



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

**CARLOS ABEL CARVALHO PEREIRA**

***MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DO  
ENVELHECIMENTO***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE FISIOPATOLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:**

**PROF.<sup>a</sup> DOUTORA ANABELA MOTA PINTO**

**PROF.<sup>a</sup> DOUTORA ANA MARIA PEGO TODO BOM FERREIRA COSTA**

**MARÇO 2015**

## Índice

1	Introdução .....	1
2	Materiais e métodos .....	4
3	Desenvolvimento .....	5
	Teorias do Envelhecimento do Passado ao Presente.....	6
4	Teoria do envelhecimento programado.....	8
4.1	A longevidade programada .....	8
4.2	Teoria endócrina.....	8
5	Alterações provocadas de forma passiva .....	10
	Tipo 1 mediada por radicais livres, .....	10
	Tipo 2 mediada pela glicosilação de proteínas e DNA .....	10
	Tipo 3 mediada pela proliferação crónica de células .....	11
	Tipo 4 traumatismos mecânicos resultantes do desgaste, acidentes e <i>stress</i> social .....	11
6	Teoria da Inflamação e oxidação .....	13
7	Teoria das alterações no DNA .....	18
8	Teoria da Imunosenescência .....	20
9	Teoria dos Telómeros.....	21
9.1	Telomerase .....	23
10	Teoria da fiabilidade .....	26
11	Teoria do mTOR .....	28
12	Teoria Genética .....	29
12.1	Perda de genes .....	31
12.2	A influência do género na longevidade .....	31
	A Patogia do Idoso - Alguns Exemplos .....	34

13	Obesidade.....	35
14	Envelhecimento arterial e aterosclerose.....	37
15	Envelhecimento cerebral.....	40
15.1	Inflamação cerebral.....	41
15.2	Leucoaraiose.....	42
15.2.1	Envelhecimento vascular cerebral.....	43
16	Conclusão.....	44
	Acrónimos.....	46
	Agradecimentos.....	47
	Referências.....	48

## Índice de Figuras

Figura 1	Jeanne Calment a celebrar o seu 121 aniversário em 1996 .....	1
Figura 2	Probabilidade estimada de uma pessoa morrer em função da sua idade, para os EUA em 2010. As taxas de mortalidade aumentam exponencialmente com a idade após os 20 anos de idade [3]. .....	2
Figura 3	Hemodinâmica numa carótida humana com distribuição de pressões nas paredes [25] .....	12
Figura 4	Fatores que influenciam a longevidade [71, 72].....	29
Figura 5	Diferenças na longevidade entre os dois sexos [78].....	32
Figura 6	Aumento dos depósitos de complemento com a idade num cérebro livre de doença (C3c, C3d, C4c, C4d) em placas de beta amiloide [111]. .....	41

## Resumo

A esperança de vida do homem parece ter evoluído em duas fases. No passado distante, a esperança de vida duplicou dos 20 anos do ancestral homem-macaco para os 40 anos do *Homo sapiens*. Mais recentemente, desde o século XVIII, a esperança de vida duplicou novamente para os 80 e mais anos nos países desenvolvidos.

Uma questão premente em torno do processo do envelhecimento, é o facto da esperança de vida estar a aumentar quase em contínuo, muito embora tenha estabilizado desde há uns anos por volta dos 80 anos, mas o tempo máximo de vida não ultrapassar os 120 anos. Será possível ir mais além ou estamos pré destinados a não ultrapassar uma determinada longevidade?

Estas questões preocupam o Homem, provavelmente desde que o ser humano existe. Para tentar responder a estas e outras questões é importante perceber os mecanismos do envelhecimento, ou seja quais os fatores preponderantes que conduzem a este processo de senescência que invariavelmente termina com a morte do indivíduo. São várias teorias que tentam explicar o processo do envelhecimento, no entanto o mais aceite é que o envelhecimento seja um processo multifatorial. Alguns exemplos das teorias do envelhecimento mais defendidas são: a teoria da telomerase, das mutações adquiridas do DNA, do *Mammalian target of rapamycin* (mTOR), dos radicais livres e a teoria genética.

A esperança de vida aumentou, e perante esta realidade a grande prioridade em relação ao envelhecimento é que a capacidade de se envelhecer com qualidade e ativamente. Na promoção do envelhecimento ativo, existem entre outros fatores, que estão relacionados com o estilo de vida das pessoas. Fatores como a dieta, a atividade física, a higiene, o número de

horas de sono diário, o *stress*, a vida social, a capacidade económica, são entre vários, outros preponderantes na longevidade. Sabe-se também, que a obesidade, a depressão e o *stress* alteram o funcionamento biológico do ser humano a vários níveis. A longevidade, está assim fortemente relacionada com a harmonia do modelo biopsicossocial do ser humano.

Neste trabalho é feita uma revisão sistemática da literatura existente sobre os vários mecanismos fisiopatológicos que influenciam o envelhecimento.

O objetivo principal é descrever e discutir as teorias do envelhecimento, aceites hoje com um papel major neste processo.

## Palavras Chave

Senescência; Envelhecimento; Telomerase; Teorias do Envelhecimento; Imunosenescência; mTOR

## Abstract

The life expectancy seems to have evolved in two phases. In the distant past, life expectancy doubled from 20 years of ancestral ape-man to 40 years of Homo sapiens. More recently, since the eighteenth century, life expectancy has doubled again to 80 and more years in developed countries. A pressing issue around the aging process is that life expectancy increased but it stabilized since a few years ago at around 80, and the maximum longevity does not exceed 120 years. Is it possible to go beyond or are we pre designed not to exceed certain longevity?

These issues puzzle humans, probably since the beginning. To help answer these and other questions it's important to understand the mechanisms of aging, or what is the main factor leading to this process of senescence that invariably ends with the death of individual. There are several theories that attempt to explain the aging process, but the most accepted is that aging is a multifactorial process. Examples of these theories are the telomerase, acquired mutations of DNA, mammalian target of rapamycin (mTOR), free radicals and genetics theory.

There are also key factors for aging that are common knowledge and related to the lifestyle of the people. Factors such as diet, physical activity, hygiene, the number of daily hours sleep, stress, social life, economic capacity, and others are all important in longevity. It is known that obesity, depression and stress alter the biological function of the human being at different levels. Longevity is then strongly related to the harmony of the biopsychosocial model of the human being. This work is a systematic review of existing literature on the various pathophysiological mechanisms that influence aging.

## Key Words

Senescence; aging; telomerase; aging theories; immunosenescence; mTOR.

## 1 Introdução

A esperança de vida do Homem parece ter evoluído em duas etapas. No passado distante a esperança de vida de um antepassado comum ao chimpanzé e ao homem era de 20 anos. Mais tarde, durante com a evolução do Homo sapiens, passou para cerca de 40 anos.

Nos últimos 200 anos, a esperança de vida mais do que duplicou. Para explicar este fenómeno temos a melhoria das condições de vida, a saúde pública, os avanços na medicina, a redução das infeções e a qualidade da alimentação. Pensa-se que estamos a atingir o limite teórico de longevidade do ser humano. Desde 1997 que ninguém superou o recorde de Jeanne Calment de 122,5 anos (figura 1), isto apesar de um aumento exponencial do número de centenários [1, 2].



**Figura 1 Jeanne Calment a celebrar o seu 121 aniversário em 1996**

A lei de Gompertz-Makeham permite construir um modelo matemático que estima a probabilidade de morte em função da idade. Esta probabilidade depende de duas componentes, uma dependente da idade e outra independente da idade. Num ambiente protegido em que as causas externas de morte são raras (por exemplo em laboratório e em países com baixa mortalidade) a componente independente da idade é quase negligenciável. Aplicando esta lei para a espécie humana obtemos o gráfico da figura 2.

A partir desta lei estima-se que para atingirmos uma esperança de vida de 100 anos teria que haver uma diminuição de 50% na aceleração da taxa de mortalidade, o que seria uma mudança de fundo no ritmo de envelhecimento humano [1].

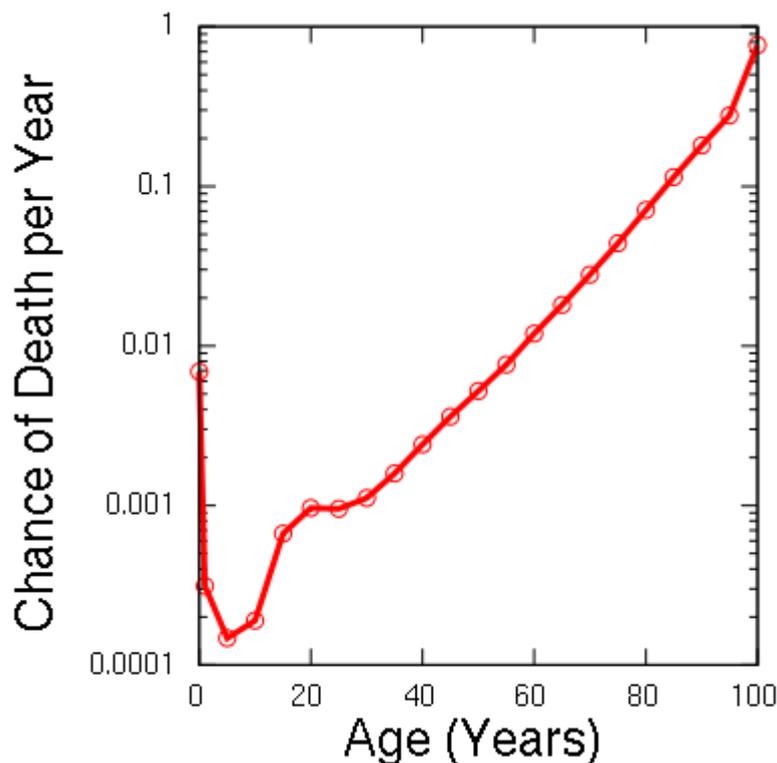


Figura 2 Probabilidade estimada de uma pessoa morrer em função da sua idade, para os EUA em 2010. As taxas de mortalidade aumentam exponencialmente com a idade após os 20 anos de idade [3].

Olhando para o século XXI, prevêem-se novos desafios para a saúde e longevidade, como por exemplo o aumento da combustão contínua de combustíveis fósseis que contribuem para a poluição do ar, bem como o aquecimento global. Este último além de provocar um aumento das ondas de calor para as quais os idosos são vulneráveis, prevê-se que venha a facilitar a disseminação de agentes patogênicos. Por outro lado o fosso entre as classes socioeconômicas não pára de aumentar, o que intuitivamente tem consequências na esperança de vida uma vez que as classes socioeconômicas mais favorecidas têm uma alimentação com mais qualidade, vivem em melhores condições sanitárias e têm acesso a melhores cuidados de saúde [4].

## 2 Materiais e métodos

A pesquisa para a revisão literária foi efetuada através da Pubmed, estabelecendo limites temporários entre 1960 e fevereiro de 2015, dando-se maior relevância aos artigos dos últimos 5 anos.

Os termos de pesquisa utilizados foram selecionados cumprindo as palavras aceites no Medical Subject Headings (MeSH) da National Library of Medicine EUA: “Senescence”, “aging”, “aging physiology”, “cellular oxidation”, “telomerase”, “DNA damage”, “aging theories”, “immunosenescence” e “mtor”.

Foram selecionados um total de 127 artigos.

### 3 Desenvolvimento

Envelhecimento é definido por um processo intrínseco, no qual há uma progressiva deterioração da função fisiológica, resultando numa perda da viabilidade, aumento da vulnerabilidade e uma probabilidade aumentada de Morte.

