



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di “Scienza della Senescenza, Urologiche e Neurologiche”

Dottorato di ricerca in Fisiopatologia della senescenza

XXIV ciclo

Coordinatore: Chiar.mo Prof. M. Malaguarnera

Dott.ssa CHRISTINA TSIANAKA

LA CARNITINA NELL'ANZIANO: PROSPETTIVE TERAPEUTICHE

TESI DI DOTTORATO

Tutor:

Chiar.mo Prof. M. Malaguarnera

A.A. 2010/211

Indice

INTRODUZIONE.....	02
LA CARNITINA.....	05
FONTI NUTRIZIONALI.....	06
BIOSINTESI.....	07
TRASPORTO E DISTRIBUZIONE NEI TESSUTI.....	08
LIVELLI SIERICI DI CARNITINA.....	09
CARNITINA NEL METABOLISMO.....	10
CARNITINA E MIOCARDIO.....	13
CARNITINA E SISTEMA NERVOSO CENTRALE.....	15
ALTERAZIONI DEL SISTEMA DELLA CARNITINA NEL PAZIENTE ANZIANO.....	17
CONCENTRAZIONI PLASMATICHE DI CARNITINA. NEGLI ANZIANI.....	21
I MITOCONDRI E IL DNA MITOCONDRIALE RUOLO DELLO STRESS OSSIDATIVO NEL PROCESSO DI INVECCHIAMENTO.....	23
PAZIENTI E METODI.....	27
PROGETTO DI STUDIO.....	27
CRITERI DI CONCLUSIONE.....	28
METODI.....	29
RISULTATI.....	30
DISCUSSIONE.....	32
CONCLUSIONI.....	34
BIBLIOGRAFIA.....	35

Introduzione

Nel 2030 si prevede che circa il 20% della popolazione avrà più di 65 anni. (Amici et al., 2004) .La percentuale di individui di età superiore ai 65 anni è aumentata dall'8% circa nel 1950 al 13% circa nel 1990. L'anziano, come il soggetto delle restanti fasce di età, merita di avere una qualità di vita quanto più possibile ottimale. Conoscere le patologie concomitanti consente, infatti, di programmare un protocollo terapeutico completo ed individualizzato. Spesso il necessario approfondimento diagnostico e il conseguente appropriato trattamento non vengono effettuati a causa dell'approccio fatalistico ai problemi dell'anziano, dell'errata idea di un'aspettativa di vita molto limitata, della scarsa attenzione prestata a sintomi di patologie concomitanti (Monfardini et al., 1998) o più frequentemente sintomi di neoplasie vengono interpretati come manifestazioni legate all'età o alle comorbilità. (Malaguarnera et al., 2000). L'invecchiamento è un processo

caratterizzato da un lento declino delle funzioni fisiologiche, da una graduale compromissione dei vari organi ed apparati, che indeboliscono l'organismo fino a condurre alla morte. La riduzione funzionale generalizzata dei vari organi ed apparati che si verifica durante il processo di invecchiamento è determinata e sostenuta da una riduzione della funzionalità delle singole cellule. Con l'avanzare dell'età la composizione corporea si modifica, varia la concentrazione plasmatica e cellulare di molte sostanze, si riduce la disponibilità di substrati energetici, ed i sistemi enzimatici che intervengono nella produzione di energia diventano meno efficienti. Il deficit di produzione di energia ha importanti ripercussioni soprattutto a carico di alcuni tessuti, come la muscolatura scheletrica o il tessuto cerebrale. Le conseguenze sono rappresentate da una diminuzione della forza muscolare e da un'aumentata fatigue, nonché da un progressivo deterioramento delle funzioni cerebrali.

Sono state proposte diverse teorie per cercare di identificare le cause che determinano il processo irreversibile della senescenza.

Studi condotti negli ultimi anni hanno evidenziato che i mitocondri hanno un ruolo importante nel processo di invecchiamento (Brierley, 1997; Brand, 2000).

Tra tutte le sostanze la cui concentrazione diminuisce nell'invecchiamento, la carnitina riveste un ruolo di importanza fondamentale, data la sua funzione nella produzione di energia. La carnitina ed i suoi esteri sono composti presenti in condizioni normali nell'organismo. Si tratta di una sostanza indispensabile per il trasporto degli acidi grassi, attraverso la membrana mitocondriale interna, verso il loro sito di ossidazione con produzione di energia sotto forma di ATP; una delle più importanti conseguenze del deficit di carnitina è pertanto rappresentata da alterazioni nelle vie metaboliche che conducono alla produzione di substrati energetici. Negli anziani vi sono variazioni nella concentrazione plasmatica di carnitina, anche se non si conoscono le cause. I livelli di carnitina aumentano con l'avanzare dell'età fino ai 70 anni circa, successivamente tendono a diminuire parallelamente alla riduzione del BMI e della massa muscolare. Inoltre variazioni nel regime alimentare, come

conseguenza di patologie gastrointestinali, possono influenzare la concentrazione di carnitina nell'organismo. La carnitina è una sostanza necessaria per l'energia del muscolo scheletrico e cardiaco. Pertanto la riduzione dei livelli di carnitina in soggetti anziani può spiegare la sarcopenia e la fatigue sia fisica che mentale evidenziabili in tali soggetti. Il muscolo scheletrico è il principale reservoir di carnitina (ne sono presenti concentrazioni almeno da 50 a 200 volte maggiori che nel sangue).

L'età avanzata può portare a conseguenze opposte sulla fatigue: da un lato, la limitata riserva funzionale e le comorbidità possono incrementare la severità della fatigue, dall'altro, la ridotta attività fisica e il declino cognitivo possono affievolire la percezione della fatigue. Il meccanismo della fatigue non è stato ancora chiarito: sebbene la fatigue è associata ad anemia e depressione, altri meccanismi possono entrare in gioco. Di particolare interesse sono gli studi sulle citochine infiammatorie, le quali agiscono in qualità di mediatori del processo infiammatorio o come fattori di crescita tumorali con meccanismo autocrino o paracrino. Alterazioni immunologiche sono state dimostrate in pazienti con sindrome da fatica cronica e nella fatie correlata al cancro. (Kurrock, 2001; Vollemer-Conna et al.,

1998) Ciò è particolarmente evidente in soggetti anziani, in cui le concentrazioni di Interleukina 1 e 6 e TNF incrementano con l'età (Hamerman et al., 1999) portando a perdita di energia e sarcopenia. Nei soggetti oncologici tale citochine incrementano notevolmente, portando ad un ulteriore peggioramento della fatigue.

L'uso della LAC è giustificato dalla sua capacità di migliorare il metabolismo energetico. Con l'invecchiamento si ha una compromissione negativa dei substrati energetici e dei sistemi enzimatici che intervengono nella produzione di energia. Il deficit di produzione di energia ha importanti ripercussioni soprattutto a carico di alcuni tessuti, come la muscolatura scheletrica o il tessuto cerebrale. Negli anziani vi sono riduzioni della concentrazione plasmatica di carnitina, parallelamente alla riduzione del BMI e della massa muscolare. Lo studio effettuato sui centenari nel 1999 presso il nostro Istituto ha messo in evidenza livelli

plasmatici più elevati di carnitina nei centenari rispetto alla popolazione anziana di controllo (Malaguarnera, 1999; Malaguarnera 2007). Inoltre variazioni nel regime alimentare, come conseguenza di patologie gastrointestinali, possono influenzare la concentrazione di carnitina nell'organismo.

La somministrazione esogena di L-carnitina ed L-acetil-carnitina può consentire la correzione delle funzioni immunologiche e il miglioramento delle funzioni energetiche. (Malaguarnera et al., 2002) . Un analogo efficace effetto della LAC somministrata a soggetti anziani si è avuto in un altro studio effettuato dal nostro gruppo. (Malaguarnera, 2008) D'altronde lo studio effettuato sempre nel nostro Istituto nel 2003 ha evidenziato che la somministrazione orale di L-carnitina determina una riduzione della massa grassa, un aumento della massa muscolare ed inoltre agevola l'attività fisica riducendo la fatica fisica e mentale. (Pistone, 2003)

LA CARNITINA

La carnitina (acido 3-idrossi-4-trimetilaminobutirrico) è un elemento di fondamentale importanza nella produzione di energia a livello cellulare, in quanto rappresenta il fattore necessario per il trasporto degli acidi grassi all'interno dei mitocondri, dove si trovano gli enzimi adibiti alla loro ossidazione. Fu identificata nel 1905 negli estratti di carne. Il tessuto del miocardio e del muscolo scheletrico rappresentano le sedi di maggior richiesta energetica (Fraenkel e Friedman, 1957; Rebouche e Seim, 1998). Può essere sintetizzata nel cervello, nel fegato o nel rene ad opera dell'enzima ALC-transferasi a partire da lisina, metionina ed in presenza di vitamina C ed altre sostanze che fungono da substrato o cofattori. Il sistema delle carnitine è costituito dalla L-carnitina, dai suoi esteri (L-acetilcarnitina, L-propionilcarnitina) e da un complesso sistema enzimatico, localizzato a livello della membrana mitocondriale, che comprende: Carnitina Palmitoil Transferasi I-II (CPT I-II), Carnitina/Acilocarnitina Traslocasi (CT), Carnitina Acetil Transferasi (CAT). Il trasferimento avviene attraverso l'azione di due enzimi, la carnitina-palmitoil-transferasi I e II. Questi enzimi sono localizzati rispettivamente sulla superficie esterna e interna della membrana mitocondriale.

FONTI NUTRIZIONALI

Circa il 75% della carnitina totale del corpo deriva da fonti alimentari di carnitina, lisina e metionina. Diversamente ad altri alimenti quali calcio, ferro, sodio e potassio, l'introito alimentare della carnitina si correla con la sua concentrazione plasmatica (Lennon 1986). Gli aminoacidi necessari per la sintesi della carnitina, lisina e metionina, derivano sia dalla dieta che dalla degradazione endogena di proteine. La quantità di lisina e metionina della dieta può interferire con la biosintesi di carnitina, specialmente se l'introito di carnitina è basso, come nei vegetariani (Krajcovicova-Kudlackova 2000; Rebouche 1989).

La concentrazione della carnitina nell'uomo varia con la composizione corporea, il sesso e la dieta. Se in soggetti adulti magri viene ridotto l'introito alimentare della carnitina, diminuirà sia la concentrazione plasmatica della carnitina totale e libera, sia l'escrezione urinaria di carnitina libera. Al contrario, in un soggetto obeso che viene messo a dieta povera di carnitina, la risposta sarà attutita (Hoppel and Genuth 1980). Inoltre nelle femmine le concentrazioni plasmatiche ed urinarie sono più basse che nell'uomo (Lombard 1989). L'assorbimento della carnitina della dieta attraverso il tratto gastrointestinale dipende dal carico orale consumato. La quota non assorbita viene degradata da batteri in tri-metilamina e γ -butirrobetaina (Rebouche 1991, Sahajwalla 1995).

Anche il tipo di dieta influisce sulla quantità di carnitina presente nell'organismo, poiché la carnitina si trova principalmente negli alimenti di origine animale; minori quantità si trovano nei cereali, nella frutta, nei vegetali. Per cui vegetariani (Lombard 1989; Cederblad 1987) o soggetti con alimentazione prevalentemente a base di cereali (Khan-Siddiqui 1980) hanno una concentrazione plasmatica di carnitina più bassa, rispetto a chi consuma cibi contenenti proteine animali. Anche i grassi introdotti con la dieta influiscono sulla quantità di carnitina nell'organismo. Per esempio, coloro che nella loro alimentazione fanno prevalere i grassi a scapito dei carboidrati hanno concentrazioni maggiori di carnitina plasmatica totale e libera e una maggiore escrezione urinaria di carnitina totale, libera e acil-carnitina, rispetto a soggetti con dieta povera di grassi e ricca di carboidrati. (Cederblad 1987). Altrettanto importante è l'assunzione di vitamina C, ferro, piridossina e niacina, necessari per la biosintesi della carnitina ed un apporto insufficiente causa una riduzione delle concentrazioni plasmatiche. (Alkonyi 1990, Bohles 1991, Chen 1998)

BIOSINTESI

L'uomo sintetizza circa 1-2 micromol di carnitina/kg al giorno (Sahajwalla 1995).

