

## **Deel A: Over de hormonale en metabole kenmerken van familiere langlevendheid: de Leiden Lang Leven Studie**

De afgelopen twee eeuwen is de levensverwachting wereldwijd sterk toegenomen. Echter niet alle gewonnen levensjaren worden in goede gezondheid doorgebracht. Het vinden van eventuele aanknopingspunten voor interventies is nodig om ouderdomsziekten en achteruitgang in het functioneren te voorkomen. Er bestaat overtuigend bewijs dat langlevendheid vaker voorkomt in bepaalde families. Dit suggereert een genetische basis voor langlevendheid. Op zoek naar de biologie achter gezonde veroudering bestuderen wij daarom in de Leiden Langleven Studie de fenotypes van uitzonderlijk langlevende families. In dit hoofdstuk geven we een samenvatting van de belangrijkste hormonale en metabole kenmerken van familiere langlevendheid.

### **Ziekte en sterfte**

Eerdere studies hebben laten zien dat familiere factoren een belangrijke rol spelen bij het bereiken van een hoge leeftijd <sup>1</sup>. Ook in Leiden Langleven Studie hebben langlevende families een opmerkelijk overlevingsvoordeel van 30% in vergelijking met de algemene bevolking (**hoofdstuk 2**). Het lagere sterfterisico is niet alleen aanwezig in broer- of zusparen van negentig jaar of ouder, maar ook in de eerstegraads familieleden van deze paren <sup>2;3</sup>. Het feit dat dit overlevingsvoordeel aantoonbaar is tot in de hoogste leeftijdscategorieën, suggereert de betrokkenheid van genetische factoren. De omgevingsfactoren die op jonge leeftijd gelijk zijn voor de leden van een broer- en zuspaar, zullen met het ouder worden immers sterk gaan verschillen <sup>4</sup>.

Een andere belangrijke indicator van uitgestelde veroudering is, behalve sterfte, de hogere leeftijd waarop verouderingsziekten optreden <sup>5</sup>. De incidentie van ziekten neemt toe met de leeftijd en ziekten zijn een belangrijke oorzaak voor sterfte <sup>6</sup>. Wij hebben gevonden dat de kinderen van deelnemers van negentig jaar en ouder een aanzienlijk kleinere kans hebben op een myoinfarct, hypertensie en vooral diabetes mellitus type II (**hoofdstuk 2**) <sup>2</sup>. Onze uitkomsten komen overeen met eerdere studies waarin werd aangetoond dat kinderen van ouders die een uitzonderlijke hoge leeftijd hebben bereikt een lagere ziekte prevalentie hadden dan kinderen van ouders die op jongere leeftijd waren overleden <sup>7;8</sup>. Echter, in deze eerdere studies waren er significante verschillen in cardiovasculaire risicofactoren tussen de groepen, waaronder aantal jaren educatie en rookgedrag. Het exacte aandeel van genetica, gedrag en leefstijl bleef daarom lastig te bepalen. Aangezien honderdjarigen er over het algemeen gezonde levenswijzen op na houden, kunnen hun kinderen dit gedrag hebben overgenomen <sup>9</sup>. Om mogelijke *confounding* door verschillen in omgevingsfactoren uit te sluiten, hebben wij de kinderen van langlevende personen vergeleken

met hun partners in de Leiden Langleven Studie. Aangezien kinderen en hun partners merendeels blootstaan aan de zelfde omgevingsfactoren, namen wij aan dat eventuele verschillen tussen beide groepen niet konden worden verklaard door verschillen in omgevingsfactoren. Inderdaad waren de belangrijkste maten voor leefstijl gelijk voor beide groepen, zoals de geschatte BMI, huidige rookgedrag en het daaraan gerelateerde vóórkomen van COPD. Hieruit volgt dat eventuele verschillen in gezondheidstoestand tussen beide groepen eerder verklaard moeten worden uit (epi)genetische factoren dan uit omgevingsfactoren <sup>2;10</sup>.

