



# **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

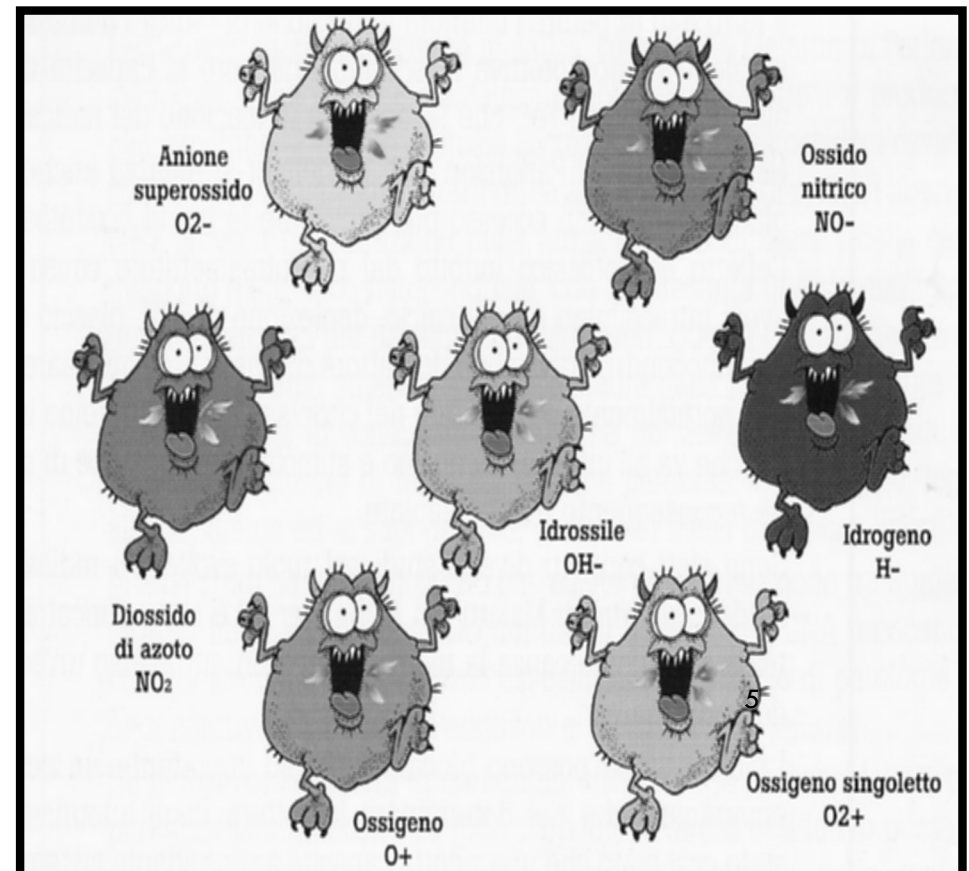
ANIONE SUPEROSSIDO  $O_2^{\cdot-}$

RADICALE OSSIDRILICO  $HO\cdot$

OSSIDO NITRICO  $NO\cdot$

OSSIGENO SINGOLETTO  $^1O_2$

PEROSSIDO DI IDROGENO  $H_2O_2$

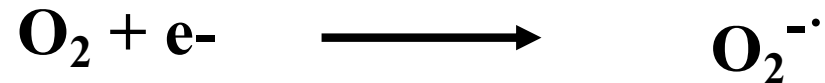




# SPECIE RADICALICHE

**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:  $1 \times 10^{-6}$ ;  $1 \times 10^{-9}$  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

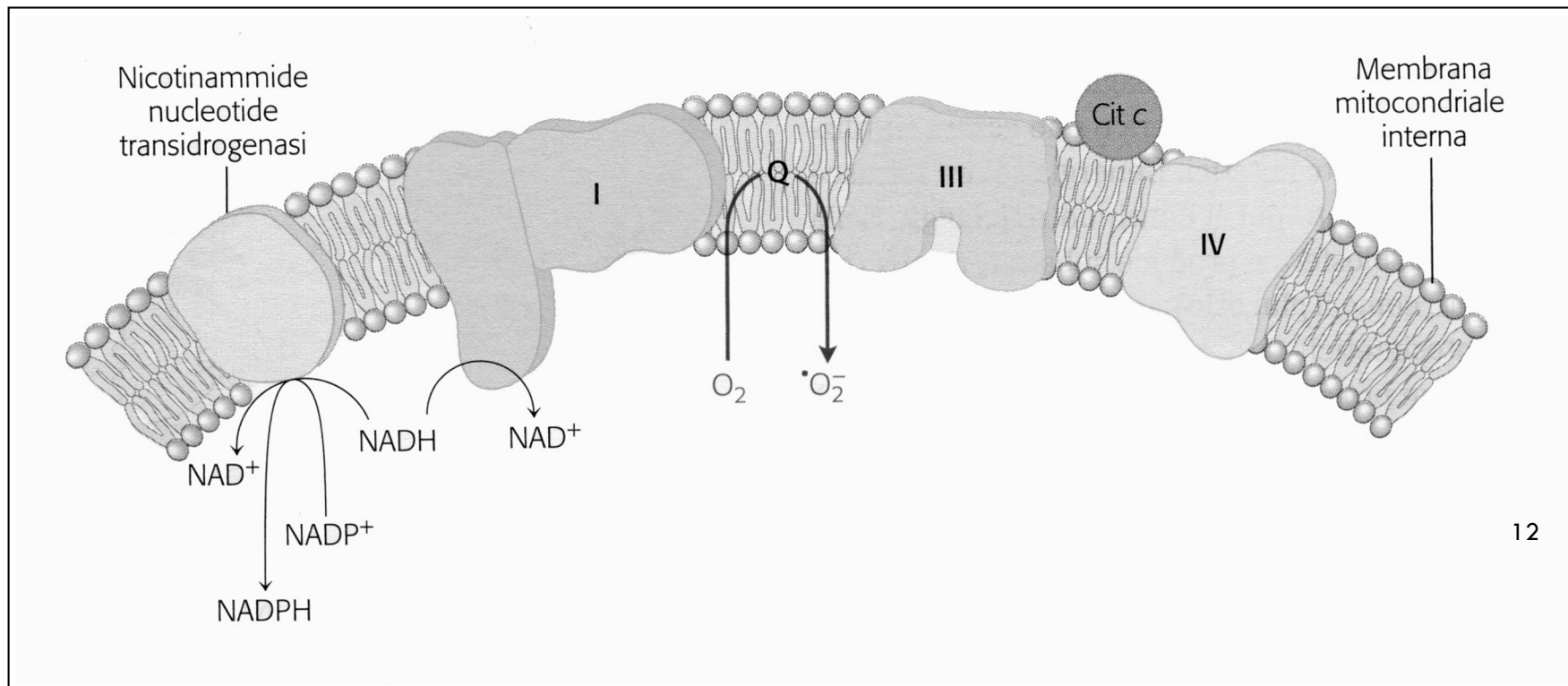
**Nel nostro organismo i radicali liberi si producono:**

