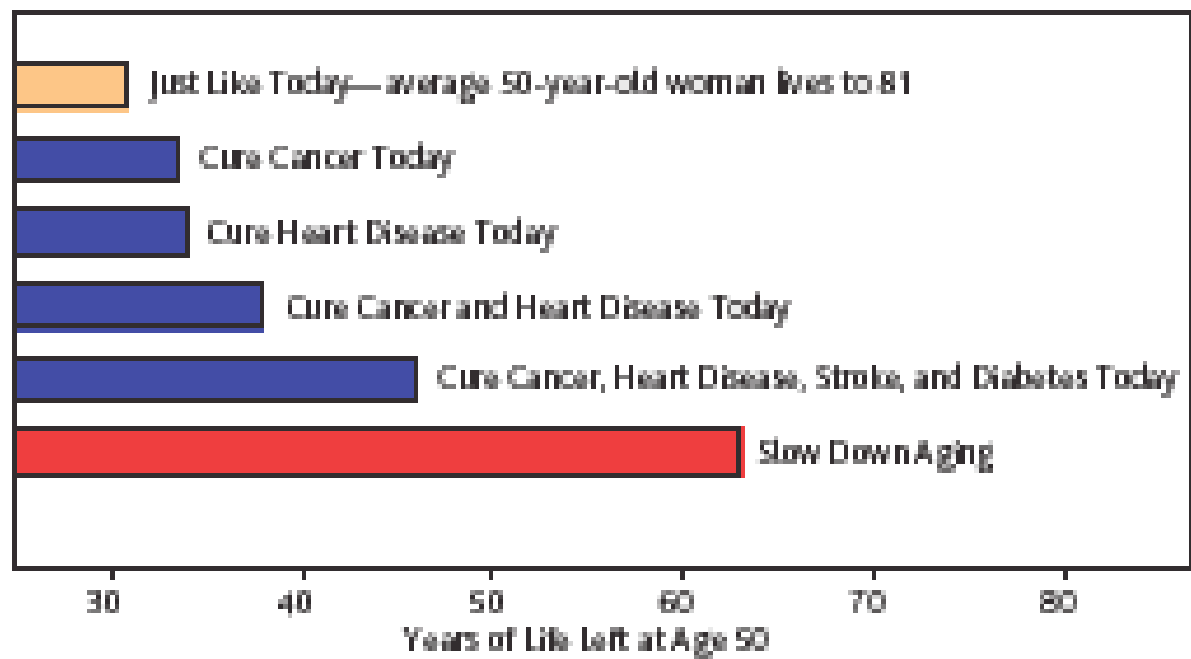


Invecchiamento cellulare e dell'organismo

- Un problema sociale di enorme importanza nel mondo occidentale;
- L'Italia é il Paese piú vecchio del mondo!!!

Invecchiamento fisiologico e invecchiamento patologico

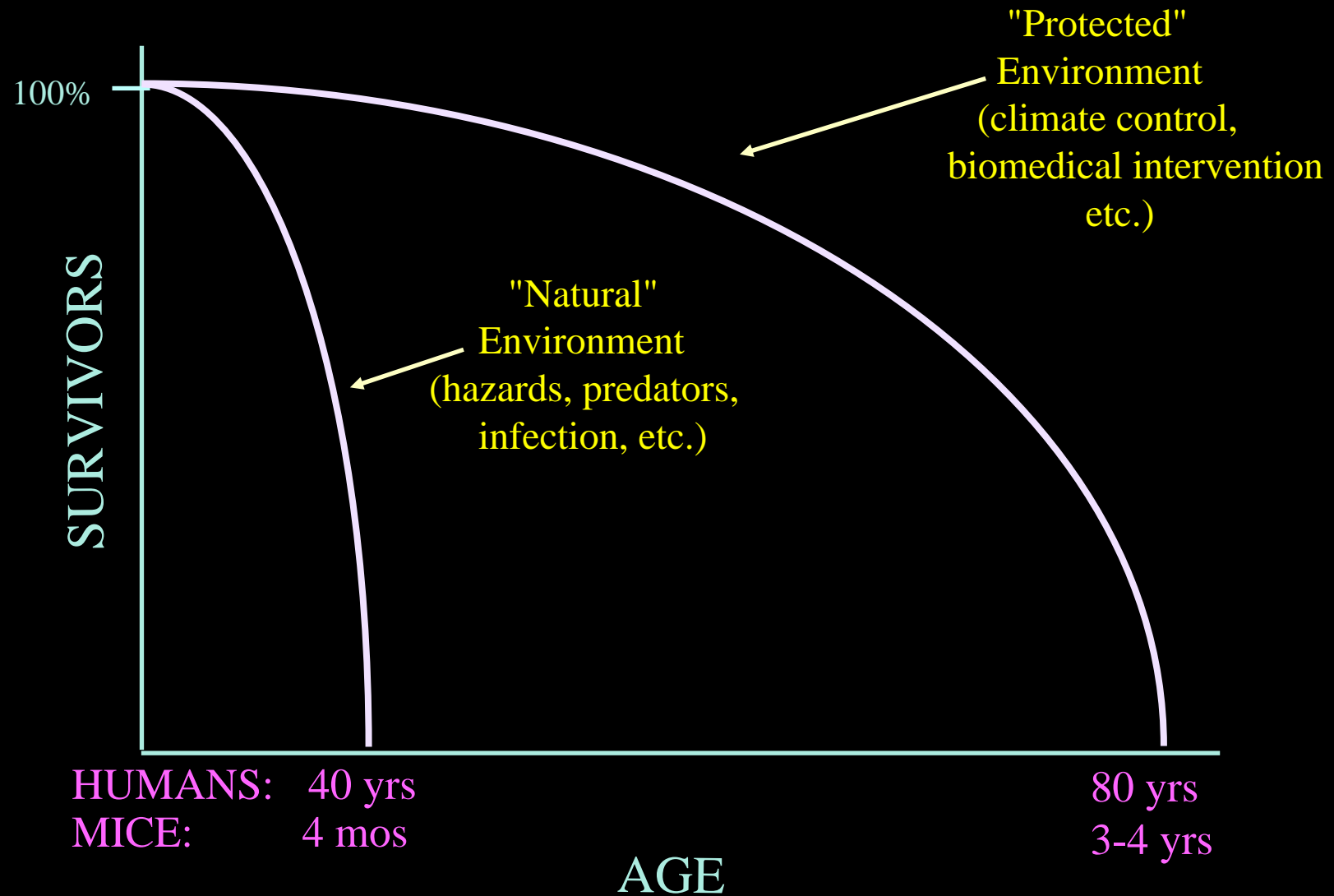
- Malattie la cui incidenza e le cui manifestazioni sono maggiori con l'avanzare dell'età: cancro, arteriosclerosi e malattie cardiovascolari, p.es.
- Accanto a queste “malattie”, l'invecchiamento si manifesta con una complessa serie di “sintomi” legati al progressivo decadimento delle funzioni cellulari
- Sembrerebbe quindi che la medicina debba o: 1) scoprire cure specifiche per ogni specifica malattia collegata all'invecchiamento, oppure 2) intervenire sull'invecchiamento “fisiologico” per rallentare le manifestazioni “patologiche”.



