diminuzione di peso e modificazione della struttura interna.

Anche il sistema nervoso, naturalmente, invecchia soprattutto la regione encefalica, a partire dai 50 anni si determina un'evidente diminuzione del numero dei neuroni e cellule gliali, si evidenzia una marcata atrofia dei giri neocorticali, con conseguente allargamento dei solchi e dei ventricoli, si osservano inoltre perdite dei neuroni dell'ippocampo pari ad un decremento del 5% ogni dieci anni nella seconda metà della vita.

L'atrofia neuronale nella specie umana riguarda essenzialmente il neocortex, cioè lobi frontali, temporali, parietali e occipitali, con un tasso di riduzione cellulare più marcato nel maschio (3,5%) che nella femmina (2%).

² Kenney 1989

in decremento del volume cerebrale legato all'età si verifica in maniera più marcata nel lobo frontale e che le riduzioni sono sessualmente dimorfiche, correlate ad effetti ormonali.

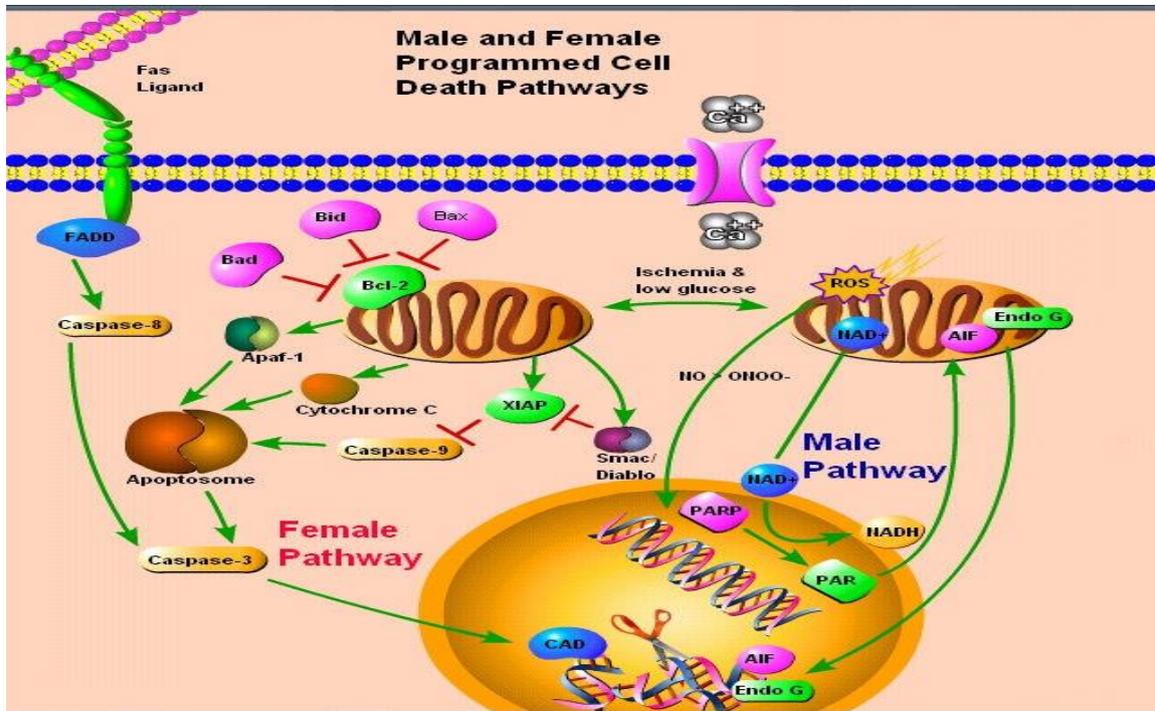


Figura 4 - A livello sperimentale si è potuto constatare un percorso enzimatico distinto e differente dei segnali apoptotici nel cervello femminile e in quello maschile.

Le ripercussioni funzionali sono costituite da perdite selettive dell'informazione in entrata ed uscita dal neocortex e conseguente diminuzione dello scambio di input fra aree superiori neocorticali e restante sistema nervoso. I disturbi della percezione, derivanti dal deterioramento di queste comunicazioni, determinano nell'anziano una condizione di isolamento sensoriale che lo porta a perdere progressivamente contatto con le dimensioni spazio-temporali dell'ambiente, riflettendo ripercussioni sulle strutture cerebrali superiori. Il processo di invecchiamento produce importanti modificazioni della velocità

³ Cowell et al. 1994

neurotrasmettitori, fino ad un decimo del valore primitivo⁴ ed una riduzione del livello degli enzimi implicati nella sintesi delle catecolamine, così come dell'acetilcolina, implicata nello svolgimento delle funzioni mnemoniche, e del GABA, quest'ultimo spiccatamente nell'area talamica. I valori di concentrazione degli enzimi che contribuiscono alla rimozione dei neurotrasmettitori monoaminergici ó MAO o monoaminossidasió aumentano in diverse zone del cervello.

Tutti questi effetti biochimici potrebbero essere attribuiti ai processi ossidativi causati dai radicali liberi⁵, la micro -vascolarizzazione tende ad attorcigliarsi, diventare più tortuosa, meno ben distribuita, ne consegue una diminuzione dell'irroramento delle lamine più profonde delle aree corticali. Tutto ciò contribuisce alla perdita di cellule e ad un calo della funzionalità delle aree colpite, sotto queste condizioni, la barriera emato- encefalica può deteriorarsi permettendo il passaggio di sostanze nocive.

Il quadro generale del sistema nervoso invecchiato è quello di un declino di efficienza, che coinvolge sia il sistema di ricezione degli stimoli, sia gli elementi stessi del sistema nervoso. Una riduzione dei neuroni sia centrale che periferica, limita il flusso di informazioni, i restanti tendono a diminuire di volume, forse, in parte come risultato di un metabolismo proteico difettoso, come potrebbero suggerire i disuniti livelli di RNA. La maggior parte del decremento delle dimensioni delle cellule è attribuibile al restringimento ed alla sparizione dei dendriti. Essa è accompagnata anche da una diminuzione della densità sinaptica, sia dei dendriti apicali che basali. Gli assoni di alcuni neuroni pre-frontali, specialmente le cellule piramidali del III livello, mostrano un allargamento fusiforme del loro segmento prossimale che pare collegato con il deposito intracellulare di sostanze, come la lipofuscina.

⁴ Kenney, 1989

⁵ Selkoe, 1992

rali sembra essere la prima fra le strutture cerebrali a mostrare segni di involuzione in ossequio alla legge che quelle parti della neocorteccia che maturano per ultime sono però le prime a deteriorarsi e sono le più vulnerabili a processi geriatrici. Nella Corteccia Pre ó frontale il neurotrasmettitore che sembra maggiormente coinvolto con le sue alterazioni nei disturbi legati all' invecchiamento è la dopamina, si sono infatti registrate involuzioni del sistema dopaminergico, legate all'età, nella corteccia prefrontale dei roditori, di scimmie e dell'uomo. La demielizzazione degli assoni pre-frontali con conseguente rallentamento dell' impulso nervoso è stata dimostrata tramite l'esame di potenziali evocati collegati ad un evento uditivo in soggetti di età compresa tra 65 e 72 anni. L'aumento dei tempi è stato correlato ad una diminuita capacità di attenzione, decisionalità ed abilità di riferimento cognitivo, tutte funzioni tipiche dell'organizzazione pre-frontale.

L'atrofia neuronale, però, non è peculiarità esclusiva del processo di senescenza, e, non è necessariamente negativa per la funzionalità cellulare, i neuroni inoltre, grazie alla loro plasticità, possono sopperire all'atrofia di cellule vicine incrementando l'arborizzazione dendritica. L'invecchiamento può essere definito come la somma di tutte le modificazioni che si verificano, con il passare del tempo, nell'uomo ed in ogni altro essere vivente, e che portano alla menomazione funzionale ed alla morte. Esso può avere un andamento eugenico, quando cioè i parametri sono statisticamente tipici di quella specie di individui, oppure patogenico, quando intervengono fenomeni di tipo patologico che alterano o esasperano il naturale decadimento fisico e psichico portando il soggetto ad una morte che può essere definita prematura. L'apoptosi sembra inoltre essere coinvolta in numerose malattie neurodegenerative caratterizzate dalla perdita graduale di specifici gruppi di

arkinson, la sclerosi laterale amiotrofica, la retinite pigmentosa, atrofia muscolare spinale ed il morbo di Alzheimer⁶.

Non bisogna, perciò, porci nell'ottica di presunzione del fenomeno apoptotico come di un processo degenerativo: la mancata, o difettosa, sostituzione delle cellule che muoiono, con altre funzionali e in condizioni perfette è un principio fondamentale dell'integrità dei tessuti viventi, laddove l'accoppiamento della morte con l'eccesso di riproduzione porta al tumore o a insufficienze funzionali si instaura una situazione patologica dagli esiti spesso mortali.

Freud, dicevamo, ipotizzò il primum movens nella pulsione di morte, il fatto che, 60 anni più tardi, si sia scoperto all'interno di ogni singola cellula un programma genetico il cui risultato ultimo è il suicidio, torna a proporre in maniera più aggiornata la teoria freudiana.

⁶ Thompson, 1995;-Yuan,and-Yankner, 2000

APOPTOSI

Definire cosa è la morte per una cellula è stato un compito arduo per i biologi molecolari; la cellula infatti, pur essendo l'unità fondamentale dell'organismo ha segnali che caratterizzano la propria vitalità non così evidenti. Di una cellula non possiamo evincere la sua vitalità dalla respirazione o dal battito cardiaco come accade per gli organismi pluricellulari.

Perciò fino dagli anni '70, in base agli studi di Alexis Carrel, si riteneva che la morte cellulare fosse unicamente la conseguenza di eventi traumatici o patologici, legati a grossolane perturbazioni dell'omeostasi quali ipossia, ischemia, ipertermia o avvelenamento da tossine, che portavano alla necrosi di vaste porzioni del tessuto colpito o alla morte dell'intero organismo.

Va evidenziato che la morte cellulare non coincide con la morte dell'individuo; un organo infatti rimane vitale per diverse ore e questo permette di eseguire trapianti di organo quindi l'apoptosi non può nemmeno essere legata esclusivamente ad eventi di natura traumatica o patologica.

La teoria genetica dell'invecchiamento attualmente più accettata, quella definita da Medawar nel 1949, sostiene che i geni che determinano la senescenza svolgono una funzione importante nella prima fase di vita dell'individuo, fino alla riproduzione ed al completamento dell'allevamento della prole; questa funzione, qualunque essa sia nello specifico, sarebbe vantaggiosa per la specie e rappresenta il motivo per il quale questi geni sono stati selezionati durante l'evoluzione e per il quale esistono.

Quello che invece avviene dopo la riproduzione non sarebbe più oggetto della selezione genetica operata dalla natura, dal momento che tutti i caratteri, con l'avvenuta

alla generazione successiva. I processi determinanti

a cui partecipano i geni dell'invecchiamento sarebbero quindi effetti secondari dell'attività di geni che hanno ormai svolto la loro funzione essenziale e che col tempo darebbero origine a fenomeni nocivi per l'individuo, come l'invecchiamento.

Di contro, la teoria cellulare attribuisce alla cellula tutte le caratteristiche tipiche di un organismo pluricellulare, è quindi naturale attendersi che, come tutti gli organismi, anche la cellula vada incontro a senescenza e a morte.

Da studi inerenti lo sviluppo e la metamorfosi degli invertebrati è stato sempre più evidente che esiste anche una morte cellulare di tipo fisiologico, che, come tale, non causa infiammazione e dolore, la deduzione è stata che avesse finalità proprie, che fosse conseguenza della senescenza e che contribuisse all'omeostasi cellulare.

Le ricerche di Hayflick dimostrarono che le colture in vitro non si mantenevano indefinitamente, ma si esaurivano spontaneamente dopo un certo numero di duplicazioni; questo aprì la strada verso lo studio di questo tipo di morte fisiologica.

Da allora gli studi sull'apoptosi si sono moltiplicati esponenzialmente e nel corso degli anni ne hanno definito le caratteristiche morfologiche e biochimiche, mentre molto ancora resta da scoprire sui meccanismi genetici di segnalazione, regolazione ed induzione.

È stato dimostrato che questo programma di morte è presente nel codice genetico di tutti gli organismi eucarioti multicellulari ed in questi la maggior parte (se non tutte) delle cellule, hanno la capacità di auto-distruggersi mediante l'attivazione di un programma di suicidio al quale sembrerebbero fare eccezione solo le cellule particolarmente specializzate quali quelle del muscolo cardiaco e del tessuto nervoso.

Le cellule hanno la capacità intrinseca di riuscire a gestire il delicato equilibrio tra sopravvivenza e morte: da una parte l'ingresso in divisione cellulare o la permanenza in

apoptosi. In entrambi i casi, le cellule partecipano

Per questo motivo, l'apoptosi è da considerarsi una manifestazione del funzionamento della cellula. Infatti, alterazioni nel sofisticato programma apoptotico o nei suoi meccanismi regolatori, spostano, inevitabilmente, tale equilibrio verso un'instabilità talvolta dannosa per l'organismo che si manifesta sotto forma di malattie degenerative tumorali.

Recentemente, in modo interessante, l'esistenza di fenomeni in certa misura comparabili all'apoptosi sono stati descritti anche in organismi unicellulari ed in cellule di procarioti sottoposte a diversi tipi di insulti.

2.1 Significato Biologico

La morte cellulare apoptotica è un processo regolato in tutti i suoi aspetti molecolari, biochimici e morfologici ed è, inoltre, un processo svolto attivamente dalla cellula; richiede infatti dispendio di energia, attivazione della sintesi proteica con coinvolgimento di numerosi geni e può essere considerata una "morte altruista", che si verifica cioè tutte le volte che il sacrificio di singole cellule risulta vantaggioso per l'organismo nel suo complesso. Perciò l'apoptosi non è da considerarsi come un meccanismo negativo, ma come un processo necessario e vantaggioso, come è messo in evidenza dalla vasta gamma di patologie derivanti da un alterato meccanismo apoptotico.

Una delle funzioni più importanti del processo apoptotico in un organismo pluricellulare, è quello di contribuire, insieme alla mitosi, al mantenimento dell'omeostasi numerica cellulare.

Limitare a ciò l'importanza del processo apoptotico è comunque riduttivo in quanto essa interviene in tutta una serie di processi, dallo sviluppo fetale fino alla morte dell'individuo.

osi come nella metamorfosi di alcune specie animali, attraverso l'apoptosi vengono eliminate tutta una serie di cellule e strutture che hanno un proprio ruolo in una data fase dello sviluppo. Sono cioè eliminate con questo processo tutte quelle strutture che, svolto il loro compito, sono d'intralcio allo sviluppo dell'organismo; con questo meccanismo vengono eliminate, nei mammiferi, le membrane interdigitali che residuano dopo la formazione delle dita a partire da un arto a paletta; un altro esempio di processo apoptotico si osserva con la coda del girino quando subisce la metamorfosi in rana.



Figura 5 - Patologia della mano palmata nel caso di mancata apoptosi nello sviluppo morfo genetico

Muoiono per apoptosi anche un numero elevatissimo di neuroni durante lo sviluppo morfogenetico del sistema nervoso centrale (SNC), infatti muoiono le cellule che non sono state in grado di stabilire tra loro, o con le cellule bersaglio, le corrette relazioni. Il normale turn-over tissutale si avvale dell'apoptosi per l'eliminazione delle cellule in fase di senescenza: a tale riguardo il tessuto epiteliale di rivestimento e l'apice dei villi intestinali sono luoghi di intensa apoptosi.

ruolo chiave in particolare nella morfogenesi⁷, nella differenziazione sessuale e nei processi epigenetici di auto-organizzazione che permettono l'emergenza di due dei più complessi organi regolatori del nostro corpo: il sistema immunitario ed il sistema nervoso⁸. Durante lo sviluppo del sistema nervoso circa la metà dei neuroni vanno incontro a fasi di regressione che terminano con la morte delle cellule stesse; questa grande perdita di cellule nervose è comune in molti tipi di neuroni di tutti gli invertebrati e sembra essersi evoluta come meccanismo adattativo durante lo sviluppo del sistema nervoso⁹. La sopravvivenza e lo sviluppo dei neuroni dei vertebrati dipende dalla produzione e dalla captazione di specifiche neurotrofine, tra le quali l'NGF (nerve growth factor), il BDNF (brain derived neurotrophic factor) e le neurotrofine (NT 3-4-5) le quali promuovono la sopravvivenza e lo sviluppo specifico dei neuroni¹⁰. Inoltre, lo sviluppo delle cellule nervose richiede che queste ricevano segnali da altri neuroni con i quali instaurano appropriati contatti sinaptici¹¹. La mancanza di fattori di sopravvivenza può condurre alla morte le cellule; il senso di questo processo è che, tra il gran numero di neuroni prodotti durante la neurogenesi, soltanto la porzione di cellule che riceverà un adeguato supporto neurotrofico e che instaurerà corretti contatti, sopravviverà e continuerà lo sviluppo mentre tutte le altre cellule moriranno¹². Dall'altra parte, alcuni¹³ ritengono che l'apoptosi dei neuroblasti delle zone proliferative ventricolari rappresenti un fenomeno universale caratteristico dello sviluppo del sistema nervoso e che sia una forma

⁷ Vaux, Haecker et al., 1994

⁸ Ameisen, 2002

⁹ Oppenheim, 1991; Bussand Oppenheim, 2004

¹⁰ Aloyz et al., 1998

¹¹ Raff, Barres et al., 1993

¹² Sastry and Rao, 2000

¹³ Blaschke, Weiner et al., 1998

competizione sinaptica poiché tali neuroblasti non hanno ancora instaurato commissioni sinaptiche.

Nel sistema immunitario, l'eliminazione selettiva delle cellule timiche autoreattive, alla fine di una risposta immunitaria si avvale dell'apoptosi.

Inoltre anche l'uccisione della cellula target nelle reazioni di citotossicità avviene per induzione, a livello delle cellule citotossiche, di meccanismi apoptotici, responsabili poi dell'eliminazione della cellula target, inserendovi un enzima specifico definito Granzima. L'assenza di fattori di crescita o di ormoni trofici può indurre alcuni tipi di cellule ad avviare un processo apoptotico; è tramite l'attivazione di un processo apoptotico che vengono eliminate le cellule emopoietiche pluripotenti che vengono prodotte dal midollo osseo in numero superiore alla necessità basali a seguito di infezioni o emorragie. Tale evento apoptotico è innescato da carenza di fattori di crescita. L'apoptosi a cui vanno incontro le cellule delle ghiandole mammarie alla fine della lattazione per assenza di prolattina è un esempio di apoptosi regolata da un controllo ormonale. Molte sostanze tossiche, farmaci, radicali liberi dell'ossigeno e radiazioni ionizzanti causano danni al DNA o gravi stress al reticolo endoplasmatico o ai mitocondri portando all'insorgenza di apoptosi. Infine il processo apoptotico può attivarsi anche nel corso di infezioni virali, in tal caso può essere considerato un meccanismo di difesa da parte dell'organismo per evitare la propagazione virale. Linfociti T infettati dal virus HIV, ad esempio, sono eliminati tramite un processo apoptotico portando alla caratteristica immunodeficienza che segue l'infezione. I virus, però, possono anche essere in grado di mettere in atto delle modalità finalizzate all'evasione di tali meccanismi, inducendo la sintesi di inibitori dell'apoptosi.

2.2 Apoptosi e necrosi

Le cellule sono due e sono tra loro ben distinte e riconoscibili. In particolare si è giunti a distinguere con precisione le caratteristiche e i

meccanismi di regolazione della cosiddetta morte cellulare programmata, o apoptosi, rispetto a quelli della morte cellulare non programmata, nota con il nome di necrosi.

A differenza dell'apoptosi, tipo di morte cellulare attivo e finemente regolato dalla cellula stessa, la necrosi è un evento accidentale e si verifica in risposta ad un'ampia varietà di agenti aggressivi, di natura chimico - fisica, batteriologica -virale e patologica (ipossia, ipertermia, ischemia, reazioni immunitarie, virus, traumi cellulari, radiazioni, sostanze tossiche, ecc.). Inoltre la necrosi è un fenomeno acuto, che si completa in alcuni minuti e, fino ad un certo punto, può regredire, permettendo alla cellula di recuperare le sue funzioni. L'apoptosi è, al contrario, un processo irreversibile, che per attuarsi richiede dei tempi relativamente più lunghi (da una a tre ore), a causa della fine regolazione del processo in tutte le fasi. Inoltre come già evidenziato la morte cellulare programmata è un fenomeno che interessa singole cellule, o un ristretto gruppo di esse in modo asincrono, a differenza della necrosi che coinvolge gruppi rilevanti di cellule fino ad interessare interi organi o tessuti.

Dopo che è avvenuta la morte cellulare, il tessuto necrotico può andare incontro a due diversi tipi di alterazione :

- il tessuto morto diventa duro e biancastro, si ha necrosi coagulativa;
- il tessuto morto si disintegra e liquefa, si ha necrosi colliquativa.

Un tipo particolare di necrosi coagulativa è quella caseosa, chiamata così per l'aspetto macroscopico del tessuto coinvolto, (bianco e simile a formaggio). È caratteristica della lesione tubercolare. Un altro tipo particolare di necrosi è la gangrena, si verifica in arti con interruzione completa dell'irrorazione sanguigna e conseguente necrosi coagulativa.

coinvolge il tessuto adiposo, causata soprattutto da pancreatite. È caratterizzata da una digestione dei grassi ad opera delle lipasi che successivamente precipitano sotto forma di saponi di calcio, dando all'area colpita un aspetto amorfo. La cellula che va incontro a necrosi, perde in modo peculiare la selettività ionica del sistema delle membrane cellulari. Inizialmente si osserva rigonfiamento citoplasmatico e degli organuli cellulari (mitocondri, reticolo endoplasmatico, lisosomi, ecc.) con conseguente perdita della loro organizzazione strutturale. I fenomeni a livello nucleare sono più tardivi e si esprimono dapprima come piccosi (nucleo più piccolo, con cromatina addensata), poi come frammentazione in zolle ed infine come scomparsa totale per espulsione o dissoluzione nel citoplasma. Conseguenza di questa dissoluzione nucleare e di questo rigonfiamento abnorme è la lisi cellulare, con rilascio nei tessuti del contenuto cellulare. Il materiale cellulare così disperso determina nell'area una risposta infiammatoria, che può arrivare nel tempo ad innescare anche reazioni autoimmuni nel caso di ripetuti episodi di necrosi, in quanto le cellule del sistema immunitario sono meno tolleranti al materiale presente all'interno delle cellule dell'organismo. La morte per necrosi, avviene in seguito a gravi ed irreversibili danni patologici¹⁴. Questi eventi portano ad una perdita dell'integrità delle membrane degli organelli, incluso il nucleo, con conseguente rilascio del loro contenuto (ATP, proteasi, lisozimi) fino alla rottura dell'intera cellula e degradazione del DNA in modo aspecifico.