La sintesi di carnitina è un processo che avviene in diverse fasi, che cominciano con l'aggiunta di un gruppo idrossilico al terzo carbonio dall'enzima trimetil-lisina idrossilasi nei mitocondri del rene, fegato, cuore, muscolo, cervello. Questa fase richiede 2-ossiglutarato, ferro, ossigeno molecolare come cofattori e vitamina C per mantenere il ferro in stato ferroso (Sachan 1980; Davis 1984). Il prodotto di questa reazione è 3-idrossi-N-trimetil-lisina e sembra che sia la sola fase nella quale l'enzima è localizzato nei mitocondri.

L'enzima responsabile della sintesi della carnitina è la trimetil-lisina idrossilasi, il cui substrato è appunto la trimetil-lisina. La 3-idrossi-N-trimetil-lisina è convertita in 4-trimetil-ammonio-butirrato e glicina dal 3-idrossi-N-trimetil-lisina aldolasi. Questo enzima è localizzato nel citoplasma, e la sua più alta attività è stata trovata nel fegato (Hulse 1978). Il 30-50% di trimetil-lisina esogena ed endogena viene trasformata in carnitina; la restante parte viene escreta con le urine (Rebouche 1989).

La 4-N-trimetil-ammonio-butirrato deidrogenasi catalizza la formazione di 4-N-trimetil-ammonio-butirrato, conosciuto anche con il nome di butirrobetaina, usando niacina in forma di NAD come accettore di idrogeno. Il 4-N-trimetil-ammonio-butirrato entra in circolo e viene captato principalmente dal rene e dal fegato attraverso un meccanismo di trasporto attivo. Nell'uomo, l'attività di butirrobetainadiossigenasi è significativamente maggiore nel rene che nel fegato, mentre l'attività nel cervello è il 50% di quella del fegato. Nel citoplasma delle cellule renali o epatiche il 4-N-trimetil-ammonio-butirrato viene idrossilato sul terzo carbonio per formare L-carnitina; questa reazione richiede ferro, ossigeno molecolare e vitamina C.

La velocità della biosintesi di carnitina è determinata dalla disponibilità di trimetil-lisina nel sito intramitocondriale dell'attività della trimetil-lisina idrossilasi (Rebouche 1986). Si ritiene che la trimetil-lisina idrossilasi giochi un ruolo nella regolazione della sintesi di carnitina. L'azione regolatrice della trimetil-lisina è stata dimostrata con la sua somministrazione esogena, che determinava un'aumentata biosintesi di carnitina (Rebouche 1989). Circa il 98-99% della carnitina libera viene riassorbita nel rene, a meno che le molecole trasportatrici non vengano saturate (Sahajwalla 1995). Soggetti sani hanno un'escrezione urinaria ad un ritmo di 5 micromol/kg/die, che per una persona di 80 kg corrisponde a 400 micromol/die.

TRASPORTO E DISTRIBUZIONE NEI TESSUTI

Dopo che la L-carnitina viene sintetizzata, viene trasportata attraverso il sangue e captata dai tessuti attraverso un trasporto sodio-dipendente. Essendo una molecola idrosolubile necessita di un carrier per essere trasportata attraverso la membrana cellulare. La prima molecola con questa funzione ad essere identificata fu denominata OCTN2 (Tamai 1998). Recentemente, altri trasportatori, OCTN1 (Wu 2000; Tamai 2000), OCTN3 (Tamai 2000), CT2 (Enomoto 2002) e ATB^o+ (Nakanishi 2001) sono stati identificati come trasportatori della carnitina.

La carnitina si trova localizzata in separati compartimenti dell'organismo con differenti velocità di turnover (Brass 1995) e il rapporto tra tessuto muscolare e plasma è 100 a 1 (Tamai 1998). La carnitina presente nel plasma e nei tessuti si trova sia in forma libera che esterificata. La quota libera rappresenta la maggior parte, mentre la forma esterificata costituisce il 20% circa della quantità totale nel plasma e il 15% circa nei tessuti. Complessivamente la quantità di carnitina in un organismo umano adulto è di circa 18 g. Quasi tutte le riserve dell'organismo si trovano nei muscoli scheletrici e nel muscolo cardiaco (98%). Il fegato contiene circa il 2%, mentre la quota rimanente è presente nei liquidi extracellulari.

Il fabbisogno giornaliero di carnitina è di circa 200 mg e viene assicurato per il 75% dalla dieta e per il 25% dalla quota endogena sintetizzata a livello epatico e renale. La carnitina del fegato interagisce rapidamente con la carnitina plasmatica ed ha un'emivita di 1-2 ore, al contrario della carnitina contenuta nel muscolo scheletrico, che ha un'emivita di diversi giorni (Brass 1995). La L-carnitina ed i suoi esteri sono ampiamente distribuiti nell'organismo, ma le maggiori concentrazioni si riscontrano nei tessuti metabolicamente più attivi: miocardio e muscolo scheletrico per la L-carnitina e tessuto cerebrale per la L-acetilcarnitina. La concentrazione plasmatica di L-carnitina in un individuo normale è 20-70 micromol/litro. Nelle cellule la concentrazione di carnitina è circa 40 volte superiore a quella del sangue. La carnitina presente nel sangue proviene in parte dall'intestino, che assorbe quella presente negli alimenti, in parte dal fegato e dal rene, che la sintetizzano ex novo.

La concentrazione di carnitina nei vari organi e tessuti è proporzionale all'intensità del suo intervento per il trasferimento degli acili nei mitocondri e quindi all'entità della beta-ossidazione degli acidi grassi (Neumann 1996). Il miocardio, che è il maggior consumatore di acidi grassi, è tra i tessuti più ricchi di carnitina. Nell'ambito cellulare, invece, la massima concentrazione di carnitina si riscontra nei mitocondri.

LIVELLI SIERICI DI CARNITINA

La concentrazione media di carnitina nel sangue rimane tuttora oggetto di discussione a causa delle diverse tecniche di misura usate, che non consentono una sicura comparazione. I dosaggi radiomicrobiologici danno valori sierici più elevati rispetto ai dosaggi enzimatici tradizionali, che misurano però solo la carnitina libera e le acilcarnitine facilmente estraibili.

Da studi condotti sulle variazioni dei livelli sierici di carnitina in funzione di diversi fattori è emerso che una dieta adeguata (in termini di apporto calorico e proteico), fattori legati al sesso, all'età e all'attività fisica possono influenzare i livelli di carnitina sierica. Inoltre il fatto che l'eliminazione renale di carnitina eccede significativamente la quantità assunta con la dieta fa ipotizzare un peso sicuramente non trascurabile della produzione endogena di carnitina, determinata geneticamente e difficilmente valutabile.

Riduzioni patologiche della funzionalità epatica (epatopatie croniche) e renale (insufficienza renale cronica), sono sempre associate a ipocarnitinemia e ad alterazioni del profilo lipidico: aumento del colesterolo totale, del colesterolo LDL, dei trigliceridi e riduzione dei livelli di colesterolo HDL. Per contro, la somministrazione esogena di carnitina, in soggetti in stato carenziale, determina una sensibile riduzione dei livelli di colesterolo LDL, incrementando i livelli di colesterolo HDL.

L'alimentazione parenterale totale (da oltre un mese), l'eccessiva escrezione renale (ustioni, sepsi, interventi chirurgici), la sindrome di Fanconi, l'emodialisi (più per la riduzione della quota sintetica renale che per le perdite nel liquido di dialisi), farmaci quali il valproato di sodio, la pivampicillina e la pivmecillina sono tutte condizioni che possono presentare: aumentata eliminazione di carnitina libera nel plasma, aumento del rapporto acile/quota libera, riduzione del pool di carnitina plasmatici e muscolare.

CARNITINA NEL METABOLISMO

Gli acidi grassi, a media e a lunga catena, nel citoplasma sono attivati tramite trasformazione nei corrispondenti esteri del coenzima A (CoA). La loro ossidazione è intramitocondriale. Poiché la membrana mitocondriale interna è impermeabile al CoA e ai suoi derivati, viene utilizzata la carnitina come vettore di gruppi acilici. Sulla superficie esterna della membrana, il gruppo acilico è trasferito alla carnitina dall'enzima carnitina palmitoil transferasi I (CPT I). L'acil-carnitina attraversa la membrana mitocondriale interna per merito della traslocasi e il suo gruppo acilico è trasferito nuovamente al CoA dalla CPT II.

L'acil-CoA nella matrice mitocondriale viene ossidato con produzione di acetil-CoA, che entra nel ciclo di Krebs con conseguente produzione di ATP. La carenza di L-carnitina comporta un blocco della beta-ossidazione (Edwards, 1974). La carnitina, dunque, influenza la disponibilità energetica delle cellule.

La carnitina rilasciata all'interno del mitocondrio può essere acetilata reversibilmente per merito della CAT, enzima localizzato sulla superficie interna della membrana mitocondriale interna che catalizza il trasferimento del gruppo acetile dall'acetyl-CoA alla carnitina (Edwards 1974). Lo stesso enzima catalizza anche la reazione inversa, con produzione di acetato, che è un composto chiave nelle interazioni metaboliche tra i neuroni e le cellule gliali (Sonnewald 1993). L'acetyl-L-carnitina (ALC) è l'estere di carnitina più abbondante nell'organismo umano, in particolare nel cervello, dove la sua concentrazione è particolarmente alta a livello dell'ipotalamo (Bresolin 1982). L'ALC può essere trasportata dal mitocondrio al citoplasma probabilmente per mezzo della Carnitina Traslocasi (CT), localizzata a livello della membrana mitocondriale interna (Indiveri 1994).

Nei mammiferi le funzioni attualmente conosciute della carnitina coinvolgono l'esterificazione reversibile del gruppo 3-idrossilico della carnitina, con conseguente formazione di acilcarnitine, che vengono trasferite da un compartimento cellulare ad un altro. Gli enzimi responsabili della formazione di acilcarnitine sono le carnitina-aciltransferasi con specificità per quanto riguarda la lunghezza delle catene, con differente localizzazione cellulare e funzioni metaboliche (Bremer 1983; Bieber 1988; Ramsay 2001). Queste funzioni comprendono l'ossidazione mitocondriale di acidi grassi a lunga catena, il trasferimento di acetili e gruppi acilici a catena corta dai perossisomi, preservando l'omeostasi del CoA cellulare.

Gli acidi grassi rappresentano un'importante fonte di energia per la maggior parte dei tessuti. L'energia liberata da questi componenti viene immagazzinata come ATP durante la loro β -ossidazione nella matrice mitocondriale.

Il processo di β -ossidazione consiste nel sequenziale accorciamento della catena degli acidi grassi con produzione di acetil-CoA, ed è catalizzata dall'azione sequenziale di 4 famiglie di enzimi (acil-CoA deidrogenasi, enoil-CoA idratasi, 3-idrossiacil-CoA deidrogenasi e 3-chetoacil-CoA tiolasi), ciascun con specificità di substrato di esteri di acil-CoA a corta, media e lunga catena (Eaton 1996; Bartlett 2004). Poiché gli acidi grassi a lunga catena attivati nella membrana mitocondriale esterna dall'acil-CoA a lunga catena sintetasi (LCAS) non sono in grado di attraversare la membrana mitocondriale interna, l'accorciamento β -ossidativo della loro catena è preceduto dal trasporto carnitina-dipendente di acidi grassi attivati nella matrice mitocondriale. Questo trasporto avviene grazie alla presenza di tre proteine, carnitina-palmitoil-transferasi I (CPT-I), acilcarnitina-carnitina traslocasi (CACT) e carnitina-palmitoil-transferasi II (CPT-II), ciascuna con differenti localizzazioni submitocondriali. Il primo passo è la formazione di acil-CoA catalizzata dall'enzima LCAS presente nella membrana mitocondriale esterna. Nel successivo passo è probabilmente coinvolto il canale anionico voltaggio-dipendente attraverso cui avviene il movimento degli acidi grassi attivati attraverso la membrana mitocondriale esterna. Gli acidi grassi attivati sono quindi convertiti nelle rispettive acilcarnitine grazie all'enzima CPT-I localizzato anche esso nella membrana mitocondriale esterna. I prodotti di reazione, esteri di carnitina a lunga catena sono quindi trasferiti nella matrice mitocondriale con una reazione di scambio catalizzata dalla CACT, una proteina della membrana interna. Nella matrice gli esteri di acilcarnitina sono quindi ricoveriti nei rispettivi esteri di CoA dal CPT-II, un enzima associato al versante interno della membrana mitocondriale interna.