E, a pergunta que vários investigadores colocam desde há longa data é se será possível aumentar ainda mais a esperança de vida do ser humano ou, se o Homem está pré destinado a não ultrapassar uma determinada longevidade.

Na tentativa de responder a estas e outras questões considera-se importante perceber os mecanismos fisiopatológicos do envelhecimento, ou seja quais os fatores preponderantes que conduzem à senescência que invariavelmente termina com a morte do indivíduo. São várias as teorias que tentam explicar o processo do envelhecimento, no entanto o mais aceite é que o envelhecimento seja um processo multifatorial.

Alguns exemplos das teorias mais defendidas são a teoria envelhecimento programado, da inflamação e oxidação, das alterações do DNA, da imunosenescência, dos telómeros, da fiabilidade, do mTOR e da genética, que iremos desenvolver de seguida.

## Teorias do Envelhecimento do Passado ao Presente

Antes de Darwin pensava-se que os seres vivos sofriam desgaste com a idade, tal como os seres não vivos [5].

Darwin em 1859 sugeriu que, o facto de a longevidade ter um limite se devia a um benefício qualquer (que não especificou) da vida limitada no tempo sobre a vida ilimitada [5].

Em 1882 August Weismann, biólogo alemão, propôs a teoria do uso e do desgaste, que associa o envelhecimento ao desgaste das peças que compõem o nosso organismo tal como acontece nas peças de um automóvel com o uso e o passar do tempo. Esta teoria parece ser razoável ainda nos dias de hoje pois é o que acontece no mundo à nossa volta. Em 1889 propôs ainda que a morte de uma geração era favorável ao sucesso da geração seguinte, nomeadamente em termos de recursos disponíveis, o que seria uma vantagem para a evolução das espécies [6].

Mais tarde, em 1942, Johan Bjorksten sugeriu que a acumulação de proteínas danificadas destruía as células e os tecidos. Estudos recentes confirmam esta teoria [6].

Em 1954 foi introduzida uma teoria central do processo de envelhecimento, a teoria dos radicais livres. Iniciada por Gerschman e mais tarde desenvolvida pelo Denham Harman. Esta teoria propõe que o anião superóxido e outros radicais livres danificam os componentes das células o que leva eventualmente à sua destruição e mais tarde à destruição dos tecidos e órgãos compostos por elas. As macromoléculas como os lípidos, ácidos nucleicos, açúcares e proteínas estão também sujeitas à ação dos radicais livres [6].

Poucos anos depois, em 1961, Hayflick, propôs o limite 50 para o número de divisões celulares após o qual uma célula perde a capacidade de se dividir. Este limite é agora conhecido como o limite de Hayflick [7].

O encurtamento dos telômeros a cada divisão celular é cientificamente comprovado em 1990 [8].

Alguns anos depois, em 1995, um grupo de cientistas relacionou o encurtamento dos telômeros com o limite de Hayflick [9].

Em 1993 é descoberto que o envelhecimento do *C. elegans* é fortemente influenciado por vários genes [10].

Recentemente, em 2011, células humanas senescentes e centenárias, foram transformadas em células estaminais pluripotentes, com a ajuda de vetores contendo cDNAs de vários genes. Após a introdução dos cDNAs houve um restabelecimento de vários parâmetros tais como o comprimento dos telômeros, os perfis de expressão genética, o *stress* oxidativo e o metabolismo mitocondrial. Este restabelecimento levou a que estas células ficassem indistinguíveis de jovens células estaminais embrionárias [11]. Este estudo põe de certa forma em questão as teorias da acumulação de erros, uma vez que através da reprogramação celular se conseguiu que as células voltassem a um estado funcional perfeito.

## 4 Teoria do envelhecimento programado

A teoria do envelhecimento programado pode dividir-se em longevidade programada e teoria endócrina [12]:

### 4.1 A longevidade programada

Nesta teoria o envelhecimento é resultado da ativação e inativação de certos genes. A senescência de uma célula é definida como uma altura no tempo em que os défices associados à idade se manifestam.

A menopausa, a doença vascular, o cancro e a osteoartrite podem ser exemplos de envelhecimento programado.

Há alguns mecanismos propostos, tais como o gene Clk1 que regula as espécies de oxigénio reativo da mitocôndria e a cinase EF2 que regula a síntese proteica [13].

Em certas espécies esta teoria está bem comprovada, mas a extrapolação para a espécie humana ainda está a ser estudada.

### 4.2 Teoria endócrina

A teoria endócrina defende que os “relógios” biológicos funcionam em função das hormonas que assim controlam a velocidade do envelhecimento. Estudos recentes confirmam que o

envelhecimento é de certa forma influenciado pelos níveis hormonais e que a via de sinalização insulina/IGF1, comum a tantas espécies, tem um papel importante. Mutações nesta via que condicionam uma diminuição da GH/IGF-1 ou diminuição da insulina estão associadas a um aumento da longevidade. A diminuição da atividade desta via em resposta a condições ambientais difíceis leva à ativação do grupo de genes FOXO, o que provoca a passagem do consumo de glicose para o consumo de lípidos, com o concomitante aumento da resistência celular ao *stress*, diminuição da inflamação de baixo grau e aumento da biogénese mitocondrial [14]. Os mecanismos que regulam os glucocorticoides e as suas modificações ao longo da vida são outra componente desta teoria [15].

Esta teoria está de certa forma interligada com a inflamação, oxidação e com as alterações do DNA.

## 5 Alterações provocadas de forma passiva

As alterações infligidas de forma passiva são cruciais no envelhecimento. É inevitável, as células vão acumulando alterações provocadas pelos agentes químicos que existem nos fluidos adjacentes, particularmente a glicose e os radicais livres.

As várias agressões a que estamos sujeitos ao longo da vida, vão gerando cumulativamente lesões que são reparadas com mais dificuldade consoante, se avança na idade, por perda capacidade de reparação molecular ou da capacidade de geração de novas células e moléculas, que têm um número limite de replicação.

As agressões que sofremos ao longo da vida, são designadas *stress* antigénico, gerado de uma forma estocástica por acidentes e doenças crónicas. Como exemplo pode-se referir a doença arterial em que as alterações são cumulativas e dependem do tempo de exposição aos fatores agressores como o lipoproteína de baixa densidade (LDL), a estase sanguínea, a hipertensão, ou o fumo de tabaco [16, 17].

Podemos considerar quatro tipos de alterações passivas:

**Tipo 1 mediada por radicais livres**, e ampliado quando presente uma resposta inflamatória [18] é atenuada se se seguir uma dieta com restrição calórica [19]. A erosão dos telómeros é um exemplo deste tipo de alteração, em que a diminuição do tamanho dos telómeros é aumentada pelo *stress* oxidativo, por exemplo nas células endoteliais vasculares [20].

**Tipo 2 mediada pela glicosilação de proteínas e DNA**, de forma espontânea e não facilitada por enzimas, por reações com açúcares que estão omnipresentes nos fluidos

extracelulares. Esta glicosilação estimula também a produção local de espécies reativas de oxigénio e de outras respostas inflamatórias [21].

**Tipo 3 mediada pela proliferação crónica de células** que pode ser estimulada pelo *stress* oxidativo e pela resposta inflamatória, conduzindo a um aumento das mutações das células somáticas, da erosão dos telómeros e de alterações nas funções imunitárias, nomeadamente diminuição de células T *naive*. A resposta imunitária altera-se ao longo da vida e a uma das alterações maior é a perda progressiva de células T *naive* à custa de um aumento de células T de memória [22].

Assim, a infeção crónica parece diminuir o número de células T *naive*. Um bom exemplo deste fenómeno é o vírus ubiquitário citomegalovírus que altera a capacidade imunitária principalmente nos mais idosos [23, 24].

**Tipo 4 traumatismos mecânicos resultantes do desgaste, acidentes e *stress* social.** O sistema vascular é um dos exemplos de desgaste mecânico. A corrente sanguínea transmite uma determinada força ao endotélio dos vasos e estas forças provocam respostas a nível molecular e celular (figura 3). Os ateromas formam-se habitualmente nas bifurcações arteriais e nas curvas onde os modelos físicos do fluxo sanguíneo o favorecem. Para além disso as variações do fluxo arterial induzem a expressão de genes pro inflamatórios no endotélio vascular tais como a interleucina (IL)-1 e a fração C3 do complemento (C3) e uma diminuição de anti inflamatórios como a IL-10 [25].

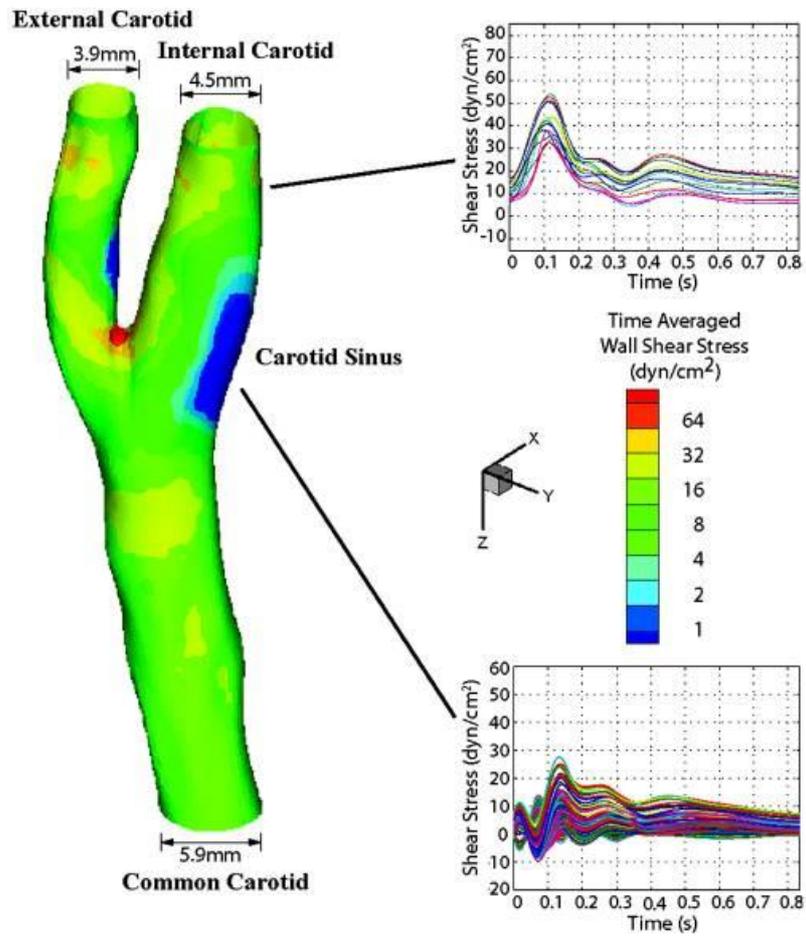


Figura 3 Hemodinâmica numa carótida humana com distribuição de pressões nas paredes [25]

## 6 Teoria da Inflamação e oxidação

A inflamação era já reconhecida como determinante da evolução da doença arterial no século XIX por Rudolf Virchow [26].

