



I Radicali liberi o specie reattive dell'ossigeno ROS (Reactive Oxygen Species)



Radicali liberi

La produzione dei radicali liberi è un processo biologico che caratterizza tutte le cellule eucariotiche

Essa si verifica normalmente nelle reazioni biochimiche cellulari, soprattutto in quelle che utilizzano ossigeno per produrre energia (processi ossidativi).



RADICALE LIBERO

DEFINIZIONE: molecola che contiene uno o più elettroni spaiati nell'orbitale di legame.

I radicali reagiscono con altre molecole allo scopo di catturare gli elettroni necessari al raggiungimento della stabilità.



RADICALE LIBERO

Quando sono overespressi all'interno della cellula, queste molecole o atomi particolarmente instabili svolgono una potente ed aggressiva azione dannosa nell'organismo danneggiando tutte le biomolecole dell'organismo umano.



ROS: REACTIVE OXYGEN SPECIES

Radicaliche e non radicaliche

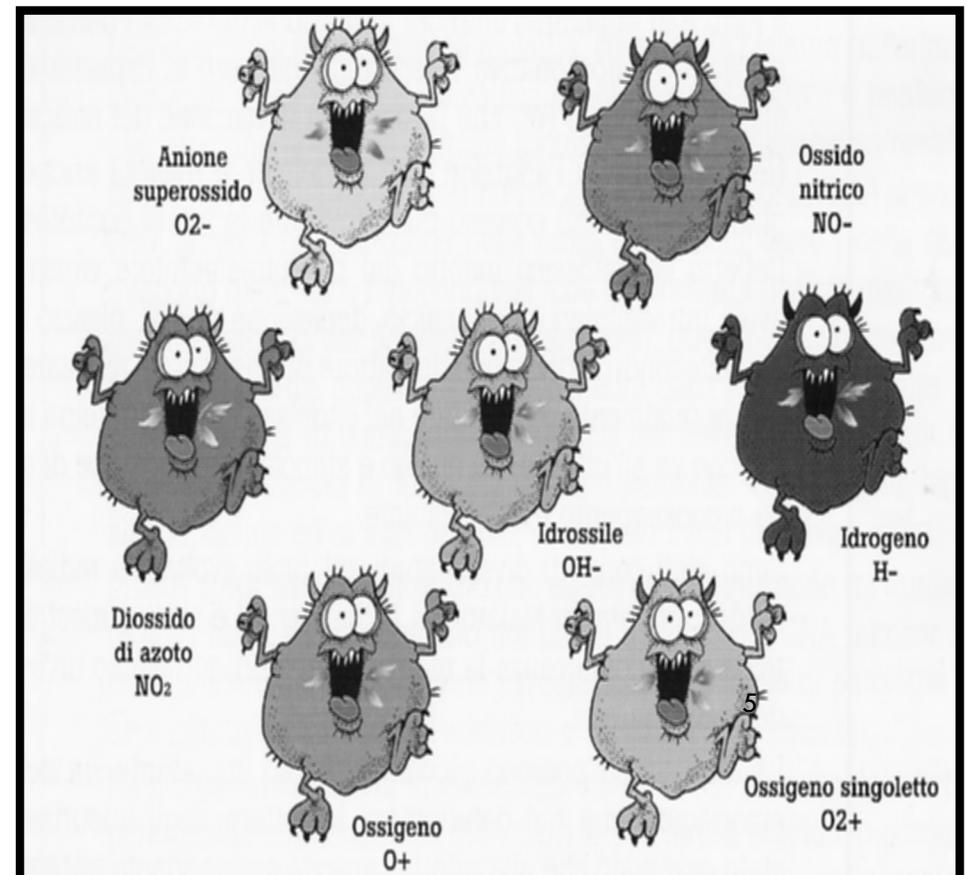
ANIONE SUPEROSSIDO $O_2^{\cdot-}$

RADICALE OSSIDRILICO $HO\cdot$

OSSIDO NITRICO $NO\cdot$

OSSIGENO SINGOLETTO 1O_2

PEROSSIDO DI IDROGENO H_2O_2

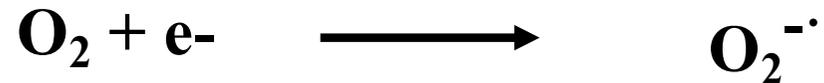




SPECIE RADICALICHE

ANIONE SUPEROSSIDO $O_2^{\cdot-}$

Il radicale prodotto in maggiore quantità



Il radicale superossido gioca un ruolo cruciale nella formazione di altre specie radicaliche come: il radicale ossidrilico, l'ossigeno singoletto



SPECIE RADICALICHE

➤ RADICALE OSSIDRILE $\cdot\text{OH}$

Radicale altamente reattivo

➤ OSSIDO NITRICO $\text{NO}\cdot$

La sua tossicità è legata alla formazione di perossinitrato ed ac perossinitroso che generano il radicale ossidrile e un radicale dell'azoto





SPECIE NON RADICALICHE

➤ OSSIGENO SINGOLETTO $^1\text{O}_2$

- Può reagire con doppi legami, per esempio degli acidi grassi producendo idroperossidi
- E' coinvolto nell'ossidazione del colesterolo

L'EMIVITA DEI RADICALI LIBERI E' ESTREMAMENTE BREVE: 1×10^{-6} ; 1×10^{-9} s



SPECIE NON RADICALICHE

➤ PEROSSIDO DI IDROGENO



Reazioni di Fenton

Metalli di transizione



ORIGINE DELLE SPECIE REATTIVE

- ESOGENA

- Fumo di sigaretta
- Inquinamento ambientale
- Radiazioni elettromagnetiche
- Eccessivo contenuto di Fe o Cu
- Farmaci, pesticidi, anestetici
- Luce ultravioletta
- Stress
- Esercizio fisico