Wij hebben geen verschil gevonden in het vóórkomen van kanker noch de sterfte door kanker tussen de kinderen en hun partners. Deze uitkomst komt niet overeen met eerder onderzoek waaruit bleek dat kinderen van honderdjarigen een lagere kans hadden om te sterven aan kanker in vergelijking met controles <sup>11</sup>. Dit verschil kan misschien verklaard worden door een leeftijdsverschil: de deelnemers in de Leiden Langleven Studie zijn gemiddeld ongeveer tien jaar jonger dan de deelnemers uit voornoemde studie.

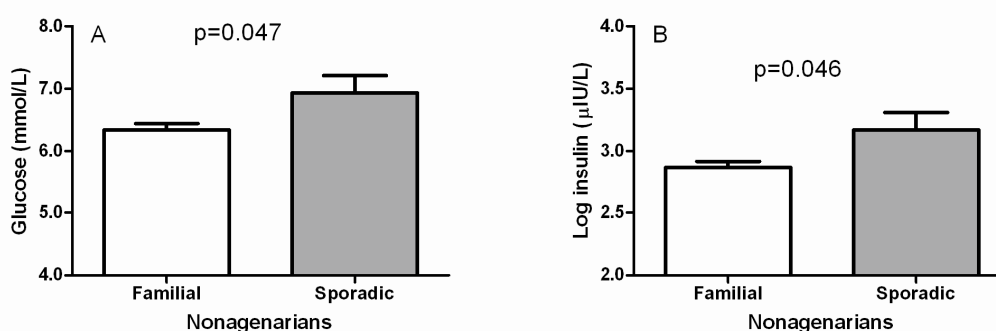
### **IGF/ insuline signaaltransductie**

De invloed van de evolutionair geconserveerde insuline/ insulin-like growth factor (IGF-1) signaaltransductie (IIS) route op veroudering is uitvoerig beschreven in wormen <sup>12</sup>, fruitvliegen <sup>13</sup> en knaagdieren <sup>14;15</sup>. Genetische mutaties die de IIS gedeeltelijk remmen, verlengen de levensduur van deze organismen en vooral bij het vrouwelijk geslacht. Ongewervelde organismen hebben een enkele insuline/IGF-1 receptor, waaraan verscheidene liganden binden. Zoogdieren hebben aparte receptoren ontwikkeld voor insuline en IGF-1 met gedeeltelijk overlappende functies. IGF-1 is betrokken bij groei terwijl insuline de stofwisseling stuurt <sup>16</sup>.

Het belangrijkste kenmerk dat langlevende zoogdieren delen met langlevende mutanten <sup>17</sup> waaronder de mutanten met geïnduceerde IGF resistentie, is insuline gevoeligheid en lage nuchtere bloedsuikerspiegels. Insuline gevoeligheid is ook nauw gerelateerd met een lager sterfte risico in zoogdieren tijdens caloriebeperking. De bevindingen in de Leiden Langleven Studie suggereren dat insuline gevoeligheid ook een rol speelt bij langlevendheid in de mens.

Ten eerste hebben de kinderen van negentigjarigen relatief lagere bloedsuikergehaltes en bloedinsulinegehalten (**hoofdstuk 7**) <sup>18</sup>. Daarnaast hebben zij een gunstiger glucose tolerantie zoals blijkt uit de orale glucose tolerantietest (**hoofdstuk 3**) <sup>10</sup>. Voorlopige gegevens suggereren dat dit fenotype ook aanwezig is in de hoogste leeftijdscategorieën (**figuur 1**). Opmerkelijk genoeg, vonden wij tussen de studiepoulaties geen verschillen in de klassieke risicofactoren voor insuline-resistentie zoals lichaamsbeweging, voedingsgewoontes, subklinische ontsteking (**hoofdstuk 5**). Ten tweede, kwam in de groep kinderen van negentigjarigen minder vaak het