L'ossidazione degli acidi grassi a catena molto lunga e gli acidi grassi a catena ramificata avviene principalmente nei perossisomi, mentre gli acidi grassi a catena lunga vengono ossidati sia nei perossisomi che nei mitocondri. Tuttavia, contrariamente alla β -ossidazione mitocondriale, l'ossidazione degli acidi grassi all'interno dei perossisomi è incompleta, poiché da essa si ottiene acetil-CoA (o propionil CoA dagli acidi grassi a catena ramificata) e acil-CoA a corta e media catena. Pertanto, per ottenere la completa ossidazione a CO₂, i prodotti dell'ossidazione perossisomiale degli acidi grassi devono essere trasportati all'interno dei mitocondri. Il CoA e gli esteri del CoA non sono in grado di attraversare le membrane, quindi devono essere convertiti, all'interno dei perossisomi, nei rispettivi esteri di carnitina dalla CAT perossisomiale.

In questo modo gli esteri della carnitina vengono trasportati all'interno dei perossisomi e all'interno dei mitocondri attraverso la CACT perossisomiale e mitocondriale e nella matrice mitocondriale vengono riconvertiti nei loro esteri di CoA dalla CAT e CPT-II mitocondriali. Gli esteri di CoA vengono infine ossidati a CO₂ e H₂O attraverso la β -ossidazione, il ciclo di Krebs e la catena di trasporto degli elettroni.

Recentemente è stato dimostrato un altro aspetto delle relazioni intercorrenti tra l'ossidazione mitocondriale e perossisomiale degli acidi grassi. È ben documentata la regolazione dell'ossidazione mitocondriale degli acidi grassi da parte del malonil-CoA attraverso l'inibizione di CPT-I. Tuttavia si sa poco sulle fonti di acetil-CoA necessario per la sintesi di malonil-CoA. Sembra che la principale fonte di carbonio per la sintesi di malonil-CoA derivi dal glucosio. È stato dimostrato che dalla β -ossidazione mitocondriale deriva principalmente l'acetil-CoA per la sintesi di malonil-CoA nel cuore (Reszko 2004).

La CAT è una proteina di membrana localizzata sul versante interno della membrana mitocondriale interna ed ha un'ampia specificità di substrato, che va dall'acetil-CoA al valeril-CoA. La CACT è una proteina che occupa tutto lo spessore della membrana mitocondriale interna, con specificità di substrato che va dalla carnitina libera alle acilcarnitine a lunga catena. Nei mitocondri la CAT permette l'instaurarsi di un rapido equilibrio tra coppie di acetil-CoA/CoA e acilcarnitina/carnitina. Poiché l'acilcarnitina mitocondriale può essere rapidamente scambiata con la carnitina mitocondriale attraverso la CACT, questo sistema consente di ottenere l'intera quantità di carnitina dei tessuti per permettere lo stato di acetilazione del pool mitocondriale di CoA. Ogni acil-CoA, che è un substrato sia per la CAT mitocondriale che per la CPT-II, può essere convertito nei rispettivi esteri di carnitina e può essere scambiato con la carnitina libera citoplasmatica attraverso la CACT. Ciò è stato dimostrato in colture cellulari in cui sono state riprodotte condizioni di ischemia, come pure in colture di fibroblasti e di linfociti di soggetti con deficit nell'ossidazione mitocondriale degli acidi grassi (Nada 1995). In caso di errori genetici nell'ossidazione degli acidi grassi, si ha la comparsa di esteri di carnitina nel sangue (Minkler 2004).

Pertanto possiamo dire che la carnitina in condizioni fisiologiche consente di mantenere un equilibrio tra formazione ed utilizzazione di acetil-CoA, una funzione che richiede la presenza degli enzimi CAT e CACT. In caso di eccesso di produzione o di sottoutilizzazione di alcuni acidi grassi, come si verifica in alcuni errori genetici del metabolismo, la carnitina agisce da "spazzino" per i gruppi acilici trasportandoli fuori dai tessuti e favorendo così l'escrezione urinaria.

CARNITINA E MIOCARDIO

La carnitina svolge un ruolo fondamentale nei processi che assicurano al miocardio un adeguato apporto dell'energia necessaria per la sua funzione.

Il miocardio, insieme al muscolo scheletrico e al sistema nervoso centrale, è uno tra i tessuti a più alta concentrazione di carnitina tra i tessuti a più alto consumo energetico. Data l'importanza del sistema delle carnitine nel metabolismo degli acidi grassi, una sua alterazione può determinare accumulo di acidi grassi all'interno della cellula miocardica, con conseguenti alterazioni delle membrane cellulari.

Gli acidi grassi sono considerati il principale substrato per il metabolismo ossidativo nel miocardio. In caso di diminuzione dei livelli miocardici di carnitina, il cuore è costretto ad utilizzare per il suo metabolismo soprattutto il glucosio, con riduzione delle riserve cellulari di glicogeno. In queste condizioni un tessuto cardiaco già compromesso può mostrare una maggiore suscettibilità a situazioni di stress, quali, ad esempio, nuovi episodi ischemici (Ferrari e Visioli, 1992).

Anche il tessuto cardiaco con l'avanzare dell'età va incontro ad una riduzione della funzionalità, che può essere dovuta alle modificazioni dei lipidi di membrana mitocondriale, modificazioni che si ripercuotono sull'attività di diverse proteine di membrana tra le quali alcune proteine anioniche di cui agiscono da carrier (Nohl and Kramer, 1980;) e la citocromo ossidasi.

Alcuni studi hanno evidenziato che l'ossidazione mitocondriale degli acidi grassi è ridotta nel miocardio di animali da esperimento di età avanzata. L'attività della carnitina-acilcarnitina translocasi è diminuita, e la somministrazione di acetilcarnitina a questi animali ripristina quasi interamente questa funzione metabolica a livelli paragonabili a quelli degli animali giovani di controllo (Paradies, 95).

La cardiolipina, un fosfolipide localizzato quasi esclusivamente nella membrana mitocondriale interna, è indispensabile per l'attività delle proteine di trasporto della carnitina (Indiveri, 1991; Noel, 1986). Uno studio evidenzia che il contenuto di cardiolipina è drasticamente ridotto nella membrana mitocondriale di cellule miocardiche di animali anziani vecchi, mentre non sembrano esserci variazioni negli altri fosfolipidi. Il contenuto di cardiolipina viene ripristinato a livelli paragonabili a quelli di giovani animali con la somministrazione di acetilcarnitina (Paradies 95).

La capacità dell' acetilcarnitina di ripristinare i livelli di questo fosfolipide necessario per il trasporto della carnitina sembra essere dovuta al ripristino delle quantità di cardiolipina mitocondriale, essenziale per l'attività dei sistemi di trasporto (Indiveri, 1991; Noel, 1986). Invece la somministrazione di acetilcarnitina ad animali da esperimento giovani non ha effetti sui livelli di cardiolipina, e ciò suggerisce che gli effetti dell' acetilcarnitina sono dovuti ai cambiamenti che si verificano con l'età.

Nei conigli alimentati con una dieta ricca di colesterolo e L-carnitina, Diaz et al. (2000) hanno osservato una riduzione del colesterolo totale e dei trigliceridi. Nei ratti alimentati con una dieta ad alto contenuto di grassi contenente il 30% di olio di mais la somministrazione simultanea di carnitina ha ridotto la concentrazione sierica di trigliceridi e colesterolo totale. Ricerche recenti suggeriscono che la carnitina sia anche cruciale nella regolazione del metabolismo dei carboidrati per il suo ruolo nell'ossidazione degli acidi grassi. Il meccanismo attraverso cui la L-carnitina possa ridurre gli elevati livelli sierici di Lp(a) risulta al momento poco chiaro.

L'azione dell'L-carnitina nell'abbassare le concentrazioni lipidiche è legata presumibilmente all'attivazione dei "peroxisome proliferator activated receptors" (PPARs). La L-carnitina gioca un importante ruolo nella captazione mitocondriale degli acidi grassi a lunga catena facilitando il loro trasporto attraverso la membrana interna per essere avviati alla β -ossidazione. La L-carnitina, inoltre, influenza il metabolismo del glucosio attivando la piruvato deidrogenasi, promuovendo il flusso di acido piruvico nel ciclo dell'acido citrico. Questo agente, stimolando la riduzione degli acidi grassi a livello mitocondriale potrebbe verosimilmente ridurre l'afflusso degli acidi grassi per la produzione di Lp(a), riducendo i livelli di questa lipoproteina aterogena nei soggetti con eccessiva produzione.

CARNITINA E SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Nei soggetti anziani i più o meno gravi deficit cognitivi presenti, se da un lato sono dovuti al fisiologico processo di invecchiamento delle cellule nervose, dall'altro lato dipendono spesso dalle patologie multiple, spesso presenti, dal deterioramento complessivo delle condizioni generali, da uno stato depressivo.

Nel cervello senescente si sommano gli effetti del fisiologico decadimento metabolico neuronale a quelli dipendenti da una più o meno conclamata situazione ipossica o ischemica correlata con alterazioni della circolazione cerebrale. Si verifica una compromissione della funzione neuronale, perdita della sensibilità e dell'efficienza dei circuiti neurotrasmettitoriali fino ad irreversibili danni strutturali.

Il sistema nervoso centrale è particolarmente sensibile al processo di invecchiamento e le funzioni cerebrali possono essere definitivamente perse una volta che il danno raggiunge un certo grado. Questo organo è altamente suscettibile all'azione dei radicali liberi, poiché genera una grande quantità di radicali tossici, maggiore di quella di altri organi (Rieter, 1995) e contiene relativamente alte concentrazioni di acidi grassi perossidati (Rice Evans, 1993) e alte concentrazioni di ferro non-eme, che è coinvolto nella produzione di radicali idrossilici. Uno degli indici del danno perossidativo cellulare è l'accumulo di lipofuscina nelle cellule nervose. Con l'avanzare dell'età il contenuto di lipofuscina nei neuroni come anche il numero di neuroni contenenti lipofuscina aumenta in molte regioni del cervello. La perossidazione dei lipidi di membrana può condurre ad un aumento della permeabilità della membrana mitocondriale, che determina riduzione di sintesi di ATP.

Come le cellule di altri organi, anche le cellule cerebrali sono provviste di sistemi antiossidanti enzimatici e non enzimatici.

Il principale sistema di difesa antiossidante comprende sostanze come il glutatione, la vitamina C, la vitamina E ed enzimi antiossidanti (Klivenyi, 2000). Vitamina C, E e glutatione sono antiossidanti legati strettamente l'uno all'altro. La concentrazione di acido ascorbico nel cervello ha un importante ruolo nella prevenzione del danno perossidativo dei tessuti cerebrali ed anche nella neuroprotezione verso la tossicità di neurotrasmettitori eccitatori (Grunewald, 1993). Il glutatione è presente in alte concentrazioni nel cervello ed agisce come un importante antiossidante (Nakamura, 1997) e la sua velocità di turnover nel cervello è più lenta che in altri organi. La vitamina E protegge le membrane cellulari dal danno ossidativo (Liebler, 1986)

È stato dimostrato che i livelli di queste sostanze antiossidanti diminuiscono con l'avanzare dell'età (Kalaiselvi, 1998)

Il sistema delle carnitine, in particolare la L-acetilcarnitina, in grado di attraversare la barriera emato-encefalica, è di importanza fondamentale per la funzionalità delle cellule nervose, sia per quanto riguarda l'integrità strutturale, sia per la produzione intracellulare di substrati ad alta energia (Piovesan, 1994).