¹⁴ Israels, 1999

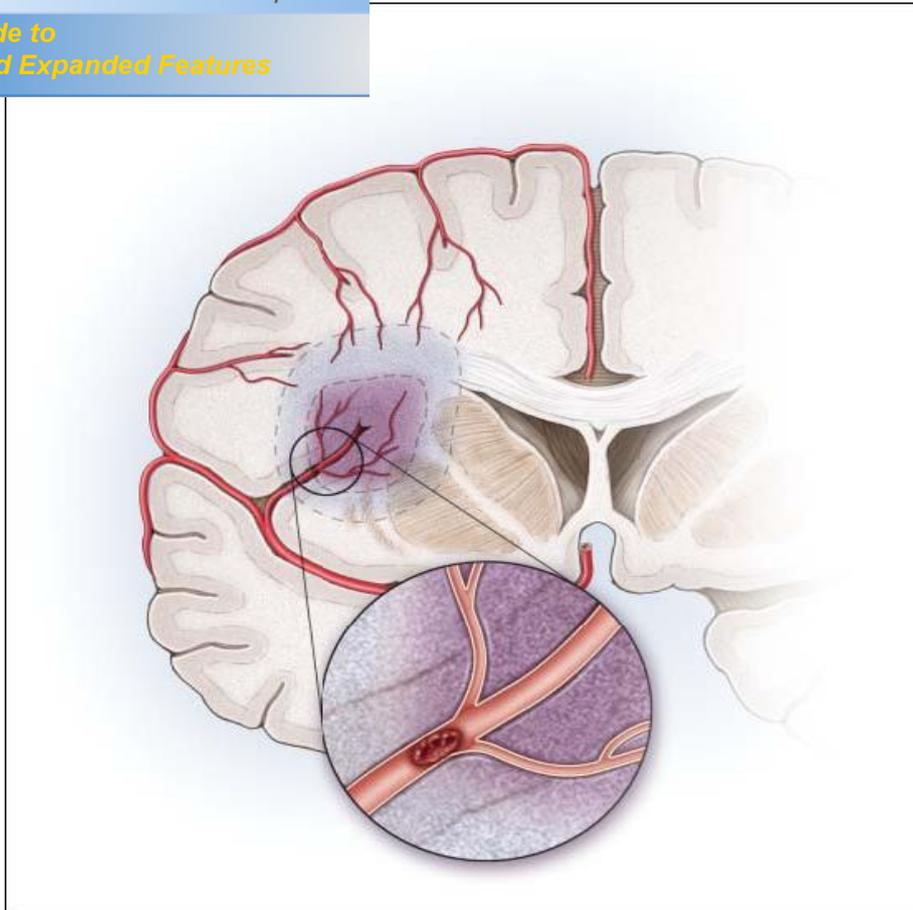


Figura 6 - Un Embolo in una Biforcazione di un arteria cerebrale. La zona perfusa da quest'arteria e le aree circostanti sono soggette ad ipossia e morte cellulare per necrosi. Nelle zone di ombra ci sono vari gradi di flusso sanguigno che stabilizzano una tenuta fra cellule decedute per necrosi, cellule decedute per apoptosi e tessuti sopravvissuti al danno.

L'apoptosi può essere considerata, al contrario della necrosi, un processo di morte cellulare pulito, con danno minimo delle cellule e dei tessuti circostanti poiché la completa eliminazione delle cellule apoptotiche non provoca risposta infiammatoria. Infatti, a differenza della cellula necrotica, quella apoptotica perde rapidamente volume, si stacca dalle cellule vicine perdendo i contatti sia con esse che con la matrice extracellulare ed assume una forma più marcatamente sferica. L'organizzazione interna è mantenuta almeno nelle fasi precoci del processo; gli organuli cellulari, come mitocondri, reticolo endoplasmatico, lisosomi, ecc. sembra rimangano intatti almeno finché il processo non è

nucleare, invece, si osserva la disgregazione dei nucleoni, la condensazione ed il taglio della cromatina; a differenza della necrosi, non è un processo silente: è la cellula stessa che, trascrivendo geni specifici, sintetizzando nuovi enzimi e consumando energia, inizia e porta avanti il processo di morte; ed alla fine, morendo, emette segnali che possono modificare il comportamento delle cellule vicine, comprese quelle che la devono ingerire¹⁵.

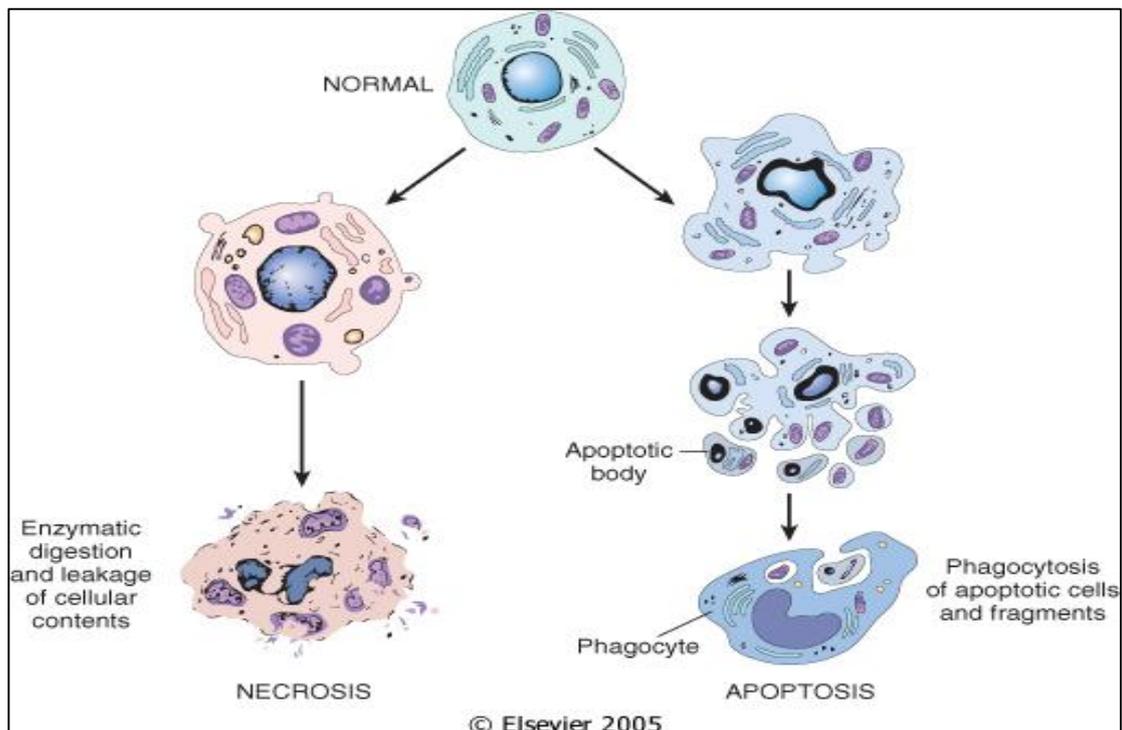


Figura 7 - Differenza di Patways cellulare nel caso di morte per necrosi o per apoptosi.

La serie di modificazioni stereotipate che sono associate con il fenotipo dell'apoptosi vede le cellule ridurre il loro volume citosolico, condensarsi, perdere le specializzazioni di membrana (come i microvilli e le regioni specifiche di contatto con le altre cellule) e staccarsi dalle cellule vicine senza che ci sia una risposta infiammatoria, perché a

¹⁵ Arnoult, Akarid e coll., 2002

ene rilascio del contenuto citosolico nei tessuti

circostanti.

Gli scienziati, studiando lo sviluppo del *C. Elegans*, si resero conto che il passaggio dalla forma embrionale a quella adulta prevedeva la perdita di esattamente 131 cellule. Tale processo doveva inevitabilmente prevedere un meccanismo di controllo altamente regolato, grazie anche all'uso di mutanti genetici, è stato rivelato che la sopravvivenza o la morte delle cellule, durante lo sviluppo, dipende dai prodotti di pochi geni, di cui i principali sono: *ced-3*, *ced-4*, *ced-9* ed *egl-1* (*ced*, dall'inglese *cell death*)¹⁶. L'apoptosi in *C. Elegans* è divenuta modello di base per lo studio dello stesso fenomeno in altri sistemi cellulari.

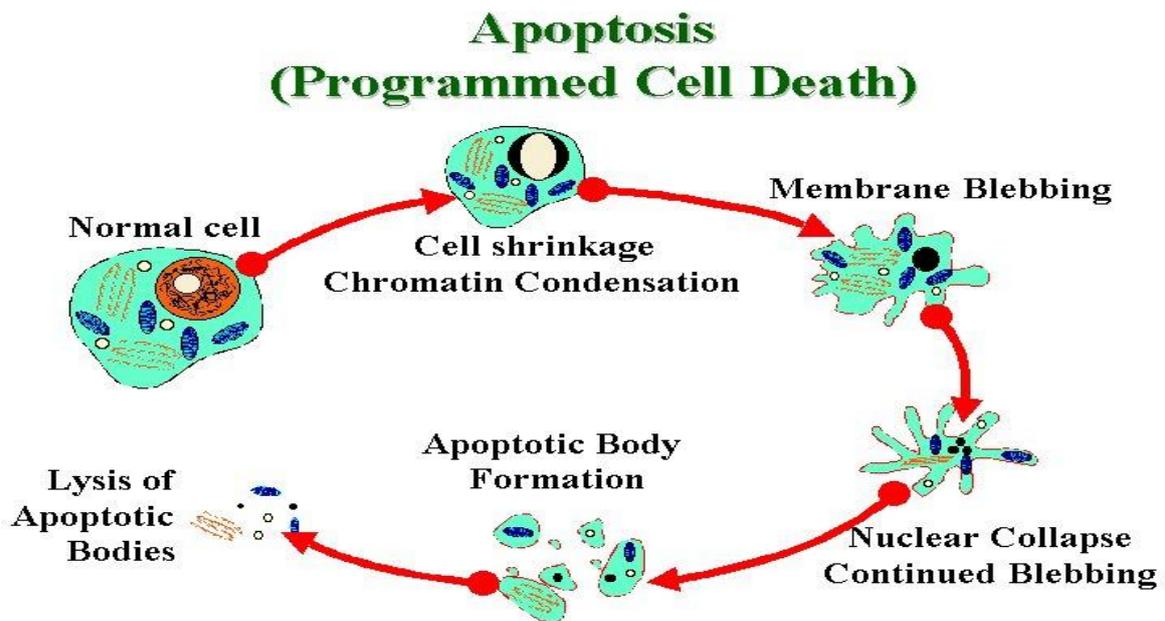


Figura 9 - Rappresentazione grafica degli stadi apoptotici dalla cellula in stato fisiologico alla sua lisi post mortem.

L'estensione della complessità del controllo molecolare della sopravvivenza e della morte della cellula non può essere pienamente apprezzato se non si prendono in considerazione i

¹⁶ Meier, Finch e coll., 2000

que attività di regolazione dei geni tramite processi chimici che non comportano cambiamenti del codice del DNA ma che possono modificare il fenotipo dell'individuo e della progenie), come lo splicing alternativo e modificazioni post-traduzionali (fosforilazioni, defosforilazioni o taglio proteolitico) che possono trasformare il prodotto di un dato gene sia in una proteina pro-apoptotica sia in una anti-apoptotica¹⁷. La morte di una cellula può rappresentare in un organismo pluricellulare una fonte di pericolo per l'integrità dei tessuti. Condizioni di stress fisico e chimico di particolare intensità determinano, infatti, la rottura delle membrane cellulari con conseguente rilascio del contenuto del citoplasma. La morte per necrosi è un evento pericoloso sia per il rilascio di molecole, quali enzimi proteolitici, che provocano un danno diretto alla cellula vicina, sia perchè determina una condizione pro-infiammatoria. Un altro aspetto da considerare è il rilascio di antigeni intracellulari verso i quali l'organismo non ha sviluppato tolleranza immunitaria e che sono quindi potenziale fonte di auto-immunità. In condizioni di stress più blande o per necessità fisiologica, gli organismi pluricellulari hanno sviluppato una modalità di morte cellulare che mira ad annullare possibili effetti traumatici. Tale modalità viene indicata come apoptosi. In particolare il termine apoptosi serve a descrivere la morte cellulare che avviene tramite la realizzazione di cambiamenti morfologici sequenziali e specifici (Figura 9). L'apoptosi è oggi considerata solo una delle possibilità di eliminazione fisiologica delle cellule, mentre il meccanismo più generale a cui si fa riferimento per classificare la realizzazione di un programma genetico di morte è quello definito come PCD (Programmed Cell Death, morte cellulare programmata). Sono state descritte molte situazioni in cui le cellule non muoiono ricapitolando precisamente le caratteristiche morfologiche e biochimiche dell'apoptosi, ciononostante in conseguenza della numerosità dei dati sperimentali

¹⁷ Ameisen, 2002

considerata per le cellule del sistema immunitario la

modanità di morte più frequente.

Tutte le cellule dell'organismo sono predisposte ad attuare la PCD e questa può essere invocata in tutte le fasi della vita di un organismo pluricellulare, sia durante lo sviluppo sia durante l'omeostasi dei tessuti nell'adulto:

eliminazione di cellule ridondanti durante l'embriogenesi

rimodellamento dei tessuti durante la crescita

riparo e mantenimento dei tessuti

senescenza cellulare

modulazione del sistema immunitario

atrofia cellulare a seguito di mancanza di fattori di crescita

eliminazione di cellule con danni genetici irreparabili

Si è calcolato che circa 60 miliardi di cellule - 0,1 % del totale - in un uomo adulto muoiono giornalmente per apoptosi. Le cellule eliminate vengono generalmente rimpiazzate da nuove cellule creando un sistema di controllo talmente dinamico che ha spinto alcuni studiosi a preferire il termine *omeodinamica* a quello di omeostasi.

L'apoptosi si realizza attraverso una specifica sequenza di eventi biochimici che ha come scopo principale quello di arrecare il minimo danno al tessuto a cui appartiene la cellula che muore. Tra le caratteristiche che vale la pena di ricordare in questa occasione vi è il mantenimento della integrità della membrana citoplasmatica, la frammentazione del DNA e l'espressione di molecole di segnalazione sulla superficie cellulare. La eliminazione delle cellule apoptotiche da parte dei macrofagi previene la realizzazione della cosiddetta *necrosi secondaria*, un fenomeno osservabile in vitro ma poco frequente in vivo a causa della sua pericolosità. Infatti, sebbene l'apoptosi sia caratterizzata dal mantenimento della integrità di membrana, tale caratteristica viene necessariamente a mancare in tempi più

otica, non esiste più un macchinario biochimico che permetta il suo mantenimento. Quindi, in assenza di fagocitosi, i corpi apoptotici tendono nel tempo ad aprirsi rilasciando il contenuto cellulare che, come nel caso della necrosi primaria, è dannoso per l'integrità del tessuto.

Al fine di comprendere le modalità di controllo del processo apoptotico, e le sue disfunzioni, è necessario conoscere le vie molecolari che ne permettono la realizzazione. Le attuali conoscenze ci indicano che l'apoptosi si realizza attraverso l'attivazione di vie molecolari multiple, ognuna delle quali prevede la partecipazione di diverse proteine regolatrici. Le molecole che prendono parte alla realizzazione delle vie di trasduzione del segnale apoptotico si possono dividere in attivatori ed inibitori della apoptosi. A seconda del tipo cellulare e della situazione fisiologica la via molecolare preferita e la sua composizione possono variare notevolmente. Dall'arrivo di un segnale pro-apoptotico possono bastare poche ore perchè l'apoptosi sia completata o anche alcuni giorni. Tale differenza può dipendere dalla disponibilità del macchinario molecolare necessario ad innescare la morte della cellula. Nel primo caso, l'attuazione rapida dell'apoptosi si realizza attraverso l'utilizzo di proteine di segnalazione già disponibili e funzionali, nel secondo caso l'apoptosi potrà compiersi solo a seguito della esecuzione di processi di regolazione trascrizionale.

CAMBIAMENTI MORFOLOGICI	CAMBIAMENTI BIOCHIMICI
CONDENSAZIONE CITOPLASMA	CONDENSAZIONE E FRAMMENTAZIONE DEL DNA
INDEBOLIMENTO ED INSPESSENTAMENTO DEI MITOCONDRI	RILASCIO NEL CITOPLASMA DI CITOCROMO C
BLEBBING DELLA MEMBRANA CELLULARE	ATTIVAZIONE DELLA CASCATA DELLE CASPASI



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

PI

ESPOSIZIONE FOSTATIDITILSERINA

Figura 8 - Evoluzione dei cambiamenti morfologici e di quelli biochimici nella cellula all'attivazione del fenomeno apoptotico.

3.1 Le fasi dell'apoptosi

Il meccanismo apoptotico pur diversificandosi da organismo ad organismo e, spesso da cellula a cellula nel medesimo organismo, può essere suddiviso in quattro fasi principali e ricorrenti:

- 1) **Induzione:** numerosi fattori svolgono un ruolo chiave nell'induzione dell'apoptosi, fra questi per esempio il trattamento con TNF o farmaci citotossici, radiazioni ionizzanti e UV, shock da calore, ipossia, infezioni virali¹⁸. Altri stimoli importanti sono la rimozione dei fattori di crescita presenti nel siero¹⁹ e la riduzione di disponibilità di molecole di ATP. Se il calo di ATP è massiccio ed improvviso la cellula muore per necrosi, mentre se è più moderato, muore per apoptosi²⁰. L'ATP è inoltre necessario per l'attivazione della procaspasi-9 e quindi per la condensazione e la frammentazione nucleare nelle fasi finali del processo²¹;
- 2) **Esecuzione:** la fase di esecuzione sembra essere comune a tutte o quasi le vie d'innescamento ed è costituita da una serie di reazioni enzimatiche a cascata in un certo modo paragonabili a quelle del complemento o della coagulazione del sangue che, una volta innescate, procedono automaticamente portando inevitabilmente la cellula a morte. E' in questa fase che entrano in gioco le caspasi esecutrici;

¹⁸ Israels, 1999

¹⁹ Pettmann, Henderson, 1998

²⁰ Leist, Single e coll., 1997

²¹ Granville, Carthy e coll., 1998

: nei tessuti, i corpi apoptotici vengono rapidamente fagocitati dalle cellule circostanti e/o dai macrofagi e degradati all'interno dei lisosomi. Sono stati finora identificati tre diversi sistemi mediante i quali i fagociti riconoscono i corpi apoptotici.

Si pensa che la scelta del meccanismo di riconoscimento usato dai fagociti sia influenzato, oltre che dal tipo cellulare coinvolto, anche da stimoli provenienti dal microambiente. Quale che sia la modalità con cui le cellule ed i corpi apoptotici vengono riconosciuti e fagocitati, il risultato finale è sempre quello di un'eliminazione "pulita", senza sconvolgimento dell'architettura strutturale del tessuto e senza innesco di un processo infiammatorio.

3.2 Le proteine coinvolte

L'apparato apoptotico è costituito da componenti che rappresentano sensori ed effettori, i primi deputati a controllare l'ambiente esterno ed interno della cellula per valutare se le condizioni esistenti sono tali da mantenerla in vita o no; si tratta di recettori di superficie che legano fattori di sopravvivenza o fattori di morte, ossia fattori che trasportano segnali che inducono l'apoptosi cellulare oppure legano molecole intracellulari che attivano un programma apoptotico in risposta allo stress od alla presenza di alterazioni quali, ad esempio, danni al DNA. Gli effettori terminali sono una serie di proteine intracellulari denominate caspasi ó Cysteine aspartate proteases- le proteine implicate, quindi, possono essere raggruppate in 2 grandi famiglie distinte :

- quella delle caspasi;
- quella delle proteine Bcl-2 (B-cell lymphoma gene 2).

Le caspasi appartengono ad una famiglia di cistein-proteasi citosoliche evolutivamente conservate, già a partire dal nematode *C. elegans* fino all'uomo²². Esse rappresentano il cuore della messa in opera del macchinario apoptotico, e sono state classificate in 3 gruppi, in base alla sequenza bersaglio²³ ed al loro ruolo fisiologico²⁴.

Le caspasi:

- Gruppo 1 (caspasi attivatrici di citochine): comprende le caspasi -1, -4, -5, -11, -12, -13, -14 ICE-simili, coinvolte in processi infiammatori ed apoptotici.
- Gruppo 2 (caspasi iniziatrici dell'apoptosi): comprende le caspasi -6, -8, -9, -10 direttamente coinvolte nel processo apoptotico;
- Gruppo 3 (caspasi effettrici dell'apoptosi): comprende le caspasi -2, -3, -7, CED-3-simili, direttamente coinvolte nel processo apoptotico.

Recentemente, nei mammiferi è stata identificata anche la caspasi-15, che sembra essere implicata nell'attivazione sia di Bid che di caspasi-3²⁵.

Queste proteasi esistono nella cellula in forma inattiva, vengono denominate pro-caspasi, l'attivazione avviene in conseguenza a clivaggio proteolitico a livello dei residui di asparagina.

L'attivazione mediante i tagli proteolitici è tipica delle caspasi effettrici (caspasi -3, -6, -7) a valle delle caspasi -9 e -8. Anche la nuova caspasi-15 fa parte di questo; mentre l'attivazione mediante contatto è peculiare della procaspasi-8.

²² Marks, Berg, 1999

²³ Gorman, Orrenius e coll., 1998; Strasser, O'Connor e coll., 2000

²⁴ Fuentes-Prior, Salvesen, 2004

²⁵ Eckhart, Ballaun e coll., 2005

processi biologici vitali per le cellule, provocandone la morte per apoptosi, il processo di attivazione delle pro-caspasi in caspasi avviene tramite due vie, distinte per processo e funzionamento : la via estrinseca, dove segnali di attivazione provengono dall'ambiente esterno alla cellula, oppure la via intrinseca, i segnali provengono dai mitocondri.

