

INDICE

1. CENNI INTRODUTTIVI

2. CHE COSA SONO I RADICALI LIBERI

2.1 Generalità

2.2 Cause di produzione di radicali liberi

3. IL SISTEMA ANTIOSSIDANTE

3.1 Antiossidanti endogeni ed esogeni

3.2 Azione degli antiossidanti

4. LO STRESS OSSIDATIVO

4.1 Lo stress ossidativo e l'invecchiamento

4.2 Lo stress ossidativo e le malattie

4.3 Correlazione tra stress ossidativo e abitudini di vita

5. COME DIFENDERSI DALLO STRESS OSSIDATIVO E PREVENIRE LA MALATTIA

6. SOSTANZE CON PROPRIETA' ANTIOSSIDANTI

6.1 Esempi dell'effetto degli antiossidanti in alcune patologie

7. ALIMENTI RICCHI DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

8. TEST DI LABORATORIO PER LA VALUTAZIONE GLOBALE DELLO STRESS OSSIDATIVO

8.1 Importanza della valutazione dello stress ossidativo

9. LINEE GUIDA

Dossier Scientifico ANTIAGING PROFILE

1. CENNI INTRODUTTIVI

Nel corso degli ultimi anni, nei paesi industrializzati, il tasso di mortalità in seguito a patologie cronico degenerative e cardiovascolari è notevolmente aumentato. Per queste patologie, così come per l'invecchiamento, è stato evidenziato un stretto coinvolgimento con la produzione dei radicali liberi (RL) e, di conseguenza, con lo stress ossidativo.

In un organismo è sottoposto a stress ossidativo si ha la formazione di RL. I radicali liberi si formano mediante lo strappo di ioni idrogeno da proteine o lipidi, oppure mediante processi di ossidoriduzione. La forte presenza di RL negli organismi viventi ha conseguenze negative, come il danneggiamento di DNA ed RNA e la modificazione della struttura delle proteine. Un'altra conseguenza importante che avviene in presenza di ossigeno è l'iniziazione, da parte dei RL, del processo di perossidazione dei lipidi. Questo processo porta alla distruzione delle membrane biologiche, e coinvolge nel suo stadio iniziale la formazione di radicali perossilici e idroperossidi.

2. CHE COSA SONO I RADICALI LIBERI

2.1 Generalità

I RL sono atomi o molecole altamente reattive prodotte dall'attività metabolica finalizzata a trasformare i nutrienti in acqua e anidride carbonica. I RL sono caratterizzati dalla presenza, nell'orbitale più esterno, di un elettrone spaiato, tale da mantenere l'atomo stesso in condizioni di squilibrio. Per questo i RL sono instabili ed altamente reattivi. La perdita di elettroni rende l'atomo altamente eccitabile, spingendo questo a reagire con altre molecole atomiche, simili o dissimili, per acquisire da queste gli elettroni mancanti. In pratica i RL reagiscono da ossidanti nei confronti di altre molecole. Si innesca così una serie di reazioni a catena che causano danno cellulare e, conseguentemente, patologie a volte anche gravi. Questo stato di eccitazione atomica tenderà a mantenersi sino al raggiungimento di uno stato di stabilità assoluta o relativa. Una certa quota di produzione dei RL è comunque da considerarsi fisiologica, mentre un eccesso deve essere considerato un pericolo per l'integrità dell'organismo.

In genere l'emivita di un RL è dell'ordine dei millisecondi, ciò rende difficoltosa la sua individuazione, il suo isolamento e il suo dosaggio. Il radicale ossidrilico (HO^*), ad esempio, è uno dei più instabili e reattivi. La durata della sua esistenza è dell'ordine dei nanosecondi.