A evidência mostra que as alterações inflamatórias e oxidativas acumuladas pelas células com grande longevidade promovem maiores disfunções e mais patologia no envelhecimento uma vez que provocam alterações no DNA, nos organelos, nas células e nos tecidos [27]. Estas lesões aceleram por sua vez a morbidade e a mortalidade no envelhecimento. A patologia do idoso em geral, apresenta mecanismos fisiopatológicos marcados, e relacionado com alterações inflamatórias nas fases prodrômicas no início de vida, e que começam logo no útero, mas também durante todo o processo do envelhecimento, a resposta inflamatória torna-se marcante, de tal forma que passou a adquirir um nome próprio *Inflammageing*, que se define por uma inflamação subaguda e crónica presente no indivíduo idoso. Esta inflamação caracteriza-se por níveis séricos elevados de mediadores pro inflamatórios como citocinas e a proteína c reativa (CRP). [28].

Uma variedade de tecidos (tecido adiposo, músculo), órgãos (cérebro, fígado), sistemas (sistema imunitário) e ecossistemas (flora intestinal) do organismo humano, contribuem de forma diferente para o estado de *inflammageing* presente no envelhecimento. Paralelamente, a presença de células senescentes dentro de órgãos e tecidos pode também contribuir para o agravamento desta inflamação, uma vez que estas libertam mediadores inflamatórios. No que diz respeito ao sistema imunitário, os processos inflamatórios da imunidade inata influenciam muitas das alterações que os tecidos sofrem com o envelhecimento e também grande parte das doenças crónicas degenerativas [28].

A fase aguda da imunidade inata é mediada pela secreção de proteínas de fase aguda a nível sistémico com a consequente ativação local de macrófagos com uma rápida produção de radicais livres. Estas respostas de fase aguda não dependem da memória do sistema imunitário e são por isso uma constante ao longo da vida. Outra situação em que há profundas alterações nos tecidos, acontece após traumatismos ou exposição a toxinas, que podem induzir processos inflamatórios que vão muito além da produção de radicais livres durante a remodelação e reparação da matriz dos tecidos.

Por outro lado, a ativação do sistema imunitário requer energia que é retirada de outros sistemas e que determina também a duração, o tipo de resposta inflamatória, a qualidade da reparação e regeneração dos tecidos [29, 30].

Explorando melhor estas transferências de energia podemos dizer que há uma alocação diferente de energia num indivíduo com saúde ou com uma infeção. Verifica-se que transferências de energia durante as infeções podem causar défices agudos ou crónicos de energia. O metabolismo basal humano aumenta 30% nas infeções sistémicas (sepsis) e 15% na anemia falciforme. A fase aguda da resposta inflamatória diminui o apetite e induz letargia (comportamento doente). A febre gasta energia e aumenta o metabolismo basal de 25 a 100% [31]. Por cada 1°C de aumento de temperatura durante a febre, o metabolismo basal aumenta 10-15%. Não se sabe a quantidade de energia que é consumida pela proliferação celular de células do sistema imunitário e pelo aumento da produção de proteína C reativa e outras proteínas de fase aguda.

Grande parte desta redistribuição de energia é feita à custa da diminuição da atividade voluntária e da reparação celular o que leva ao envelhecimento precoce.

Como se referiu, no processo do envelhecimento acumulam-se alterações no DNA, lípidos e proteínas, fruto de alterações oxidativas [32]. Os radicais livres gerados pela mitocôndria são uma das principais fontes de alterações oxidativas nas células. Outras alterações são provocadas por radicais livres gerados por macrófagos, como acontece por exemplo na patologia ateromatosa.

Outro reação por *stress* oxidativo, muito importante e que pode de certa forma ser evitado pela dieta, é a glicação de DNA, lípidos e proteínas num processo que é quimicamente favorecido pela presença de glicose e outros açúcares nos fluídos celulares [21].

Estes produtos finais de uma glicação avançada, embora não sejam iniciados por radicais livres, podem gerar radicais livres, em reações subsequentes ou pela ativação de macrófagos [33].

Os macrófagos, ativam também fibroblastos conduzindo mais tarde ao aparecimento de zonas fibróticas. A fibrose é comum no miocárdio envelhecido [34] e noutros órgãos, e contribui para a degenerescência do organismo em geral [35].

Algumas infeções que provocam inflamação crónica aumentam também o risco de cancro. Cerca de 15% de todos os cancros podem ser uma consequência direta ou indireta de infeções [36].

Há também correlação entre envelhecimento, cancro e inflamação [37]. Muitos cancros e crescimentos celulares anormais estão associados a respostas de inflamação local que estimulam a proliferação celular. Na teoria em que a oncogénese é provocada por mutações, a progressão para a malignidade começa com alterações a nível do DNA.

Os processos inflamatórios são ativados pela via ras de proto oncogenes ras (H-ras, K-ras, N-ras) e normalmente são ativados por mutações. As proteínas ras ativadas secretam por sua vez IL-1 e IL-8 e outras citocinas pro inflamatórias [38].

A indução de IL-8 envolve as vias ERK-MAPK e PI3K que também influenciam a longevidade. A IL-8 intervém no recrutamento de macrófagos e outras células inflamatórias que promovem a vascularização do tumor (angiogénese). As respostas inflamatórias locais podem também produzir espécies reativas de oxigénio (ROS, do inglês *Reactive oxygen species*) que induzem ainda mais mutações [38].

A tabela 1, ilustra o aumento generalizado da inflamação em vários tecidos com o envelhecimento.

**Tabela 1 Aumento de fatores inflamatórios com o envelhecimento em ratos (fatores multiplicativos) [39]**

Gene	Cérebro Neocórtex	Cérebro Cerebelo	Cérebro Hipocampo	Artérias Coronárias	Fígado	Músculo gastrocnemios	Miocardio
apolipoproteína E		3[39]	2[40]				
complemento (C)	2 [39]	4[39]	2[40]		2 [41]		4-13 [42]
C a, b, or c 1q''							
C3			>10 [43]				
C4	5[39]	4[39]	2[40]			2 [44]	
cathepsina S	1.5[39]	4[39]	2[40]			1.5 [39]	
CD68 (marcador de macrófagos)	2[39]	4[39]					
lysozyme P	2[39]	6[39]			2 [41]		
serum amiloide A (SAA)						3 [44]	
serum amiloide P (SAP)					2 [41]		
Interleucina-1 (IL-1)				3 [45]			
Interleucina-6 (IL-6)	1.3 [46]	1.3 [46]	1.3 [46]	3 [45]			
tumor necrosis factor (TNF $\alpha$ )				3 [45]			
<b>Números superiores a 1.5 foram arredondados para a unidade</b>							

## 7 Teoria das alterações no DNA

A teoria das alterações no DNA assenta no fundamento de que o envelhecimento é uma consequência da acumulação de alterações no DNA que não são reparadas. Tanto o DNA mitocondrial como o nuclear podem contribuir para o envelhecimento. As alterações no DNA nuclear podem contribuir de forma indireta aumentando a apoptose ou a senescência celular, ou diretamente aumentando a disfunção celular [47].

A longevidade nos mamíferos está correlacionada com a eficiência da reparação do DNA nuclear. As formas mais severas de envelhecimento acelerado nos humanos são consequência de defeitos na reparação do DNA nuclear (como a síndrome de Werner, a síndrome de Cockayne ou o Xeroderma pigmentoso). Há outras doenças, como a progeria, que afetam a codificação de proteínas. No caso particular da progeria, a proteína afetada é a prelamina A que conduz à formação de um núcleo celular com uma forma anormal. Esta malformação nuclear limita a capacidade da célula se dividir. Os indivíduos com esta doença raramente ultrapassam os 13 anos de vida, ou seja envelhecem entre 8 a 10 vezes mais depressa do que o normal [47].

Nas doenças em que há um defeito na reparação do DNA, os altos níveis de envelhecimento celular e a apoptose verificados, são aparentemente a principal causa para o fenótipo envelhecido que os indivíduos apresentam. Por exemplo, há ratos transgênicos com altos níveis de envelhecimento celular e apoptose que têm um fenótipo envelhecido enquanto que ratos com níveis baixos de envelhecimento celular e apoptose apresentam uma longevidade aumentada [27].

No ser humano e noutros mamíferos, as alterações no DNA ocorrem frequentemente e existem processos de reparação dos erros que foram evoluindo ao longo do tempo. Em estimativas realizadas em ratos, foram encontradas entre 1500 a 7000 lesões no DNA por hora em cada célula, ou seja aproximadamente entre 36000 a 160000 por dia [48].

As mutações acumulam-se durante a replicação do DNA, e podem ser estimuladas de forma endógena por exemplo pelas hormonas sexuais nos tecidos reprodutivos ou de forma exógena por radiações UV, carcinogéneos ou vírus, por exemplo.

Mas, nem todos os erros são reparados apesar dos processos de reparação existentes a nível celular.

A acumulação de erros no DNA é mais prevalente em certos tipos de células, em particular nas células que não sofrem replicação ou nas que o fazem de forma lenta, sendo disto exemplo as células cerebrais, dos ossos e do músculo cardíaco.

## 8 Teoria da Imunosenescência

O envelhecimento do sistema imunoinflamatório é muito complexo.

A resposta por imunidade inata/inflamação aumenta com o envelhecimento. São vários os exemplos da relação entre o aparecimento de patologia no indivíduo idoso e a resposta imunoinflamatória, um destes exemplos é observado pelo aumento dos macrófagos arteriais e a relação com a aterosclerose [49]. Por outro lado a imunidade adquirida altera-se e o número de células fica restringida com o envelhecimento, como é o caso das células T *naive* que vai diminuindo dando lugar a células T de memória.

Este aspeto da imunosenescência pode ser acelerado por uma exposição mais frequente a antigénios (*stress* antigénico). Esta hipótese da hiperestimulação prevê que populações com infeções crónicas mostrem uma imunosenescência precoce [50].

O HIV está a ser investigado nesta perspetiva. Doentes jovens com HIV têm uma baixa resposta à vacinação como à vacina da rubéola, poliomielite e influenza [50]. Outro exemplo de imunosenescência precoce, são os cerca de 60000 etíopes de todas as idades que emigraram para Israel em duas ocasiões, 1984 e 1991. Muitos destes emigrantes estavam infetados com parasitas e não estavam infetados com HIV, malária ou tuberculose. Analiticamente tinham uma baixa percentagem de células T CD4 *naive* e excesso de células T de memória, muito provavelmente consequência dos vários anos em que estiveram sujeitos a uma estimulação do sistema imunitário por parte dos parasitas [51].

A imunosenescência está então associada a um aumento da inflamação e oxidação que por sua vez conduz ao envelhecimento celular.

## 9 Teoria dos Telómeros

Os telómeros (do grego telos, final, e meros, parte) são sequências de ácidos nucleicos existentes no DNA que não codificam proteínas e que constituem as extremidades dos cromossomas. A sua principal função é manter a estabilidade estrutural do cromossoma e impedir a fusão com cromossomas vizinhos. Os telómeros estão presentes principalmente em células eucarióticas, uma vez que o DNA das células procarióticas forma cadeias circulares, logo não tem locais de terminação, embora existam exceções como algumas bactérias com DNA linear que possuem telómeros [52].

Nos seres humanos os telómeros são formados pela repetição de seis nucleótidos, Timina, Timina, Adenina, Guanina, Guanina, Guanina, atingindo dezenas de quilo bases.

Cada vez que a célula se divide, os telómeros são ligeiramente encurtados. Como estes não se regeneram, após sucessivas divisões celulares, a célula chega a um ponto em que não é possível uma replicação dos cromossomas sem perda de material genético e por conseguinte esta perde completa ou parcialmente a sua capacidade de divisão. Normalmente este limite não é ultrapassado porque o encurtamento dos telómeros ativa um mecanismo que impede a divisão celular, mas se este limite for ultrapassado pode acontecer uma eliminação de certos genes que são indispensáveis à sobrevivência da célula ou um silenciamento de genes próximos [53].