Le prime caspasi ad essere attivate sono la 8 e la 9, esse modulano l'attività di proteine regolatrici di meccanismi necessari alla sopravvivenza cellulare; inducono la degradazione del DNA in modo indiretto²⁶ legandosi ad un inibitore (ICAD) normalmente legato ad una endonucleasi attivata da caspasi (CAD); la caspasi-3 scinde il legame ICAD-CAD, rendendo l'endonucleasi libera di agire.

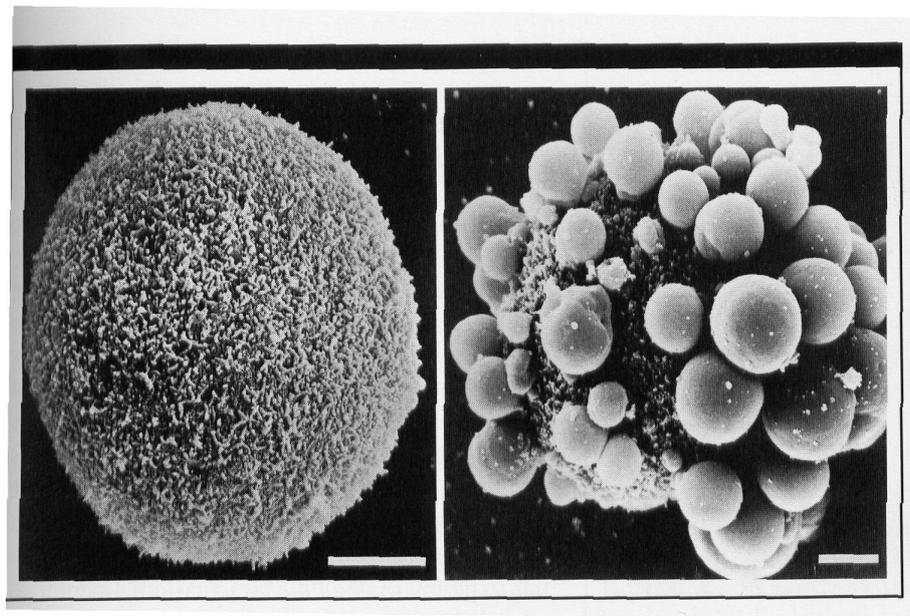


Figura 10 - Cellula normale e cellula in vescicolazione o blebbing

L'attivazione delle caspasi provoca cambiamenti morfologici nelle cellule; queste assumono una forma tondeggiante con evaginazioni della membrana simili a bolle (blebbing).

²⁶ Enari, Sakahira e coll., 1998

cellulare è presumibilmente causata dall'idrolisi di proteine cross-legate, come la gelsolina, la actina e la laminina dell'involucro

nucleare²⁷. Si tratta di una famiglia di proteine che comprende alcune ad attività ANTI-APOPTOTICA (bcl-2 e bcl-XL) e altre ad attività PRO-APOPTOTICA (Bad o Bax).

Le proteine pro-apoptotiche si trovano nel citosol dove agiscono da sensori di danno cellulare, in seguito ad un danno esse migrano alla superficie dei mitocondri dove si trovano le proteine anti-apoptotiche Bcl-2.

L'interazione fra questi due gruppi di proteine porta alla perdita della normale funzione delle proteine ad attività anti-apoptotica e alla formazione di pori sulla membrana mitocondriale, con rilascio di citocromo c e altre molecole pro-apoptotiche dallo spazio intermembrana.

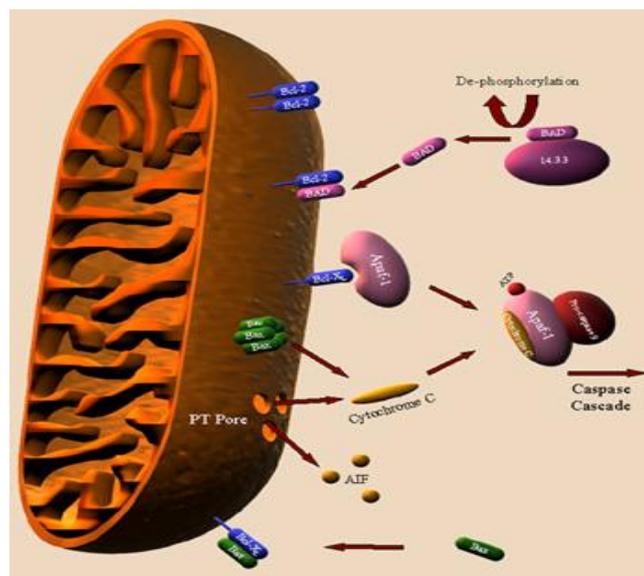


Figura 11 - Stimolazione dei sensori mitocondriali a rilascio di contenuto citosolico tra cui Citocromo C che attiva Pro-caspasi 9

3.2.2 La famiglia delle Bcl-2:

In condizioni fisiologiche esiste un equilibrio fra fattori pro-apoptotici e fattori anti-apoptotici, alla famiglia delle Bcl-2 appartengono membri con entrambe le funzioni.

²⁷ (Marks, Berg, 1999)

glia ad essere stato identificato, insieme a Bcl-X_L, hanno funzioni anti-apoptotiche, mentre Bax e Bak antagonizzano tale funzione.

Curiosamente, una di queste molecole, la Bcl-2 (B-cell leukemia/lymphoma 2), venne scoperta in quanto prodotta in eccesso in linfomi centrofollicolari B4.

Successivi studi mostrarono che la Bcl-2 non agiva come gli altri oncogeni stimolando la proliferazione cellulare, ma attraverso l'inibizione della morte per apoptosi.

Con questo meccanismo la Bcl-2 può conferire una maggior capacità di sopravvivenza a cellule trasformate e favorire la progressione e la resistenza ai farmaci in diverse neoplasie (leucemia mieloide cronica, microcitoma polmonare, neuroblastoma).

Altre molecole capaci di inibire l'apoptosi, similmente alla Bcl-2, sono state recentemente identificate.

Tra queste ricordiamo le IAP (Inhibitor of Apoptosis Protein), e in particolare il gene NAIP (Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein), le cui alterazioni potrebbero avere un ruolo nella patogenesi dell'amiotrofia.

Tutti questi membri della famiglia hanno domini multipli denominati BH da Bcl-2 Homology Domains, ad un terzo gruppo, invece, appartengono molecole con un solo dominio BH, per cui sono state denominate BH3 only molecules e sono promotrici apoptotiche (operano bloccando l'azione delle proteine anti-apoptotiche²⁸ o attivando le proteine pro-apoptotiche²⁹).

Bax e Bak sono coinvolti nell'apoptosi iniziata dai mitocondri. Le molecole BH3_only, invece, hanno un ruolo nella trasmissione dei segnali.

²⁸ (Bcl-2, Bcl-X_L)

²⁹ (Bax e Bak -Ward, Kogel, 2004)

indurre l'attivazione di queste molecole che si traslocano nei mitocondri e iniziano l'apoptosi dipendente da Bax e Bak o inibiscono Bcl-2 e Bcl-X_L.

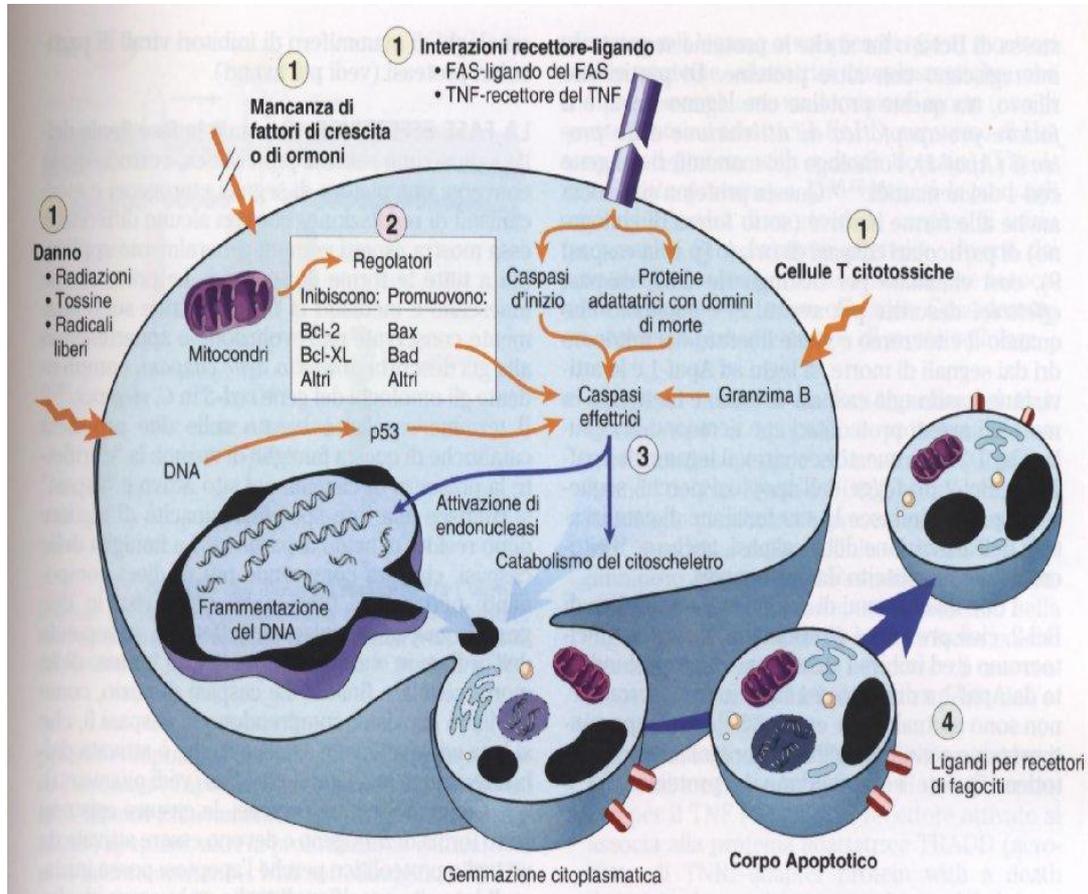


Figura 12 ó Effettori ed inibitori apoptotici, famiglia Bcl e pathway.

Numerosi studi hanno rivelato che una sovra espressione di Bcl-2 aumenta la sopravvivenza dei neuroni simpatici in assenza di NGF (la deprivazione di NGF induce apoptosi) ed inoltre protegge dall'apoptosi indotta da radiazioni ionizzanti, farmaci chemioterapici, ipossia ed infezioni virali.

Proteine anti-apoptotiche come Bcl-2 possono impedire il rilascio del citocromo c oppure sequestrare la proteina Apaf-1, bloccando l'attivazione della procaspasi-9³⁰.

³⁰ Granville, Carthy e coll., 1998; Fadell, Zhivotovsky e coll., 1999; Kim, 2005

no una localizzazione dipendente dal ruolo svolto:
inibitore anti-apoptotico Bcl-2 è situato soprattutto sulle membrane degli organelli
(reticolo endoplasmatico, nucleo e membrana esterna del mitocondrio). Bax, invece, è
situata principalmente nel citoplasma, ancorata alle strutture citoscheletriche³¹. Bax è
strutturalmente simile ad alcune tossine batteriche che formano dei pori ed è stato
dimostrato che può formare dei canali nei lisosomi. La sovra espressione di Bax o
l'applicazione di Bax ai mitocondri isolati provoca il rilascio di citocromo c dal
mitocondrio anche in assenza di segnali apoptotici³². Bax e Bak possono agire sul reticolo
endoplasmatico controllando l'omeostasi del calcio³³.

3.3 Le vie apoptotiche

I segnali che attivano le caspasi seguono due vie principali: via estrinseca, mediata da
recettori di superficie e via intrinseca, attraverso i mitocondri. Sebbene questi due
pathways siano spesso considerati separatamente, esiste tra di loro un ampio cross-
talk. La via estrinseca richiede la presenza di recettori nella membrana citoplasmatica e
coinvolge la caspasi-8; la via intrinseca è incentrata sul ruolo svolto dai mitocondri e
coinvolge la caspasi-9³⁴. Un'altra via è caratterizzata dall'attivazione della caspasi-2.
Recentemente, sono state individuate vie che coinvolgono il reticolo endoplasmatico: una
di queste è indipendente dall'attivazione della caspasi, un'altra porta all'attivazione della
caspasi-12.

3.3.1 Via estrinseca

³¹ (Desagher, Martinou, 2000)

³² (Scorrano, Korsmeyer, 2003)

³³ (Scorrano, Oakes e coll., 2003)

³⁴ Hengartner, 2000

erficie - death receptors ó appartenenti alla famiglia del TNFR, i più noti dei quali sono TNFR1 e Fas. Questi recettori sono trimeri attivati dall'interazione rispettivamente di TNF e Fas Ligand (FasL) e contengono un dominio intracellulare o death domain che, in seguito all'attivazione del recettore, lega il complesso DISC (Death Inducing Signaling Complex) con conseguente attivazione di una cascata di caspasi.

Il Death Domain di Fas lega la proteina adattatrice FADD che richiama caspasi 8 determinandone il clivaggio e l'attivazione, TNFR1 (recettore per il tumor necrosis factor), può anch'esso determinare l'attivazione delle caspasi-8 ed innescare la via estrinseca, si lega alla proteina adattatrice TRADD che a sua volta interagisce con FADD con la conseguente attivazione di caspasi 8.

3.3.2 Via intrinseca o mitocondriale

In seguito a stress cellulare, le proteine pro-apoptotiche Bax e/o Bak inducono rilascio nel citoplasma del contenuto mitocondriale, incluso Citocromo C, questo forma un complesso con la proteina adattatrice Apaf-1 e ATP. Questo complesso, noto come apoptosoma, si lega alla pro-caspasi 9 attivandola. La via mitocondriale è attivata in risposta sia ad insulti interni, come il danneggiamento del DNA con attivazione di P53, che a segnali extracellulari o alla mancanza di fattori di crescita: tutti segnali elencati convergono sui mitocondri e conducono al rilascio del citocromo c, delle proteina secondaria attivatrice di caspasi (SMAC), del fattore inducente l'apoptosi (AIF) che è legato alla condensazione della cromatina e della endonucleasi G la cui funzione non è stata ancora chiarita³⁵. Implicati in questo processo sono i membri della famiglia Bcl-2 pro-apoptotici, in particolare Bax, Bak, Bid e Bim. Questi traslocano dal citosol (dove sono inattivi) agli organuli cellulari dove sono attivati via proteolisi, de-fosforilazione o altri meccanismi.

³⁵ Orrenius, 2003

La membrana mitocondriale esterna, i membri pro-competono con quelli anti-apoptotici nella formazione di canali attraverso cui verranno rilasciate le varie proteine. Una volta rilasciato, quindi, il Citocromo c si associa con la proteina fattore attivante proteasi apoptotiche (Apaf-1), con la procaspasi-9 e probabilmente con altre proteine, formando l'apoptosoma, complesso in grado di attivare la caspasi-9.

La formazione dell'apoptosoma viene antagonizzata da una famiglia di inibitori di caspasi chiamati inibitori dell'apoptosi (IAPs), ma questi, a loro volta, sono inibiti da SMAC/DIABLO e Htra/Omi³⁶. Il funzionamento dell'apoptosoma è regolato anche dalla oncoproteina pro-timosina- (Pro-T) e dal soppressore di tumore putativo associato alla proteina HLA-DR (PHAP)³⁷.

Esistono due meccanismi con cui il citocromo c viene rilasciato nel citosol: uno dei meccanismi coinvolge l'apertura di pori di permeabilità transitoria (PTP), costituiti da canali anionici voltaggio-dipendenti (VDCA), da traslocatore di nucleotidi di adenina (ANT), da ciclofilina D (CyD), e probabilmente da altre proteine.

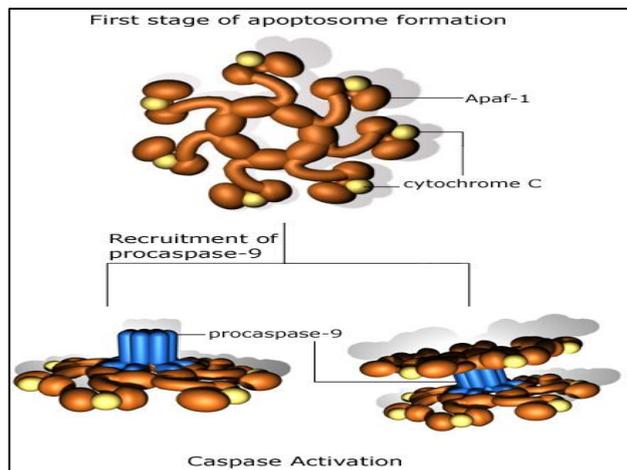


Figura 13 - Formazione apoptosoma tra interazione di Apaf-1 e Citocromo c, conseguente attivazione della pro- caspasi 9 in caspasi

³⁶ (Breckenridge a Xue, 2004)

³⁷ (Orrenius, 2003)

soliti e molecole delle dimensioni di 1,5 KDa. L'apertura dei pori porta ad un rigonfiamento della matrice, alla rottura della membrana mitocondriale esterna (OMM) e al rilascio del citocromo c (Cyt c) e delle altre proteine già citate. Possono avvenire anche aperture transienti dei pori laddove una piccola frazione di mitocondri subisce una variazione di permeabilità in un dato momento. In questo caso, il rilascio delle proteine mitocondriali avviene senza rigonfiamento di ampia entità o perdita del potenziale mitocondriale nell'intera popolazione.

I pori transienti possono aprirsi in seguito alla diminuzione di potenziale di membrana mitocondriale. In entrambi i casi il processo è antagonizzato dalla ciclosporina A, che si lega a CyD e previene la formazione dei pori. Un altro meccanismo di permeabilizzazione della membrana mitocondriale esterna coinvolge i membri della famiglia di proteine Bcl-2 (Bax, Bak e t-Bid). Il citocromo normalmente è legato alla membrana mitocondriale interna attraverso un fosfolipide anionico detto cardiolipina. La cardiolipina si trova soltanto nelle membrane mitocondriali e soprattutto, se non esclusivamente, in quella interna.

La dissociazione del citocromo c dalla cardiolipina è un importante primo passo per il rilascio del citocromo c nel citosol. Tale rilascio può essere stimolato dalla produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) così come dal legame del Ca^{2+} alla cardiolipina³⁸. Recenti studi hanno dimostrato il coinvolgimento dei membri pro-apoptotici Bax e Bak nella regolazione del Ca^{2+} cellulare³⁹. Bax e Bak traslocano dal citosol al reticolo endoplasmatico (dove causano diminuzione delle scorte di Ca^{2+} del reticolo) ed ai

³⁸ Orrenius, 2003

³⁹ Petronilli, Penzo e coll., 2001; Scorrano, Oakes e coll., 2003

capacità di captare il Ca^{2+} causano variazioni della permeabilità).

3.3.3 Via dipendente da caspasi-2lk

L'attivazione da procaspasi-2 a caspasi-2, dovuta a danni del DNA, porta al rilascio di citocromo c ed alla formazione dell'apoptosoma, in modo del tutto simile alla via intrinseca, con meccanismi non del tutto chiari⁴¹.

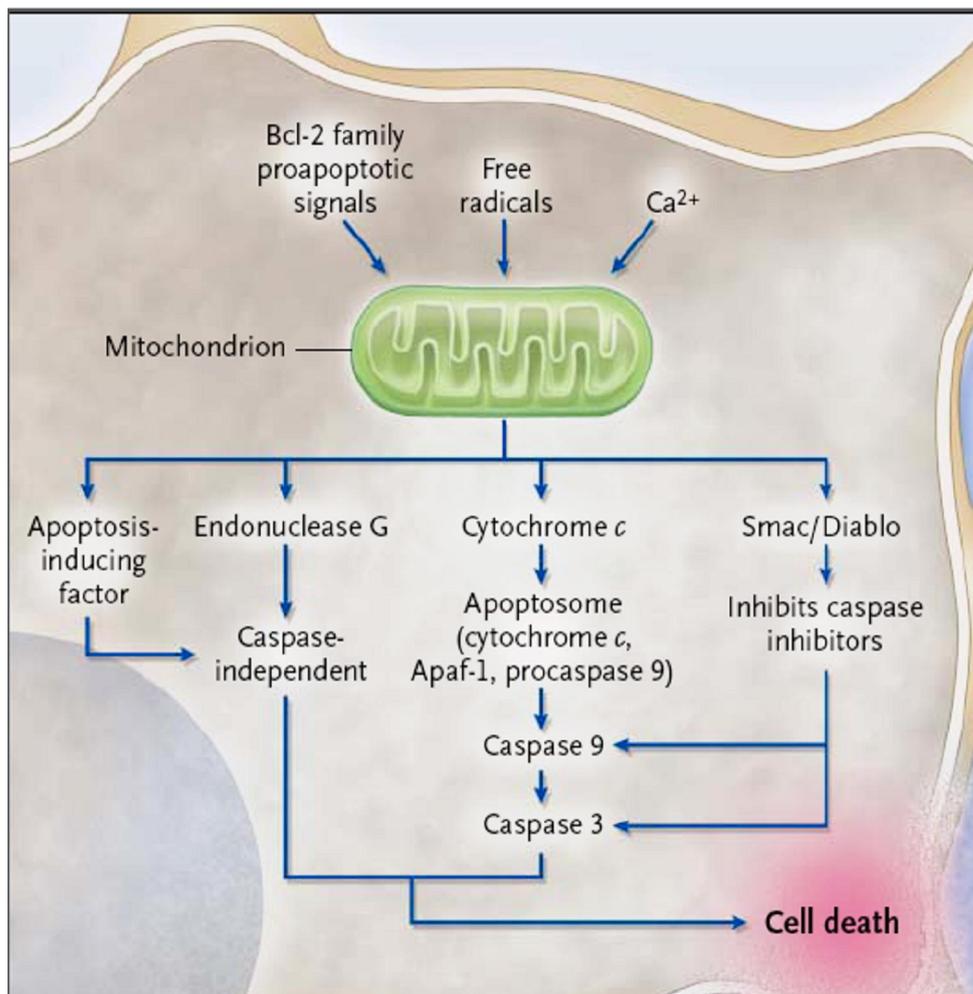


Figura 14 - Via Intrinseca Mitochondriale, proteasi coinvolte nel processo di endonucleasi

3.3.4 Via del reticolo endoplasmatico

⁴⁰ Petronilli, Penzo e coll., 2001

⁴¹ Orrenius, 2003; Philchenkov, 2004

meccanismo di ripiegamento delle proteine (UPR *unfolded protein response*), oppure le alterazioni dell'omeostasi del Ca^{2+} scatenano una serie di processi enzimatici che conducono il reticolo endoplasmatico ad uno stato di stress che, se si prolunga nel tempo, può condurre alla morte della cellula⁴². Lo stress del reticolo endoplasmatico induce l'attivazione della caspasi-12. Quest'ultima, attivata, porta all'attivazione di caspasi-3 e alla successiva cascata di eventi apoptotici⁴³.

