



**UNIVERSITA
NICCOLO CUSANO**

IL MITOCONDRIO: IL SEGRETO DELLA LONGEVITA' ENERGIA PER LA VITA

MILANO, 16 Febbraio 2020
Hotel Michelangelo - Piazza Luigi di Savoia 6



**UNIVERSITA
NICCOLO CUSANO**

IL RUOLO EPIGENETICO DEL MITOCONDRIO NELL'INFIAMMAZIONE

Dott.ssa Margherita Borsa

INFIAMMAZIONE

Risposta cellulare e molecolare a infezioni e / o lesioni dei tessuti.

Durante l'infezione, l'infiammazione è generalmente innescata da molecole esogene ospitate da microbi, specifiche per una data classe microbica.

Durante le lesioni dei tessuti, l'infiammazione è innescata da molecole endogene secrete attivamente nel citosol o rilasciate passivamente nell'ambiente extracellulare in seguito a stress o danno cellulare.

INFIAMMAZIONE

Una risposta infiammatoria adattata in intensità e tempo consente di uccidere i patogeni, guarendo le lesioni



una risposta eccessiva però può condurre a varie malattie.



Esagerare l'intensità dell'infiammazione porta allo shock settico (in risposta all'infezione) o alla sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS), durante i quali l'infiammazione stessa determina morbidità e mortalità.



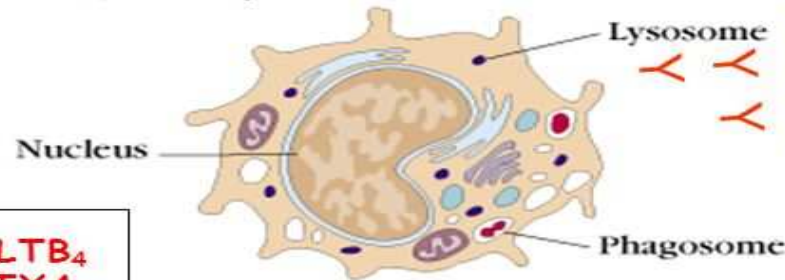
Se persistenti, sia l'infiammazione che i danni ai tessuti si ha un meccanismo che contribuisce allo sviluppo di malattie autoimmuni, diabete, broncopneumopatia cronica ostruttiva, aterosclerosi, invecchiamento ecc.

Macrofagi

- **Sia fissi che mobili.**
- **Funzione:**
 - Fagocitano residui e li degradano attraverso i lisosomi
 - Fonte delle proteine del complemento e dei regolatori della crescita
 - Aiutano la risposta immunitaria
- **Origine:**
 - Derivano dai monociti del sangue
 - Possono avere nomi caratteristici: **istiociti**

Macrofagi: protagonisti dell' infiammazione acuta cronica

(a) Monocyte

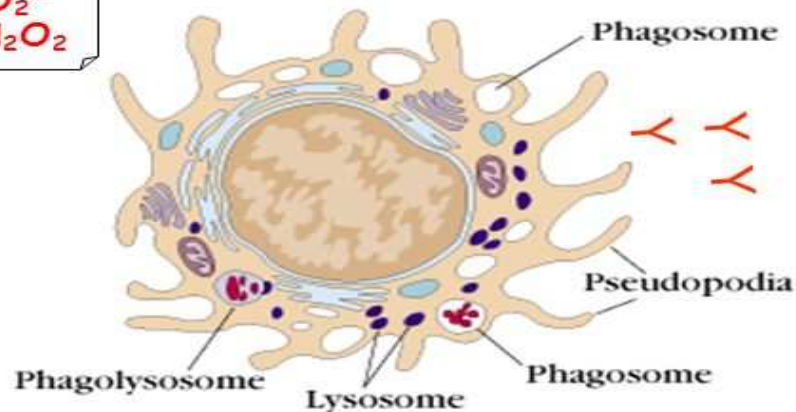


Recettori per IgG
 Recettori compon. complemento
 Recettori per citochine, per
 fattori di crescita e
 chemiotattici

LTB_4
 TXA_2

Macrophage

O_2^-
 H_2O_2



Funzioni:

1. Fagocitosi di batteri
2. Produzione di mediatori infiammatori
3. Sintesi di molecole che hanno effetto su:
 - difese antibatteriche
 - difese antivirali
 - crescita cellulare
 - crescita vascolare
 - coagulazione del sangue
 - crescita tumorale
 - produzione di collagene
4. Inizio della risposta immune
5. Scavenging
6. Induzione di effetti generali:
 (febbre, reazione fase acuta, cachessia)

MACROFAGI E INFIAMMAZIONE

“grandi mangiatori”

ingoiano e digeriscono i detriti cellulari e sostanze estranee

orchestrano la risposta immunitaria

stimolano il sistema immunitario e aiutano a richiamarlo all'azione quando necessario

quindi i macrofagi sono noti per promuovere l'infiammazione

giunto il tempo di fermare la risposta infiammatoria, cambiano il loro ruolo, sopprimono l'infiammazione e riparano un tessuto danneggiato

INFIAMMAZIONE E MITOCONDRI



Durante la fase iniziale della risposta infiammatoria, i macrofagi alterano l'attività dei mitocondri.

Durante l'infiammazione, i macrofagi bloccano la produzione di energia dei mitocondri che cominciano a produrre composti chimici tossici che amplificano ulteriormente l'infiammazione.

INFIAMMAZIONE E MITOCONDRI

Durante l'infiammazione invece di produrre energia, i mitocondri producono prodotti tossici dall'ossigeno utilizzando l'enzima **succinato deidrogenasi** che promuove l'infiammazione” (E. Mills).

Questo cambiamento di attività enzimatica aumenta specificamente la produzione di specie reattive dell'ossigeno mitocondriale che ad alti livelli possono danneggiare le strutture cellulari.

L'enzima succinato deidrogenasi è coinvolto nel processo di generazione di energia nei mitocondri, ma gioca anche un ruolo nella soppressione del tumore e questo lo rende un enzima di particolare interesse per i ricercatori.

INFIAMMAZIONE E MITOCONDRI

Funzioni mitocondriali sono regolate dalla dinamica mitocondriale e dalla mitofagia.

La fusione mitocondriale massimizza l'efficienza della fosforilazione ossidativa e in condizioni stressanti, mescola il contenuto di mitocondri parzialmente danneggiati

La fissione mitocondriale è necessaria per creare nuovi mitocondri e per separare le parti danneggiate dei mitocondri che verranno eliminate con l'autofagia.

La rimozione specifica dei mitocondri danneggiati è un processo chiamato mitofagia, fondamentale per prevenire gli effetti citotossici indotti dalle disfunzioni dei mitocondri e per il mantenimento dell'omeostasi cellulare.

Mitocondri polarizzano il destino delle risposte infiammatorie regolando il livello energetico delle cellule immunitarie

Reprogramming mitochondrial metabolism in macrophages as an anti-inflammatory signal

Evanna L. Mills

Luke A. O'Neill

European Journal of
Immunology

First published: 08 December 2015

I macrofagi maturi differenziati posseggono due stadi funzionalmente distinti in base ai tipi di citochine prodotte definiti M1 e M2 con attività rispettivamente pro e anti- infiammatoria

I macrofagi M1 e M2 sono essenziali per un'adeguata funzione delle cellule immunitarie.

Reprogramming mitochondrial metabolism in macrophages as an anti-inflammatory signal

Evanna L. Mills

Luke A. O'Neill

European Journal of
Immunology

First published: 08 December 2015

Nei macrofagi M1, l'aumento della glicolisi e la via del pentoso fosfato forniscono sia una rapida produzione di ATP e intermedi biosintetici necessari per la generazione di proteine pro-infiammatorie coinvolte nella clearance dell'infezione, mentre l'inibizione della fosforilazione ossidativa genera ROS battericidi.

M2 si basano sulla fosforilazione ossidativa e questo sembra essere importante per un'attivazione a lungo termine richiesta per la riparazione dei tessuti e il ritorno all'omeostasi.

Reprogramming mitochondrial metabolism in macrophages as an anti-inflammatory signal

Evanna L. Mills

Luke A. O'Neill

European Journal of
Immunology

First published: 08 December 2015

È possibile che la manipolazione del metabolismo dei macrofagi possa aumentare le risposte immunitarie o addirittura smorzare le risposte infiammatorie in caso di autoimmunità.

Conversione dei macrofagi M1 in macrofagi M2 (la metformina potrebbe avere questo effetto)

Sostenere la riprogrammazione tramite l'epigenetica.