Este fenómeno da divisão celular limitada foi observado pela primeira vez por Leonard Hayflick em 1961, e agora é conhecido como o limite de Hayflick [7]. Mais tarde foram feitas

descobertas significativas por um grupo de cientistas que relacionou o encurtamento dos telómeros com o limite de Hayflick [9].

Este limite pode ser particularmente limitativo em tecidos como a medula óssea e o endotélio dos vasos sanguíneos onde as divisões celulares ocorrem de forma repetida ao longo da vida, diminuindo assim a longevidade [54].

Um forte argumento contra esta teoria é o facto de que os ratos que não possuem a enzima telomerase não apresentam uma diminuição significativa da sua longevidade, o que invalida de certa forma as versões mais simplistas desta teoria do envelhecimento [55].

A inflamação mesmo na ausência de infeções provoca um encurtamento dos telómeros. Os fumadores crónicos, por exemplo, têm telómeros mais curtos nos linfócitos do sangue periférico e menos telomerase [56].

A ligação entre o tabaco e os linfócitos periféricos poderá ser direta uma vez que os componentes do fumo do tabaco ativam rapidamente os monócitos sanguíneos através de reações de oxidação e redução [56].

A inflamação crónica da pele está também associada com o encurtamento dos telómeros. As crianças com dermatite atópica têm células T ativadas. Estas células quando foram colocadas em cultura tinham telómeros 25% mais curtos do que os linfócitos sanguíneos normais [57]. Na psoríase a situação repete-se [58].

O *stress* psicológico crónico está também correlacionado com uma diminuição no comprimento dos telómeros nos linfócitos do sangue periférico [59].

Em indivíduos com mais de 60 anos, os que possuem telómeros mais curtos têm uma mortalidade mais elevada e uma longevidade menor. Neste estudo, a mortalidade em todas as idades aumentou duas vezes, à custa particularmente de mais infeções (8.5x) e mais patologia cardíaca (3.2x) [60].

Foram propostas três vias para inverter o encurtamento dos telómeros: medicamentos, terapia genética ou supressão metabólica (hibernação). Até agora estas ideias não foram comprovadas em seres humanos, mas já foi demonstrado que o encurtamento dos telómeros está diminuído nos casos de hibernação verificando-se também um aumento da longevidade [47].

## 9.1 Telomerase

A telomerase foi descoberta em 1984 por Carol W. Greider e Elizabeth Blackburn. Pela sua descoberta ambos receberam em 2009 o prémio nobel da medicina [52].

Esta enzima é responsável pela introdução dos telómeros no DNA. É uma transcriptase reversa que contém o seu próprio RNA com a sequência “CCCAAUCCC” sequência esta que é usada como padrão para a codificação dos telómeros.

Esta enzima adiciona a sequência já referida anteriormente, TTAGGG, na terminação 3' do DNA na zona terminal dos cromossomas.

Nas células embrionárias a telomerase está ativa o que permite que estas se dividam de forma repetida até formação de um ser humano. Nos adultos a telomerase está ativa em células que precisam de se dividir de forma regular, como por exemplo as células germinativas do homem, os linfócitos T ativados e em algumas células estaminais adultas. Nas células somáticas não está ativa [52].

Em circunstâncias normais, sem a presença de telomerase, uma célula divide-se recursivamente chegando a um determinado ponto em que atinge o limite de Hayflick, que se pensa estar entre as 50 e 70 divisões celulares. Aí a célula torna-se senescente e a divisão celular pára. Na presença de telomerase, a cada divisão celular podem ser substituídas as perdas de DNA e assim cada célula pode dividir-se indefinidamente. Numa primeira análise podemos pensar que atingir esta meta seria uma forma de atingir a imortalidade, mas esta multiplicação perfeita e descontrolada é um dos passos fundamentais para o aparecimento de neoplasias [61].

A clonagem da componente catalítica da telomerase, permitiu estudos que testaram a expressão desta enzima em níveis suficientes para prevenir o encurtamento dos telómeros e assim induzir uma imortalização de células humanas bem como um aumento da longevidade [62].

Outros estudos levantaram questões sobre a possibilidade da telomerase ser usada como terapia contra o envelhecimento. No entanto, ratos com elevados níveis de telomerase têm incidências de cancro elevadas e sendo assim não vivem mais anos. Algumas síndromes de envelhecimento prematuro estão associadas a um encurtamento dos telómeros, no entanto os telómeros também favorece o aparecimento de neoplasias. Tudo isto levanta questões sobre a

utilização da telomerase como terapia anti envelhecimento [63]. Por outro lado, há também estudos que mostram que a ativação da telomerase em ratos resistentes ao cancro aumentou a longevidade destes. Outro estudo em que se verificou um aumento da longevidade foi realizado em judeus Ashkenazi e no qual analisaram os dois genes mais importantes na definição da atividade da telomerase, o *hTERC* (*human telomerase RNA component*) associado ao RNA e o *hTERT* (*human telomerase reverse transcriptase*) associado à transcriptase reversa. Demonstrou-se que os centenários e os seus descendentes mantinham telómeros mais longos quando comparados com indivíduos de controlo, e que este facto estava associado a uma proteção de doenças relacionadas com a idade, a uma melhor performance cognitiva e a um perfil lipídico mais saudável. Com a análise deste estudo podemos inferir que as variações nos genes humanos que codificam a telomerase estão associados a indivíduos com telómeros mais longos, com uma longevidade acima da média e mais saudáveis [64].

Concluindo, apesar de haver estudos que apontam para um aumento de neoplasias na sobre expressão de telomerase, há também casos em que esta sobre expressão é benéfica pois aumenta a longevidade.

## 10 Teoria da fiabilidade

A teoria da fiabilidade é um conjunto de ideias, modelos matemáticos e métodos direcionados a prever, estimar, perceber e otimizar a longevidade.

A teoria da fiabilidade sugere que o envelhecimento é um compromisso obrigatório num sistema propenso a falhas constituído por células. Células estas que consistem num sistema redundante, pois em cada tecido temos milhões de células idênticas e com a mesma função, e em cada célula vários organelos (como as mitocôndrias) que desempenham também a mesma função. O envelhecimento, é então uma perda inevitável de redundância (perda de células idênticas, de organelos idênticos e de proteínas idênticas) nos sistemas funcionais. Com a idade essa redundância vai-se perdendo levando a um aumento da mortalidade. Em seres unicelulares esta correlação idade-aumento da mortalidade (demonstrada pela lei de Gompertz) não é tão marcada [65].

Esta correlação idade-aumento da mortalidade assim como outros fenómenos do envelhecimento, vêm de um modelo simples de fiabilidade e de duas características dos sistemas biológicos. A primeira característica, e em contraste aos componentes mecânicos testados de uma máquina construída pelo homem, consiste na forma ontogénica, de novo e a partir de componentes não testados (células) que um organismo é criado. A segunda está relacionada com o grau de miniaturização dos seus componentes, isto é, a dimensão microscópica das células assim como a dimensão molecular dos transportadores de informação como o DNA e o RNA, o que permite a criação de um alto nível de redundância nos seus elementos [65].

Assim é de esperar que nos organismos vivos, em contraste com dispositivos construídos pelo homem, a fiabilidade seja conseguida não pela qualidade elevada de todos os elementos iniciais, mas sim pelo elevado número de células, organelos ou proteínas semelhantes (redundância). Esta característica explica de certa forma o porquê da curva mortalidade-idade ser exponencial e não linear [65].

Num estudo foram investigados os cérebros de ratos desde o dia 10 do estado embrionário até às 10 semanas de vida e foram descobertas perdas de redundância em diferentes categorias de proteínas (a proteína mitocondrial VDAC1, a subunidade do proteossoma Psma5 e os chaperones calreticulin e Hsc71) com o envelhecimento. Estas perdas foram quase lineares. Sendo assim o envelhecimento pode ser uma manifestação fenotípica da perda de redundância causada por acumulação de proteínas não funcionais. Esta hipótese é suportada por uma perda dos componentes do sistema proteossoma com a idade. Esta perda é altamente prejudicial para a renovação biológica e parece ser um dos fatores mais importantes que contribuem para o envelhecimento e por isso pode representar um alvo preferencial para terapias de combate às doenças e ao envelhecimento [66].

Em suma, o envelhecimento é frequentemente analisado pelo efeito no fenótipo dos indivíduos. Mas as causas são encontradas ao nível molecular. Como já foi explicado, os organismos podem ser considerados como sistemas de fiabilidade e robustos aos quais se pode aplicar a teoria da fiabilidade. Esta análise fornece mais uma ideia para resolver o puzzle do envelhecimento.

## 11 Teoria do mTOR

O mTOR (*mammalian target of rapamycin*) é uma proteína que no ser humano é codificada pelo gene mTOR. Esta proteína regula o crescimento, a proliferação, a motilidade e a sobrevivência celulares. Regula também a síntese e a transcrição proteica, a insulina e os fatores de crescimento *insulin-like growth factor* (IGF)1 e 2. Possui também funções de sensor celular de nutrientes, oxigênio e dos níveis de energia [67].

A via de sinalização celular do mTOR está alterada em algumas doenças como a diabetes, a obesidade, a depressão e em alguns cânceros [68].

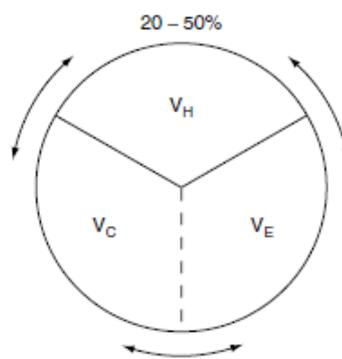
O estudo destas e outras alterações permitiu chegar à conclusão que o mTOR é uma proteína que inibe a autofagia e poderá estar relacionada com o envelhecimento através da via de sinalização da insulina. Há estudos realizados em várias espécies animais que indicam que a restrição calórica permite um aumento da longevidade. Este efeito é provavelmente mediado pela função de sensor de nutrientes da via mTOR [69].

Quando os organismos restringem a dieta a atividade do mTOR diminui, o que permite um aumento da autofagia. Este aumento da autofagia recicla as células mais velhas e danificadas o que aumenta a longevidade e diminui as hipóteses de ser obeso. Isto diminui também os picos de concentração de glicose no sangue, levando a uma diminuição da insulina.

Esta diminuição da insulina diminui a ativação do mTOR. A longevidade está então relacionada com a restrição calórica que pode promover a inibição do mTOR o que aumenta a autofagia e reduz os efeitos das espécies reativas de oxigênio que danificam o DNA, as células e os tecidos [70].

## 12 Teoria Genética

Mesmo num ambiente de laboratório altamente protegido, os animais apresentam uma grande variabilidade individual no envelhecimento. Numa teoria desenvolvida com Tom Kirkwood, uma porção da variabilidade no envelhecimento que não depende de fatores hereditários resulta de variações aleatórias durante o desenvolvimento (variabilidade constitucional não-hereditária, VC) [71, 72].



**Figura 4** Fatores que influenciam a longevidade [71, 72]

A variabilidade na longevidade pode ser dividida em três componentes: V<sub>H</sub>, V<sub>E</sub> e V<sub>C</sub> [71] A componente hereditária da longevidade (V<sub>H</sub>) é de 20-50% em gémeos humanos, na moscas e vermes [73]. Assim a maior parte da variabilidade na longevidade não é herdada e pode ser dividida numa componente devida ao meio ambiente (V<sub>E</sub>) e noutra devida a alterações aleatórias que ocorrem ao nível celular e molecular (V<sub>C</sub>) (figura 4).

