

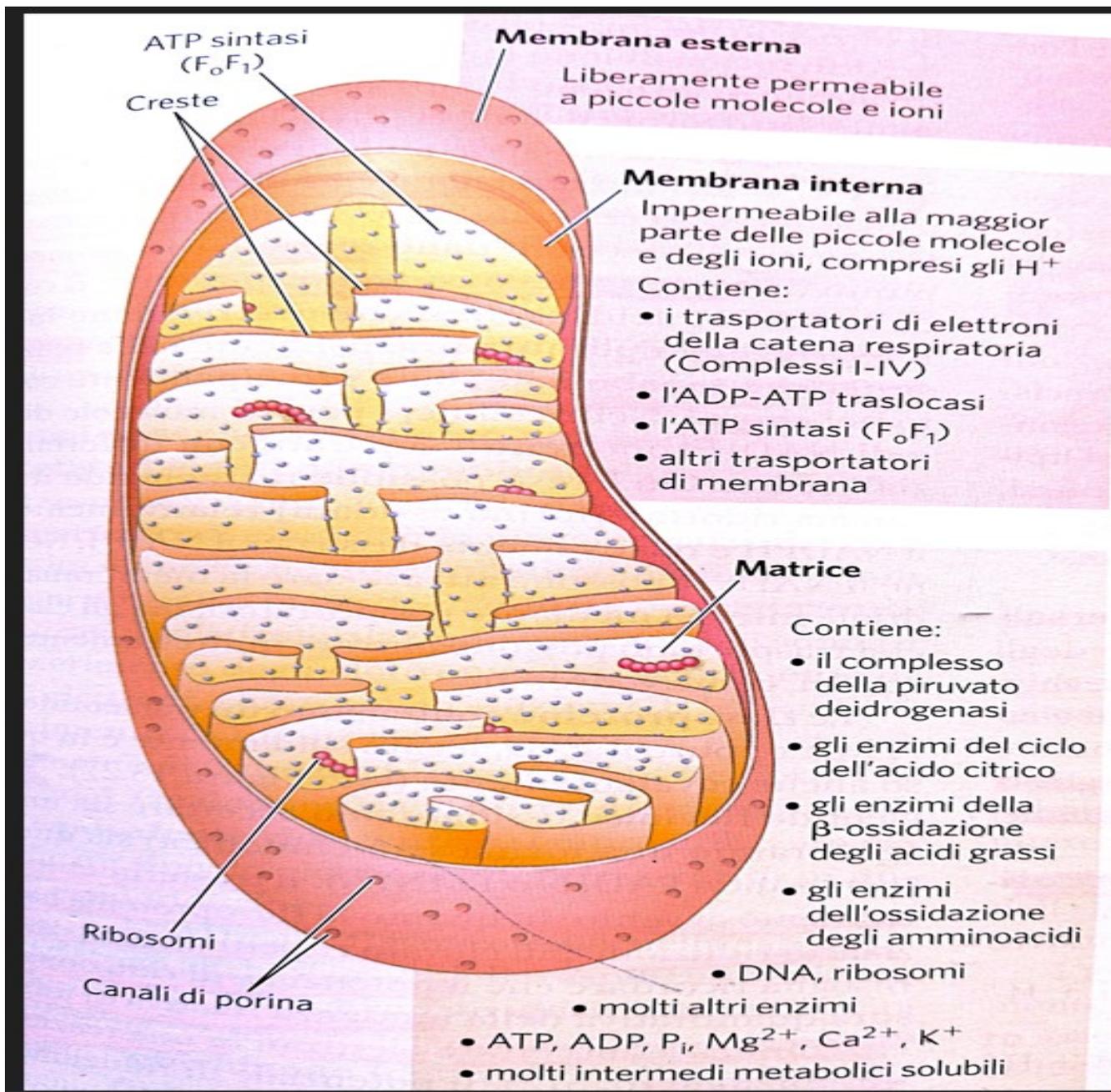
MITOCONDRIO, STRESS OSSIDATIVO ED INVECCHIAMENTO:

POSSIBILITA' DIAGNOSTICHE E TERAPEUTICHE

Dott. Domenico Gambatesa

- **Teoria dei radicali liberi: HARMAN 1956**
- **Teoria mitocondriale: MIQUEL 1980**
- **Teoria dello stress ossidativo: SOHAL ed HALLEN 1990**
- **Teoria dell'asse mitocondri-lisosomi: BRUNK 2002**

- I pigmenti di **lipofuscina**, espressione di invecchiamento cellulare, sono prodotti terminali della perossidazione lipidica delle membrane biologiche e della ossidazione proteica, entrambe indotte dalla disfunzione mitocondriale



Bio-funzioni mitocondriali classiche

- Fonte principale di produzione di ATP
- **Equilibrio ossido-riduttivo**
- Morte cellulare programmata (apoptosi) funzionale
- **Omeostasi del calcio intracellulare**
- Ossidazione completa dei lipidi, degli aminoacidi e del piruvato derivante dalla glicolisi citoplasmatica

DNA mitocondriale (mtDNA)

