

La genetica della longevità. *Il privilegio ereditario*

Giuseppe Novelli, Laura Stocchi, Francesca Lombardi

Università di Roma Tor Vergata

Dipartimento di Biopatologia e Diagnostica per Immagini

Roma

**Corrisponenza a. Giuseppe Novelli, Laboratorio di Genetica Medica, Azienda
Policlinico Tor Vergata, Viale Oxford 81, 00133 Roma, Email:
novelli@med.uniroma2.it; tel. 06-20900665 – fax 0620900669**

Riassunto

Negli ultimi anni la ricerca dei meccanismi responsabili della longevità umana ha suscitato un interesse sempre maggiore e diversi modelli animali sono stati utilizzati nella sperimentazione per comprendere in quali geni è da ricercare il segreto di questa auspicabile condizione che da sempre ha affascinato l'uomo. Ad oggi è noto che alla longevità concorrono diversi fattori: genetici, ambientali e stocastici ed è quindi difficile definirne esattamente il peso rispettivo. Una dieta ipocalorica e una vita fisicamente attiva sono importanti nel favorirne la realizzazione, come è stato osservato in soggetti ultracentenari, ma non va dimenticata la componente genetica che probabilmente rappresenta il fulcro dell'intera questione e sembra influenzare la longevità per un peso non inferiore al 25%, un privilegio genetico, che non può essere trascurato, ma solo studiato e compreso.

Genetica della longevità

La longevità, ovvero il vivere più a lungo della media della propria specie, trova la sua naturale limitazione nel processo di invecchiamento. Negli ultimi anni, la longevità umana e la ricerca di meccanismi che determinano l'invecchiamento fisiologico, ha suscitato un interesse sempre più crescente. È noto che nel fenomeno "longevità" abbiano importanza fattori genetici, ambientali e stocastici; il grande problema è quello di definirne "il peso" rispettivo. La perdita della capacità di riparo del DNA determina una instabilità genomica che conduce al declino delle funzioni cellulari, limitando la sopravvivenza della cellula stessa, pertanto i geni che codificano per proteine del riparo costituiscono candidati eccellenti per la genetica dell'invecchiamento. Inoltre, evidenze ottenute da studi di popolazioni umane suggeriscono anche l'importanza di geni coinvolti nelle malattie cardiovascolari e

quelli da invecchiamento precoce come forti determinanti della longevità. Ma i geni sono molti e difficili da studiare. La sfida, è quella di caratterizzarli tutti e studiarne l'associazione con una maggiore durata della vita. Lo scopo è quello di garantire un "buon invecchiamento" ovvero un invecchiamento rallentato ed una marcata posticipazione delle malattie tipiche dell'età avanzata, come le patologie cardiovascolari, il diabete, il cancro e le malattie degenerative, quali l'Alzheimer, conservando quindi, fino all'ultimo un'alta qualità della vita.

Sin da epoche remote l'umanità ha inseguito il mito dell'eterna giovinezza sognando di riuscire ad arrestare l'inesorabile ingranaggio del tempo che trascina ogni individuo al decadimento senile ed infine alla morte. La longevità può essere semplicemente definita come la proprietà di vivere più a lungo possibile cercando di avvicinarsi al massimo della durata della vita. Quest'ultimo parametro è specie specifico ed è determinato dall'età di morte più "vecchia" osservata nella specie. L'enorme variabilità nella longevità tra le specie punta verso fattori genetici che determinano la probabilità di un organismo di raggiungere un'età avanzata. Recentemente, ricercatori dell'università di Washington a Seattle, attraverso l'osservazione di due organismi primitivi, ossia alcuni lieviti e i vermi nematodi, hanno scoperto più di una dozzina di geni coinvolti nel processo di invecchiamento, aumentando così le speranze di comprendere i meccanismi biologici e quindi di sviluppare trattamenti farmacologici specifici per ritardare la vecchiaia. Entrambi questi due organismi sono evolutivamente distanti circa 1,5 miliardi di anni, così alcuni geni comuni sono probabilmente cruciali nel modulare la durata della vita. I vermi nematodi sono spesso usati nella ricerche legate ai processi di invecchiamento poiché essi hanno una breve naturale durata della vita ed inoltre sono facilmente geneticamente modificabili. Gli scienziati hanno riscontrato che dei 276 geni conosciuti avere un ruolo nell'invecchiamento in tali organismi, solo 25 di questi erano presenti nel lievito ed almeno 15 di questi presentano una versione simile nell'uomo.