Cambiamenti metabolici, potrebbero promuovere la remissione delle malattie infiammatorie croniche.

INFIAMMAZIONE E MITOCONDRI

- La rimozione specifica dei mitocondri danneggiati è un processo chiamato mitofagia, fondamentale per prevenire gli effetti citotossici indotti dalle disfunzioni dei mitocondri e per il mantenimento dell'omeostasi cellulare.
- La **mitofagia** è un evento cellulare di **autofagia** che porta alla degradazione selettiva dei mitocondri.
- La mitofagia inizia quando alcuni mitocondri diventano difettosi in seguito a danno cellulare o stress ossidativo.

EPIGENETICA

epigenetica

(dal greco *επί*, epì = "sopra" e *γεννητικός*, gennetikòs = "relativo all'eredità familiare")

si riferisce ai cambiamenti che influenzano il fenotipo senza alterare il genotipo

EPIGENETICA

Per epigenetica si intende qualsiasi attività di regolazione dei geni tramite processi chimici che non comportano cambiamenti nella sequenza del DNA ma possono indurre fenotipi diversi nell'individuo o nella progenie

Queste modificazioni fanno sì che diminuisca il grado di accessibilità del DNA per i fattori di trascrizione alterando l'attività di tale gene.

EPIGENETICA

- Meccanismi epigenetici
- modificazioni degli istoni
- metilazione del DNA
- microRNA (miRNA) non codificanti

EPIGENETICA



EPIGENETICA

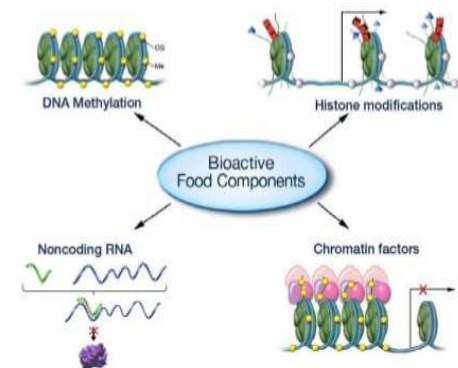
La dieta induce delle modificazioni epigenetiche



Importanti implicazioni per la salute

NUTRIZIONE ED EPIGENETICA

L'epigenetica della nutrizione studia come l'alimentazione o particolari alimenti regolano l'espressione genica

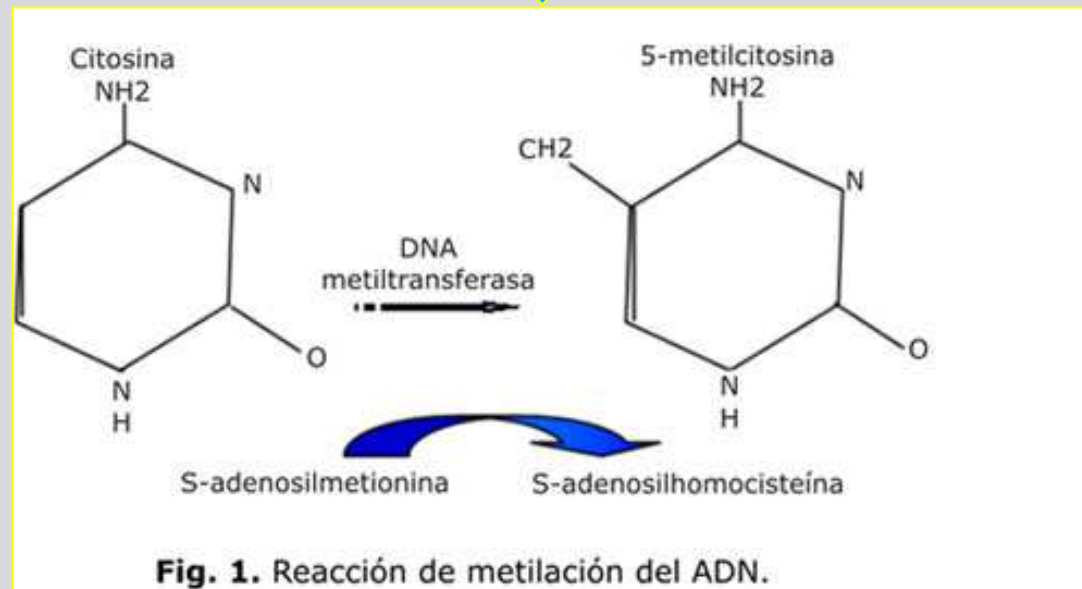


METILAZIONE DEL DNA

- Tessuto specifica
- Regolata dalla DNA metiltransferasi (DNMT) che è un enzima che modifica una base citosina con un gruppo metilico in una:


5- metilcitosina

METILAZIONE DEL DNA



METILAZIONE DEL DNA

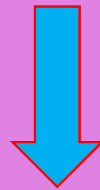
Inattivazione del
cromosoma X

Silenziamento di
geni specifici
germinali

Carcinogenesi

Processi
controllati dalla
metilazione del
DNA

METILAZIONE DEL DNA



- Associata alla soppressione dell'espressione genica
- Impedisce fisicamente il legame tra proteine trascrizionali e il gene

METILAZIONE DEL DNA

Costituenti alimentari che sono noti per modulare la metilazione del DNA:

- acido folico
- vitamina B12
- Selenio
- polifenoli del tè verde (epigallocatechina - 3 - gallato (EGCG), epicatechina, gallocatechina)
- bioflavonoidi (quercetina)



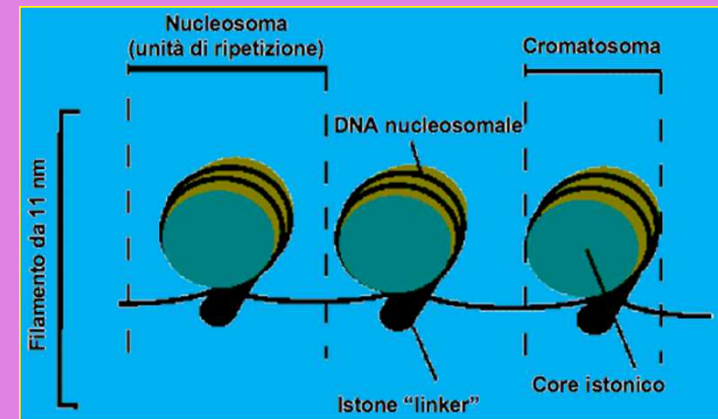
METILAZIONE DEL DNA

- Folati e vitamina B12 promuovono la metilazione del DNA;
- Selenio, polifenoli del tè verde , bioflavonoidi riducono DNA - metilazione .



MODIFICAZIONI DEGLI ISTONI

- Nuclei cellule eucariotiche contengono proteine istoniche basiche (con cariche positive dovute ai residui di lisina e arginina)



ISTONI

- impacchettano DNA in unità strutturali chiamati nucleosomi.

MODIFICAZIONI DEGLI ISTONI

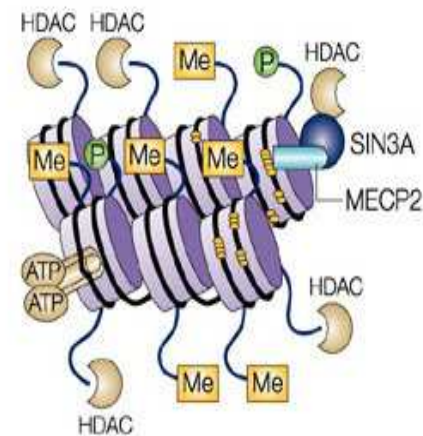
- Gli istoni svolgono un ruolo nella regolazione genica, in quanto i geni che sono attivi sono meno legati agli istoni.
- Geni inattivi sono fortemente associati con gli istoni.

