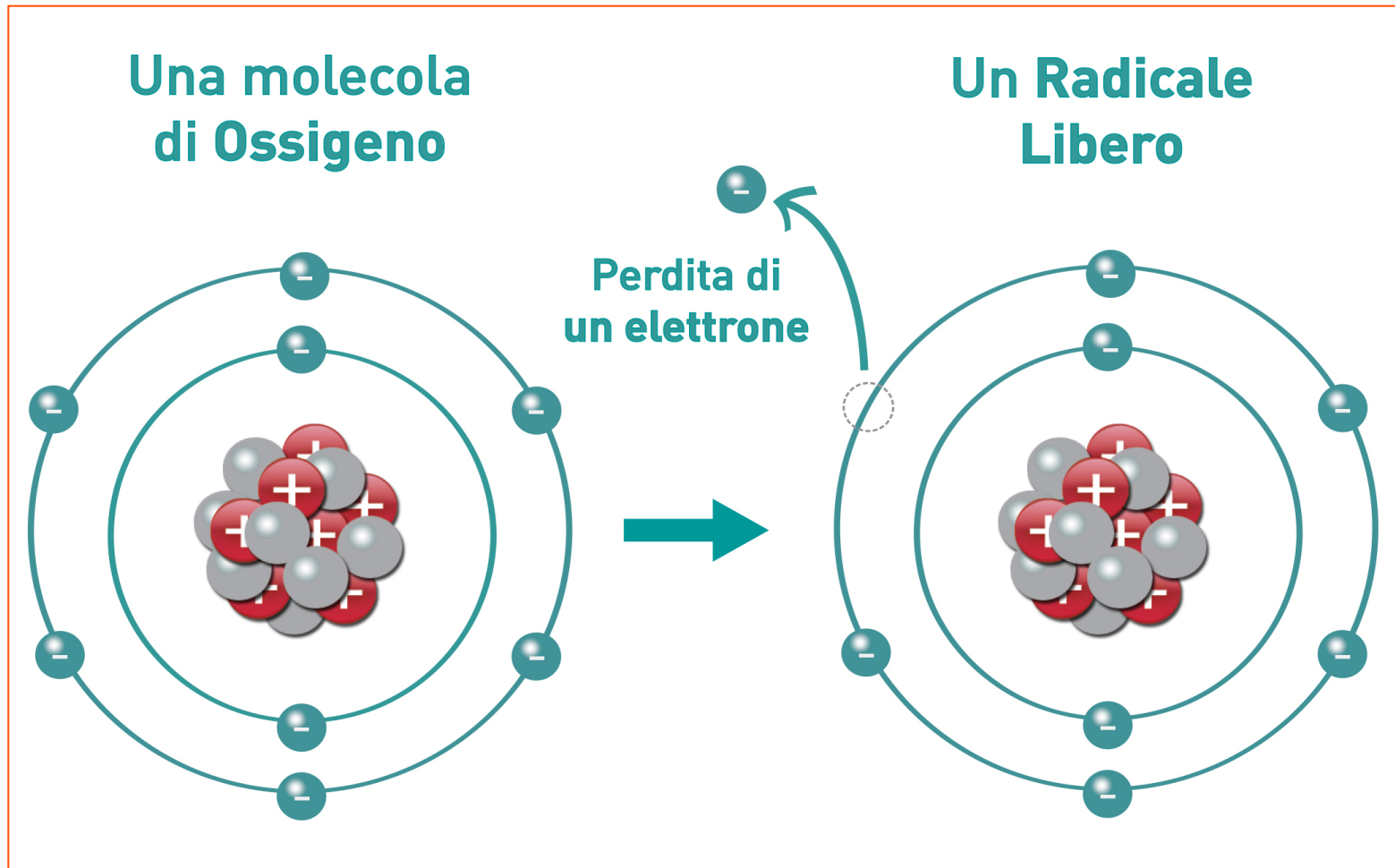


Cenni di

**Fisiopatologia e clinica dello
stress ossidativo**

I RADICALI LIBERI

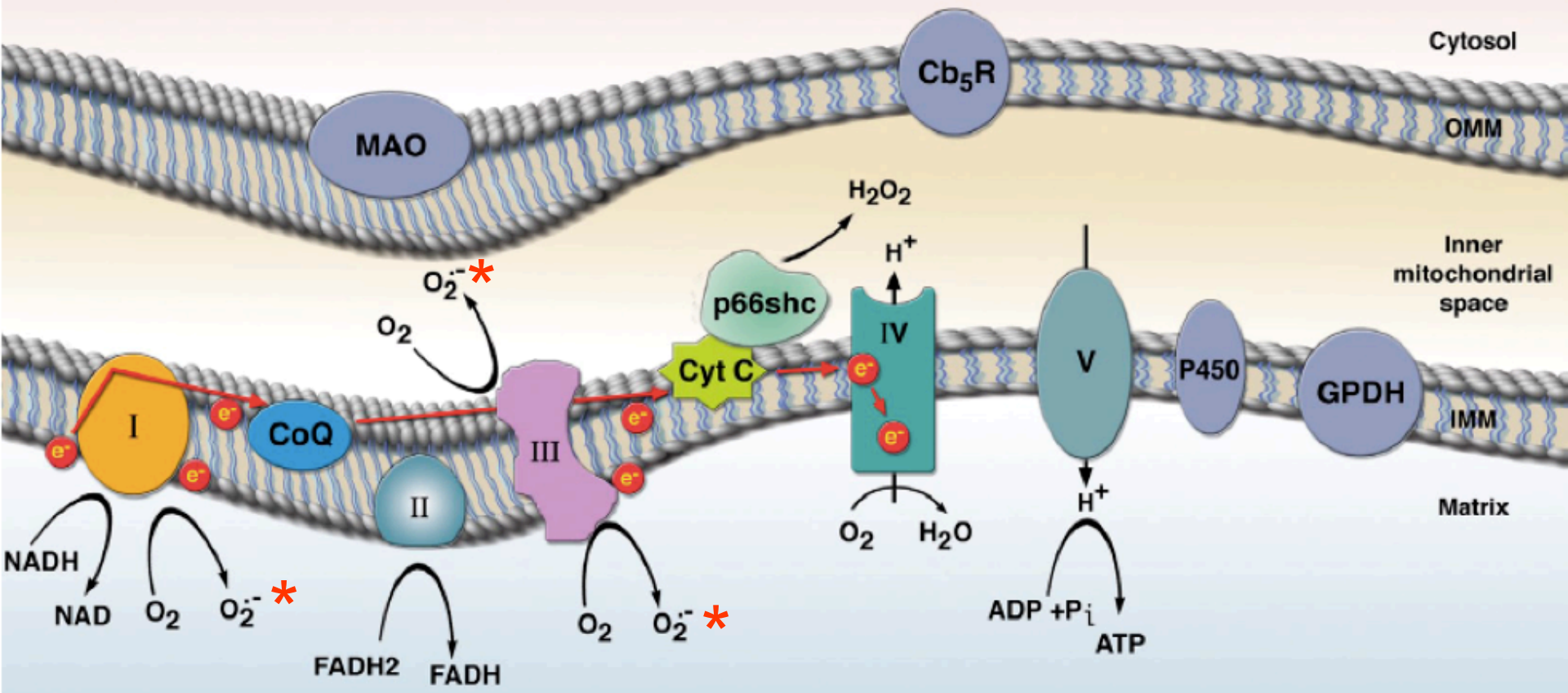


Sono molecole che posseggono un elettrone spaiato sull'orbitale più esterno: questa configurazione elettronica le rende altamente instabili e particolarmente reattive.

I radicali liberi

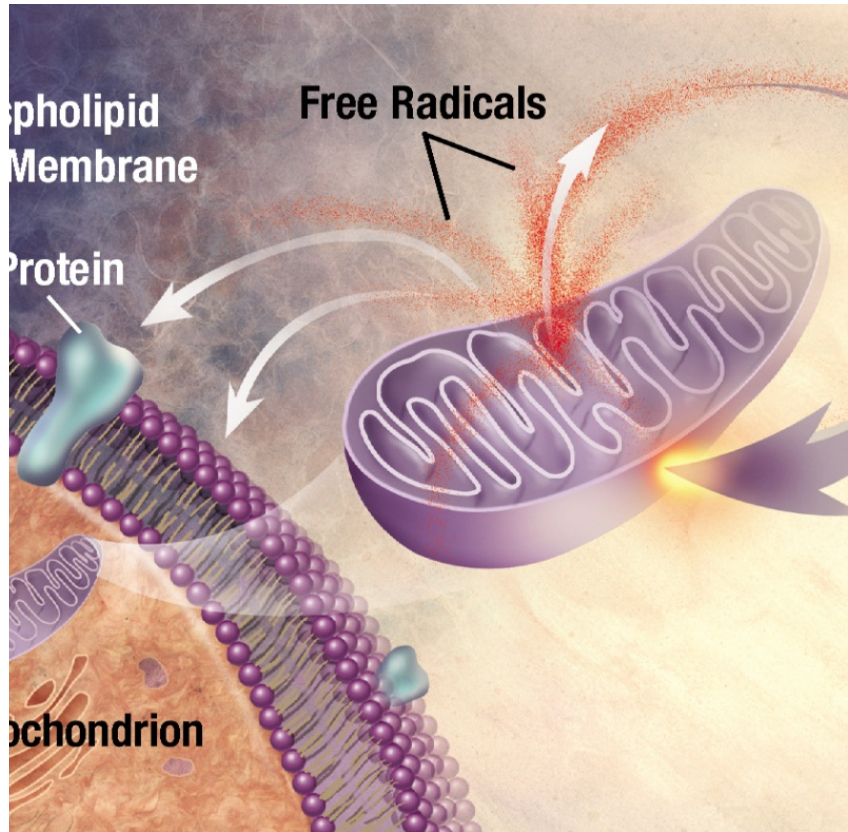
ROS – Reactive Oxygen Species

- In condizioni normali, ciascuna cellula produce radicali liberi tramite vari processi, specie a livello dei mitocondri.
- Il più importante è il ciclo della fosforilazione ossidativa, cruciale per la produzione di energia sotto forma di ATP.
- Come conseguenza del metabolismo aerobico, viene costantemente formato anione superossido, quale naturale sottoprodotto della respirazione mitocondriale.