Indagini più accurate hanno dimostrato che molti di questi geni sono strettamente legati a segnali chimici innescati da sostanze contenute nei cibi. Il che dimostrerebbe a sua volta un collegamento importante tra regime dietetico e durata della vita. Precedenti studi hanno infatti chiaramente dimostrato che riducendo drasticamente la quantità di calorie nella dieta di un organismo è possibile prolungare la durata della sua vita.

La durata della vita è una proprietà che viene ereditata insieme agli altri caratteri genetici ed è caratteristica della specie. Tuttavia non conosciamo come, e soprattutto quali, differenti geni contribuiscano all'invecchiamento. Bloccare o in qualche modo modulare il loro effetto attraverso una dieta ipocalorica o con la somministrazione di farmaci si dovrebbe rallentare il processo di senescenza e le malattie ad essa associate ed in ultimo prolungare l'estensione della vita.

L'aumento della vita media rappresenta una delle grandi conquiste del ventesimo secolo. Nel campo delle scienze biomediche, la popolazione anziana pone una serie di affascinanti sfide scientifiche e cliniche. Dal punto di vista clinico la gestione di una popolazione sempre crescente di pazienti anziani fa emergere nuove esigenze. Da una parte si avverte la necessità di modificare gli approcci terapeutici e la gestione delle singole malattie che spesso coinvolgono diversi organi e apparati. Dall'altra si riconosce l'importanza fondamentale di identificare e approfondire lo studio di meccanismi che possano essere alla base dell'invecchiamento stesso e, quindi, un comune meccanismo patogenetico di molte malattie, in particolare quelle degenerative, che insorgono o aumentano in prevalenza con l'età. Inoltre è noto il coinvolgimento dei geni nei processi di invecchiamento. Esiste infatti una predisposizione genetica in molti casi ancora non completamente definita e comunque non monofattoriale. I geni e la loro espressione sono coinvolti nella regolazione di fenomeni che possono contribuire a determinare la risposta infiammatoria sistemica, a sua volta alterata nell'invecchiamento e potenzialmente alla base di numerose patologie. Ancora, mutazioni e modificazioni acquisite di geni

mitocondriali sono state proposte come importanti fattori causali di alterazioni del metabolismo energetico che possono alterare le funzioni tissutali nell'invecchiamento. Sono coinvolti inoltre fattori ambientali esterni in grado di modificare il rischio di insorgenza di malattie legate all'età. Tali fattori sono riconducibili in larga misura ai processi metabolici e alle loro alterazioni che giocano un ruolo centrale nell'interazione tra assetto genetico, e sue modificazioni ereditarie o acquisite, e manifestazioni cliniche. Rappresentativi in tal senso sono il grado di attività fisica o, al contrario, di sedentarietà, che possono modificare la perdita di funzione muscolare, così come fattori dietetici che sono ipotizzati intervenire nel rischio di varie patologie degenerative.

L'invecchiamento è un processo fisiologico che coinvolge i singoli costituenti della cellula e si ripercuote nei sistemi cellulari più complessi modificando e creando nuovi equilibri. Questo processo è condizionato da fattori intrinseci, ovvero genetici, e da fattori estrinseci quali per esempio la dieta, le condizioni ambientali e sociali e le malattie.

È importante quindi valutare il peso relativo dei fattori genetici e ambientali noti nel processo della senescenza, il ruolo delle alterazioni del sistema immunitario e dell'infiammazione sistemica e quello delle alterazioni del metabolismo energetico. Soltanto la comprensione di questi meccanismi biologici potrà fornire indicazioni per individuare strategie preventive o terapeutiche per le patologie legate all'invecchiamento. L'invecchiamento che coinvolge ogni singola cellula si ripercuote quindi nel processo di invecchiamento dell'intero organismo. Per poter meglio comprendere tale fenomeno è perciò necessario comprendere il processo di senescenza nella singola unità cellulare. Secondo una prima ipotesi, è verosimile che vi sia il concorso di un vasto numero di geni. Inoltre il logorio biologico che determina l'invecchiamento è il frutto di una molteplicità di fattori stocastici quali mutazioni del DNA nucleare e mitocondriale, alterazioni epigenetiche del materiale genetico, rilascio di radicali liberi e conseguente degrado ossidativo, determinando un