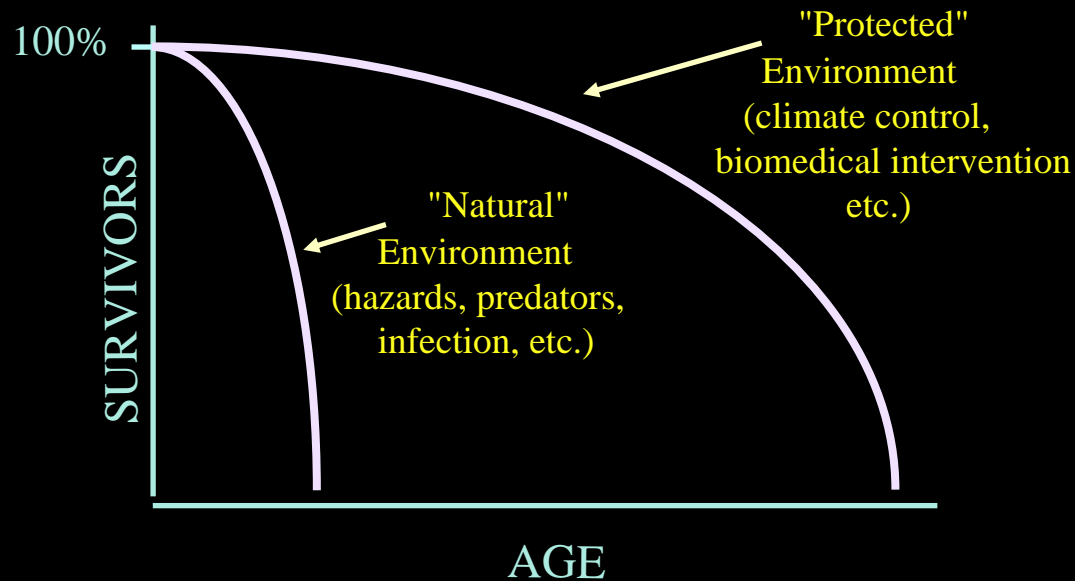
Teoria “evolutiva” della senescenza

- Dal momento che le alterazioni collegate all’invecchiamento si manifestano nell’età post-riproduttiva, non c’è stata pressione evolutiva per l’eliminazione/mutazione di geni “nocivi” a questo stadio (inoltre: l’aspettativa di vita media dell’Uomo preistorico era di 18-20 anni!!!), ma:
- Se questi ipotetici “geronto-geni” esistono, essi potrebbero essere favoriti dall’evoluzione se giocano un ruolo positivo per la fitness/riproduzione
- *L’invecchiamento come “by-product”*

Aging before cell phones



Aging before cell phones



Mutation Accumulation ("bad" genes can persist)

Antagonistic Pleiotropy

(what's good when you're young can be bad when you're old)

Corollario

- ESISTONO GENI CHE CONTROLLANO L' INVECCHIAMENTO?

Genetica dell'invecchiamento



Fig. 1. Wild-type (left specimen) and long-lived dwarf (right specimen) yeast, flies, and mice with mutations that decrease glucose or insulin/IGF-I-like signaling. Yeast *sch51* null mutants form smaller colonies (left). *sch51* mutants are also smaller in size, grow at a slower rate, and survive three times longer than wild-type yeast. *chico* homozygous mutant female flies are dwarfs and exhibit an increase in life-span of up to 50% (center) (fly image provided by D. Gems) [21]. *Chico* functions in the fly insulin/IGF-I-like signaling pathway. The *IGF1R* mice are dwarfs deficient in IGF-I and exhibit a 50% increase in life-span (right) (mouse images provided by A. Bartke). Other yeast and worm mutants exhibit life-span extension of more than 100% but do not have detectable growth defects.