I RL vengono classificati a seconda della natura dell'atomo al quale appartiene l'elettrone spaiato. I radicali di interesse in patologia umana sono: i radicali centrati sull'ossigeno, sul carbonio, sull'azoto e sul cloro. Facendo riferimento ai radicali centrati sull'ossigeno è possibile affermare che l'ossigeno stesso, pur essendo indispensabile per la vita, diventa paradossalmente anche una fonte dannosa di radicali liberi. Questi radicali vengono denominati Reactive Oxygen Species (ROS), questo termine accomuna specie chimiche reattive derivate dall'ossigeno, tutte con la tendenza ad ossidare vari substrati organici (carboidrati, lipidi, amminoacidi, proteine, nucleotidi, ecc.). Esempi di ROS di natura radicalica sono l'ossigeno singoletto e il radicale idrossile. Esistono poi specie reattive non radicaliche dell'ossigeno come l'ozono e il perossido di idrogeno (acqua ossigenata) composto tanto instabile quanto reattivo. Quest'ultimo ha una emivita lunga e duratura, ciò comporta un importante danneggiamento della cellula e dei suoi componenti. Il perossido di idrogeno combinandosi con il cloro porta alla formazione dell'acido ipocloroso (HClO). Questa molecola è altamente distruttiva nei confronti delle componenti proteiche e per le basi del DNA.

Esiste quindi una varietà molto eterogenea di radicali liberi che, se presenti in eccesso, possono risultare dannosi per l'organismo.

I danni metabolici dovuti ai RL, in genere sono intracellulari (Tab. I), in particolare a livello mitocondriale (i mitocondri sono considerati come "il laboratorio energetico" della cellula). Ne consegue un danno anatomo-funzionale cellulare responsabile di sofferenza tissutale. Questo fenomeno è alla base dell'insorgenza di molte patologie, soprattutto di tipo degenerativo. Infatti quando i costituenti fosfolipidici della membrana cellulare vengono alterati dai RL, si formano i lipoperossidi, molecole che non sono più in grado di mantenere l'integrità di membrana.

Tabella I. Danni intracellulari causate da RL

Danni cellulari
Mitocondri
Nucleo
DNA (rotture, mutazioni, delezioni)
Proteine e enzimi

I più importanti meccanismi che portano alla formazione dei RL sono la scissione osmotica e l'interazione con i metalli di transizione (es. da Fe^{2+} a Fe^{3+}).

La formazione in eccesso di specie reattive di O^* , HO^* e H_2O_2 , se non adeguatamente neutralizzata dalla barriera antiossidante, porta a sua volta alla perossidazione biomolecolare con formazione di **idroperossidi (ROOH)**, specie reattiva non radicalica ad alto interesse biologico. Gli idroperossidi rappresentano un marker di danno cellulare rilevabile nei liquidi extracellulari e, in definitiva, i responsabili, insieme ad altri prodotti di ossidazione, dell'invecchiamento cellulare e di patologie correlate con lo stress ossidativo.

L'organismo possiede sistemi efficaci per contrastare la produzione di RL. Tuttavia, vi sono situazioni in cui la loro produzione risulta eccedente rispetto alla capacità neutralizzante dell'organismo stesso. Infatti esiste un delicato equilibrio tra la produzione e l'eliminazione di radicali liberi. La rottura di questo equilibrio (stress ossidativo) è indice di danni di varia entità a cellule e tessuti, fino ad invecchiamento precoce e comparsa di patologie anche gravi come: degenerazioni oculari, malattie neurodegenerative e tumori [1].

2.2 Cause di produzione dei radicali liberi

La produzione di RL non può essere evitata perché questa rientra nella "normale" attività metabolica dell'organismo. Tuttavia, appare corretto conoscere le circostanze di formazione dei RL per poterne ridurre gli eventuali eccessi produttivi.