3.3.5 Via indipendente da caspasi

La via di traduzione del segnale apoptotico indipendente da caspasi è mediata da granzima A (GrA)²⁶. Dopo essere trasportato all'interno della cellula, GrA scatena una via caratterizzata dalla formazione di rotture sul DNA a singola elica e dell'apparente morfologia apoptotica²⁶. L'endonucleasi coinvolta nella formazione di tali danni al DNA è stata identificata come DNAsi attivata da GrA (GAAD), conosciuta anche come NM23-H1. L'attività di GAAD è inibita da specifici inibitori (IGAAD), conosciuti anche come complesso SET, il quale è collocato nel reticolo endoplasmatico. Questo complesso contiene un inibitore della proteina fosfatasi 2 (pp32), la proteina SET di assemblaggio del nucleosoma, HMG2 e Ape 1 (endonucleasi-1 apurinica). In questa via GrA idrolizza SET, HMG2 e Ape1, ma non pp32 e in questo modo GAAD viene rilasciata ed attivata, e trasloca al nucleo dove induce la frammentazione della catena di DNA²⁶. È importante sottolineare che le vie coinvolte nella traduzione del segnale apoptotico non sono isolate ed indipendenti. Può infatti esistere un'interazione tra la via estrinseca e quella intrinseca attraverso la proteina Bid, la quale dopo esser stata idrolizzata da caspasi-8, promuove il

⁴² Nakagawa, Zhu e coll., 2000; Rao, Pell e coll., 2002

⁴³ Orrenius, 2003

idrolisi di Bid si trovano anche in casi dove la via estrinseca non è attivata. Ad esempio, ciò avviene nell'apoptosi indotta dall'1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP) in cellule della substantia nigra. L'attivazione di caspasi-8 e l'idrolisi di Bid portano al rilascio del citocromo c e la successiva attivazione di caspasi-9, suggerendo che questo sia un probabile meccanismo di amplificazione nella morte delle cellule dopaminergiche⁴⁵.

Recenti ricerche, inoltre, hanno dimostrato che la via del reticolo endoplasmatico e quella del mitocondrio sono ampiamente interconnesse⁴⁶. Infatti, la proteina pro-apoptotica BAP31 risiede nel reticolo endoplasmatico ed aumenta il segnale Ca^{2+} pro-apoptotico che passa dal reticolo al mitocondrio dopo che BAP31 è idrolizzata grazie all'azione della caspasi-8 localizzata nel mitocondrio⁴⁷.

L'interdipendenza di questi compartimenti si basa sulla condivisione di regolatori dell'apoptosi. Un altro esempio è PACS 2, il quale si lega alla proteina Bid in seguito ad uno stimolo apoptotico, ed attraverso l'idrolisi mediata dalla caspasi-8, induce il rilascio di citocromo c. PACS 2 risponde, quindi, agli stimoli apoptotici traslocando dal reticolo endoplasmatico al mitocondrio⁴⁸.

⁴⁵ Viswanath, Wu, e coll., 2001

⁴⁶ Levine e Rabouille, 2005

⁴⁷ Breckenridge, Stojanovic e coll., 2003; Chandra, Choy e coll., 2004

⁴⁸ Simmen, Aslan e coll., 2005

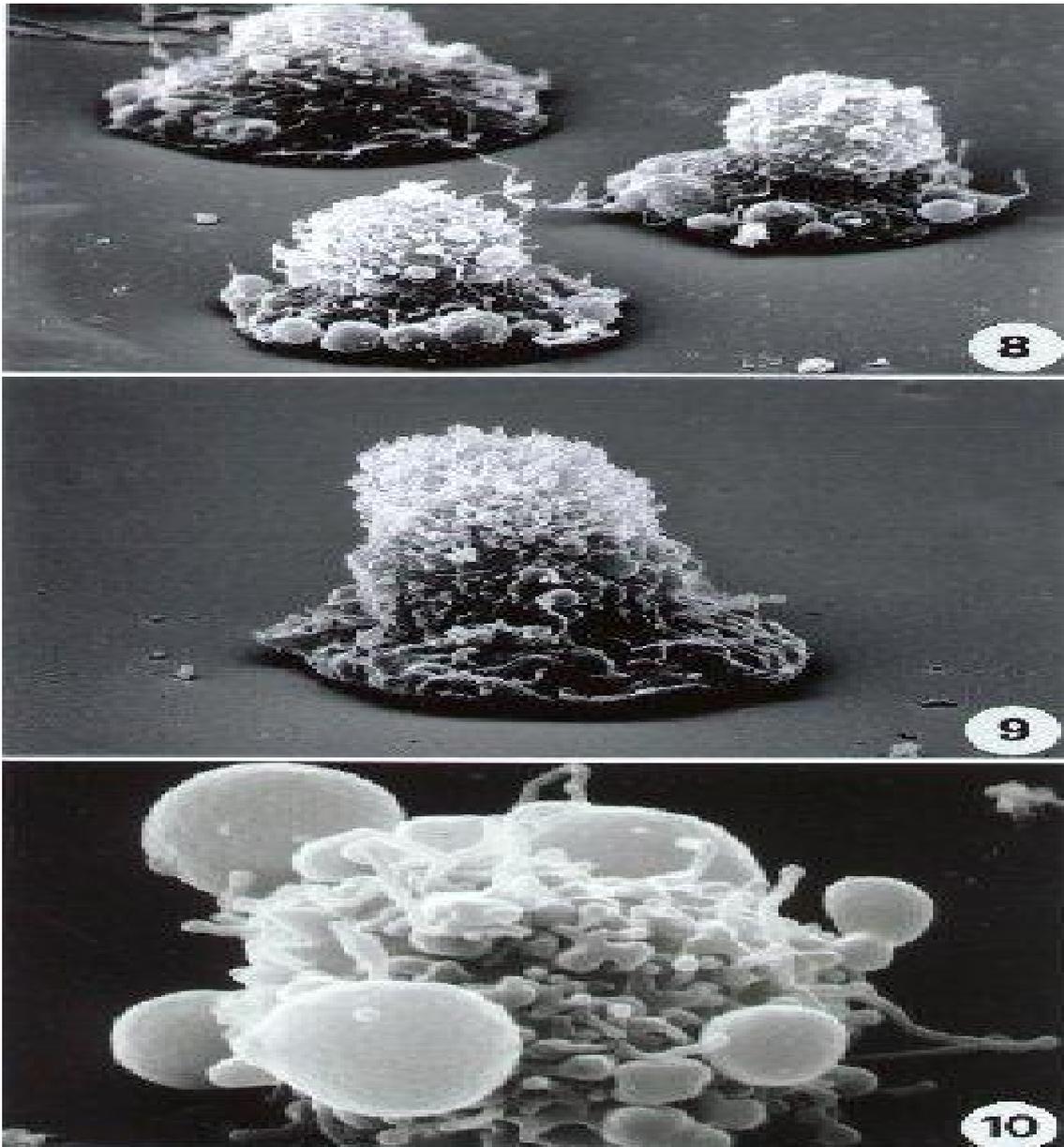


Figura 15 - Immagini al microscopio elettronico dei vari stadi di blebbing cellulare.

APOPTOSI NELLE PATOLOGIE

La recente scoperta che alterazioni nel meccanismo di apoptosi possono avere un ruolo nelle patologie umane ha suscitato curiosità e interesse in ogni campo specialistico della medicina, il tentativo di spiegare con l'apoptosi tutte le patologie non comprese sta conducendo a una vera e propria esplosione di studi sull'argomento.

Il funzionamento di un organismo pluricellulare è basato sull'equilibrio tra processi di migrazione, proliferazione, differenziazione e morte delle cellule di cui è composto.

La morte cellulare come conseguenza estrema di un danno biologico, è uno degli eventi più cruciali in patologia ed è la conseguenza di aberrazioni allo stato fisiologico come fenomeni di ischemia, ossia mancanza di apporto di sangue, infezioni, tossine e reazioni immunitarie, cause endogene, come la mancanza geneticamente determinata di un enzima che altera le normali funzioni metaboliche.

Una alterata regolazione dell'apoptosi può dare origine a due gruppi di patologie: quelle associate ad inibizione e quelle da eccesso di apoptosi.

Le patologie associate all'inibizione dell'apoptosi danno origine all'incremento della sopravvivenza cellulare, in questo caso, bassi livelli di apoptosi prolungano la sopravvivenza di cellule che aberrano.

Di contro si trovano le malattie associate ad aumento dell'apoptosi ossia da morte cellulare eccessiva. Queste patologie sono associate a notevole perdita di cellule normali o a funzione difensiva e comprendono:

- le malattie neurodegenerative, che si manifestano con la perdita di particolari gruppi di neuroni, come nel caso dell'atrofia muscolare spinale;
- il danno ischemico, come nell'infarto del miocardio e nell'ictus;

lotta da virus, come si verifica nella sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS).

Un alterato funzionamento dei processi di morte cellulare programmata, quindi, può avere importanti conseguenze sulla crescita dell'individuo, sull'invecchiamento, sulla risposta immune, sui tumori e sulle malattie neurodegenerative.

Come abbiamo precedentemente osservato, i segnali esterni, attraverso il legame di diversi recettori (FAS, TNF-r, CD40, ecc.), vengono trasdotti all'interno della cellula in altrettanti percorsi, tutti questi convergono infine in una cascata di eventi che sfocia nell'auto-digestione cellulare con tipiche alterazioni morfologiche e biochimiche (rimpicciolimento cellulare, vacuolizzazione citoplasmatica, condensazione nucleare, frammentazione dei cromosomi).

Qualunque sia lo stimolo, le molecole che agiscono nelle fasi centrali di questo processo hanno un ruolo chiave nel modulare l'apoptosi, e quindi la capacità delle cellule di proliferare o di morire.

Una molecola con azione favorente l'apoptosi è la proteina p53, classificata inizialmente come anti-oncogene in quanto il gene della proteina p53 è mutato nel 50% dei tumori; la sua inattivazione favorisce alcune specifiche neoplasie tra cui sarcomi, il cancro della mammella ed i tumori del SNC.

La divisione cellulare provoca l'accorciamento dei telomeri che si accompagna all'invecchiamento della cellula, nell'uomo ci sono 92 telomeri che indicano la durata della vita. Le cellule nella maggior parte dei tessuti umani gradualmente rallentano la loro crescita in proporzione all'accorciamento dei telomeri, fino a che il telomero raggiunge lunghezza finita: a quel punto la cellula smette di dividersi. Questo arresto è determinato da p53, la cui attivazione avviene anche in presenza di un danno al DNA.

...e sono quindi riconosciute dalla cellula come una rottura del doppio filamento, ciò viene registrato come danno al DNA scatenando il check point mediato da p53, che causa un arresto della crescita e l'avvio della senescenza.

Tuttavia in caso di mutazione di p53, il ciclo cellulare può ignorare il segnale e continuare a dividersi entrando in un ciclo di rottura o fusione, un ponte che causa un massiccio danno cromosomiale ed instabilità cromosomica.

Alcune cellule possono sopravvivere a questo periodo di catastrofe genetica riattivando la telomerasi che arresta il ciclo catastrofico e ripristina una sufficiente stabilità cromosomica necessaria per la sopravvivenza cellulare. Queste cellule danneggiate possono accumulare ulteriori mutazioni e dare origine a:

- cancro, principalmente carcinomi con mutazioni di p53 o tumori ormono - dipendenti, come quelli alla mammella, alla prostata o all'ovaio;
- malattie autoimmuni, che possono insorgere se i linfociti auto-reattivi non sono eliminati al termine di una risposta immunitaria.

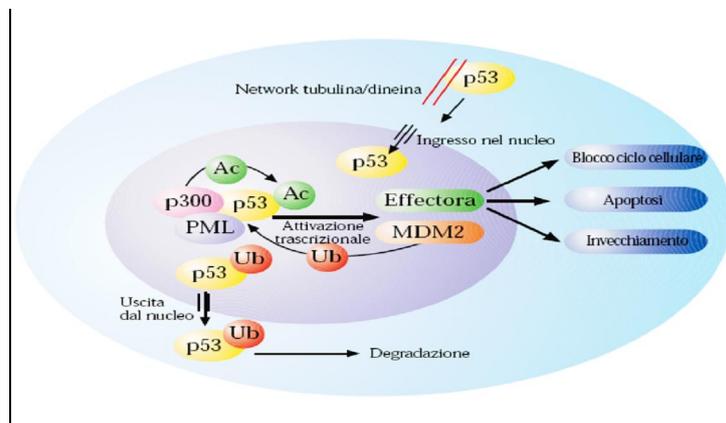


Figura 16 - Schema della regolazione di P53 che viene portata nel nucleo e qui viene indotta l'ubiquitinazione.

Se, nonostante questo, persistono stimoli proliferativi (come oncogeni o geni virali), la p53 determina l'apoptosi cellulare. Questo meccanismo di sicurezza è fondamentale per la vita della cellula e dell'intero organismo.

ni nella replicazione del DNA a livello genomico costituiscono un momento necessario per il processo dell'evoluzione, è anche vero che un eccesso di replicazioni a livello somatico costituisce un rischio importante di mutazione e dunque di possibile cancerogenesi.

Di fatto, la inattivazione della p53 costituisce un fattore di rischio di progressione del tumore, di secondo tumore, e di resistenza del tumore ai farmaci.

Come risulta da questi esempi, l'apoptosi è un meccanismo complesso, i cui errori in un senso o nell'altro possono rivestire un ruolo nella patologia umana. Sebbene i meccanismi dell'apoptosi si siano evoluti per consentire la vita degli organismi multicellulari, anche forme elementari di vita, quali i virus, hanno imparato a utilizzare geni anti - apoptotici allo scopo di proteggere dalla morte le cellule infettate, e quindi se stessi.

Per esempio, la capacità del virus di Epstein - Barr di rendere immortali i linfociti B infettati sembra essere dovuta proprio alla produzione di proteine anti- apoptosi di origine virale, tra cui un analogo della Bcl-217.

Dal lato opposto un virus può indurre apoptosi nelle cellule deputate a eliminarlo, e questo sembrerebbe uno dei meccanismi responsabili della diminuzione dei linfociti T nell'AIDS.

4.1 P53, un gene soppressivo dei tumori che regola l'apoptosi indotta da stress ossidativo

Il gene p53, quindi, svolge un ruolo importante nella protezione dell'organismo dallo sviluppo di tumori: cavie deprivate di p53 sono altamente suscettibili allo sviluppo di

% dei tumori umani sono associati a mutazioni a danno di p53.

Diversi sono gli stimoli che attivano p53, tra questi ricordiamo il danno al DNA, ipossia, mancanza di segnali di crescita o sopravvivenza e stress ossidativi.

P53, una volta attivato, media diversi tipi di risposte cellulari, tutte idonee a bloccare lo sviluppo di tumori: arresto della crescita in G1, riparo dei danni al DNA, senescenza ed apoptosi.

I meccanismi di attivazione di p53 sono molteplici e coinvolgono modificazioni post-trasduzionali della proteina, degradazione e diverse localizzazioni intracellulari.

Una volta attivata, p53 agisce come attivatore trascrizionale (o più raramente repressore) su una serie di geni bersaglio che determinano la specificità della risposta di p53 allo stress.

Molti sono invece i geni bersaglio con funzione pro-apoptotica attivati da p53 e, tra questi, molti sono coinvolti in una via di segnalazione che coinvolge il mitocondrio.

4.2 Legame tra apoptosi, ros, mitocondri ed invecchiamento

La disregolazione dell'apoptosi è stata riscontrata in malattie autoimmuni, nella sindrome da immunodeficienza acquisita ed in altre infezioni virali e batteriche, così come in patologie neurodegenerative, cardiopatie e cancro.

Una disregolazione dell'apoptosi potrebbe inoltre contribuire al processo di invecchiamento, una delle cause accertate di questo fenomeno è la parziale riduzione dell'ossigeno molecolare.

La vita della maggior parte degli animali dipende in maniera assoluta dall'apporto di O₂, necessario per la respirazione e quindi la produzione di energia.

ossidazione e riduzione nelle quali viene utilizzato come accettore di atomi di H da enzimi detti Ossidasi, inoltre può essere incorporato in alcuni substrati grazie ad altri enzimi, le Ossigenasi.

Prodotti collaterali del metabolismo aerobio, che diventano nocivi per l'organismo, sono i cosiddetti ROS ó Reactive Oxygen Species ó e sono:

- O_2^- Anione superossido;
- H_2O_2 Perossido di Idrogeno, liposolubile, attraversa le membrane;
- OH Radicale Idrossile, il più reattivo.

Si tratta di potenti ossidanti, più dell'ossigeno stesso, a causa di elettroni spaiati, sono quindi radicali liberi.

Lo stress ossidativo, che origina dai ROS, rappresenta una sfida costante alla sopravvivenza della cellula eucariotica e viene oggi considerato come l'agente causale di numerose patologie degenerative e dello stesso processo di invecchiamento.

Tradizionalmente, i mitocondri sono stati considerati come la centrale di energia della cellula, cioè il sito del macchinario della fosforilazione ossidativa coinvolto nella produzione di ATP, inoltre i mitocondri sono coinvolti direttamente nella produzione di ROS.

Un circolo vizioso di stress ossidativi e danno alle strutture cellulari può portare alla morte cellulare per apoptosi oppure a un declino energetico della cellula ed all'invecchiamento.

I meccanismi attraverso i quali lo stress ossidativo contribuisce all'apoptosi, all'invecchiamento ed alle patologie degenerative sono tuttavia problematici ed ancora poco chiari.

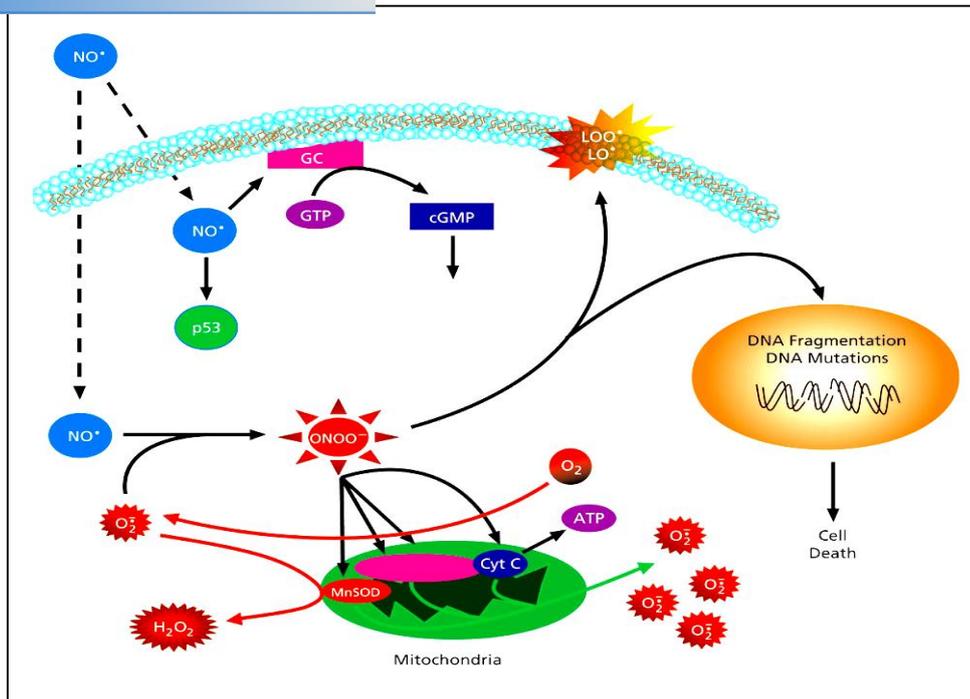


Figura 17 - Fenomeni di stress ossidativo e conseguenze chimico ó morfologiche nella cellula

4.3 P66Shc regola la funzione apoptogena di p53

P66Sh è un gene dell'invecchiamento che regola l'apoptosi indotta da stress ossidativo; insieme a p53 sono importanti mediatori della risposta apoptotica allo stress ossidativo.

Recenti esperimenti condotti nei laboratori dl Dipartimento di Oncologia Sperimentale dell'Istituto Europeo di Oncologia suggeriscono che P66Shc è un importante mediatore dell'effetto apoptogeno di P53 in seguito a stress ossidativo.

La forzata iper-espressione di P53 nelle cellule P66Shc è incapace di indurre apoptosi, questo fenomeno sta ad indicare che la via effettrice a valle di p53 coinvolge P66Shc.

P66Shc regola solo la funzione apoptogena di P53 e ciò potrebbe spiegare il motivo per cui i topi P66Shc non siano soggetti all'insorgenza di tumori spontanei, come invece capita nei topi P53.

do di svolgere le sue funzioni di controllo sul DNA genomico, inducendo blocco del ciclo cellulare e contribuendo attivamente al riparo del danno, impedendo così la trasmissione di informazioni aberranti, che sono alla base della tumorigenesi.

A riprova di tale fatto, le cellule p66Shc^{-/-} (^{-/-} = cellule con perdita della funzione del gene p66) che mostrano un cariotipo stabile, contrariamente a ciò che accade nelle cellule p53^{-/-} (ossia cellule con perdita della funzionalità del gene che produce P53), dove già nei primi passaggi di coltura in vitro si identificano vari gradi di poliploidia.

Per quanto concerne il meccanismo mediante il quale p53 attiva p66Shc, alcune ricerche hanno dimostrato che il livello proteico di p66Shc è aumentato dallo stress ossidativo in modo dipendente da p53, e che p53 stesso è in grado di indurre la stabilità proteica di p66Shc, aumentandone quindi i livelli.

Più complesso è invece il meccanismo molecolare mediante il quale p66Shc media l'effetto apoptogenico di p53.

L'attivazione di p53 e la sua capacità di agire come fattore trascrizionale avviene in maniera indipendente da p66Shc, suggerendo che p66Shc regola l'attività di qualche gene a valle di p53.

Come già accennato, l'attivazione di p53 promuove la trascrizione dei geni PIGs, l'aumento della concentrazione intracellulare dei ROS, il danno a carico dei mitocondri ed il rilascio di citocromo c, con conseguente attivazione delle caspasi e quindi apoptosi.