MODIFICAZIONI DEGLI ISTONI

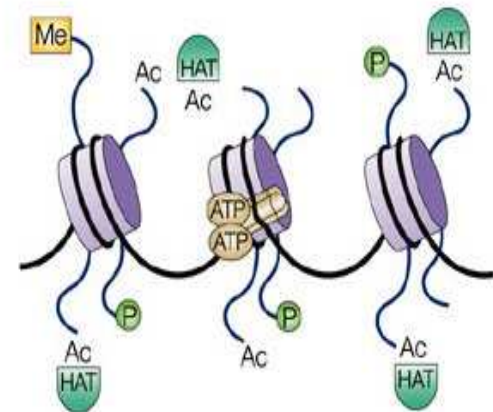
- Modificazione post-traslazionale degli istoni:

- Metilazione
- Acetilazione
- Fosforilazione
- Ribosilazione
- Ubiquitinazione
- Biotinilazione

a Closed chromatin: transcriptional repression



b Open chromatin: transcriptional activation



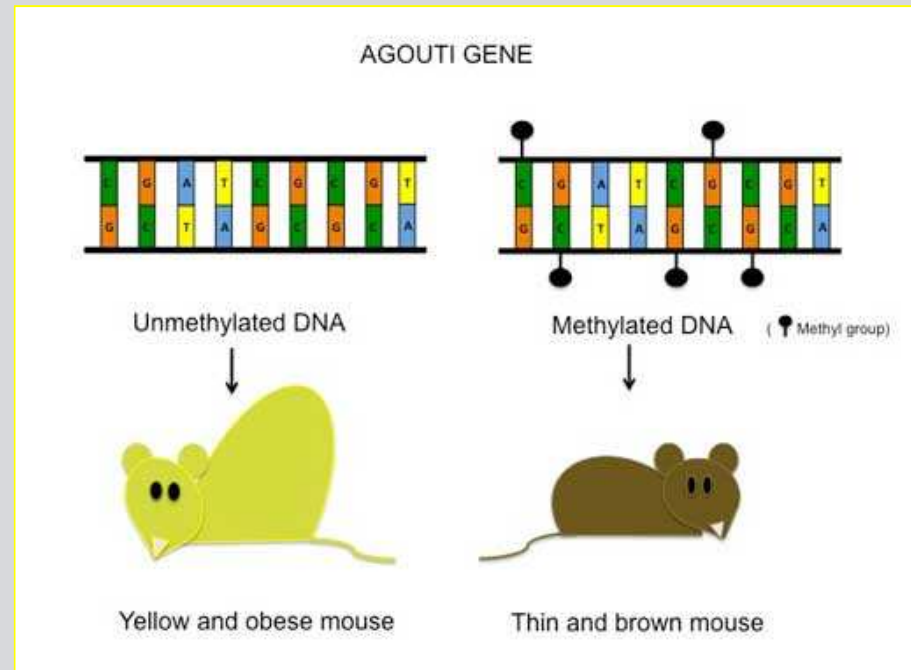
EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- L'aggiunta di gruppi acetilici (acetilazione) alla impalcatura proteica del DNA (istoni) migliora la trascrizione.
- L'aggiunta di gruppi metilici (metilazione) in alcune regioni regolatrici dello stesso DNA riduce la trascrizione del gene.

EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- Gli effetti della dieta iniziale nella fase epigenetica sono chiaramente visibili tra le api.
- Ciò che differenzia le api operaie sterili dalla regina fertile non dipende dalla genetica, ma dalla dieta che seguono come larve.
- Le larve designate a diventare regine sono alimentate esclusivamente con pappa reale, una sostanza secreta dalle api operaie, che accende promotore del gene che determina la fertilità dell'ape.





Gli individui con un gene agouti attivo hanno un mantello giallo e una propensione a diventare obesi

EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- Questo gene, tuttavia, può essere disattivato attraverso la metilazione del DNA.
- Se un topo agouti in gravidanza riceve integratori alimentari che possono rilasciare i gruppi metilici - come l'acido folico o la colina – i geni agouti dei cuccioli diventano metilati e quindi inattivi.
- Questi cuccioli sono portatori del gene agouti, ma perdono il fenotipo agouti: hanno un mantello marrone e nessun aumentata tendenza all'obesità.

EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- Posso inattivare un gene negativo utilizzando un alimento specifico



- IMPORTANZA DELLA DIETA



EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- Broccoli e altre crucifere contengono isotiocianati, che sono in grado di aumentare l'acetilazione degli istoni.
- La soia, è fonte di genisteina, un isoflavone, che si pensa possa diminuire la metilazione del DNA in alcuni geni.
- Il composto del polifenolo, trovato nel tè verde, epigallocatechina-3- gallato, ha molte attività biologiche, tra cui l'inibizione della metilazione del DNA.



EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- La curcumina, un composto presente nella curcuma (*Curcuma longa*), può avere effetti sull'attivazione del gene, perché inibisce la metilazione del DNA, ma anche modula l'acetilazione degli istoni.
- Resta da dimostrare se mangiare gli alimenti corrispondenti ha lo stesso considerevole effetto come si è visto nei modelli cellulari (Gerhauser, 2013).



EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- Gli studi epidemiologici, tuttavia, suggeriscono che le popolazioni che consumano grandi quantità di alcuni di questi alimenti sembrano essere meno inclini a determinate malattie (Siddiqui et al., 2007).
- Tuttavia, la maggior parte di questi composti non solo hanno effetti epigenetici, ma colpiscono anche altre funzioni biologiche.



EFFETTI DELLA DIETA SULLA MODIFICAZIONE POST-TRASLAZIONALE

- Come risultato dei loro effetti a lungo termine, i cambiamenti epigenetici sono coinvolti nello sviluppo di molte malattie, compresi alcuni tumori e malattie neurologiche.
- Modificazioni epigenetiche possono disattivare i geni oncosoppressori, che impediscono un'eccessiva proliferazione cellulare (Esteller, 2007).



EPIGENETICA DIABETE, OBESITÀ'E MITOCONDRIO

Diabete e obesità: scoperto il meccanismo “bruciagrassi”



EPIGENETICA DIABETE, OBESITÀ E MITOCONDRIO

- Secondo lo studio, pubblicato sulla rivista internazionale *Diabetes* (Ottobre, 2012), l'inibizione di alcuni enzimi (istone deacetilasi) porta a un netto miglioramento delle alterazioni metaboliche tipiche del diabete di tipo 2 e dell'obesità.

EPIGENETICA DIABETE, OBESITA'E MITOCONDRIO

- Studi biomolecolari hanno dimostrato che l'inibizione di questi enzimi (in particolare dell'istone deacetilasi-3), provoca nel muscolo scheletrico
 - e nel tessuto adiposo
- l'aumento dell'espressione della proteina
 - **PGC-1 α**

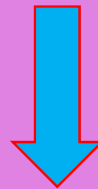


EPIGENETICA DIABETE, OBESITA' E MITOCONDRIO

- Pgc1- α (coattivatore 1 del proliferatore gamma del perossisoma) è un coattivatore di trascrizione.
- È una proteina che promuove la trascrizione, quindi l'espressione di numerosi geni, tra i quali quelli responsabili della regolazione della biogenesi mitocondriale e dell'ossidazione dei grassi
- Sembra avere anche un ruolo, ancora non completamente chiaro, nella differenziazione dei due tipi di cellule muscolari.
- Questa proteina è espressa maggiormente nelle fibre di tipo I e promuove l'angiogenesi indotta dall'attività fisica.
- Sembra inoltre probabile che sia responsabile della conversione delle fibre tipo IIb in fibre con maggiore capacità ossidativa.

EPIGENETICA DIABETE, OBESITA' E MITOCONDRIO

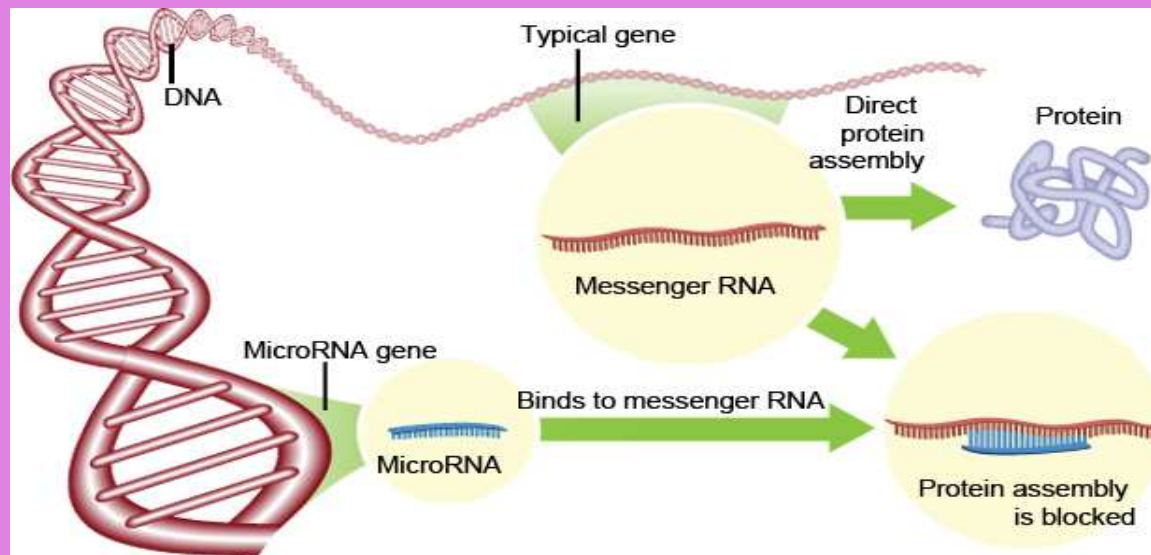
- Regolatore della trascrizione di molti geni coinvolti nella glicolisi e la lipogenesi e aumenta l'attività ossidativa dei mitocondri.