Due modelli principali

- Esistenza di un “orologio” biologico
- Invecchiamento come accumulo di danni legati allo stress

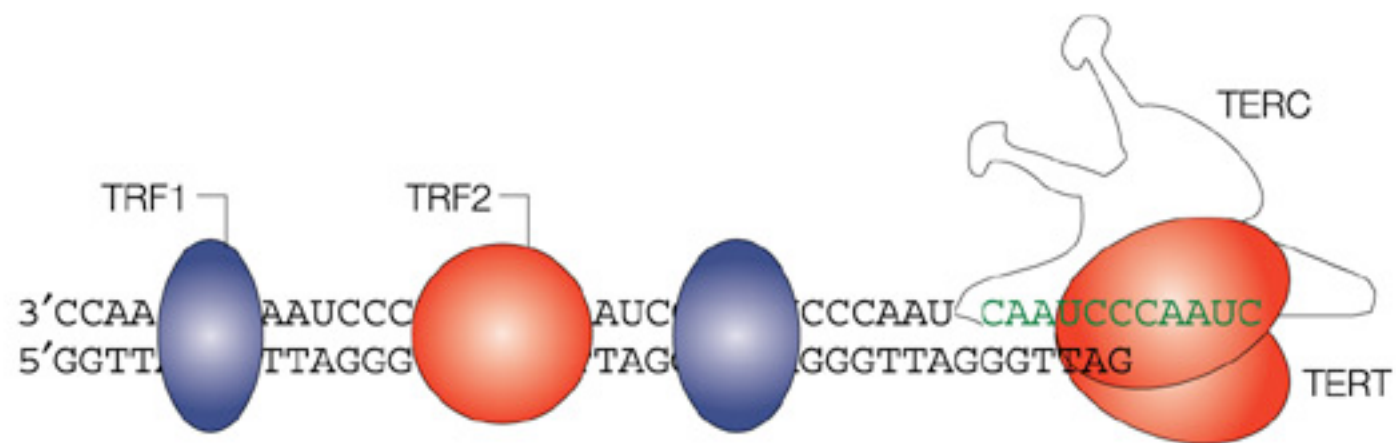
Lo studio della senescenza replicativa

- Cellule umane primarie normali messe in cultura dopo un numero limitato di repliche cellulari vanno incontro ad arresto irreversibile del ciclo cellulare e a modificazioni morfologiche denominate “senescenza replicativa” (incapacità a rientrare in ciclo)

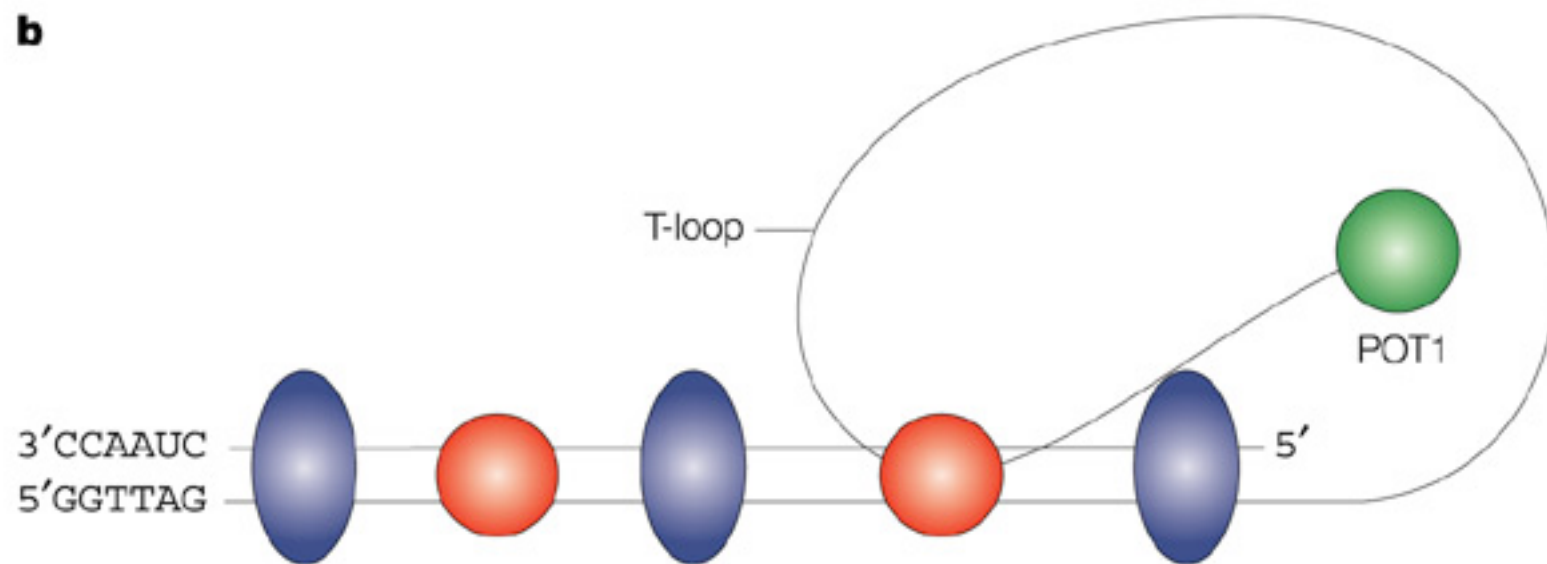
Telomerase and telomeres

- Telomeres - tips of chromosomes
- Protect integrity of DNA at the ends of chromosomes
- Telomerase - recognizes the end of the chromosome and adds repetitive telomeric sequences to maintain the length of the telomere