È stato dimostrato che l'aumento dei livelli proteici di p66Shc, mediato da p53, è in grado per sé di indurre l'aumento dei livelli intracellulari dei ROS, fenomeno questo che potrebbe scatenare un circolo vizioso che innalzerebbe ulteriormente il livello globale di stress ossidativo all'interno della cellula in modo da amplificare la segnalazione su p53.

la ulteriori studi, è che l'aumento dei livelli di ROS è in grado di indurre la fosforilazione di p66Shc, un evento indispensabile per la normale risposta apoptotica allo stress ossidativo.

Un altro punto ancora da chiarire è come p66Shc possa indurre aumento dei livelli dei ROS.

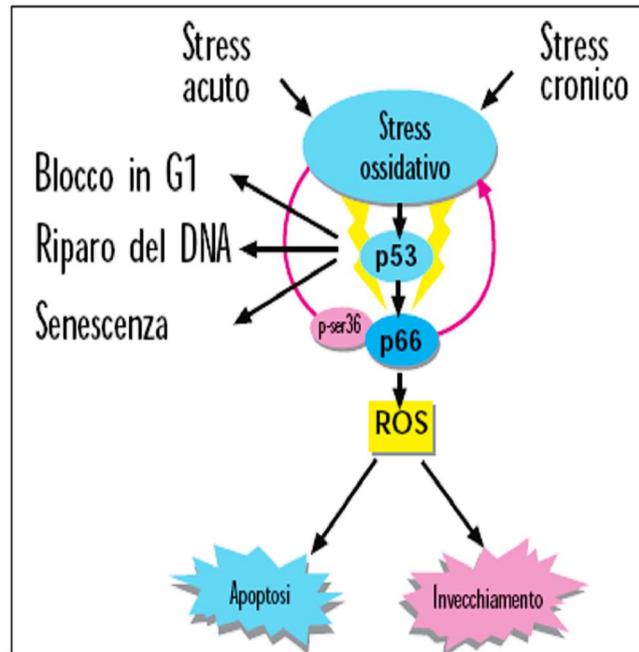


Figura 18 - Attività di P53 e P66 su metaboliti di ROS e apoptosi e invecchiamento.

Studiando cellule e tessuti estratti da topi normali e p66Shc^{-/-}, non sono state riscontrate variazioni nelle attività catalasica e dismutasica, suggerendo che p66Shc può in qualche modo entrare a far parte di una via metabolica che regola la produzione dei ROS.

Il fatto che p53 sia in grado di attivare trascrizionalmente i geni PIGs, coinvolti nella regolazione del livello ossido-riduttivo cellulare, potrebbe suggerire un ipotetico meccanismo in cui p66Shc interagisce con tali geni per aumentare la produzione dei ROS. Secondo molte teorie sull'invecchiamento, i ROS influenzerebbero la durata della vita poiché responsabili dell'accumulo di mutazioni e delezioni, principalmente a livello del DNA mitocondriale, e dell'aumento della velocità di accorciamento dei telomeri.

sono in grado di aumentare i livelli intracellulari dei ROS in seguito a stimoli apoptotici, ma presentano livelli di ROS sensibilmente più bassi rispetto alle cellule normali anche in condizioni basali.

Alla diminuita concentrazione di ROS corrisponde una marcata riduzione di danni a carico del DNA mitocondriale e ciò potrebbe spiegare perché i topi p66Shc^{-/-} presentano una durata della vita superiore rispetto ai normali.

Sorprendentemente, i livelli intracellulari di ROS e la quantità di alterazioni a carico del DNA mitocondriale sono fortemente ridotti anche in cellule p53^{-/-}.

Sembra quindi evidente l'esistenza di una via di segnalazione che coinvolge p53 e p66Shc, questa da una parte regola i livelli di ROS intracellulari e di danno al DNA mitocondriale, e dall'altra l'apoptosi indotta da stress ossidativo.

Questi risultati suggeriscono, quindi, che l'entità del danno ossidativo intracellulare è geneticamente determinata, e che p53 e p66Shc sono entrambi determinanti genetici dell'invecchiamento.

4.4 Cenni sulla senescenza cellulare

La senescenza può essere definita come la progressiva diminuzione della capacità di un organismo di rispondere agli stress ambientali e la sua maggiore vulnerabilità e suscettibilità alle malattie; conseguentemente la mortalità cresce in modo esponenziale con l'invecchiamento.

Proteine come la lipofuscina, marker vero e proprio di invecchiamento e, a livello cerebrale la proteina amiloide, sono coinvolte con l'aumento nella patogenesi della malattia di Alzheimer, e la presenza di quest'ultima in vari tessuti cerebrali, è un

l'invecchiamento cerebrale non patologico⁴⁹. In generale le cellule post-mitotiche, come i neuroni, con l'andare del tempo fanno più fatica a mantenere invariato il catabolismo proteico.

La difficoltà di mantenere l'omeostasi di fronte a stimoli esterni è una delle caratteristiche più tipiche dell'invecchiamento, in cui non si modificano parametri di base o a riposo, ma si perde la capacità a rispondere adeguatamente a stimoli come quelli derivanti dall'esercizio fisico o dalla deprivazione di cibo, oppure possono comparire mutazioni geniche che hanno effetti tardivi.

La Teoria Stocastica propone che l'invecchiamento sia causato da un accumulo di danni casuali alle molecole vitali; l'accumulo di questi danni può arrivare a produrre il declino fisiologico associato all'invecchiamento, la capacità di riparare il DNA danneggiato dall'esposizione a raggi ultravioletti di cellule somatiche sembra correlare direttamente con la MLSP (Maximum Lifespan Potential ó Massima età raggiungibile) dell'organismo da cui derivano le cellule⁵⁰.

Questa teoria si propone di spiegare, su base casuale, l'inserimento di qualche errore di sintesi o di trascrizioni di proteine che svolgano un ruolo rilevante nella sintesi di DNA o di altre macromolecole coinvolte nella replicazione cellulare. Col tempo gli effetti di questi errori sarebbero amplificati e capaci di produrre una "catastrofe" cellulare per il ruolo cruciale svolto dalle proteine.

Le proteine erroneamente sintetizzate sarebbero in grado di attivare una catena di eventi non controllabili ed incompatibili con la vita. Oltre alle modifiche dello *steady-state* delle proteine, l'invecchiamento porta con sé alcune alterazioni qualitative delle proteine che danno luogo ad effetti funzionali errati.

⁴⁹ Coernwell 1980

⁵⁰ Hart, 1974

subiscono una riduzione della loro attività catalitica, si sono anche osservate alterazioni della stabilità alle temperature ed aumento del contenuto di carbonili nelle proteine. Questi effetti sono dovuti alla diretta ossidazione dei residui aminoacidici, alla ossidazione da metalli ed a modifiche dei prodotti di ossidazione lipidica e di glicazione.

Le modifiche post-traduzionali delle proteine possono danneggiare le cellule, e conseguentemente gli organismi; esempio tipico di questo fenomeno è la reazione non enzimatica tra carboidrati e gli amino gruppi delle proteine, definita glicazione, che dà luogo agli AGEs (advanced glycosilation end-product).

Gli AGEs aumentano con l'invecchiamento e sono implicati nel diabete, nelle malattie del bulbo oculare e nell'accumulo di amiloide cerebrale⁵¹.

Numerose matrici extracellulari, come collagene, elastina ed osteocalcina, vanno incontro con l'età ad aumenti dei loro legami covalenti che sono responsabili dell'irrigidimento di alcuni tessuti. Questo irrigidimento associato all'aumento della glicazione può indurre direttamente l'apoptosi⁵².

Il danno da radicali dell'ossigeno (ROS) è la base di un'altra teoria che ha caratteristiche in comune sia con quelle stocastiche che con quelle genetiche evolutive.

Questa teoria inizialmente proposta da Harmann negli anni cinquanta attribuiva al danno indotto dai radicali liberi gran parte del fenomeno di invecchiamento⁵³.

È stato dimostrato che le specie reattive dell'ossigeno possono avere un ruolo nella regolazione di diverse funzioni cellulari quali la replicazione cellulare, l'espressione genica differenziale e la morte per apoptosi.

⁵¹ Baynes, 2001

⁵² Obrenovich, 2005

⁵³ Harmann, 1956

cuore, nel fegato e nel rene è stata vista essere inversamente proporzionale alla MLSP, sebbene l'attività degli enzimi anti-ossidanti non si è dimostrata proporzionale alla massima durata di vita nei mammiferi.

È stato proposto che le specie reattive dell'ossigeno contribuiscano significativamente all'accumulo di mutazioni del DNA mitocondriale (DNAm_t) dando luogo ad una graduale perdita dell'attività bio - energetica della cellula e, conseguentemente, al suo invecchiamento ed alla sua morte.

Questa ipotesi tiene conto che più del 90% del consumo di ossigeno nelle cellule avviene a livello mitocondriale⁵⁴.

Il danno del DNAm_t da radicali dell'ossigeno aumenta in modo età - dipendente nel muscolo scheletrico, nel diaframma, nel muscolo cardiaco e nell'encefalo e corrisponde con l'aumento progressivo di mutazioni, sia puntiformi che deletive, del DNAm_t.

Occorre sottolineare che il DNAm_t viene trasmesso per via materna, inoltre continua a replicarsi sia nelle cellule che proliferano sia in quelle post-mitotiche ed è soggetto a mutazioni più frequenti che il DNA nucleare.

Questo è dovuto in parte all'inefficiente sistema di riparo, in parte alla vicinanza del DNAm_t con la membrana mitocondriale dove i radicali vengono prodotti.

Il danno mitocondriale risulta evidente non solo nell'invecchiamento fisiologico ma anche nelle malattie neurodegenerative⁸ e nella gran parte delle miopatie scheletriche e cardiache⁵⁵.

In uno studio di espressione effettuato nel tessuto cerebrale di soggetti tra i 26 e i 106 anni si dimostra che progressivamente, durante l'invecchiamento, viene ridotta l'espressione di geni coinvolti nella trasmissione nervosa e nella funzione mitocondriale, è ridotta anche

⁵⁴ Perez - Campos et al. 1998

⁵⁵ Terman, 2004

ulti nella risposta allo stress ossidativo, nel riparo del DNA, inoltre il danno del DNA è marcatamente aumentato nella regione promoter dei geni con espressione ridotta.

Il danno al DNA riduce l'espressione di alcuni geni coinvolti nell'apprendimento, nella memoria e nella sopravvivenza neuronale, iniziando così un programma di invecchiamento cerebrale⁵⁶. Fenomeni apoptotici sono stati descritti in quasi tutte le malattie neurodegenerative a cominciare dall'Alzheimer e dal Parkinson⁵⁷.

Ci sono alcune patologie a cui è stato riconosciuto avere le caratteristiche di invecchiamento precoce⁵⁸, tra esse vi sono la sindrome di Hutchinson - Gilford (invecchiamento precoce nei bambini) che è una patologia estremamente rara che si sviluppa entro pochi anni dalla nascita. La malattia si manifesta con alterazioni della postura, raggrinzimento della pelle e ritardo nella crescita. I pazienti soffrono di arterosclerosi e muoiono entro i 30 anni per infarto cardiaco.

La sindrome di Werner (progenie nell'adulto - WS) è una patologia ereditaria, autosomica recessiva, in cui i pazienti sviluppano precocemente arterosclerosi, intolleranza al glucosio, osteoporosi, incanutimento e calvizie precoce, atrofia cutanea e menopausa. I soggetti affetti da WS non soffrono in maniera particolare di ipertensione, tuttavia muoiono prima dei 50 anni. Il gene responsabile della WS è stato localizzato sul cromosoma 8 e codifica per un'elicasi coinvolta nel meccanismo di avvolgimento del DNA che gioca un ruolo nella replicazione e nel suo riparo. Le cellule provenienti da questi soggetti, coltivate in vitro, mostrano un'instabilità cromosomica ma non hanno apparenti difetti nei meccanismi di riparo del DNA.

⁵⁶ Lu, 2004

⁵⁷ Forloni, 1996

⁵⁸ Kipling, 2004

no di invecchiamento dovrebbe svolgere un ruolo antagonista, nel senso che l'eliminazione di una cellula danneggiata o vecchia che può essere rimpiazzata dal proliferare di un'altra cellula mantiene l'organismo più giovane.

In questa maniera si spiega l'effetto pro-apoptico esercitato dalla dieta ipocalorica nei confronti dei linfociti T.

D'altro canto occorre anche considerare che nei confronti delle cellule nervose il fenomeno apoptotico ha una doppia valenza: è utile durante lo sviluppo per la selezione del corretto numero di cellule necessarie per la realizzazione del network cerebrale, mentre invece diventa un danno irreparabile quando associato alle malattie neurodegenerative.

La progressiva espressione di fenomeni tipici dell'invecchiamento mettono comunque a dura prova l'organismo che diventa, ad un certo punto, incompatibile con la vita stessa, determinando direttamente o indirettamente la morte dell'organismo stesso. Ovviamente la già complessa e articolata situazione biologica si arricchisce nell'uomo di diverse altre componenti, psicologiche e sociali, che definiscono la qualità e la durata dell'invecchiamento.

OPTOTICO NELLE DISFUNZIONI NEURODEGENERATIVE

Le malattie neurodegenerative sono caratterizzate da una elevata morte neuronale. L'aspetto più evidente di questo gruppo di patologie è l'estrema specificità del processo patologico per particolari tipi di neuroni.

L'invecchiamento incide, in generale, molto di più sui neuroni rispetto alle altre cellule dell'organismo, infatti essi mostrano un maggior accumulo di stress ossidativo, di proteine danneggiate e di lesioni al DNA.

Nonostante evidenze sperimentali, il ruolo dell'apoptosi nell'insorgenza delle malattie neurodegenerative è oggetto di acceso dibattito. Se, infatti, è provato che l'apoptosi è coinvolta in molti meccanismi che conducono al danno neuronale, non può ancora essere confermato un suo ruolo nell'eziopatogenesi. Innanzi tutto per la difficoltà nel distinguere sperimentalmente il processo apoptotico da quello necrotico, poi, perché i sintomi clinici delle malattie neurodegenerative sono principalmente connessi con la perdita funzionale dei neuroni, più che con la morte cellulare, sia essa per apoptosi che per necrosi. Tale perdita funzionale è spesso dovuta all'accumulo, all'interno dei neuroni, di aggregati proteici intracellulari che impediscono lo svolgersi di normali funzioni vitali, quali il trasporto dei nutrienti lungo gli assoni. In modelli animali sperimentali, se tali depositi vengono rimossi, per esempio inibendo la formazione delle proteine mutate, la funzione neuronale viene preservata⁵⁹. La demenza è una patologia che coinvolge oltre alla memoria anche altre importanti funzioni cognitive e che compromette l'autonomia

⁵⁹ Lee,2002

significative differenze fra i lievi deficit del cervello
sempre e i gravi deficit cognitivi che caratterizzano la demenza, così come esistono diverse
forme di demenza, di esse la più frequente è la malattia di Alzheimer le cui cause non
sono tuttoggi chiarite. È noto che nel cervello delle persone affette dalla patologia di
Alzheimer si accumulano proteine in forma amiloide al posto di quelle normalmente
strutturate, che causano la morte dei neuroni, provocando nei pazienti deficit di memoria
sempre più gravi, oltre ad un peggioramento graduale del ragionamento, del linguaggio,
fino ad arrivare ad una compromissione dell'autonomia funzionale e della capacità di
svolgere le normali attività quotidiane. La ricerca ha messo anche in evidenza il
coinvolgimento di una proteina alterata, chiamata tau, nel processo di apoptosi, processo
che solitamente avviene in modo controllato ma che diventa aberrante e si auto-propaga
nei pazienti colpiti dal morbo di Alzheimer, già durante la fase iniziale della malattia.

Il morbo di Alzheimer è caratterizzato dalla progressiva perdita delle capacità cognitive,
con particolare riguardo alla memoria. Questa perdita è imputabile ad una lenta ma
progressiva degenerazione e morte di intere popolazioni di cellule nervose o neuroni ed
alla progressiva atrofizzazione delle fibre nervose. All'interno delle cellule in via di
degenerazione si riscontrano delle strutture denominate *paired helical filaments (PHF)*.

La proteina tau, svolge normalmente un ruolo fondamentale nell'assemblaggio e
nell'attività dei microtubuli, le strutture portanti polimeriche della cellula, che presiedono
alla crescita delle fibre nervose nel corso dello sviluppo e alle loro molteplici funzioni nel
cervello dell'adulto, che a loro volta controllano i processi di apoptosi. Quando insorge la
malattia di Alzheimer, i frammenti di tau si staccano dai microtubuli andando a formare i
grovigli neurofibrillari e innescando una sorta di reazione a catena di 'suicidio' collettivo
dei neuroni.

parte sconosciuti, tau è caratterizzata da modificazioni di vario tipo, come tagli nella propria struttura, fosforilazioni di varia entità, che ne alterano in modo irreversibile la sua funzione primaria. All'esterno dei neuroni in via di degenerazione e morte, inoltre, si vengono progressivamente a depositare delle fibrille altamente insolubili formate da un peptide denominato beta-amiloide. Questo peptide proviene da una proteina denominata precursore dell'amiloide, detto APP, che è presente nel contesto della membrana dei neuroni ma la cui funzione è sconosciuta. Di norma l'APP viene attaccato da enzimi proteolitici denominati secretasi con produzione dei suoi metaboliti che vengono secreti nello spazio extracellulare. L'apoptosi svolge un ruolo fondamentale non solo nel corso dello sviluppo del sistema nervoso, ma anche nell'adulto, quando una cellula nervosa invecchia e deve essere eliminata. In effetti ciò avviene di consueto, ma di per se non costituisce una causa di grave perdita funzionale, perché questo lento ma inesorabile depauperamento è minimo rispetto alla dote iniziale che abbiamo e perché colpisce più o meno tutti i distretti del cervello in modo leggero. Nel morbo di Alzheimer, però, la perdita è molto più massiccia, veloce e concentrata in quelle aree cerebrali alle quali si è fatto cenno. Una delle ipotesi è che questa malattia sia dovuta ad un'impropria attivazione del programma di morte per apoptosi caratterizzata da quella intensità, rapidità e specificità di localizzazione che sono tipiche di questa malattia. Infatti nell'Alzheimer, come in altre patologie neuro-degenerative, l'apoptosi è incontrollata.

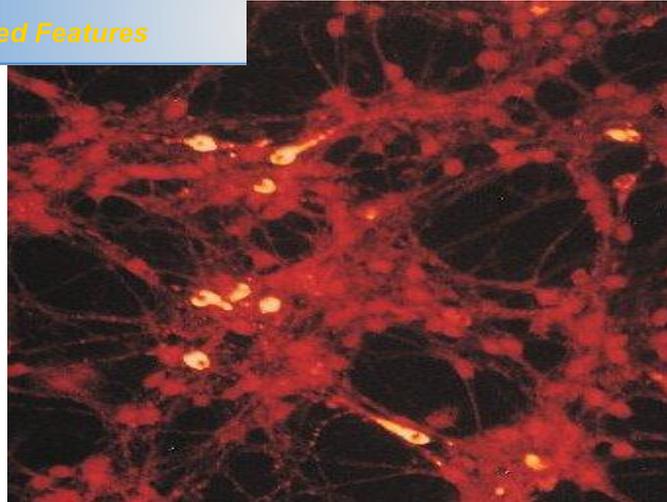


Figura 19 - Neuroni Cerebellari indotti in apoptosi (color giallo chiaro) e colorati con un anticorpo che riconosce la proteina tau

La malattia di Alzheimer è principalmente una malattia sporadica. Esistono forme ereditarie che rappresentano meno del 5 per cento di tutti i casi. Un fattore di rischio ereditario è la presenza nel genoma di un particolare allele del gene dell'apoproteina che, tuttavia, non è né necessario né sufficiente per la comparsa della malattia. Ci sono soggetti portatori dell'allele che non si ammalano e soggetti non portatori che si ammalano. Aiutano a prevenire la malattia gli stili di vita e le abitudini comportamentali. Sono soprattutto lo stimolo intellettuale, gli interessi culturali, l'avere uno scopo nella vita, l'accettare la sfida, il "can-do factor", il "posso farcela", che proteggono il cervello: use it or lose it, dicono gli americani: usalo o lo perdi. Non essendo del tutto nota la patogenesi, non ci sono ancora farmaci in grado di curarla. Si usano, per rallentarne la storia naturale, farmaci che riducono la degradazione cerebrale dell'acetilcolina, deficitaria nel paziente colpito da Alzheimer.

Non hanno fornito risultati soddisfacenti i farmaci antiossidanti a base di vitamina E.

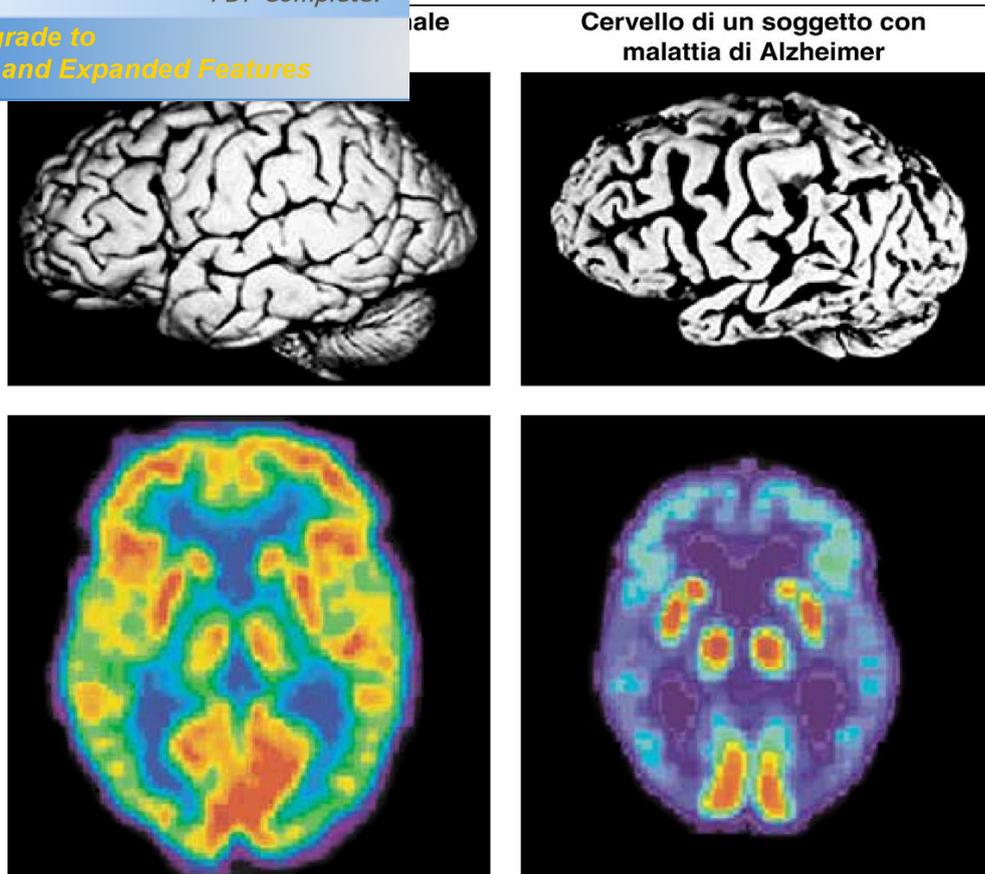


Figura 20 - differenze riscontrabili alla RMF tra un encefalo normale e un encefalo allo stato patologico di Alzheimer.