Le principali fonti di ROS provengono dal trasferimento di elettroni (e^-) all'ossigeno molecolare nel complesso I*, II o III*. E' stato stimato che circa il 1-2% di tutto l'ossigeno metabolizzato sfugge alla totale riduzione ad acqua ed esce dai mitocondri come $O_2^{\bullet -}$.

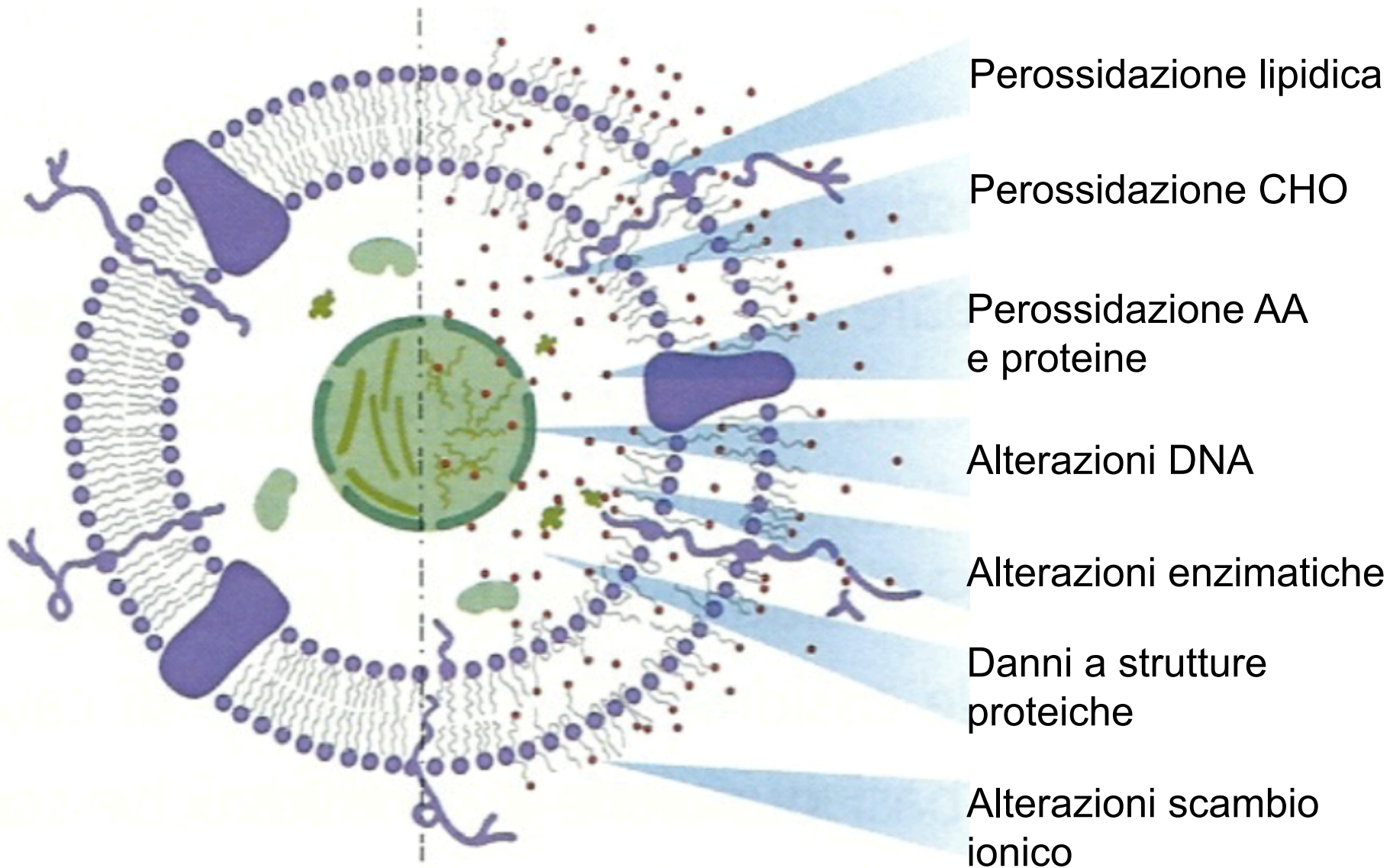
Dai ROS allo stress ossidativo



I radicali liberi reagiscono facilmente con una qualsiasi molecola si trovi in loro prossimità (carboidrati, lipidi, proteine, acidi nucleici) danneggiandola e spesso compromettendone la funzione.

Reagendo con altre molecole, hanno la capacità di autopropagarsi trasformando i loro bersagli

in radicali liberi e scatenando così reazioni a catena che possono provocare estesi danni nella cellula.

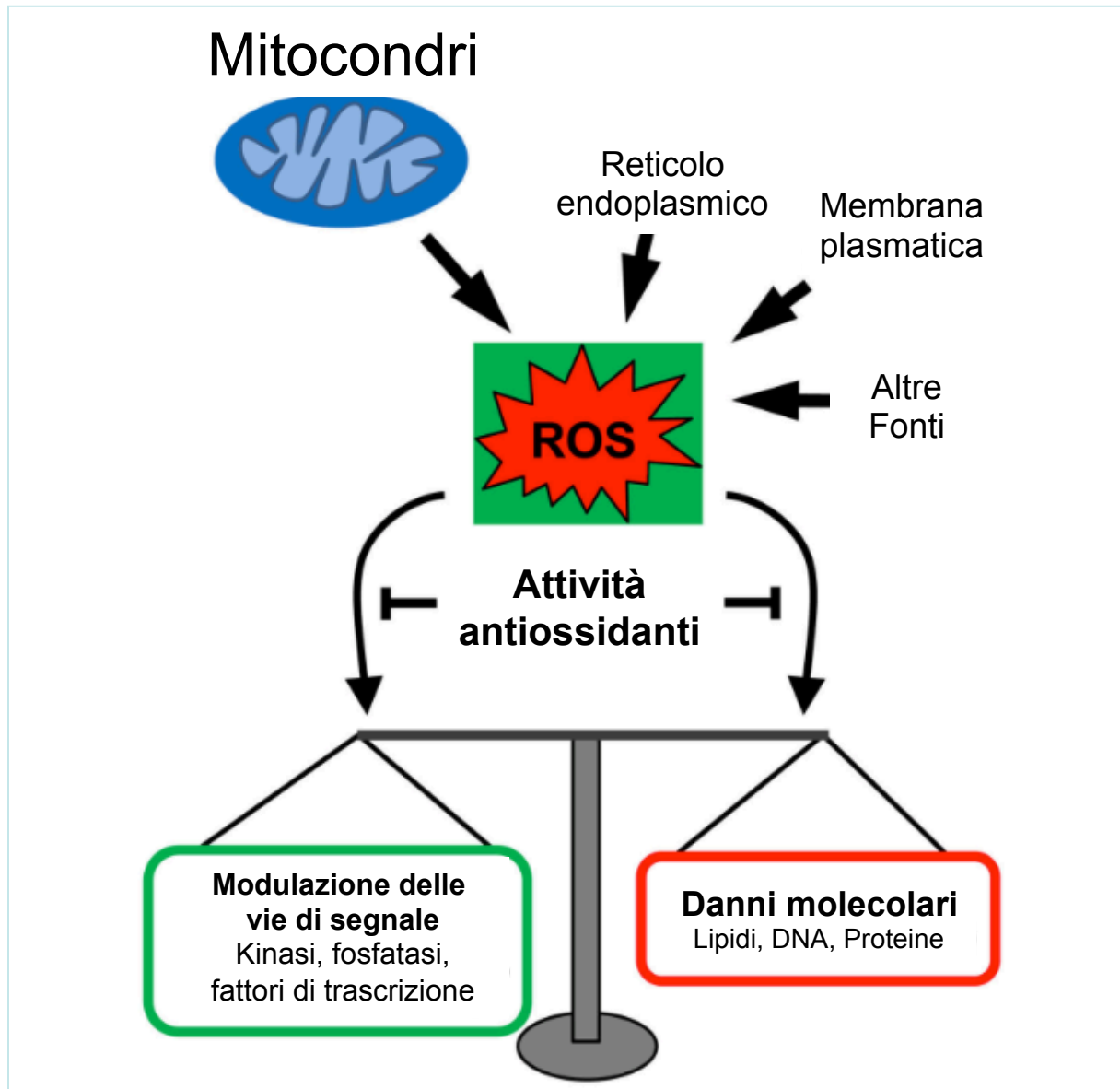


I radicali liberi costituiscono uno dei più importanti fattori di danno cellulare

Il metabolismo mitocondriale è fonte di energia.
Processi fisiologici mediati dai ROS.