- La maggiore attività dei mitocondri consente di “bruciare” in modo più efficiente i grassi accumulati in questi tessuti e di impedirne l'eccessivo accumulo.

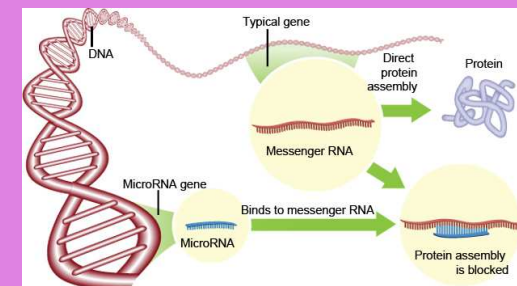
MODIFICHE DEI miRNA CON LA DIETA

- Famiglia di RNA non codificanti in cellule eucariote



MODIFICHE DEI miRNA CON LA DIETA

- sono regolatori post-trascrizionali
- si legano a sequenze complementari nell' RNA messaggero portandolo a una modificazione
- post-trascrizionale che determina repressione o aumentata degradazione dell'RNA.

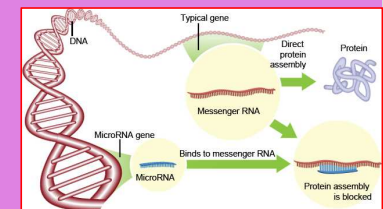


MODIFICHE DEI miRNA CON LA DIETA

- Hanno come bersaglio gli RNA prodotti dai geni classici, impedendo che questi vengano usati per la sintesi delle proteine

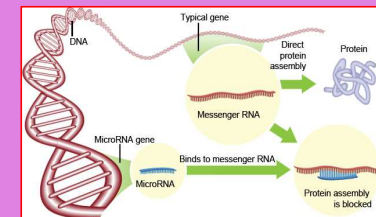


Interferenza ad RNA



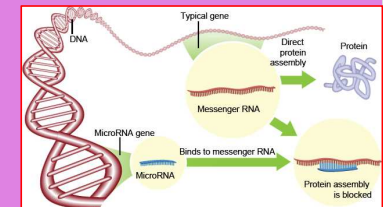
MODIFICHE DEI miRNA CON LA DIETA

- I miRNA possono anche causare modificazione degli istoni e la metilazione del promotore del DNA regolando così l'espressione di geni bersaglio.
- Il genoma umano codifica oltre 1000 miRNA, che colpiscono più del 50 % dei geni di mammifero in molti tipi di cellule umane.



MODIFICHE DEI miRNA CON LA DIETA

- Recenti esperimenti suggeriscono che la nutrizione (ad esempio, il consumo di grassi, proteine, alcool o vitamina E) influiscono sull'espressione di molti miRNA.



Milk disrupts p53 and DNMT1, the guardians of the genome: implications for acne vulgaris and prostate cancer

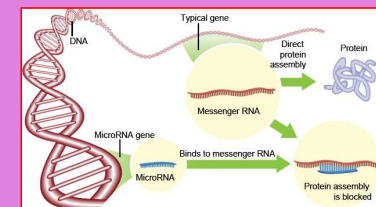
- Bodo C. Melnik
- *Nutrition & Metabolism*
- **volume 14**, Article number: 55 (2017)
- I miRNA assunti col latte frenano l'espressione genica della P53 della DNAmetil transferasi aumentando il rischio di patologie tumorali come il cancro alla prostata e l'acne vulgaris.
- Chi consuma molto latte aumenta l'anabolismo, la proliferazione cellulare e diminuiscono i meccanismi anti tumorali che riparano e frenano il ciclo cellulare

Milk disrupts p53 and DNMT1, the guardians of the genome: implications for acne vulgaris and prostate cancer

- Lo yogurt invece non contiene miRNA poiché distrutti dai fermenti lattici
- La sterilizzazione, la pastorizzazione e l'omogeneizzazione non distruggono i miRNA.
- Vengono proposte tecnologie come gli ultrasuoni e le microonde per distruggere i miRNA e rendere quindi il latte un alimento più sano.
- Uno dei miRNA più abbondanti nel latte è la miRNA125b che riduce l'espressione genica della p53 aumentando il rischio oncogeno.

MODIFICHE DEI miRNA CON LA DIETA

- Polifenoli (ad esempio antociani, curcumina e quercetina) a dosi nutrizionali modulano l'espressione dei miRNA del fegato nei topi in vivo.
- Modulazione dietetica con l'utilizzo di genisteina, curcumina, acido retinoico, olio di pesce potrebbe contribuire agli effetti protettivi dal cancro modulando l'espressione di miRNA.



RESTRIZIONE CALORICA

- **Effetti fisiologici della restrizione calorica (CR)**
- La riduzione dell'intake calorico evoca numerosi cambiamenti ormonali:
- Calo dei livelli insulinici e nell'attività della tiroide e dell'asse gonadotropo e somatotropo, mentre quella dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene risulta stimolata.



RESTRIZIONE CALORICA

- **CR** altera vari parametri fisiologici in risposta al deficit energetico, nell'animale da laboratorio si osserva:
- una diminuzione significativa della massa adiposa,
- della temperatura corporea,
- della pressione sistolica e diastolica.
- (Roth, Lane et al. 2005)



RESTRIZIONE CALORICA

CR altera l'espressione genica e favorisce l'espressione di geni coinvolti nella riparazione cellulare, nel turnover e nella sintesi proteica, nella resistenza allo stress e nel metabolismo del glucosio.

Numerosi geni implicati nei meccanismi di stress ossidativo e nell'infiammazione risultano downregolati (Ingram, Anson et al., 2004).

- **In sintesi, il declino delle funzioni cellulari associato all'invecchiamento è attenuato dalla CR (Dirks e Leeuwenburg, 2006).**



RESTRIZIONE CALORICA



Exp Gerontol. 2013 Nov 6.

Caloric restriction and aging stem cells: The stick and the carrot?

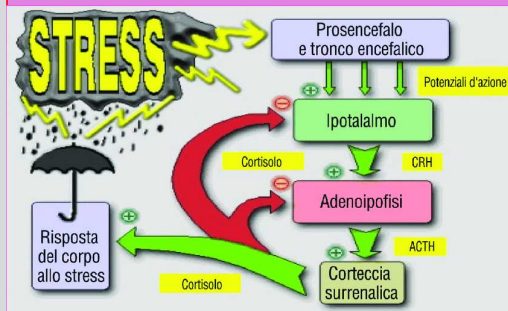
Mazzocchi G, Tevy MF, Borghesan M, Vergini MR, Vinciguerra M.

Caloric restriction is the most powerful anti-aging strategy conserved throughout evolution in the animal kingdom.

Reprogramming stem-like cell states and prolonging the capacity of stem cells to self-renew, proliferate, differentiate, and replace cells in several adult tissues.