ORIGINE DELLE SPECIE REATTIVE

- ENDOGENA

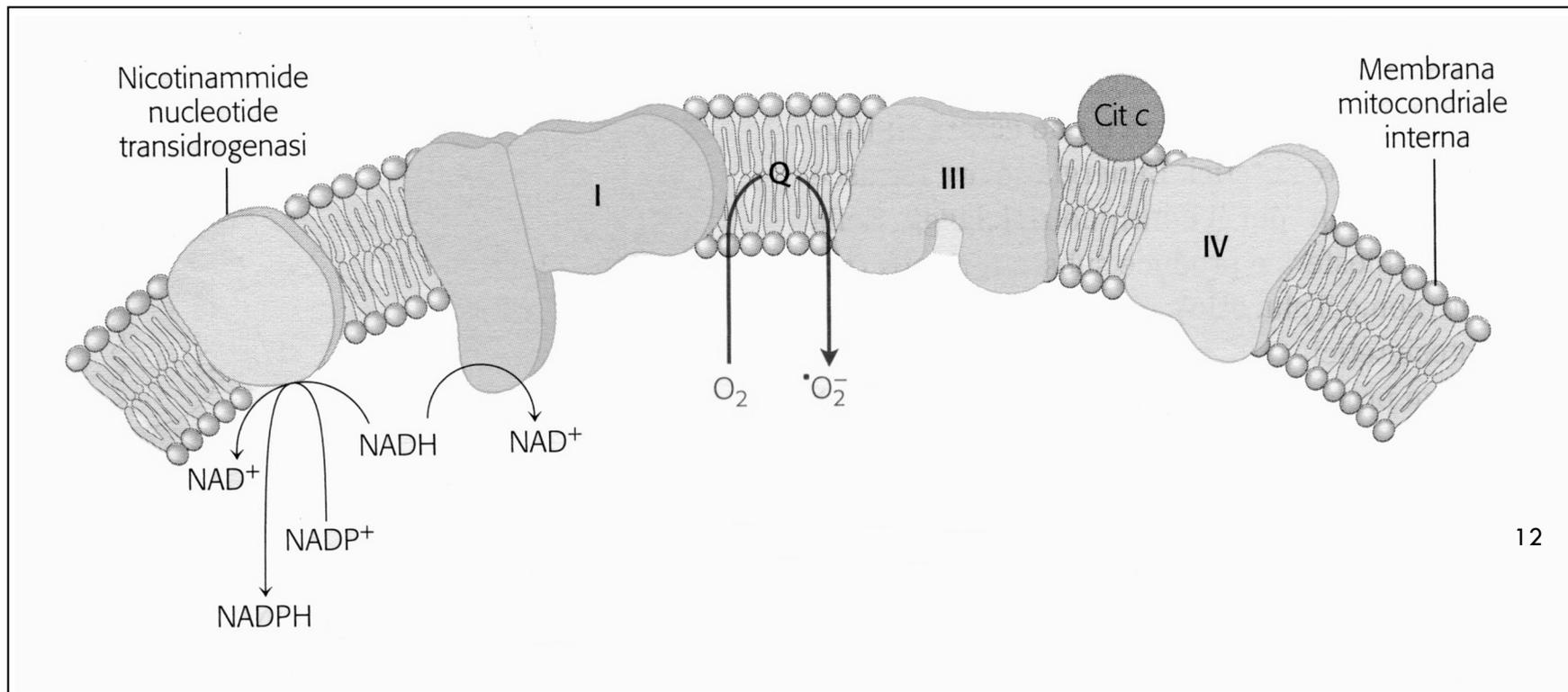
Nel nostro organismo i radicali liberi si producono:

- 1. Durante l'ossidazione finale dei substrati energetici;**
- 2. Nelle reazioni immunitarie cellulo-mediate, prodotte dai globuli bianchi;**
- 3. Nelle reazioni di detossificazione epatica;**
- 4. Nelle fasi di riperfusione dei tessuti dell'organismo interessati da fenomeni ischemici.**



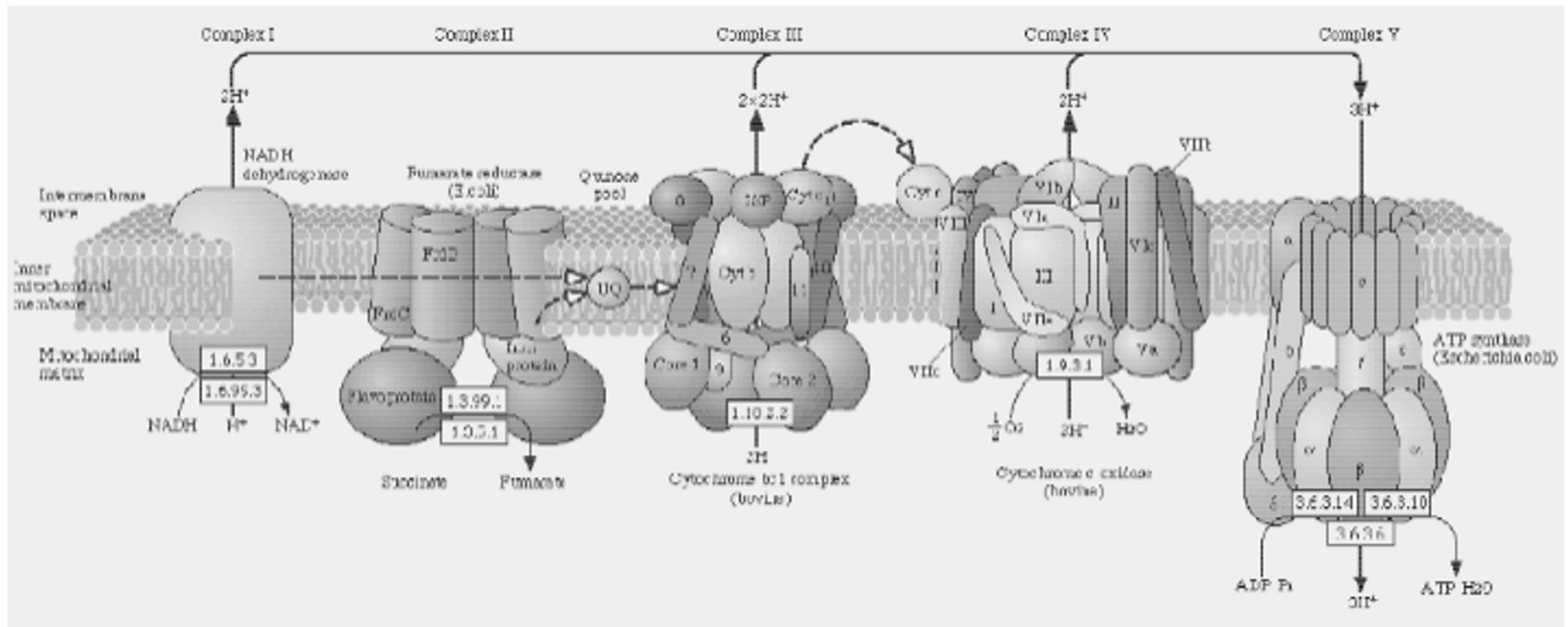
1. Produzione di ROS nei mitocondri

La produzione di ROS avviene in due punti precisi della catena respiratoria mitocondriale: il complesso I ed il complesso III.