Il tessuto nervoso è caratterizzato da un alto consumo di ossigeno; la principale fonte dell'energia cellulare è rappresentata dal glucosio, che fornisce oltre il 90% del fabbisogno.

Per quanto riguarda il metabolismo lipidico nel tessuto cerebrale, esso è caratterizzato da aspetti specifici.

Il cervello è uno degli organi a più alto contenuto di lipidi. I lipidi rappresentano il materiale costitutivo di tutte le membrane cellulari, esterne ed interne, e l'elevato contenuto lipidico cerebrale dipende essenzialmente dall'enorme espansione della superficie esterna delle cellule nervose.

Il tessuto cerebrale non può utilizzare i lipidi esogeni, né come substrato energetico né come materiale per la costruzione delle proprie strutture, poiché gli acidi grassi, veicolati nel plasma dalle albumine, non sono in grado di attraversare la barriera emato-encefalica. Tutti i lipidi indispensabili alla vita ed all'attività dei neuroni cerebrale vengono sintetizzati ex novo.

Nell'ambito del metabolismo lipidico neuronale, la specifica funzione di "donatrice di acetato attivo" svolta dalla L-acetilcarnitina assume particolare importanza. Infatti, la sintesi di tutti gli acidi grassi che entrano nella composizione dei fosfolipidi, dei cerebrosidi e delle sfingomieline, cioè dei componenti fondamentali delle membrane, avviene nel citoplasma cellulare, partendo dall'acetato attivo, che si forma esclusivamente all'interno del mitocondrio (Goodridge, 86). Inoltre l'acetato attivo rappresenta l'unico materiale utilizzato dall'organismo umano per la sintesi del colesterolo, cioè di un componente lipidico indispensabile ad assicurare la fluidità delle membrane cellulari (Bloch, 83).

Una parte dei lipidi sintetizzati ex novo e quelli derivanti dal turnover dei componenti lipidici delle membrane vengono utilizzati come materiale energetico e vengono quindi metabolizzati dalle cellule nervose, seguendo i normali processi ossidativi.

In tali processi è essenziale il ruolo della L-carnitina per il trasporto, attraverso la membrana mitocondriale, dei gruppi acilici e della loro completa ossidazione.

Un aumento di gruppi acilici all'interno della cellula inibisce il trasferimento dell'ATP prodotto nei mitocondri, influenzando negativamente il metabolismo energetico di tutta la cellula.

ALTERAZIONI DEL SISTEMA DELLA CARNITINA NEL PAZIENTE ANZIANO

Il sistema muscolare scheletrico in condizioni fisiologiche presenta elevate concentrazioni di carnitina. Nell'anziano una modificazione del rapporto massa magra/massa grassa. Quest'ultima infatti tende a raddoppiare, mentre la massa magra tende a diminuire e questa riduzione è dovuta principalmente alla riduzione della massa muscolare (Balagopal, 97). Tale condizione, denominata sarcopenia, influisce negativamente sulla qualità di vita e può avere importanti conseguenze cliniche. Sarcopenia è un termine coniato nel 1988 per definire la perdita di massa e di funzione muscolare con l'età, e può essere identificata con una condizione metabolica nella quale il muscolo, uno dei principali tessuti dell'organismo che consuma energia (poiché rappresenta circa il 40% della massa corporea), gradualmente perde la capacità di produrre e di consumare energia con l'avanzare dell'età, con effetti negativi sulla mobilità, sulla produzione di forza, sulla velocità del metabolismo e sulla funzione respiratoria. Nel tessuto muscolare scheletrico è presente un continuo processo riparativo, grazie alla presenza di cellule staminali adulte quiescenti, chiamate cellule satelliti, in grado di cambiare il loro fenotipo quando si vengono a creare determinate condizioni.

La sarcopenia è considerato un evento ad eziologia multifattoriale: 1) delezioni mitocondriali, per esempio errori nella replicazione del mtDNA che conducono a deficit di energia e ad atrofia delle fibre 2) alterazioni nella sintesi di proteine, con alterato equilibrio tra la degradazione di proteine e la capacità delle fibre di sintetizzare proteine 3) perdita della capacità riparatoria delle cellule satelliti, dovuta ad alterazioni nei fattori di crescita proteici (principalmente IGF-1, mIGF-1, HGF) ed ormoni.

La diminuzione della forza muscolare e l'aumentata faticabilità che inevitabilmente accompagnano la perdita di massa muscolare determinano innanzitutto riduzione dell'attività fisica. La ridotta attività fisica può essere a sua volta responsabile di alterazioni metaboliche, quali diminuita densità ossea, obesità, ridotta tolleranza ai carboidrati (Evans, 95) ed è spesso associata ad una maggiore incidenza di malattie croniche (diabete di tipo 2, cardiopatie, osteoporosi) (Blair, 93).

Inoltre aumenta il rischio di cadute e quindi di fratture ossee, che riducono ulteriormente l'attività muscolare costringendo il paziente anziano all'immobilità forzata (Wolfson, 95).

Tra i fattori che determinano la riduzione della massa muscolare che si verifica nella senescenza, una tra le principali è l'alterato equilibrio tra sintesi e catabolismo delle proteine. Importante è soprattutto la ridotta sintesi di miosina, il cui ruolo nella contrazione muscolare è ben noto (Yarasheski, 1995; Balagopal, 1997).

Il deficit di forza muscolare associato alla sarcopenia è una diretta conseguenza della ridotta sintesi delle proteine contrattili, sebbene intervengano altri fattori, come una ridotta disponibilità di substrati per i mitocondri e un deficit di produzione di ATP da parte dei mitocondri (Barazzoni e Nair, 2000).

Data l'importanza della carnitina nel metabolismo energetico, ci si potrebbe aspettare un incremento delle performance fisiche aumentando il pool di carnitina del muscolo scheletrico con la somministrazione esogena.

Mentre alcuni studi clinici non hanno evidenziato effetti benefici sulle performance fisiche dopo somministrazione di carnitina (Brass, 1994; Wachter, 2002), altri studi invece hanno dimostrato che somministrando L-carnitina a soggetti anziani in condizioni di sarcopenia, si ha un miglioramento dell'attività e della forza muscolare (Siliprandi, 1990; Siami, 1991). Questi risultati contrastanti stimolano un interesse sempre crescente nei confronti della carnitina, e ulteriori ricerche potrebbero sempre più avvalorare l'ipotesi che la somministrazione di carnitina a soggetti anziani abbia un'azione favorevole sulla forza muscolare e sull'esercizio fisico, determinando una diminuzione della fatica quindi un miglioramento dell'attività fisica e del benessere generale. Nei soggetti anziani i più o meno gravi deficit cognitivi presenti, se da un lato sono dovuti al fisiologico processo di invecchiamento delle cellule nervose, dall'altro lato dipendono spesso dalle patologie multiple, spesso presenti, dal deterioramento complessivo delle condizioni generali, da uno stato depressivo.

Nel cervello senescente si sommano gli effetti del fisiologico decadimento metabolico neuronale a quelli dipendenti da una più o meno conclamata situazione ipossica o ischemica correlata con alterazioni della circolazione cerebrale. Si verifica una compromissione della funzione neuronale, perdita della sensibilità e dell'efficienza dei circuiti neurotrasmettitoriali fino ad irreversibili danni strutturali. Il sistema nervoso centrale è particolarmente sensibile al processo di invecchiamento e le funzioni cerebrali possono essere definitivamente perse una volta che il danno raggiunge un certo grado. Questo organo è altamente suscettibile all'azione dei radicali liberi, poichè genera una grande quantità di radicali tossici, maggiore di quella di altri organi (Rieter, 1995) e contiene relativamente alte concentrazioni di acidi grassi perossidati (Rice Evans, 1993) e alte concentrazioni di ferro non-eme, che è coinvolto nella produzione di radicali idrossilici.

Uno degli indici del danno perossidativo cellulare è l' accumulo di lipofuscina nelle cellule nervose.

Con l' avanzare dell' età il contenuto di lipofuscina nei neuroni come anche il numero di neuroni contenenti lipofuscina aumenta in molte regioni del cervello.

La perossidazione dei lipidi di membrana può condurre ad un aumento della permeabilità mitocondriale, che determina riduzione di sintesi di ATP.

Come le cellule di altri organi, anche le cellule cerebrali sono provviste di sistemi antiossidanti enzimatici e non enzimatici.

Il principale sistema di difesa antiossidante comprende sostanze come il glutatione, la vitamina C, la vitamina E ed enzimi antiossidanti. Vitamina C, E e glutatione sono antiossidanti legati strettamente l' uno all' altro. La concentrazione di acido asorbico nel cervello ha un importante ruolo nella prevenzione del danno perossidativo dei tessuti cerebrali ed anche nella neuroprotezione verso la tossicità di neurotrasmettitori eccitatori (Grunewald, 1993). Il glutatione è presente in alte concentrazioni nel cervello ed agisce come un importante antiossidante (Nakamura, 1997) e la sua velocità di turnover nel cervello è più lenta che in altri organi. La vitamina E protegge le membrane cellulari dal danno ossidativo (Liebler, 1986). È stato dimostrato che i livelli di queste sostanze antiossidanti diminuiscono con l' avanzare dell' età (Kalaiselvi, 1998). Il sistema delle carnitine, in particolare la L-acetilcarnitina, in grado di attraversare la barriera ematoencefalica, è di importanza fondamentale per la funzionalità delle cellule nervose, sia per quanto riguarda l' integrità strutturale, sia per la produzione intracellulare di substrati ad alta energia (Piovesan, 1994). Il tessuto nervoso è caratterizzato da un alto consumo di ossigeno; la principale fonte dell' energia cellulare è rappresentata dal glucosio, che fornisce oltre il 90% del fabbisogno.

Per quanto riguarda il metabolismo lipidico nel tessuto cerebrale, esso è caratterizzato da aspetti specifici. Il cervello è uno degli organi a più alto contenuto di lipidi.

I lipidi rappresentano il materiale costitutivo di tutte le membrane cellulari, esterne ed interne, e l' elevato contenuto lipidico cerebrale dipende essenzialmente dall' abnorme espansione della superficie esterna delle cellule nervose.

Il tessuto cerebrale non può utilizzare i lipidi esogeni, né come substrato energetico né come materiale per la costruzione delle proprie strutture, poiché gli acidi grassi, veicolati nel plasma dalle albumine, non sono in grado di attraversare la barriera ematoencefalica. Tutti i lipidi indispensabili alla vita ed all' attività dei neuroni cerebrale vengono sintetizzati ex novo.

Nell'ambito del metabolismo lipidico neuronale, la specifica funzione di "donatrice di acetato attivo" svolta dalla L-acetilcarnitina assume particolare importanza.

Infatti, la sintesi di tutti gli acidi grassi che entrano nella composizione dei fosfolipidi, dei cerebrosidi e delle sfingomieline, cioè dei componenti fondamentali delle membrane, avviene nel citoplasma cellulare, partendo dall'acetato attivo, che si forma esclusivamente all'interno del mitocondrio.

Inoltre l'acetato attivo rappresenta l'unico materiale utilizzato dall'organismo umano per la sintesi del colesterolo, cioè di un componente lipidico indispensabile ad assicurare la fluidità delle membrane cellulari. Una parte dei lipidi sintetizzati ex novo e quelli derivanti dal turnover dei componenti lipidici delle membrane vengono utilizzati come materiale energetico e vengono quindi metabolizzati dalle cellule nervose, seguendo i normali processi ossidativi. In tali processi è essenziale il ruolo della L-carnitina per il trasporto, attraverso la membrana mitocondriale, dei gruppi acilici e della loro completa ossidazione. Un aumento di gruppi acilici all'interno della cellula inibisce il trasferimento dell'ATP prodotto nei mitocondri, influenzando negativamente il metabolismo energetico di tutta la cellula.