accumulo di danni cellulari. Tale accumulo di danni determina un'instabilità genomica conducendo così al declino della funzione cellulare e limitando la sopravvivenza della cellula stessa. Dall'altra parte l'organismo presenta una serie di difese adibite al riparo dei danni ovvero una serie di elementi genetici anti-aging che coordina protezioni antiradicaliche, dirige le funzioni di DNA-repair, modula i fenomeni immunitari ed infiammatori, determina la resistenza a specifiche patologie. Attraverso tali processi che sono alla base del fenomeno dell'omeostasi, l'organismo è in grado di combattere, con maggiore o minore successo, i fattori lesivi riducendo, più o meno efficacemente i danni; influenzando in ultimo quindi la velocità con cui, in ciascuna specie, si accumulano le alterazioni legate all'età.

Se così fosse, ovvero il tasso di invecchiamento rappresentasse il prodotto di una moltitudine di geni, è molto difficile pensare di poter mai arrivare a comprendere appieno, e tanto meno a manipolare, un tale complesso sistema.

Una seconda ipotesi ritiene, invece, che sia in gioco un limitato numero di "geni determinanti la longevità". L'inizio del decadimento e la rapidità della sua progressione sono molto differenti in specie tra loro assai vicine dal punto di vista evolutivo, i cui genomi sono in grandissima parte sovrapponibili. L'uomo, per esempio, ha una durata dell'esistenza che è più del doppio rispetto allo scimpanzé, con il quale condivide circa il 98% del DNA. Il topo bianco ha una durata dell'esistenza di 8 anni, quasi tripla di quella del topo comune (*Mus Musculus*), benché le due specie siano così simili da potersi incrociare. Si è dimostrato inoltre che, in molte forme di vita, una singola mutazione in un dato gene è in grado di modificare la longevità di una specie. È noto inoltre, che nell'uomo, esistono condizioni patologiche congenite, come nel caso della rara malattia genetica, *progeria*, che sono la conseguenza di una singola mutazione di un gene ed in cui i processi di invecchiamento sono fortemente accelerati. È ragionevole, quindi, pensare che la longevità sia determinata da un numero *limitato* di geni.

La ricerca dei geni della longevità è ben avviata nel piccolo nematode *Caenorhabditis elegans*: a partire dall'individuazione dei mutanti *age-1*, sono stati scoperti una decina di *gerontogeni* coinvolti nella determinazione della durata di vita. Analoghi successi si sono ottenuti in altre specie; nelle più semplici, come la *Drosophila*, ed in quelle più complesse, come i mammiferi, sono state individuate piccole differenze associate a notevoli variazioni della lunghezza massima della durata della vita.

Un possibile approccio per individuare, anche nell'uomo, geni di questo tipo è rappresentato dalla ricerca delle caratteristiche ereditarie che distinguono gli individui più longevi, per esempio attraverso analisi di linkage effettuate su popolazioni ultracentenarie. Tali analisi hanno consentito in passato di evidenziare loci genetici correlati con la predisposizione al raggiungimento di età molto avanzate. È stato notato, che nei centenari, sono rappresentate, con una frequenza superiore a quella riscontrata nei controlli, alcune forme alleliche di geni assai diversi tra loro, adibiti a varie funzioni omeostatiche. Tra le quali ci sono le varianti alleliche della apolipoproteina E (APOE), varianti HLA, dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno PAI-1, isoforme dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE), configurazioni del genoma mitocondriale. In termini di caratteristiche metaboliche, i longevi appaiono magri (hanno un ridotto BMI) e mostrano bassi livelli plasmatici di colesterolo, trigliceridi, glucosio e insulina. Da un punto di vista funzionale non mostrano differenze nella sfera cognitiva e sono "abili camminatori". Inoltre in essi è stata osservata una ridotta incidenza di infarto del miocardio e problemi cardiovascolari e del cancro. Ciò probabilmente è dovuto al fatto che questi soggetti mostrano un'elevata sensibilità all'insulina, lasciando supporre che un corretto metabolismo del glucosio e dell'insulina sia il prerequisito fondamentale per aspirare ad una vita longeva. Ad oggi, le basi molecolari dell'insulino-resistenza, ancora non sono completamente chiarite, in quanto essa sembra conseguire da una serie di fattori fortemente interconnessi tra loro, che si influenzano vicendevolmente e che concorrono all'aggravamento dello stato di resistenza da parte degli organi e dei

tessuti insulino-sensibili (1-5). È quindi difficile stabilire quale sia l'evento chiave da cui origina il circolo vizioso caratteristico dell'insulinoresistenza, ma è certo che nella sua determinazione concorrono l'obesità, l'infiammazione e l'iperglicemia.