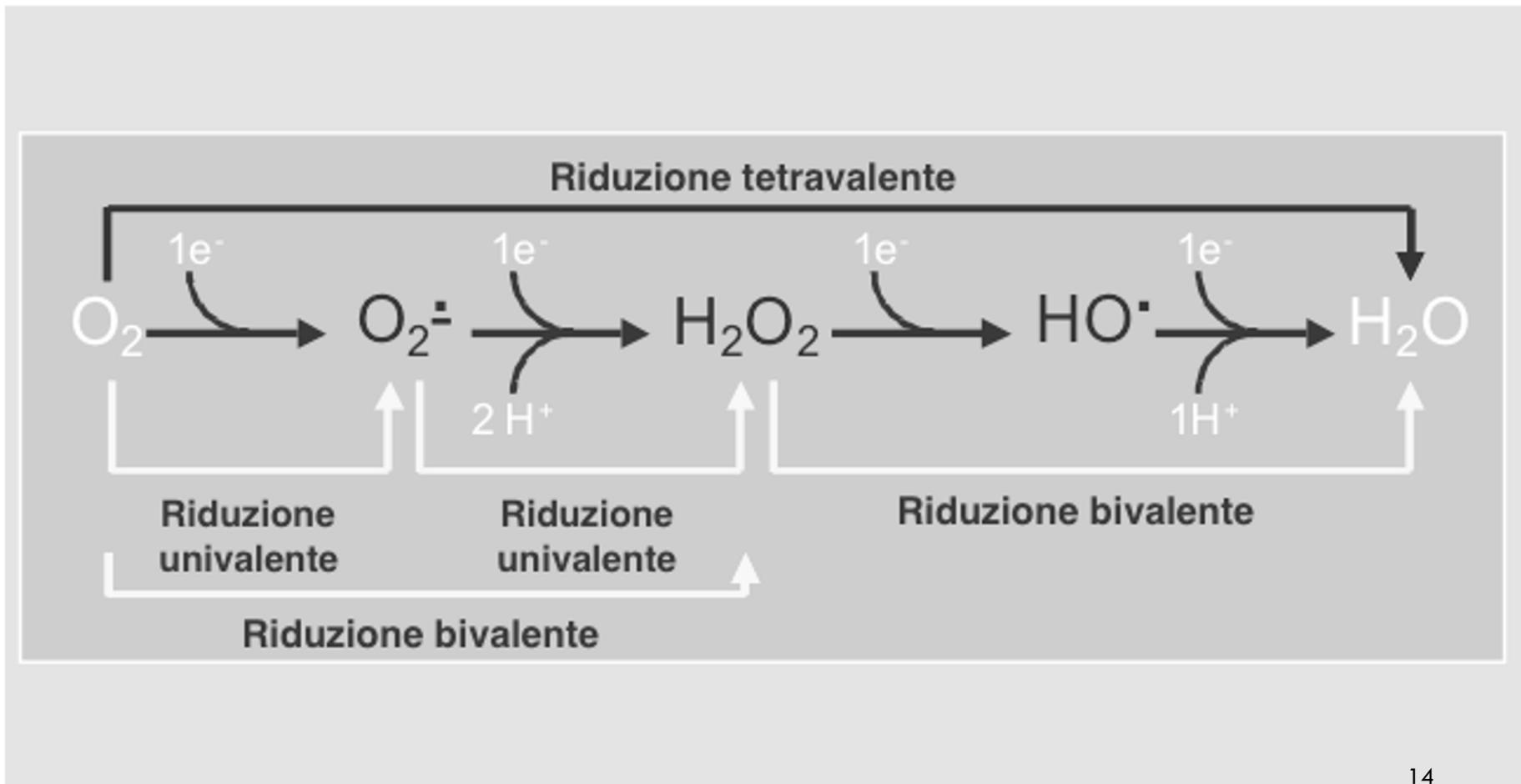


CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI E FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA





Modalità di riduzione dell'ossigeno molecolare





2. Nelle reazioni immunitarie cellulo-mediate, prodotte dai globuli bianchi (neutrofili e macrofagi)

La produzione dei ROS in queste cellule è associata alla capacità dell' organismo di innescare un meccanismo di difesa contro agenti patogeni

Enzimi coinvolti:

NADPH ossidasi- lipoossigenasi (in entrambi i tipi cellulari)

Mieloperossidasi (solo nei neutrofili)



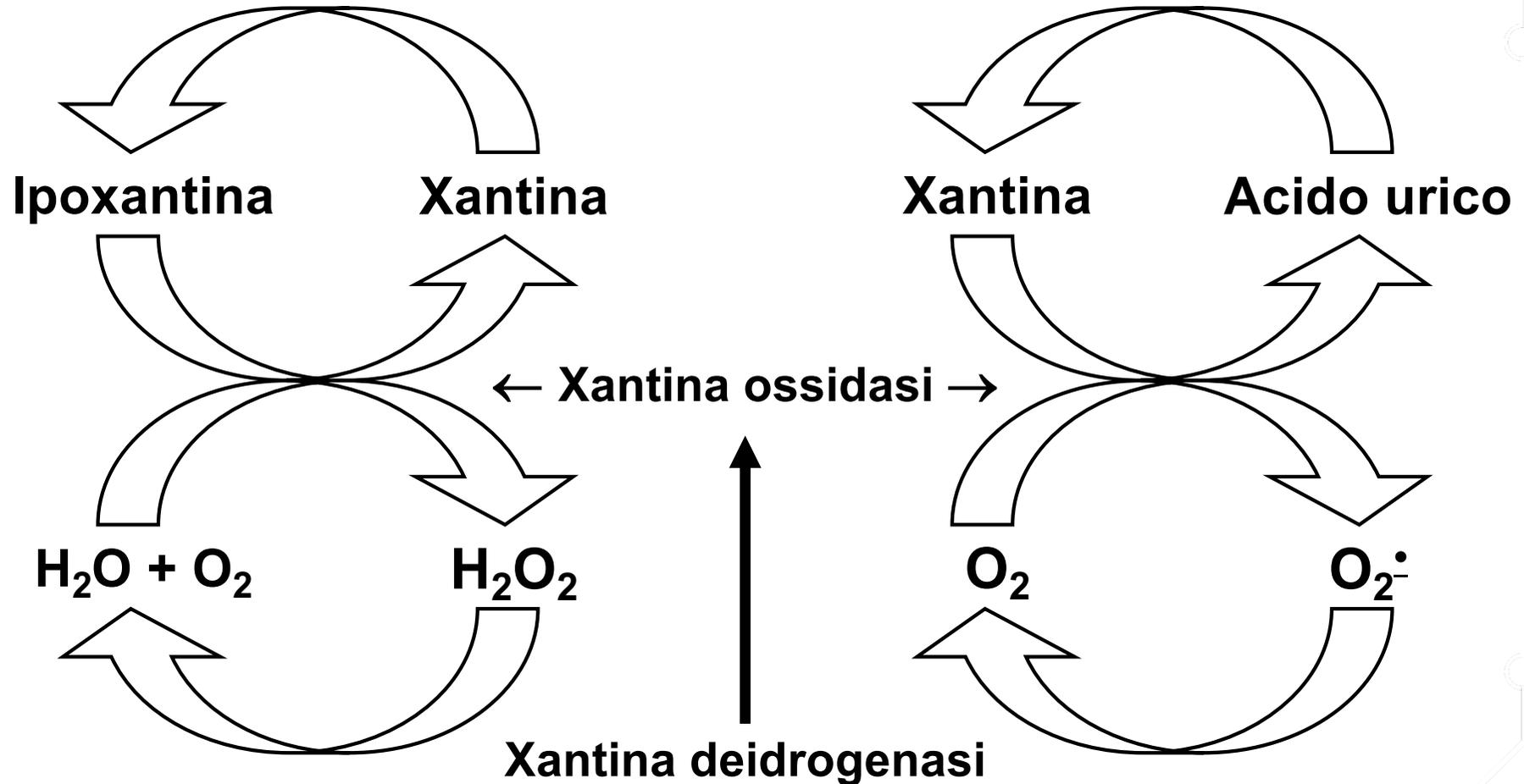
3. Produzione di ROS nelle reazioni di detossificazione epatica