- 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

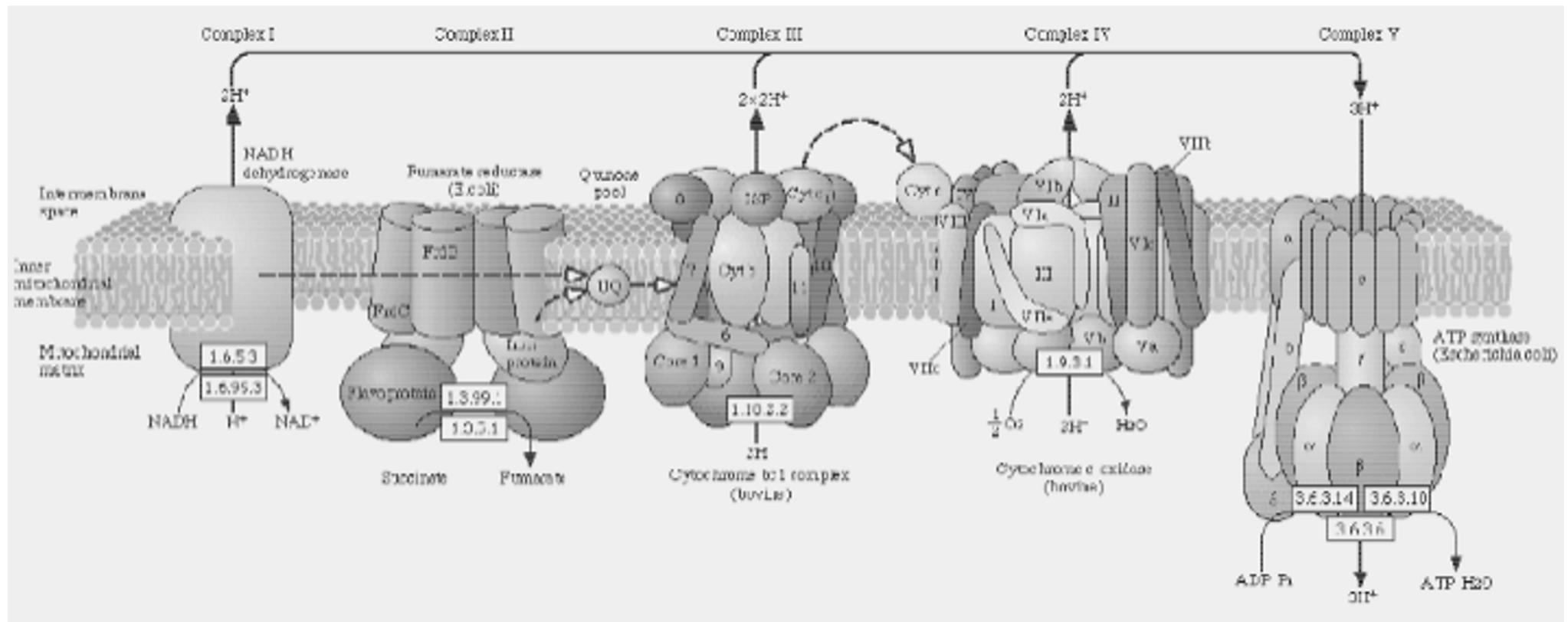
La produzione di ROS avviene in due punti precisi della catena respiratoria mitocondriale: il complesso I ed il complesso III.