metabool syndroom voor (**hoofdstuk 3**)<sup>10</sup>, een combinatie van cardiovasculaire risicofactoren waaraan mogelijk insulineresistentie ten grondslag ligt. Als we kijken naar de verschillende onderdelen van het metabool syndroom, bevatte de groep kinderen van de negentigjarigen minder personen met een laag HDL en minder personen met een gestoorde nuchtere bloedsuikergehalte. Het aantal personen dat voldeed aan obesitas gerelateerde criteria, waaronder buikomtrek en nuchtere triglyceridewaarde, verschilde niet tussen de twee groepen. Ten slotte, waren de kinderen van negentigjarigen gevoeliger voor insuline. Deze insulinegevoeligheid uitte zich in een versnelde perifere glucoseopname zoals gemeten tijdens een hyperinsulinemische euglycemische clampstudie (**hoofdstuk 4**). De hyperinsulinemische euglycemische clampstudie geldt als de gouden standaard voor het bepalen van insuline gevoeligheid. Aan de hand van deze methode stelden wij vast dat het effect van insuline op de suikerstofwisseling en met name de glucoseopname kinderen van langlevende ouders onderscheidt van controles. Het effect van insuline op de onderdrukking van glucoseproductie of lipolyse speelt hierbij een ondergeschikte rol. Het gevonden effect van insuline op de perifere glucoseopname strookt met eerdere onderzoeken naar de pathofysiologie van diabetes mellitus II. Perifere insuline ongevoeligheid wordt beschouwd als één van de eerste stadia in de ontwikkeling van diabetes<sup>19;20</sup>, en is al tientallen jaren aanwezig voordat de ziekte zich openbaart<sup>21;22</sup>. onderdrukking van de glucoseproductie in de lever is een gevolg van vetopstapeling in de lever<sup>23</sup>, en betreft een laat stadium in de ontwikkeling van diabetes 20.



**Figuur 1. Niet nuchter bloedsuikergehalte (A) en logaritmische bloedinsulinegehaltenes (B) in familiale negentigjarigen (N=333) en sporadische negentigjarigen (N=49), negentigjarigen zonder negentigjarige zus of broer.** Om eventuele verschillen in gezondheidstoestand tussen de twee groepen uit te sluiten, zijn alleen negentigjarigen uit het hoogste tertiel van ADL scores (Activiteiten van het Dagelijks Leven) geïncludeerd. De staven stellen de gemiddelde bloedgehaltenes voor met de standaardfout van het gemiddelde gecorrigeerd voor leeftijd en geslacht.

Onze bevindingen komen overeen met eerdere onderzoeken die aantoonen dat kinderen van uitzonderlijk langlevende ouders beschermd zijn tegen cardiovasculaire aandoeningen <sup>11;24;25</sup>. Eerder werd al aangetoond dat kinderen van langlevende ouders in veel opzichten gezonder zijn: kinderen van langlevende ouders hadden bijvoorbeeld een gunstiger lipidenprofiel <sup>26;27;28</sup>. Wat betreft de suikerstofwisseling was dit nog niet aangetoond. Terwijl insuline gevoeligheid gewoonlijk afneemt met de leeftijd, blijken honderdjarigen een insuline gevoeligheid te hebben die vergelijkbaar is met die van jong volwassenen <sup>29</sup>. Onze resultaten vormen een aanvulling op deze eerdere observaties door te laten zien dat in langlevende families de gunstige suikerstofwisseling al op middelbare leeftijd aanwezig is.

Behalve behoud van insulinegevoeligheid is uitzonderlijke langlevendheid bij mensen waarschijnlijk ook geassocieerd met een onderdrukking van de IGF-1 signaal transductie. Onlangs is aangetoond dat in honderdjarigen vaker bepaalde zeldzame genetische varianten van de IGF-1 receptor voorkomen die gepaard gaan met een hogere IGF-1/IGFBP-3 ratio en met een lagere IGF-1 signaal transductie <sup>30</sup>. Eerder is al aangetoond dat veelvoorkomende genetische variaties met betrekking tot de IGF-1 signaal transductie mogelijk bijdragen aan de verschillen in sterfte in de algemene bevolking <sup>30;31</sup>. Wij vonden ook voorlopige aanwijzingen dat verminderde IGF-1 signaal transductie betrokken is bij familiare langlevendheid. Wij maten lagere IGF-1 gehalten bij negentigjarige vrouwen wier ouders een uitzonderlijk hoge leeftijd hebben bereikt in vergelijking met negentigjarigen wier ouders op jongere leeftijd waren overleden (**hoofdstuk 7**). Een ander belangrijk kenmerk van een levenslang onderdrukte IGF-1 signaal transductie in zowel mensen als modelorganismes is de relatief kleinere lengte. In overeenstemming hiermee waren negentigjarigen wier ouders uitzonderlijk oud werden doorgaans kleiner dan controles wier ouders jonger overleden.