Isoenzimi appartenenti alla famiglia del citocromo P- 450 localizzati nel reticolo endoplasmatico (microsomi)

- inattivazione di ormoni (es. steroidei) e composti non fisiologici (sostanze tossiche, farmaci idrofobici che vengono in tal modo resi più solubili e meno tossici).**



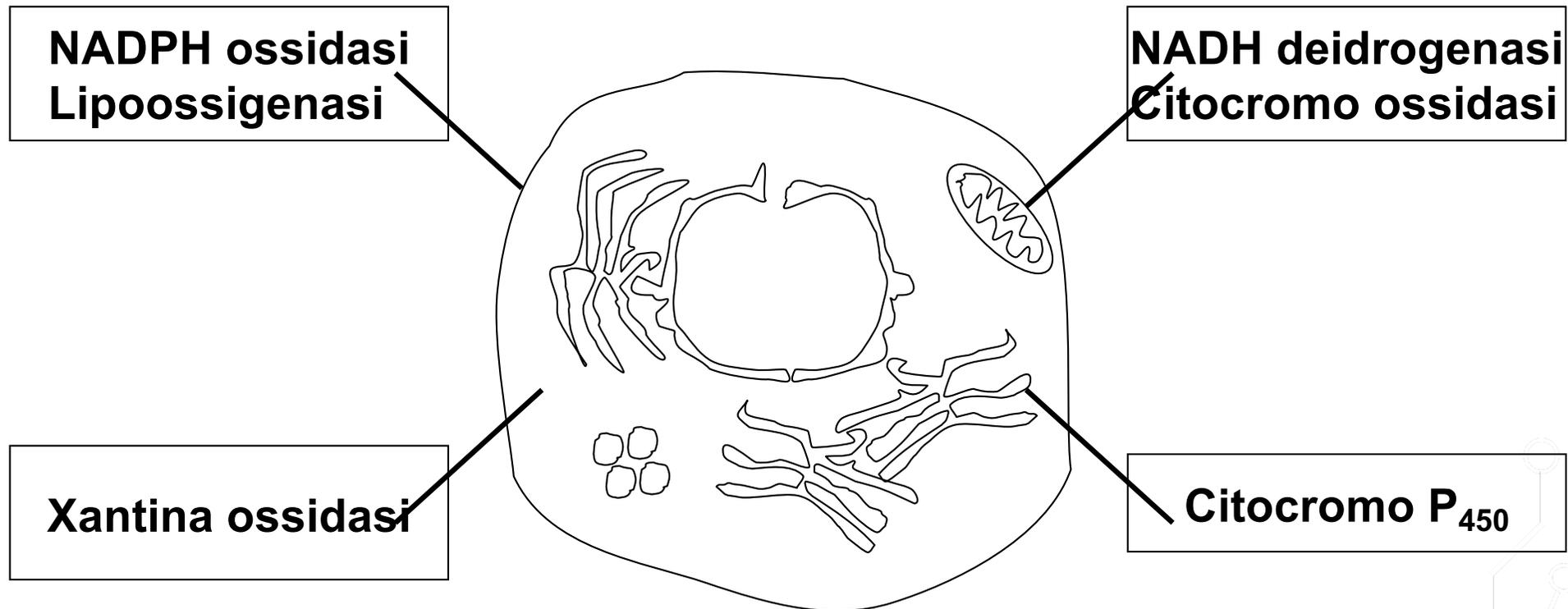
4. Produzione dei ROS nella riperfusione dei tessuti



La xantina ossidasi catalizza la formazione di anione superossido e perossido di idrogeno nel citosol



I ROS sono quasi insostituibili "compagni di viaggio" della vita cellulare





DANNI CELLULARI PRODOTTI DAI ROS



**MODIFICAZIONE DI
PROTEINE E LIPIDI**



DANNI AL DNA



**DANNI AL DNA
MITOCONDRIALE**



EFFETTO SULLE BIOMOLECOLE

➤ **PROTEINE**

ossidazione gruppi -SH

ossidazione di alcuni AA

liberazione del Fe per degradazione degli anelli porfirinici



perdita di funzionalità

➤ **CARBOIDRATI:**

Sottrazione di un H da un C sulla catena polisaccaridica con formazione di un radicale (HO·)



frammentazione e depolimerizzazione



EFFETTO SULLE BIOMOLECOLE

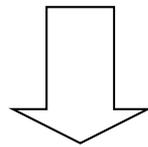
➤ LIPIDI

- E' la classe di biomolecole più suscettibile all'attacco dei radicali (PEROSSIDAZIONE LIPIDICA)
- L'autossidazione avviene a carico degli acidi grassi insaturi presenti nelle membrane cellulari
- L'iniziatore principale è OH^\cdot



➤ **PEROSSIDAZIONE LIPIDICA**

Comprende una complessa serie di eventi attraverso i quali le catene di acidi grassi dei fosfolipidi di membrana sono convertiti in una serie di prodotti di frammentazione detti perossidi (ROOH)

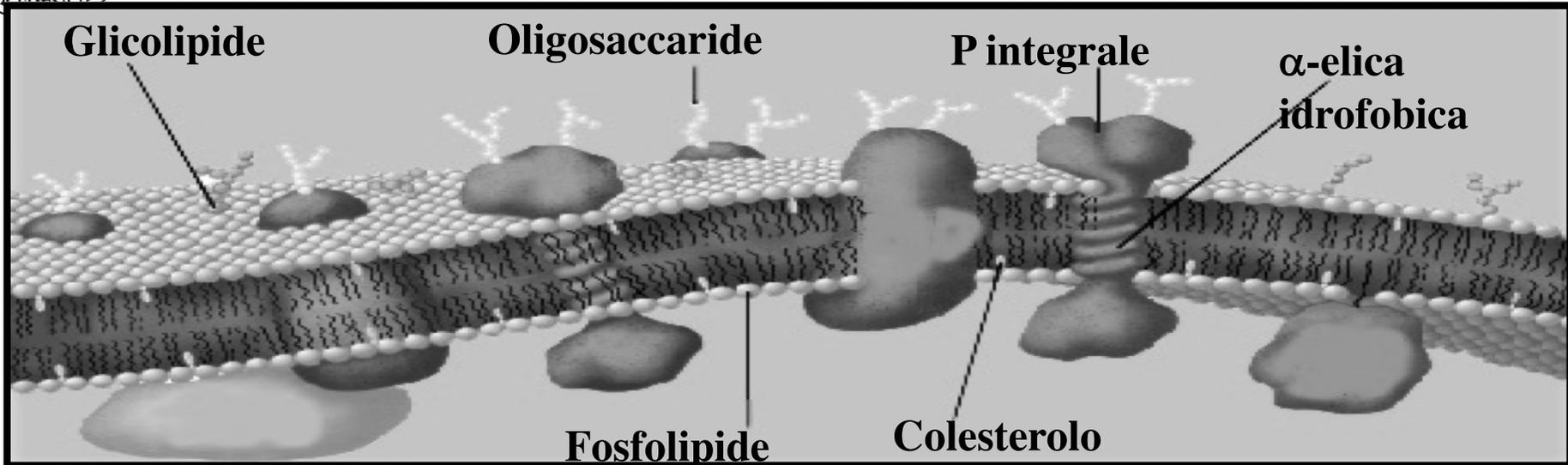


La perossidazione porta quindi alla distruzione dei lipidi e alla conseguente alterazione della struttura della membrana