CONCENTRAZIONI PLASMATICHE DI CARNITINA NEGLI ANZIANI

L'invecchiamento è un complesso fenomeno che riflette l'interazione del genotipo dell'organismo con l'ambiente. Nonostante l'universalità della senescenza, nessun singolo fattore è probabilmente responsabile dell'invecchiamento in tutti gli organismi così come in un singolo organismo. Piuttosto l'invecchiamento risulta da una combinazione di differenti processi che possono potenzialmente includere fattori quali il danno ossidativo, l'accorciamento di telomeri, la velocità con cui avviene l'apoptosi, il declino del sistema immunitario. Il danno ossidativo sembra essere un importante fattore nell'invecchiamento, ma è probabile che non sia il solo fattore, ed attualmente rimane aperta la questione se il danno ossidativo sia un meccanismo causale dell'invecchiamento o semplicemente correlato con esso, e se il danno mitocondriale causato dai ROS e il declino della capacità nella fosforilazione ossidativa sia responsabile dell'invecchiamento (Wallace, 1997). Tra l'altro, anche se i ROS sono un'importante causa di invecchiamento, può essere difficile ridurre i livelli di ROS in vivo senza causare deleteri effetti collaterali, poiché un minimo livello di stress ossidativo sembra essere necessario per le normali funzioni biologiche. Ulteriori studi potrebbero dimostrare l'importanza dei ROS nell'invecchiamento e la possibilità che una ridotta produzione di ROS aumenti la durata della vita.

La longevità sembra pertanto legata a molteplici fattori. Condizione sicuramente essenziale è la presenza di energia e di sostanze in grado di fornire energia e di agire sui substrati energetici. Tra queste un ruolo importante spetta alla carnitina, che con la sua importante funzione nel metabolismo cellulare può contribuire a determinare una riduzione del danno mitocondriale e dello stress ossidativo. Lo studio effettuato sui centenari nel 1999 presso l'istituto di medicina della senescenza dell'ospedale Cannizzaro svolto dal professore Malaguarnera et al. ha messo in evidenza livelli plasmatici più elevati di carnitina nei centenari rispetto alla popolazione anziana di controllo (Malaguarnera, 1999). I valori serici di carnitina nei centenari non sono significativamente correlati al tipo di dieta alimentare. È interessante il fatto che le femmine hanno mostrato una generale tendenza verso livelli plasmatici di carnitina più bassi, principalmente nel gruppo di controllo. Inoltre gli attesi bassi valori di carnitina plasmatica nei centenari a causa della riduzione della massa muscolare e dell'attività fisica sono invece più alti dei valori comunemente riportati in letteratura (Takiyama, 1998).

Questo potrebbe suggerire che in questi soggetti la principale fonte di carnitina endogena (il tessuto muscolare) è in qualche modo (forse geneticamente) in grado di produrre questa sostanza in quantità maggiori che in altri soggetti.

Un efficiente metabolismo può essere considerato un importante fattore nel raggiungimento della longevità. La carnitina plasmatica e i parametri lipidici possono entrambi agire come variabili parzialmente indipendenti, poiché ciascuno dei parametri studiati possiedono una via metabolica geneticamente determinata difficile da stabilire.

Un altro studio effettuato sempre dal professore Malaguarnera et al. nel 2003 ha evidenziato che la somministrazione orale di L-carnitina determina una riduzione della massa grassa, un aumento della massa muscolare ed inoltre agevola l'attività fisica riducendo la fatica fisica e mentale (Pistone, 2003). Questi indici suggeriscono che la produzione endogena geneticamente determinata o la somministrazione attraverso adeguata supplementazione possa essere un elemento fondamentale nel determinare la longevità.

I MITOCONDRI E IL DNA MITOCONDRIALE. RUOLO DELLO STRESS OSSIDATIVO NEL PROCESSO DI INVECCHIAMENTO

Scoperti oltre 100 anni fa, i mitocondri derivano da batteri che milioni di anni fa sono penetrati nelle cellule eucariote entrando in simbiosi. I mitocondri sono strutture sub-cellulari essenziali per un buon funzionamento della cellula; rappresentano infatti i principali organuli produttori di energia. Grazie alla presenza di numerosi enzimi, avviene una serie di reazioni biochimiche il cui risultato è la produzione di energia sotto forma di ATP. Risale ad oltre 30 anni fa la prima osservazione sull'importanza del genoma mitocondriale nel processo di invecchiamento (Harman, 1972). Studi condotti successivamente hanno dimostrato con sempre maggiore evidenza come la compromissione della funzione mitocondriale osservata nella senescenza sia da imputare principalmente ad un danno ossidativo del DNA mitocondriale. Nel 1963 fu scoperto che contengono un proprio DNA, che fu chiamato DNA mitocondriale (mtDNA) (Nass, 1963), la cui sequenza completa fu riportata nel 1981 anche per l'uomo (Anderson, 1981).

L'mtDNA è una molecola di due filamenti, che contiene 16569 paia di basi. L'mtDNA contiene solo 37 geni, dei quali 24 codificano RNA necessario per la sintesi di proteine di struttura e i restanti 13 RNA necessario per la sintesi di proteine che costituiscono subunità fondamentali della catena respiratoria. L'attenzione rivolta ai mitocondri deriva in parte dalla teoria dei radicali liberi, secondo la quale il danno ossidativo gioca un ruolo chiave nella senescenza. L'ossidazione rappresenta una delle maggiori cause del declino delle funzioni cellulari. Sostanze ossidanti (come l'anione superossido O_2^- e il perossido d'idrogeno H_2O_2) si formano continuamente nel nostro organismo come prodotti intermedi del metabolismo aerobico. Tuttavia la loro azione lesiva viene in qualche modo ostacolata dai vari sistemi di difesa di cui la cellula è provvista.

Nell'invecchiamento tali sistemi diventano progressivamente insufficienti; ciò fa sì che all'interno della cellula possano accumularsi macromolecole danneggiate dall'ossidazione e che quindi l'attività cellulare venga ad essere compromessa. Il deficit delle difese cellulari verso l'insulto ossidativo è una delle conseguenze del deficit energetico che si verifica nelle cellule in seguito alla ridotta funzione mitocondriale. D'altra parte una delle principali cause di alterazione della funzione mitocondriale è proprio il danno ossidativo. Bisogna inoltre tenere presente che i mitocondri sono nello stesso tempo i maggiori produttori di sostanze ossidanti e un importante bersaglio della loro azione lesiva.

Essi rappresentano quindi un punto nodale nell'invecchiamento e nella patogenesi delle malattie tipiche della senescenza (Lenaz, 1998).

Probabilmente con l'età viene alterato il normale equilibrio tra la produzione di energia, la formazione di sostanze ossidanti e la capacità della cellula di difendersi dallo stress ossidativo. Ovviamente per il mantenimento di tale equilibrio è necessaria una corretta funzione mitocondriale. I mitocondri costituiscono delle strutture di primaria importanza nel metabolismo sia lipidico che glucidico delle cellule degli organismi eucarioti. Gli acidi grassi devono essere attivati nel citoplasma prima di venire ossidati all'interno dei mitocondri. Tale attivazione è catalizzata dall'enzima acil-CoA sintetasi e richiede il consumo di una molecola di ATP.

L'ossidazione degli acidi grassi determina una produzione di energia superiore a quella che si ottiene durante l'ossidazione dei carboidrati. L'ossidazione di una mole di acido oleico comporta la produzione di 146 moli di ATP, mentre l'ossidazione di un numero equivalente di unità carboniose del glucosio produce 114 moli di ATP. I radicali liberi dell'ossigeno, denominate generalmente specie reattive dell'ossigeno (ROS), sono la principale fonte di danno ossidativo della cellula e alla base di una delle più accettate teorie dell'invecchiamento (Beckman, 98; Sastre, 2000).

La principale fonte di ROS nella cellula è la catena respiratoria localizzata nei mitocondri. I ROS prodotti causano danno cumulativo ai costituenti cellulari, al DNA, all'RNA, alle proteine e ai lipidi. Si pensa che questo danno contribuisca in misura notevole all'invecchiamento. I mitocondri sono allo stesso tempo il maggior sito di produzione intracellulare e il maggiore bersaglio dei ROS che si formano in continuazione come prodotti del metabolismo aerobico nelle cellule animali e umane.

La catena di trasporto degli elettroni gioca un ruolo importante nella produzione di energia degli organismi aerobi ed è anche una importante sorgente di ROS che danneggiano il DNA, l'RNA e le proteine della cellula. È stato dimostrato in vari tessuti umani il declino della funzione respiratoria mitocondriale con l'età. Il deficit della catena respiratoria ha come conseguenza un'aumentata produzione di ROS a livello mitocondriale. Sulla base di queste osservazioni e sul fatto che la velocità di produzione cellulare di ROS aumenta con l'età, è stato recentemente ipotizzato che lo stress ossidativo sia uno dei principali fattori responsabili del processo di invecchiamento. Anche se molti altri studi saranno necessari, sono già emersi dati interessanti riguardanti le correlazioni tra stress ossidativo, mutazioni del DNA mitocondriale ed invecchiamento. Il declino delle funzioni mitocondriali può condurre ad un deficit di energia, e compromettere tutti i processi cellulari DNA-dipendenti, tra i quali la detossificazione, i sistemi di riparazione del DNA, l'equilibrio

osmotico. Il danno mitocondriale può anche condurre ad un' aumentata produzione di ROS, con le cellule che diventano più sensibili al danno ossidativo (Hagen, 2002).

Il danno del mtDNA, se non viene riparato, conduce ad alterazioni della catena di trasporto degli elettroni e alla produzione di maggiori quantità di ROS. Si viene così a creare un circolo vizioso tra produzione di ROS e danno del mtDNA, che alla fine conduce alla perdita di energia cellulare e all'apoptosi. I processi ossidativi alterano i mitocondri agendo a livello dei suoi costituenti fondamentali, sia proteine e lipidi, sia soprattutto il DNA.

Per quanto riguarda le proteine, la loro conformazione molecolare può essere alterata direttamente dall'azione ossidante dei radicali liberi o indirettamente attraverso i difetti del DNA mitocondriale (Sohal, 1994). Le conseguenze sono rilevanti soprattutto a carico delle proteine della membrana interna che costituiscono la catena di trasporto degli elettroni. Con l'invecchiamento è stata osservata, in tessuti come fegato, cuore e cervello una diminuita espressione di citocromo ossidasi (Bandy, 1990). L'aumento dei processi ossidativi a carico dei lipidi di membrana che si verifica con l'aumentare dell'età potrebbe essere un'espressione della variazione della composizione lipidica della membrana stessa.

È stata infatti osservata nell'invecchiamento una progressiva diminuzione di acido linoleico associata ad un aumento di acidi grassi poliinsaturi a lunga catena. Questi ultimi sono più sensibili all'ossidazione rispetto all'acido linoleico (Laganieri, 1993). Tra i costituenti lipidici della membrana mitocondriale, di particolare rilevanza sembra il danno ossidativo della cardiolipina, un fosfolipide necessario per il trasporto mitocondriale dei substrati.

Studi sperimentali su animali hanno dimostrato una parallela riduzione, con l'età, del metabolismo del piruvato e del contenuto di cardiolipina nei mitocondri di cellule cardiache (Paradies, 1995). L'alterazione della cardiolipina e degli altri costituenti lipidici della membrana mitocondriale sembra inoltre responsabile della diminuita fluidità di quest'ultima. Ciò comporta riduzione degli scambi tra l'ambiente intra- ed extra-mitocondriale.

La riduzione di acqua che si verifica con l'invecchiamento in alcuni tessuti come cuore e fegato potrebbe essere una conseguenza dell'aumentata rigidità della membrana mitocondriale (Von Zglinicki; 1991).