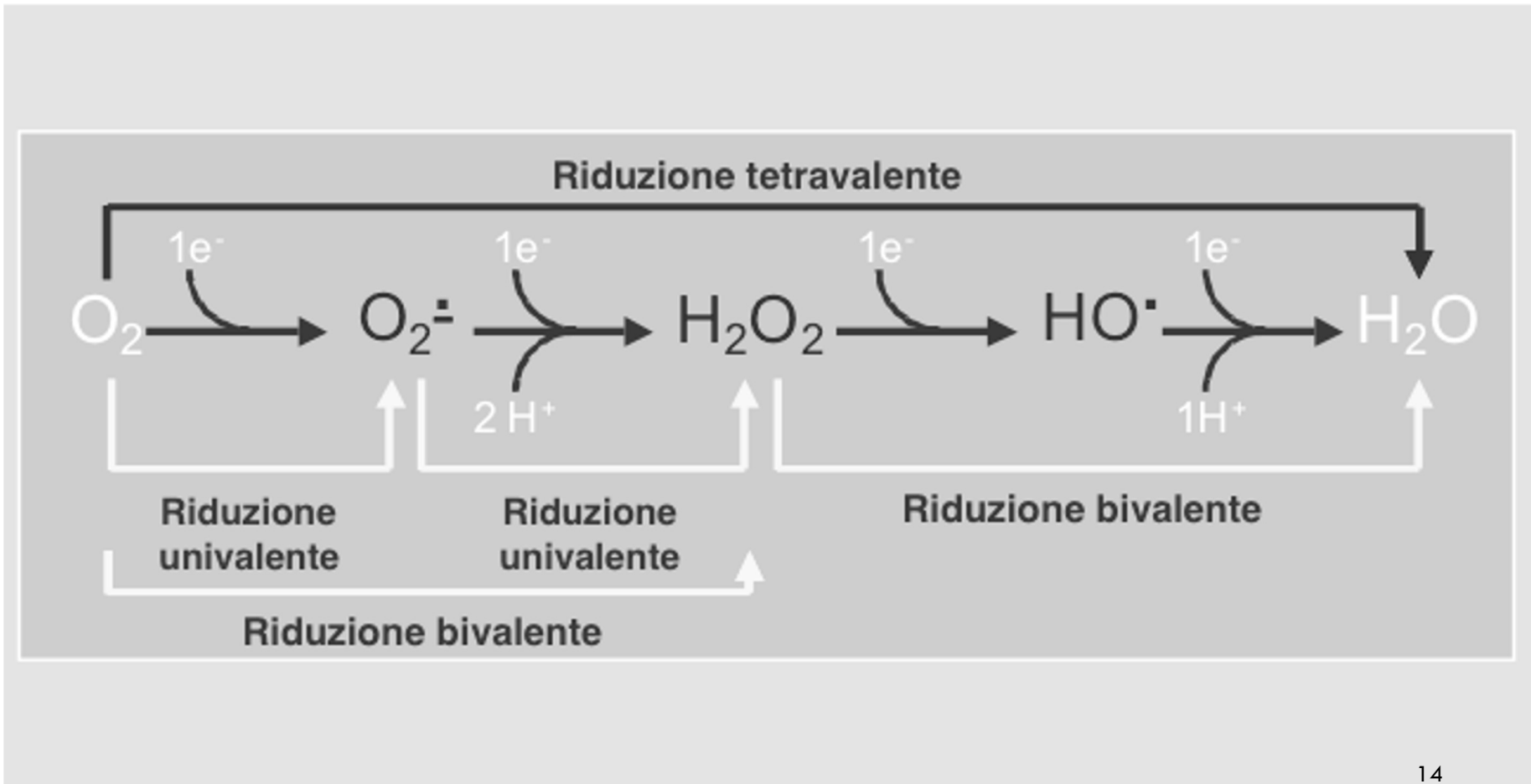


# CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI E FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA





## 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)**



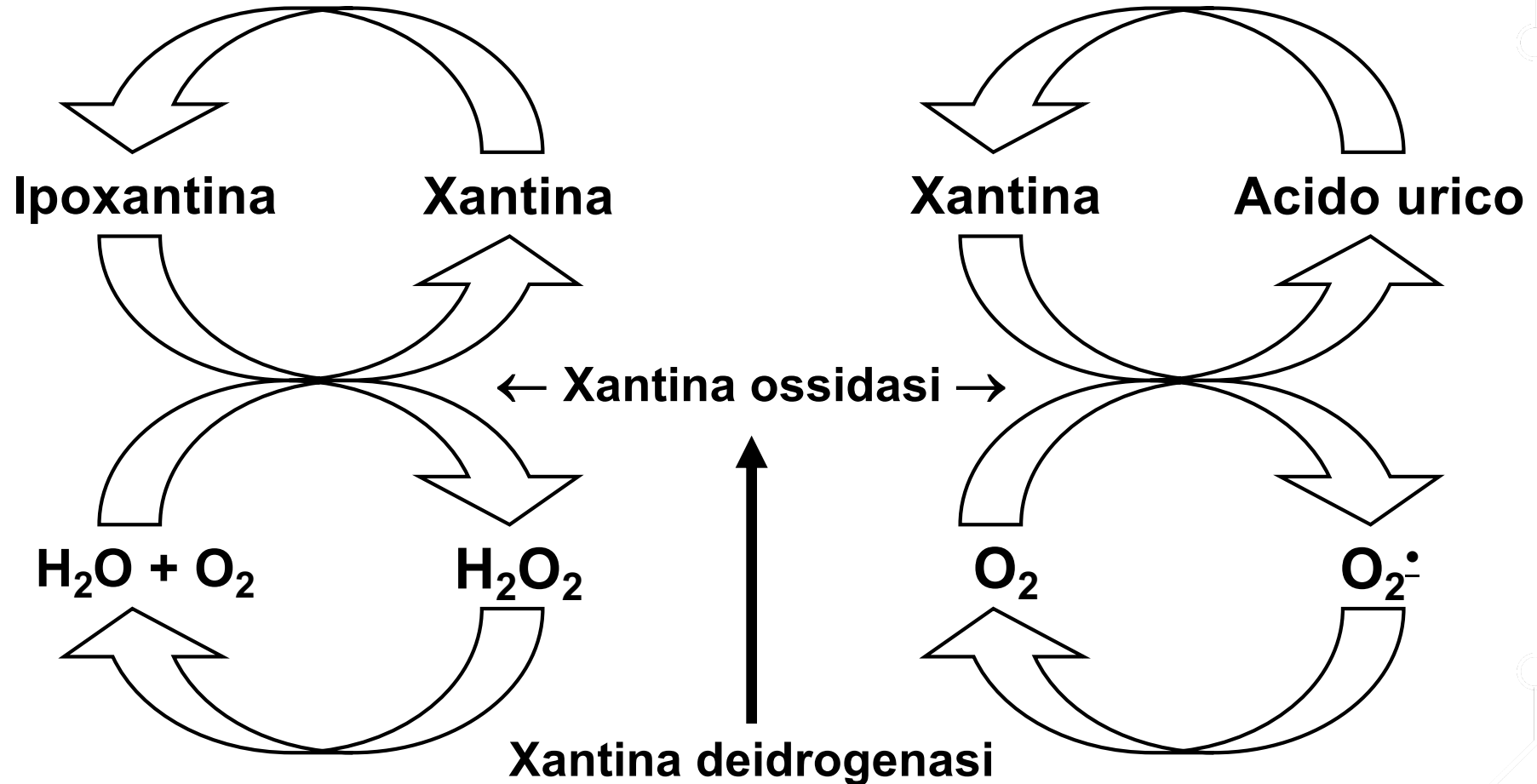
### 3. Produzione di ROS nelle reazioni di detossificazione epatica

