

## ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΙΚΗ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΙΑ

### Δ. ΚΛΕΤΣΑΣ

Η άθληση, στην οποία αναφέρεται η έκδοση αυτή, είναι μία μορφή στρες, αφού προκαλεί από μηχανικές καταπονήσεις έως βιοχημικές αλλαγές (όπως η παραγωγή ελευθέρων ριζών), που θεωρούνται επιβλαβείς για τον οργανισμό. Παράλληλα όμως, η άθληση είναι μία ευεργετική διαδικασία τόσο για τη διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού, αλλά και για την καθυστέρηση της διαδικασίας της γήρανσης και της εμφάνισης ηλικιο-εξαρτώμενων ασθενειών. Με αυτό το παράδοξο θα ασχοληθεί το κείμενο αυτό. Εξαρχής αναφέρουμε ότι θα βασιστούμε στην υπόθεση ότι, σε αντίθεση με την καταστροφική επίδραση του έντονου στρες, ήπιο επαναλαμβανόμενο στρες μπορεί να έχει ευεργετικές συνέπειες για τον οργανισμό, παρότι οι μοριακοί μηχανισμοί που διέπουν το φαινόμενο αυτό είναι ακόμη υπό διερεύνηση. Συγκεκριμένα, θα αναφερθούμε σε δύο παραδείγματα από πρόσφατα ευρήματά μας. Πρώτον, θα περιγραφεί ο μοριακός μηχανισμός μέσω του οποίου μικρής έντασης μηχανικές δυνάμεις μπορούν να προωθήσουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστικών κυττάρων. Δεύτερον, θα δειχθεί, χρησιμοποιώντας το μοντέλο των δερματικών ινοβλαστών, πως η ήπια υπερέκκριση κορτιζόλης, μία από τις βασικές ορμονικές αποκρίσεις στο στρες, μπορεί να έχει όχι μόνο ευεργετικές συνέπειες στην ομοιοστασία, αλλά και αντιγηρατικά αποτελέσματα. Τέλος, θα αναφερθεί η θεωρία που προσπαθεί να εξηγήσει την ευεργετική επίδραση του ήπιου στρες.

### Μηχανικό στρες και οστεοβλαστική ομοιοστασία

Παρά το γεγονός ότι έντονες μηχανικές καταπονήσεις μπορούν να επιφέρουν σημαντικούς τραυματισμούς, είναι γνωστό ότι η συνεχής έκθεση σε μηχανικές δυνάμεις είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ομοιοστασίας του σκελετού. Για παράδειγμα, αναφέρεται ότι η οστική μάζα μειώνεται μετά από μακροχρόνια κατάκλιση, ενώ αυξάνει μετά από παρατεταμένη άσκηση<sup>17</sup>. Η οστεογένεση απαιτεί τον αυστηρότατο έλεγχο του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Οι ακριβείς μηχανισμοί, όμως, που καθορίζουν τη μετατροπή των μηχανικών δυνάμεων σε βιοχημικές αποκρίσεις και τελικά σε εξειδικευμένη γονιδιακή έκφραση παραμένουν ακόμη ασαφείς.

Μεταξύ των κύριων ρυθμιστών της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης, είναι δύο σημαντικοί μεταγραφικοί παράγοντες: ο Cbfa1 (core-binding factor)<sup>7</sup>, ο οποίος προσδέεται στην περιοχή OSE2 (osteoblast-specific element) του προαγωγού (promoter) των κυριότερων «οστεοβλαστικών» γονιδίων (όπως οστεοκαλσίνη, κολλαγόνο τύπου I, αλκαλική φωσφατάση και κολλαγενάση 3)<sup>7,12,13,36</sup> και ο AP-1 (activating protein-1), ο οποίος ενέχεται στη ρύθμιση των ίδιων «οστεοβλαστικών» γονιδίων με τον Cbfa1<sup>9</sup>.