Purtroppo lo sviluppo della tecnologia negli ultimi anni ha ridotto sempre di più le occasioni di movimento, facendo della sedentarietà uno stile di vita e una dieta sempre più ricca di grassi sta elevando il fenomeno dell'obesità a livelli pandemici. Inoltre la velocità con cui si è sviluppato questo nuovo "ambiente" non ha permesso un corrispondente adattamento genetico. Una corretta alimentazione e una regolare attività fisica costituiscono quindi, lo stile di vita più adeguato alla prevenzione della resistenza all'insulina e dei disturbi ad essa associati, quali infarto del miocardio, ictus. Negli ultimi anni all'esercizio fisico è stata riconosciuta un'importanza significativa nel prevenire o contrastare l'insorgenza di molte patologie, da quelle neurodegenerative a quelle cardiovascolari, prime tra tutte la sindrome metabolica e il diabete mellito. È stato constatato che l'esercizio fisico aumenta la funzionalità respiratoria, la capacità aerobica (VO_2 max), il volume del sangue e del plasma ed il numero degli eritrociti, assicurando così una miglior ventilazione in risposta alla maggior richiesta di ossigeno da parte dei tessuti (6). Inoltre diminuisce l'adiposità e migliora il controllo del peso, diminuisce i trigliceridi, aumenta i livelli di colesterolo HDL e diminuisce i livelli di LDL, aumenta la sensibilità all'insulina e migliora il controllo glicemico, riduce la pressione sanguigna e la coagulazione del sangue, diminuisce l'infiammazione sistemica e favorisce la funzionalità endoteliale (7).

È stato dimostrato che le citochine TNF- α e IL-6, prodotte dal tessuto adiposo in condizione di infiammazione cronica, stimolano anche una maggior produzione di radicali dell'ossigeno (ROS) nella cellula, ed è noto inoltre che con l'invecchiamento, in seguito ad un inevitabile deterioramento delle componenti cellulari, si ha una maggior produzione di radicali dell'ossigeno. La sarcopenia, tipica del soggetto anziano, è definita come la perdita della massa muscolare che si manifesta con il procedere dell'età anche in soggetti sani e fisicamente attivi. È stato stimato che

superati i 50 anni di età, il grado di sarcopenia aumenta ogni anno dell'1-2% (8). La sarcopenia ha un profondo impatto negativo sulla qualità della vita del soggetto, in quanto, oltre alla perdita di massa muscolare, essa è associata ad una riduzione della forza, della capacità aerobica (5-8% per decade), dello stato metabolico e ad una perdita progressiva della densità ossea che correla con un più alto rischio di fratture e con la perdita graduale dell'indipendenza fisica del soggetto anziano. La perdita di massa muscolare tipica del soggetto sarcopenico è attribuibile sia ad una riduzione nel diametro delle fibre muscolari, che ad una diminuzione del loro numero, in seguito ad atrofia. Numerose sono le spiegazioni proposte per giustificare questa atrofia selettiva e tutte sono concordi nell'attribuire alla perdita della funzionalità mitocondriale il ruolo principale nel processo apoptotico. È stato ipotizzato che le disfunzioni mitocondriali e una diminuzione nel processo autofagico mediato dai lisosomi, contribuiscano ad un'eccessiva produzione di radicali dell'ossigeno (ROS), responsabili del danno alle strutture e alle macromolecole mitocondriali come il DNA e l'RNA, e al declino progressivo del metabolismo energetico della cellula muscolare, promuovendo l'apoptosi cellulare (9). È stato dimostrato che l'insulino-resistenza correla con la diminuzione della percentuale di fibre di tipo I presenti nel muscolo e con la riduzione dell'attività degli enzimi ossidativi della cellula muscolare. Il muscolo scheletrico costituisce il 40% del peso del nostro corpo e rappresenta il maggior sito di utilizzo di glucosio, quindi il controllo della sua omeostasi riveste un ruolo estremamente importante nel controllo del metabolismo dell'intero organismo. Un esercizio aerobico prolungato provoca una serie di cambiamenti metabolici e morfologici, tra cui i più importanti sono l'induzione della biogenesi mitocondriale, la trasformazione delle fibre veloci in lente, a cui segue un significativo aumento del metabolismo ossidativo della cellula ed un maggior utilizzo di substrati lipidici per ricavare energia, una maggior densità capillare del muscolo ed un aumento della sensibilità all'insulina.