a



b



Cellule umane normali

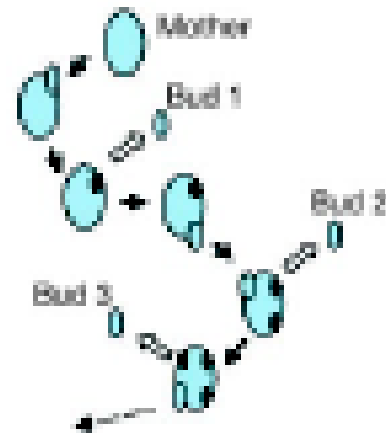
- La telomerasi non é espressa nella maggior parte dei tessuti normali
- La replicazione cellulare (in assenza della telomerasi) causa un progressivo accorciamento dei telomeri
- Quando I telomeri raggiungono una determinata lunghezza minima, le cellule vanno incontro a senescenza replicativa
- L'invecchiamento cellulare sembrerebbe essere un meccanismo volto a ridurre il massimo numero di divisioni cellulari possibile, e sfavorire cosí l'accumulo di un numero elevato di mutazioni

Qual é il ruolo dei telomeri nell'invecchiamento?

- La telomerasi può immortalizzare diversi tipi di cellule primarie umane (senza trasformarle);
- Lezioni dal topo: il topo ha telomeri molto lunghi, ma invecchia ugualmente (!!!). Ci sono quindi altri meccanismi che concorrono (nell'uomo) e che sono sufficienti per l'invecchiamento

Invecchiamento nel lievito e nel verme

Aging in the **yeast** *S. cerevisiae*
is the number of buds a
mother cell produces



REPLICATIVE AGING
of 1 MOTHER CELL

Aging in the **worm** *C. elegans*
is the number of days
a worm lives



↓
Prod individuals daily
to check for the ability
to move any part of the body

↓
CHRONOLOGICAL AGING
of 250 MOTHER CELL

Sir-2 nel lievito

- Nel lievito, l'invecchiamento é causato dalla formazione di “circoletti extracromosomali di DNA” codificante originariamente per l'RNA ribosomale.
- I geni per l'RNA ribosomale sono presenti in copie multiple e vanno incontro a processi di ricombinazione con formazione di “circoletti”.
- Sir2 é una istone deacetilasi (regolata dal metabolismo -livelli di NAD+) che compatta la cromatina dei geni per l'RNA ribosomale e ne riduce la ricombinazione.