O fenótipo também muda durante o desenvolvimento devido a alterações estruturais no DNA das células somáticas (i.e. mutações, diminuição do comprimento dos telómeros) e a

mudanças epigenéticas (i.e. perda de *imprinting*, genes que deixam de ser reprimidos, etc), estas alterações vão-se acumulando durante o envelhecimento [71].

Os fatores externos do acaso são acidentes, infecções, má nutrição e o clima, por exemplo.

Os fatores internos do acaso são as alterações por radicais livres em células e moléculas, as variações no número de células durante o desenvolvimento e as variações estocásticas na expressão genética. Os mamíferos também possuem variações individuais no número de células que influenciam a longevidade [71].

Os indivíduos diversificam-se ainda mais durante o envelhecimento devido a desvios epigenéticos e a variações das células somáticas. A metilação do DNA, que é um mecanismo major de *imprinting*, sofre também mudanças ao longo da vida. Por exemplo, os leucócitos sanguíneos de gémeos verdadeiros apresentam grandes diferenças na metilação do DNA, nas ilhas CpG e nos padrões de metilação dos cromossomas com o aumento da idade [74]. Estas diferenças eram mais evidentes em gémeos que tinham estilos de vida muito diferentes e viviam em ambientes diferentes [74].

Com a idade são também verificadas alterações em mosaico das células somáticas. A dimensão destas alterações epigenéticas pode ser 100 vezes superior às mutações do DNA.

Os génotipos das células somáticas alteram-se em cada indivíduo devido à instabilidade do DNA das mitocôndrias e dos cromossomas e também devido à diminuição do comprimento dos telómeros. Logicamente, estes fatores alteram também a expressão genética [75].

## 12.1 Perda de genes

Os cães perdem cerca de 3.3% do DNA do músculo cardíaco anualmente, enquanto o homem perde aproximadamente 0.6%. Este número é semelhante ao rácio da longevidade máxima das duas espécies (120 vs 20 anos, ou 6/1). Esta percentagem comparativa é semelhante para a perda de DNA no cérebro e nos linfócitos. As alterações causadas no DNA e a perda de genes ao longo da vida é muito provavelmente uma causa central do envelhecimento [76].

## 12.2 A influência do género na longevidade

No ser humano os cromossomas sexuais são o determinante genético mais significativo da longevidade das populações. Este simples fato é muito frequentemente descurado nas discussões sobre as influências genéticas na longevidade.

Na maior parte dos países as mulheres têm uma esperança de vida superior à dos homens. Atualmente as mulheres vivem em média mais 3.9 anos do que os homens [77].

A mulher tem uma mortalidade mais baixa ao longo de todas as fases da vida (figura 5) [78].

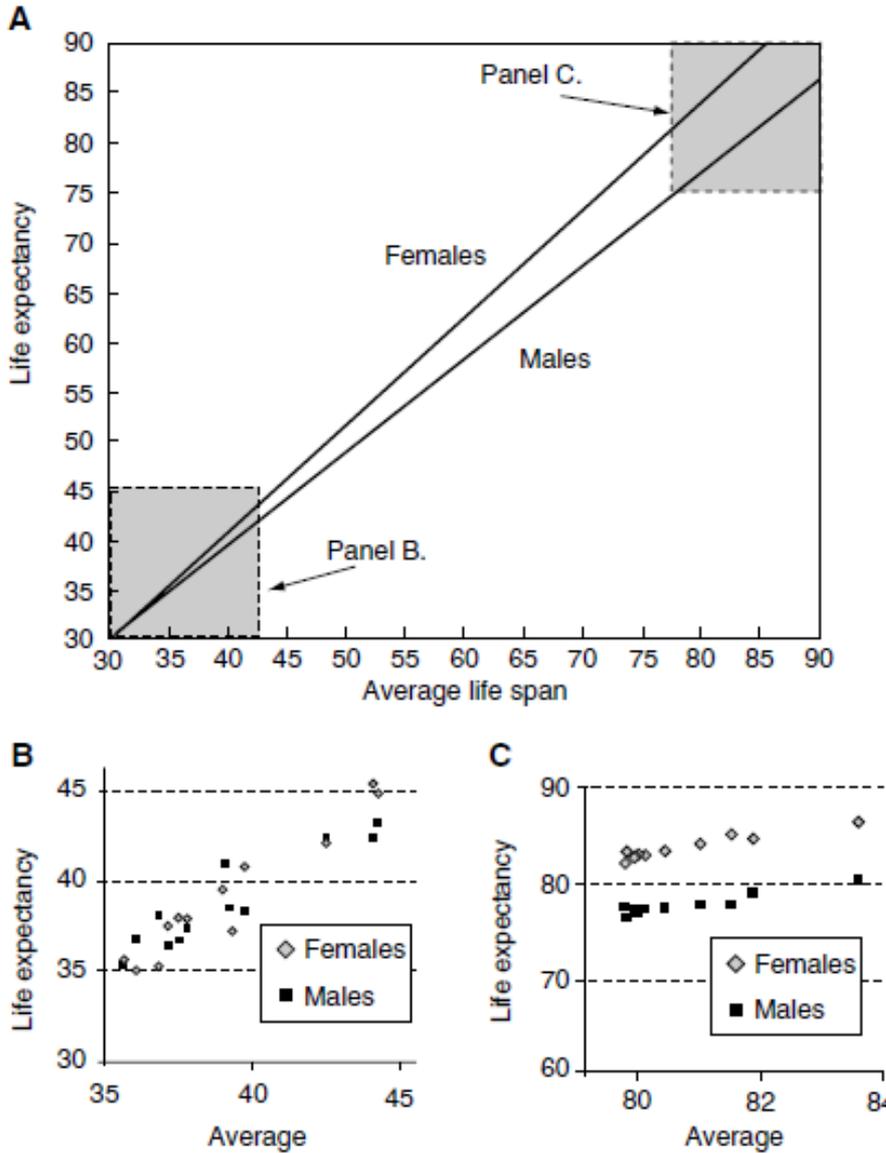


Figura 5 Diferenças na longevidade entre os dois sexos [78]

As diferenças entre gênero na longevidade estão ligadas à genética da determinação sexual.

O fenótipo masculino depende apenas do *locus* determinante do sexo do cromossoma Y, que codifica o fator de transcrição necessário ao desenvolvimento dos testículos [79].

Na ausência de testículos fetais os órgãos femininos desenvolvem-se por defeito. Dos genes contidos pelos dois cromossomas X de uma mulher, um dos dois alelos é inativado ao acaso durante o desenvolvimento. No entanto cerca de 15% dos genes ligados ao cromossoma X não são inativados e são expressos em parte nas células adultas [79].

Sendo assim os genomas feminino e masculino diferem nos seguintes atributos major:

- . Os genes do cromossoma Y que estão ausentes do cromossoma X
- . A vantagem heterozigótica das mulheres em relação a alelos recessivos prejudiciais
- .A expressão nas mulheres de ambas as cópias dos genes ligados ao cromossoma X

## A Patogia do Idoso - Alguns Exemplos

Os efeitos do envelhecimento são fenotipicamente visíveis mas também objetivamente mensuráveis.

Independentemente da longevidade que determinado individuo atinge, mais importante será certamente a qualidade de vida que tem até atingir esse máximo. Fatores chave para caraterizar essa qualidade de vida são a autonomia, a percepção da saúde e o estado emocional de uma pessoa tal como podemos constatar num estudo realizado recentemente na população portuguesa [80].

A seguir encontram-se alguns exemplos dos efeitos da passagem do tempo no nosso organismo.

## 13 Obesidade

A obesidade está associada a uma inflamação crónica latente nos idosos e que aumenta o risco de Alzheimer, patologias vascular e cancro, entre outros. Por exemplo o risco de Alzheimer varia progressivamente com o índice de massa corporal, embora seja mais evidente no sexo feminino [81],[82],[83].

A relação entre a obesidade e a inflamação é clara uma vez que os adipócitos são uma fonte de IL-6, TNF alfa e outras citocinas pro inflamatórias [84, 85].

Há também uma correlação elevada entre a elevação da CRP e a leptina que é produzida pelos adipócitos [86].

Por sua vez a gordura abdominal está correlacionada com o aumento de colesterol e a CRP [87].

A peroxidação lipídica é em média o dobro nos indivíduos obesos [88] e nos ratos obesos [89] o que se traduz em mais *stress* oxidativo. A leptina, para além de regular a fome é pro inflamatória estimulando a fagocitose e induzindo a produção de citocinas [90].

Estas características inflamatórias da obesidade implicam logicamente um aumento de radicais livres e de *stress* oxidativo, o que se verifica também nos adipócitos de ratos obesos [91].

A obesidade agrava e acelera o aparecimento de osteoartrite [92].

O *stress* mecânico provocado pela obesidade provoca respostas catabólicas dos condrócitos articulares o que causa perda de matriz e acumulação de produtos de glicoxidação [93].

Proteínas de fase aguda como a CRP e a IL-1, e outras respostas moleculares inflamatórias surgem cedo na osteoartrite [94, 95].

Por fim a obesidade está também associada a um risco aumentado de alguns carcinomas. Como exemplos o cancro do pâncreas [96], o cancro da próstata [97] e do endométrio [98].

## 14 Envelhecimento arterial e aterosclerose

Ao longo do envelhecimento, as artérias sofrem um complexo processo de alterações na sua estrutura que vão muito para além do simples *stress* oxidativo.

A importância da degeneração e disfunção das artérias no envelhecimento humano não é um conceito moderno. Há um século atrás William Osler falou na importância da degeneração no envelhecimento humano dizendo que a "aterosclerose é algo que acompanha o envelhecimento e é a expressão natural do desgaste e do uso a que os tubos são sujeitos. A longevidade é uma questão vascular, que está bem expressa no axioma 'um homem é tão velho quanto são as suas artérias'"[99].

Em 1858, Rudolph Virchow considerou a inflamação como a causa principal de doença arterial. Acerca deste tema disse "não hesito em dizer que a inflamação das artérias é o ponto de partida da degeneração ateromatosa. Temos um processo ativo que produz novos tecidos que em seguida são destruídos como consequência do seu próprio desenvolvimento" [99].

Após mais de um milhão de estudos científicos sobre a doença vascular estas conclusões iniciais são validadas: a doença arterial é fundamentalmente um processo inflamatório que começa no útero e se mantém durante toda a vida [100]. Os principais locais de envelhecimento vascular são o endotélio arterial e a lâmina elástica que interagem com múltiplos fatores inflamatórios do ambiente externo e interno. A aorta e as outras artérias principais são os reservatórios elásticos do volume de sangue bombeado a cada batimento cardíaco. Esta elasticidade diminui com a idade. Dois processos diferentes mas interligados atuam sobre as artérias durante a vida, a arteriosclerose e a aterosclerose [101].

Arteriosclerose é caracterizada pelo aumento de espessura e da dureza das paredes das artérias o que aumenta paulatinamente a pressão arterial e pode levar à hipertensão.

Aterosclerose que é uma acumulação local de células em crescimento e de lípidos dentro da parede da artéria e que normalmente evolui de focos microscópicos para placas que se tornam fibrosas e calcificadas. A dislipidemia aterogénica está correlacionada positivamente com os valores de hemoglobina glicada (HbA1c) nos idosos [102].

O aumento da espessura das artérias é fruto da constante remodelação endotelial com deposição de colagénio e de proteoglicanos [103, 104].