**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).**



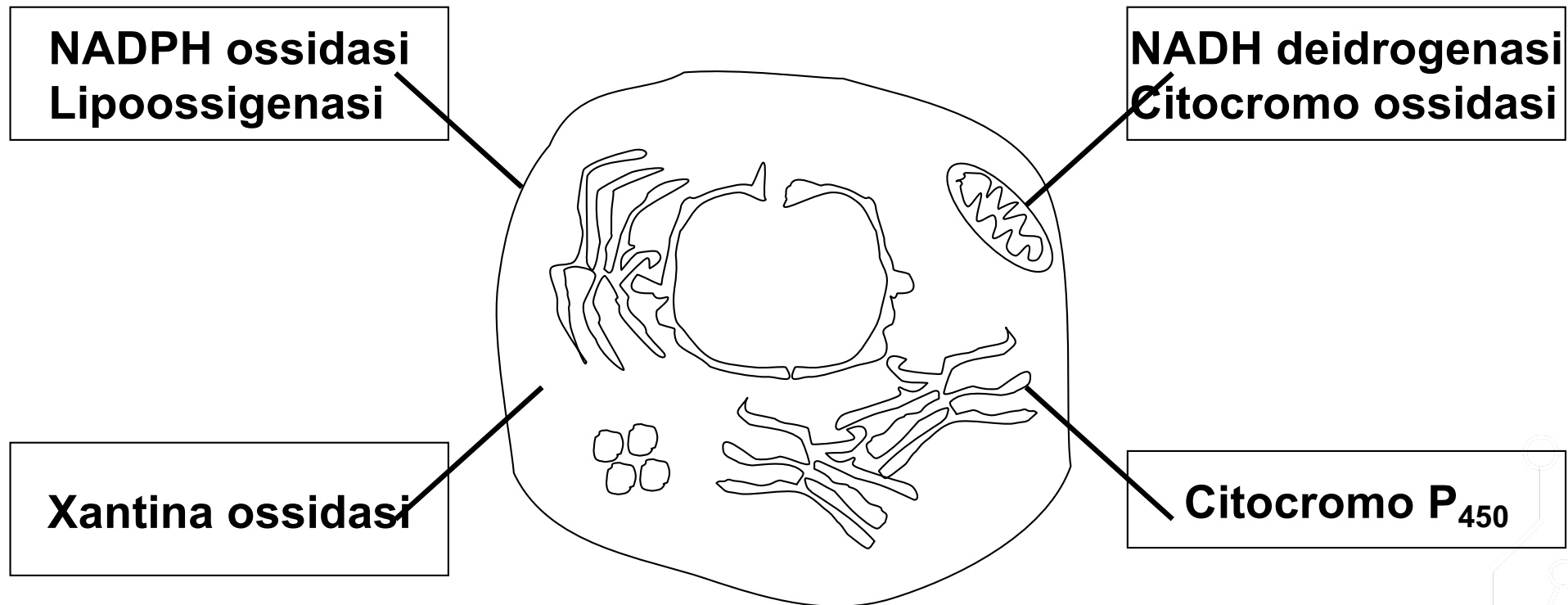
## 4. Produzione dei ROS nella riperfusione dei tessuti