- Viene ereditato da parte materna
- È formato da **37 geni** di cui solo 13 codificano per proteine funzionali della respirazione mitocondriale
- **mtDNA** è privo di introni. Più suscettibile all'azione tossica dei R.O.S.
- Nel mitocondrio sono attive **1.200 proteine funzionali**, di cui solo una piccola parte codificata dal mtDNA. La quasi totalità delle proteine funzionali mitocondriali sono trascritte da geni nucleari.
- Circa il 25% delle proteine mitocondriali ha funzioni ancora da definire
- **TFAM** (*fattore di trascrizione mitocondriale*) viene trascritto dal nDNA. La sua funzione è coordinare la trascrizione nucleare e mitocondriale

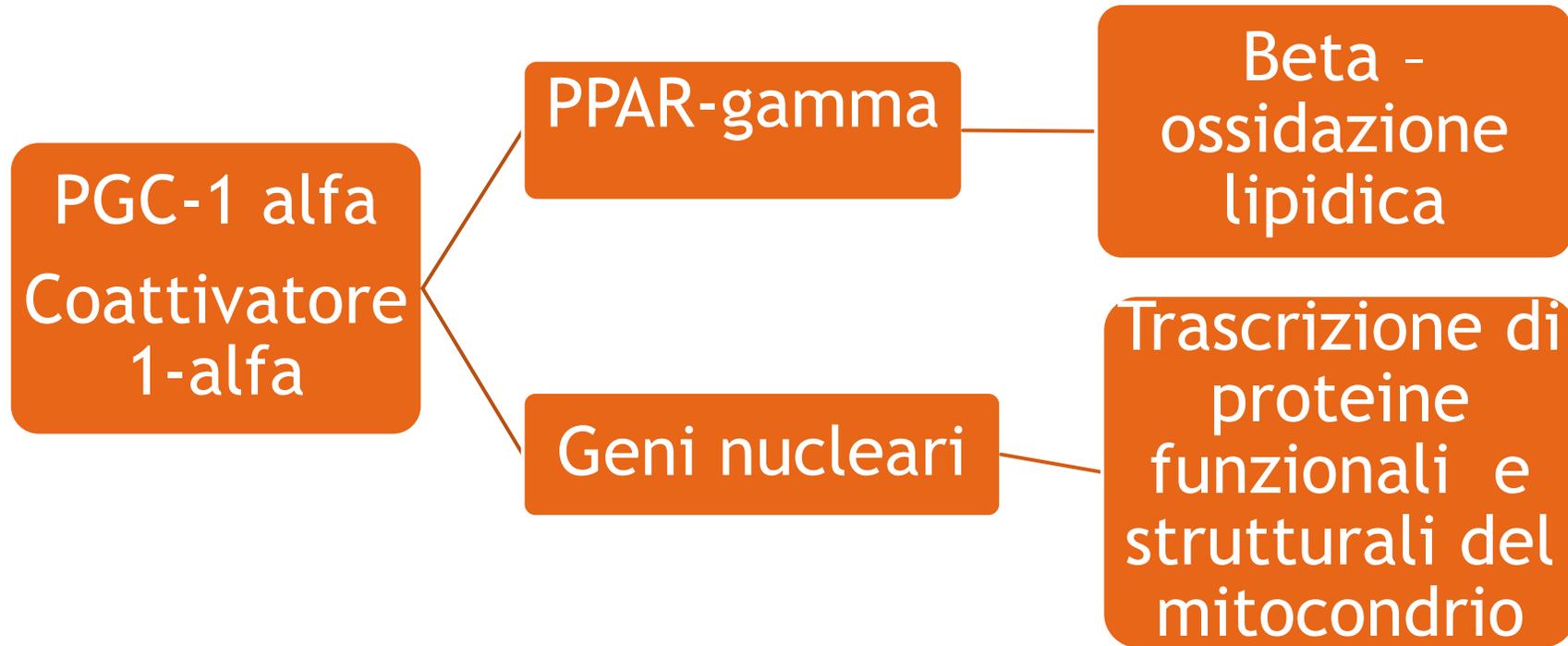
Dinamiche mitocondriali

- **Fusione:** consiste nella fusione di più mitocondri. Tipico processo biologico di mitocondri attivi e ben funzionanti
- **Fissione:** frammentazione del mitocondrio in più parti. Presente in cellule invecchiate e disfunzionali
- **Migrazione:** i mitocondri migrano durante le loro biofunzioni lungo tutto il citoplasma, a seconda delle richieste energetiche degli organuli intracellulari.

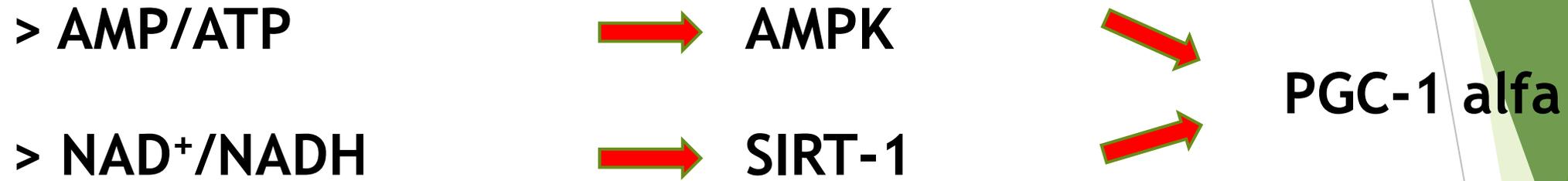
Biogenesi mitocondriale

- **Mitofagia:** consiste nella digestione lisosomiale di mitocondri invecchiati. Viene regolata dalla proteina DRP-1 (dynamin related protein-1). Si associa a fissione mitocondriale.
- **Mitocondriogenesi:** complesso processo anabolico che induce rinnovamento strutturale e funzionale del mitocondrio, associato alla fusione mitocondriale. Necessita della coordinazione del genoma nucleare con quello mitocondriale, favorita dalla TFAM.