- Il Metabolismo mitocondriale costituisce una cruciale fonte di energia cellulare: ATP.
- La produzione mitocondriale di ROS è fonte di attivazione dei programmi trascrizionali che promuovono la differenziazione cellulare, modulando l'espressione genica.
- I ROS attivano i sistemi di difesa, leucocitario e immunologico
- **I ROS attivano i sistemi antiossidanti endogeni.**

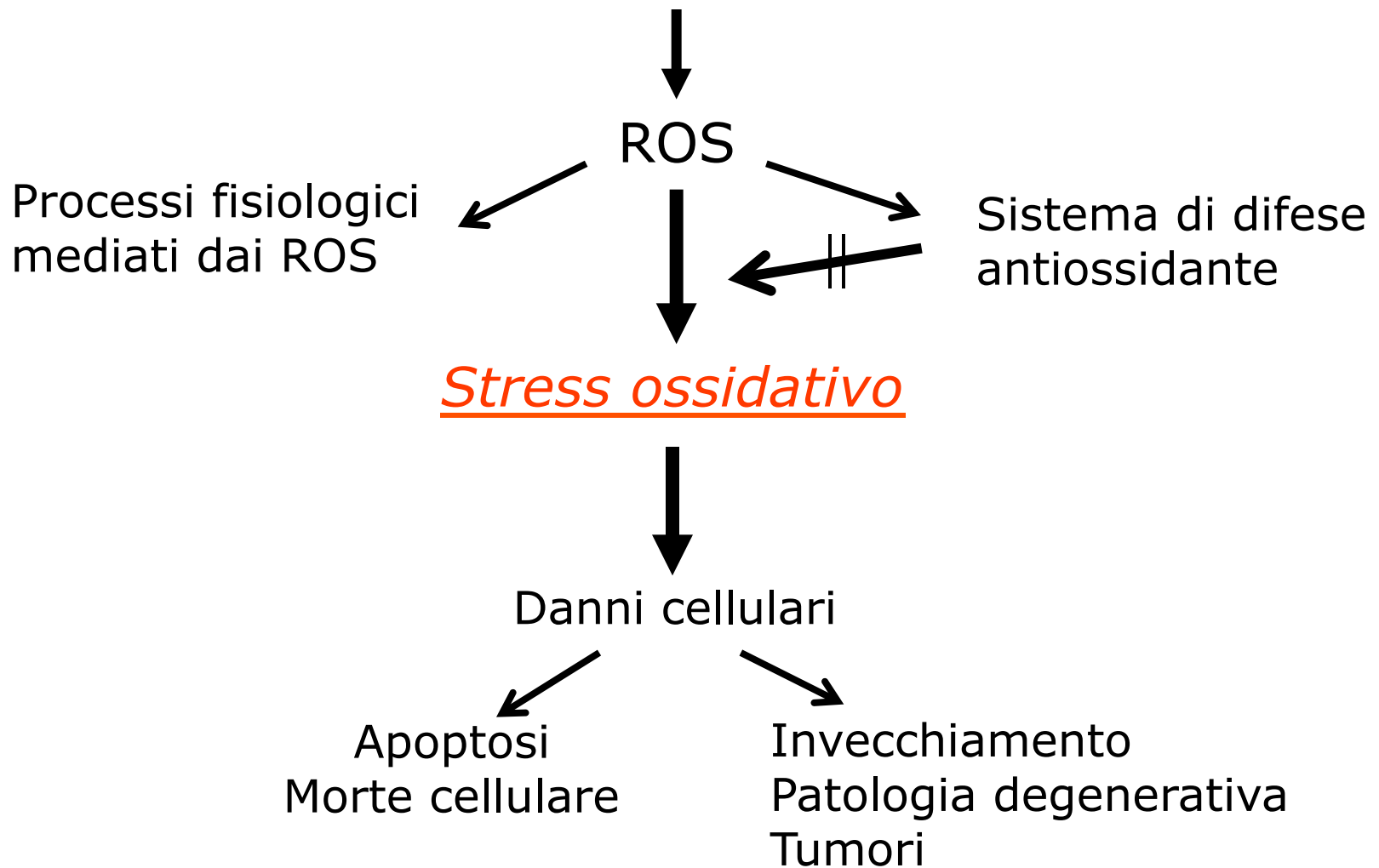
Fonti e obiettivi delle specie reattive dell'ossigeno (ROS)



Alcuni fattori che generano produzione di ROS

- Respirazione mitocondriale.
- Stati infiammatori (leucociti).
- Malattie infettive.
- (Iper)alimentazione: obesità.
- Attività fisica.
- Fumo di sigaretta.
- Alcol.
- Radiazioni ionizzanti (Radioterapia, raggi solari, etc).
- Metalli di transizione (Fe, Cu, come catalizzatori)
- Inquinanti di ogni genere.

Reazioni metaboliche che utilizzano l'ossigeno



Free radical and senescence

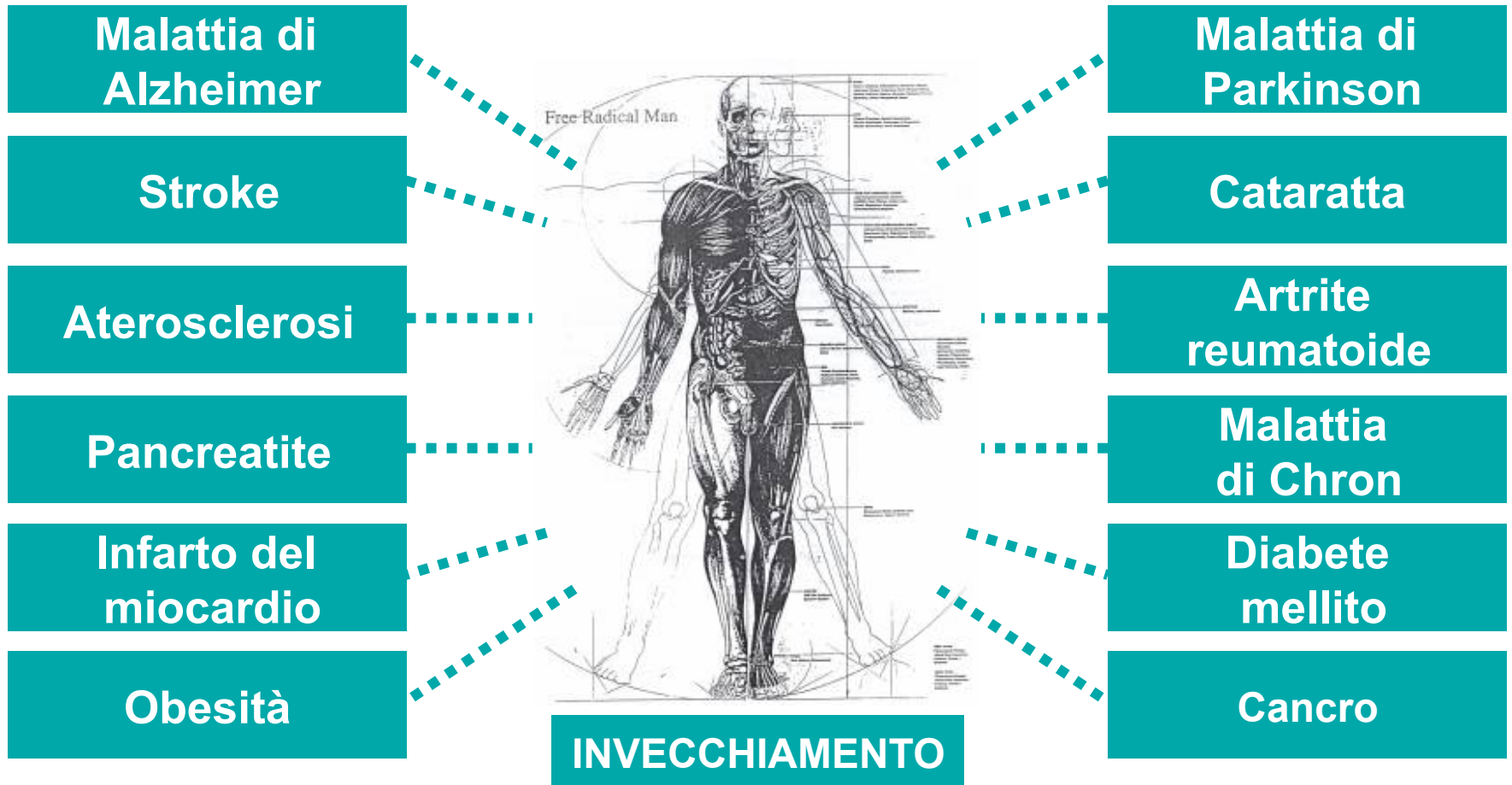
Aggiunta di perossido di idrogeno H_2O_2
alle cellule

- Dosi molto elevate (>1 mM) determinano morte cellulare
- Dosi medio-alte (100–500 μM) possono indurre senescenza e alterare il DNA.

“I radicali liberi prodotti durante la respirazione aerobica causano danni ossidativi cumulativi, con conseguente invecchiamento, tumori e morte”.