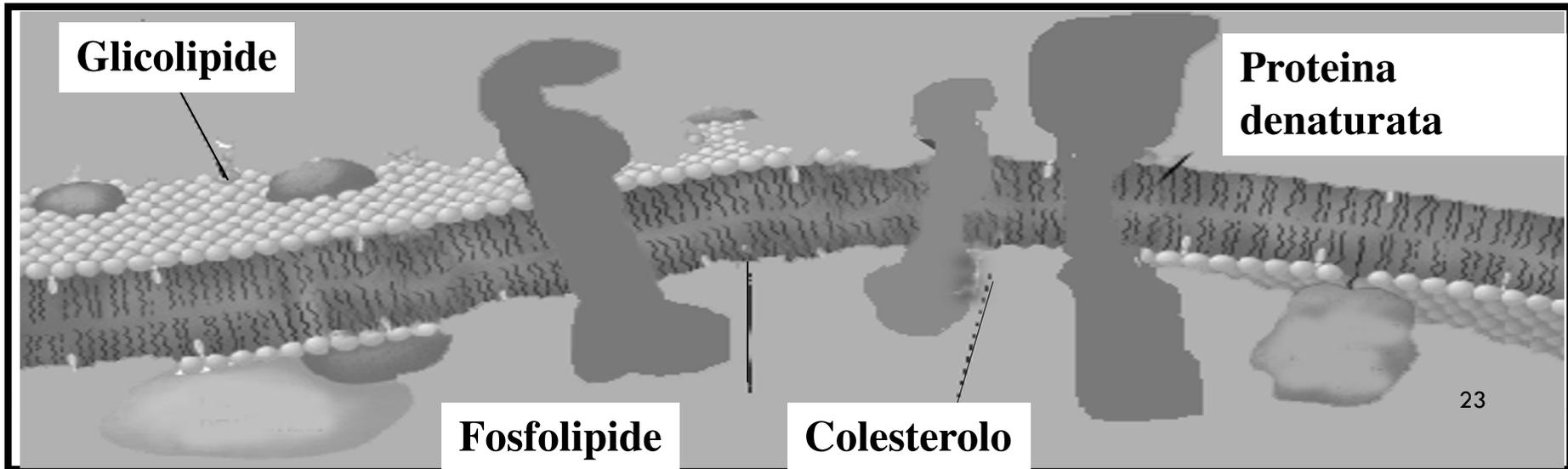


DANNO INDOTTO SULLE MEMBRANE

Membrana integra



Perossidazione lipidica





EFFETTO SULLE BIOMOLECOLE

➤ ACIDI NUCLEICI:

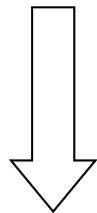
Idrossilazione delle basi per addizione del radicale $OH\cdot$ o sottrazione di un H dalla molecola saccaridica.

Addotti del DNA

**Rotture della doppia elica
(rotture a singolo e doppio filamento)**

Danno alle basi

Cross-links



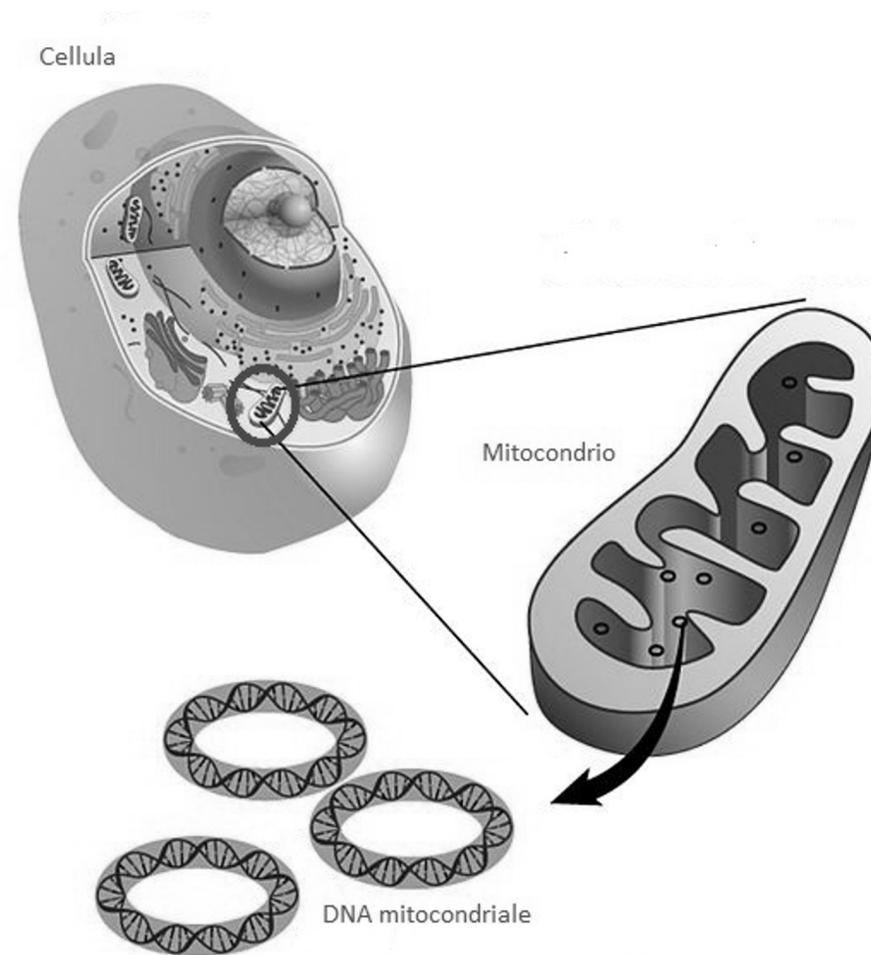
Mutagenesi e cancerogenesi





DANNI OSSIDATIVI DEI MITOCONDRI

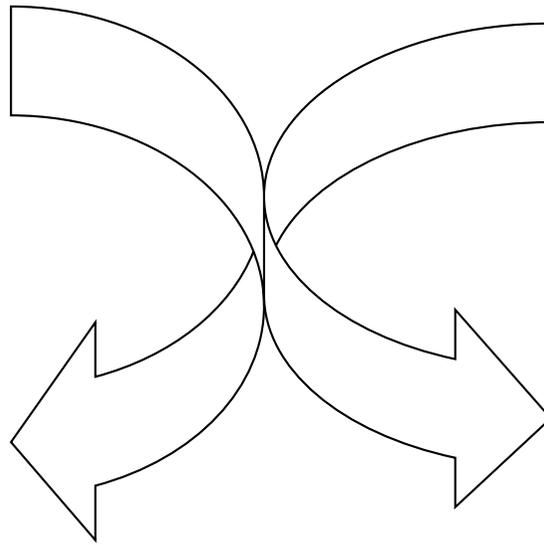
- **SENESCENZA**
- **PARKINSON**
- **ALZHEIMER**