Aspetti biomolecolari della mitocondriogenesi



Aspetti biomolecolari della mitocondriogenesi



La CHINASI di AMP e la SIRTUINA-1 sono sensori energetici cellulari. Vengono attivati in corso di:

- Incapacità della cellula a produrre idonee quantità di ATP
- In corso di richieste aumentate di energia.

La AMPK attiva il PGC-1 alfa **fosforilandolo**, mentre la SIRTUINA-1 **deacetilandolo**

Aspetti biomolecolari della mitocondriogenesi

- > **AMP/ATP**: l'aumento di questo rapporto avviene tipicamente in corso di disfunzione della respirazione mitocondriale e della fosforilazione ossidativa.
- > **NAD⁺/NADH**: l'aumento di questo rapporto avviene in corso di rallentamento del ciclo di Krebs.

MITOFAGIA =MITOCONDRIOGENESI

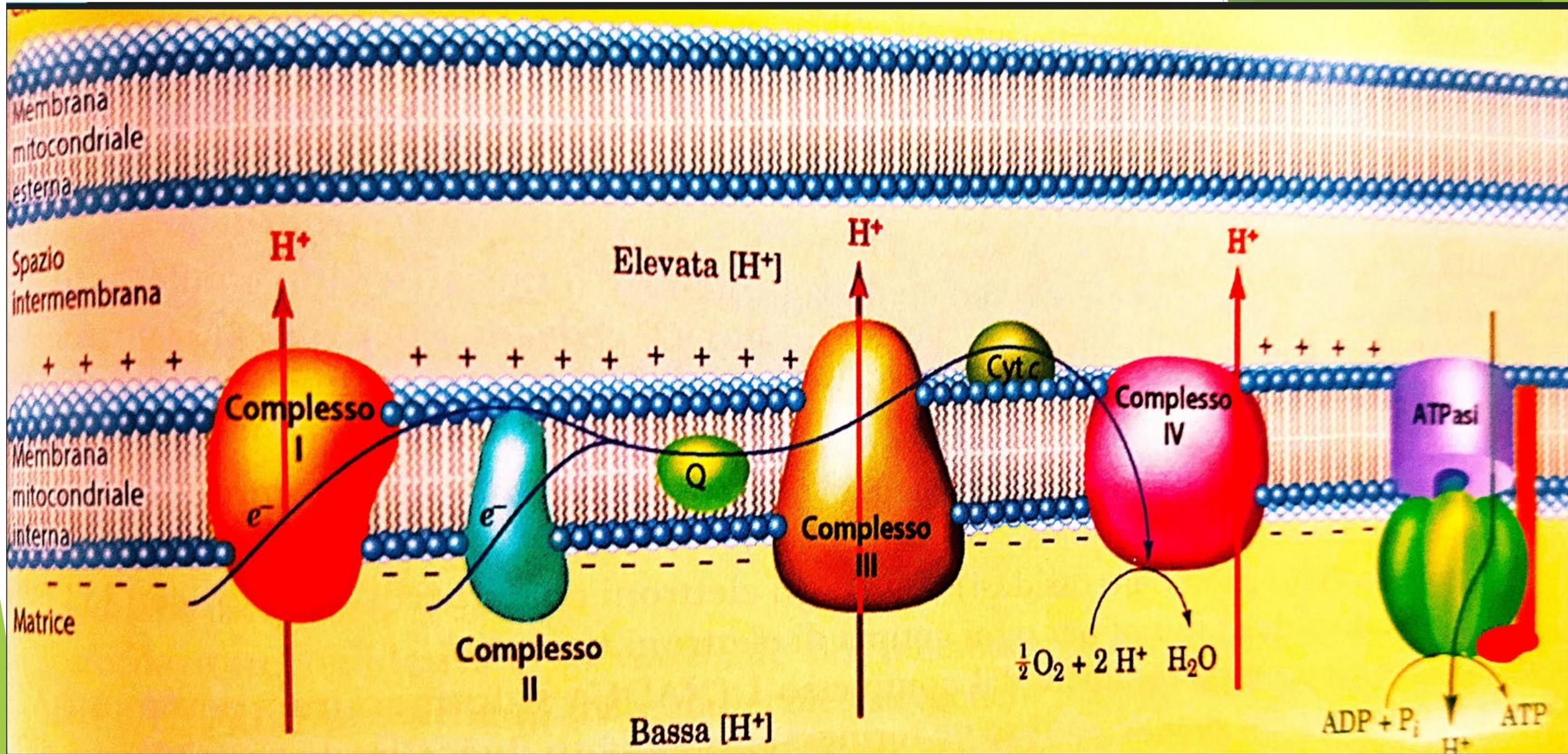
BIOGENESI MITOCONDRIALE FISIOLOGICA

EFFICIENZA - VITALITA' - RESILIENZA DELLA CELLULA IN TOTO

MAGGIOR ADATTAMENTO IN RISPOSTA AI MOLTEPLICI STRESSOR CELLULARI

Take home message

Una fisiologica biogenesi mitocondriale è indispensabile per una efficiente funzionalità e resilienza principalmente per le cellule non mitotiche (neurone-cardiomiocita-nefrone)