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

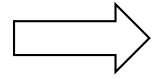


# I ROS sono quasi insostituibili "compagni di viaggio" della vita cellulare

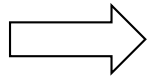




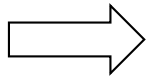
# DANNI CELLULARI PRODOTTI DAI ROS



**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

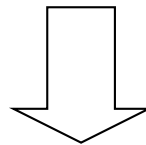
## ➤ LIPIDI

- 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  $\text{OH}^\cdot$



## ➤ **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)**

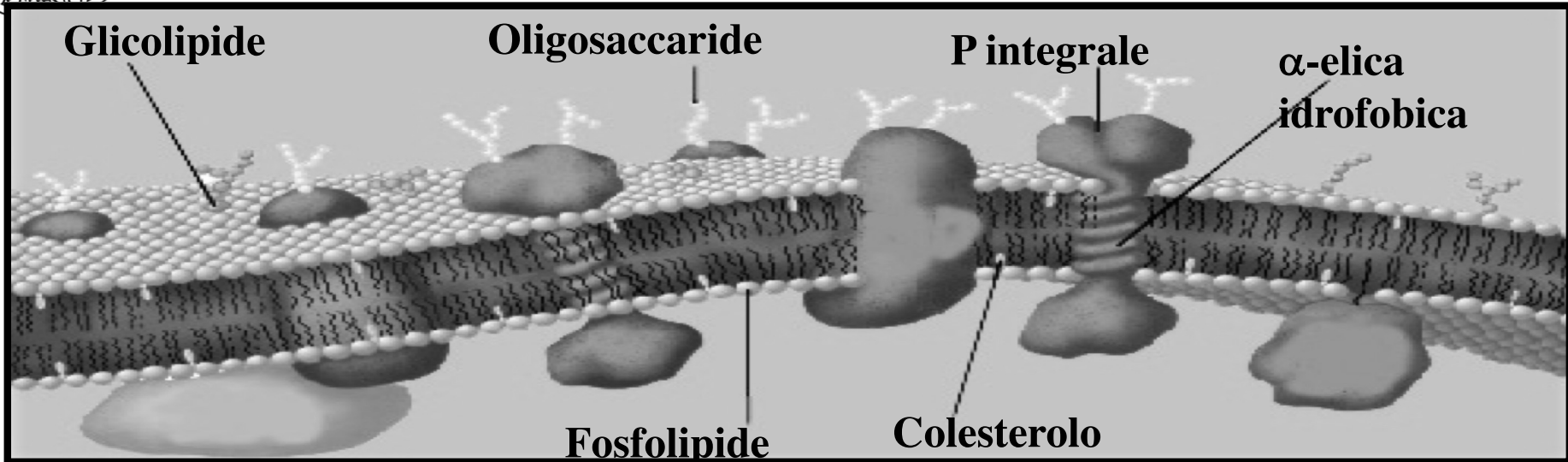


**La perossidazione porta quindi alla distruzione dei lipidi e alla conseguente alterazione della struttura della membrana**

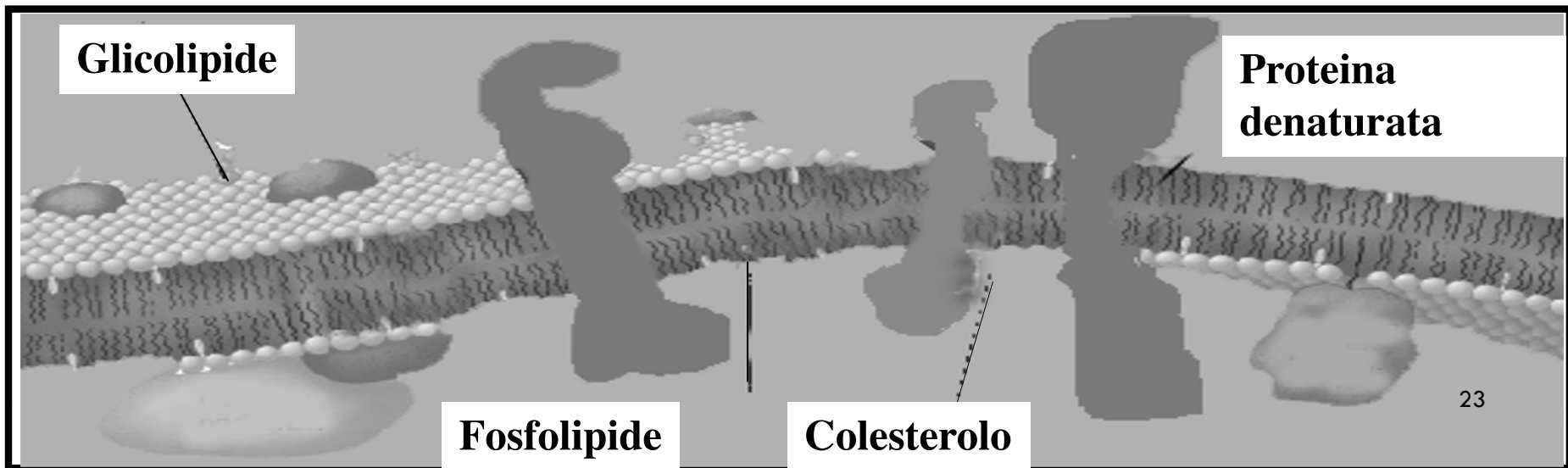


# DANNO INDOTTO SULLE MEMBRANE

Membrana integra



Perossidazione lipidica





# EFFETTO SULLE BIOMOLECOLE

## ➤ ACIDI NUCLEICI:

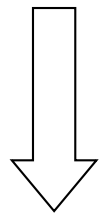
**Idrossilazione delle basi per addizione del radicale  $OH\cdot$  o sottrazione di un H dalla molecola saccaridica.**