Nell'organismo sono presenti numerosi sistemi in grado di neutralizzare l'effetto dannoso dei radicali liberi

ANTIOSSIDANTI

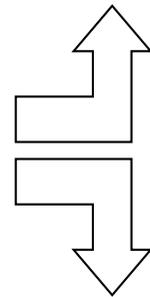


enzimatici

non enzimatici



Antiossidanti



enzimatici

- **SOD**
- **GSH-Px**
- **CAT**

Non enzimatici

- **α -Tocoferolo**
- **Vitamina A**
- **Carotenoidi**
- **Micronutrienti e proteine (selenio, rame, zinco, transferina, ferritina, ceruloplasmina)**



ANTIOSSIDANTI ENZIMATICI

- **SUPEROSSIDO DISMUTASI (SOD)**
- **CATALASI**
- **GLUTATIONE PEROSSIDASI (GSX)**



SUPEROSSIDO DISMUTASI (SOD)



Esistono diversi isoenzimi SOD che differiscono per i diversi ioni metallici e per differente localizzazione cellulare:

Rame e zinco-SOD (Cu-Zn-SOD) citosol

Manganese-SOD (Mn-SOD) mitocondri

MUTAZIONE DEL GENE PER LA SOD SONO RESPONSABILI DELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)

L' esercizio fisico provoca un aumento di questa attività enzimatica.





Antiossidanti enzimatici

CATALASI



Localizzata nei perossisomi

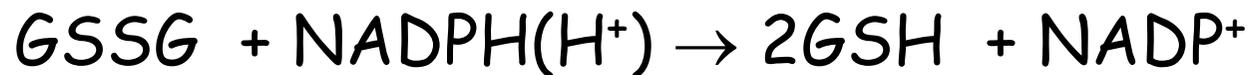
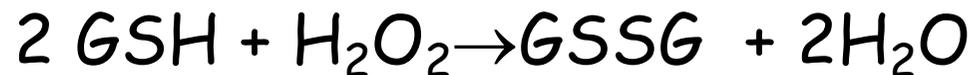
Non ci sono evidenze scientifiche concrete che dimostrino l'influenza dell'esercizio fisico sulla sua attività enzimatica.



Antiossidanti enzimatici

GLUTATIONE PEROSSIDASI

Neutralizza il perossido di idrogeno con riossidazione del GSH
il GSH viene mantenuto allo stato ridotto da un sistema NADPH-
dipendente



GLUTATIONE REDUTTASI

L'esercizio fisico provoca un aumento di questa attività enzimatica.



GLI ANTIOSSIDANTI NON ENZIMATICI

Sostanze capaci di demolire i radicali liberi

Nel loro insieme, queste molecole vengono dette scavengers (spazzini).

Principali antiossidanti: vit C, vit E, il glutathione, il β -carotene ed il selenio (cofattore della glutathione perossidasi)



PRINCIPALI ANTIOSSIDANTI ALIMENTARI

Vitamina E	Oli: germe di grano, girasole, soia, colza, mais Spinaci, broccoli Arachidi, semi di girasole
Vitamina C	Mirtilli, fragole, arance, kiwi Peperoni rossi, patate, broccoli, lattuga
β -carotene	Carote, spinaci, pomodori, piselli, lattuga, zucca, cicoria Agrumi, melone, albicocche, pesche, nespole
Selenio	Verdure, funghi Noci brasiliane, semi di girasole
Flavonoidi	Bevande: tè, vino rosso Cipolla, lattuga Mele, arance, uva
Licopene	Pomodori, meloni, papaia
Resveratrolo	Uva a buccia scura, vino rosso
Acido lipoico	Patate, carote, verdure in foglia Carni rosse
Ubichinone	Oli: soia, germe di grano Noci, nocciole Spinaci, aglio, cavoli Fagioli Carni e pesci in generi



Quando la cellula non riesce a far fronte alla produzione di radicali liberi si viene a determinare un processo noto come

STRESS OSSIDATIVO

inteso come rottura dell'equilibrio tra i componenti reattivi ossidanti ed i meccanismi di difesa antiossidanti, a scapito di questi ultimi.





STRESS OSSIDATIVO

Radiazioni, farmaci, metalli pesanti
Fumo di sigaretta, alcool, inquinamento
Esercizio fisico inadeguato, sedentarietà
Infezioni ed altre malattie