RESTRIZIONE CALORICA

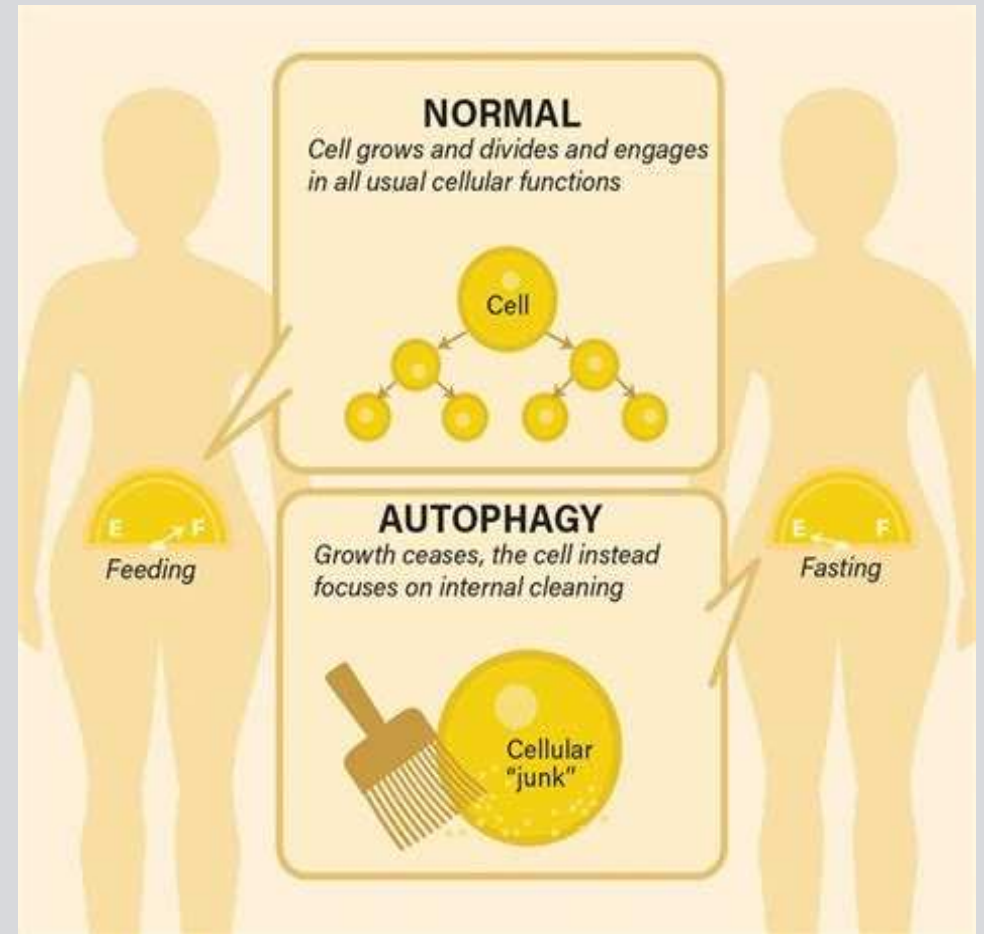
- Tra le ipotesi più recenti, quella della cascata dei glucocorticoidi, che afferma che tali ormoni, che giocano un ruolo essenziale nella risposta allo stress, siano causa di invecchiamento e che quindi la restrizione calorica operi attenuandone le vie di sintesi.



RESTRIZIONE CALORICA

- Le cellule adipose inoltre secernono fattori umorali (peptidi, citochine, TNF- α , fattori del complemento) che sembrano promuovere l'invecchiamento e le patologie ad esso legate, quando in eccesso.





RESTRIZIONE CALORICA

Dirks et al. hanno rilevato che una restrizione calorica dell' 8%



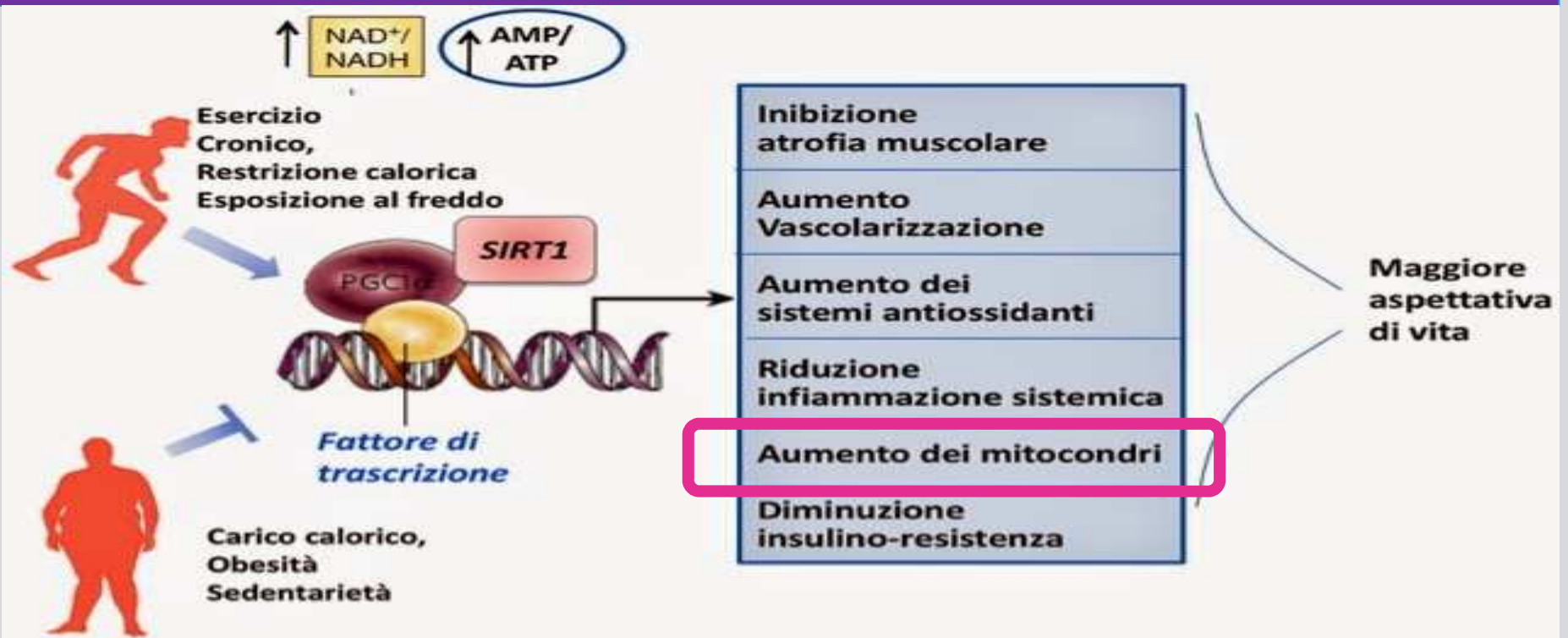
ha già effetti benefici su
specifici biomarkers biochimici e infiammatori



SIRTUINE E RESTRIZIONE CALORICA

- Enzimi che attivano, negli organismi superiori, la lipolisi e la gluconeogenesi e controllano i fenomeni infiammatori, la proliferazione cellulare, i fenomeni di invecchiamento telomerico e la risposta allo stress.
- Le sirtuine sono espressione dei geni SIRT, geni normalmente presenti nei cromosomi umani

SIRTUINE E RESTRIZIONE CALORICA



EFFETTO DEL GENE SIRT

SIRT1 INFLUENZA PROCESSI NEUROLOGICI:

MEMORIA, UMORE COMPORTAMENTO

ANIMALI CON ELIMINAZIONE GENETICA DI SIRT 1 MOSTRANO
DEFICIT COGNITIVI

I PRINCIPALI GENI COINVOLTI NELLA RESTRIZIONE CALORICA
SONO: SIRTUINE, AMPK, TOR, SENSIBILITA' INSULINICA

SIRTUINE E RESTRIZIONE CALORICA

- Uno dei principali substrati delle sirtuine sono gli istoni.
- L'acetilazione/deacetilazione degli istoni modifica il legame di queste proteine con il DNA



- permette al materiale genetico di interagire con altre proteine

SIRTUINE E RESTRIZIONE CALORICA

- E' inoltre stata osservata un'associazione tra attività fisica e l'aumento dei livelli di sirtuine, pertanto si ritiene che possano rientrare in varie tappe del metabolismo energetico, legato probabilmente all'incremento dell'acetil-CoA.
- Le sirtuine, oltre ad essere attivate naturalmente dalla restrizione calorica, vengono attivate dai cosiddetti "attivatori delle sirtuine", tra cui il più potente è il resveratrolo.

RESVERATROLO, OBESITA' E DIABETE

- Resveratrolo migliora il bilancio energetico, aumentando la sensibilità all'insulina
- Aumenta la funzione mitocondriale nel topo stimolando la deacetilazione di PGC-1 α , un coattivatore di recettori nucleari ormonali che promuove la biogenesi mitocondriale nel muscolo scheletrico e nel tessuto adiposo bruno.

mTOR

- **mTOR** (acronimo di **mammalian target of rapamycin**, *bersaglio della rapamicina nei mammiferi*) è una protein-chinasi che fosforila serina e treonina;
- regola la crescita, la proliferazione, la motilità e la sopravvivenza delle cellule, la sintesi proteica e la trascrizione.