As proteinases da matriz (MMP-2 a 9) aumentam várias vezes ao longo da vida no ser humano, nos primatas e nos ratos. Na aorta torácica do homem o colagénio aumenta 50% dos 20 aos 80 anos, enquanto a elastina diminui 35% [105]. Estes processos são independentes dos ateromas.

O aumento da espessura da parede das artérias ao longo da vida é semelhante em populações com pouca ou muita aterosclerose [106]. No entanto, o envelhecimento arterial generalizado predispõe o aparecimento de aterosclerose.

Com o envelhecimento as artérias acumulam infiltrações de células sanguíneas, lípidos e proteínas. As coronárias apresentam acumulações de gama globulina na íntima, com infiltração linfocitária principalmente na proximidade dos ateromas. A expressão de genes inflamatórios por parte das células endoteliais e musculares aumenta com a idade. Como

exemplos temos a IL-1, IL-6, IL-17, e o Fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ). Os marcadores de morte celular como as caspases 3 e 9 também aumentam. O envelhecimento aumenta a produção de MMP-2 em resposta a um aumento de IL-1 e de TNF $\alpha$  [45].

A diminuição ao longo do tempo do radical livre óxido nítrico é outra componente importante do declínio da função arterial. O óxido nítrico endotelial é um vasodilatador chave, inibe a agregação local das plaquetas e promove ainda a apoptose das células endoteliais quando expostas ao LDL oxidado e à hiperglicemia [107].

A diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico ao longo da vida é progressiva.

O anião super óxido atua como vasoconstritor e aumenta com a idade. Este fenómeno reduz a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e pode ser responsável pelo aumento do *stress* oxidativo nas paredes das artérias com o envelhecimento. Os défices de NO aumentam com a idade [107, 108].

O sistema vascular é responsável pelo aporte de nutrientes e oxigénio para todo o organismo. Com a idade e o conseqüente aumento da deposição de ateromas e endurecimento dos vasos, a qualidade deste aporte fica comprometida. Acrescem ainda os efeitos nefastos do aumento progressivo da tensão arterial ao longo da vida nos vários órgãos. A perda de função do sistema vascular ao longo da vida é então um fator determinante no envelhecimento global do organismo.

## 15 Envelhecimento cerebral

À medida que envelhecemos os microgliócitos (macrófagos do sistema nervoso, habitualmente também designados por células da micróglia) que se encontram ativados e aumentam em número. Observa-se também uma diminuição da mielina e das células da glia através de estudos imunohistoquímicos [109, 110].

Por outro lado também se observa um aumento das proteínas do complemento (figura 6) com a idade, estas encontram-se principalmente nos depósitos difusos de amiloide no cérebro e nos corpos amiláceos [111].

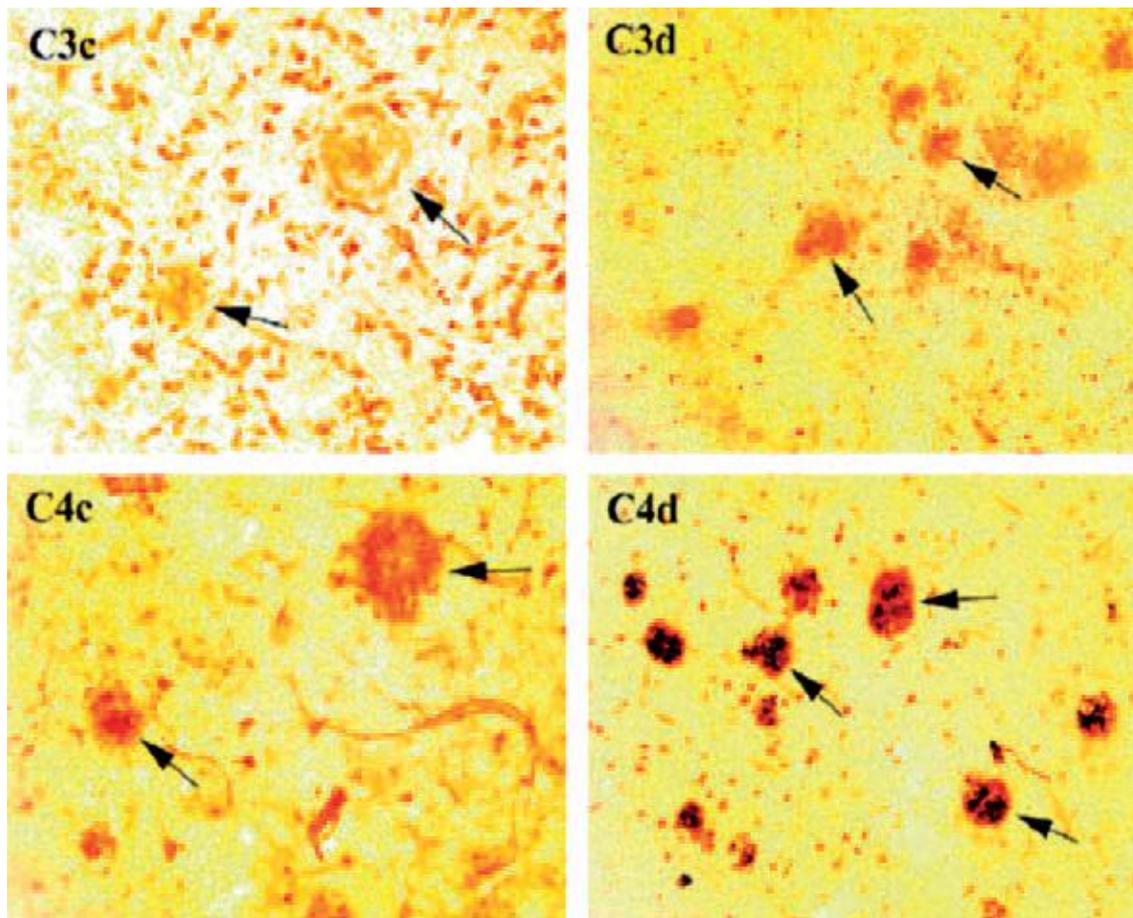


Figura 6 Aumento dos depósitos de complemento com a idade num cérebro livre de doença (C3c, C3d, C4c, C4d) em placas de beta amiloide [111].

A ativação da microglia com a idade é independente dos depósitos amiloides mas aumenta na presença destes [112].

### 15.1 Inflamação cerebral

O aumento dos níveis de CRP e de outras proteínas de fase aguda é comum em idades avançadas e poderá ser um fator de risco de défice cognitivo. Um estudo que seguiu durante 7 anos um grupo de idosos, com idades entre os 70 e os 79 anos, intelectualmente ativos chegou

à conclusão que os indivíduos, com elevados níveis de IL-6 tinham o dobro do risco de desenvolver défices cognitivos [113]. Outros estudos mostram resultados similares [114,115].

Há, por exemplo um estudo realizado ao longo de 5 anos, em que nos primeiros dois anos os indivíduos do tercil superior de valores de CRP e IL-6 apresentavam risco de sofrerem de défice cognitivo. Durante os 5 anos de observação 23% tinham défice cognitivo [114]. Outro exemplo é um estudo realizado ao longo de 105 anos, em indivíduos com mais de 75 anos em que o risco de desenvolver défice cognitivo aumentou quando os níveis de CRP eram superiores a 5 mg/L [115].

## 15.2 Leucoaraiose

A leucoaraiose são alterações não específicas na substância branca cerebral observadas com frequência em Tomografia Axial Computorizada (TAC) e ressonância magnética.

Uma descoberta alarmante nos últimos tempos foi o facto de terem sido encontradas alterações significativas nos cérebros de pessoas com mais de 50 anos e por vezes mais novas. A percentagem de indivíduos com estas alterações é de pelo menos 40% [116, 117].

Estas alterações são sobretudo zonas de hiperdensidade na tomografia computadorizada e de hiperintensidade na ressonância magnética. Há estudos que associam a presença destas alterações a alterações cognitivas, perda de memória, perturbações na personalidade e até mesmo a perdas de equilíbrio e coordenação. Estas perturbações aumentam com a idade [118, 119].

A etiologia pensa-se ser multifatorial [120], sendo de destacar:

- A hipertensão que aumenta catorze vezes o risco de desenvolver leucoaraiose [121].
- A redução do fluxo sanguíneo cerebral. Nos doentes com leucoaraiose este fluxo está em média reduzido a 40% do fluxo, de uma pessoa que não sofre de leucoaraiose [122].
- A homocisteína, que é um sub produto do metabolismo proteico, está envolvida na disfunção do endotélio vascular que por sua vez está associada a um fluxo sanguíneo deficiente nos pequenos vasos levando à leucoaraiose [123].
- Outros fatores tais como diabetes [124], níveis elevados de inflamação [125], síndrome metabólica [126] e o consumo de tabaco aumentam o risco de sofrer desta patologia [104].

### **15.2.1 Envelhecimento vascular cerebral**

O fluxo sanguíneo cerebral no córtex diminui progressivamente com o envelhecimento, em média 25% (dos 20 aos 80 anos), ou cerca de 0.4% ao ano o que contribui para a perda de função cognitiva ao longo da vida [127].

## 16 Conclusão

A população humana está a envelhecer gradualmente, com aumentos constantes da esperança de vida; várias são as causas deste fenómeno: a diminuição da natalidade e da fertilidade, a diminuição da mortalidade infantil, maior conhecimento em saúde que implica uma maior consciencialização para a importância dos estilos de vida saudáveis, da prevenção primária e da prevenção secundária, o aparecimento de armas terapêuticas mais eficientes, melhores condições socioeconómicas.

O grupo etário que mais cresceu foi o das pessoas com mais de 65 anos.

Os estudos relacionados com o envelhecimento e a longevidade ajudam-nos a perceber os mecanismos responsáveis por estes processos e dão alguma esperança na intemporal procura de uma “receita” para uma vida longa e saudável.

Como podemos constatar ao longo deste trabalho, o processo de envelhecimento e a longevidade são modulados por fatores genéticos, epigenéticos, ambientais e estocásticos. Trabalhos de investigação nesta área e que são extrapolados para o ser humano são os obtidos de estudos com outras espécies animais como *S. cerevisiae*, *C. elegans*, *D. melanogaster* e ratos de laboratório.

As teorias relacionadas com o envelhecimento podem ser divididas de várias maneiras, mas uma das classificações mais aceites é a sua divisão em programadas e não programadas.

De acordo com as teorias programadas, o envelhecimento é uma característica adaptativa dos seres vivos que leva à sua morte a favor de uma descendência mais forte e capaz para a manutenção da espécie.

Por outro lado, para as teorias não programadas os organismos têm uma quantidade limitada de energia e de recursos que por sua vez têm que ser divididos pelas atividades reprodutivas e não reprodutivas. O envelhecimento é assim o resultado do efeito natural de processos que levam a uma acumulação de alterações negativas para o organismo e que promovem a sua degradação. Como exemplos temos as alterações do DNA ao longo do tempo, a senescência celular, o aumento da inflamação e as constantes reações de oxidação e redução que se dão num organismo e que conduzem ao envelhecimento e ao aparecimento de doenças relacionadas com esse mesmo envelhecimento.

As principais estratégias para aumentarem a longevidade baseiam-se em proteger os seres vivos dos efeitos destes constantes agressores. A restrição calórica, os antioxidantes, a engenharia genética, o exercício físico e a alimentação equilibrada parecem ser as estratégias mais promissoras.