Per quanto riguarda il DNA mitocondriale, sembra che esso sia più sensibile del DNA nucleare all'azione lesiva delle sostanze ossidanti (Richter, 1988; Mecocci, 1993), probabilmente per la mancanza di proteine protettive come gli istoni e di un efficace sistema di riparazione.

Studi condotti su mitocondri estratti da tessuto muscolare sia cardiaco che scheletrico hanno dimostrato nel DNA mitocondriale di soggetti anziani la presenza di markers di stress ossidativo (Hayakawa, 1992; Mecocci, 1999).

È stato altresì osservato che l'accumulo di lesioni ossidative a livello del DNA mitocondriale associato all'età è correlato con il livello di alterazioni del DNA mitocondriale (Hayakawa, 1991). Le lesioni ossidative determinano alterazioni del DNA sotto forma di delezioni e mutazioni. I due tipi più frequenti di mutazioni dell'mtDNA sono rappresentati da ampi riarrangiamenti della molecola, quali le delezioni e le duplicazioni, o da mutazioni puntiformi. Tali mutazioni possono avvenire nelle cellule somatiche o della linea germinale.

Quando il rapporto tra mtDNA mutato e normale supera una certa soglia si manifestano i sintomi da deficit della catena respiratoria. Ovviamente, l'entità dei sintomi dipende dalla richiesta energetica dei tessuti; pertanto, il sistema nervoso centrale, i muscoli, il cuore, il fegato e i reni, che necessitano di molta energia per lo svolgimento delle loro funzioni, sono particolarmente sensibili a mutazioni genetiche anche piccole. I deficit di energia causati dal declino della funzione mitocondriale possono determinare alterazioni delle normali attività cellulari e compromettere la capacità di adattamento della cellula ai vari stress fisiologici.

È probabile dunque che il danno ossidativo delle strutture mitocondriali che si verifica nella senescenza, come emerso da recenti studi (Shigenaga, 1994; Kirkwood, 1997), sia uno dei principali fattori che contribuiscono a determinare l'inevitabile processo dell'invecchiamento. Un grande numero di delezioni e mutazioni del DNA mitocondriale è stato osservato in associazione non solo con l'invecchiamento, ma anche con alcune miopatie e con un'aumentata suscettibilità ai disordini neuro-degenerativi. In questo caso i difetti genetici sono ereditati dalla madre, e possono interessare il 30-80% di tutto il DNA mitocondriale (Wallace, 1992). Il genoma mitocondriale quindi, oltre che nel processo d'invecchiamento, può avere un ruolo importante anche nell'insorgenza di malattie neuro-degenerative (Beckman, 1998). Del resto queste ultime sono patologie spesso presenti nella senescenza. In ogni caso la conseguenza delle alterazioni genetiche sarà una ridotta produzione di energia e un deficit delle funzioni cellulari.

PAZIENTI E METODI

Dal 2000 al 2004, sono stati reclutati per lo studio pazienti anziani afferenti al nostro Dipartimento di Geriatria di Catania.

PROGETTO DI STUDIO

I pazienti sono stati divisi casualmente in 2 gruppi per un trattamento di 3 mesi.

Il primo gruppo ha ricevuto L-acetil-carnitina 1gr al giorno.

Il secondo gruppo è stato trattato con placebo.

Le seguenti variabili sono state valutate prima e dopo 3 mesi di trattamento: fatigue fisica, fatigue mentale e scala di severità della fatigue.

CRITERI DI INCLUSIONE

Per lo studio è stato arruolato un gruppo di 84 soggetti anziani di età compresa tra 70 e 80 anni (32 femmine e 52 maschi) con insorgenza di fatica muscolare in seguito ad una lieve attività fisica. (Tab 2)

I pazienti hanno firmato il consenso informato dopo aver ricevuto una spiegazione completa delle procedure di studio.

I valori medi della pressione sistolica erano 148.5 ± 18.2 mm Hg nel Gruppo trattato con LAC (Gruppo A), 150.2 ± 15.9 mm Hg nel Gruppo di controllo trattato con placebo (Gruppo B); quelli della diastolica 85.4 ± 9.6 mm Hg nel Gruppo A, 85.2 ± 9.8 mm Hg nel Gruppo B. Le caratteristiche generali dei pazienti dei due Gruppi sono elencate nella tabella sottostante.

	LAC (N=44)	PLACEBO (N=40)
Età	71.8 ± 6.8	71.4 ± 6.7
Sesso (M/F)	24/20	28/12
Pressione sistolica	148.5 ± 18.2	150.2 ± 15.9
Pressione diastolica	85.4 ± 9.6	85.2 ± 9.8
Frequenza cardiaca	79.4 ± 10.2	78.9 ± 11.4

Tabella 1. Caratteristiche generali dei pazienti sottoposti allo studio

METODI

I rilievi della pressione arteriosa sono stati effettuati usando uno sfigmomanometro a mercurio, in accordo con le linee guida, cioè in posizione seduta, dopo 5 minuti di riposo, con il braccio posto a livello del cuore.

La quantificazione del grado di severità della fatigue è stata compiuta usando diverse scale che classificano la fatigue in diversi gradi di severità. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una valutazione fisica e mentale, prima e dopo la fine della somministrazione del farmaco (dopo 3 mesi). La dose di LAC usata è stata di 1g/die.

Il grado di fatica insorto dopo una leggera attività fisica giornaliera (come per es. camminare, alzarsi, sedersi, cucinare etc.) è stato misurato attraverso il metodo descritto da Wessely e Powell (Wessely and Powell. 1989), consistente in due scale che misurano la fatica fisica (otto items con punteggio da 0 =nessuna fatica a 2 = grado più alto di fatica; range totale di punteggio da 0 a 16) e la fatica mentale (cinque items; range totale di punteggio da 0 a 10).La valutazione funzionale è stata effettuata usando l'indice di KATZ (ADL) e la scala Lawton (IADL).

Lo studio è stato condotto con metodo randomizzato, in doppio cieco, placebo-controllo, in un periodo di 90 giorni. In una prima fase della durata di due settimane i soggetti hanno seguito una dieta “ ad libitum”, come classificata dal National Cholesterol Educational Program (1994), in modo da annullare gli effetti di variazioni nella dieta sui parametri metabolici.

Successivamente i soggetti sono stati randomizzati per ricevere per trenta giorni o un supplemento di 1g di L-carnitina due volte al giorno oppure placebo (un gruppo era costituito da 44 soggetti, l'altro da 40 soggetti).

RISULTATI

I gruppi avevano caratteristiche generali di base simili. La fatigue fisica e mentale e il grado di severità della fatigue non erano significativamente differenti prima del trattamento (Tab 2).

I pazienti trattati con L-carnitina hanno mostrato una diminuzione significativa della fatica fisica (P<0.001; C.I. da 2.04 a 4.16) , della fatica mentale (P<0.05; C.I. da 0.19 a 2.01) e del grado di affaticamento (P<0.001; C.I. da 4.12 a 10.48) rispetto al gruppo trattato con placebo.

Alla fine del trattamento è stata rilevata fra i due gruppi una differenza significativa nei valori dei seguenti parametri: affaticamento (P<0.001; C.I. da -3.76 a -1.64); affaticamento mentale (P<0.05; C.I. da -1.94 a -0.06); severità di affaticamento (P<0.005; C.I. da -8.69 a -2.11).

Confrontando i valori all'inizio trattamento e alla fine del trattamento, dopo somministrazione di L-carnitina è stato evidenziato un sostanziale miglioramento sia della fatica fisica e mentale che della qualità di vita quotidiana nei soggetti anziani.

Pertanto noi ipotizziamo che la riduzione sia dell'affaticamento fisico che mentale nei nostri pazienti sia stato dovuto al miglioramento del metabolismo energetico sia del tessuto del miocardio che del muscolo scheletrico e cerebrale.

	LAC	LAC	Placebo	Placebo
	Prima del trattamento	Dopo 3 mesi	Prima del trattamento	Dopo 3 mesi
Fatica fisica (0-16)	12.8 ± 2.6	9.7 ± 2.4	12.6 ± 2.5	12.4 ± 2.5
Fatica mentale (0-16)	7.1 ± 2.1	6.0 ± 2.2	7.3 ± 2.0	7.0 ± 2.1
Scala di severità sulla fatica (9-63)	52.1 ± 7.3	44.8 ± 7.7	51.8 ± 7.1	50.2 ± 7.4

Tabella 2: Valori ottenuti nel corso dello studio

LAC vs placebo (valori iniziali)	P	D	C.I.
Fatica fisica	0.721	0.20	da -0.91 a 1.31
Fatica mentale	0.657	-0.20	da -1.09 a 0.69
Scala di severità della fatica	0.240	1.90	-1.29 a 5.09
LAC vs placebo (dopo 3 mesi)			
Fatica fisica	<0.001	-2.70	da -3.76 a -1.64
Fatica mentale	<0.05	-1.00	da -1.94 a -0.06
Scala di severità della fatica	<0.005	-5.40	da -8.69 a -2.11
LAC (prima e dopo 3 mesi)			
Fatica fisica	<0.001	3.10	da 2.04 a 4.16
Fatica mentale	<0.05	1.10	da 0.19 a 2.01
Scala di severità della fatica	<0.001	7.30	da 4.12 a 10.48
Placebo (prima e dopo 3 mesi)			
Fatica fisica	0.721	0.20	da -0.91 a 1.31
Fatica mentale	0.515	0.30	da -0.61 a 1.21
Scala di severità della fatica	0.327	1.60	da -1.63 a 4.84

DISCUSSIONE

L'anziano, come il soggetto delle restanti fasce di età, merita di avere una qualità di vita quanto più possibile ottimale. Pertanto considerando che l'incidenza dei tumori aumenta linearmente con l'età è di importanza cruciale saper diagnosticare e di conseguenza trattare in maniera adeguata i tumori e le comorbidità ad essi associate. Conoscere le patologie concomitanti consente, infatti, di programmare un protocollo terapeutico completo ed individualizzato. Spesso il necessario approfondimento diagnostico e il conseguente appropriato trattamento non vengono effettuati a causa dell'approccio fatalistico ai problemi dell'anziano, dell'errata idea di un'aspettativa di vita molto limitata, della scarsa attenzione prestata a sintomi di patologie. La fatigue è il sintomo che più probabilmente interferisce negativamente con le attività e la qualità di vita del paziente anziano, causandone disabilità. È verosimile che la fatigue può causare perdita di indipendenza funzionale nell'età avanzata e tale perdita di autonomia causa interruzione del trattamento, declino nella qualità di vita e una dispendiosa necessità di accudimento continuo.

Tuttavia l'età avanzata può portare a conseguenze opposte sulla fatigue: da un lato, la limitata riserva funzionale e le comorbidità possono incrementare la severità della fatigue, dall'altro, la ridotta attività fisica e il declino cognitivo possono affievolire la percezione della fatigue.

Nel campione che noi abbiamo indagato rappresentato da pazienti geriatrici la fatigue è presente in tutti.

Essi riferivano la fatigue come senso di eccessiva stanchezza e debolezza e presentavano tale sintomo quotidianamente, interferendo con le attività quotidiane.

Il meccanismo della fatigue non è stato ancora chiarito: sebbene la fatigue è associata ad anemia e depressione, altri meccanismi possono entrare in gioco. Di particolare interesse sono gli studi sulle citochine infiammatorie, le quali agiscono in qualità di mediatori del processo infiammatorio o come fattori di crescita tumorali con meccanismo autocrino o paracrino. Alterazioni immunologiche sono state dimostrate in pazienti con sindrome da fatica cronica e nella fatigue correlata al cancro.

La carnitina è una sostanza necessaria per l'energia del muscolo scheletrico e cardiaco. Pertanto la riduzione dei livelli di carnitina in soggetti anziani può spiegare la sarcopenia e la fatigue sia fisica che mentale evidenziabili in tali soggetti.