- *Produzione di energia*: il metabolismo energetico consiste in un processo continuo nel corso del quale una quota di RL viene inevitabilmente prodotta come materiale di scarto.
- *Attività immunologica*: le reazioni immunologiche si accompagnano sempre a produzione di RL che, fra l'altro svolgono attività di difesa (è nota l'azione protettiva di H₂O₂ nei confronti di numerosi microrganismi quali i parassiti e i batteri anaerobi). Tuttavia, quando l'attività immunologica è protratta o intensa, la produzione di RL è risulta di difficile controllo con conseguenze anche gravi (es. malattie autoimmuni).
- *Stress*: lo stress psico-fisico genera la produzione di RL che, a loro volta, inducono un indebolimento delle capacità reattive. Anche gli ormoni dello stress (glucocorticoidi) portano alla formazione di RL, innescando un "giro vizioso" che alimenta il danno.
- *Alimentazione*: l'assunzione di cibo in misura quali-quantitativa non idonea genera la formazione di RL oltre che di scorie. Dati sperimentali hanno evidenziato come un eccesso calorico si accompagni a concentrazioni elevate di RL, così come un'alimentazione a base di cibi poco sani (carni rosse, insaccati, scatolame, ecc..).
- *Farmaci* (Tab.II): vi è una discreta gamma di farmaci che stimola la produzione di RL, fra questi vanno menzionate le terapie ormonali sostitutive (pillola anticoncezionale) e i farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS).
- *Inquinamento da sostanze esterne*: le numerose sostanze inquinanti, respirate o ingerite, quali: monossido di carbonio, fumo, fertilizzanti, per citarne alcuni, sono responsabili della produzione di RL (Tab. II).
- *Radiazioni ultraviolette e ionizzanti* (Tab. II).

Tabella II: principali inquinanti e farmaci fonti di produzione di RL

Tossine	<i>Tetracoloro di carbonio</i>
Benzopirene	Anilina
	Toluene
Farmaci	Antibiotici
	Antitumorali
	Disinfettanti (nitrofurantoina)
	Antiinfiammatori
Inquinamento	Ossido nitrico
	Monossidodi carbonio
	Idrocarburi incombusti
	Nitrati
	Aldeidi
	Biossido di azoto
Altre fonti	Tabacco
	Alcol
	Radiazioni (ionizzanti e solari)

3. IL SISTEMA ANTIOSSIDANTE

A causa delle innumerevoli sorgenti di radicali liberi (radiazioni ultraviolette e ionizzanti, agenti chimici e biologici) gli organismi viventi hanno elaborato durante l'evoluzione vari sistemi di difesa che operano a diversi livelli e con diversi meccanismi.

Gli antiossidanti agiscono cedendo idrogeno e bloccando i radicali liberi. I vegetali sono molto ricchi di sostanze antiossidanti. Infatti essendo esposte per molte ore all'azione dell'aria e della luce hanno sviluppato potenti sistemi di difesa per proteggersi dall'ossidazione e dai radicali liberi, queste difese sono costituite da vitamine, bioflavonoidi e da pigmenti.

3.1 Antiossidanti endogeni ed esogeni

L'organismo ha sviluppato un complesso sistema di difesa antiossidante atto a neutralizzare, in parte, la formazione dei ROS. Questo sistema è costituito da enzimi, vitamine, oligoelementi, sostanze simil-vitaminiche.

Antiossidanti endogeni: sistema intracellulare ad attività antiossidante:

- *Superossido dismutasi (SOD):* rende meno reattive molecole di superossido limitandone la funzionalità e accelerandone la trasformazione. La SOD accelera di 10000 volte la velocità della reazione che trasforma l'ossigeno molecolare in acqua secondo questo schema: $O_2 + O_2 + SOD = H_2O_2 + O_2$.
- *Catalasi:* trasforma H_2O_2 in H_2O prevenendo così la formazione di radicali ossidrilici (OH^*) altamente reattivi e pericolosi.
- *Glutadione perossidasi:* come la SOD, viene indotta rapidamente quando si genera stress ossidativo, contrasta sia la formazione di perossido di idrogeno che quella di lipoperossidi nella membrana cellulare.
- *Enzimi autoriparatori:* appartengono ad un sofisticato e rapido sistema di riparazione della cellula danneggiata. Tra questi ricordiamo le riparasi che riparano il DNA danneggiato e mantengono il codice genetico intatto.

Oltre ai sistemi enzimatici intracellulari numerose altre sostanze circolanti (extracellulari) possiedono attività antiossidante esplicita attraverso meccanismi diversi, di queste le principali sono: transferrina, lattoferrina, albumina, ceruloplasmina, bilirubina, glucosio, melatonina.