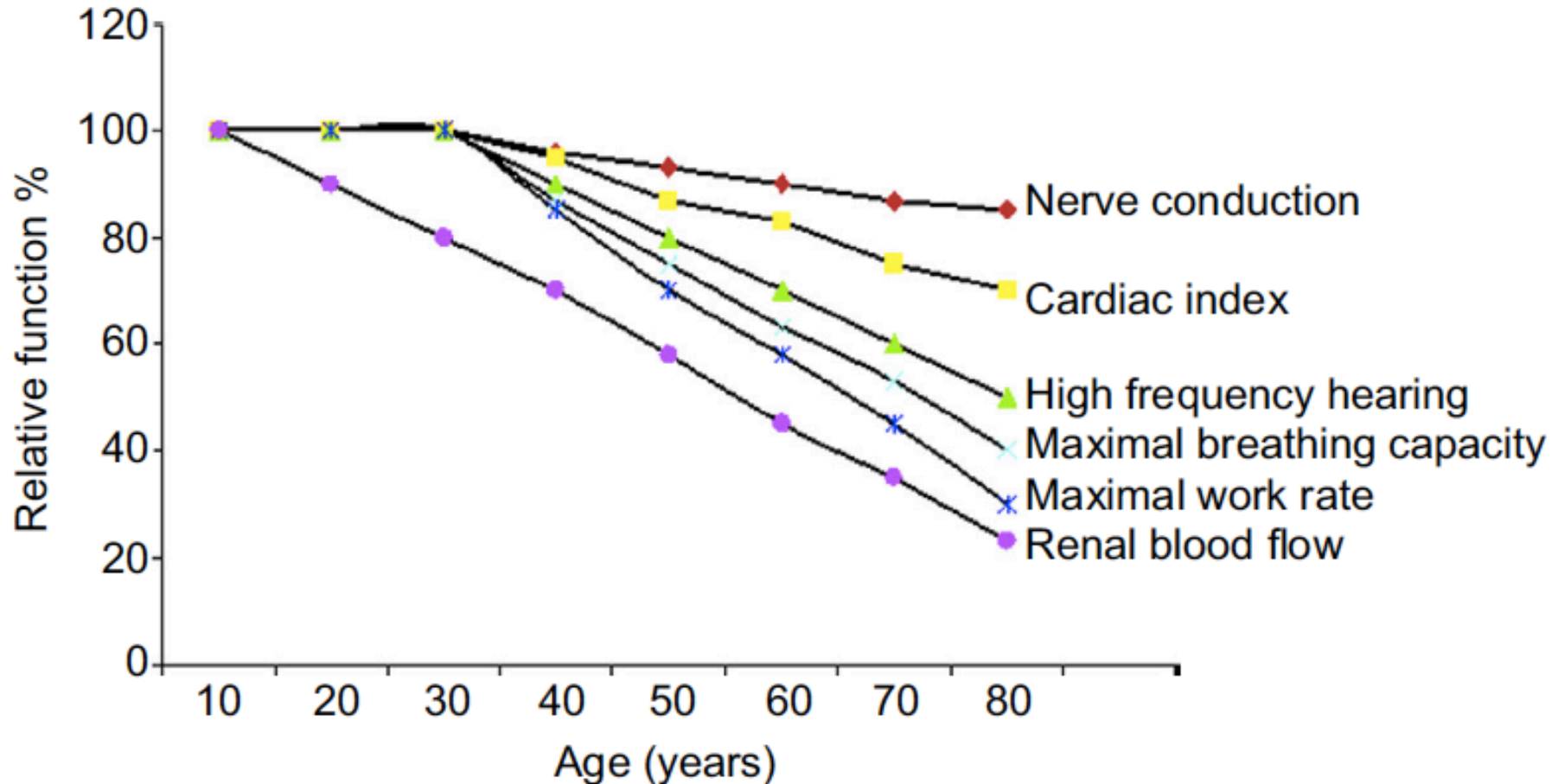
Denham Harman, 1956

L'invecchiamento e molteplici patologie sono correlate con lo STRESS OSSIDATIVO



"The free radical man"

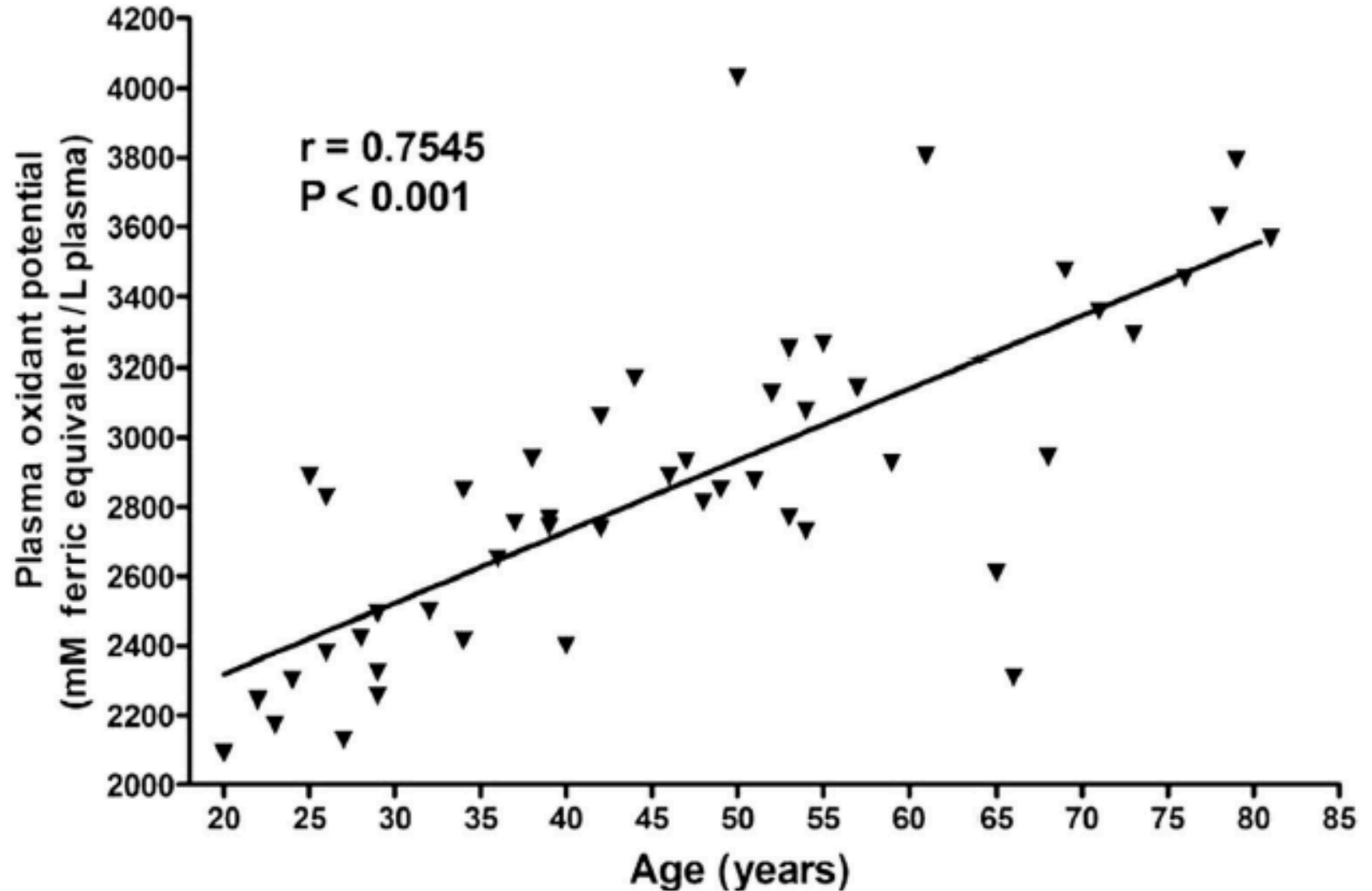
All physiologic systems show a decline with age.



Mitochondrial Free Radical Theory of Aging (MFRTA)

Sanz A et al, *Current Aging Science*, 2008, 1, 10-21

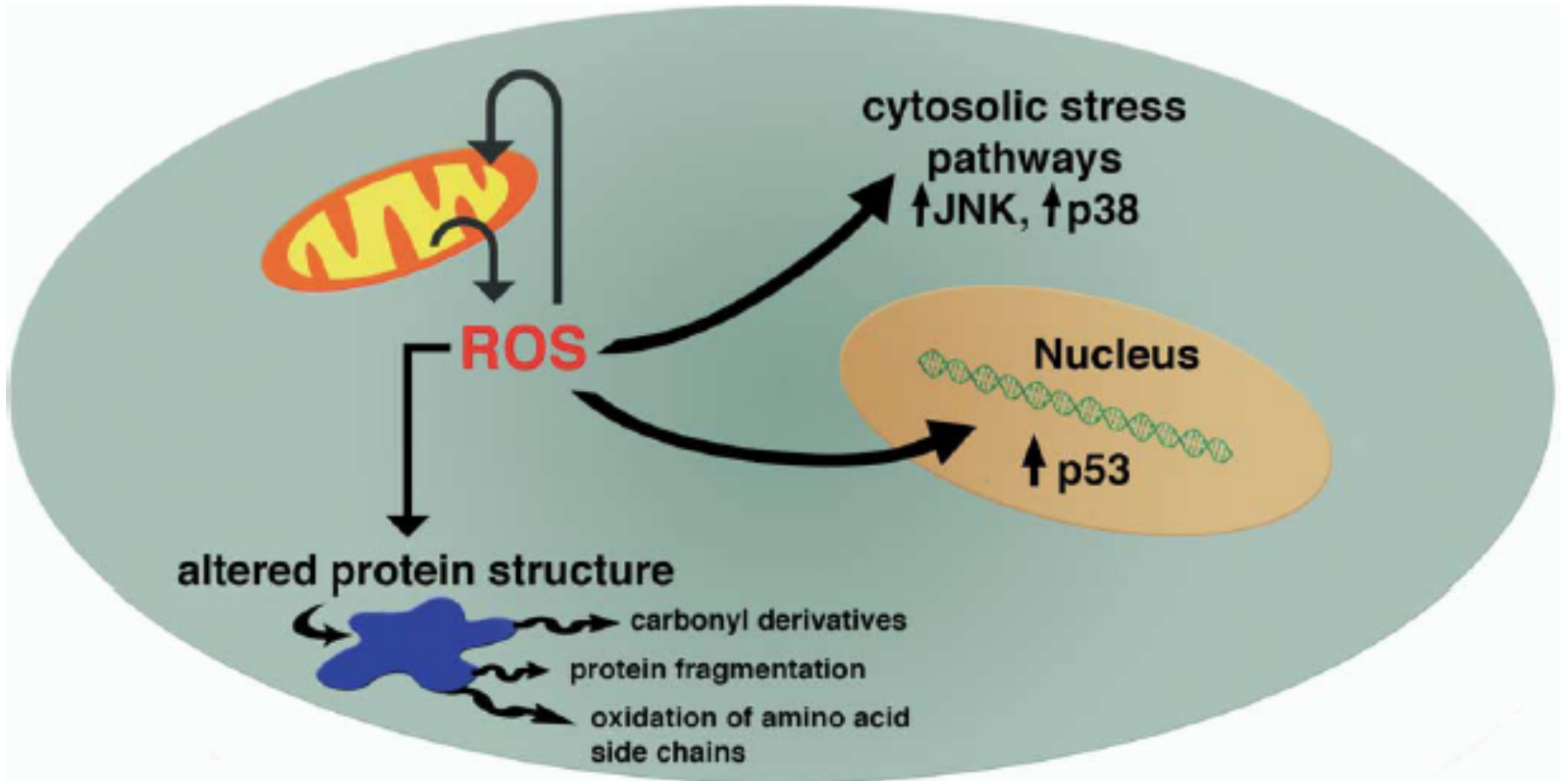
The potential for oxidative damage increases with age.



Potenziati bersagli dei ROS all'interno delle cellule, che possono favorire l'invecchiamento

- I ROS generati all'interno dei mitocondri possono retroagire e danneggiare direttamente il mtDNA e altri componenti mitocondriali.
- I ROS possono anche danneggiare il DNA nucleare, che porta alla attivazione del **tumour suppressor p53**.
- La modificazione ossidativa di alcune proteine può essere un importante fattore di invecchiamento.