Ο AP-1 είναι ένα ομο-/ετεροδιμερές σύμπλοκο, που σχηματίζεται από μέλη των οικογενειών μεταγραφικών παραγόντων Fos και Jun και ρυθμίζει τη γονιδιακή μεταγραφή προσδεδεμένος σε ειδικές περιοχές που ονομάζονται TREs (TPA-responsive elements)<sup>33</sup>. Ο AP-1 είναι επίσης ένας σημαντικός διαμεσολαβητής της άμεσης κυτταρικής απόκρισης σε εξωτερικά ερεθίσματα<sup>14</sup>. Αμέσως μετά την ενεργοποίηση από ένα πλήθος ερεθισμάτων (αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες, ορμόνες, έως ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία) αυξάνει η έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες των οικογενειών Fos και Jun, οι οποίες στη συνέχεια υπόκεινται σε μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις - κυρίως φωσφορυλίωση- απαραίτητες για το σχηματισμό του συμπλόκου AP-1<sup>14</sup>. Από τα ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια (signaling pathways), που αποκρίνονται σε εξωτερικά ερεθίσματα και οδηγούν σε φωσφορυλίωση/ενεργοποίηση του AP-1, πιο σημαντικά είναι τα μονοπάτια της οικογένειας των MAPK (mitogen-activated protein kinases), δηλαδή οι ERK (extracellular signal-regulated kinases), οι JNK (c-Jun N-terminal kinases) και η p38<sup>29</sup>.

Στην προσπάθεια να κατανοήσουμε τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν την ευεργετική επίδραση χαμηλής έντασης μηχανικών δυνάμεων, υποβάλαμε κύτταρα με οστεοβλαστικά χαρακτηριστικά σε στατική μηχανική διάταση (static mechanical stretching)<sup>2</sup>. Μελετήθηκε αρχικά το αποτέλεσμα της εφαρμογής αυτής της ήπιας στατικής μηχανικής διάτασης σε ένα ιδιαίτερα σύνθετο φαινόμενο, τη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Έτσι, τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε διάταση για διάφορα χρονικά διαστήματα από 1 έως 6 ώρες και στη συνέχεια αφέθηκαν σε ηρεμία και μετά από πάροδο 48 ωρών μετρήθηκε η σύνθεση DNA (ως προαπαιτούμενο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού). Οι μετρήσεις έδειξαν ότι ακόμη και μετά από διάταση μίας ώρας παρατηρείται σημαντική διέγερση του πολλαπλασιασμού, η οποία γίνεται πιο έντονη μετά από παρατεταμένη διάταση<sup>15</sup>. Επιπλέον, δείξαμε -σε αντίθεση με ευρήματα από άλλους κυτταρικούς τύπους, όπως λεία μυϊκά κύτταρα- ότι αυτή η διέγερση του πολλαπλασιασμού είναι άμεση και δεν οφείλεται στην έκκριση αυτοκρινών αυξητικών παραγόντων.

Στη συνέχεια εξετάσαμε την επίδραση της μηχανικής διάτασης επί της ενεργοποίησης ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών και των μεταγραφικών παραγόντων AP-1 και Cbfa1. Έτσι, συλλέχθηκαν λύματα κυττάρων που υποβλήθηκαν σε διάταση και μελετήθηκαν με διάφορες βιοχημικές δοκιμασίες (όπως Western analysis, Northern analysis, in-gel kinase assay, electrophoretic mobility shift assay και immunoprecipitations). Με τη χρήση των τεχνικών αυτών, δείξαμε ότι μέλη των οικο-