La presenza di disturbi soggettivi e isolati di memoria in assenza di disturbi funzionali nelle usuali attività strumentali quotidiane è più predittiva di normalità che di incipiente deterioramento cognitivo. Diverso è il caso di soggetti che lamentino disturbi di memoria che interferiscano anche solo lievemente con le usuali attività e/o che siano documentabili come alterazioni modeste della performance di memoria in test neuropsicologici ad hoc.

5.1 Parkinson

Il Morbo di Parkinson è una malattia neurodegenerativa a decorso cronico che insorge in genere intorno alla quinta decade. La malattia prende il nome dal neurologo inglese James Parkinson, che per primo nel 1817 ne descrisse i sintomi. La patologia ha un andamento

redisce fino ad uno stato di elevata invalidità. Dopo

la malattia di ALZHEIMER (AD), il PD è la patologia neurodegenerativa più diffusa, con un'incidenza media dell'1,5% nella popolazione sopra i 65 anni di età.

Il Morbo di Parkinson è caratterizzato dalla presenza di almeno due dei seguenti sintomi: rigidità muscolare, bradicinesia, tremore a riposo e perdita dei riflessi posturali.

Principale causa di questi sintomi è la degenerazione e conseguente perdita selettiva del numero e dell'attività dei neuroni dopaminergici appartenenti alla substantia nigra, in particolare della pars compacta, questi neuroni, che originano dal nucleo caudato e putamen, fanno parte di un complesso circuito neuronale che insieme a corteccia, gangli della base e talamo partecipano al controllo del movimento volontario.

La pars compacta manda proiezioni dopaminergiche allo striato che è la struttura d'ingresso degli impulsi dei gangli della base e riceve stimoli eccitatori glutamatergici da parte di molte aree della corteccia soprattutto di tipo associativo. Infatti solo il 7% delle cellule del nucleo striato è attivo durante il movimento, le restanti cellule sono in relazione con gli avvenimenti dell'ambiente che preparano l'esecuzione del movimento, dunque, sono implicati nella risposta comportamentale dell'individuo. Lo Striato oltre ad avere degli interneuroni interni eccitatori colinergici che attivano le fibre striatali stesse, segue due vie di proiezione per raggiungere la corteccia cerebrale, una via diretta ed una via indiretta. Comprendiamo a questo punto l'importanza della Pars Compacta che, tramite le sue proiezioni, è in grado di modulare le strutture output dei gangli della base regolando i segnali di controllo dei movimenti. Nel Parkinson la degenerazione della pars compacta fa sì che la via diretta, invece di essere attivata, venga inibita con conseguente minore attivazione dei nuclei talamici che non potranno attivare la cortex e, che la via indiretta, invece di essere inibita, venga attivata con conseguente iperattività del nucleo striato ad inibire ulteriormente l'attivazione della cortex tramite l'inattivazione dei nuclei

in assenza del controllo dei movimenti, infatti non viene meno la programmazione dei movimenti, come abbiamo visto prima, ma la loro coordinazione dall'inizio alla fine, perchè strettamente correlata alla funzionalità ed agli stretti rapporti tra strutture input ed output dei gangli della base. La patogenesi è caratterizzata da perdita di attività da parte dei neuroni dopaminergici, con comparsa di inclusioni intracellulari note come corpi di Lewy.

La perdita progressiva dei neuroni dopaminergici avviene fisiologicamente durante l'invecchiamento, ma non raggiunge mai il valore di 70-80% di neuroni dopaminergici che causa l'insorgenza sintomatica del PD; il processo che determina la morte neuronale coinvolge una cascata di eventi, che includono la disfunzione mitocondriale e lo stress ossidativo.

La funzionalità del metabolismo ossidativo neuronale si riduce con l'avanzare dell'età, in parte a causa di un accumulo di mutazioni nel genoma mitocondriale. Analisi post-mortem di pazienti affetti da PD evidenziano un'eccessiva riduzione del complesso della catena respiratoria mitocondriale, che si riflette in un deficit energetico e metabolico dovuto ad una ridotta produzione di ATP.

Sebbene il glutammato sia necessario per le normali funzioni cerebrali, la sua presenza in quantità eccessive nello spazio sinaptico può determinare morte cellulare eccitotossica. Il notevole incremento intracellulare di questo ione costituisce il principale segnale di morte cellulare, sia nella necrosi che nell'apoptosi.

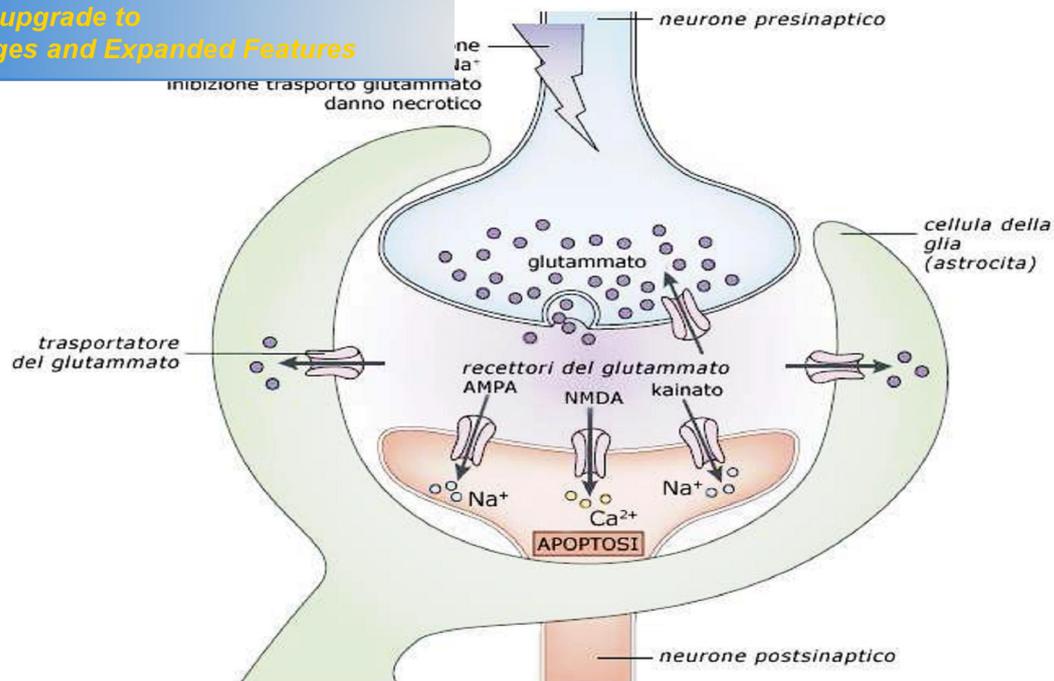


Figura 21 ó Meccanismo di eccito tossicit 

5.3 Ruolo dello stress ossidativo nel Morbo di Parkinson

Il cervello umano costituisce appena il 2% del peso corporeo, ma consuma una quantit  di ossigeno di gran lunga superiore a quella di tutti gli altri organi, ossia circa il 20% della quantit  disponibile.

L'elevata attivit  metabolica cerebrale, unita alla ridotta capacit  di rigenerazione cellulare e all'infiora concentrazione di catalasi, glutatione perossidasi e tocoferoli, rende le strutture del Sistema Nervoso Centrale, particolarmente suscettibili ad un danno di tipo ossidativo.

L'ossigeno assume quindi il duplice ruolo di elemento di vitale importanza e di potenziale causa di tossicit . Il danno di tipo ossidativo   da considerarsi come conseguenza di un'alterazione del bilancio dell'attivit  pro-ossidante ed antiossidante cellulare .

I neuroni dopaminergici sono particolarmente vulnerabili allo stress ossidativo.

La morte neuronale

La sopravvivenza neuronale viene mantenuta da una complessa ed interconnessa rete di segnali che possono essere attivati in risposta a molteplici stimoli cellulari. Uno squilibrio nella regolazione delle vie di trasduzione del segnale può determinare drastiche conseguenze nella funzione o nel destino dei neuroni. Analizzando il tessuto nigrale danneggiato con la tecnica del TUNEL, che permette di mettere in rilievo i nuclei apoptotici, è stato messo in evidenza che il loro numero, nei pazienti affetti da Morbo di Parkinson, è maggiore di quello mostrato nel corso del normale invecchiamento. Va ricordato che con l'età si ha una perdita fisiologica di neuroni, e si tratta di un graduale e relativo decremento, circa il 5% per decade, di neuroni della SNpc e del contenuto di dopamina dei gangli basali. Nel MP idiopatico, invece, la morte apoptotica risulta rapidamente esponenziale con una perdita all'onsetto dei sintomi pari al 70-80% circa della dopamina e al 50% circa dei neuroni dopaminergici nigrali. Sembra che questo declino nel MP classico idiopatico non sia precoce ma, all'inizio, sia lento e subordinato senza alcun sintomo, poi, raggiunta la media età, diviene rapidamente progressivo raggiungendo a soli 5 anni dall'onsetto dei sintomi una devastante perdita neuronale.

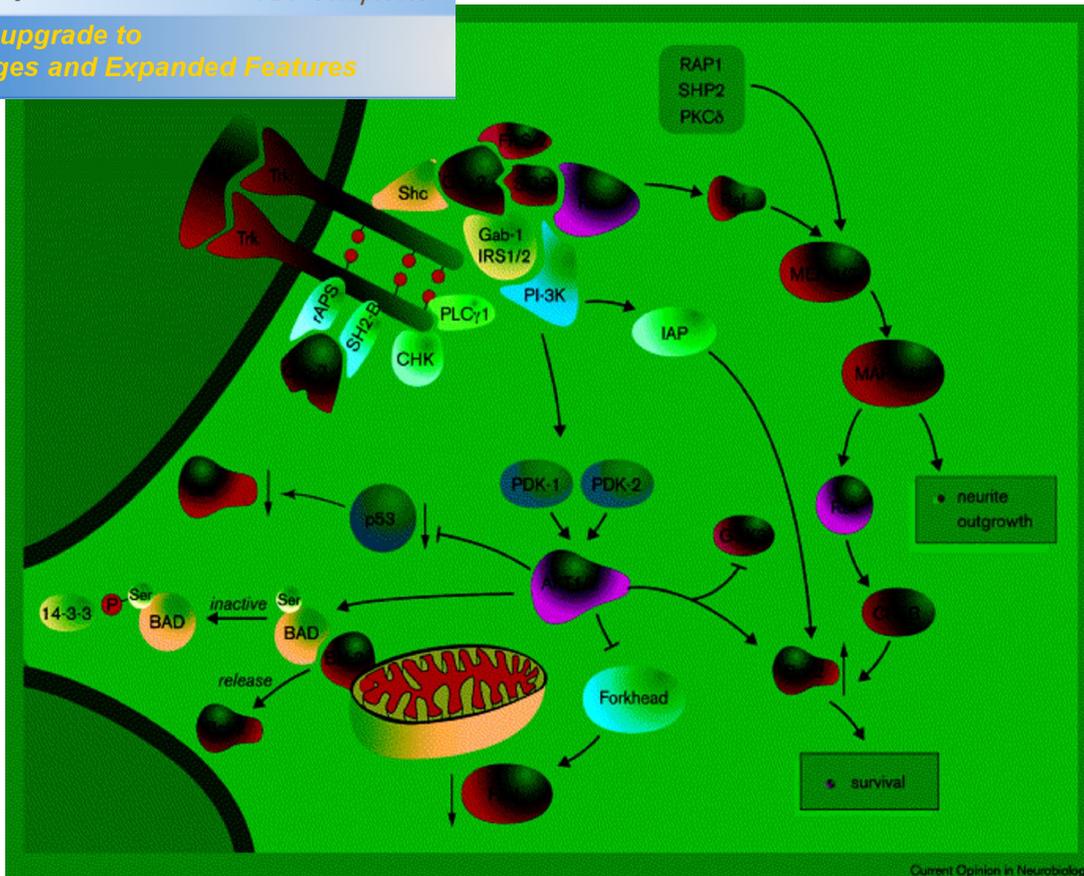


Figura 22: Principali vie di trasduzione del segnale apoptotico e anti apoptotico.

Un modello sperimentale che rivela l'importanza del processo apoptotico nella patogenesi del MP è offerto dalla 6-OH-dopamina (6-OH-DA). Da studi recenti condotti su questo modello è emerso che, la melatonina neuronale previene l'apoptosi 6-OH-DA-indotta, prevenendo la riduzione degli mRNAs per diversi enzimi antiossidanti. Dunque, la melatonina si propone come un ottimo candidato terapeutico sia perchè privo di effetti collaterali (essendo un componente fisiologico endogeno), sia perchè attraversa facilmente la barriera ematoencefalica (BEE). Altri studi, invece, fanno capo all'utilizzo di fattori neurofici e anti-apoptotici, questi fattori, espressi fisiologicamente durante lo sviluppo embriogenetico, sono conosciuti e potrebbero salvare i neuroni danneggiati da danni tossici, meccanici o ischemici e, quindi, i neuroni dopaminergici nigrali.

CONCLUSIONI

In biologia un fenomeno che accomuna processi fondamentali per l'organismo come lo sviluppo embrionale, il corretto funzionamento del sistema immunitario o patologie come l'infarto del miocardio, l'AIDS, il cancro ed il morbo di Alzheimer: è l'apoptosi.

Descritta per la prima volta nel 1842 dallo scienziato tedesco Carl Vogt, si dovrà giungere al 1972, dopo la pubblicazione di uno storico articolo a firma di Alastair R. Currie, Andrew Wyllie, e Ross Kerr su British Journal of Cancer, per riconoscere l'apoptosi come un processo biologico fondamentale per gli organismi multicellulari.

La definizione deriva dal greco, apo - da, e ptosis ó caduta, ad indicare la caduta delle foglie dalle piante o dei petali dei fiori, un processo di morte programmata, completamente diverso da quello per necrosi.

Se irreversibilmente danneggiata, la cellula, attraverso il meccanismo apoptotico, può programmare la propria morte per proteggere dal danno le cellule vicine, e, in definitiva, l'intero organismo; in questo modo, e diversamente da quanto avviene dopo una morte necrotica, si possono controllare fenomeni di autoimmunità, infiammazione e lo sviluppo dei tumori.

Nell'uomo, e in tutti i vertebrati, l'apoptosi controlla il normale sviluppo embrionale e, a livello del sistema immunitario, l'eliminazione di cellule infettate da virus o cancerose .

L'apoptosi riveste un importante ruolo regolatore nell'omeostasi cellulare ovvero sulla capacità degli organismi di mantenere uno stato di equilibrio dinamico con l'ambiente esterno e, in generale, essa controlla la rimozione di cellule anormali in tutti i tessuti.

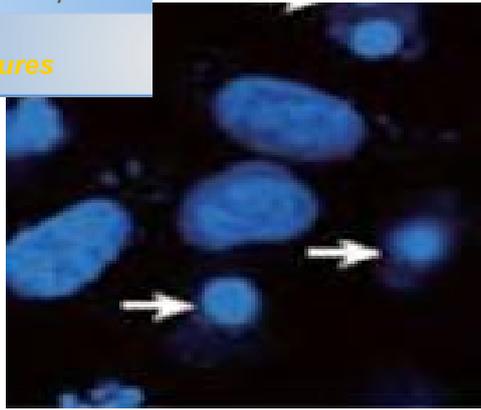


Figura 23. Cellule apoptotiche indicate dalle frecce.

L'apoptosi è caratterizzata da cambiamenti morfologici peculiari che sono modulati secondo dei meccanismi genetici molto conservati nella scala evolutiva, dai vermi, ai moscerini della frutta fino ai mammiferi, e che si attivano secondo un ordine ben definito, in risposta ad un segnale endogeno od esogeno.

Questi cambiamenti morfologici riflettono profonde alterazioni biochimiche e molecolari che non si riscontrano quando le cellule muoiono dopo un semplice processo necrotico. Pertanto, una deregolazione del programma apoptotico, può contribuire alla manifestazione di patologie tumorali, autoimmuni, neurodegenerative ed ischemiche.

Durante le fasi precoci del processo apoptotico, la cellula si condensa perdendo rapidamente volume, diminuisce i contatti con le cellule limitrofe ed esprime sulla superficie cellulare esterna molecole non espresse in condizioni normali, con la funzione di riconoscimento da parte dei macrofagi.

Queste sono le cellule "spazzino" del nostro sistema immunitario, che provvedono all'eliminazione per fagocitosi dei detriti cellulari alla fine del processo quando la cellula si è trasformata in complessi membranosi indicati come corpi "apoptotici", rapidamente rimossi per evitare possibili risposte infiammatorie e processi flogistici secondari.

possono essere: deprivazione di fattori di crescita, radiazioni UV e gamma, i farmaci chemioterapici usati nella cura dei tumori e delle

leucemie e infine l'attivazione dei death receptor ovvero i recettori apoptotici presenti sulla membrana cellulare che si attivano in risposta a specifici ligandi death ligands.

L'apoptosi prevede, infatti, due diverse vie di attivazione, quella estrinseca o recettore-dipendente e quella intrinseca. Nel primo caso, il segnale di morte è fornito dall'attivazione del recettore apoptotico, espresso sulla superficie cellulare, attraverso il legame con il proprio ligando, nel secondo da danni a livello delle strutture cellulari.

In questo stimolante campo di ricerca si inserisce lo studio svolto nel laboratorio di Chemioprevenzione Alimentare dell'ISA CNR di Avellino.

Qui, infatti, si studia la capacità di alcune molecole naturali presenti nella dieta come i polifenoli, nell'indurre apoptosi in cellule tumorali umane e la loro interazione con le vie di segnale dei death receptors.

In qualità di psicologi, ma principalmente come uomini e donne di cultura, è doveroso chiedersi se esiste un motus imprimendi mentis che dà il via ai meccanismi degenerativi.

Questa tesi è nata non già con il fine di dare risposte a questo quesito, obiettivo che avrebbe connotazione quantomeno presuntuosa, ma con lo scopo di accertare se gli psicologi se lo siano posti, e se sì, in qualche modo abbiano teorizzato in merito.

Per poterlo fare è stato doveroso, con l'aiuto della biologia molecolare, ripercorrere il funzionamento biologico del nostro organismo, partendo dall'unità fondamentale da cui è costituito: la cellula.

Quali siano i meccanismi biologici e molecolari che ad un certo punto della vita innescano i disturbi neurodegenerativi, è a tutt'oggi oggetto di studio che vede protagonisti schiere dei migliori scienziati ricercatori, biologi molecolari, medici patologi, ecc.

si meccanismi che regolano la vita cellulare, la sua omeostasi, (oggi si preferisce parlare di omeodinamiche) è di per sé affascinante e rivelativo di quanto noi siamo straordinariamente organizzati e interdipendenti fin a livello molecolare.

I moderni biologi cellulari hanno evidenziato quanto il successo degli organismi biologici dipenda dalla collaborazione e dalla condivisione di informazioni genetiche fra cellule. I primi organismi unicellulari apparsi sulla terra erano colonie disgregate, che contavano al massimo decine o centinaia di cellule.

L'evoluzione ha prodotto organizzazione. questa ha permesso l'aggregazione di milioni, miliardi, trilioni di cellule, quante ne conta un individuo. In una densità tale le cellule hanno creato ambienti strutturati e si sono suddivise i compiti specializzandosi con precisione ed efficienza, e questa specializzazione è stata memorizzata nei geni per il suo trasferimento a cellule successive.

La specializzazione offre il vantaggio di vivere con meno: il ruolo della cooperazione è preziosissimo nel sostenere la vita, molti organismi vivono grazie ad esso, grazie ad alleanze strategiche e rapporti simbiotici. Ne è un esempio la teoria della fusione mitocondriale con batteri anaerobici (la teoria endosimbiotica), lo osserviamo nella cooperazione fra batteri e organismi pluricellulari.

Ogni eucariote possiede gli equivalenti funzionali del nostro sistema nervoso, apparato digerente, sistema respiratorio, escretorio, endocrino, muscolo ó scheletrico, circolatorio, tegumentale, riproduttivo e persino un primitivo sistema immunitario, che utilizza una famiglia di ubiquitine, analoghe agli anticorpi⁶⁰. Le cellule analizzano migliaia di stimoli provenienti dal micro habitat in cui vivono, proprio come fanno gli individui, attraverso l'analisi e l'elaborazione dei dati, ne derivano risposte adeguate alla sopravvivenza; sono

⁶⁰ B. H. Lipton, 2009

apprendimento, quando il virus di una malattia le colpisce esse reagiscono con produzione di proteine ó anticorpo, per farlo, la cellula crea un clone che servirà da modello ad un gene per la creazione di quella precisa proteina efficace contro quel virus e lo trasmetterà alle cellule figlie. Le cellule attivate per la produzione di anticorpi utilizzano un sorprendente meccanismo chiamato òaffinity maturationö ossia maturazione per affinità, che consente loro di adattare perfettamente la forma del suo anticorpo, in modo che diventi il perfetto complemento del virus invasore⁶¹. La nostra mente, è frutto di questi equilibri e comunicazioni, di queste micro-organizzazioni tanto complesse e funzionali, da risultare di difficile comprensione anche a chi le pratica come studioso, il capacitarsi della loro molteplicità e sincronia.