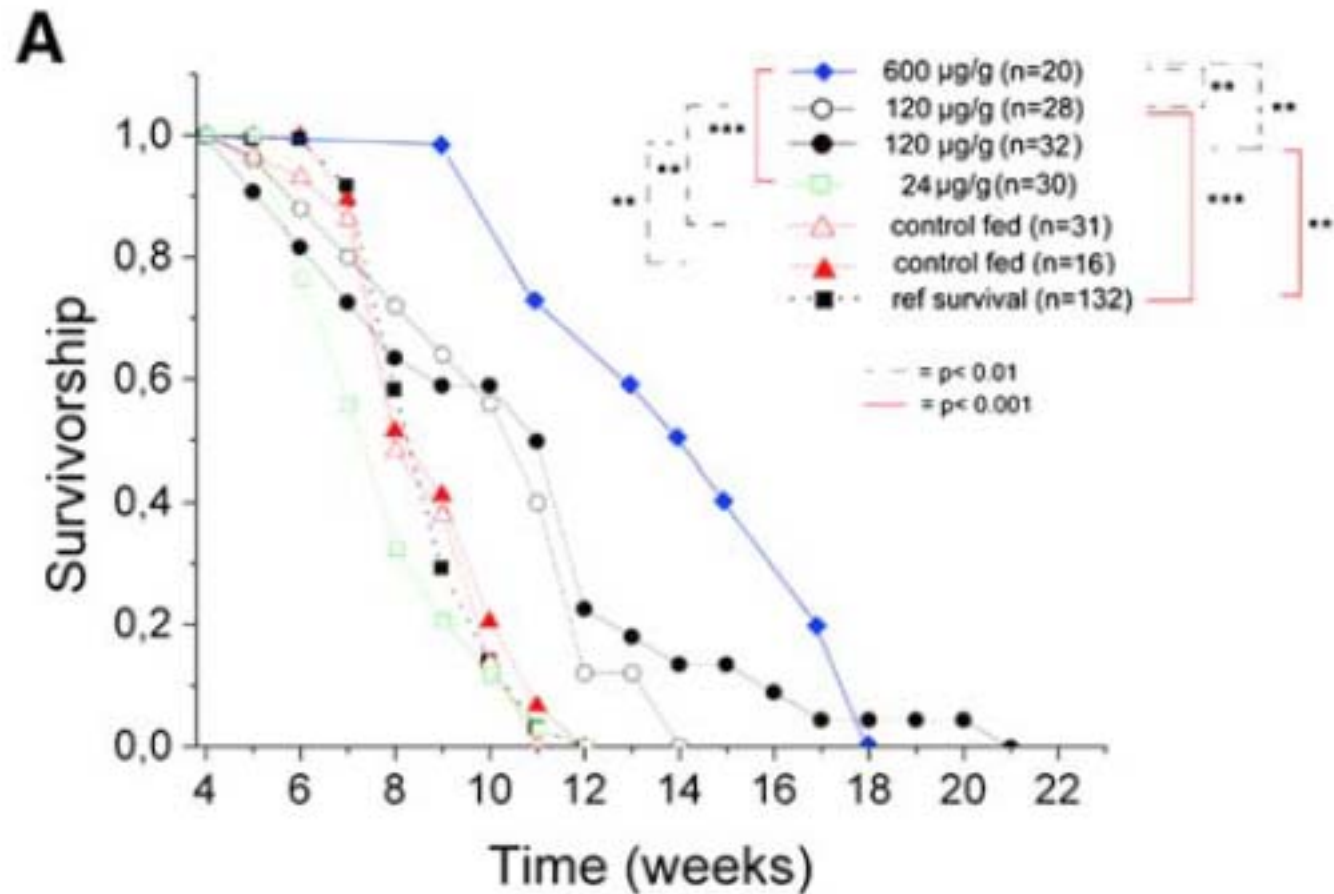
SIR2 and extension of life-span

- In yeast (replicative senescence)
- In *C. elegans* (post-mitotic senescence)
- In mammals??? Regulation of p53 function

Collegamenti fra metabolismo ed invecchiamento

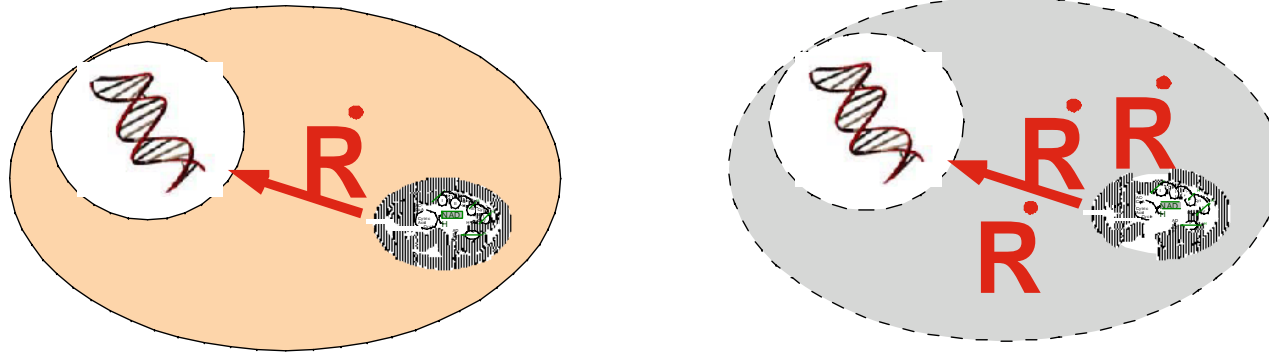
- La restrizione calorica (RC) allunga la vita in tutti gli organismi
- Nel lievito, mutazioni in SIR2 prevengono l'estensione del "life-span" determinato da RC
- RC: aumentati livelli di NAD⁺ (rapporto NAD⁺/NADH a favore del NAD⁺), aumentata attività di SIR2, ridotta ricombinazione dei geni per l'RNA ribosomale, invecchiamento rallentato.
- Il pathway di SIR2 é stato selezionato per aumentare la sopravvivenza in condizione di "stress" (scarso nutrimento)
- Cosa accade nei mammiferi???

Il resveratrolo aumenta la sopravvivenza in un piccolo vertebrato (*N. furzeri*)



ROS:

1. induce damage of macromolecules (DNA) and cause cellular damage or cell death

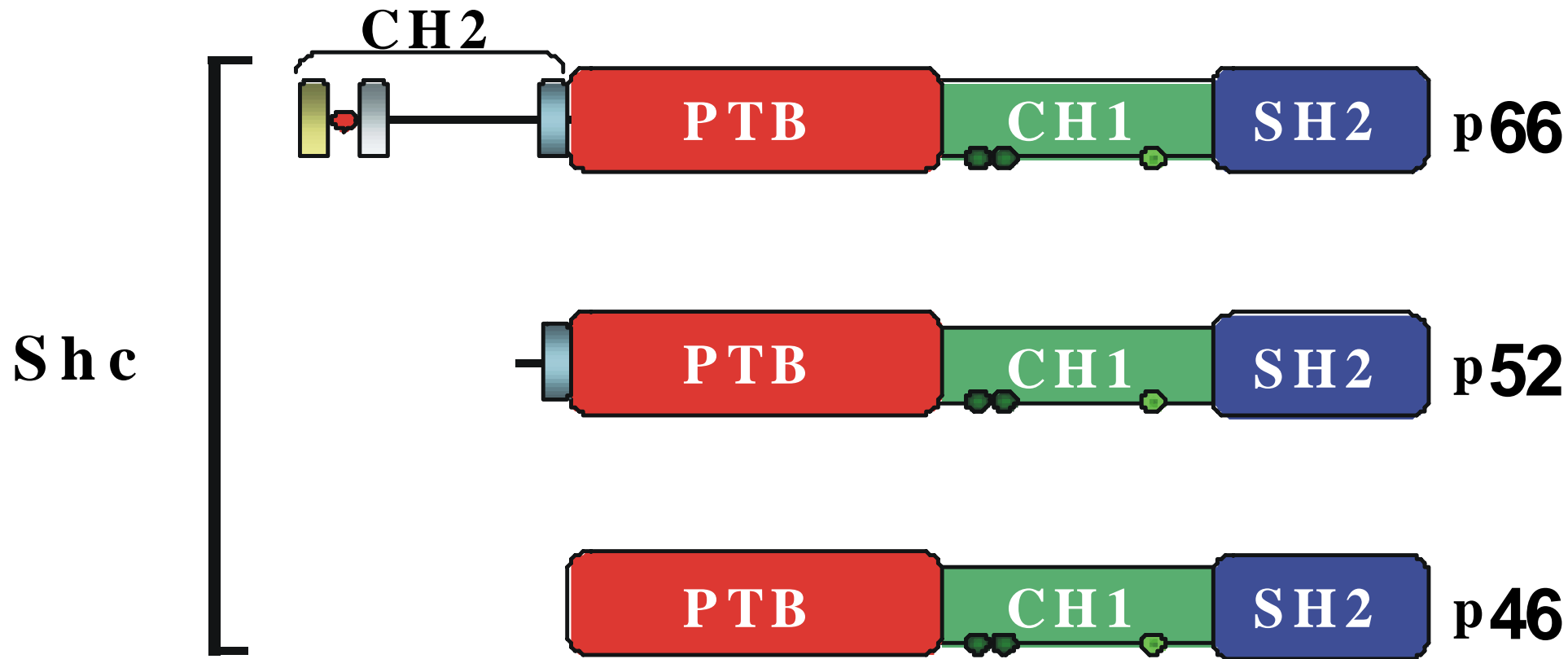


2. are implicated in the pathogenesis of ageing and ageing-associated diseases

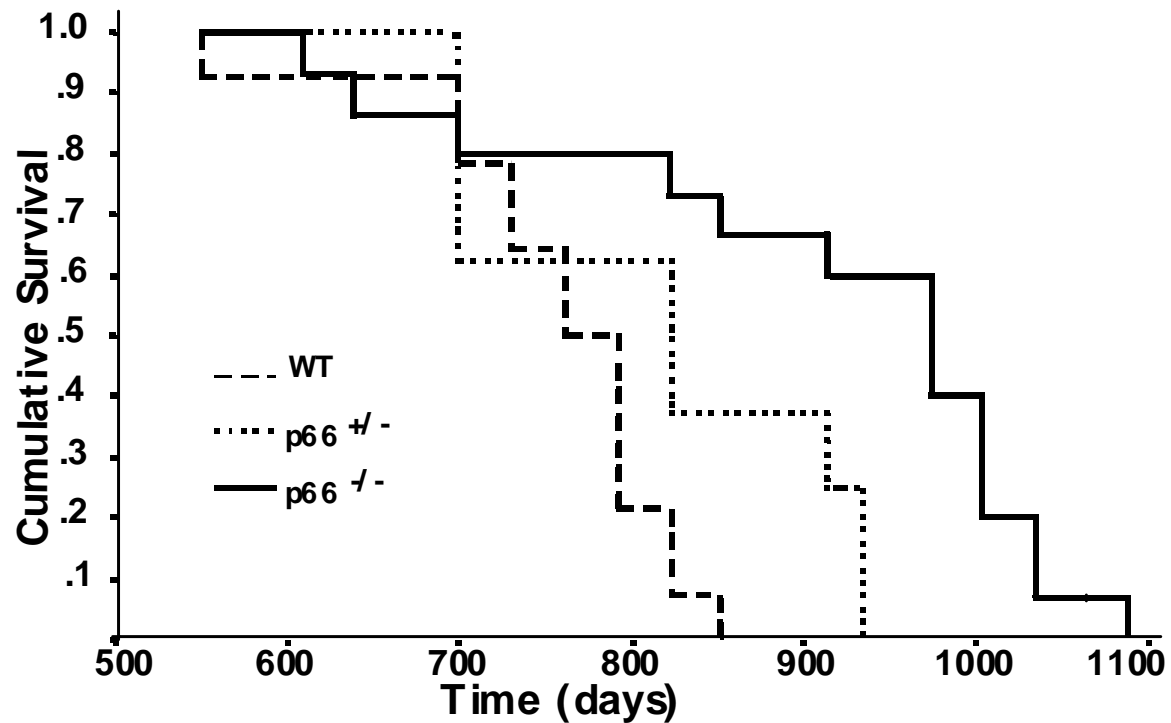


p66Shc

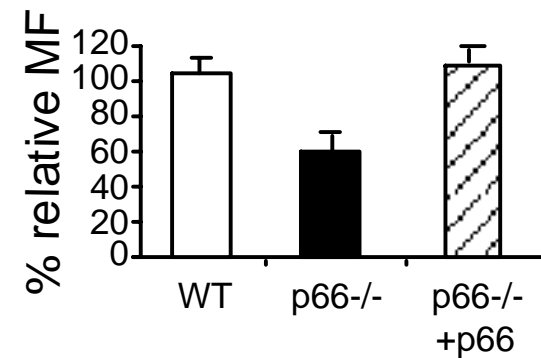
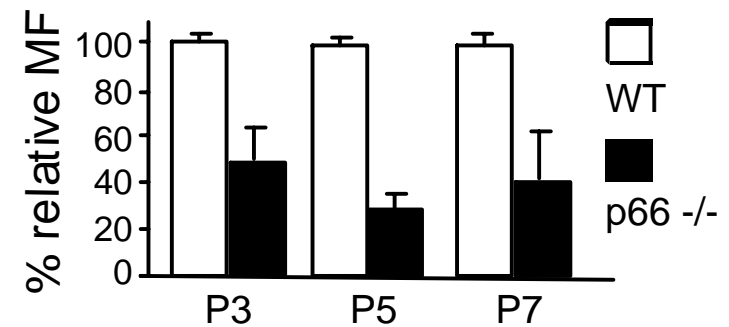
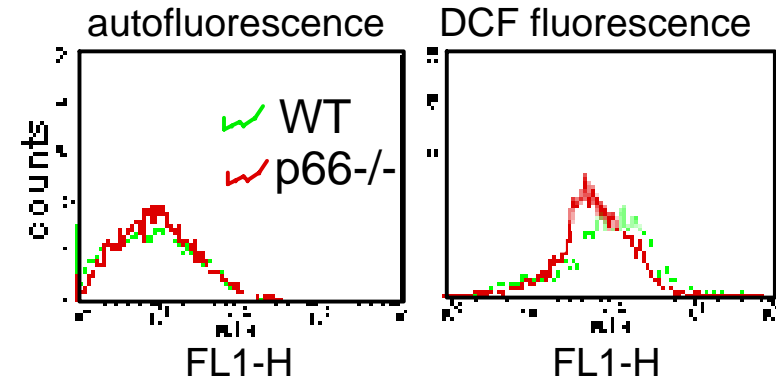
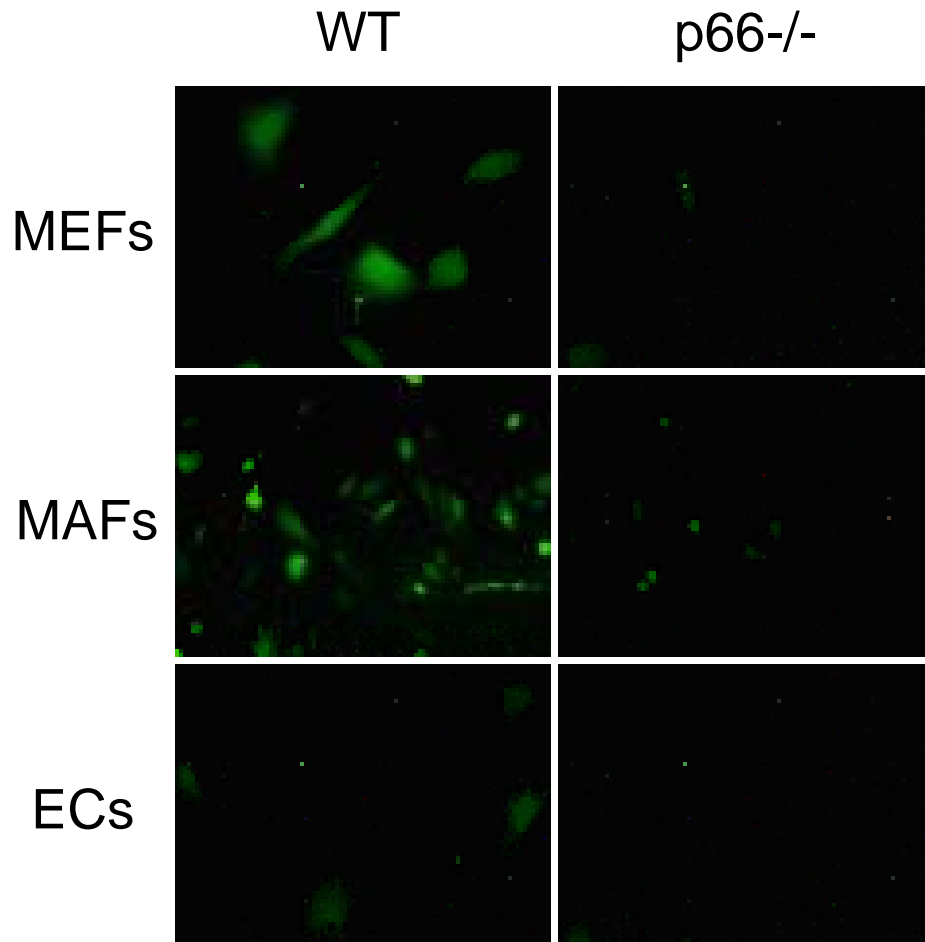