AMPK

◦ L'attivazione di questo enzima, determina la formazione di nuovi mitocondri, ma allo stesso tempo prende parte ad altre funzioni:

- favorisce lo sviluppo di energia dai grassi,
- limita il meccanismo di sintesi del colesterolo,
- tende a migliorare il flusso sanguigno.

AMPK

- Polifenoli sono in grado di attivare l'AMPK aiutando la cellula a raggiungere uno stato energetico ottimale



- Importanti implicazioni sul funzionamento del nostro organismo

AMPK

l'AMPK, potrebbe rallentare il processo di invecchiamento di alcuni organi chiave, quali il cervello o l'intestino, contribuendo a fornire prospettive di studio per alcune malattie legate all'età, come l'Alzheimer, il cancro, l'ictus, le malattie cardiovascolari e il diabete.

Ad affermarlo è un gruppo di ricercatori statunitensi, della University of California (Los Angeles), che ha osservato un aumento del 30% della durata della vita dei moscerini della frutta, attivando nell'intestino di questi animali il gene AMPK.

Lo studio è pubblicato su *Cell Reports*.

Nel corso dello studio, i ricercatori hanno preso in considerazione circa 100mila esemplari di moscerini della frutta (*Drosophila melanogaster*).

AMPK

Il gene AMPK è un sensore di energia 'chiave' per la cellula.

Aumentando la quantità di questo gene nell'intestino degli animali, si è osservato un aumento del 30% della durata della loro vita.

“Abbiamo mostrato che quando attiviamo il gene nell'intestino o nel sistema nervoso, osserviamo che il processo di invecchiamento rallenta e non solo nell'organo in cui viene attivato”
(**David Walker**, Professore Associato di Integrative biology e Physiology all'UCLA)

Attivando l'AMPK in un organo più accessibile, come ad esempio l'intestino, il risultato potrebbe essere quello di rallentare il processo di invecchiamento in tutto il corpo, compreso il cervello.

INFIAMMAZIONE E RESTRIZIONE CALORICA

- Sci Rep. 2017 Sep 20;7(1):11955.
- Effect of caloric restriction on gut permeability, inflammation markers, and fecal microbiota in obese women.
- Ott B1,2, Skurk T1,2, Hastreiter L1, Lagkouvardos I2, Fischer S2, Büttner J3, Kellerer T1, Clavel T2,4, Rychlik M5, Haller D2,6, Hauner H7,8,9.

INFIAMMAZIONE E RESTRIZIONE CALORICA

- Associazione tra obesità, perdita della funzione di barriera intestinale e cambiamenti nei profili del microbiota.
- Esaminare l'effetto della restrizione calorica e della conseguente riduzione del peso sulla permeabilità intestinale nelle donne obese.
- È stato anche studiato l'impatto sui marker infiammatori e sul microbiota fecale.
- La dieta a bassissimo contenuto calorico di 4 settimane (800 kcal /giorno) ha indotto una perdita di peso media di $6,9 \pm 1,9$ kg accompagnata da una riduzione dell'HOMA-IR (valutazione della resistenza all'insulina), glicemia a digiuno e insulina, leptina plasmatica ed espressione genica della leptina nel tessuto adiposo sottocutaneo.

INFIAMMAZIONE E RESTRIZIONE CALORICA

- L'adiponectina plasmatica ad alto peso molecolare (adiponectina HMW) risultava significativamente aumentata.
- I livelli plasmatici di proteina C-reattiva ad alta sensibilità (hsCRP) e proteina legante i lipopolisaccaridi (LBP) diminuivano significativamente dopo 28 giorni di dieta.
- Questi cambiamenti nei parametri clinici non erano associati a importanti cambiamenti nelle comunità batteriche dominanti nelle feci.
- In sintesi, una restrizione calorica di 4 settimane ha comportato una significativa perdita di peso, un miglioramento dell'integrità della barriera intestinale e una riduzione dell'infiammazione sistemica nelle donne obese.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

- Aspetto bidirezionale
- I mitocondri sono mediatori essenziali dei processi epigenetici
- I cambiamenti nell'epigenoma regolano la funzione mitocondriale.

- Il DNA mitocondriale può essere metilato, sebbene il suo significato biologico rimanga sconosciuto.
- I cambiamenti mediati dai mitocondri nell'epigenoma influenzano le risposte a stress e longevità.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

Attraverso meccanismi epigenetici le cellule integrano gli stimoli ambientali per ottimizzare i livelli di espressione genica.

La funzione mitocondriale è essenziale per fornire i metaboliti intermedi necessari per generare e modificare i segni epigenetici nel nucleo, che a loro volta possono regolare l'espressione delle proteine mitocondriali.

La funzione dei mitocondri nella regolazione dei meccanismi epigenetici rappresenta un nuovo aspetto della comunicazione mitonucleare.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

- I mitocondri hanno il loro genoma indipendente - il mtDNA – un residuo dalla loro origine batterica, che è stato notevolmente ridotto
- Il mtDNA dei mammiferi contiene 37 geni: due RNA ribosomiali, 22 RNA di trasferimento e 13 proteine che fanno parte dei complessi mitocondriali.
- Il resto del proteoma mitocondriale, comprendente più di 1000 proteine, è codificato nel nucleo.
- Mentre il mtDNA circolare esiste in copie multiple in ogni mitocondrio è ridondante ed è ereditato dalla madre.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

- La funzione mitocondriale dipende dal coordinamento dei genomi nucleare e mitocondriale, e quindi la trascrizione e la traduzione di entrambi i genomi sono co-regolate
- La funzione dei mitocondri è controllata dal nucleo attraverso un meccanismo chiamato "regolazione anterograda" (segnalazione dal nucleo ai mitocondri) che promuove la biogenesi e regola l'attività mitocondriale per soddisfare le esigenze cellulari.
- I mitocondri possono a loro volta controllare l'espressione dei geni nucleari attraverso una "risposta retrograda" (segnalazione dai mitocondri al nucleo), modificando così la funzione cellulare e riprogrammandone il metabolismo.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

- Questa regolazione bidirezionale, costituisce una solida rete che mantiene l'omeostasi cellulare e regola l'adattamento a una varietà di fattori di stress.
- Oltre a questa regolazione bidirezionale, i cambiamenti ambientali e il metabolismo cellulare possono modificare l'espressione genica regolando l'epigenoma.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

- Le modifiche epigenetiche sono strettamente dipendenti dallo stato di energia cellulare, per cui i livelli dei metaboliti sono regolati dal metabolismo intermedio e dalla funzione mitocondriale.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

- I livelli cellulari di acetil-CoA sono strettamente dipendenti dallo stato energetico: quando la produzione di energia è elevata, l'acetil-CoA è sovraregolato, promuovendo l'acetilazione degli istoni.
- Quando il metabolismo cellulare è lento, la diminuzione dei livelli di acetil-CoA riduce l'acetilazione, sopprimendo l'espressione genica attraverso la condensazione della cromatina.

EPIGENETICA E MITOCONDRI

- L'acetil-CoA può essere generato da diverse vie metaboliche e intermedi tra cui glicolisi e piruvato, ossidazione degli acidi grassi, acetato, corpi chetonici e amminoacidi.
- Nei mitocondri, acetil-CoA e ossaloacetato vengono convertiti in citrato per opera della citrato sintasi nel ciclo dell'acido tricarbossilico (TCA).
- Successivamente, il citrato viene esportato nel citosol dove viene convertito, in una reazione inversa, in acetil-CoA e ossaloacetato mediante ATP-citrato liasi.

Funzione mitocondriale e regolazione epigenetica



La funzione mitocondriale è essenziale per fornire metaboliti intermedi necessari per generare e modificare i segni epigenetici, in particolare l'acetilazione e la metilazione dell'istone e anche la metilazione del DNA.

Metilazione del Dna

- La metilazione del DNA è un processo epigenetico fondamentale che modifica la struttura della cromatina e regola l'espressione genica modificando la struttura di un singolo nucleotide.
- Negli eucarioti, la modifica del DNA più comune è la 5-metilcitosina (5mC), sebbene altre modifiche al DNA come N6-methyladenine (6mA) sono state recentemente descritte sia negli invertebrati che nei mammiferi.