## Acrónimos

DNA – Ácido desoxirribonucleico, do inglês *DeoxyriboNucleic Acid*

cDNA- DNA complementar, do inglês *Complementary DNA*

CRP - Proteína C Reativa, do inglês *C Reactive protein*

FOXO - *Forkhead box protein*

GH – Hormona de crescimento, do inglês *Growth Hormone*

IGF-1- Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1, do inglês *Insulin-like growth factor*

*I*

IL - Interleucina

LDL - Lipoproteína de baixa densidade ,do inglês *Low Density Lipoprotein*

TNF- Fator de necrose tumoral, do inglês *Tumor Necrosis Factor*

mTOR- *Mammalian Target of Rapamycin*

VC - Variabilidade Constitucional

VE - Variabilidade devida ao meio ambiente

VH - Variabilidade Hereditária

## Agradecimentos

Agradeço, à Professora Doutora Anabela Mota Pinto, minha orientadora, pela constante disponibilidade manifestada, pelo empenho no esclarecimento de dúvidas, orientação e correção científica.

À Dr<sup>a</sup> Helena Donato, Diretora do Serviço de Documentação, pela formação na área de Pesquisa Bibliográfica.

À minha família, em especial aos meus Pais, por todo o carinho e apoio, por todo o esforço que têm feito ao longo deste percurso para tornar possível a realização de um sonho.

Aos meus Amigos sempre presentes e atentos, pacientes e compreensivos, pelo apoio e amizade incondicionais e por tornarem cada dia melhor e mais fácil.

E por fim, a todos aqueles que, de alguma forma, me dão força, acreditam em mim e desejam o meu sucesso nesta caminhada.

A todos dedico este trabalho, e por todos trabalho diariamente, para que um dia possa corresponder às expectativas que em mim depositam.

## Referências

1. Coles, L.S., *Demography of human supercentenarians*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2004. **59**(6): p. B579-86.
2. Group, T.L.A.G.R. *Validated supercentenarians*. Available from: <http://www.grg.org/Adams/Tables.htm>.
3. Arias, E., *United States life tables, 2010*. Natl Vital Stat Rep, 2014. **63**(7): p. 1-63.
4. Finch, C.E., H. Beltrán-Sánchez, and E.M. Crimmins, *Uneven futures of human lifespans: reckonings from Gompertz mortality rates, climate change, and air pollution*. Gerontology, 2014. **60**(2): p. 183-8.
5. Goldsmith, T.C., *Aging as an evolved characteristic - Weismann's theory reconsidered*. Med Hypotheses, 2004. **62**(2): p. 304-8.
6. Jin, K., *Modern Biological Theories of Aging*. Aging Dis, 2010. **1**(2): p. 72-74.
7. HAYFLICK, L., *THE LIMITED IN VITRO LIFETIME OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS*. Exp Cell Res, 1965. **37**: p. 614-36.
8. Harley, C.B., A.B. Futcher, and C.W. Greider, *Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts*. Nature, 1990. **345**(6274): p. 458-60.
9. Feng, J., et al., *The RNA component of human telomerase*. Science, 1995. **269**(5228): p. 1236-41.
10. Kenyon, C., et al., *A C. elegans mutant that lives twice as long as wild type*. Nature, 1993. **366**(6454): p. 461-4.
11. Lapasset, L., et al., *Rejuvenating senescent and centenarian human cells by reprogramming through the pluripotent state*. Genes Dev, 2011. **25**(21): p. 2248-53.
12. Gazarian, K.G. and V.Z. Tarantul, *[Elements of the genome regulating structural gene transcription in eukaryotes]*. Ontogenez, 1985. **16**(4): p. 325-45.
13. Skulachev, V.P., *Programmed death phenomena: from organelle to organism*. Ann N Y Acad Sci, 2002. **959**: p. 214-37.
14. van Heemst, D., *Insulin, IGF-1 and longevity*. Aging Dis, 2010. **1**(2): p. 147-57.
15. Atwood, C.S. and R.L. Bowen, *The reproductive-cell cycle theory of aging: an update*. Exp Gerontol, 2011. **46**(2-3): p. 100-7.
16. Rom, O., et al., *Relationship Between History of Smoking, Metabolic and Inflammatory Markers, Parameters of Body Composition and Muscle Strength*. Adv Exp Med Biol, 2014.
17. Lakatta, E.G. and D. Levy, *Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease*. Circulation, 2003. **107**(1): p. 139-46.
18. Nathan, C. and M.U. Shiloh, *Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(16): p. 8841-8.
19. Chistiakov, D.A., et al., *Mitochondrial aging and age-related dysfunction of mitochondria*. Biomed Res Int, 2014. **2014**: p. 238463.
20. Kurz, D.J., et al., *Chronic oxidative stress compromises telomere integrity and accelerates the onset of senescence in human endothelial cells*. J Cell Sci, 2004. **117**(Pt 11): p. 2417-26.
21. Boulanger, E., et al., *[Glycation, glycoxidation and diabetes mellitus]*. Nephrol Ther, 2006. **2 Suppl 1**: p. S8-16.

22. Gupta, S.C., et al., *Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy*. *Antioxid Redox Signal*, 2012. **16**(11): p. 1295-322.
23. Pawelec, G., et al., *Human immunosenescence: is it infectious?* *Immunol Rev*, 2005. **205**: p. 257-68.
24. Fülöp, T., A. Larbi, and G. Pawelec, *Human T cell aging and the impact of persistent viral infections*. *Front Immunol*, 2013. **4**: p. 271.
25. Dai, G., et al., *Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and -resistant regions of human vasculature*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. **101**(41): p. 14871-6.
26. Bokov, A., A. Chaudhuri, and A. Richardson, *The role of oxidative damage and stress in aging*. *Mech Ageing Dev*, 2004. **125**(10-11): p. 811-26.
27. Best, B.P., *Nuclear DNA damage as a direct cause of aging*. *Rejuvenation Res*, 2009. **12**(3): p. 199-208.
28. Cevenini, E., et al., *Age-related inflammation: the contribution of different organs, tissues and systems. How to face it for therapeutic approaches*. *Curr Pharm Des*, 2010. **16**(6): p. 609-18.
29. Crimmins, E.M. and C.E. Finch, *Infection, inflammation, height, and longevity*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. **103**(2): p. 498-503.
30. Beckman, K.B. and B.N. Ames, *The free radical theory of aging matures*. *Physiol Rev*, 1998. **78**(2): p. 547-81.
31. ROE, C.F. and J.M. KINNEY, *THE CALORIC EQUIVALENT OF FEVER. II. INFLUENCE OF MAJOR TRAUMA*. *Ann Surg*, 1965. **161**: p. 140-7.
32. Sohal, R.S. and R. Weindruch, *Oxidative stress, caloric restriction, and aging*. *Science*, 1996. **273**(5271): p. 59-63.
33. Gugliucci, A. and M. Bendayan, *Renal fate of circulating advanced glycated end products (AGE): evidence for reabsorption and catabolism of AGE-peptides by renal proximal tubular cells*. *Diabetologia*, 1996. **39**(2): p. 149-60.
34. Cieslik, K.A., et al., *Adverse fibrosis in the aging heart depends on signaling between myeloid and mesenchymal cells; role of inflammatory fibroblasts*. *J Mol Cell Cardiol*, 2014. **70**: p. 56-63.
35. Hecker, L., et al., *Reversal of persistent fibrosis in aging by targeting Nox4-Nrf2 redox imbalance*. *Sci Transl Med*, 2014. **6**(231): p. 231ra47.
36. Herrera, L.A., et al., *Role of infectious diseases in human carcinogenesis*. *Environ Mol Mutagen*, 2005. **45**(2-3): p. 284-303.
37. Sarkar, D. and P.B. Fisher, *Molecular mechanisms of aging-associated inflammation*. *Cancer Lett*, 2006. **236**(1): p. 13-23.
38. Sparmann, A. and D. Bar-Sagi, *Ras-induced interleukin-8 expression plays a critical role in tumor growth and angiogenesis*. *Cancer Cell*, 2004. **6**(5): p. 447-58.
39. Lee, C.K., R. Weindruch, and T.A. Prolla, *Gene-expression profile of the ageing brain in mice*. *Nat Genet*, 2000. **25**(3): p. 294-7.
40. Terao, A., et al., *Age-related changes in histamine receptor mRNA levels in the mouse brain*. *Neurosci Lett*, 2004. **355**(1-2): p. 81-4.
41. Cao, S.X., et al., *Genomic profiling of short- and long-term caloric restriction effects in the liver of aging mice*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(19): p. 10630-5.
42. Bronikowski, A.M., et al., *Lifelong voluntary exercise in the mouse prevents age-related alterations in gene expression in the heart*. *Physiol Genomics*, 2003. **12**(2): p. 129-38.

43. Blalock, E.M., et al., *Incipient Alzheimer's disease: microarray correlation analyses reveal major transcriptional and tumor suppressor responses*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(7): p. 2173-8.
44. Lee, C.K., et al., *Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction*. Science, 1999. **285**(5432): p. 1390-3.
45. Csiszar, A., et al., *Proinflammatory phenotype of coronary arteries promotes endothelial apoptosis in aging*. Physiol Genomics, 2004. **17**(1): p. 21-30.
46. Godbout, J.P. and R.W. Johnson, *Interleukin-6 in the aging brain*. J Neuroimmunol, 2004. **147**(1-2): p. 141-4.
47. Merideth, M.A., et al., *Phenotype and course of Hutchinson-Gilford progeria syndrome*. N Engl J Med, 2008. **358**(6): p. 592-604.
48. Vilenchik, M.M. and A.G. Knudson, *Inverse radiation dose-rate effects on somatic and germ-line mutations and DNA damage rates*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(10): p. 5381-6.
49. Ye, D., et al., *The dynamics of macrophage infiltration into the arterial wall during atherosclerotic lesion development in low-density lipoprotein receptor knockout mice*. Am J Pathol, 2011. **178**(1): p. 413-22.
50. Rubinstein, A., *Advances in antiretroviral, immune-based, and gene therapy for HIV infection in mothers and infants. Implications for future use in developing countries*. Ann N Y Acad Sci, 2000. **918**: p. 27-35.
51. Kalinkovich, A., et al., *Decreased CD4 and increased CD8 counts with T cell activation is associated with chronic helminth infection*. Clin Exp Immunol, 1998. **114**(3): p. 414-21.
52. Cong, Y.S., W.E. Wright, and J.W. Shay, *Human telomerase and its regulation*. Microbiol Mol Biol Rev, 2002. **66**(3): p. 407-25, table of contents.
53. Mikhelson, V.M. and I.A. Gamaley, *Telomere shortening is a sole mechanism of aging in mammals*. Curr Aging Sci, 2012. **5**(3): p. 203-8.
54. Minamino, T. and I. Komuro, *Role of telomeres in vascular senescence*. Front Biosci, 2008. **13**: p. 2971-9.
55. Blasco, M.A., et al., *Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA*. Cell, 1997. **91**(1): p. 25-34.
56. Valdes, A.M., et al., *Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women*. Lancet, 2005. **366**(9486): p. 662-4.
57. Higashi, N., et al., *Cytokine expression of skin T-lymphocytes from patients with atopic dermatitis*. Acta Derm Venereol, 2001. **81**(1): p. 3-7.
58. Wu, K., et al., *Telomerase activity is increased and telomere length shortened in T cells from blood of patients with atopic dermatitis and psoriasis*. J Immunol, 2000. **165**(8): p. 4742-7.
59. Epel, E.S., et al., *Accelerated telomere shortening in response to life stress*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(49): p. 17312-5.
60. Cawthon, R.M., et al., *Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older*. Lancet, 2003. **361**(9355): p. 393-5.
61. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, *Hallmarks of cancer: the next generation*. Cell, 2011. **144**(5): p. 646-74.
62. Bodnar, A.G., et al., *Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells*. Science, 1998. **279**(5349): p. 349-52.
63. de Magalhães, J.P. and O. Toussaint, *Telomeres and telomerase: a modern fountain of youth?* Rejuvenation Res, 2004. **7**(2): p. 126-33.