Un circuito di segnalazione presente
nei mammiferi che collega la
produzione di ROS
all'invecchiamento



Homozygous mutation of p66shc prolongs life span in mice



p66Shc regulate steady-state levels of intracellular ROS



STRESS

p66

Mitochondri

Produzione di ROS

Danno cellulare

INVECCHIAMENTO

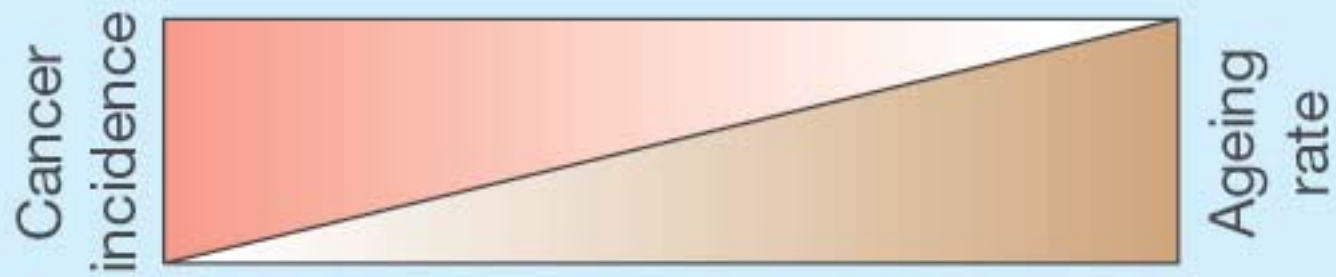
Invecchiamento cellulare ed oncosoppressione