γενειών των Rho και MAP κινασών ενεργοποιούνται ταχύτατα μετά από την εφαρμογή μηχανικής διάτασης<sup>2,36</sup>. Επίσης, παρατηρήσαμε μία έντονη διέγερση της έκφρασης των πρωτεϊνών c-Jun και c-Fos, των μορίων δηλαδή που σχηματίζουν το σύμπλεγμα AP-1, μόλις 30min μετά την εφαρμογή της διάτασης<sup>16</sup>. Για να διερευνήσουμε τη σχέση των φαινομένων αυτών χρησιμοποιήσαμε ειδικούς αναστολείς σηματοδοτικών κινασών και διαπιστώσαμε ότι η έκφραση των πρωτεϊνών c-Jun και c-Fos είναι αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των Rho και MAP κινασών<sup>16</sup>. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι ο Cbfa1 μπορεί να ενεργοποιηθεί μέσω φωσφορυλίωσης από τις ενεργοποιημένες από τη διάταση ERK. Τέλος, η διάταση προκαλεί πρόσδεση του Cbfa1 στο DNA και συγκεκριμένα στην περιοχή OSE2, η οποία όπως ήδη αναφέρθηκε βρίσκεται στην περιοχή του προαγωγού των κυριότερων «οστεοβλαστικών» γονιδίων, γεγονός απαραίτητο για την ενεργοποίηση των γονιδίων αυτών. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι μετά από μηχανική διέγερση και ο AP-1 προσδένεται στον προαγωγό του γονιδίου της αλκαλικής φωσφατάσης<sup>25</sup>.

Τα αποτελέσματά μας λοιπόν δείχνουν ότι η εφαρμογή ήπιων μηχανικών δυνάμεων μπορεί να οδηγήσει σε άμεση ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών και μεταγραφικών παραγόντων, σε διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης, με τελικό αποτέλεσμα την ευεργετική ρύθμιση της ομοιοστασίας του οστού.

### **Ο μη-αναμενόμενος αναβολικός φαινότυπος των δερματικών ινοβλαστών από ασθενείς με σύνδρομο Cushing**

Μία από τις σημαντικότερες αποκρίσεις στο στρες είναι η υπερέκκριση κορτιζόλης. Ενώ, όμως, βραχυχρόνια υπερέκκριση παίζει έναν προστατευτικό ρόλο, χρόνια έκθεση σε υψηλά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών -είτε εξωγενώς στο πλαίσιο θεραπευτικών σχημάτων, είτε ενδογενώς λόγω μακροχρόνιου στρες- είναι υπεύθυνη για μια σειρά παρενεργειών σε διάφορους κυτταρικούς τύπους<sup>3,4,20</sup>. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι τα γλυκοκορτικοειδή μπορούν να επιταχύνουν τη διαδικασία της γήρανσης<sup>31</sup>. Το δέρμα αποτελεί έναν από τους ιστούς που κατεξοχήν επηρεάζεται από τα υψηλά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών, που οδηγούν σε ατροφία και προβληματική επούλωση πληγών<sup>3,21</sup>, παρόμοια με την κατάσταση του γηρασμένου δέρματος. Αυτές οι επιβλαβείς συνέπειες των γλυκοκορτικοειδών στο δέρμα είναι κυρίως αποτέλεσμα της δράσης τους επί των δερματικών ινοβλαστών. Συγκεκριμένα, έχει δειχθεί ότι τα γλυκοκορτικοειδή εξασκούν σημαντικές αλλαγές σε διάφορες παραμέτρους της ομοιοστασίας της εξωκυττά-

ριας μήτρας, όπως η αναστολή σύνθεσης κολλαγόνου και η αλλαγή της έκφρασης διαφόρων μεταλλοπρωτεϊνών, με τελικό αποτέλεσμα τη μείωση της ποσότητας κολλαγόνου<sup>1,22,32</sup>. Γενικά, αυξημένες (φαρμακολογικές) δόσεις γλυκοκορτικοειδών επάγουν έναν «καταβολικό» φαινότυπο στους δερματικούς ινοβλάστες, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*.