De resultaten in de groep negentigjarigen wijken af van de bevindingen in de groep kinderen (**hoofdstuk 6**). Wij vonden geen significante verschillen in IGF-1 bloedspiegels noch verschillen in lengte tussen de kinderen en hun partners <sup>18</sup>. Daarnaast waren de groeihormoon gehalten in het bloed na één nacht vasten gelijk tussen de twee groepen (**tabel 1**). Deze tegenstrijdige resultaten kunnen misschien verklaard worden door een leeftijdsverschil. De geschatte bijdrage van genetische factoren aan langlevendheid is bescheiden (20-30%) maar neemt toe met de leeftijd. Daarom is het mogelijk dat het effect van genetische variabiliteit in de IIS pas op latere leeftijd merkbaar wordt. De associatie tussen *FOXO3A* en langlevendheid was bijvoorbeeld sterker in honderdjarigen dan in negentigjarigen <sup>32</sup>. Een andere mogelijke verklaring zijn verschillen in imprinting van het IGF-1 gen, mogelijk ten gevolge van historische verschillen in voeding tussen de twee generaties <sup>30;33</sup>.

**Tabel 1. Nuchtere, hormonale serum waarden voor kinderen en partners**

|                      | Kinderen           | Partners           | P-waarde |
|----------------------|--------------------|--------------------|----------|
| Deelnemers (N)       | 121                | 113                |          |
| Vrouwen (N, %)       | 62 (51.2%)         | 59 (48.8%)         | 0.90     |
| TSH (mU/L)           | 2.41 (1.93 - 3.06) | 1.69 (1.33 - 2.15) | 0.029    |
| Vrij T4 (pmol/L)     | 16.2 (15.8 - 16.6) | 16.4 (16.0 - 16.9) | 0.49     |
| Vrij T3 (pmol/L)     | 5.03 (4.87 - 5.20) | 5.26 (5.09 - 5.44) | 0.045    |
| Groei hormoon (mU/L) | 1.90 (1.50 - 2.40) | 2.02 (1.58 - 2.57) | 0.72     |
| IGF-1 (nmol/L)       | 15.3 (14.3 - 16.2) | 15.0 (14.1 - 16.0) | 0.71     |
| IGFBP3 (mg/L)        | 4.03 (3.85 - 4.21) | 3.98 (3.79 - 4.16) | 0.63     |
| Cortisol (µmol/L)    | 0.49 (0.47 - 0.52) | 0.52 (0.49 - 0.55) | 0.22     |
| Prolactine (U/L)     | 10.1 (9.28 - 10.9) | 10.3 (9.51 - 11.2) | 0.64     |
| HsCRP (mg/dL)        | 1.29 (1.17 - 1.60) | 1.17 (0.93 - 1.46) | 0.45     |

Data zijn weergegeven als gemiddelde waarden met een 95% betrouwbaarheidsinterval. TSH, groeihormoon and high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) zijn weergegeven als geometrisch gemiddelde met een 95% betrouwbaarheidsinterval. Serum is afgenomen om 9:00 – 09:30 in de ochtend. Data zijn gecorrigeerd voor leeftijd en geslacht.