La perfezione degli scambi di funzioni chimico ó fisiche che si susseguono con ritmi preordinati e tempi non percepibili ai nostri sensi, ha dell'imponderabile. I geni forniscono la struttura e la chiave dell'organizzazione proviene da segnali esterni percepiti soggettivamente che danno l'avvio all'organizzazione cellulare. Nel percorso evolutivo degli organismi pluricellulari, la cooperazione a vantaggio della sopravvivenza è diventata anche una legge economica: la specializzazione di ogni singolo gruppo ha permesso di compiere più compiti a minor dispendio di energia. Un processo di specializzazione citologica permette alle cellule la costruzione di tessuti e quindi di organi. La scoperta dell'esistenza di un programma per il suicidio cellulare indotto, costituisce uno degli eventi più significativi dell'ultimo decennio delle ricerche biologiche. Il fatto che nel DNA di ogni cellula esista un programma che, quando attivato, provoca la morte della cellula, può sembrare a prima vista una specie di anomalia della natura.

Freud stesso asserì: òl'individuo conduce effettivamente una doppia vita, come fine a sé stesso e come anello di una catena di cui è strumento, egli è veicolo mortale di una

⁶¹ Li et al. 2003; Adams et al. 2003

Abbiamo rammentare che tutte le nozioni psicologiche che noi andiamo via, via formulando, dovranno un giorno essere basate su un sostrato organico. (Freud *Introduzione al Narcisismo* 1914).

Il percorso che ci ha condotto dallo studio del funzionamento vitale di una cellula, all'orchestramento di tutte le comunicazioni intercellulari e quindi alla formazione e crescita di un organismo, è affascinante e stupefacente: dal momento della sua nascita, ovvero da quando semplice aggregazione cellulare in forma di blastula, si comincia a differenziare nelle tre principali formazioni che daranno origine agli organi, all'epitelio ed al tubo neurale; appare evidente quanto l'unità cellulare sia al contempo autonoma e dipendente dalle altre.

La sua dipendenza è ciò che consente all'organismo di sviluppare, di equilibrarsi e di funzionare; la sua autonomia è il controllo delle sue proprie funzioni che, se non congrue e corrispondenti a regole vitali per l'organismo di appartenenza la predispone all'autodistruzione, l'apoptosi, appunto.

Abbiamo visto come Freud stesso avesse postulato, ben prima della scoperta della Morte Cellulare Programmata, l'istinto di morte degli organismi viventi, quasi un desiderio di tornare allo stato immateriale.

Tuttavia non si può ridurre quanto postulato da Freud e che oggi la biologia definisce con il nome di Morte Cellulare Programmata, come mero cupio disolvi; alla luce degli studi che ci conducono alle moderne conclusioni possiamo tranquillamente asserire che gli organismi siano dotati di un'intelligenza propria fin dall'unità di base. Quando ciò non accade, quando la cellula va contro l'interesse dell'organismo di appartenenza, quando si instaura ribellione e anarchia, si ha la neoplasia.

Alcuni individui, nel percorso fisiologico di senescenza, si ammalano di malattie tipiche del decadimento, come arteriosclerosi e le demenze senili, altri no: la scienza moderna, in

studiando le correlazioni esistenti fra un uso vitale e attivo della mente e quindi un invecchiamento fisiologico e, al contrario, un ònon usoö e il conseguente depauperamento delle funzionalità che darebbe il via alle disfunzioni neuronali.

Tutto si influenza reciprocamente, fin dalla particella più piccola dell'atomo, tutto comunica e inter- scambia, tutto è cooperazione. Le malattie che rappresentano le cause di invalidità e morte maggiori, non sono dovute a trasmissione genetica ma a complesse interazioni di molteplici fattori genetici con quelli ambientali, comunicazioni errate ed aberrate; è indubbio che alcune malattie come la Corea di Huntington, la talassemia Beta o la Fibrosi Cistica siano trasmesse geneticamente ma, è vero anche che i disturbi dovuti ad un singolo gene colpiscono meno del 2% della popolazione.

L'intelligenza della cellula è quella di mettersi al servizio della comunità di cellule, di comunicare e imparare dalle altre, l'importanza di un ambiente in equilibrio, conforme alle esigenze della vita permette alle cellule tutte, di cooperare per la sopravvivenza del sistema, se viene interrotto l'equilibrio esse stesse attivano l'autodistruzione. La patologia, la senescenza non sono l'effetto, sono solo una tappa che precede l'epilogo di organismi con caratteristiche non più conformi alle esigenze di vita.

Non possiamo più separare i processi mentali dai processi del corpo: la mente, la memoria, risiede sia nel corpo che nel cervello e le emozioni stabiliscono un legame influenzando entrambi. Gli studi non possono più scindersi tra scientifici e umanistici, l'uomo è tutt'uno.



PDF Complete

Your complimentary use period has ended. Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

zò l'ipotesi che il cancro fosse la conseguenza della incapacità di esprimere emozioni: per queste convinzioni egli venne perseguitato e i suoi scritti bruciati⁶².

La memoria cellulare è per molti un concetto nuovo, la cellula riproduce, seppure in dimensioni microscopiche, tutto il nostro essere; diventare coscienti di ciò che avviene dentro di sé è la miglior terapia per una miglior qualità della vita che, è la miglior terapia per un invecchiamento fisiologico senza patologie degenerative.

⁶² Roy Martina, 2009

BIBLIOGRAFIA

1. Acad Sci. 2004;1019:64-9.
2. Adelman RC, Britton GW, Rotenberg S, et al. Endocrine regulation of gene activity in aging animals of different genotypes. In: Bergsma D, Harrison DE, editors. Genetic effects on aging. New York: Alan R. Liss; 1978. p. 355.
3. Albert ML, Feldman RG, Willis AL. The subcortical dementia of progressive supranuclear palsy. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1974;37:121-130.
4. Allen TW. Exercise: the antiaging antidote? J Am Osteopath Assoc. 1994;94:378, 380.
5. Altwein JE, Keuler FU. Prevention and complementary medicine in aging. Urologe A. 2002;41:318-24.
6. Amaral D.G. 1987, Memory: anatomical organization of candidate brain regions, In handbook of Physiology: Nervous System, Vol 5, F. Plum ed. pp. 211 ó 294 Bethesda.
7. Ann N Y Acad Sci. 2004;1019:554-8.

- hy B.L., Goldman Rakic P.S., 1994, Dopamine D 6
sub 01 receptor mechanisms in the cognitive performance of young adult and
aged monkeys, in Psychopharmacology.
9. Arnsten A.F., Cai Jx, Steere Jc, Goldman Rakic P.S., 1995, Dopamine D2
receptor mechanisms contribute to age related cognitive decline : the effects of
quinpirole on memory and motor performance in monkeys, in journal of
neuroscience.
 10. Banks WA, Farr SA. Antiaging methods and medicines for the memory.
 11. Baynes JW. The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Exp
Gerontol.*2001; 36:1527-37.
 12. Braak H, Braak E. Neuropathologic staging of Alzheimer-related changes.
Acta Neuropathol 1991;82:239-259.
 13. Broadbent DE and Gregory M. Some confirmatory results on age differences
in memory for simultaneous stimulation. *Br J Psychol* 1965;56:77-80.
 14. Browner WS, Kahn AJ, Ziv E, Reiner AP, Oshima J, Cawthon RM, Hsueh WC,
Cummings SR. The genetics of human longevity. *Am J Med.* 2004; 117:851-6.
 15. Bush A, Beail N. Risk factors for dementia in people with down syndrome:
issues in assessment and diagnosis. *Am J Ment Retard.* 2004; 109: 83-97.

16. Butler RN, Fossett M, Harman SM, Heward CB, Olshansky SJ, Perls TT.
17. Caleidoscopio ó Medical System Spa ó Edizione italiana n. 0 , Luglio 2005.
18. caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98: 5093-5098.
19. Caruso C, Candone, G., Romano, GC. Lio D, Bonafe M, Valensin S, Franceschi C. Immunogenetics of longevity. Is major histocompatibility complex polymorphism relevant to the control of human longevity? A review of literature data. *Mech. Ageing Dev.* 2001; 122: 445-462.
20. Chomyn A, Attardi G. MtDNA mutations in aging and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 304: 519-29.
21. Clarfield MA. The decreasing prevalence of reversible dementias. An updated meta-analysis. *Arch Intern Med* 2003;163:2219-2229.
22. *Clin Nutr Metab Care.* 2004;7:615-22.
23. Cognitive impairment without dementia in older people: prevalence, vascular risk factors, impact of disability. The Italian Longitudinal Study on Aging. *Journal of the American Geriatrics Society* 2000; 48: 775-782.

- erman KJ, Wall NR, Hekking B, Kessler B, Howitz
KI, Gorospe M, de Cabo R, Sinclair DA. Calorie restriction promotes
mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*. 2004;
305:390-2.
25. Cornwell GG 3rd, Westermarck P. Senile amyloidosis: a protean manifestation of
the aging process. *J Clin Pathol*. 1980; 33:1146-52.
26. Cristofalo VJ, Lorenzini A, Allen RG, Torres C, Tresini M. Replicative
senescence: a critical review. *Mech Ageing Dev*. 2004; 125: 827-48.
27. Crook TH, Bartus RT. Age-associated memory impairment: proposed
diagnostic criteria and measures of clinical change. Report of a National
Institute of Mental Health Work Group. *Dev Neuropsychol* 1986;2:261-276.
28. Cummings JL, Back C. The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric
symptoms in Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry*. 1998; 6: S64-78.
29. D'Alessandro R, Pandolfo G, Azzimondi G, Saverio Feruglio F. Prevalence of
dementia among elderly people in Troina, Sicily. *European Journal of
Epidemiology* 1996, 12: 595 -599.
30. Davis KL, Mohs RC, Marin D, et al. Cholinergic markers in elderly patients
with early signs of Alzheimer disease. *JAMA*. 2000; 281: 1401-1406.

- Carrieri G, De Luca M, Falcone E, Passarino G, Donati M, Monti D, Daggio G, Bertolini S, Mari D, Mattace R, Franceschi C. Mitochondrial DNA inherited variants are associated with successful aging and longevity in humans. *FASEB J* 1999; 13:1532 -1536.
32. De Ronchi D, Fratiglioni L, Rucci P, Paternicò A, Graziani S, Dalmonte E. The effect of education on dementia occurrence in an Italian population with middle to high socioeconomic status. *Neurology* 1998; 50: 1231-1238.
33. Dempsey PW, Doyle SE, He JQ, Cheng C., The Signaling adaptors and pathways activated by TNF superfamily. *Citokyne growth factor Rev*, 2003.
34. Di Carlo A, Baldereschi M, Amaducci L, Lepore V, Bracco L, Maggi S, et al, for the Italian Longitudinal Study on Aging Working Group. Incidence of dementia, Alzheimer's Disease, and vascular Dementia in Italy. The Italian Longitudinal Study on Aging. *Journal of the American Geriatrics Society* 2002; 50: 41-48.
35. Di Carlo A, Baldereschi M, Amaducci L, Maggi S, Grigoletto F, Scarlato G, Inzitari D, for the Italian Longitudinal Study on Aging Working Group.
36. Dickson DW, Davis P, Mayeux R. Diffuse Lewy body disease. *Acta Neuropathol* 1987;75:8-15.
37. Ditter SM, Mirra SS. Neuropathologic and clinical features of Parkinson's disease in Alzheimer's disease patients. *Neurology* 1987;37:754-760.

38. Doody RS, Stevens JC, Beck C, et al. Practice parameter: management of dementia (an evidence-based review). Report of the quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2001; 56: 1154-1166.
39. Dulloo AG, Girardier L. 24 hour energy expenditure several months after weight loss in the underfed rat: evidence for a chronic increase in wholebody metabolic efficiency. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1993; 17:115 ó 123.
40. Erikson PS, Perfilieva E, Bjork ó Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat MED* 1998.
41. Erkinjuntti T, Kurz A, Gauthier S, et al. Efficacy of galantamine in probablevascular dementia and Alzheimer's disease combined with cerebrovascular disease: a randomised trial. *Lancet*. 2002; 359: 1283-1290.
42. Ferini-Strambi L, Marcone A, Garancini P, Danelon F, Zamboni M, MassussiP, Tedesi B, Smirne S. Dementing disorders in North Italy: Prevalence study in Vescovato, Cremona Province. *European Journal of Epidemiology* 1997; 13: 291-204.
43. Finkel, T. Holbrock, NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing *Nature* 2000; 408: 239-247.
44. Fisher A, Morley JE. Antiaging medicine: the good, the bad, and the ugly. *J*

45. FISHER AL, THIR K. Ethical and legal issues in antiaging medicine. Clin Geriatr.
46. Fitz AG, Teri L. Depression, cognition and functional ability in patients with Alzheimer's disease. J Am Geriatr Soc. 1994; 42: 186-91.
47. Florio T., Ventra C, Postiglione A. et al., 1991, Age- related alteration of somatostatin gene expression in different rat brain areas, in Brain Res. Vol 557.
48. Floyd RA, Hensley K, Forster MJ, Kelleher-Anderson JA, Wood PL. Nitrones
49. Flurkey K, Papaconstantinou J, Harrison DE. The Snell dwarf mutation Pit1(dw) can increase life span in mice. Mech Ageing Dev 2002; 123: 121-130.
50. Forloni G, Bugiani O, Tagliavini F, Salmona M. Apoptosis-mediated neurotoxicity induced by beta-amyloid and PrP fragments. Mol Chem Neuropathol. 1996; 28:163-71.
51. Forloni G., Hohmann C., Coyle J.T.1990, Developmental expression of somatostatin in mouse brain. Immunocytochemical studies, in Brain Res in Developing Brain, vol 53.
52. Franceschi C, 1994, Le Basi Biologiche della longevità, in Le Scienze, n311, Lug.

53. Franceschi C, Olivieri F, Marchegiani F, Cardelli M, Cavallone L, Capri M, Salvioli S, Valensin S, De Benedictis G, Di Iorio A, Caruso C, Paolisso G, Monti D. Genes involved in immune response/inflammation, IGF1/insulin pathway and response to oxidative stress play a major role in the genetics of human longevity: the lesson of centenarians. *Mech Ageing Dev.* 2005; 126: 351-61.
54. Fratiglioni L, De Ronchi D, Agüero-Torres H. Worldwide prevalence and incidence of dementia. *Drugs & Aging* 1999; 15: 365-375.
55. Fuld PA, Masur DM, Blau AD, Crystal H, Aronson MK. Object-memory evaluation for prospective detection of dementia in normal functioning elderly: predictive and normative data. *J Clin Exp Neuropsychol* 1990;12:520-528.
56. Fuster J.M. 1989, *The prefrontal cortex*, Raven press, New York.
57. Fuster J.M. 1990, *Behavioural electrophysiology of prefrontal cortex of the primate*, in Uyling H.B.M. et al., eds, *Progress in Brain research*, vol 85.
58. Galasko D, Hansen LA, Katzman R, et al. Clinical-neuropathological correlations in Alzheimer's disease and related dementias. *Arch Neurol* 1994;51:888-895.

60. Chertkow M, deKosky ST. Mild cognitive impairment, amnesic type: an epidemiologic study. *Neurology*. 2004; 63: 115-121.
61. Gearing M, Mirra SS, Hedreen JC, Sumi SM, Hansen LA, Heyman A. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). X. Neuropathology confirmation of the clinical diagnosis of Alzheimer's disease.
62. Giacobini e., 1982, Cellular and Molecular Mechanisms of Aging of the Nervous System. Raven Press NY.
63. Girard M., Raybaud C., Dulac P., 1991, MRI study of brain myelination, in *Journal of Neurobiology*, vol 18, 4, 291.
64. Gold J.M., Goldberg T.E., Weinberger D.R. 1992, Prefrontal function.
65. Golderbeg E. 1992, Introduction: The frontal lobes in neurological & psychiatric conditions, in *Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behav.*
66. Goldman-Rakic P.S., Friedman H, 1991, The circuitry of working memory revealed by anatomy and metabolic imaging in Frontal Lobe: Function and dysfunction, Levin H.S. et al.
67. Gonzales-Pacheco DM, Buss WC, Koehler KM, et al. Energy restriction reduces metabolic rate in adult male Fisher-344 rats. *J Nutr* 1993; 123: 90-97.

- Grundman MD, et al. Impaired protein degradation may account for the accumulation of abnormal proteins in aging cells. In: Adelman RC, Dekker EE, editors. Modern aging research, modification of proteins during aging. New York: Alan R. Liss; 1985. pp. 16-18.
69. Grady C.L., McIntosh R., Horwitz B., Maisog J.M. et al, Age related reduction in human recognition memory due to impaired encoding, in Science, vol, 269, 221-228, 2000.
70. Grattan L.H., Bloomer R.H., Archambault F.X., Eslinger P., 1994, Cognitive flexibility and empathy after frontal lobe lesion, in Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behav. Neurology.
71. Greene J. Melatonin for the masses. Antiaging entrepreneurs peddle therapies.
72. Greider CW. Telomeres, telomerase and senescence. Bioessays 1990; 12:363-369.
73. Greville TN, Bayo F, Foster R. United States life tables by causes of death: 1960-1971.
74. Grundman M, Petersen RC, Morris JC, et al. Rate of dementia of the Alzheimer type (DAT) in subjects with mild cognitive impairment. Neurology 1996; 46:661-665.
75. Hahn WC. Role of Telomeres and telomerase in the pathogenesis of human cancer. J Clin Oncol 21:2034-2043, 2003.

76. Hamrick L, Moorhead TS. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains *Exp. Cell Res* 1965; 37: 614- 636.
77. Hansen LA, DeTeresa R, Davies P, Terry RD. Neocortical morphometry , lesion counts, and choline acetyltransferase levels in the age spectrum of Alzheimer's disease. *Neurology* 1988;38:48-54.
78. Hansen LA, Salmon D, Galasko D, et al. The Lewy body variant of Alzheimer's disease : a clinical and pathologic entity. *Neurology* 1990;40:1- 8.
79. Harmann., D. Aging a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 1956; 11: 298-300.
80. Hart RW., Setlow RB. Correlation between deoxyribonucleic acid excision repair and life- span in a number of mammalian species. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 1974; 71: 2169-2173.
81. have been legally prescribed for approximately thirty years. *Ann N Y.*
82. Hayflick.L.,1965, The Limited in vitro lifetime of human diploid cell strains, *Experimentale Cell Res.*
83. Hengartner MO, Horvitz HR. *C. elegans* cell survival gene *ced-9* encodes functional homolog of the mammalian proto-oncogene *bcl-2*. *Cell* 1994; 76: 665 ó 676.

84. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. Nature 2000.

85. Hitri a., Casanova M., Kleiman J., Weinberger D et al., 1995, Age related changes in binding density in the PCF of control and schizophrenics, in Biological Psychiatry.

86. Hitt R, Young-Xu Y, Silver M, Perls T. Centenarians: the older you get, the healthier you have been. Lancet. 1999; 354:652.

87. Hodges J.R. 1994, Neurological aspects of dementia and normal aging, in Huppert F.A. et al. Dementia et Normal aging, p120-136. ó Cambrige Press.

88. Holmes DJ. Naturally long-lived animal models for the study of slow aging

89. Holzenberger, M. Kappeler, L. De Magalhaes Filho C. IGF-1 signaling and aging Exp. Gerontol. 2004; 39: 1761-1764.

90. Holzenberger,M., Dupont, J.,Ducos, B., Leneuve, P.,Geloen, A., Even, P.C.,Cervera, P., Le Bouc, Y., IGF-1 receptor regulates life span andresistance to oxidative stress in mice. Nature 2003.; 421: 182ó187.

91. Hope T.1994, Personality and behaviour in dementia and normal aging, in F. Hupper at al eds., Dementia and normal aging, Cambrige U.P. 272 ó288.



PDF Complete

Your complimentary use period has ended.
Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

92. Howieson DB, Horn L, Kaye JA, Oken BS, Howieson J. Neurologic function in the optimally healthy oldest old: neuropsychological evaluation. *Neurology* 1993;43:1882-1886.
93. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. 2003; 425:191-6.
94. Huether G. Melatonin as an antiaging drug: between facts and fantasy.
95. Hughes AK, Reynolds RM. Evolutionary and mechanistic theories of aging. *Ann Rev Entomol* 2005; 50: 421-445.
96. Huppert F.A., Brayne C., 1994, What is the relationship between Dementia and normal aging, Cambridge U.P. 3-11.
97. Hyattsville (MD): Technical Report 6 DHEW Publication. 1975 May. Publication #75/ 1150-Vol-1-5.
98. Igakkai Zasshi. 2004;41:601-3.
99. Ingram DK, Anson RM, de Cabo R, Mamczarz J, Zhu M, Mattison J, Lane.

- Markus E.J., 1992 A psychological framework for perceptual and cognitive changes in aging in the handbook of aging and cognition, Craik F.I., Salthouse T .A., eds LEA, Hillssdale , NJ.
101. Jackson S, Ham RJ, Wilkinson D. The safety and tolerability of donepezil inpatients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol* 2004; 58:S1-S8.
 102. Jacobs B., Scheibel A.B., 1993, A quantitative dendritic analysis of Wernicke's area in Humans Lifespan changes, in the *Journ. Comp: Neurology*, n327, pp 83 ó 95.
 103. Jacobson MD, Weil M, Raff MC. Programmed cell death in animal development. *Cell* 1997; 88: 347 ó 354.
 104. John E.R., Prichep L.S., 1990, Neurometric studies of aging and cognitive impairment, in H.B.M. Uylings et al. eds. *Progress in brain* .81, 535 ó 564.
 105. Jorm AF, Jolley D. The incidence of dementia. A meta-analysis. *Neurology*1998; 51: 728-733.
 106. Jorm AF, Masaki KH, Davis DG, et al. Memory complaints in nondemented.
 107. Jorm AF. Methods of screening for dementia: A meta-analysis of studies comparing an informant questionnaire with a brief cognitive test. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1997;11:158-162.

108. Juchst ET, Binstock RT, Mehlman MJ, Post SG. Aging. Antiaging research.
109. Kaeberlein M, McVey M, Guarente L. Using yeast to discover the fountain of youth. *Sci Aging Knowledge Environ.*;2001(1):pe1.
110. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R et al Cell death: apoptosis versus necrosis *Int J Oncol* 2002.
111. Kayo, T. Allison, DB., Weindruch, R. Prolla, TA. Influences of ageing.
112. Keller, L. Genoud, M. Extraordinary lifespans in ants: a test of evolutionary theories of ageing. *Nature* 1997; 389: 958-960.
113. Kenney R. 1989 (1991) *Fisiologia dell'invecchiamento*, Il Pensiero scientifico ed MI.
114. Kerr J.F., Wyllie AH., Currie AR, Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue Kinetics. *Br J Cancer* 1972.
115. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ó ranging implications.
116. Kerr Jf, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ó raging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972.