Το σύνδρομο Cushing είναι μία σπάνια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από υπερέκκριση κορτιζόλης<sup>23</sup>. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν ατροφικό δέρμα και προβληματική επούλωση πληγών. Έτσι, οι δερματικές ινοβλάστες των ασθενών αυτών αποτελούν ένα κατάλληλο μοντέλο για τη μελέτη *in vitro* της μακροχρόνιας επίδρασης αυξημένων, αλλά μη-φαρμακολογικών, επιπέδων κορτιζόλης και μάλιστα απουσία εξωγενούς στρες ή άλλης παθογένειας που θα μπορούσε να επηρεάσει τη λειτουργία των κυττάρων. Σε μία προσπάθεια να κατανοήσουμε κατά πόσο αυτή η μακροχρόνια έκθεση μπορεί να επηρεάσει -θετικά ή αρνητικά- διάφορες παραμέτρους της ιστικής ομοιοστασίας, απομονώσαμε δερματικούς ινοβλάστες από ασθενείς με σύνδρομο Cushing και από φυσιολογικούς δότες-μάρτυρες και μελετήσαμε τα λειτουργικά τους χαρακτηριστικά *in vitro* υπό τις κλασικές συνθήκες καλλιέργειας και απουσία κορτιζόλης.

Αρχικά διαπιστώσαμε ότι όταν τα κύτταρα των ασθενών απομακρυνθούν από περιβάλλον πλούσιο σε κορτιζόλη επαναφέρουν τη σύνθεση κολλαγόνου στα φυσιολογικά επίπεδα. Επιπλέον, υπό τις συνθήκες αυτές τα κύτταρα εκκρίνουν χαμηλότερα επίπεδα μεταλλοπρωτεασών MMP-1 και MMP-2<sup>35</sup>. Στη συνέχεια, διαπιστώθηκε ότι τα κύτταρα των ασθενών πολλαπλασιάζονται πολύ πιο γρήγορα και φθάνουν σε υψηλές τελικές κυτταρικές συγκεντρώσεις. Τέλος, μελετήθηκε μία σημαντική παράμετρος τόσο της ομοιοστασίας του δέρματος όσο και της διαδικασίας της επούλωσης της πληγής, η ικανότητα συστολής (contraction). Τα γλυκοκορτικοειδή είναι γνωστό ότι παρεμποδίζουν τη συστολή, καθυστερώντας τη διαδικασία της επούλωσης<sup>6</sup>. Αντίθετα, τα κύτταρα των ασθενών απουσία κορτιζόλης παρουσιάζουν αυξημένη ικανότητα συστολής<sup>35</sup>. Αυτός ο «αναβολικός» φαινότυπος βρίσκεται σε πλήρη αντίθεση με την καταβολική δράση των γλυκοκορτικοειδών και υποδεικνύει ότι μακροχρόνια έκθεση σε αυξημένες, αλλά μη-φαρμακολογικές, δόσεις κορτιζόλης δε συνδέεται με μόνιμες δυσμενείς επιπτώσεις στη λειτουργία των κυττάρων αυτών.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, το δέρμα των ασθενών με σύνδρομο Cushing μοιάζει με αυτό των ηλικιωμένων ατόμων. Έτσι, μελετήσαμε το εύρος ζωής (*in vitro* lifespan) των δερματικών ινοβλαστών των ασθενών αυτών και απροσδόκητα βρέθηκε ότι είχαν κατά περίπου 40% επέκταση του εύρους ζωής τους, σε σύγκριση με