### Schildklierfunctie

De hypothalamus-hypofyse-schildklier-as speelt waarschijnlijk een zeer belangrijke rol in het verouderingsproces<sup>34</sup>. Het levensverlengend effect van een lager schildklierhormoongehalte is beschreven in verschillende diersmodellen. Het veroorzaken van hypothyreoïdie bij neonatale ratten heeft een lichte toename van de levensduur tot gevolg<sup>35</sup>. Lage schildklierhormoonspiegels zijn bovendien kenmerkend voor langlevende muismodellen met mutaties in de hypofyse. De langlevende Ames- en Snelldwergmuizen vertonen kenmerken die waarschijnlijk te maken hebben met schildklierhormoon tekort<sup>36</sup>. In proefpersonen van vijfentachtig jaar en ouder zijn hogere thyrotropinespiegels gerelateerd met een overlevingsvoordeel zonder gevolgen voor het functioneren of de stemming<sup>37;38</sup>.

Ook in de Leiden Langleven Studie vonden we een relatie tussen vertraagde schildklierfunctie en toegenomen levensduur. Negentigjarige kinderen van ouders die een uitzonderlijk hoge leeftijd hebben bereikt, hadden hogere thyrotropinespiegels, lagere thyroxinespiegels en lagere

triiodothyroninespiegels in vergelijking met negentigjarigen wier ouders op jongere leeftijd overleden (**hoofdstuk 9**)<sup>39</sup>. De tragere schildklierfunctie in negentigjarigen was ook aantoonbaar in de kinderen van middelbare leeftijd. De kinderen van middelbare leeftijd hadden lagere perifere schilklhormoonspiegels en neigden tot hogere thyrotropinespiegels in vergelijking met hun partners onder nuchtere (**hoofdstuk 8**)<sup>40</sup> en niet-nuchtere omstandigheden (**tabel 1**). Deze observaties suggereren dat een verminderde activiteit van schildklieras een overerfbaar fenotype is dat bijdraagt aan buitengewone langlevendheid.

Verminderde activiteit van de schildklieras is mogelijk een manier om energiebesteding te herverdelen van groei en proliferatie naar onderhoud. Schildklierhormonen regelen in de eerste plaats het basaal metabolisme van cellen en zodoende de aanmaak van warmte en vrije radicalen<sup>41</sup>. Studies in modelorganismen laten zien dat lagere triiodothyroninespiegels geassocieerd zijn met verminderde aanmaak van zuurstofradicalen<sup>42</sup>. Efficiënter transport van elektronen via het mitochondrieel membraan bij een lager schildklierhormoongehalte vermindert mogelijk de aanmaak van zuurstofradicalen en vertraagt zo het verouderingsproces.

Onze studie liet lagere schildklierspiegels zien in personen uit langlevende families. Het vóórkomen van subklinische hypothyreoïdie en subklinische hyperthyreoïdie neemt snel toe met de leeftijd<sup>43</sup>. De precieze definitie van subklinische hypothyreoïdie en de noodzaak om leeftijdspecifieke normaalwaarden te ontwikkelen voor thyrotropine is momenteel punt van discussie.

Thyrotropinespiegels stijgen geleidelijk met de leeftijd. Recentelijk is aangetoond dat deze stijging zich voortzet tot in de hoogste leeftijdscategorieën<sup>44</sup>. De hogere thyrotropinespiegels op oudere leeftijd zijn mogelijk het resultaat van selectieve overleving van individuen met een aangeboren tragere schildklierfunctie<sup>37</sup>. Daarnaast kan een verandering in de schildklierfunctie met de leeftijd enerzijds het gevolg zijn van een opeenstapeling van schade. Anderzijds kunnen afwijkingen in de schildklierfunctie onderdeel zijn van een adaptief mechanisme in weerwoord op verzamelde schade om zo verdere pathologie te beperken. De huidige aanbeveling luidt om bij ouderen met subklinische hypothyreoïdie schildklierhormoon te suppleren. In het licht van voorgaande overwegingen blijft de behandeling van de leeftijdsgerelateerde hormonale afwijkingen echter omstreden. Hoewel pathologische afwijkingen baat zouden hebben bij behandeling, geldt dit niet voor een aangeboren vertraagde schildklierfunctie of voor afwijkingen die onderdeel uitmaken van een adaptieve respons.