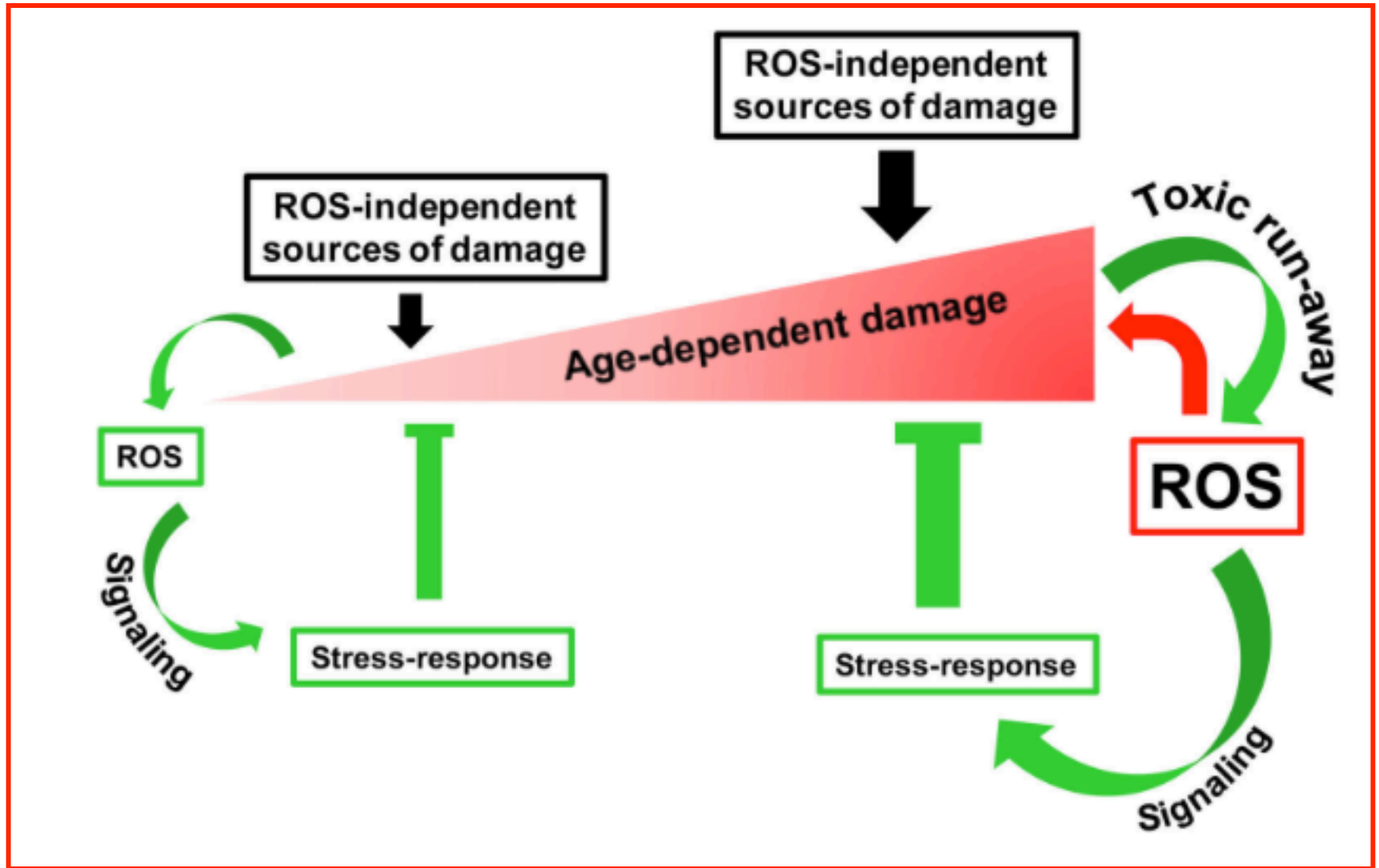
Mitochondria, Oxidants, and Aging



The gradual ROS response hypothesis

- Alcuni costituenti cellulari sostengono una serie di danni età-dipendente che innescano percorsi di protezione e di riparazione, ROS-dipendenti, di risposta allo stress.
- La generazione dei ROS che viene attivato da questi meccanismi è ben gestita dai sistemi antiossidanti cellulari e non è quindi dannoso.
- Questi meccanismi di protezione-riparazione sembrano in grado di impedire il graduale accumulo di danni legati all'età.
- Il graduale aumento dei danni induce sempre maggiore stimolazione della produzione di ROS perchè la cellula cerca di migliorare la sua risposta allo stress.
- Con il progredire dell'invecchiamento, la generazione dei ROS sfugge, pur parzialmente, al controllo dai sistemi antiossidanti: inizia a configurarsi la tossicità dai ROS causando danni significativi che le vie dello stress ROS-dipendente sarebbero destinate a neutralizzare.
- Questo potrebbe innescare un processo di **toxic run-away** che puo costituire la base del coinvolgimento dei ROS nelle malattie età-dipendenti, che tendono a manifestarsi nella seconda metà della vita.

The gradual ROS response hypothesis



Deadly diseases that have got established correlation to oxidative stress

Disease	Organs involved	Etiology
Macular degeneration	Eyes	Reactive oxygen intermediates (ROI)
Diabetes	Multi-organ	Superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, glutathione peroxidase
Chronic fatigue	Multiorgan	C-reactive protein
Atherosclerosis	Blood vessels	Reduced NADPH oxidase system
Autoimmune disorders (systemic lupus erythematosus)	Immune system	R _o ribonucleoprotein
Neurodegenerative diseases (Alzheimer's and Parkinson's disease)	Brain	Reactive oxygen species (ROS)
Asthma	Lungs	ROS particularly H ₂ O ₂
Rheumatoid and osteoarthritis	Joints	Radical oxygen species
Nephritis	Kidney	Glutathione transferase kappa (GSTK 1-1)
Melanoma	Skin	Pathophysiological processes including DNA damage and lipid peroxidation (LPO)
Myocardial infarction	Heart	Reactive oxygen species (ROS)

Oxidative stress in rheumatoid arthritis patients: relationship to diseases activity

Mirjana Veselinovic • Nevena Barudzic • Milena Vuletic •
Vladimir Zivkovic • Aleksandra Tomic-Lucic •
Dragan Djuric • Vladimir Jakovljevic

Mol Cell Biochem (2014) 391:225–232

"Vi sono evidenze che supportano un'associazione tra stress ossidativo e artrite reumatoide. Le osservazioni su pazienti con stadi avanzati della malattia suggeriscono **che i marcatori di stress ossidativo possono essere utili per valutare la progressione dell'artrite reumatoide** e per chiarire i meccanismi della patogenesi della malattia".



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

 ScienceDirect

Cancer Letters 266 (2008) 84–97

CANCER
Letters

www.elsevier.com/locate/canlet

Mini-review

Air pollution, oxidative damage to DNA, and carcinogenesis

Peter Møller *, Janne Kjærsgaard Folkmann, Lykke Forchhammer,
Elvira Vaclavik Bräuner, Pernille Høgh Danielsen, Lotte Risom, Steffen Loft

-
- Vi è crescente preoccupazione sulla possibilità che l'esposizione all'inquinamento atmosferico aumenti il rischio di cancro ai polmoni.
 - Il meccanismo d'azione è correlato allo stress ossidativo indotto dalle particelle dell'aria che respiriamo e alla conseguente ossidazione del DNA.
 - Vi sono evidenze che indicano che l'esposizione alle particelle da inquinamento atmosferico dovute al traffico è associata a danni ossidativi al DNA e questo potrebbe essere associato ad aumento del rischio di cancro ".

Materiale particolato e tumori

- I dati aggregati provenienti dai modelli sperimentali animali indicano che l'esposizione alle particelle di scarico diesel sono associati con **livelli elevati di guanina ossidata** in tessuti, specie epitelio del colon, fegato e polmone.
- In sintesi, si può affermare che:
 - il materiale particolato è oramai riconosciuto come una componente pericolosa dell'inquinamento atmosferico;
 - l'esposizione a particelle di inquinamento atmosferico è associato alla generazione di ROS e danno ossidativo al DNA;
 - vi è un legame tra i prodotti di escrezione urinaria di guanine ossidati ed elevato rischio di cancro ai polmoni.
- Questo dovrebbe essere visto come un legame causale tra l'esposizione all'inquinamento atmosferico e rischio di cancro.