PDF Complete
Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

117. Kinschla R, and Vekron VA. An aging world: 2001. U.S. Census Bureau, Series P95/01-1. U.S. Government Printing Office, Washington, DC, 2001.
118. Kipling, D., Davis, T., Ostler, EL. Faragher, RGA. What can progeriod syndromes.
119. Kirkwood T.B. 1994, How do risk factors for dementia relate to current theories on mechanism of aging in F Huppert ed al ed., dementia and normal aging, Cambrige U.P., p230-243.
120. Kitayama I., Nakamura S., Yaga T. et al., 1993, Degeneratio of locus coeruleo axons in stress induced depression model, in Brain Res. Bulletin, vol 35, 5 - 6, 573 6580.
121. Knight R.T., 1991, Evoked potential Studies of attention capacity in Human frontal lobe lesions, p.139-155.
122. Knook DL. Antiaging strategies. Ann N Y Acad Sci. 1992 21;663:372-5.
123. Knopman DS, Mastri AR, Frey WH, Sung JH, Rustan T. Dementia lacking distinctive histologic features: a common non-Alzheimer degenerative dementia. Neurology 1990;40:251-256.

Anatomical correlates of behavioral change after

neonatal prefrontal lesions rats, in Uylings C.G. et al eds., Progress in Brain research , vol 85, pp.241-254.

125. Kompoliti K, Goetz CG, Boeve BF, et al. Clinical presentation and pharmacological therapy in corticobasal degeneration. Arch Neurol 1998;55:957- 961.
126. Kozma C, Engelhart L, Long S, Greenspan A, Mahmoud R, Baser O. No evidence for relative stroke risk in elderly dementia patients treated with Hisperidone versus other antipsychotics. Poster presented at the Poster presented at the American Psychiatric Association (APA) 157th Annual Meeting, New York, May 1-6 2004.
127. Kral VA. Senescent forgetfulness: benign and malignant. Can Med Assoc J 1962;86:257:260.
128. Kuhn HG, Palmer TD, Fuchs E. Adult neurogenesis: a compensatory mechanism for neuronal damage. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2001;
129. Lalonde R., Badescu R., 1995, Exploratory drive, frontal lobe function and adipsia in aging, in Gerontology, vol 41,3, 134-144.
130. Lambert AJ, Merry BJ. Effect of caloric restriction on mitochondrial reactive

- , Yau KK. Efficacy and safety of cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Can Med Assoc J* 2003;169:557-564.
132. Landow K. Patient notes: cosmetic antiaging treatments. *Postgrad Med.*2003;114:91-2.
133. Larrieu S, Letenneur L, Orgogozo JM, et al. Incidence and outcome of mild cognitive impairment in a population-based prospective cohort. *Neurology* 2002;26:59594-1599.
134. Larsen PL, Clarke CF. Extension of life-span in *Caenorhabditis elegans* by a diet lacking coenzyme Q. *Science* 2002; 295:120 ó 123.
135. Lashley K.S., Clark G., 1946, The cytoarchitecture of the cerebral cortex of *Ateles* : a critical examination of architectonic studies, *Journal of Comp. Neurology*, 85, p 233 ó 304.
136. Le Bars PL, Katz MM, Berman N, et al. A placebo-controlled, double-blind, randomized trial of an extract of *Ginkgo biloba* for dementia. *JAMA*. 1997; 278: 1327-1332.
137. Lee CK., Weindruch, R. Prolla, TA. Gene expression profile of the ageing brain in mice . *Nat Gen* 2000; 25:294-297.

- an M, et al. Atypical antipsychotic drugs in the treatment of behavioural and psychological symptoms of dementia: systematic review. *BMJ* 2004; 329: 75-78.
139. Lewis D.A., Campbell M.J., Morrison J.K., 1986, An Immunohistochemical characterization of somatostatin in monkey prefrontal cortex in *Journal of Comp. Neurology*, 248, 1- 18.
140. Lindop PJ, Rotblat J. Life-shortening in mice exposed to radiation: effects of age and of hypoxia. *Nature* 1965; 208:1070 ó 1072.
141. Linn RT, Wolf PA, Bachman DL, et al. The preclinical phase of probable Alzheimer's disease: a 13-year prospective study of the Framingham cohort. *Arch Neurol* 1995;52:485-490.
142. Linnik MD, Zobrist RH, Hatfiel MD. Evidence supporting a role for programmed cell death in focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1993.
143. Lipton S.A., Kate. S.A. , 1989, Neurotransmitter regulation of neuronal out growth, plasticity and survival, in *trends in Neuroscience* , 12,7, 265-270.
144. Lithgow GJ, Andersen JK. The real Dorian Gray mouse. *Bioessays* 2000; 22: 410 ó 413.

145. O, Sharp FR, Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbilis. J Neurosci 1998;
146. Lockshin Ra, Williams CM. Programmed Cell Death ó I. Cytology of Degeneration in the Intersegmental Muscles of the Pernyi Silkmoth. J Insect Physiol 1965.
147. Loeffler M, Kroemer G., The mitochondrion in cell death control: certainties and incognita, Exp Cell Res 2000, 256:19,26.
148. Lokslin RA, Williams CM., Programmed Cell Death . Citology of Degeneration in the Intersegmental of the Pernyl Silkmoth. J Insect Physiol, 1965, 11:123,33.
149. Lopez OL, Litvan I, Catt KE, et al. Accuracy of four clinical diagnostic criteria for the diagnosis of neurodegenerative dementias. Neurology 1999;53:1292-9.
150. Lostia M. 1985, Programmazione e controllo dei comportamenti , Angeli, Milano DøAlessandro R, Gallassi R, Benassi G, Morreale A, Lugaresi E. Dementia in Terapie anti-ivecchiamento ed evidenze scientifiche.
151. Lu T, Pan Y, Kao SY, Li C, Kohane I, Chan J, Yankner BA Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. Nature 2004; 429: 8883-8.

152. Bhatnagar B, Fernandes G. Calorie restriction modulates lymphocyte subset phenotype and increases apoptosis in MRL/lpr mice. *Immunol Lett.* 1995 47: 181-186.
153. Luis CA, Barker WW, Gajaraj K, et al. Sensitivity and specificity of three clinical criteria for dementia with Lewy bodies in an autopsy-verified sample *Int J Geriatr Psychiatry* 1999;14:526-33.
154. Lyketsos GC, Olin J. Depression in Alzheimer's disease: overview and treatment. *Biol Psychiatry.* 2002; 52: 243-252.
155. MA, Roth GS. Development of calorie restriction mimetics as a pro-longevity.
156. Martin LJ Neuronal cell death in nervous system development, disease, and injury *Int Mol Med* 2001.
157. Masoro EJ. Caloric restriction and aging: an update. *Exp Gerontol.*2000;35:299-305.
158. Masoro EJ. Hormesis and the antiaging action of dietary restriction.
159. Masur DM, Fuld PA, Blau AD, Crystal H, Aronson MK. Predicting development of dementia in the elderly with the selective reminding test. *J Clin Exp Neuropsychol* 1990;12:529-538.

Yu BP. Does food restriction retard aging by reducing the metabolic rate? *Am J Physiol* 1985; 248:E488 óE490.

161. McGee MA, Brayne C. The impact on prevalence of dementia in the oldest age groups of differential mortality patterns: a deterministic approach. *International Journal of Epidemiology* 1998; 27: 87-90.
162. McKeith IG, Ballard CG, Perry RH, et al. Prospective validation of Consensus criteria for the diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Neurology* 2000;54:1050-8.
163. McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, et al. Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the Consortium on DLB international workshop. *Neurology* 1996;47:1113-24.
164. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price R, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADR Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984;34:939-944.
165. McRae T, Orazem J. A large-scale, open-label trial of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease: Side effects and concomitant medication use. *Int J Neuropharmacol* 1999; 2:S176.

167. Mega MS, Cummings JL, Fiorello T, Gornbein J. The spectrum of behavioural changes in Alzheimer's disease. *Neurology*. 1996; 46: 130-135.
168. Merdes A, Hansen LA, Jeste JV, et al. Influence of Alzheimer pathology on clinical dementia accuracy in dementia with Lewy bodies. *Neurology* 2003;60:1586-90.
169. Meyerson M: Role of telomerase in normal and cancer cells. *J Clin Oncol* 18 :2626-2634.2000.
170. Miller CA. Hormones as antiaging remedies. *Geriatr Nurs*. 2001;22:111-2.
171. Minger SL, Esiri MM, McDonald B, et al. Cholinergic deficits contribute to behavioral disturbance in patients with dementia. *Neurology*. 2000; 55:1460-1467.
172. Mockett, RJ., Orr, WC., Rahamander, JJ., Sohal, BH., Sohal, RS. Antioxidant status and stress resistance in long and short-lived lines of *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontology* 2001; 36: 441-63.

- Morris JC, et al. A 1-year, placebo-controlled preservation of function survival study of donepezil in AD patients. *Neurology*. 2001; 57: 481-488.
174. Morris JC, McKeel DW Jr, Storandt M, et al. Very mild Alzheimer's disease : informant-based clinical , psychometric, and pathologic distinction from normal aging. *Neurology* 1991;41:469-478.
175. Mountjoy CQ, Roth M, Evans NJR, Evans HM. Cortical neuronal counts in normal elderly controls and demented patients. *Neurobiol Aging* 1983;4:1- 11.
176. Mrazek RE, Griffin ST, Graham DI Aging-associated changes in human brain. *JNeuropathol Exp Neurol*. 1997; 56:1269-75.
177. Muzio M., Stockwell BR, Stennicke HR, Salvesen GR, Dixit VM, An induced proximity for caspase 8 activation. *J. Biol. Chem*. 1998.
178. Obrenovich ME, Monnier VM. Apoptotic killing of fibroblasts by matrixbound advanced glycation endproducts. *Sci Aging Knowledge Environ.*;2005 (4): pe3.
179. Okada H Mak TW: Pathways of apoptotic and non apoptotic death in tumor cells. *Nat Rev. Cancer* 8 : 592-603.2004.
180. Olin J, Schneider L. Galantamine for Alzheimer's disease (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 3, 2002. Oxford: Update Software.

181. Ordogozo JM, Gilman S, Dartigues JF, et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta 42 immunization: *Neurology* 2003; 400: 173-179.
182. Orr WC, Sohal RS. Extension of life-span by overexpression of Superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science* 1994; 263:1128 ó 1130.
183. Ozawa T. Genetic and functional changes in mitochondrial associated with aging. *Physiol Rev* 1997; 77: 425 - 464.
184. Perez-Campo R, Lopez-Torres M, Cadenas S, Rojas C, Barja G. Links The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach. *J Comp Physiol [B]*. 1998;168:149-58.
185. Perls T, Levenson R, Regan M, Puca A. What does it take to live to 100? *Mech Ageing Dev* 2002; 123: 231 ó 242.
186. Perls TT, Morris JN, Ooi WL, Lipsitz LA. The relationship between age, gender, and cognitive performance in the very old: the effect of selective survival. *J Am Geriatr Soc* 1993,41:1193-1201.

187. Blessed G, et al. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *BMJ*. 1978; 2: 1457-1459.
188. Petersen RC, Smith G, Kokmen E, Ivnik RJ, Tangalos EG. Memory function in normal aging. *Neurology* 1992;42:396-401.
189. Petersen RC. Normal aging, mild cognitive impairment, and early Alzheimer's disease. *Neurologist* 1995;1:326-344.
190. *Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004 ;286:R71-9.
191. Pinessi L, Rainero I, Asteggiano G, Ferrero P, Tarenzi L, Bergamasco B. Primary dementias: epidemiological and sociomedical aspects. *Italian Journal of Neurological Sciences* 1984; V: 51-55.
192. Prencipe M, Casini AR, Ferretti C, Lattanzio MT, Fiorelli M, Culasso F. Prevalence of dementia in an elderly rural population: effects of age, sex, and education. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1996;60: 628-633.
193. Price JL. The relationship between tangle and plaque formation during healthy aging and mild dementia. *Neurobiol Aging* 1993;14:661-663.
194. Rattan SI. Mechanisms of hormesis through mild heat stress on human cells.

- nchi D, Maioli F, Nesi B, Cucinotta D, Bernardi M, Cavani G. Prevalence and severity of dementia among northern Italian centenarians. *Neurology* 1999; 53: 416-418.
196. Reed JC : Dysregulation of apoptosis in cancer. *J Clin Oncol* 17: 2941-2953,1999.
197. Reinsberg B, Doody R, Stoffer A, et al. Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1333-1341.
198. Ritchie K, Kildea D. Is senile dementia 'age-related' or 'ageing-related'? Evidence from meta-analysis of dementia prevalence in the oldest old. *Lancet* 1995; 346: 931-934.
199. Ritchie K. Establishing the limits of normal cerebral ageing and senile dementias. *British Journal of Psychiatry* 1998; 173:97-101.
200. Rocca WA, Bonaiuto S, Lippi A, Luciani P, Turtù F, Cavarzeran F, Amaducci L. Prevalence of clinically diagnosed Alzheimer's disease and other dementing disorders: A door-to-door survey in Appignano, Macerata Province, Italy. *Neurology* 1990; 40: 626-631.

- a relationship between longevity of mammalian species and life spans of normal fibroblasts in vitro and erythrocytes in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A 1981; 78: 5009 ó 5013.
202. Ronen Igakkai Zasshi. 2003;40:421-8.
203. Rose G, Passarino G, Carrieri G, Altomare K, Greco V, Bertolini S, Bonafe M, Rose S. Precis of öLifelines : biology, freedom, determinismö Behav. Brain Sci 1999.
204. Rose S. Precis of öLifelines : biology, freedom, determinismö Behav. Brain Sci 1999.
205. Rosenberg HM, Ventura SJ, Maurer JD, et al. Births and deaths: United States.
206. Rossi F, Cattaneo E . Neural stem cell therapy for neurological disease: dreams and reality. Nat Rev Neurosci 2002; 3:401-9.
207. Roth GS, Mattison JA, Ottinger MA, Chachich ME, Lane MA, Ingram DK. Aging in rhesus monkeys: relevance to human health interventions. Science. 2004; 305:1423-6.
208. Rothman DJ, Rothman SM, Warner HR, West MD, Wright WE.
209. Roush W. Live long and prosper? [news]. Science 1996; 273:42 ó 46.

- Miller JP, et al. A prospective study of cognitive function and onset of dementia in cognitively healthy elders. *Arch Neuro* 1998;55:395-401.
211. Salemi G, Reggio A, Morante L, Grigoletto F, Patti F, Meneghini F, et al. Impact of sociodemographic characteristics on cognitive performance in an elderly Sicilian population. *Neuroepidemiology* 2002; 21: 44-49.
212. Sano M, Ernesto C, Thomas RG, et al. A controlled trial of selegiline, alphatocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 1997; 336: 1216-1222.
213. Santacruz P, Utzl B, Litvan I, Grafman J. Progressive supranuclear palsy: a survey of the disease course. *Neurology* 1998;50:1637-1647.
214. Schenk D, Barbour R, Dunne W, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999; 400: 173-179.
215. Schneider LS, Pollock VE, Lyness SA. A metaanalysis of controlled trials of neuroleptic treatment in dementia. *JAGS*. 1990 ; 38 : 553-563.
216. Scott L, Goa K. Galantamine: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs*. 2000; 60: 1095-1122.

: Telomeres, stem cells, senescence and cancer. *J Clin Invest* 113:166-168, 2004.

218. Shock NW. Longitudinal studies of aging in humans. In: Finch CE, Schneider EL, editors. *Handbook of the biology of aging*. New York: Van Nostrand Reinhold; 1985. p. 721.
219. Shua-Haim JR, Smith JM, Amin S. Safety and tolerability of slow titration of rivastigmine (Exelon) in the treatment of patients with Alzheimer disease AD): An overall analysis of two prospective studies. *J Am Geriatr Soc* 2001 ; 49:S76.
220. Shumaker SA, Legault C, Rapp SR, et al. Estrogen plus progestin and the incidence of dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 289: 2651-2652.
221. Smith JV, Heilbronn LK, Ravussin E. Energy restriction and aging. *Curr Opin*.
222. Smith RG, Betancourt L, Sun Y. Molecular Endocrinology and Physiology of the Aging Central Nervous System. *Endocr Rev*. 2005; (Epub ahead of print).
223. Sohal RS, Brunk UT. Lipofuscin as an indicator of oxidative stress and aging. *Adv Exp Med Biol*. 1989; 266: 17-26.

Oxidative stress, caloric restriction, and aging.

Science. 1996; 273: 57-65.

225. Solomon PR, Adams F, Silver A, Zimmer J, De Veaux R. Ginkgo for memory enhancement: a randomized controlled trial. JAMA. 2000; 288: 835-840.
226. Spinnler H, Tognoni G (ed): Standardizzazione e Taratura Italiana di Test Neuropsicologici. The Italian Journal of Neurological Sciences 1987 (Suppl 6).
227. Stock GB. The pitfalls of planning for demographic change. Ann N Y Academy.
228. Study on Aging (ILSA): design and methods. Aging Clinical and Experimental Research 1994; 6: 464-473.
229. Suga Y. Prevention and antiaging therapy for skin aging. Nippon Ronen.
230. Sun SY, Hail NJ, Lotan R: Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. J Natl Cancer Inst 96: 662-672, 2004.
231. Tariot PN, Farlow MR, Grossberg GT, et al. Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil. A randomized controlled trial. JAMA 2004 ; 291 :317-324.

- erson MG, et al. The behaviour rating scale for dementia of the consortium to establish a registry for Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry*. 1995 ; 152 : 1349-1357.
233. Tariot PN, Solomon PR, Morris JC, et al., for the Galantamine USA-10 Study Group. A 5-month, randomized placebo-controlled trial of galantamine in AD. *Neurology* 2000 ; 54:2269-2276.
234. Tatar, M., Bartke, A. Antebi, A. The neoendocrine regulation of aging by insulin-like signals *Science* 2003; 299: 1346-1351.
235. Terman A, Brunk UT. Myocyte aging and mitochondrial turnover. *Exp Gerontol*. 2004; 39:701-5.
236. The Lund and Manchester Groups. Clinical and neuropathological criteria for frontotemporal dementia. *Journal Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:416-418.
237. Tierney MC, Szalai JP, Snow WG, et al. Prediction of probable Alzheimer's disease in memory-impaired patients : a prospective longitudinal study. *Neurology* 1996;46:661-665.
238. Tiraboschi P, Hansen LA, Alford M, et al. The decline in synapses and cholinergic activity is asynchronous in Alzheimer's disease. *Neurology*. 2000; 55: 1278-1283.

239. Pillon BII, Hoehn J, Monanty S, et al. Efficacy of cholinesterase inhibitors in the treatment of neuropsychiatric symptoms and functional impairment in Alzheimer disease: a meta-analysis. *JAMA*. 2003; 289: 210-216.
240. Troen BR, *The Biology of Aging*. The Mount Sinai J. Med. 2003; 70: 3-22.
241. Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, et al. p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 2002; 415: 45 ó 53.
242. Ukraintseva SV, Arbeev KG, Michalsky AI, Yashin AI. Antiaging treatments.
243. Unger J, van Belle G, Heyman A. Cross-sectional vs. longitudinal estimates of cognitive change in the non-demented elderly: a CERAD study. *J Am Geriatr Soc* 1999,47:559-563.
244. Van Dongen MCJM, van Rossum E, Kessels AGH, Sielhorst HJG, Knipschild PG. The efficacy of ginko for elderly people with dementia and age-associated memory impairment: new results of a randomized clinical trial. *JAm Geriatr Soc*. 2000; 48: 1183-1194.
245. Vaux DL, Cory S., Adams JM, Bcl2- Gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre B ó cells. *Nature* 1988,335

- ickson DW, Lipton RB. Validity of clinical criteria
for the diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Neurology* 1999;53:1974-82.
247. Vojta CL, Fraga PD, Forcica MA, Lavizzo-Mourey R. Antiaging therapy.
248. Watanabe óFukunaga R, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Nagata S.,
Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that
mediates apoptosis. *Nature* 1992,356, 314-7.
249. Wechsler D (ed): *Manual for the Wechsler Adult Intelligence Scale*. The
Psychological Corporation, New York, 1955, p 75.
250. Wechsler D (ed): *The Measurement and Appraisal of Adult Intelligence*, ed. 4
Williams & Wilkins, Baltimore, 1958, p 297.
251. Weindruch R, Walford RL. Dietary restriction in mice beginning at 1 year of
age: effect on life-span and spontaneous cancer incidence. *Science* 1982;
215:1415 -1418.
252. Wilhelmsen KC, Lynch T, Pavlou E, Higgins M, Nygaard TB. Localization of
disinhibition-dementia-parkinsonism-amyotrophy complex to 17q21-22. *Am J
Hum Genet* 1994;55:1159-1165.
253. Wilkinson DG, Francis PT, Schwam E, Payne-Parrish J. Cholinesterase
inhibitors used in the treatment of Alzheimer's disease: the relationship

254. Wilkinson DG, Passmore AP, Bullock R, et al. A multinational, randomised, 12-week, comparative study of donepezil and rivastigmine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Int J Clin Pract*. 2002; 56: 441-46.
255. Winblad B, Engedal K, Soininen H, et al. A 1-year, randomized, placebo-controlled study of donepezil in patients with mild to moderate AD. *Neurology*. 2001; 57: 489-495.
256. Winblad B, Poritis N. Memantine in severe dementia: results of the M-Best Study (Benefit and efficacy in severely demented patients during treatment with memantine). *Int J Geriatr Psychiat*. 1999; 14: 135-146.
257. Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, Sinclair D. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*. 2004; 430:686-9.
258. Wright AF, Jacobson SG, Cideciyan AV, Roman AJ, Shu X, Vlachantoni D, McInnes RR, Riemersma RA. Lifespan and mitochondrial control of neurodegeneration. *Nat Genet*. 2004; 36:1153-8.
259. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR, Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980.



260. Fane R, Fox T, Newcomer R, et al. Patient and caregiver characteristics and nursing home placement in patients with dementia. *JAMA* 2002; 287:2090-2097.
261. Yamada Y, Sekihara H. DHEA: hormone as antiaging remedies. *Nippon*.
262. Yu BP, Masoro EJ, McMahan CA. Nutritional influences on aging of Fischer 344 rats: I. Physical, metabolic, and longevity characteristics. *J Gerontol* 1985; 40:657-670.
263. Yuan J, Yanker BA. Apoptosis in the nervous system. *Nature* 2000; 407:802-9.
264. Zs-Nagy I. Pharmacological interventions against aging through the cell plasma.



*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

GRAZIAMENTI

Si desidera ringraziare per la preziosa collaborazione