**Addotti del DNA**

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

**Danno alle basi**

**Cross-links**



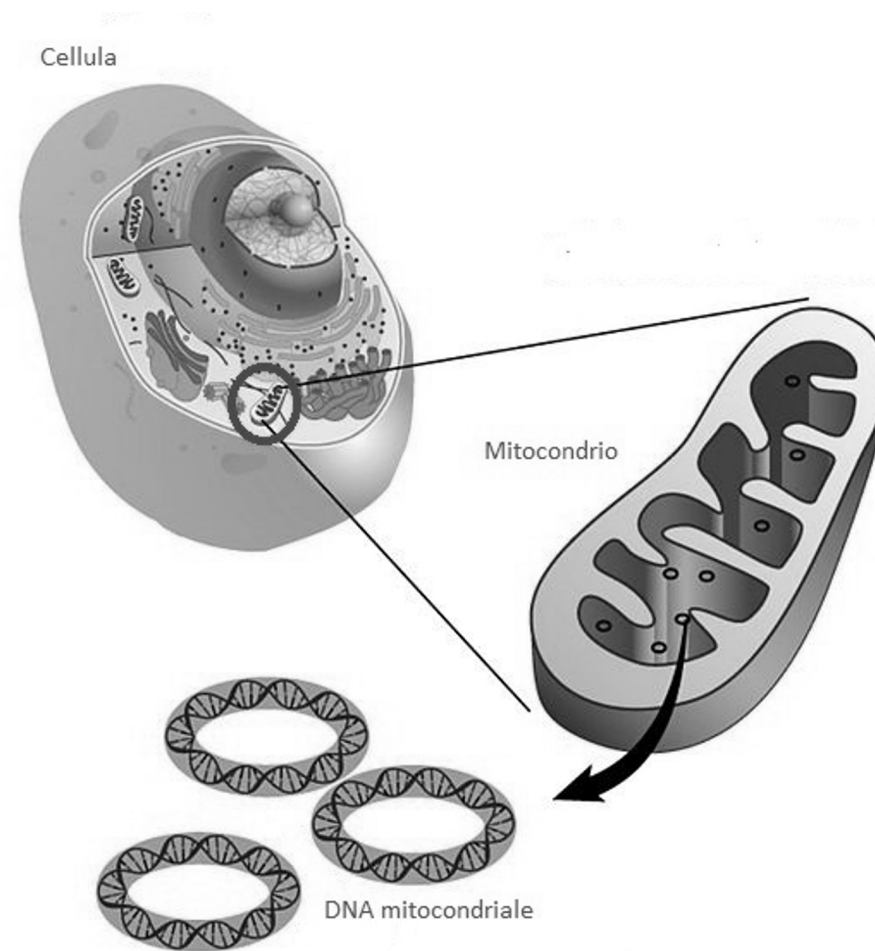
**Mutagenesi e cancerogenesi**





# DANNI OSSIDATIVI DEI MITOCONDRI

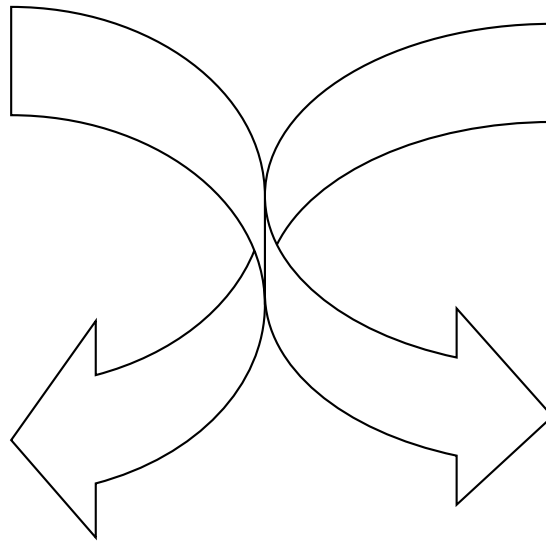
- **SENESCENZA**
- **PARKINSON**
- **ALZHEIMER**





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

## **ANTIOSSIDANTI**

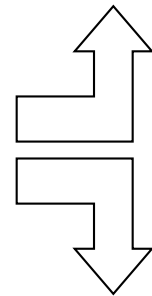


**enzimatici**

**non enzimatici**



## **Antiossidanti**



**enzimatici**

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

**Non enzimatici**

- **$\alpha$ -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)



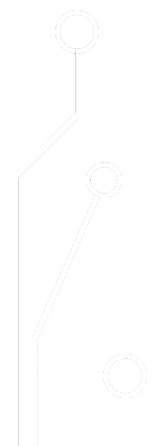
Esistono diversi isoenzimi SOD che differiscono per i diversi ioni metallici e per differente localizzazione cellulare:

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

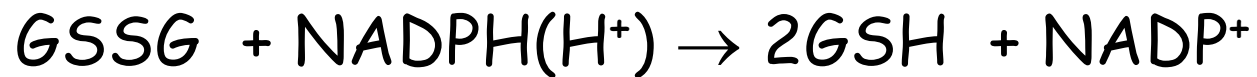
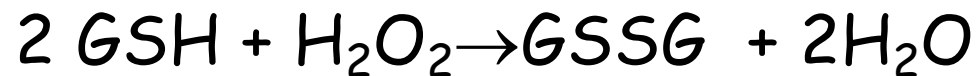
Non ci sono evidenze scientifiche concrete che dimostrino l'influenza dell'esercizio fisico sulla sua attività enzimatica.



# 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  $\beta$ -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
$\beta$ -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**