La catena respiratoria

- **2 donatori di elettroni (H^+):** NAD(nicotinammide adenina dinucleotide) e FAD (flavina adenina dinucleotide). Entrambe ridotte nel ciclo TCA in NADH e FDH2
- **4 sistemi multi-proteici con funzione di trasporto di elettroni (funzione navetta).** Contengono molecole in grado di legare elettroni, come i citocromi ed 1 molecola benzochinonica altamente lipofila, il coenzima Q10
- **Un gradiente elettrochimico tra la membrana interna carica negativamente (e^-) e lo spazio intermembrana carico positivamente (H^+)**
- **Un accettore di elettroni**  **O_2**

La fosforilazione ossidativa

- Una fisiologica concentrazione di **ADP** e **fosforo inorganico** nella matrice mitocondriale
- Idonee e funzionali quantità dell'enzima **ATP-SINTASI**, il cui gene è localizzato nel **nDNA**
- La sintesi di ATP è un processo **endoergonico**, che richiede energia ricavata dal gradiente elettrochimico della respirazione mitocondriale

Radicali liberi dell'ossigeno (R.O.S.)

- *Sostanze altamente reattive dovute alla incompletezza elettronica sull'ultimo orbitale*
- Il **2-4%** dell'O₂ mitocondriale, in condizioni fisiologiche, non è completamente ridotto
- **L'anione superossido** è il R.O.S. più prodotto. Viene trasformato in **H₂O₂** (perossido di idrogeno) dalle 3 super-ossido dismutasi (**S.O.D.**)
- L'H₂O₂ viene trasformato in acqua dalle **catalasi** (mitocondriali e perossisomiali)
- Un eccesso di H₂O₂ e di anione superossido genera il **radicale ossidrile** (reazione di Haber - Weiss) il più potente e tossico R.O.S.
- Elevate concentrazioni di H₂O₂ reagendo con **metalli ridotti** (Fe - Cu) non opportunamente tamponati generano quantità tossiche di radicale ossidrile (reazione di Fenton)

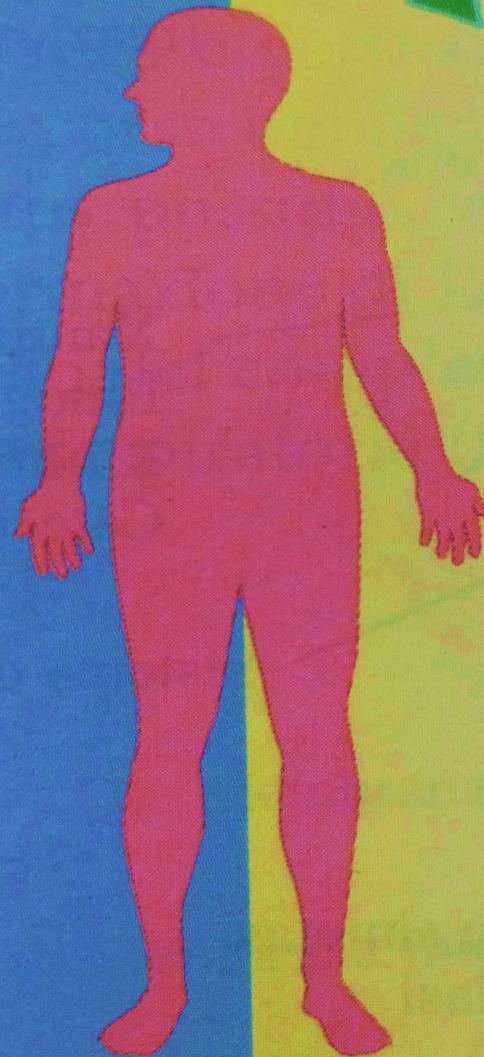
Anti-ossidanti

- **Enzimatici**
- **Non enzimatici**
- **Endogeni o esogeni**
- **Citoplasmatici, di membrana ed intramitocondriali**