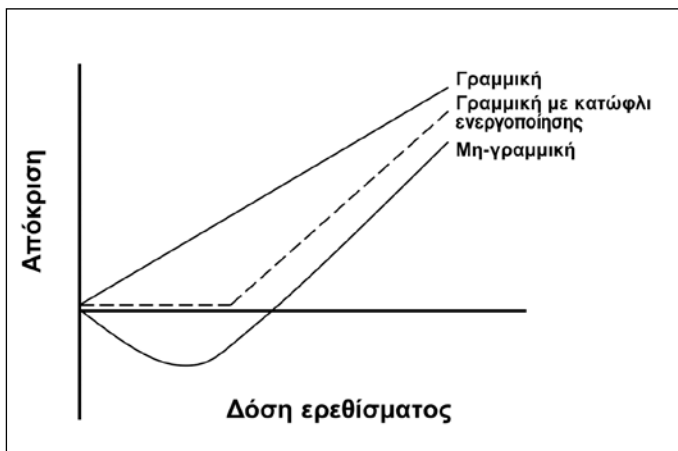
κύτταρα από φυσιολογικούς δότες<sup>26</sup>. Δεδομένου ότι η μακροβιότητα συνδέεται με αντίσταση στο στρες, μελετήσαμε τις πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Heat Shock Proteins - HSPs), που μειώνονται σημαντικά τόσο κατά την *in vivo* όσο και την *in vitro* γήρανση<sup>11</sup>. Βρήκαμε ότι τα κύτταρα των ασθενών έχουν κατά τι μικρότερα επίπεδα της HSP70, σε σχέση με τα κύτταρα των μαρτύρων. Όταν όμως διεγερθούν με ένα γνωστό στρες, το αρσενικό νάτριο, η αύξηση της HSP70 είναι υπερδιπλάσια εκείνης των κυττάρων των ασθενών<sup>26</sup>. Η έντονη αυτή απόκριση είναι σε άμεση συμφωνία με το αυξημένο εύρος ζωής των κυττάρων αυτών.

Τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι μία ήπια υπερέκκριση κορτιζόλης -ενός από τους βασικούς μεσολαβητές του στρες- μπορεί σε κυτταρικό επίπεδο να έχει ευεργετικά αποτελέσματα, επάγοντας έναν «αναβολικό» φαινότυπο και επεκτείνοντας το εύρος ζωής τους *in vitro*.

Τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν ήταν σίγουρα απροσδόκητα, όμως έχουν αναφερθεί αντίστοιχα παραδείγματα, με σημαντικότερο τα τρωκτικά που υπόκεινται σε δίαιτα χαμηλών θερμίδων (calorie-restricted animals). Είναι γνωστό ότι η μείωση των θερμίδων αυξάνει τη μακροβιότητα, καθυστερεί τις ηλικιο-εξαρτώμενες παθήσεις και βελτιώνει την επούλωση<sup>18</sup>. Επίσης, τα κύτταρα των ζώων αυτών παρουσιάζουν σαφώς πιο έντονο πολλαπλασιασμό και εύρος ζωής *in vitro*<sup>24,28,34</sup>. Είναι ενδιαφέρον ότι, σε αντιστοιχία με το σύνδρομο Cushing, τα ζώα αυτά παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών<sup>30</sup>. Στην ίδια κατεύθυνση βρίσκεται και η άθληση. Ενώ αποτελεί σαφώς ένα στρες για τον οργανισμό<sup>27</sup>, έχει μακροχρόνια σαφώς ευεργετικά αποτελέσματα. Και σε αυτήν την περίπτωση, οι αθλητές έχουν υψηλότερα επίπεδα κορτιζόλης από μη-αθλούμενους<sup>10</sup>.

## Συμπέρασμα

Τα παραδείγματα που αναφέρθηκαν στο άρθρο αυτό εντάσσονται στο ευρύτερο πλαίσιο της θεωρίας που ονομάστηκε "hormesis". Σύμφωνα με αυτήν, επαναλαμβανόμενα ήπια στρες (όπως π.χ. το ήπιο θερμικό στρες ή χαμηλές δόσεις τοξινών, ραδιενέργειας ή καρκινογόνων) ενεργοποιούν την αντίσταση του οργανισμού, με μακροχρόνια θετικά αποτελέσματα για την ομοιοστασία και τη μακροβιότητα<sup>5,19,27</sup>. Τα ανωτέρω υπαγορεύουν μία νέα προσέγγιση στη σχέση ανάμεσα στη δόση ενός στρες και στην απόκριση του οργανισμού. Ενώ οι περισσότερες αναλύσεις γίνονται στη βάση μίας γραμμικής απόκρισης (linear response) ή μίας γραμμικής απόκρισης με κατώφλι ενεργοποίησης (linear response with threshold), αναδεικνύεται και μία τρίτη μορφή απόκρισης, η μη-γραμμική (non-linear response), όπου η έκθεση σε πολύ χαμηλές δόσεις στρες μπορεί να έχει