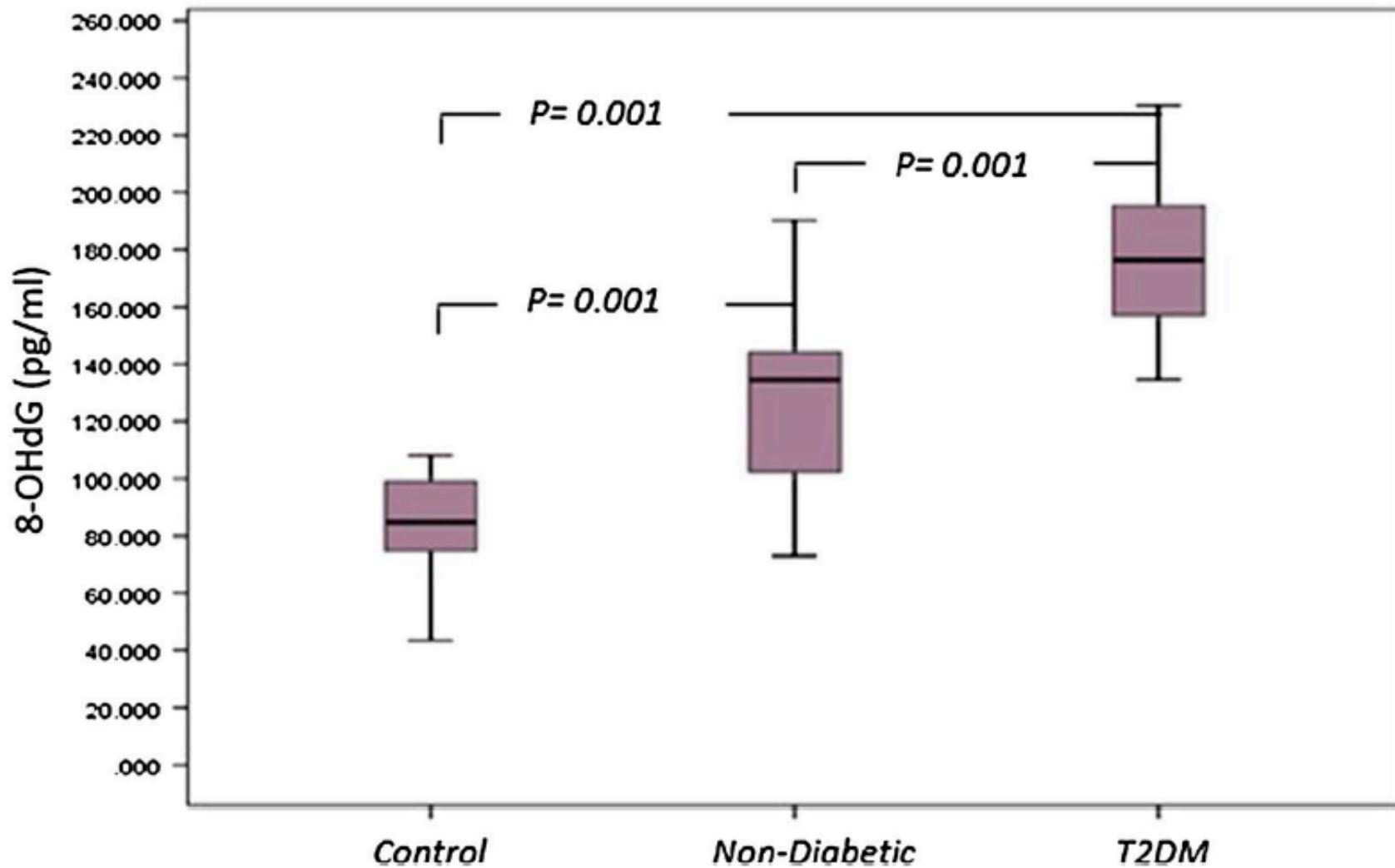
Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review

A. C. Maritim, R. A. Sanders, J. B. Watkins III 

2003, Volume 17, Issue 1, Pages 24–38

- Studi sperimentali e clinici suggeriscono che lo stress ossidativo giochi un ruolo importante nella patogenesi del diabete.
- Le conseguenze dello stress ossidativo sono in grado di promuovere lo sviluppo delle complicanze del diabete.

Interquartile range of 8-OHdG as an indicator of oxidative damage of DNA in non-diabetic, diabetic patients and control



Association of Oxidative Stress, Insulin Resistance, and Diabetes Risk Phenotypes

The Framingham Offspring Study

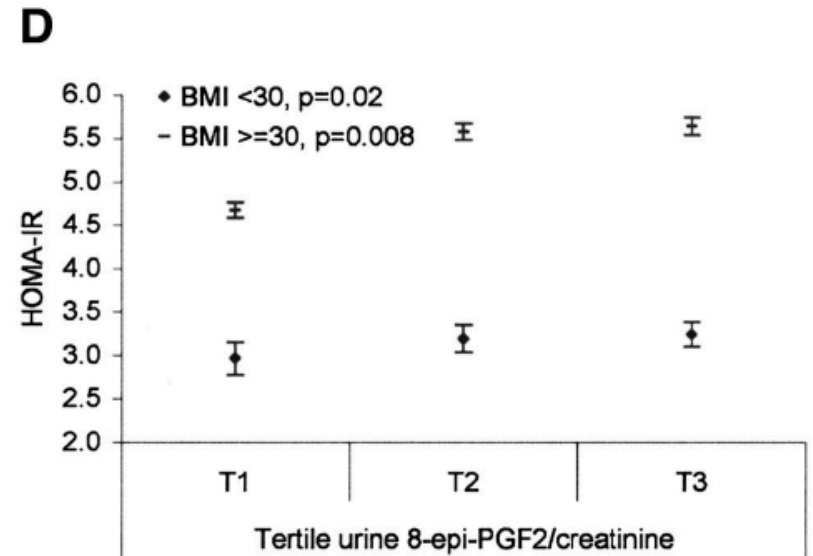
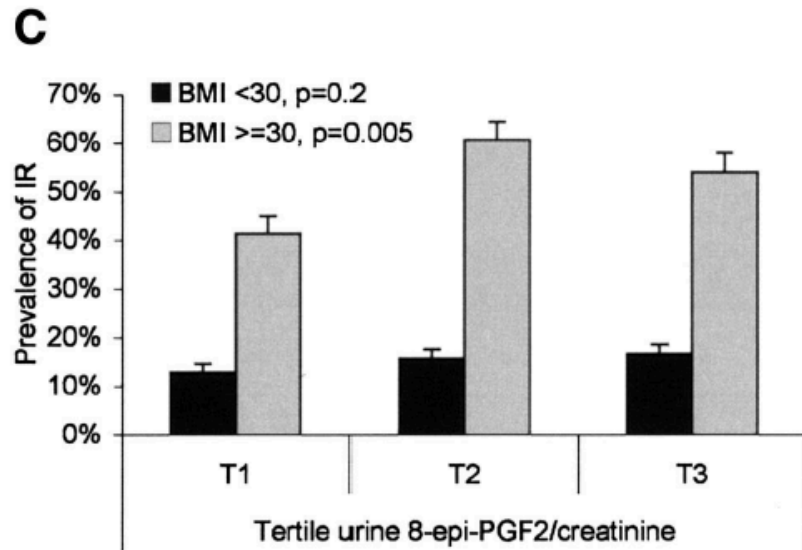
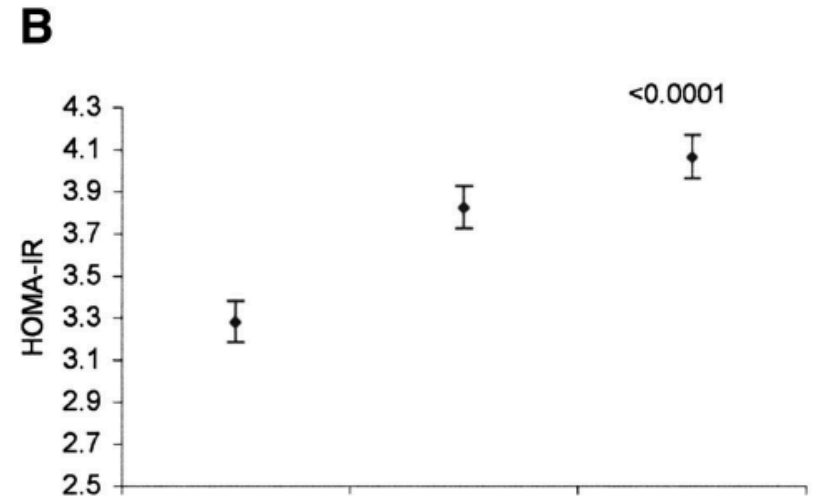
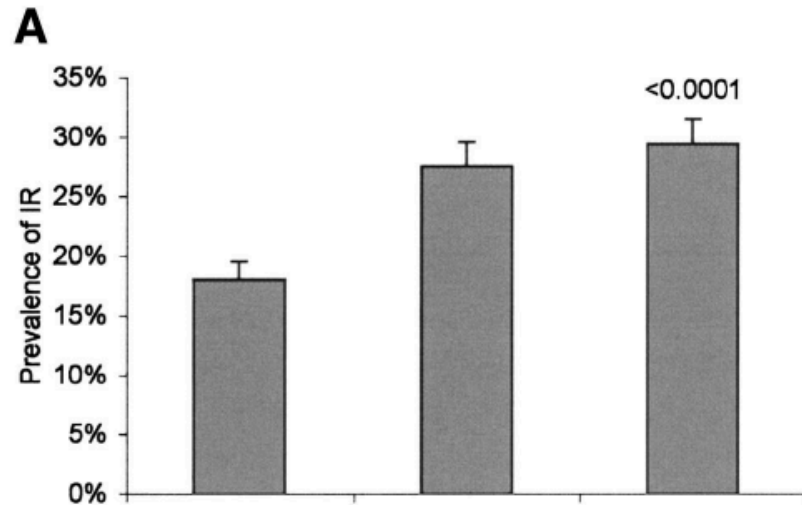
JAMES B. MEIGS, MD, MPH¹
MARTIN G. LARSON, SD²
CAROLINE S. FOX, MD, MPH^{3,4}

JOHN F. KEANEY, JR., MD⁵
RAMACHANDRAN S. VASAN, MD^{3,6,7}
EMELIA J. BENJAMIN, MD, SCM^{3,6,7}

Diabetes Care 30:2529–2535, 2007

- Lo stress ossidativo sistemico è associato a insulino-resistenza anche in soggetti non diabetici.
- L'associazione è risultata statisticamente significativa nell'obesità, nella sindrome metabolica e nei soggetti con ridotta tolleranza glucidica (pre-diabete).
- Questi dati supportano l'ipotesi che lo **stress ossidativo** sia un importante **fattore di rischio di diabete di tipo 2** e potrebbe essere un obiettivo per migliorare la sensibilità all'insulina e prevenire il diabete.