ANTIOSSIDANTI

Endogeni

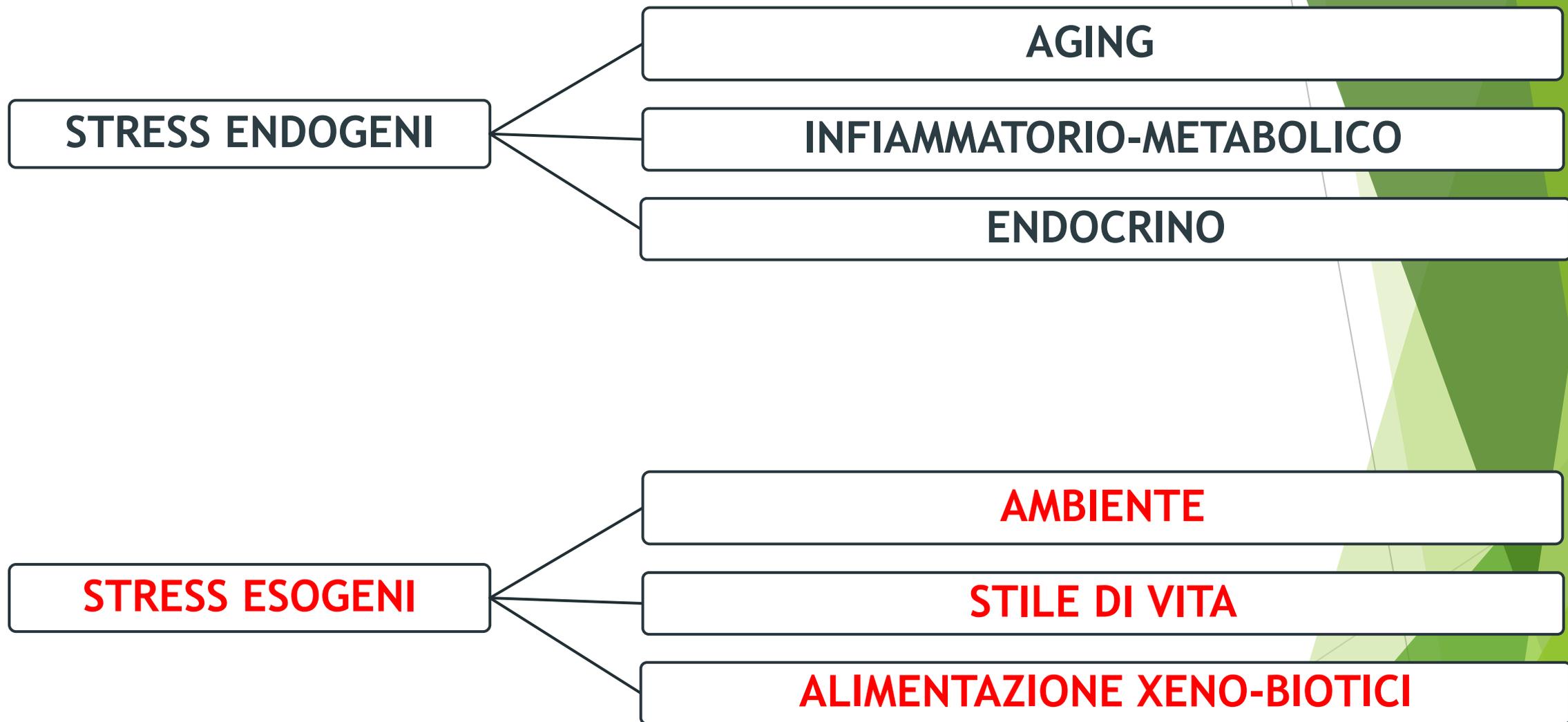
Glutatione
SOD
Catalasi
Tioredoxina
Acido urico
Albumina
Bilirubina
Ferritina/transferrina
Coenzima Q
Metallothioneine