Analisi di espressione genica hanno dimostrato come l'esercizio fisico sia in grado di attenuare i processi indotti dalla sarcopenia, limitando la senescenza del muscolo (10). È stato dimostrato che in soggetti anziani, un esercizio aerobico di moderata intensità condotto per 16 settimane, è in grado di aumentare la trascrizione dell'RNA messaggero dell'isoforma I e IIa della catena pesante della miosina rispettivamente del 63% e del 99% ed è responsabile di una diminuzione dell'espressione dell'MHCIIx del 50% trasformando il metabolismo delle miofibre da glicolitico a ossidativo (11). In relazione all'aumento delle fibre ossidative, nella stessa tipologia di soggetti, è stato riscontrato anche un aumento del 60% del mtDNA in seguito all'esercizio di tipo aerobico, ed un aumento del volume mitocondriale e dell'attività della catena di trasporto degli elettroni (12). Queste evidenze scientifiche correlano con l'osservazione che le persone longeve mostrano un apprezzabile capacità motoria, soprattutto per quanto riguarda l'attitudine a camminare, indicando che i loro muscoli sono ricchi di fibre di tipo I, ossia possiedono un'alta percentuale di fibre aerobiche.

Com'è stato discusso precedentemente, l'invecchiamento della persona è influenzato da fattori genetici, ambientali e stocastici. Le mutazioni geniche che agiscono sull'invecchiamento e sulla morte dei singoli individui non hanno a priori alcuna conseguenza sulla specie se gli individui si riproducono in un'età giovanile. La selezione naturale agisce per il successo riproduttivo, quindi solo mutazioni che favoriscono la riproduzione e la longevità sono favoriti. Mutazioni che agiscono solo sulla longevità senza alcun effetto sulla discendenza risultano neutre e non nocivi alle specie di conseguenza non vengono eliminate. A supporto di quanto detto è possibile citare i geni pleiotropici, ossia geni che agiscono positivamente durante la vita riproduttiva, ma che in tarda età sembrano sfavorire il soggetto. Un esempio è fornito da geni che assicurano un efficiente risposta immunitaria contro le infezioni, nei primi anni di vita, e che più tardi contribuiscono essi stessi all'infiammazione,

predisponendo la persona allo sviluppo di una serie di malattie e disturbi caratteristici dell'età avanzata.

L'invecchiamento comporta numerosi cambiamenti funzionali e strutturali, molti dei quali, ma non tutti, hanno un effetto avverso sulla sopravvivenza. Un processo universale di "invecchiamento intrinseco" potrebbe spiegare i fenotipo comune dell'invecchiamento fra le varie specie animali. Una caratteristica condivisa da tutte le specie fino ad oggi studiate è l'accumulo di danni nelle cellule somatiche. Così, per tutta la vita l'accumulo di vari tipi che alterano i normali processi metabolici, insieme ad errori casuali nel genoma, potrebbe essere alla base dell'invecchiamento intrinseco e specie-specifico. Al contrario, l'attenuazione di tali danni in seguito ad un sistema di riparo più efficiente, potrebbe spiegare la longevità di alcuni individui. Inoltre, i sistemi di difesa volti a controllare e riparare questi danni, potrebbero differire per quanto riguarda la loro efficacia tra le specie, definendone così la variabilità intrinseca della longevità. La principale causa di danno nei confronti delle cellule somatiche, è rappresentata dalle specie reattive dell'ossigeno, i così detti ROS. I ROS sono radicali liberi delle molecole di ossigeno, prodotti principalmente durante la catena di trasporto degli elettroni; è stato osservato che il DNA mitocondriale (mtDNA) è più sensibile all'azione dei ROS rispetto al DNA nucleare (nDNA) in seguito alla stretta vicinanza del genoma mitocondriale alla catena respiratoria, alla mancata presenza in esso di introni e ad un ridotto pathway di riparo genico. Come è noto i ROS sono altamente dannosi e sono in grado di causare la perdita della funzionalità cellulare (13). La loro azione si esplica in parte producendo un danno al DNA mitocondriale che si traduce nella sintesi di proteine difettose. Molte proteine codificate dal genoma mitocondriale, sono coinvolte nella fosforilazione ossidativa e difetti nel processo ossidativo degli intermedi metabolici, provocano nuovamente una produzione di ROS. I radicali dell'ossigeno possono causare anche l'apoptosi della cellula attraverso l'attivazione di NF- κ B e JNK che stimolano la trascrizione di geni proapoptotici.