- L'attività dei geni oncosoppressori limita la possibilità che una cella che ha subito danni (p.es. esprime un oncogene in seguito ad una mutazione del DNA) possa iniziare il processo di trasformazione tumorale, promuovendo apoptosi e senescenza cellulare
- L'attivazione di programmi di senescenza e apoptosi può portare nel tempo alla perdita di cellule post-mitotiche, ed alla deplezione del pool di cellule staminali nei tessuti rinnovabili
- Le cellule senescenti attivano processi simil-infiammatori, che possono favorire malattie associate all'invecchiamento (p.es. aterosclerosi, cancro)

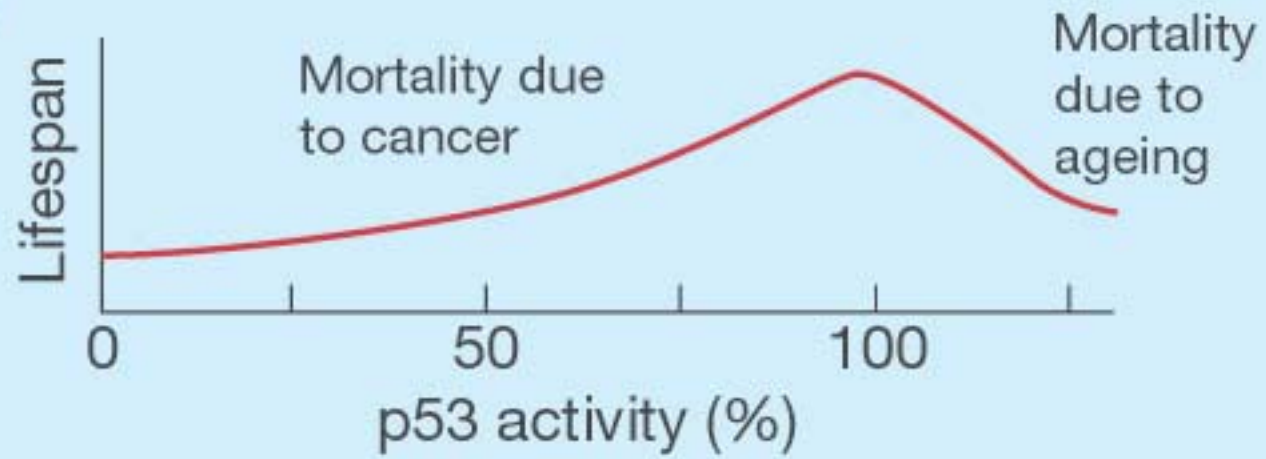
Invecchiamento ed oncosoppressione

- Topi che hanno un'elevata attività di p53 muoiono di vecchiaia precoce
- L'attivazione "cronica" di p53 può essere responsabile nell'organismo dell'invecchiamento
- Bilancio di p53: troppo poca -> tumori, troppa -> invecchiamento

a



b



p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes

Stuart D. Tyner^{*†}, Sundaresan Venkatachalam^{‡‡}, Jene Choi[‡], Stephen Jones[§], Nader Ghebrani^{||}, Herbert Igelmann[¶], Xiongbin Lu[‡], Gabrielle Soron[‡], Benjamin Cooper[‡], Cory Brayton[#], Sang Hee Park[☆], Timothy Thompson[☆], Gerard Karsenty^{††}, Allan Bradley^{†††‡} & Lawrence A. Donehower^{‡§§}

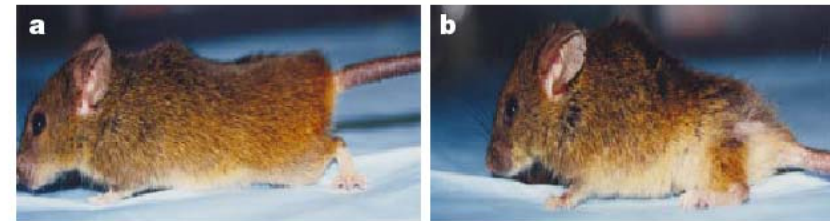
Table 1 Tumour types arising in $p53^{+/-}$, $p53^{+/+}$, $p53^{+/m}$ and pL53 mice

Tumour type	$p53^{+/-}$ (n = 217)	$p53^{+/+}$ (n = 56)	$p53^{+/m}$ (n = 35)	pL53 (n = 66)
Lymphoma	49 (28%)	18 (67%)	0	9 (56%)
Osteosarcoma	61 (34%)	2 (7%)	0	0
Soft tissue sarcoma	47 (27%)	3 (11%)	0	1 (6%)
Carcinoma	20 (11%)	4 (15%)	1 (50%)*	5 (31%)*
Other	0	0	1 (50%)†	1 (6%)
Total	177	27	2	16

Values in parentheses indicate the percentage of total tumours.

* Lung adenocarcinoma.

† Small focal lung adenoma.



Premature aging

Decreased tumor incidence