Prevalence of insulin resistance (IR) by tertile of creatinine-indexed 8-epi-PGF2

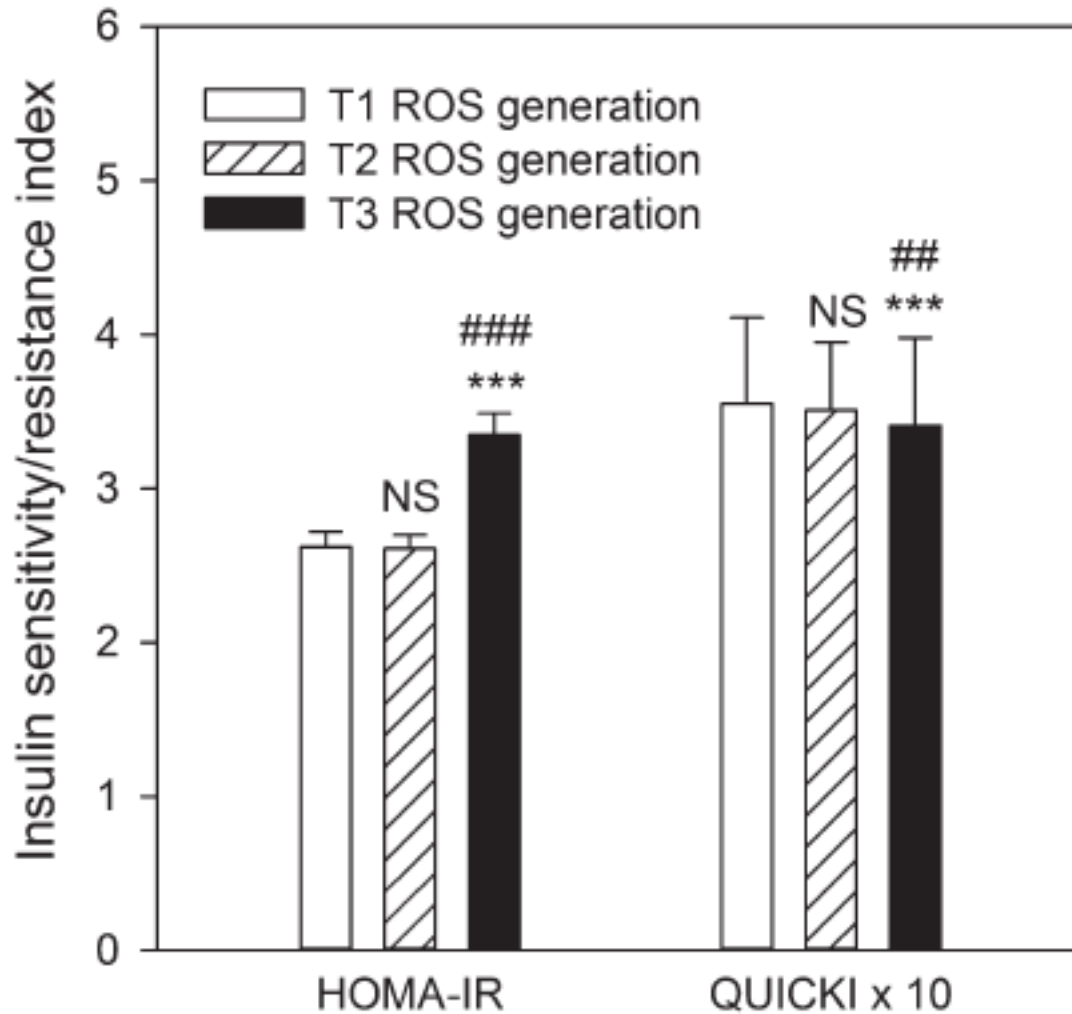


ORIGINAL ARTICLE

Association between systemic oxidative stress and insulin resistance/sensitivity indices – the PREDIAS study

Steffi Kopprasch*, Dheban Srirangant, Sybille Bergmann‡, Juergen Graessler*, Peter E.H. Schwarz* and Stefan R. Bornstein*

- L'aumento della produzione sistemica di ROS è accompagnato ad aumento dell'indice HOMA-IR ($p < 0,00$), riduzione dell'indice QUICKI ($P < 0,001$) e diminuzione dell'indice ISI ($P < 0,05$).
- Conclusioni: lo stress ossidativo sistemico è associato ad elevata resistenza all'insulina, e a ridotta sensibilità all'insulina.



Mean insulin sensitivity/resistance indices by tertile of systemic phagocyte ROS generation. *** P < 0001; ## P < 001, ### P < 0001

Summary of major enzymatic and non-enzymatic antioxidants in human

		Enzymatic	Non-Enzymatic
Antioxidants	Endogenously synthesized	Copper–zinc SOD; CuZnSOD (SOD1) MnSOD (SOD2) Extracellular SOD (SOD3) Catalase Glutathione peroxidase (GPx) Thioredoxin (Trx)	Uric acid Bilirubin Glutathione (GSH) Coenzyme Q10 N-Acetylcysteine (NAC) Melatonin
	Dietary substances		Vitamin A, Vitamin C Vitamin E Folic acid Flavomoid Polyphenol

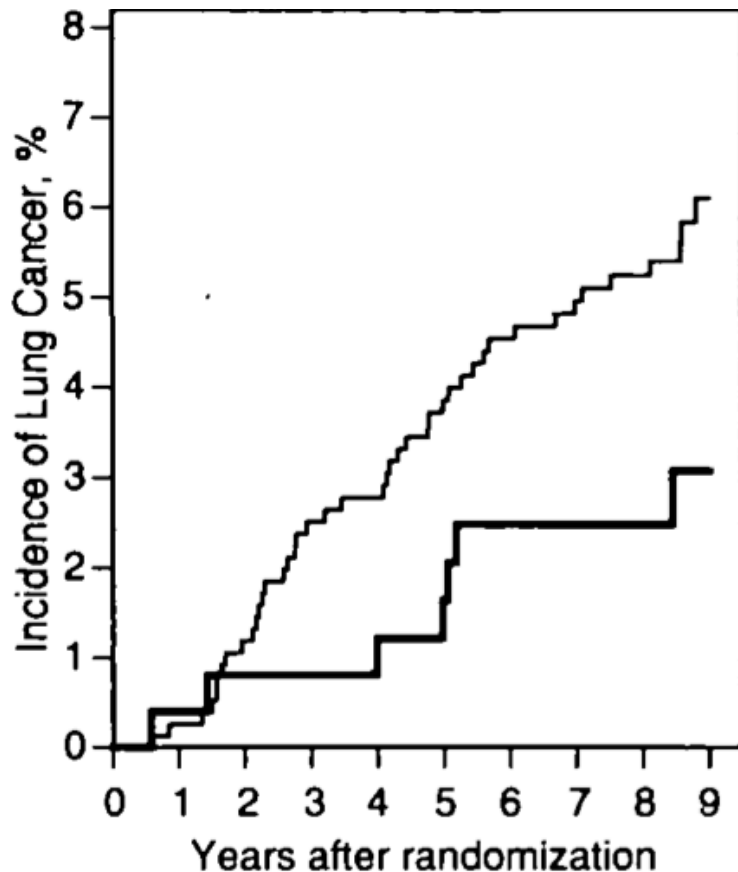
The Effect of Vitamin E and Beta Carotene on the Incidence of Lung Cancer and Other Cancers in Male Smokers

The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group

N Engl J Med 1994; 330:1029-1035 | [April 14, 1994](#) | DOI: 10.1056/NEJM199404143301501

*“Non è stata osservata alcuna riduzione della incidenza di cancro al polmone tra i fumatori di sesso maschile dopo cinque e otto anni di integrazione alimentare con alfa-tocoferolo e beta-carotene. In realtà, questo studio solleva la **possibilità che questi integratori possono avere effetti più nocivi che benefici.**”*

Risk Factors for Lung Cancer and for Intervention Effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial



Gli individui ad alto rischio di sviluppare cancro ai polmoni, fumatori e lavoratori esposti all'amianto, dovrebbero essere dissuasi dal prendere supplementi di β -carotene (o β -carotene + vit A).

Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease

- **In studi osservazionali**, i soggetti con elevato apporto di vitamine e antiossidanti con i cibi hanno in genere minor rischio di infarto del miocardio e ictus rispetto alle persone che fanno un basso consumo di tali alimenti.
- **In studi clinici controllati**, tuttavia, vitamine antiossidanti assunte come integratori non hanno effetti benefici nella prevenzione di infarto miocardico e di ictus. Sono stati segnalati invece eventi avversi gravi. Tale discrepanza è verosimilmente spiegata dal fatto che da un lato il tipo di alimentazione e dall'altro l'uso di supplementi rappresentano in qualche modo lo stile di vita e i rischi connessi.

Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality

Edgar R. Miller III, MD, PhD; Roberto Pastor-Barriuso, PhD; Darshan Dalal, MD, MPH; Rudolph A. Riemersma, PhD, FRCPE; Lawrence J. Appel, MD, MPH; and Eliseo Guallar, MD, DrPH

Ann Intern Med. 2005;142:37-46.

Un'analisi dose-risposta ha evidenziato una relazione statisticamente significativa tra dosaggio della vitamina E e mortalità per qualsiasi causa.

***Conclusione:* supplementi di vitamina E, specie ad elevati dosaggi (> 400 UI / die) possono aumentare la mortalità e devono essere evitati.**

Long-term Use of *b*-Carotene, Retinol, Lycopene, and Lutein Supplements and Lung Cancer Risk: Results From the VITamins And Lifestyle (VITAL) Study.

Satia JA, Littman A, Slatore LA, Galanko JA, and White E
Am J Epidemiol 2009;169:815–828

“... l'utilizzo di integratori a base di β -carotene e Vit A risulta associato ad aumento del rischio di cancro del polmone, specie del tipo a piccole cellule”.

Dietary Supplements and Cancer Prevention: Balancing Potential Benefits Against Proven Harms

Martinez ME, Jacobs ET, Baron JA, Marshall JR, Byers T
J Natl Cancer Inst 2012;104:732–739

“La supplementazione nutrizionale è ormai un'industria multimiliardaria: circa la metà di tutti gli adulti americani assume integratori.

L'uso dei supplementi nutrizionali è alimentato dalla convinzione che questi possono scongiurare malattie croniche, compreso il cancro, anche se diversi comitati di esperti e istituzioni scientifiche hanno concluso che non vi è alcuna prova scientifica che gli integratori riducono il rischio di cancro.

Al contrario, ora vi è la prova che alcuni integratori aumentano il rischio di cancro.