**Εικόνα 1.** Τρεις τύποι απόκρισης στο στρες: γραμμική, γραμμική με κατώφλι ενεργοποίησης και μη-γραμμική.

τα αντίθετα, δηλαδή θετικά, αποτελέσματα (εικόνα 1). Η ανάλυση αυτή μπορεί να οδηγήσει μελλοντικά σε νέες θεραπευτικές παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση εκφυλιστικών ασθενειών, χωρίς τις γνωστές φαρμακολογικές παρενέργειες, αλλά και σε αλλαγή διαφόρων παραμέτρων του τρόπου ζωής.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Autio P, Oikarinen A, Melkko J, Risteli J, and Risteli L. Systemic glucocorticoids decrease the synthesis of type I and type III collagen in human skin in vivo, whereas isotretinoin treatment has little effect. *Brit J Dermatol* 1994; 131:660-663.
- Basdra EK, Papavassiliou AG, Huber LA. Rab and rho GTPases are involved in specific response of periodontal ligament fibroblasts to mechanical stretching. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1268:209-213.
- Boscaro M, Barzon L, Fallo F, Sonino N. Cushing's syndrome. *Lancet* 2001; 357:783-791.
- Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL, Cupps TR, and Balow JE. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. *Ann Intern Med* 1993; 119:1198-1208.
- Calabrese EJ, Baldwin LA. Tales of two similar hypotheses: the rise and fall of chemical and radiation hormesis. *Hum Exp Toxicol* 2000; 19: 85-97.
- Coulomb B, Dubertret L, Bell E, and Touraine R. The contractility of fibroblasts in a collagen lattice is reduced by corticosteroids. *J Invest Dermatol* 1984; 82:341-344.
- Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; 89:747-754.
- Duncan RL, Hruska KA. Chronic, intermittent loading alters mechanosensitive channel characteristics in osteoblast-like cells. *Am J Physiol* 1994; 267:F909-F916.
- Franceschi RT. The developmental control of osteoblast-specific gene expression: role of specific transcription factors and the extracellular matrix environment. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10:40-57.
- Grasso G, Lodi L, Lupo C, Muscettola M. Glucocorticoid receptors in human peripheral blood mononuclear cells in relation to age and to sport activity. *Life Sci* 1977; 61:301-308.
- Gutsmann-Conrad A, Heydari AR, You S, Richardson A. The expression of heat shock protein 70 decreases with cellular senescence in vitro and in cells derived from young and old human subjects. *Exp Cell Res* 1998; 241:404-413.
- Harada H, Tagashira S, Fujiwara M, Ogawa S, Katsumata T, Yamaguchi A, Komori T, Nakatsuka M. *Cbfa1* isoforms exert functional differences in osteoblast differentiation. *J Biol Chem* 1999; 274:6972-6978.
- Jimenez MJ, Balbin M, Lopez JM, Alvarez J, Komori T, Lopez-Otin C. Collagenase 3 is a target of *Cbfa1*, a transcription factor of the runt gene family involved in bone formation. *Mol Cell Biol* 1999; 19:4431-4442.
- Karin M, Liu Z, Zandi E. AP-1 function and regulation. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9:240-246.
- Kletsas D, Basdra EK, Papavassiliou AG. Mechanical stress induces DNA synthesis in PDL fibroblasts by a mechanism unrelated to autocrine growth factor action. *FEBS Lett* 1998; 430:358-362.
- Kletsas D, Basdra EK, Papavassiliou AG. Effect of protein kinase inhibitors on the stretch-elicited c-Fos and c-Jun up-regulation in human PDL osteoblast-like cells. *J Cell Physiol* 2002; 190:313-321.
- Lanyon LE. Functional strain in bone tissue as an objective, and controlling stimulus for adaptive bone remodeling. *J Biomech* 1987; 20:1083-1093.
- Masoro EJ. Caloric restriction and aging: an update. *Exp Gerontol* 2000; 35:299-305.
- Minois N. Longevity and aging: beneficial effects of exposure to mild stress. *Biogerontology* 2000; 1:15-29.
- Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev* 1984; 5:25-44.
- Oikarinen A, Autio P. New aspects of the mechanism of corticosteroid-induced dermal atrophy. *Clin Exp Dermatol* 1991; 16:416-419.
- Oikarinen A, Haapasaari KM, Sutinen M, Tasanen K. The molecular basis of glucocorticoid-induced skin atrophy: topical glucocorticoid apparently decreases both collagen synthesis and the corresponding collagen mRNA level in human skin in vivo. *Brit J Dermatol* 1998; 139:1106-1110.
- Orth DN. Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332:791-803.
- Pendergrass WR, Li Y, Jiang D, Fei RG, Wolf NS. Caloric restriction: conservation of cellular replicative capacity in vitro accompanies life-span extension in mice. *Exp Cell Res* 1995; 217:309-316.
- Peverali FA, Basdra EK, Papavassiliou AG. Stretch-mediated activation of selective MAPK subtypes and potentiation of AP-1 binding in human osteoblastic cells. *Mol Med* 2001; 7:68-78.
- Pratsinis H, Tsagarakis S, Zervolea I, Giannakopoulos F,