64. Atzmon, G., et al., *Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Genetic variation in human telomerase is associated with telomere length in Ashkenazi centenarians*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107 Suppl 1**: p. 1710-7.
65. Gavrilov, L.A. and N.S. Gavrilova, *The reliability theory of aging and longevity*. J Theor Biol, 2001. **213**(4): p. 527-45.
66. Mao, L., et al., *Aging in mouse brain is a cell/tissue-level phenomenon exacerbated by proteasome loss*. J Proteome Res, 2010. **9**(7): p. 3551-60.
67. Hay, N. and N. Sonenberg, *Upstream and downstream of mTOR*. Genes Dev, 2004. **18**(16): p. 1926-45.
68. Beevers, C.S., et al., *Curcumin inhibits the mammalian target of rapamycin-mediated signaling pathways in cancer cells*. Int J Cancer, 2006. **119**(4): p. 757-64.
69. Fontana, L., L. Partridge, and V.D. Longo, *Extending healthy life span--from yeast to humans*. Science, 2010. **328**(5976): p. 321-6.
70. Johnson, S.C., P.S. Rabinovitch, and M. Kaeberlein, *mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease*. Nature, 2013. **493**(7432): p. 338-45.
71. Kirkwood, T.L., P. Kapahi, and D.P. Shanley, *Evolution, stress, and longevity*. J Anat, 2000. **197 Pt 4**: p. 587-90.
72. Kirkwood, T.B., et al., *What accounts for the wide variation in life span of genetically identical organisms reared in a constant environment?* Mech Ageing Dev, 2005. **126**(3): p. 439-43.
73. Finch, C.E. and R.E. Tanzi, *Genetics of aging*. Science, 1997. **278**(5337): p. 407-11.
74. Fraga, M.F., et al., *Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(30): p. 10604-9.
75. Busuttill, R., R. Bahar, and J. Vijg, *Genome dynamics and transcriptional deregulation in aging*. Neuroscience, 2007. **145**(4): p. 1341-7.
76. Strehler, B.L., *Genetic instability as the primary cause of human aging*. Exp Gerontol, 1986. **21**(4-5): p. 283-319.
77. Mathers, C.D., et al., *Healthy life expectancy: comparison of OECD countries in 2001*. Aust N Z J Public Health, 2003. **27**(1): p. 5-11.
78. Luy, M. and Y. Minagawa, *Gender gaps-Life expectancy and proportion of life in poor health*. Health Rep, 2014. **25**(12): p. 12-9.
79. Carrel, L. and H.F. Willard, *X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females*. Nature, 2005. **434**(7031): p. 400-4.
80. Rodrigues, V., et al., *The aging profile of the Portuguese population: a principal component analysis*. J Community Health, 2014. **39**(4): p. 747-52.
81. Gustafson, D., et al., *An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease*. Arch Intern Med, 2003. **163**(13): p. 1524-8.
82. Tabet, N., *Obesity in middle age and future risk of dementia: dietary fat and sugar may hold the clue*. BMJ, 2005. **331**(7514): p. 454-5; author reply 455.
83. Scarmeas, N., et al., *Mediterranean diet, Alzheimer disease, and vascular mediation*. Arch Neurol, 2006. **63**(12): p. 1709-17.
84. Hukshorn, C.J., et al., *Leptin and the proinflammatory state associated with human obesity*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(4): p. 1773-8.
85. De Loera-Rodriguez, C.O., et al., *Over-expression of TLR4-CD14, pro-inflammatory cytokines, metabolic markers and NEFAs in obese non-diabetic Mexicans*. J Inflamm (Lond), 2014. **11**(1): p. 39.
86. Shamsuzzaman, A.S., et al., *Independent association between plasma leptin and C-reactive protein in healthy humans*. Circulation, 2004. **109**(18): p. 2181-5.

87. Couillard, C., et al., *Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity*. J Clin Endocrinol Metab, 2005. **90**(12): p. 6454-9.
88. Yesilbursa, D., et al., *Lipid peroxides in obese patients and effects of weight loss with orlistat on lipid peroxides levels*. Int J Obes (Lond), 2005. **29**(1): p. 142-5.
89. Dobrian, A.D., et al., *Pioglitazone prevents hypertension and reduces oxidative stress in diet-induced obesity*. Hypertension, 2004. **43**(1): p. 48-56.
90. Caldefie-Chezet, F., et al., *Leptin: a potential regulator of polymorphonuclear neutrophil bactericidal action?* J Leukoc Biol, 2001. **69**(3): p. 414-8.
91. Furukawa, S., et al., *Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome*. J Clin Invest, 2004. **114**(12): p. 1752-61.
92. Wang, X., et al., *Metabolic triggered inflammation in osteoarthritis*. Osteoarthritis Cartilage, 2014.
93. Loeser, R.F., *Aging cartilage and osteoarthritis--what's the link?* Sci Aging Knowledge Environ, 2004. **2004**(29): p. pe31.
94. Stürmer, T., et al., *Severity and extent of osteoarthritis and low grade systemic inflammation as assessed by high sensitivity C reactive protein*. Ann Rheum Dis, 2004. **63**(2): p. 200-5.
95. Rübénhagen, R., et al., *Interleukin-7 levels in synovial fluid increase with age and MMP-1 levels decrease with progression of osteoarthritis*. Acta Orthop, 2012. **83**(1): p. 59-64.
96. Bracci, P.M., *Obesity and pancreatic cancer: overview of epidemiologic evidence and biologic mechanisms*. Mol Carcinog, 2012. **51**(1): p. 53-63.
97. MacInnis, R.J. and D.R. English, *Body size and composition and prostate cancer risk: systematic review and meta-regression analysis*. Cancer Causes Control, 2006. **17**(8): p. 989-1003.
98. Ricciardi, E., et al., *Clinical factors and malignancy in endometrial polyps. Analysis of 1027 cases*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2014. **183**: p. 121-4.
99. Langheinrich, A.C. and R.M. Bohle, *Atherosclerosis: humoral and cellular factors of inflammation*. Virchows Arch, 2005. **446**(2): p. 101-11.
100. Nagayama, M., et al., *Age-dependent increase in ischemic brain injury in wild-type mice and in mice lacking the inducible nitric oxide synthase gene*. J Cereb Blood Flow Metab, 1999. **19**(6): p. 661-6.
101. D'Armiento, F.P., et al., *Age-related effects on atherogenesis and scavenger enzymes of intracranial and extracranial arteries in men without classic risk factors for atherosclerosis*. Stroke, 2001. **32**(11): p. 2472-9.
102. Martins, R.A., et al., *Glycated hemoglobin and associated risk factors in older adults*. Cardiovasc Diabetol, 2012. **11**: p. 13.
103. Fornieri, C., D. Quaglino, and G. Mori, *Role of the extracellular matrix in age-related modifications of the rat aorta. Ultrastructural, morphometric, and enzymatic evaluations*. Arterioscler Thromb, 1992. **12**(9): p. 1008-16.
104. Pu, Y., et al., *Relationship between leukoaraiosis and cerebral large artery stenosis*. Neurol Res, 2009. **31**(4): p. 376-80.
105. Spronck, B., et al., *A constitutive modeling interpretation of the relationship between carotid artery stiffness, blood pressure and age in hypertensive subjects*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014: p. ajpheart.00290.2014.
106. Sutton-Tyrrell, K., et al., *Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults*. Circulation, 2005. **111**(25): p. 3384-90.

107. McCarty, M.F., *Optimizing endothelial nitric oxide activity may slow endothelial aging*. Med Hypotheses, 2004. **63**(4): p. 719-23.
108. Hamilton, M.L., et al., *Does oxidative damage to DNA increase with age?* Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(18): p. 10469-74.
109. Wilson, C.J., C.E. Finch, and H.J. Cohen, *Cytokines and cognition--the case for a head-to-toe inflammatory paradigm*. J Am Geriatr Soc, 2002. **50**(12): p. 2041-56.
110. Xie, F., et al., *Age-related decline of myelin proteins is highly correlated with activation of astrocytes and microglia in the rat CNS*. Int J Mol Med, 2013. **32**(5): p. 1021-8.
111. Zanjani, H., et al., *Complement activation in very early Alzheimer disease*. Alzheimer Dis Assoc Disord, 2005. **19**(2): p. 55-66.
112. Fiala, M., et al., *Amyloid-beta induces chemokine secretion and monocyte migration across a human blood--brain barrier model*. Mol Med, 1998. **4**(7): p. 480-9.
113. Alley, D.E., et al., *Inflammation and rate of cognitive change in high-functioning older adults*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2008. **63**(1): p. 50-5.
114. Yaffe, K., et al., *Inflammatory markers and cognition in well-functioning African-American and white elders*. Neurology, 2003. **61**(1): p. 76-80.
115. Tilvis, R.S., et al., *Predictors of cognitive decline and mortality of aged people over a 10-year period*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2004. **59**(3): p. 268-74.
116. Schenk, C., T. Wuerz, and A.J. Lerner, *Small vessel disease and memory loss: what the clinician needs to know to preserve patients' brain health*. Curr Cardiol Rep, 2013. **15**(12): p. 427.
117. Grueter, B.E. and U.G. Schulz, *Age-related cerebral white matter disease (leukoaraiosis): a review*. Postgrad Med J, 2012. **88**(1036): p. 79-87.
118. DeBette, S. and H.S. Markus, *The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review and meta-analysis*. BMJ, 2010. **341**: p. c3666.
119. Helenius, J. and T. Tatlisumak, *Treatment of leukoaraiosis: a futuristic view*. Curr Drug Targets, 2007. **8**(7): p. 839-45.
120. Criqui, M.H., et al., *Peripheral arterial disease in large vessels is epidemiologically distinct from small vessel disease. An analysis of risk factors*. Am J Epidemiol, 1989. **129**(6): p. 1110-9.
121. Thein, S.S., et al., *Leukoaraiosis as a predictor for mortality and morbidity after an acute ischaemic stroke*. Singapore Med J, 2007. **48**(5): p. 396-9.
122. Uh, J., et al., *In vivo vascular hallmarks of diffuse leukoaraiosis*. J Magn Reson Imaging, 2010. **32**(1): p. 184-90.
123. Hassan, A., et al., *Homocysteine is a risk factor for cerebral small vessel disease, acting via endothelial dysfunction*. Brain, 2004. **127**(Pt 1): p. 212-9.
124. Putaala, J., et al., *Silent brain infarcts and leukoaraiosis in young adults with first-ever ischemic stroke*. Neurology, 2009. **72**(21): p. 1823-9.
125. Wright, C.B., et al., *Inflammatory biomarkers of vascular risk as correlates of leukoaraiosis*. Stroke, 2009. **40**(11): p. 3466-71.
126. Park, K., et al., *Significant association between leukoaraiosis and metabolic syndrome in healthy subjects*. Neurology, 2007. **69**(10): p. 974-8.
127. Amano, T., et al., *Stable xenon CT cerebral blood flow measurements computed by a single compartment--double integration model in normal aging and dementia*. J Comput Assist Tomogr, 1982. **6**(5): p. 923-32.