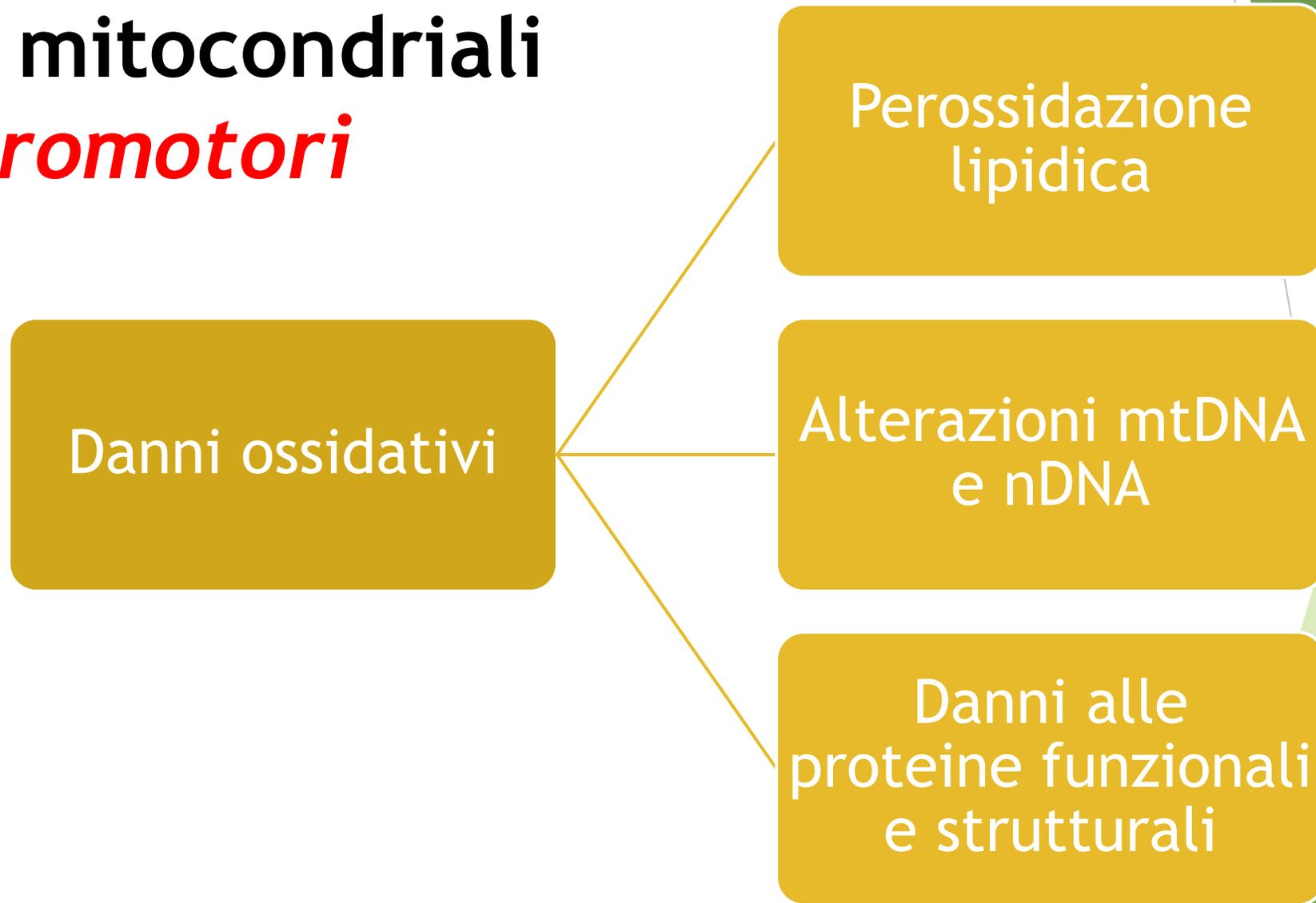
Esogeni

Vitamina E
Vitamina C
Carotenoidi
Ubiquinolo
Flavonoidi
Selenio
Zinco

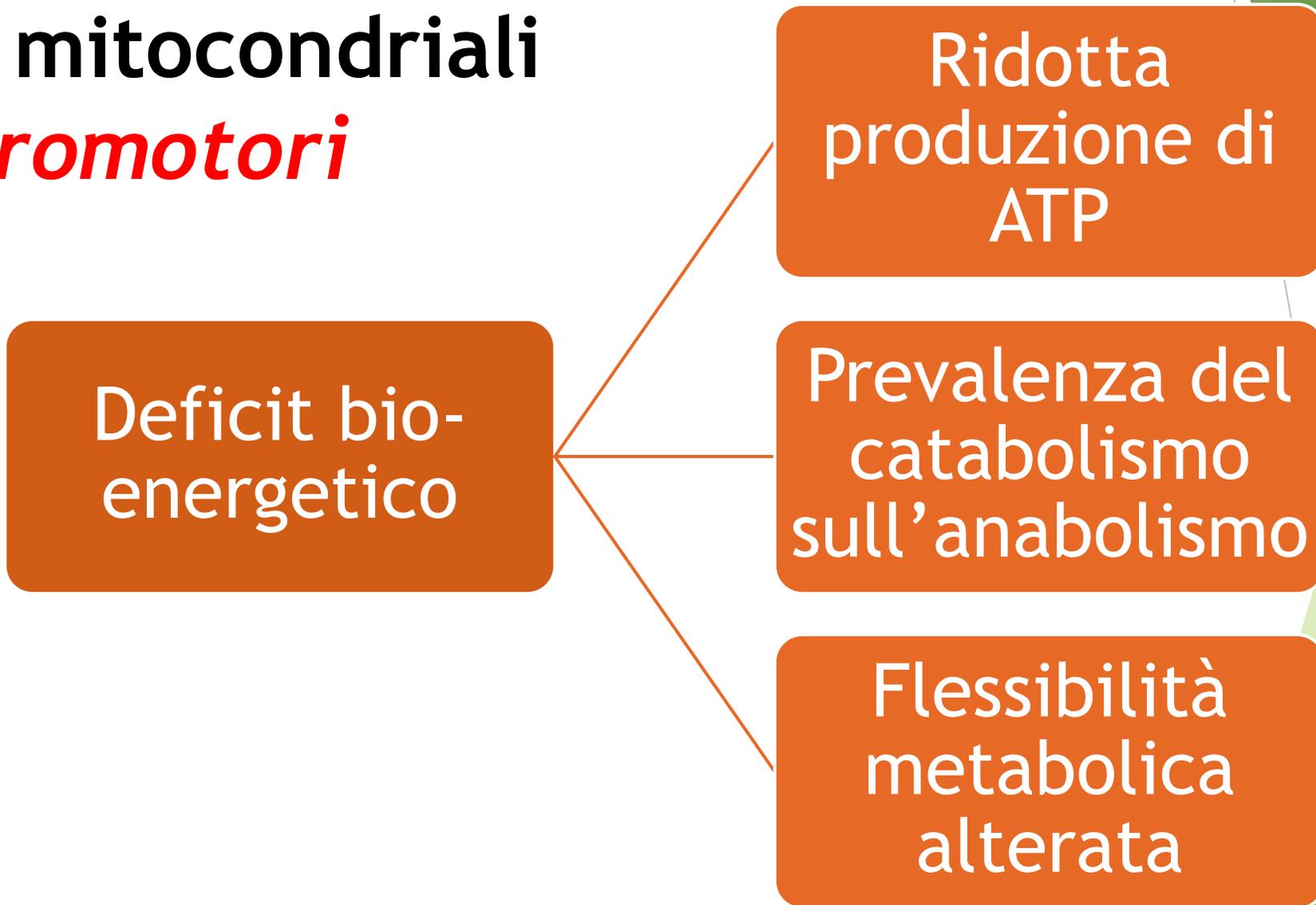
- **Gruppo sulfidrilico (SH)** → **CISTEINA**
componente del TRIPEPTIDE GLUTATIONE
- **Gruppi idrossilici (OH)** → **VITAMINA C,**
VITAMINA E, POLIFENOLI
- **Gruppi amminici (NH₂)** → **NADH, NADPH,**
FADH₂