Behalve een stijging in de thyrotropinewaardes doen zich met de leeftijd andere veranderingen voor in de schildklieras. In **hoofdstuk 10** laten wij een wederzijds verband zien tussen serum triiodothyroninespiegels en serum inflammatoire cytokines. Hoge spiegels van inflammatoire cytokines zijn geassocieerd met lagere vrije triiodothyroninespiegels. Dit suggereert dat bij inflammatie, de activiteit van de schildklieras wordt geremd. Dit gebeurt mogelijk door een verminderde conversie van thyroxine naar triiodothyronine.

### **Conclusie**

Terwijl de gemiddelde levensverwachting blijft stijgen, nemen ook het aantal jaren dat in slechte gezondheid wordt doorgebracht toe. Het vinden van mogelijke aangrijpingspunten voor interventies is noodzakelijk om leeftijdsgerelateerde aandoeningen en achteruitgang van functioneren tegen te gaan. Bestudering van het fenotype bij mensen die gepredisponeerd zijn voor een langer leven kan hiervoor aanwijzingen bieden. Als we aannemen dat de eigenschappen die leiden tot een langer leven overerfbaar zijn, dan kunnen de kinderen van uitzonderlijk langlevende ouders een oplossing bieden bij de zoektocht naar succesvolle veroudering.

Referenties

- (1) Perls TT, Wilmoth J, Levenson R et al. Life-long sustained mortality advantage of siblings of centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:8442-8447.
- (2) Westendorp RG, van Heemst D, Rozing MP et al. Nonagenarian siblings and their offspring display lower risk of mortality and morbidity than sporadic nonagenarians: The Leiden Longevity Study. *J Am Geriatr Soc* 2009;57:1634-1637.
- (3) Schoenmaker M, de Craen AJ, de Meijer PH et al. Evidence of genetic enrichment for exceptional survival using a family approach: the Leiden Longevity Study. *Eur J Hum Genet* 2006;14:79-84.
- (4) Perls T, Terry D. Understanding the determinants of exceptional longevity. *Ann Intern Med* 2003;139:445-449.
- (5) Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* 2009;325:201-204.
- (6) Vita AJ, Terry RB, Hubert HB, Fries JF. Aging, health risks, and cumulative disability. *N Engl J Med* 1998;338:1035-1041.
- (7) Terry DF, Wilcox MA, McCormick MA et al. Lower all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in centenarians' offspring. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:2074-2076.
- (8) Terry DF, Wilcox MA, McCormick MA, Perls TT. Cardiovascular disease delay in centenarian offspring. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:385-389.
- (9) Galioto A, Dominguez LJ, Pineo A et al. Cardiovascular risk factors in centenarians. *Exp Gerontol* 2008;43:106-113.
- (10) Rozing MP, Westendorp RG, de Craen AJ et al. Favorable glucose tolerance and lower prevalence of metabolic syndrome in offspring without diabetes mellitus of nonagenarian siblings: the Leiden longevity study. *J Am Geriatr Soc* 2010;58:564-569.
- (11) Terry DF, Wilcox MA, McCormick MA et al. Lower all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in centenarians' offspring. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:2074-2076.
- (12) Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, Tabtiang R. A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* 1993;366:461-464.



- (13) Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu MP, Yin CM, Garofalo RS. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science* 2001;292:107-110.
- (14) Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ, Bartke A. Dwarf mice and the ageing process. *Nature* 1996;384:33.
- (15) Holzenberger M, Dupont J, Ducos B et al. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 2003;421:182-187.
- (16) Russell SJ, Kahn CR. Endocrine regulation of ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:681-691.
- (17) Longo VD, Finch CE. Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians? *Science* 2003;299:1342-1346.
- (18) Rozing MP, Westendorp RG, Frolich M et al. Human insulin/IGF-1 and familial longevity at middle age. *Aging (Albany NY)* 2009;1:714-722.
- (19) DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care* 1992;15:318-368.
- (20) Taylor R. Pathogenesis of type 2 diabetes: tracing the reverse route from cure to cause. *Diabetologia* 2008;51:1781-1789.
- (21) Lillioja S, Mott DM, Howard BV et al. Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. *N Engl J Med* 1988;318:1217-1225.
- (22) Lillioja S, Mott DM, Spraul M et al. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Prospective studies of Pima Indians. *N Engl J Med* 1993;329:1988-1992.
- (23) Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Hakkinen AM et al. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3023-3028.
- (24) Atzmon G, Schechter C, Greiner W, Davidson D, Rennert G, Barzilai N. Clinical phenotype of families with longevity. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:274-277.