Il muscolo scheletrico è il principale reservoir di carnitina (ne sono presenti concentrazioni almeno da 50 a 200 volte maggiori che nel sangue).

Con l'invecchiamento si ha una compromissione negativa dei substrati energetici e dei sistemi enzimatici che intervengono nella produzione di energia. Il deficit di produzione di energia ha importanti ripercussioni soprattutto a carico di alcuni tessuti, come la muscolatura scheletrica o il tessuto cerebrale. Negli anziani vi sono riduzioni della concentrazione plasmatica di carnitina, parallelamente alla riduzione del BMI e della massa muscolare. Lo studio effettuato sui centenari nel 1999 presso il nostro Istituto ha messo in evidenza livelli plasmatici più elevati di carnitina nei centenari rispetto alla popolazione anziana di controllo.

Inoltre variazioni nel regime alimentare, come conseguenza di patologie gastrointestinali, possono influenzare la concentrazione di carnitina nell'organismo.

La somministrazione esogena di L-carnitina ed L-acetil-carnitina può consentire la correzione delle funzioni immunologiche e il miglioramento delle funzioni energetiche. (Malaguarnera et al., 2002)

I risultati del nostro studio hanno evidenziato che dopo 3 mesi di somministrazione esogena di L-acetil-carnitina è stato osservato una significativa riduzione della fatica muscolare rispetto al gruppo trattato con placebo.

Confrontando i valori all'inizio del trattamento e alla fine del trattamento, dopo somministrazione di L-acetil-carnitina è stato evidenziato un sostanziale miglioramento sia nella fatica fisica che nella fatica mentale.

Un aspetto aggiuntivo del nostro studio merita considerazione cioè che ALC è una sostanza ben tollerata.

La notevole significatività statistica dei risultati consente di confermare il ruolo dell'ALC sia in campo mentale che motorio.

CONCLUSIONI

L'invecchiamento è un complesso fenomeno che riflette l'interazione del genotipo dell'organismo con l'ambiente. Nonostante l'universalità della senescenza, nessun singolo fattore è probabilmente responsabile dell'invecchiamento in tutti gli organismi così come in un singolo organismo. Piuttosto l'invecchiamento risulta da una combinazione di differenti processi che possono potenzialmente includere fattori quali il danno ossidativo, l'accorciamento di telomeri, la velocità con cui avviene l'apoptosi, il declino del sistema immunitario.

Il danno ossidativo sembra essere un importante fattore nell'invecchiamento, ma è probabile che non sia il solo fattore, ed attualmente rimane aperta la questione se il danno ossidativo sia un meccanismo causale dell'invecchiamento o semplicemente correlato con esso, e se il danno mitocondriale causato dai ROS e il declino della capacità nella fosforilazione ossidativa sia responsabile dell'invecchiamento (Wallace, 1997. Masoro, 2000).

Tra l'altro, anche se i ROS sono un'importante causa di invecchiamento, può essere difficile ridurre i livelli di ROS in vivo senza causare deleteri effetti collaterali, poiché un minimo livello di stress ossidativo sembra essere necessario per le normali funzioni biologiche. Ulteriori studi potrebbero dimostrare l'importanza dei ROS nell'invecchiamento e la possibilità che una ridotta produzione di ROS aumenti la durata della vita.

La longevità sembra pertanto legata a molteplici fattori. Condizione sicuramente essenziale è la presenza di energia e di sostanze in grado di fornire energia e di agire sui substrati energetici. Tra queste un ruolo importante spetta alla carnitina, che con la sua importante funzione nel metabolismo cellulare può contribuire a determinare una riduzione del danno mitocondriale e dello stress ossidativo.

Lo studio effettuato sui centenari nel 1999 presso il nostro Istituto ha messo in evidenza livelli plasmatici più elevati di carnitina nei centenari rispetto alla popolazione anziana di controllo (Malaguarnera, 1999).

D'altronde lo studio effettuato sempre nel nostro Istituto nel 2003 ha evidenziato che la somministrazione orale di L-carnitina determina una riduzione della massa grassa, un aumento della massa muscolare ed inoltre agevola l'attività fisica riducendo la fatica fisica e mentale (Pistone, 2003). Questi indici suggeriscono che la produzione endogena geneticamente determinata o la somministrazione attraverso adeguata supplementazione possa essere un elemento fondamentale nel determinare la longevità.

BIBLIOGRAFIA

1. Alkonyi I, Cseko J, Sandor A. Role of the liver in carnitine metabolism: the mechanism of development of carnitine-deficient status in guinea-pigs. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1990 May;28(5):319-21
2. Amici S, Sarmiento R, Gasparini G, (2004) I nuovi farmaci non chemioterapici. *Oncologia geriatrica 3, I trattamenti integrati* Roma: Il Pensiero Scientifico Editore
3. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* 1981 Apr 9;290(5806):457-65.
4. *Ann N Y Acad Sci.* 1986;478:46-62. Review.
5. Balagopal P, Rooyackers OE, Adey DB, Ades PA, Nair KS. Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans. *Am J Physiol.* 1997 Oct;273(4 Pt 1):E790-800.
6. Bandy B, Davison AJ. Mitochondrial mutations may increase oxidative stress: implications for carcinogenesis and aging? *Free Radic Biol Med.* 1990;8(6):523-39.
7. Barazzoni R, Nair KS. Session on protein metabolism in the elderly. Sarcopenia of the elderly. *Diabetes Nutr Metab.* 2000 Apr;13(2):92-8. Review.
8. Bartlett K, Eaton S. Mitochondrial beta-oxidation. *Eur J Biochem.* 2004 Feb;271(3):462-9
9. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev.* 1998 Apr;78(2):547-81. Review.
10. Bieber LL. Carnitine. *Annu Rev Biochem.* 1988;57:261-83 *Biochem Biophys Res Commun.* 1992 Dec 15;189(2):979-85.
11. Blair SN. Physical activity, physical fitness, and health. *Res Q Exerc Sport.* 1993; 64: 365-76
12. Bloch KE. Sterol structure and membrane function. *CRC Crit Rev Biochem.* 1983;14(1):47-92. Review.
13. Bohles H, Ullrich K, Endres W, Behbehani AW, Wendel U. Inadequate iron availability as a possible cause of low serum carnitine concentrations in patients with phenylketonuria. *Eur J Pediatr.* 1991 Apr;150(6):425-8

14. Brand MD. Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. *Exp Gerontol.* 2000 Sep;35(6-7):811-20. Review.
15. Brass EP, Hiatt WR. Carnitine metabolism during exercise. *Life Sci.* 1994;54(19):1383-93. Review.
16. Brass EP. Pharmacokinetic considerations for the therapeutic use of carnitine in hemodialysis patients. *Clin Ther.* 1995 Mar-Apr;17(2):176-85
17. Bremer J. Carnitine-metabolism and functions. *Physiol Rev.* 1983 Oct;63(4):1420-80.
18. Bresolin N, Freddo L, Vergani, Angelini C. Carnitine, carnitine acyltransferases, and rat brain function. *Exp Neurol.* 1982 Nov;78(2):285-92. •
19. Brierley EJ, Johnson MA, James OF, Turnbull DM. Mitochondrial involvement in the ageing process. Facts and controversies. *Mol Cell Biochem.* 1997 Sep;174(1-2):325-8. Review.
20. Cederblad G. Effect of diet on plasma carnitine levels and urinary carnitine excretion in humans. *Am J Clin Nutr.* 1987 Apr;45(4):725-9
21. Chen W, Huang YC, Shultz TD, Mitchell ME. Urinary, plasma, and erythrocyte carnitine concentrations during transition to a lactoovo vegetarian diet with vitamin B-6 depletion and repletion in young adult women. *Am J Clin Nutr.* 1998 Feb;67(2):221-30
22. Davis AT, Ingalls ST, Hoppel CL. Determination of free trimethyllysine in plasma and tissue specimens by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr.* 1984 Mar 9;306:79-8
23. Eaton S, Pourfarzam M, Bartlett K. The effect of respiratory chain impairment of beta-oxidation in rat heart mitochondria. *Biochem J.* 1996 Oct 15;319 (Pt 2):633-40
24. Edwards YH, Chase JF, Edwards MR, Tubbs PK. Carnitine acetyltransferase: the question of multiple forms. *Eur J Biochem.* 1974 Jul 1;46(1):209-15.
25. Enomoto A, Wempe MF, Tsuchida H, Shin HJ, Cha SH, Anzai N, Goto A, Sakamoto A, Niwa T, Kanai Y, Anders MW, Endou H. Molecular identification of a novel carnitine transporter specific to human testis. Insights into the mechanism of carnitine recognition. *J Biol Chem.* 2002 Sep 27;277(39):36262-71
26. Evans WJ. What is sarcopenia? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995 Nov;50 Spec No:5-8. Review.

27. Ferrari R, Visioli O. New findings on cardiac metabolism in ischemic cardiopathy. *Cardiologia*. 1991 Dec;36:367-71
28. Fraenkel G, Friedman S. Carnitine. *Vitam Horm*. 1957;15:73-118
29. Goodridge AG, Back DW, Wilson SB, Goldman MJ. Regulation of genes for enzymes involved in fatty acid synthesis.
30. Goodridge AG, Back DW, Wilson SB, Goldman MJ. Regulation of genes for enzymes involved in fatty acid synthesis. *Ann N Y Acad Sci*. 1986;478:46-62. Review.
31. Grunewald RA. Ascorbic acid in the brain. *Brain Res Brain Res Rev*. 1993 Jan-Apr;18(1):123-33. Review.
32. Hagen TM, Moreau R, Suh JH, Visioli F. Mitochondrial decay in the aging rat heart: evidence for improvement by dietary supplementation with acetyl-L-carnitine and/or lipoic acid. *Ann N Y Acad Sci*. 2002 Apr;959:491-507
33. Hamerman D, Berman JW, Albers GW, et al. Emerging evidence for inflammation in conditions frequently affecting older adults: report of a symposium. *J Am Geriatr Soc* 1999;47:995-9.
34. Harman D. Free radical theory of aging: dietary implications. *Am J Clin Nutr*. 1972 Aug;25(8):839-43.
35. Hayakawa M, Hattori K, Sugiyama S, Ozawa T. Age-associated oxygen damage and mutations in mitochondrial DNA in human hearts.
36. Hoppel CL, Genuth SM. Carnitine metabolism in normal-weight and obese human subjects during fasting. *Am J Physiol*. 1980 May;238(5):409-15
37. Hulse JD, Ellis SR, Henderson LM. Carnitine biosynthesis. beta-Hydroxylation of trimethyllysine by an alpha-ketoglutarate-dependent mitochondrial dioxygenase. *J Biol Chem*. 1978 Mar 10;253(5):1654-9
38. Indiveri C, Tonazzi A, Palmieri F. Characterization of the unidirectional transport of carnitine catalyzed by the reconstituted carnitine carrier from rat liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 1991 Oct 14;1069:110-6.
39. Indiveri C, Tonazzi A, Palmieri F. The reconstituted carnitine carrier from rat liver mitochondria: evidence for a transport mechanism different from that of the other mitochondrial translocators. *Biochim Biophys Acta*. 1994 Jan 3;1189(1):65-73.
40. Kalaiselvi CJ, Panneerselvam C. Effect of L-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. 1998; *J Nutr Biochem*. 9: 575-81