Danni mitocondriali *geropromotori*



Danni mitocondriali *geropromotori*



Diagnostica di laboratorio

- ❖ **D-ROOMS TEST**: misura in unità CARR, la capacità ossidante del campione di sangue in esame. Range di normalità 250-300 unità CARR.
- ❖ **BAP-TEST**: quantizza il potenziale antiossidante endogeno.
- ❖ **DOSAGGIO URINARIO E PLASMATICO degli ISOPROSTANI**: valori aumentati si riscontrano tipicamente in corso di perossidazione lipidica (isoprostani ossidazione acido arachidonico)
- ❖ **DOSAGGIO PLASMATICO 8-IDROSSI-DEOSSIGUANOSINA (8-OH-Dg)**: danno ossidativo del mtDNA e nDNA
- ❖ **DOSAGGIO PLASMATICO del COENZIMA Q10 (UBICHINONE)**

Take home message

La cellula muscolare scheletrica, ricchissima di mitocondri, è quella primariamente interessata al danno ossido riduttivo e bio-energetico mitocondriale. La sintomatologia asteniforme muscolare è sicuramente un sintomo patognomonico di mitocondrio patia età-relata, da ricercare sistematicamente nel paziente geriatrico

Diagnostica clinica

ASTENIA MUSCOLARE O DINAPENIA

Astenia diagnosi differenziale

- ❑ **Ipo-astenia neurogena:** localizzazione tipica, accompagnata da alterazione dei R.O.T. e del tono muscolare con riflessi patologici
- ❑ **Astenia muscolare:** forza di presa della mano dominante al dinamometro ridotta. Test della sedia patologico
- ❑ **Astenia psichica:** assenza dei segni su elencati

dinapenia

Instabilità posturale

**Aumentato rischio
cadute**

28

Terapie mitocondriali gerosoppressive

- a) **Assicurare un'efficiente e costante barriera antiossidante** (dieta, vitamina C, E, carotenoidi, polifenoli, cisteina, glutathione)
- b) **Consentire un continuo rinnovo degli intermedi del ciclo di Krebs e dei coenzimi nucleotidici (NAD⁺ e FAD⁺)**
- c) **Ottimizzare la catena respiratoria e la fosforilazione ossidativa**
- d) **Favorire la mitocondriogenesi, indispensabile per la vitalità e resilienza delle cellule non mitotiche (neurone, cardiomiocita, nefrone)**

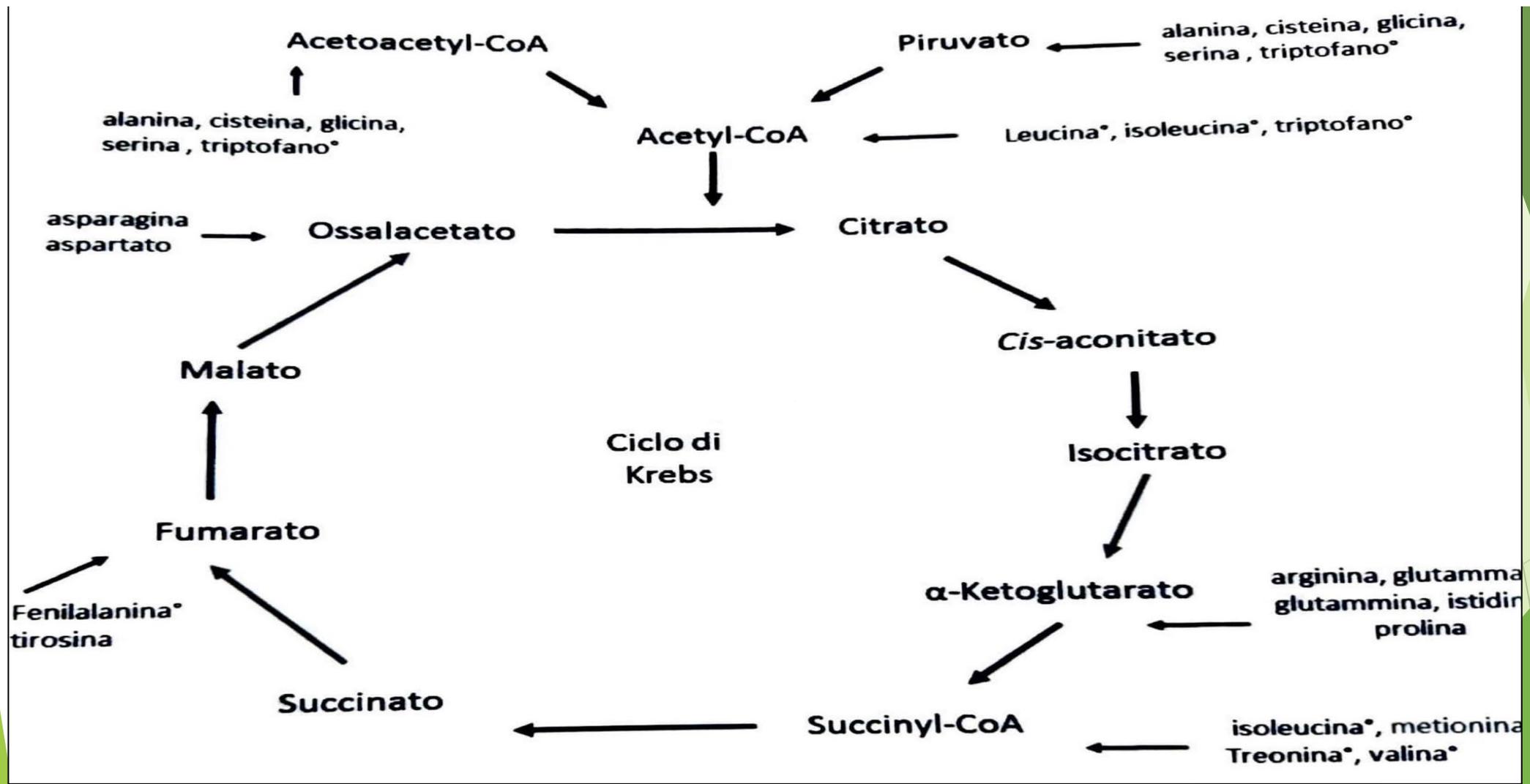
Terapie mitocondriali gerosoppressive:

a) assicurare un'efficiente e costante barriera antiossidante

- ✓ **Le vitamine antiossidanti idro e liposolubili (C, E, carotenoidi)** devono essere assunte come integratori in associazioni predefinite in quanto singolarmente ed ad alte dosi possono generare effetto paradosso pro-ossidante (vedi vitamina E e C)
- ✓ **I polifenoli** sono antiossidanti non vitaminici presenti abbondantemente nel mondo vegetale. Si trovano prevalentemente nella frutta e verdura, nel tè, caffè, cacao. Attualmente sono identificate 8.000 molecole polifenoliche, idro e liposolubili. Possono essere somministrati sia attraverso la dieta che in forma di nutraceutici. Ad alto contenuto di polifenoli e con alto potere antiossidante sono: **il maqui** (frutto di bosco delle Ande), **mirtilli**, **more**, **fragole** e **spinaci**. Il potere antiossidante degli alimenti vegetali è espresso in unità **ORAC** (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Terapie mitocondriali gerosoppressive:

b) AA e ciclo di Krebs. Consentire un continuo rinnovo degli intermedi del ciclo di Krebs



Terapie mitocondriali gerosoppressive:

b) Consentire un continuo rinnovo degli intermedi del ciclo di Krebs e dei coenzimi nuclotidici

✓ **Vitamina B2 o RIBOFLAVINA** → costituente del FAD+
(flavin- adenin - dinucleotide)

✓ **Vitamina B3 o NIACINA o PP** → costituente del
NAD+ (nicotinammide-adenin-dinucleotide)

La somministrazione delle 2 vitamine, fondamentali per la bioenergetica cellulare è preferibile in forma retard, per consentire un apporto costante e duraturo nelle 24 ore.

Terapie mitocondriali gerosoppressive

c) Ottimizzare la catena respiratoria e la fosforilazione ossidativa

- ✓ Integrazione con il **coenzima Q10 o ubichinone**
- ✓ Benzochinone liposolubile di piccole dimensioni. Diffonde liberamente nel doppio strato lipidico della membrana interna mitocondriale.
- ✓ **Ubichinone** forma ossidata del coenzima Q10 dosaggio: 200mg/die
- ✓ **Ubichinolo** forma ridotta del coenzima Q10 dosaggio: 100 mg/die
- ✓ **PQQ o PIRROLOCHINOLINA CHINONE**. Nuova sostanza benzochinonica. Potente azione antiradicale di membrana dosaggio: 20 mg/die

Terapie mitocondriali gerosoppressive

d) *Strategie mitocondriogenetiche*

- ❑ **Farmacologiche**: metformina (↑ AMPK)
- ❑ **Nutraceutiche**: nutraceutici CR-mimetici →
resveratrolo e derivati (↑ SIRTUINE)
- ❑ **Stili di vita**: restrizione calorica (↑ SIRTUINE). Attività fisica costante di lieve - media intensità (↑ AMPK), digiuno programmato in diverse modalità (↑ SIRTUINE).



altre vie gerosopressive attivate da AMPK e SIRT-1

AMPK
SIRT-1

↑ **AUTOFAGIA**

↑ **FOXO**

↑ **Nrf-1**

↓ **mTOR**

↓ **NF-kB**

Conclusioni

- ❖ Ripristinare la funzionalità mitocondriale con una sapiente combinazione delle terapie gerosoppressive mitocondriali descritte, deve rappresentare un impegno costante della moderna medicina geriatrica
- ❖ Ottimizzare la funzionalità del mitocondrio è fondamentale per una gerontologia preventiva efficace
- ❖ La biologia molecolare, la biochimica moderna e la nutraceutica devono rappresentare motivo costante di aggiornamento per chi pratica giornalmente la medicina geriatrica

- Genetica/epigenetica;
- stile di vita non appropriato (fumo, alcol, sedentarietà);
- obesità;

- immunosenescenza;
- disbiosi;
- menopausa;
- declino cognitivo;
- sarcopenia.



- Restrizione calorica o digiuno;
- anti-ossidanti;
- anti-infiammatori;

- mimetici della restrizione calorica;
- esercizio fisico;
- stimolazione delle capacità cognitive.

Solo attraverso questo difficile e nuovo percorso formativo potremo arrestare l'aging imperante, donando non solo anni alla vita, ma principalmente vita agli anni dei nostri pazienti