Appendix A

- (25) Terry DF, Wilcox MA, McCormick MA, Perls TT. Cardiovascular disease delay in centenarian offspring. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:385-389.
- (26) Barzilai N, Atzmon G, Schechter C et al. Unique lipoprotein phenotype and genotype associated with exceptional longevity. *JAMA* 2003;290:2030-2040.
- (27) Heijmans BT, Beekman M, Houwing-Duistermaat JJ et al. Lipoprotein particle profiles mark familial and sporadic human longevity. *PLoS Med* 2006;3:e495.
- (28) Atzmon G, Pollin TI, Crandall J et al. Adiponectin levels and genotype: a potential regulator of life span in humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2008;63:447-453.
- (29) Paolisso G, Gambardella A, Ammendola S et al. Glucose tolerance and insulin action in healthy centenarians. *Am J Physiol* 1996;270:E890-E894.
- (30) Suh Y, Atzmon G, Cho MO et al. Functionally significant insulin-like growth factor I receptor mutations in centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:3438-3442.
- (31) van HD, Beekman M, Mooijaart SP et al. Reduced insulin/IGF-1 signalling and human longevity. *Aging Cell* 2005;4:79-85.
- (32) Flachsbart F, Caliebe A, Kleindorp R et al. Association of FOXO3A variation with human longevity confirmed in German centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:2700-2705.
- (33) Drake NM, Park YJ, Shirali AS, Cleland TA, Soloway PD. Imprint switch mutations at *Rasgrf1* support conflict hypothesis of imprinting and define a growth control mechanism upstream of IGF1. *Mamm Genome* 2009;20:654-663.
- (34) Brown-Borg HM. Hormonal regulation of longevity in mammals. *Ageing Res Rev* 2007;6:28-45.
- (35) Ooka H, Fujita S, Yoshimoto E. Pituitary-thyroid activity and longevity in neonatally thyroxine-treated rats. *Mech Ageing Dev* 1983;22:113-120.
- (36) Tatar M, Bartke A, Antebi A. The endocrine regulation of aging by insulin-like signals. *Science* 2003;299:1346-1351.

- (37) Atzmon G, Barzilai N, Hollowell JG, Surks MI, Gabriely I. Extreme longevity is associated with increased serum thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1251-1254.
- (38) Gussekloo J, van EE, de Craen AJ, Meinders AE, Frolich M, Westendorp RG. Thyroid status, disability and cognitive function, and survival in old age. *JAMA* 2004;292:2591-2599.
- (39) Rozing MP, Houwing-Duistermaat JJ, Slagboom PE et al. Familial longevity is associated with decreased thyroid function. *J Clin Endocrinol Metab*. In press.
- (40) Rozing MP, Westendorp RG, de Craen AJ et al. Low serum free triiodothyronine levels mark familial longevity: the Leiden Longevity Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010;65:365-368.
- (41) Harper ME, Seifert EL. Thyroid hormone effects on mitochondrial energetics. *Thyroid* 2008;18:145-156.
- (42) Lopez-Torres M, Romero M, Barja G. Effect of thyroid hormones on mitochondrial oxygen free radical production and DNA oxidative damage in the rat heart. *Mol Cell Endocrinol* 2000;168:127-134.
- (43) Mariotti S, Franceschi C, Cossarizza A, Pinchera A. The aging thyroid. *Endocr Rev* 1995;16:686-715.
- (44) Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:489-499.