41. Khan-Siddiqui L, Bamji MS. Plasma carnitine levels in adult males in India: effects of high cereal, low fat diet, fat supplementation, and nutrition status. *Am J Clin Nutr.* 1980 Jun;33(6):1259-63
42. Kirkwood TB, Kowald A. Network theory of aging. *Exp Gerontol.* 1997 Jul-Oct;32(4-5):395-9.
43. Klivenyi P, Andreassen OA, Ferrante RJ, Dedeoglu A, Mueller G, Lancelot E, Bogdanov M, Andersen JK, Jiang D, Beal MF. Mice deficient in cellular glutathione peroxidase show increased vulnerability to malonate, 3-nitropropionic acid, and 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *J Neurosci.* 2000 Jan 1;20(1):1-7.
44. Krajcovicova-Kudlackova M, Simoncic R, Bederova A, Babinska K, Beder I. Correlation of carnitine levels to methionine and lysine intake. *Physiol Res.* 2000;49(3):399-402
45. Kurrock R. The role of cytokines in cancer-related fatigue. *Cancer* 2001:1684-8.
46. Laganieri S, Yu BP. Modulation of membrane phospholipid fatty acid composition by age and food restriction. *Gerontology.* 1993;39(1):7-18.
47. Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim Biophys Acta.* 1998 Aug 10;1366(1-2):53-67. Review.
48. Lennon DL, Shrago ER, Madden M, Nagle FJ, Hanson P. Dietary carnitine intake related to skeletal muscle and plasma carnitine concentrations in adult men and women. *Am J Clin Nutr.* 1986 Feb;43(2):234-8
49. Liebler DC, Kling DS, Reed DJ. Antioxidant protection of phospholipid bilayers by alpha-tocopherol. Control of alpha-tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *J Biol Chem.* 1986 Sep 15;261(26):12114-9.
50. Lombard KA, Olson AL, Nelson SE, Rebouche CJ. Carnitine status of lactoovo vegetarians and strict vegetarian adults and children. *Am J Clin Nutr.* 1989 Aug;50(2):301-6.
51. Malaguarnera M, Cammalleri L, Gargante Mp, Vacante M, Colonna V, Motta M. L-Carnitine treatment reduces severity of physical and mental fatigue and increases cognitive functions in centenarians: a randomized and controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 1738-1744

52. Malaguarnera M, Gargante Mp, Cristaldi E, Colonna V, Messano M, Koverech A, Neri S, Vacante M, Cammalleri L, Motta M. Acetyl L-carnitine (ALC) treatment in elderly patients with fatigue. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 2008;46:181–190
53. Malaguarnera M, Maugeri D, Saraceno B, Romano M, Neri S, Rapisarda R, Pistone G. Effects of carnitine on biochemical responses in patients with chronic hepatitis C treated with interferon- α . *Clin Drug Invest* 2002; 22: 443-448
54. Malaguarnera M, Pistone G, Recepto G, Rapisarda R, Tomasello Fb, Motta M, Maugeri D. Serum Carnitine Levels in Centenarians. *Clin. Drug Invest.* 1999; 17(4), 321-27.
55. Malaguarnera M.; Di Mauro S.; Laurino A.; Motta M.; Di Fazio I.; Maugeri D. The comorbidities of elderly oncologic patients; *Archives of Gerontology and Geriatrics*, Volume 30, Number 3, June 2000, pp. 237-244
56. Masoro EJ. Caloric restriction and aging: an update. *Exp Gerontol.* 2000 May;35(3):299-305. Review.
57. Mecocci P, Fano G, Fulle S, MacGarvey U, Shinobu L, Polidori MC, Cherubini A, Vecchiet J, Senin U, Beal MF. Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med.* 1999 Feb;26(3-4):303-8.
58. Mecocci P, MacGarvey U, Kaufman AE, Koontz D, Shoffner JM, Wallace DC, Beal MF. Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increases in human brain. *Ann Neurol.* 1993 Oct;34(4):609-16.
59. Minkler PE, Anderson VE, Maiti NC, Kerner J, Hoppel CL. •
60. Monfardini S; Zagonel V; Noordijk EM. Lymphomas; *Critical reviews in oncology/hematology*, 1998; 27: 157 – 160
61. Nada MA, Rhead WJ, Sprecher H, Schulz H, Roe CR. Evidence for intermediate channeling in mitochondrial beta-oxidation. *J Biol Chem.* 1995 Jan 13;270(2):530-5.
62. Nakamura K, Wang W, Kang UJ. The role of glutathione. 1997. In: Haninen, O (Ed.) *Physiological antioxidant. In exercise and oxygen toxicity.* Elsevier, Amsterdam, pp 89-126
63. Nakanishi T, Hatanaka T, Huang W, Prasad PD, Leibach FH, Ganapathy ME, Ganapathy V. Na⁺- and Cl⁻-coupled active transport of carnitine by the amino acid

- transporter ATB(0,+)⁺ from mouse colon expressed in HRPE cells and *Xenopus* oocytes. *J Physiol*. 2001 Apr 15;532(Pt 2):297-304
64. Nass S, Nass MM. Intramitochondrial fibers with dna characteristics. II. Enzymatic and other hydrolytic treatments. *J Cell Biol*. 1963 Dec;19:613-29.
65. Neumann G. Effects of L-carnitine on athletic performance. 1996. In: *Carnitine Pathobiochemical Basics and Clinical Applications*: 61-71
66. Noël H, Pande SV. An essential requirement of cardiolipin for mitochondrial carnitine acylcarnitine translocase activity. Lipid requirement of carnitine acylcarnitine translocase. *Eur J Biochem*. 1986; 17;155:99-102
67. Nohl H, Jordan W. The metabolic fate of mitochondrial hydrogen peroxide. *Eur J Biochem*. 1980;111(1):203-10.
68. Nohl H, Kramer R. Molecular basis of age-dependent changes in the activity of adenine nucleotide translocase. *Mech Ageing Dev*. 1980 Sep-Oct;14(1-2):137-44.
69. Paradies G, Petrosillo G, Ruggiero FM. Cardiolipin-dependent decrease of cytochrome c oxidase activity in heart mitochondria from hypothyroid rats. *Biochim Biophys Acta*. 1997; 1319: 5-8.
70. Paradies G, Ruggiero FM, Petrosillo G, Gadaleta MN, Quagliariello E. Carnitine-acylcarnitine translocase activity in cardiac mitochondria from aged rats: the effect of acetyl-L-carnitine. *Mech Ageing Dev*. 1995 Oct 13;84(2):103-12.
71. Piovesan P, Pacifici L, Tagliatela G, Ramacci MT, Angelucci L. Acetyl-L-carnitine treatment increases choline acetyltransferase activity and NGF levels in the CNS of adult rats following total fimbria-fornix transection. *Brain Res*. 1994 Jan 7;633(1-2):77-82.
72. Pistone G, Marino A, Leotta C, Dell'Arte S, Finocchiaro G, Malaguarnera M. Levocarnitine administration in elderly subjects with rapid muscle fatigue: effect on body composition, lipid profile and fatigue. *Drugs Aging*. 2003;20:761-7.
73. Ramsay RR, Gandour RD, van der Leij FR. Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochim Biophys Acta*. 2001 Mar 9;1546(1):21-43
74. Rebouche CJ, Bosch EP, Chenard CA, Schabold KJ, Nelson SE. Utilization of dietary precursors for carnitine synthesis in human adults. *J Nutr*. 1989 Dec;119(12):1907-13

75. Rebouche CJ, Chenard CA. Metabolic fate of dietary carnitine in human adults: identification and quantification of urinary and fecal metabolites. *J Nutr.* 1991 Apr;121(4):539-46
76. Rebouche CJ, Seim H. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu Rev Nutr.* 1998;18:39-61.
77. Reszko AE, Kasumov T, David F, Thomas KR, Jobbins KA, Cheng JF, Lopaschuk GD, Dyck JR, Diaz M, Des Rosiers C, Stanley WC, Brunengraber H. Regulation of malonyl-CoA concentration and turnover in the normal heart. *J Biol Chem.* 2004 Aug 13;279(33):34298-301.
78. Rice Evans C, Burdon RC. Free radical lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res.* 1993; 32: 71-110
79. Richter C, Park JW, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988 Sep;85(17):6465-7
80. Rieter RJ. Oxidative process and antioxidative defense mechanism in the aging brain. *FASEB J.* 1995; 9: 526-533
81. Sachan DS, Broquist HP. Synthesis of carnitine from epsilon-N-trimethyllysine in post mitochondrial fractions of *Neurospora crassa*. *Biochem Biophys Res Commun.* 1980 Sep 30;96(2):870-5
82. Sahajwalla CG, Helton ED, Purich ED, Hoppel CL, Cabana BE. Multiple-dose pharmacokinetics and bioequivalence of L-carnitine 330-mg tablet versus 1-g chewable tablet versus enteral solution in healthy adult male volunteers. *J Pharm Sci.* 1995 May;84(5):627-33
83. Sastre J, Pallardo FV, Garcia de la Asuncion J, Vina J. Mitochondria, oxidative stress and aging. *Free Radic Res.* 2000 Mar;32(3):189-98. Review.
84. Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Nov 8;91(23):10771-8.
85. Siami G, Clinton ME, Mrak K et al. Evaluation of the effect of intravenous L-carnitine therapy on function, structure and fatty acid metabolism of skeletal muscle in patients receiving chronic hemodialysis. *Nephron.* 1991; 57: 306-13
86. Siliprandi N, Di Lisa F, Pieralisi G, Ripari P, Maccari F, Menabo R, Giamberardino MA, Vecchiet L. Metabolic changes induced by maximal exercise in human subjects following L-carnitine administration. *Biochim Biophys Acta.* 1990 Apr 23;1034(1):17-21.

87. Sohal RS, Ku HH, Agarwal S, Forster MJ, Lal H. Oxidative damage, mitochondrial oxidant generation and antioxidant defenses during aging and in response to food restriction in the mouse. *Mech Ageing Dev.* 1994 May;74(1-2):121-33.
88. Sonnewald U, Westergaard N, Petersen SB, Unsgard G, Schousboe A. Metabolism of [U-13C]glutamate in astrocytes studied by 13C NMR spectroscopy: incorporation of more label into lactate than into glutamine demonstrates the importance of the tricarboxylic acid cycle. *J Neurochem.* 1993 Sep;61(3):1179-82
89. Takiyama N, Matsumoto K. Age-and sex-related differences of serum carnitine in a Japanese population. *J Am Coll Nutr.* 1998;17:71-4
90. Tamai I, Ohashi R, Nezu J, Yabuuchi H, Oku A, Shimane M, Sai Y, Tsuji A. Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2. *J Biol Chem.* 1998 Aug 7;273(32):20378-82
91. Tamai I, Ohashi R, Nezu JI, Sai Y, Kobayashi D, Oku A, Shimane M, Tsuji A. Molecular and functional characterization of organic cation/carnitine transporter family in mice. *J Biol Chem.* 2000 Dec 22;275(51):40064-72
92. Vollemer-Conna U, Lloyd A, Hiki I, et al. Chronic fatigue syndrome: an immunological prospective. *Aust NZ J Psychiatry* 1998;32:523-7.
93. Von Zglinicki T, Wiswedel I, Trumper L, Augustin W. Morphological changes of isolated rat liver mitochondria during Fe²⁺/ascorbate-induced peroxidation and the effect of thioctacid. *Mech Ageing Dev.* 1991 Mar;57(3):233-46.
94. Wachter S, Vogt M, Kreis R, Boesch C, Bigler P, Hoppeler H, Krahenbuhl S. Long-term administration of L-carnitine to humans: effect on skeletal muscle carnitine content and physical performance. *Clin Chim Acta.* 2002 Apr;318(1-2):51-61.
95. Wallace DC, Shoffner JM, Watts RL, Juncos JL, Torroni A. Mitochondrial oxidative phosphorylation defects in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1992 Jul;32(1):113-4.
96. Wallace DC. Mitochondrial DNA in aging and disease. *Sci Am.* 1997;277:40-7
97. Wolfson L, Judge J, Whipple R, King M. Strength is a major factor in balance, gait, and the occurrence of falls. 1995; *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995; Spec No: 64-7

98. Wu X, George RL, Huang W, Wang H, Conway SJ, Leibach FH, Ganapathy V. Structural and functional characteristics and tissue distribution pattern of rat OCTN1, an organic cation transporter, cloned from placenta. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Jun 1;1466(1-2):315-27
99. Yarasheski KE, Zachwieja JJ, Campbell JA, Bier DM. Effect of growth hormone and resistance exercise on muscle growth and strength in older men. *Am J Physiol*. 1995 Feb;268(2 Pt 1):E268-76