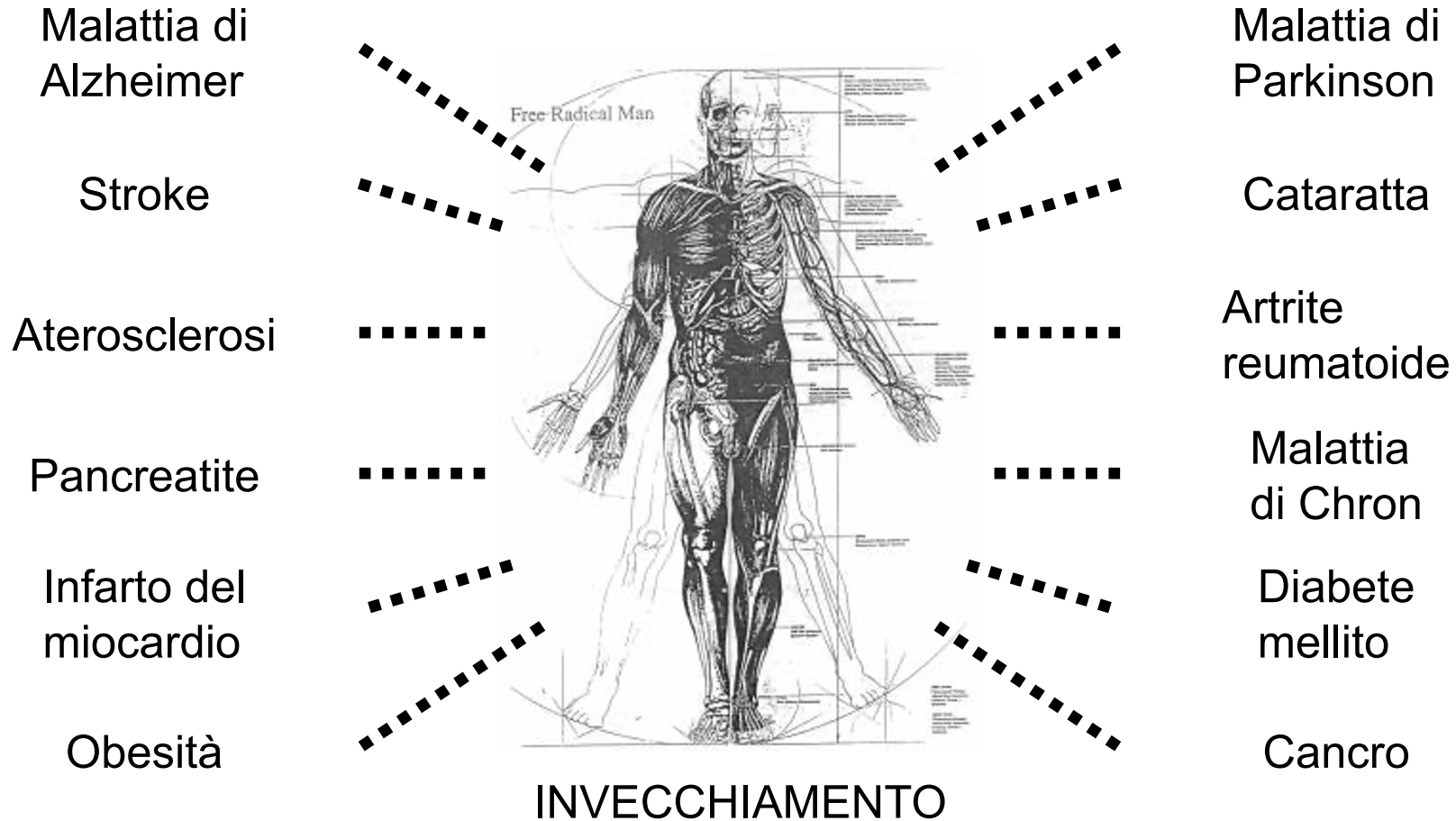
**Demenza,  
M. di Parkinson**

**Invecchiamento  
precoce**

**Infiammazioni,  
tumori**

**Altre  
malattie**

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

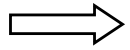


**“The free radical man”**

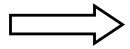




# COME COMBATTERE L'ACCUMULO DEI ROS



**SANA ALIMENTAZIONE**



**ATTIVITA' FISICA ??????**



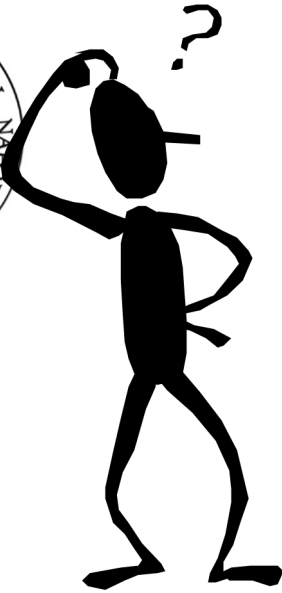


**L' esercizio fisico determina  
immancabilmente un aumento nella  
produzione di ROS correlato ad un  
aumentato metabolismo ossidativo**

**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 stimulate 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.**