- Stathakos D, Thalassinos N, Kletsas D. Chronic in vivo exposure to glucocorticoids prolongs cellular lifespan: the case of Cushing's syndrome-patients' fibroblasts. *Exp Gerontol* 2002; 37:1237-1245.
27. Rattan SI. Anti-ageing strategies: prevention or therapy? *EMBO Rep* 2005; 6(Suppl 1):S25-S29.
  28. Reed MJ, Penn PE, Li Y, Birnbaum R, Vernon RB, Johnson TS, Pendergrass WR, Sage EH, Abrass IB, Wolf NS. Enhanced cell proliferation and biosynthesis mediate improved wound repair in refeed, caloric-restricted mice. *Mech Ageing Dev* 1996; 89:21-43.
  29. Robinson MJ, Cobb MH. Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9:180-186.
  30. Sabatino F, Masoro EJ, McMahan CA, Kuhn RW. Assessment of the role of the glucocorticoid system in aging processes and in the action of food restriction. *J Gerontol* 1991; 46: B171-B179.
  31. Sapolsky RM. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: the current state of confusion. *Stress* 1996; 1:1-19.
  32. Slavin J, Unemori E, Hunt TK, Amento E. Transforming growth factor beta (TGF-beta) and dexamethasone have direct opposing effects on collagen metabolism in low passage human dermal fibroblasts in vitro. *Growth Factors* 1994; 11:205-213.
  33. Whitmarsh AJ, Davis RJ. Transcription factor AP-1 regulation by mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways. *J Mol Med* 1996; 74:589-607.
  34. Wolf NS, Penn PE, Jiang D, Fei RG, Pendergrass WR. Caloric restriction: conservation of in vivo cellular replicative capacity accompanies life-span extension in mice. *Exp Cell Res* 1995; 217:317-323.
  35. Zervolea I, Pratsinis H, Tsagarakis S, Karavitaki N, Stathakos D, Thalassinos N, Kletsas D. The impact of chronic in vivo glucocorticoid excess on the functional characteristics of human skin fibroblasts obtained from patients with endogenous Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 2005; 152:895-902.
  36. Ziros PG, Rojas Gil A-P, Georgakopoulos T, Habeos I, Kletsas D, Basdra EK, Papavassiliou AG. The bone-specific transcriptional regulator Cbfa1 is a target of mechanical signals in osteoblastic cells. *J Biol Chem* 2002; 277:23934-23941.