Tuttavia, i danni macromolecolari si presenta in molte forme e ad oggi, non tutte lesioni sono state identificate. Inoltre, non sappiamo il loro contributo relativo nel processo intrinseco dell'invecchiamento, o di come le varie componenti del danno interagiscono e si influenzano tra loro.

Molti studi suggeriscono che circa il 25% della variazione nella durata della vita della specie umana, può essere spiegata da fattori genetici, ma questo contributo potrebbe essere assai maggiore. Infatti ancora limitata è la comprensione dei meccanismi biologici alla base della longevità di un individuo.

Evidenze crescenti, provenienti dall'utilizzo di modelli animali, suggeriscono che il pathway insulina /IGF-1 è estremamente importante nel determinare la longevità dell'animale e le sue basi molecolari sono conservate nell'evoluzione tra le specie (14). È stato osservato che gli uomini più longevi esibiscono una serie di marker biologici indicativi di una grande sensibilità all'insulina ed è stato dimostrato che essi sono fortemente associati ad un polimorfismo omozigote GG del gene FOXO3A (15). Quindi questa variazione all'interno del gene FOXO3A è fortemente associato alla longevità nella specie umana. Questo è il privilegio genetico!

Il fatto che questo gene sia un candidato importante nel determinare la longevità nell'uomo è supportato da diverse evidenze scientifiche, tese alla comprensione del suo ruolo nel metabolismo cellulare e in ultimo dell'intero individuo. È stato dimostrato che la proteina codificata dal gene FoxO3 è un importante mediatore del pathway dell'insulina e dell'IGF-1 in diverse funzioni fisiologiche tra cui la proliferazione cellulare, il metabolismo energetico e l'apoptosi. Infatti studi genetici in *Caenorhabditis elegans* e in *Drosophila* hanno dimostrato che la proteina FoxO3 è un target antico del segnale dell'insulina ed è coinvolto nella regolazione del metabolismo e della longevità (16). Inoltre nei mammiferi FoxO3 regola la progressione del ciclo cellulare, modulando l'espressione di molti geni che codificano per fattori responsabili del checkpoint durante il passaggio dalla fase G2 alla fase M del ciclo cellulare e promuove la resistenza allo stress ossidativo, inducendo

l'espressione di geni coinvolti nel riparo del DNA (17). Infine è stato dimostrato che FoxO3 media anche gli effetti dell'insulina sul metabolismo glucidico, regolando la produzione epatica di glucosio (16).

È quindi chiaro come sia ancora difficile definire l'esatto peso della componente genetica, ambientale e stocastica nella determinazione della longevità di una specie; sicuramente un grande contributo deriva dai fattori genetici tramandati durante le generazioni e notevoli sforzi vengono compiuti per comprenderne l'importanza e il loro ruolo, nel complicato processo dell'invecchiamento. I più studiati fino ad ora sono geni che presentano un'elevata omologia tra le specie e che risultano essere pressoché immuni al processo evolutivo, questi sono soprattutto geni che controllano il metabolismo energetico della cellula e quindi dell'intero individuo, indicando che il segreto della longevità di una specie risiede nell'abilità e nell'efficienza che un organismo intrinsecamente possiede per ricavare energia.