Ridotta assunzione
e/o diminuita sintesi
e/o ridotta capacità di utilizzazione

Specie reattive ↑

Difese antiossidanti ↓

Danno cellulare

Danno tissutale

Danno d'organo

Danno sistemico

**Malattie
cardiovascolari**

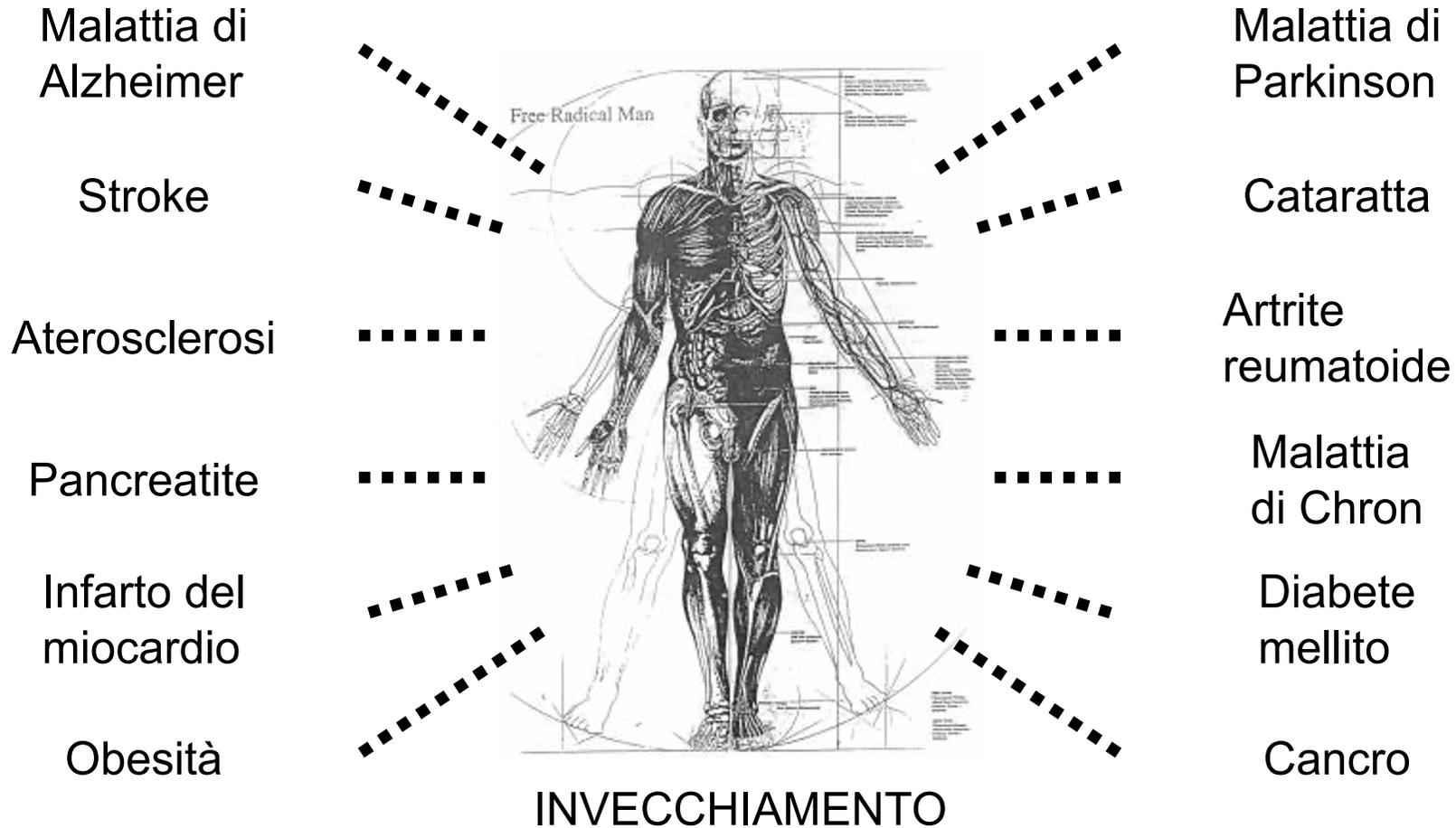
**Demenza,
M. di Parkinson**

**Invecchiamento
precoce**

**Infiammazioni,
tumori**

**Altre
malattie**

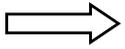
L'invvecchiamento e almeno 100 malattie sono correlate con lo STRESS OSSIDATIVO



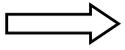
“The free radical man”



COME COMBATTERE L'ACCUMULO DEI ROS



SANA ALIMENTAZIONE



ATTIVITA' FISICA ?????





**L' esercizio fisico determina
immancabilmente un aumento nella
produzione di ROS correlato ad un
aumentato metabolismo ossidativo**

1-5% dell' O_2 consumato durante l' esercizio produce ROS

**Durante l'esercizio fisico, il consumo totale di O_2 può
aumentare fino a 10-15 volte (il consumo O_2 nel muscolo
scheletrico attivo può aumentare fino a 100 volte)**

**L' esercizio fisico porta ad un notevole aumento nella
produzione di ROS soprattutto a livello muscolare.**



ROS ed esercizio fisico

I ROS vengono prodotti costantemente ed in basse concentrazioni durante un'attività fisica moderata

Possono aumentare, anche in maniera drammatica, quando si svolge un'attività fisica molto intensa causando danni cellulari soprattutto a livello muscolare.



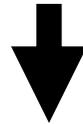
MECCANISMI RESPONSABILI DI AUMENTATA PRODUZIONE DI ROS DURANTE L'ESERCIZIO FISICO

1. Il 2-5% dell'ossigeno mitocondriale genera perossidi durante l'esercizio fisico intenso
2. NADPH ossidasi (miociti scheletrici e cardiaci) produce radicali liberi in cellule stimolate in vitro: meccanismo in attesa di conferme
3. La xantina ossidasi muscolare



La xantina ossidasi muscolare

Elevati livelli di xantina ossidasi sono stati riscontrati nel plasma di ratti sottoposti ad esercizio fisico intenso ($VO_2\text{max} > 70\%$)



**RUOLO DIRETTO DELLE XANTINA OSSIDASI
NELLA PRODUZIONE DI ROS ASSOCIATA AD
ESERCIZIO FISICO INTENSO**



Esercizio Fisico causa o protezione allo Stress Ossidativo ?

L'esercizio fisico prolungato e vigoroso, soprattutto in individui non allenati, produce ROS in maniera drammatica causando danno muscolare

Un'attività fisica moderata produce comunque ROS che vengono però prodotti in basse concentrazioni e possono portare effetti benefici all'organismo.