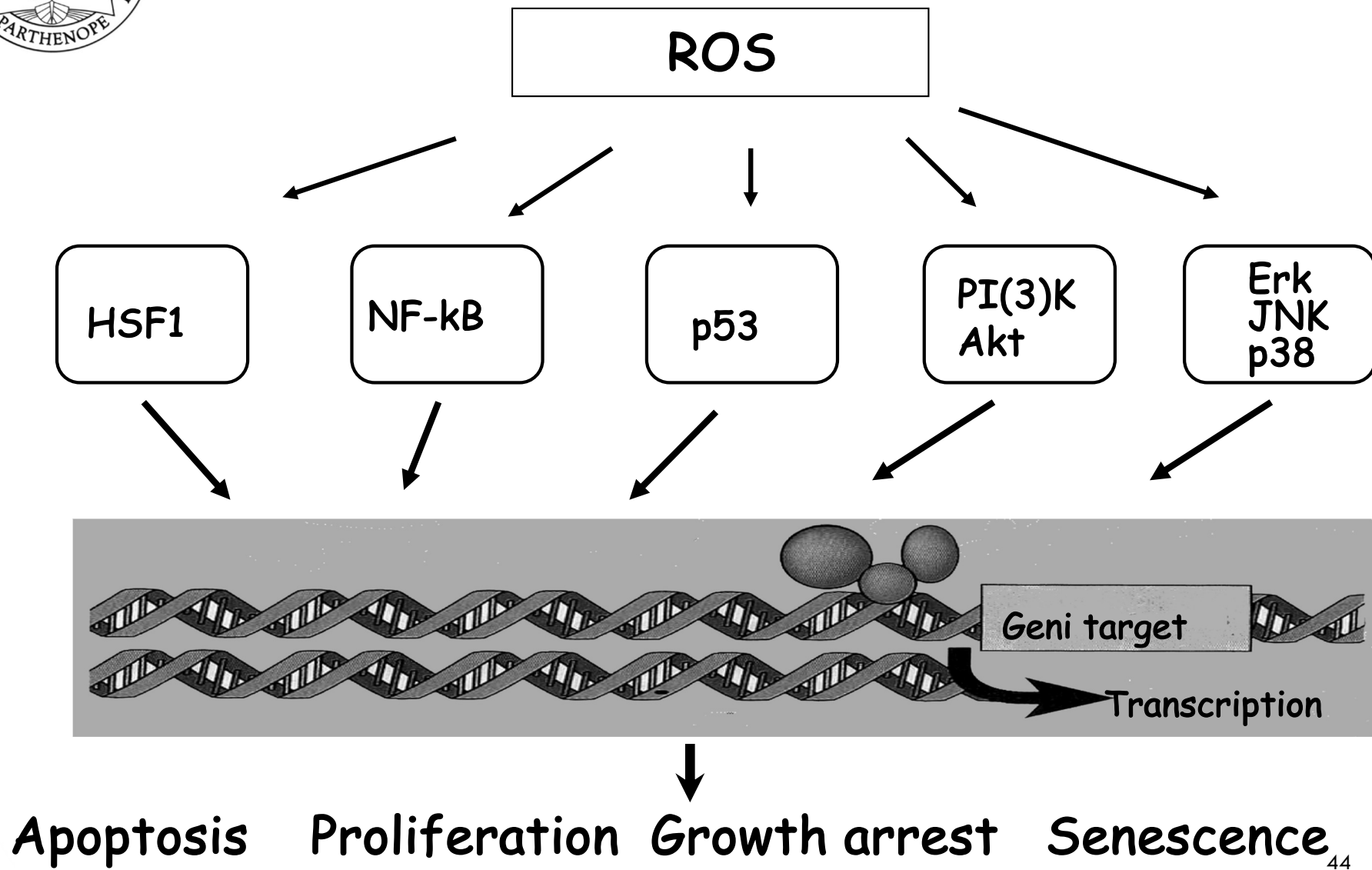
# AZIONE DEI ROS SUL METABOLISMO



**ROS COME MODULATORI  
DELLA VELOCITA' METABOLICA**



**MODULAZIONE DELLA  
ESPRESSIONE  
DI FATTORI TRASCRIZZIONALI**







Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)



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



[www.elsevier.com/locate/freeradbiomed](http://www.elsevier.com/locate/freeradbiomed)

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**

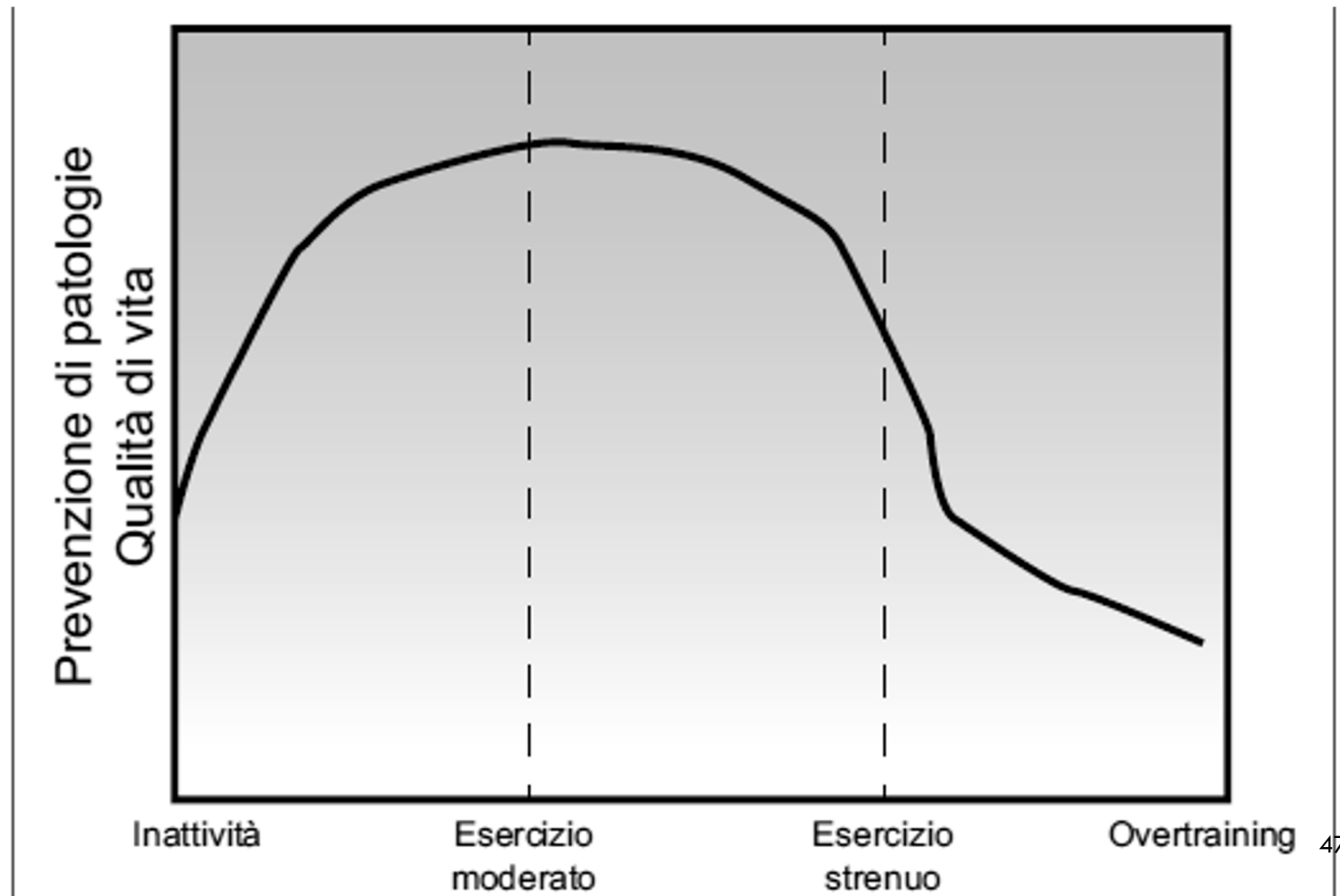
**Rilascio del calcio dal reticolo sarcoplasmatico**

**Biogenesi mitocondriale**

**Differenziamento delle fibre muscolari ossidative**



# ORMESI





# **Esercizio Fisico e Stress Ossidativo ?**

**I ROS generati in seguito ad esercizio fisico moderato (50-60%VO<sub>2</sub>max) 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% VO<sub>2</sub>max) 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