Bibliografia

Genetics of longevity and aging Viji J and Suh Y *Ann rev Med* 2005, pagg 193-212

Cutler RG - Human longevity and aging: possible role of reactive oxygen species – *Ann NY Acad Sci* 1991;621:1-28

Finch CE, Tanzi RE Genetics of aging. - *Science* 1997 Oct 17;278(5337):407-11
Genetics: Sweet longevity. *Nature*. 2008 Sep 11;455(7210):141.

Lin YJ, Seroude L, Benzer S Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant methuselah – *Science* 1998; 282: 943-946.

Gavrilova NS, Gavrilov LA, Evdokushkina, GN, Semyonova, VG - Early-life predictors of human longevity: Analysis of the 19th Century birth cohorts. *Annales de Demographie Historique*, 2003, 2: 177-198.

Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu MP, Yin CM, Garofalo RS - A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function - *Science* 2001 Apr 6;292(5514): 107-10.

Bartke A, Coschigano K, Kopchick J, Chandrashekar V, Mattison J, Kinney B, Hauck S - Genes that prolong life: relationships of growth hormone and growth to aging and life span - *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001 Aug; 56(8): B340-9.

Migliaccio E, Giorgio M, Mele S, Pelicci G, Reboldi P, Pandolfi PP, Lanfrancone L, Pelicci PG - The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature* 1999 Nov 18; 402(6759): 309-13.

Puca AA , Daly MJ, Brewster SJ , Matisse TC , Barrett J, Shea-Drinkwater M, Kang S, Joyce E, Nicoli J, Benson E, Kunkel LM, Perls T - A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4 – *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10505-10508.

- 1) Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM: Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 444:840-846, 2006.
- 2) Wellen KE, Hotamisligil GS: Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 115:1111-1119, 2005.

- 3) Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW: Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* 365:1333-1346, 2005.
- 4) Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A: Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 25:4-7, 2004.
- 5) Rhodes CJ: Type 2 diabetes-a matter of β -cell life and death?. *Science* 307 380-384, 2005.
- 6) Warburton DE, Haykowsky MJ, Quinney HA, Blackmore D, Teo KK, Taylor DA, McGavock J, Humen DP: Blood volume expansion and cardiorespiratory function: effects of training modality. *Med Sci Sports Exerc* 36(9): 991-1000, 2004.
- 7) Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS: Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ* 174: 801-809, 2006.
- 8) Hughes VA, Frontera WR, Roubenoff R, Evans WJ, Singh MA: Longitudinal changes in body composition in older men and women: role of body weight change and physical activity. *Am J Clin Nutr* 76:473-481, 2002.
- 9) Dirks AJ, Hofer T, Marzetti E, Pahor M, Leeuwenburg C: Mitochondrial DNA mutations, energy metabolism and apoptosis in aging. *Ageing Res Rev* 5:179-195, 2006.
- 10) Radom-Aizik S, Heyek S, Shahar I, Rechavi G, Kaminski N, Ben-Dov I: Effects of aerobic training on gene expression in skeletal muscle of elderly men. *Med Sci Sports Exerc* 37(10):1680-1696, 2005.
- 11) Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Coenen-Schimke JM, Rys P, Nair KS: Change in myosin heavy chain mRNA and protein expression in human skeletal muscle with age and endurance training. *J Appl Physiol* 99:95-102, 2005.
- 12) Menshikova EV, Ritov VB, Fairfull L, Ferrell RE, Kelley DE, Goodpaster BH: Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Med Sci* 61(6):534-540, 2006.
- 13) Simmons RA, Saponitsky-Kroyter I, Selak MA: Progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and decline in mitochondrial function lead to beta-cell failure. *J Biol Chem* 280:28785-28791, 2005.
- 14) Vijg J and Campisi J: Puzzles, promises and a cure for aging. *Nature* 454:1065-1071, 2008.
- 15) Willcox B J, Donlon T A, He Q, Chen R, S. Grove J, Yano K, Masaki K H, Willcox D C, Rodriguez B, Curb J D: FOXO3 genotype is strongly associated with human longevity. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:13987-13992, 2008.

- 16) Barthel A, Schmoll D, Unterman TG: FoxO proteins in insulin action and metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 16:183-189, 2005.
- 17) Tran H, Brunet A, Grenier JM, Datta SR, Fornace AJ, DiStefano PS, Chiang LW, Greenberg ME: DNA repair pathway stimulated by the forkhead transcription factor FOXO3a through the Gadd45 protein. *Science* 296: 530-534, 2002.