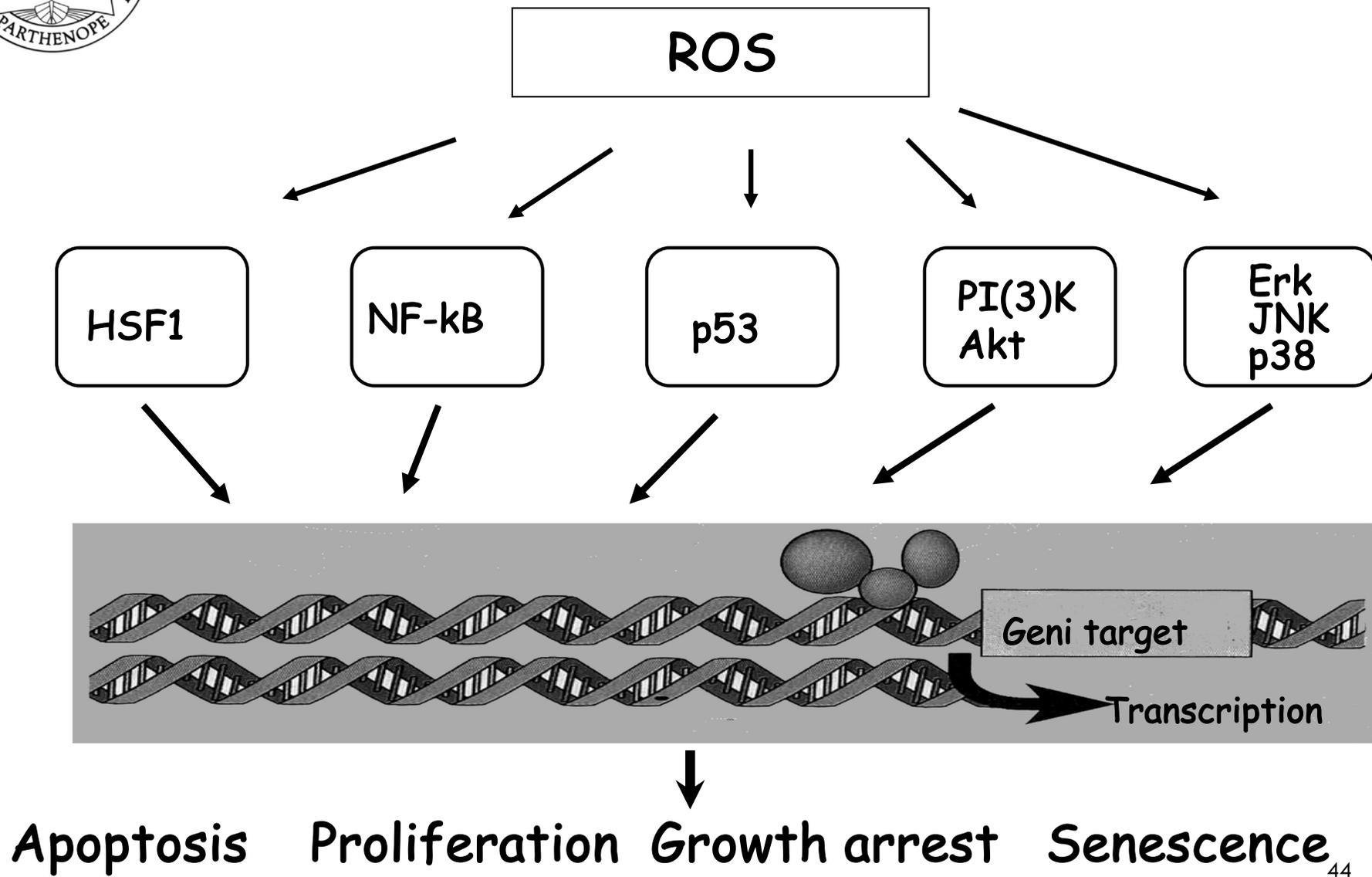
AZIONE DEI ROS SUL METABOLISMO



**ROS COME MODULATORI
DELLA VELOCITA' METABOLICA**



**MODULAZIONE DELLA
ESPRESSIONE
DI FATTORI TRASCRIZZIONALI**





Available online at www.sciencedirect.com



Free Radical Biology & Medicine 44 (2008) 132–141



www.elsevier.com/locate/free-radbiomed

Review Article

Free radicals generated by contracting muscle: By-products of metabolism or key regulators of muscle function?

Malcolm J. Jackson*

Division of Metabolic and Cellular Medicine, School of Clinical Sciences, University of Liverpool, Liverpool L69 3GA, UK

Received 28 November 2006; revised 1 June 2007; accepted 6 June 2007

Available online 13 June 2007

I ROS generati in seguito ad esercizio fisico moderato svolgono un importante ruolo fisiologico nell'adattamento del muscolo all'esercizio stesso.



ROS ED ESERCIZIO FISICO

Bassi livelli di ROS in seguito ad esercizio fisico moderato modulano importanti processi fisiologici quali:

uptake del glucosio

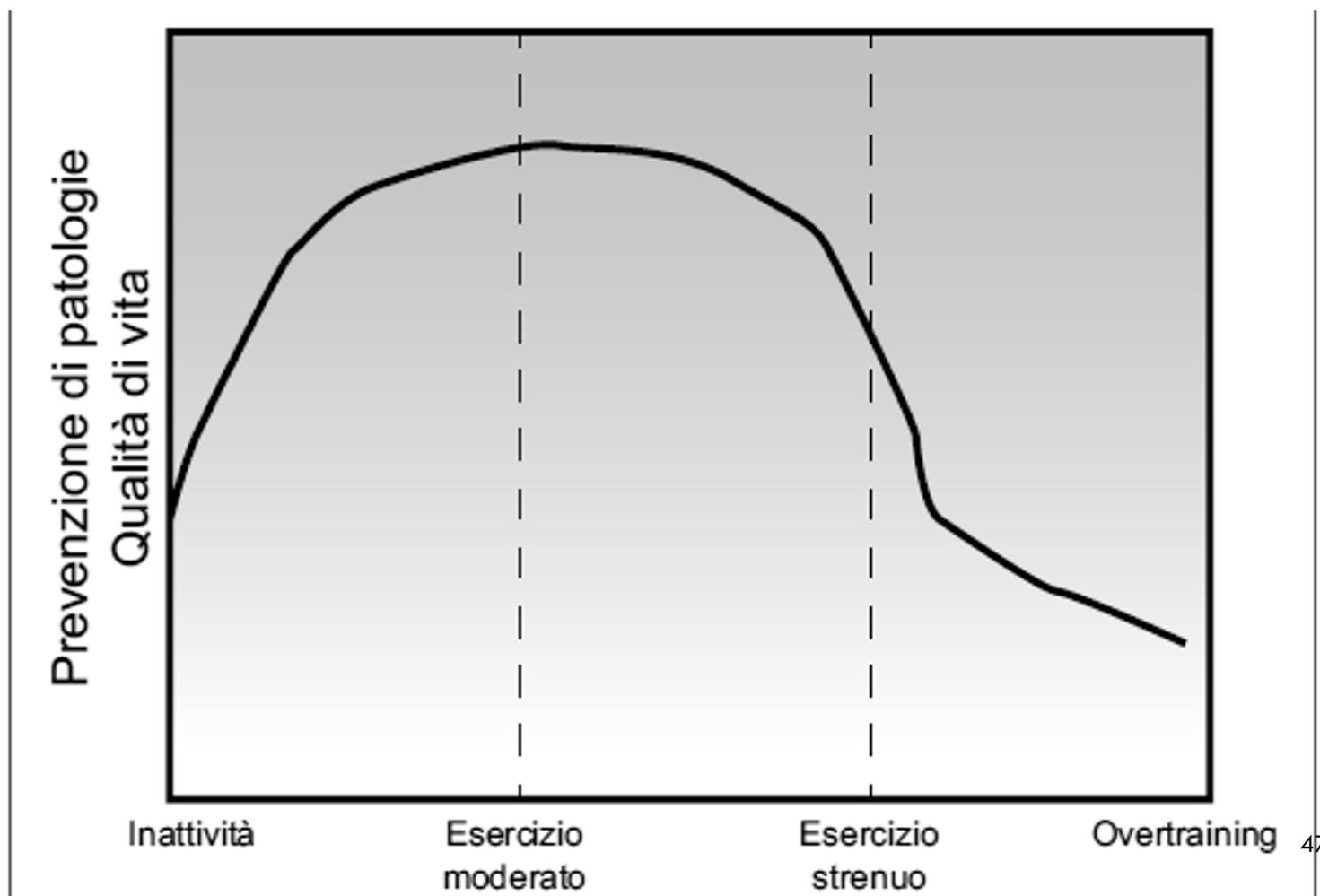
Rilascio del calcio dal reticolo sarcoplasmatico

Biogenesi mitocondriale

Differenziamento delle fibre muscolari ossidative



ORMESI





Esercizio Fisico e Stress Ossidativo ?

I ROS generati in seguito ad esercizio fisico moderato (50-60%VO₂max) sono considerati utili in quanto agiscono come molecole-segnale per aumentare le difese cellulari antiossidanti.

L' azione protettiva dei ROS in risposta ai danni ossidativi si esercita attraverso:



Modulazione dell' espressione di diversi enzimi antiossidanti (up-regolazione di Mn-SOD e glutathione perossidasi)



CONCLUSIONI

L'esercizio fisico intenso (>70% VO₂max) soprattutto quando sporadico, può innescare uno stress di tipo ossidativo causando danni strutturali e reazioni di tipo infiammatorio a livello muscolare

Quando viene praticato ad intensità moderata e con regolarità, l'esercizio fisico aumenta l'espressione di sistemi antiossidanti così da poter essere considerato esso stesso un potente antiossidante.



CONCLUSIONI