Nonostante questa evidenza, l'industria degli integratori il marketing delle industrie continuano a proclamare benefici antitumorali.

Sia la comunità scientifica che le autorità governative che regolamentano la commercializzazione degli integratori alimentari devono fornire indicazioni chiare al pubblico sull'uso di integratori alimentari per ridurre il rischio di cancro”.

Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases (Review)

Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C

Cochrane Database Syst Rev. 2012 Mar 14;3:CD007176



**THE COCHRANE
COLLABORATION®**

Antioxidant supplements for prevention of mortality

Conclusioni degli autori:

Non esiste alcuna prova a sostegno dell'uso di integratori antiossidanti per la prevenzione primaria o secondaria.

β -carotene, vitamina A e vitamina E sembrano aumentare la mortalità.

I Supplementi antiossidanti devono essere considerati come medicinali e dovrebbero essere sottoposti a adeguata valutazione prima della commercializzazione.

The Dark Side of Antioxidants

Science
Translational
Medicine



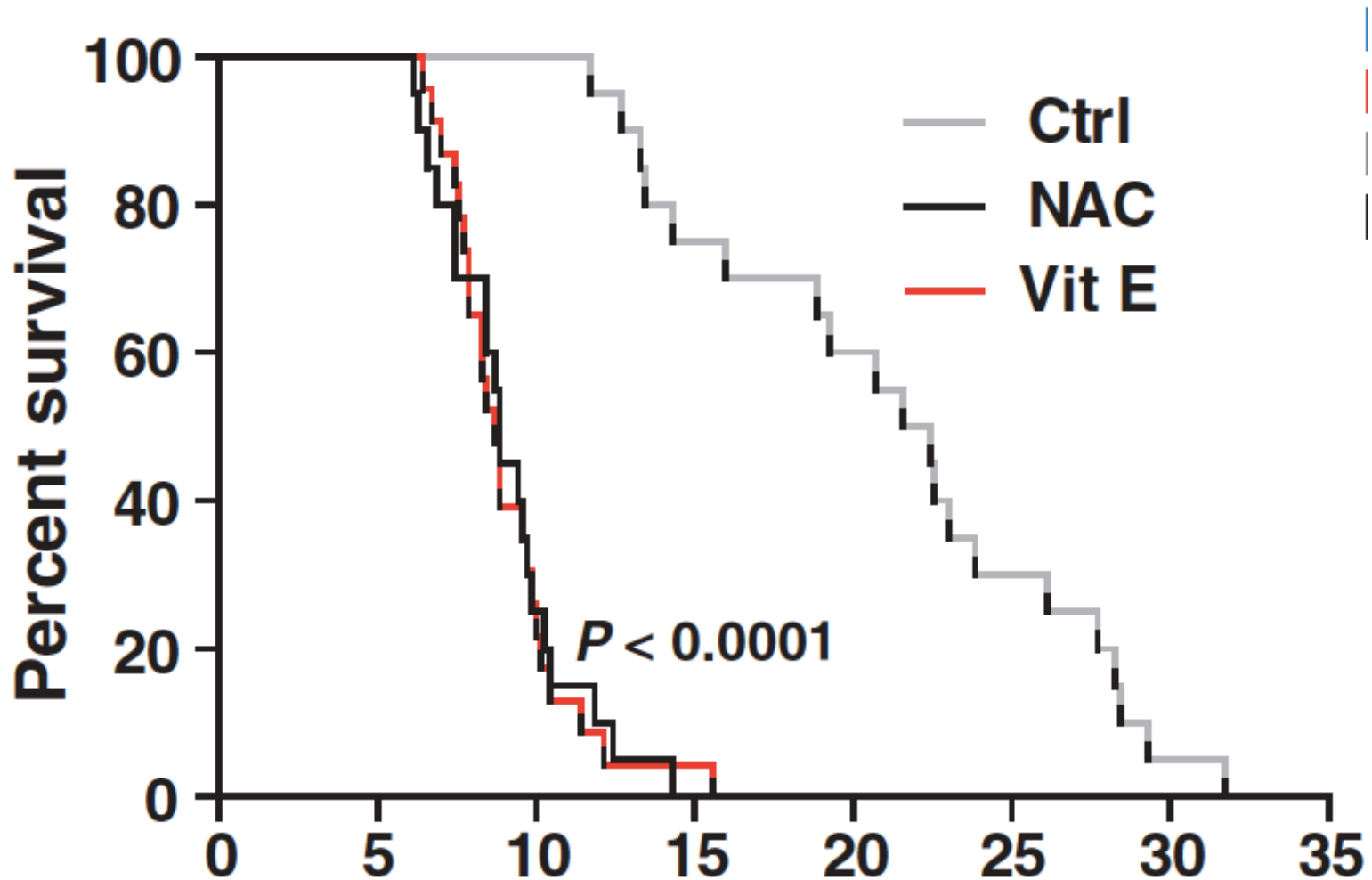
Antioxidants Accelerate Lung Cancer Progression in Mice

Volkan I. Sayin *et al.*

Sci Transl Med **6**, 221ra15 (2014);

DOI: [10.1126/scitranslmed.3007653](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007653)

Antioxidants Accelerate Lung Cancer Progression in Mice



Kaplan-Meier plot showing survival of NAC-treated, Vit E-treated and control – Wk treatment

The Dark Side of Antioxidants

Editor's summary

Antioxidants Accelerate Lung Cancer Progression in Mice

- Quando i topi portatori di mutazioni, che aumentano il rischio di cancro al polmone, vengono trattati con antiossidanti, le loro prime lesioni precancerose progrediscono rapidamente, e i topi sviluppano più lesioni tumorali e in fasi più avanzate.
- Gli antiossidanti riducono l'espressione della proteina p53, elemento chiave quale soppressore del tumore.
- Vi è, quindi, evidenza di un ruolo cancerogeno degli antiossidanti, specie in soggetti a rischio di cancro, come i fumatori o i pazienti con PCOS.

Antiossidanti e tumori

- Una grande maggioranza delle pazienti con carcinoma mammario utilizza integratori antiossidanti dopo la diagnosi o durante il trattamento oncologico.
- Studi recenti suggeriscono uno scenario inquietante: gli antiossidanti forniscono segnali di sopravvivenza e proliferazione fondamentali per le cellule tumorali.
- Inibitori antiossidanti rappresentano una strategia terapeutica nella terapia antitumorale. Combinazioni di inibitori GSH (o altri inibitori antiossidanti) con radioterapia o chemioterapici, che causano la morte cellulare indotta da stress ossidativo, possono rivelarsi utili per distruggere le cellule tumorali.

Strategie

Ridurre produzione di ROS

oppure

Aumentare introito di
antiossidanti?

Minireview: The Role of Oxidative Stress in Relation to Caloric Restriction and Longevity

Endocrinology, 2005, 146, 3713–3717

Ricardo Gredilla and Gustavo Barja

E' stato suggerito che il mtDNA svolga un ruolo importante nel processo di invecchiamento.

Studi eseguiti sui roditori mostrano che la riduzione a lungo termine dell'apporto calorico diminuisce i livelli di danno ossidativo alle macromolecole cellulari.

Il fenomeno pare dovuto principalmente a diminuzione della generazione mitocondriale di radicali liberi piuttosto che a maggiore scavenging o riparazione del danno già inflitto.

Discovery of plant extracts that greatly delay yeast chronological aging and have different effects on longevity-defining cellular processes

Vicky Lutchman^{1,*}, Younes Medkour^{1,*}, Eugenie Samson¹, Anthony Arlia-Ciommo¹, Pamela Dakik¹, Berly Cortes¹, Rachel Feldman¹, Sadaf Mohtashami¹, Mélissa McAuley¹, Marisa Chanchaon¹, Belise Rukundo¹, Éric Simard², Vladimir I. Titorenko¹

¹Department of Biology, Concordia University, Montreal, Quebec H4B 1R6, Canada

Oncotarget, 2016, 7, 1952

Six plant extracts increase yeast chronological lifespan to a significantly greater extent than any of the presently known longevity-extending chemical compounds. Each of the six plant extracts delays the onset and decreases the rate of yeast chronological aging, with different effects on cellular processes that define longevity.

- increased mitochondrial respiration and membrane potential;
- reduced concentrations of reactive oxygen species;
- decreased oxidative damage to cellular proteins, membrane lipids, and mitochondrial and nuclear genomes;
- enhanced cell resistance to oxidative and thermal stresses;
- accelerated degradation of neutral lipids deposited in lipid droplets.

Cimicifuga racemosa, *Valeriana officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Ginkgo biloba*, *Apium graveolens*, *Salix alba***



King Saud University

Saudi Journal of Biological Sciences

www.ksu.edu.sa
www.sciencedirect.com


ORIGINAL ARTICLE

Improvement of antioxidant and defense properties of Tomato (var. Pusa Rohini) by application of bioaugmented compost



Shikha Verma ^a, Anamika Sharma ^a, Raj Kumar ^b, Charanjit Kaur ^c,
 Anju Arora ^a, Raghubir Shah ^b, Lata Nain ^{a,*}

I pomodori sono un'ottima fonte di antiossidanti, vitamina C, carotenoidi (licopene e β-carotene) e composti fenolici. Resa e qualità del pomodoro sono significativamente aumentate utilizzando composti organici rispetto al rendimento osservato per i pomodori coltivati in modo convenzionale. Frutta e verdura da agricoltura biologica hanno alti livelli di vitamina C, ferro, magnesio, fosforo e attività antiossidante (SOD, GR, APO, PO, fenoli) e più bassi livelli di perossidazione lipidica rispetto ai prodotti coltivati convenzionalmente.

L'applicazione del composto organico per piselli, patate dolci e cipolle ha aumentato il rendimento del 31%, 23% e 29%, rispettivamente.

Il presente studio dimostra la positiva influenza di composti organici sulla resa e la qualità dei frutti di pomodoro, specie in termini di proprietà antiossidanti.

“Considerate la vostra semenza:
fatti non foste a viver come bruti,
ma per seguir virtute e conoscenza”

Dante, Inferno, canto XXVI, vv 112-115