Metilazione del Dna

- I livelli di metilazione del DNA inoltre cambiano nel corso della vita di un animale e servono come stima dell'età cronologica dei tipi di cellule, dei tessuti e degli organi, definita come l'orologio epigenetico.

Metilazione del Dna

- La metilazione del DNA si verifica in genere su siti CpG che sono spesso raggruppati in regioni, note come isole CpG, che contengono un'alta frequenza di dinucleotidi CpG.
- Molti geni mitocondriali, sono regolati dalla metilazione del DNA sul loro promotore o sulle regioni introniche.

Demetilazione del Dna

- Esistono diversi meccanismi di demetilazione del DNA.
- I processi attivi richiedono l'ossidazione dei residui di metile sulle citosine, generando 5-idrossimetilcitosina (5hmC).
- La disfunzione mitocondriale o la deregolazione del ciclo TCA influiscono sulla metilazione del DNA.

Stress mitocondriale e regolazione epigenetica

- Lo stress mitocondriale modifica l'epigenoma attraverso un'ampia riorganizzazione della cromatina.
- *C. elegans* dimostra che le specie di ossigeno reattivo mitocondriale (mtROS) attivano omologhi di alcune chinasi in risposta al danno del DNA.
- Ciò porta alla repressione della trascrizione subtelomerica e ad una maggiore longevità.
- La funzione mitocondriale regola la longevità modulando l'epigenoma.

Alimentazione e Mitochondri

- **Mitochondri danneggiati: i rischi**
- Danni ai mitocondri possono provenire da cibi che aumentano l'infiammazione generalizzata.
- Per cui aumento del rischio di sviluppare diabete e varie condizioni neurologiche come il morbo di Parkinson, Alzheimer, Sclerosi Multipla e la Sclerosi laterale amiotrofica.
- Importante è **incrementare i livelli di BDNF (fattore neurotrofico cerebrale)** che protegge i neuroni e gioca un ruolo nella creazione di nuovi neuroni.

Alimentazione e Mitochondri

- Il gene che attiva la produzione di BDNF è stimolato da diversi fattori:
- **restrizione calorica,**
- **curcumina,**
- **DHA (omega-3),**
- **digiuno a intermittenza,**
- **esercizio fisico,**
- **stimolo intellettuale,**
- **meditazione.**

Alimentazione e Mitochondri

- Una dieta con un **moderato consumo di carboidrati** sembra essere un carburante efficiente per i mitocondri e attiva la BDNF.
- Al contrario una dieta occidentale tipica, altamente infiammatoria, abbassa i livelli di questa necessaria proteina.

Alimentazione e Mitochondri

- La creazione di energia nel mitocondrio dipende:
- proteine, grassi e carboidrati;
- Vitamine del gruppo B, coenzima Q10 e antiossidanti;
- **vegetali (in particolare crucifere crude) e frutta** ricchi di fitonutrienti;
- consumo adeguato di grassi può influenzare le funzioni e le performance dei mitocondri avendo un impatto sulla membrana interna del mitocondrio.

Alimentazione e Mitochondri

- **Il Glutathione e' uno degli anti-ossidanti più importanti** a livello cellulare prodotto dal nostro corpo,
- coinvolto nel processo di disintossicazione,
- vegetali, spezie e proteine nella nostra dieta ci permettono di produrre e utilizzare importanti antiossidanti come il glutathione, la vitamina C e N-acetil-cisteina per la protezione cellulare dalla natura distruttiva dei radicali liberi.

Alimentazione e Mitocondri

- I polifenoli poi, contenuti in tutti i cibi terapeutici, specialmente mirtilli, fragole, noci ecc. hanno dimostrato la capacità di aumentare le funzioni cognitive e diminuire le infiammazioni.
- Potenzialmente potrebbero **allungare la durata della vita**.
- Inoltre altri studi hanno dimostrato la loro capacità di prevenire l'Alzheimer.
- La curcuma ad esempio che contiene curcumina, un potente anti-infiammatorio, dimostra come le persone che ne fanno uso regolare performano meglio nei test cognitivi!

Alimentazione e Mitocondri

- **Grassi di Alta Qualità**

- L'olio di cocco per esempio contiene grassi saturi ottimi per il cervello, contiene trigliceridi a catena media che supportano le funzioni mitocondriali, modulano l'infiammazione e migliorano le abilità cognitive.

Alimentazione e Mitochondri

- **Digiuno a Intermittenza e Restrizione Calorica**
- La ricerca suggerisce che possiamo ottimizzare le **funzioni cerebrali, la longevità, e un invecchiamento sano** attraverso la restrizione calorica e il digiuno ad intermittenza.
- Il digiuno infatti attiva geni deputati alla sopravvivenza cellulare riducendo l'infiammazione.

Alimentazione e Mitochondri

- La restrizione calorica può inoltre essere salutare per i nervi.
- Mangiare meno calorie di quelle richieste dal nostro metabolismo basale (BMR) permette al cervello di creare nuovi neuroni, diminuendo i radicali liberi migliorando l'abilità di generare energia (ATP) **e aumentando il numero dei mitocondri presenti.**

Alimentazione e Mitocondri

- **Impatto Glicemico Ridotto**
- Ridurre il metabolismo del glucosio limitando l'ingestione di carboidrati può avere **effetti profondi nella prevenzione dell'Alzheimer.**
- Ricerche recenti suggeriscono che anche una leggera elevazione degli zuccheri nel sangue può aumentare il rischio di demenza.

Alimentazione e Mitochondri

- **Cereali senza glutine**
- Limitare il glutine a causa dell'**infiammazione causata dai cereali moderni** che li contengono.
- Inoltre i cereali in generale vengono limitati dando più spazio a vegetali ricchi di fitonutrienti e a basso impatto glicemico.

Cellular Metabolism and Aging

- Prog Mol Biol Transl Sci. 2018; 155: 85–107.
- Published online 2018 Feb 1. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.12.003
- PMCID: PMC5967871
- NIHMSID: NIHMS967379
- PMID: 29653684

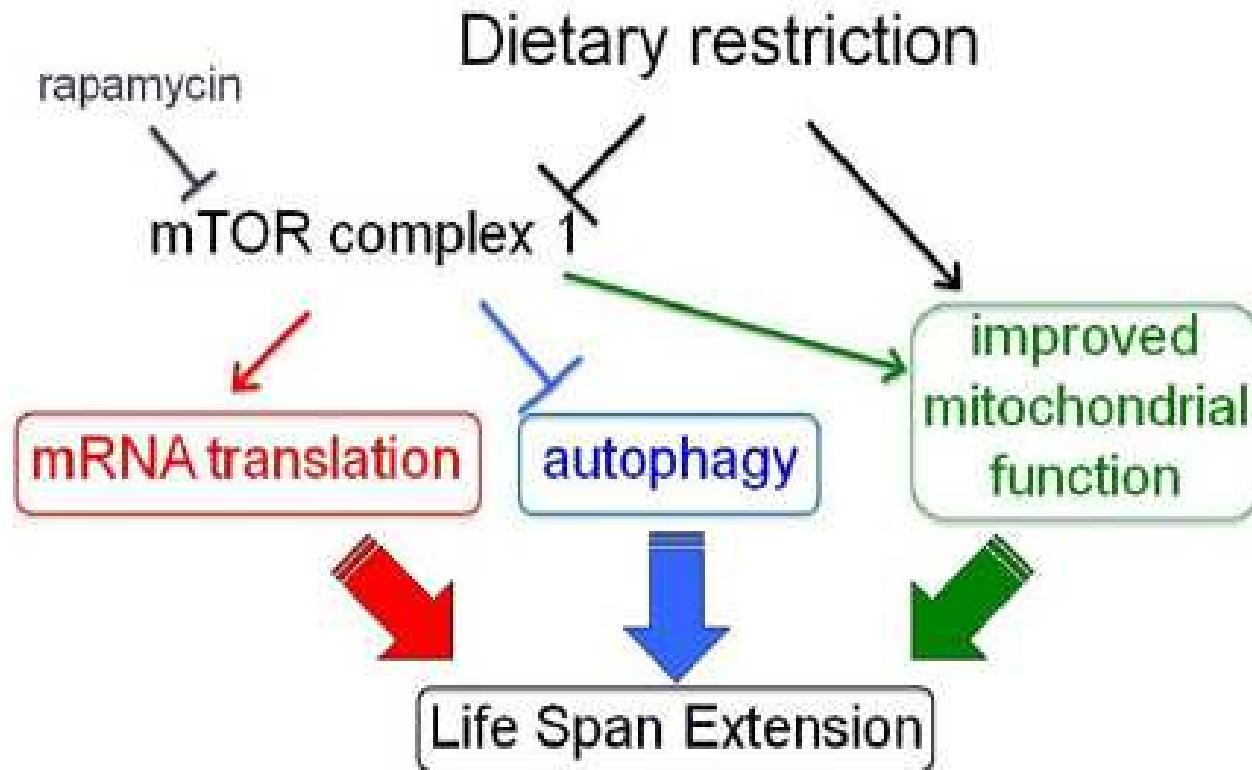
Cellular Metabolism and Aging

- IGF1 e mTOR rappresentano percorsi anabolici di "alta energia", i fattori catabolici di "bassa energia" AMPK e sirtuine migliorano l'attività mitocondriale per produrre più ATP attraverso l'ossidazione degli acidi grassi e inducono l'autofagia per riciclare i nutrienti.
- Sfortunatamente, lo stile di vita occidentalizzato, che consiste in una dieta ipercalorica e un esercizio limitato, sottoregola AMPK e sirtuine.

Cellular Metabolism and Aging

- La restrizione calorica stimola un'efficiente produzione di ATP attraverso l'assunzione di glucosio e la glicolisi, l'ossidazione degli acidi grassi e inducendo percorsi di riciclaggio per ricostituire l'energia.
- L'AMPK è un mediatore chiave della longevità e l'induzione dell'autofagia.
- Il riciclo degli organelli cellulari aumenta i livelli di aminoacidi lisosomiali, che vengono rilevati dal complesso mTOR.

In risposta all'esaurimento dei nutrienti, l'attività mTOR è ridotta e ciò si traduce in una cascata di eventi a valle che hanno dimostrato promuovere la longevità e migliorare la resistenza allo stress.



Relazione tra esercizio fisico e miRNA

Si è visto che l'esercizio fisico di forza modula l'espressione di vari miRNA.

In uno studio di Davidsen e colleghi (2011), una coorte di giovani maschi adulti, ha svolto 12 settimane di allenamento di resistenza e gli autori hanno poi esaminato i livelli di espressione dei miRNA.

Si è notato che il cambiamento nell'espressione di miR-378 ha mostrato una correlazione significativa al miglioramento della massa magra, portando gli autori a ipotizzare che i livelli di miR-378, sono necessari per la conversione della composizione corporea, migliorando così la massa magra.

Relazione tra esercizio fisico e miRNA

Recentemente si è anche registrato che i miR-378 controllano il metabolismo mitocondriale e la bioenergetica attraverso la regolazione di PGC1- β , e nel contesto dell'esercizio, sarebbe probabilmente una risposta fisiologica.

Pertanto, la crescita ipertrofica minore di alcune persone, potrebbe essere dovuta ad una loro predisposizione ad un fenotipo aerobico rispetto ad un fenotipo ipertrofico.

Cellular Metabolism and Aging

- Longo V. et al.
- Intervention to slow aging in humans: are we ready? *Aging*
- *Cell*. 2015

Conclusioni

Cosa possiamo fare per invecchiare in salute?

1. interventi nutrizionali che simulano una **restrizione calorica** cronica come i digiuni periodici (periodic fasting mimicking diets) o la restrizione proteica;
2. assunzione di principi attivi che inibiscano l'**asse ormonale GH/IGF-1**;
3. assunzione di principi attivi che inibiscano il **pathway mTOR-S6K**;
4. assunzione di principi attivi che promuovano la **sintesi di AMPK o di specifiche sirtuine**.

Conclusioni

Cosa possiamo fare per invecchiare in salute?

1. interventi nutrizionali che simulano una **restrizione calorica** cronica come i digiuni periodici (periodic fasting mimicking diets) o la restrizione proteica;
2. assunzione di principi attivi che inibiscano l'**asse ormonale GH/IGF-1**;
3. assunzione di principi attivi che inibiscano il **pathway mTOR-S6K**;
4. assunzione di principi attivi che promuovano la **sintesi di AMPK o di specifiche sirtuine**.

Conclusioni

- Nel modello murino gli animali che seguono la restrizione di metionina mostrano un incremento dell'età media del 42% - 44% per l'età massima rispetto ai controlli che assumono anche la metionina, analoghi risultati si ottengono tramite protein e calorie restriction.
- La riduzione di metionina nella dieta si associa alla diminuzione dei livelli di specie reattive dell'ossigeno nei mitocondri e dello stress ossidativo, a bassi livelli di insulina e di IGF-1 e a bassa adiposità.

Conclusioni

A seguito della restrizione proteica la sintesi del GH (**Growth Hormone, ormone della crescita**) diminuisce sensibilmente.

L'ormone, secreto dall'ipofisi, una volta sintetizzato, diffonde attraverso la circolazione ematica e giunge al fegato.

Qui promuove la sintesi di **IGF-1, Insulin like Growth Factor 1, (somatomedina)**.

L'IGF-1 gioca un ruolo importante nel promuovere la crescita cellulare ma è coinvolto anche nella crescita delle cellule tumorali.

Quindi una modulazione della sua sintesi potrebbe essere una valida strategia di prevenzione delle malattie oncologiche.

Conclusioni

mTOR (Mammalian Target Of Rapamycin, bersaglio nei mammiferi della rapamicina) è una protein chinasi in grado di regolare, attraverso l'intervento dell'**S6K1** (chinasi della proteina ribosomiale S6), la crescita cellulare.

mTOR viene descritto come:

un sensore della disponibilità di nutrienti.

Così ad esempio in condizione di deficit energetico questa chinasi promuove l'autofagia della cellula muscolare; con mobilitazione delle proteine a favore della glicogenesi epatica;

anche in condizioni di criticità i parenchimi nobili (cuore, cervello, polmone e fegato) vanno preservati garantendo loro un adeguato apporto di glucosio.

Sistema complesso attraverso il quale la cellula percepisce quale sia l'ambiente esterno (abbondanza o carenza di nutrienti) e in conseguenza di ciò prende le sue decisioni per il futuro.

Conclusioni

L'idea è che le cellule che sono più suscettibili ad “affamarsi” durante il digiuno siano proprio quelle neoplastiche.

La restrizione calorica viene dunque interpretata come una specie di lavaggio interno attraverso il quale spazzare via le cellule malate.

Conclusioni

L'**AMPK**, serina-treonina chinasi attivata dall'AMP, viene definita il “**master**” **regolatore del metabolismo**.

Essa è in grado di controllare lo stato energetico della cellula e di coordinare la risposta metabolica quando l'omeostasi energetica viene ripristinata.

La sintesi di AMPK è attivata dalla restrizione calorica e da tutti quei fattori che promuovono il rilascio di Ca^{2+} a livello intracellulare (vedi contrazione muscolare).

Conclusioni

Merito dell'AMPK se ai diabetici fa bene l'esercizio fisico: la molecola agisce come mediatore chiave nel trasporto di glucosio a livello della fibra muscolare con meccanismo indotto dalla contrazione ed insulino-indipendente.

Nel meccanismo d'azione degli ipoglicemizzanti orali come la metformina sembra sia implicata l'attivazione dell'AMPK.

Conclusioni

L'AMPK regola una miriade di eventi quali l'infiammazione, lo stress ossidativo, l'autofagia, la funzione mitocondriale e l'ossidazione degli acidi grassi.

In ultimo le **sirtuine** (il primo gene della longevità ad essere identificato), sono degli enzimi deacetilasi il cui ruolo è quello di spengere i geni.

Attraverso il silenziamento genico le sirtuine sono in grado di regolare la produzione di insulina e glucosio e il metabolismo lipidico.

Si ipotizza che la restrizione calorica possa promuovere la sopravvivenza cellulare mediante l'induzione delle sirtuine.

Conclusioni

- **Lotta all'invecchiamento, il segreto è nei mitocondri**
- **ALIMENTAZIONE SBAGLIATA: IL NEMICO PEGGIORE**
- L'eccesso di cibi di scarsa qualità, ricchi di zuccheri e calorie, ma poveri in micronutrienti è un fattore di enorme stress per i mitocondri costretti a scavare tra i “rifiuti” in cerca di qualcosa di utile per trasformare i macronutrienti in energia.
- La carenza di nutrienti necessari al buon funzionamento dei mitocondri sta alla base di obesità e diabete di tipo 2 e altre patologie.



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

dott.ssa Margherita Borsa

www.margheritaborsa.it