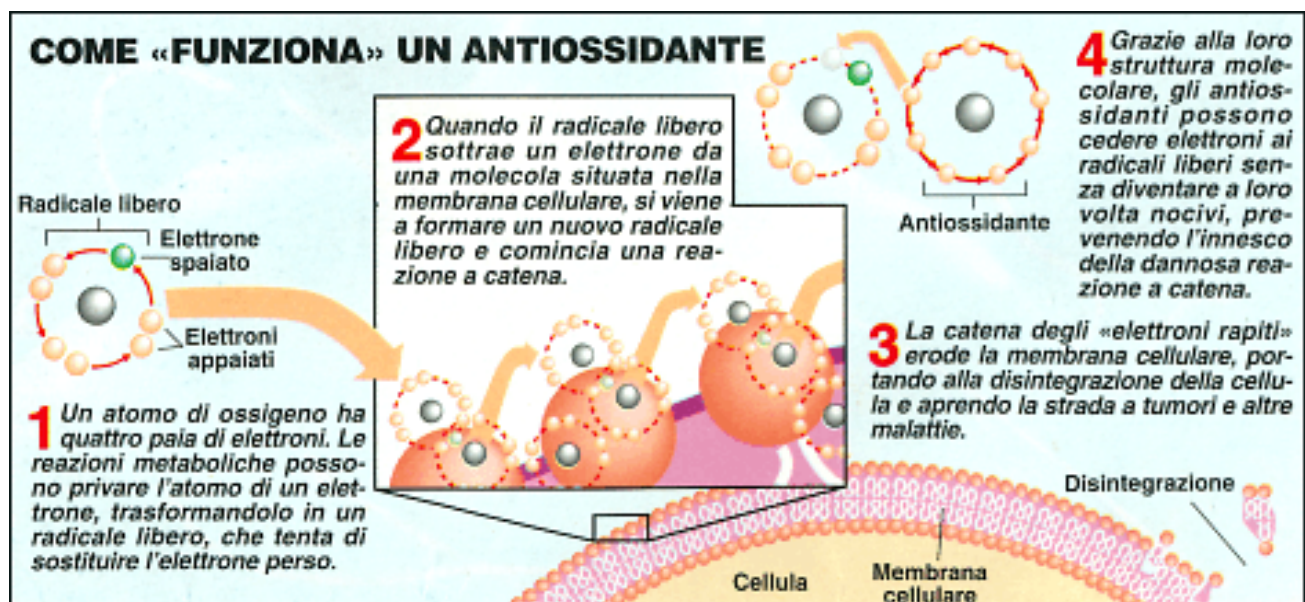
Antiossidanti esogeni: numerose sostanze, prevalentemente introdotte con l'alimentazione, che possiedono attività antiossidante, quali vitamina A, vitamina C, vitamina E, betacaroteni, microelementi, flavonoidi, pigmenti, polifenoli e tocoferoli presenti in larga misura nella frutta e nella verdura.

3.2 Azione degli antiossidanti

L'assunzione di un *pool* di antiossidanti combinati tra loro a basso dosaggio promuove la riduzione dello stress ossidativo, determinabile attraverso il d-ROMs test [14].

Gli antiossidanti agiscono a due livelli:

- *Intracellulare*: prevengono la formazione dei RL, ne promuovono l'allontanamento, riparano il danno ossidativo, evitano di intervenire su molecole eccessivamente danneggiate che porterebbero ad un accumulo di mutazioni perenni.
- *Extracellulare*: di origine endogena ed esogena. Rimuovono o inattivano le molecole ossidanti formando complessi non dannosi, rimuovono l'ossigeno in eccesso sequestrandone i singoli ioni, interferiscono con la catena di reazioni ossidanti.



4. LO STRESS OSSIDATIVO

Si può parlare di stress ossidativo quando l'equilibrio dinamico tra processi ossidativi e riduttivi è sbilanciato verso l'ossidazione.

In altre parole, si può definire lo stress ossidativo come una forma di stress chimico indotto dalla presenza di specie reattive in eccesso a causa di un aumento della produzione delle stesse e/o per una ridotta capacità di smaltimento dovuta a basse difese antiossidanti.

Lo stress ossidativo non è da considerare una patologia nel senso stretto del termine, i soggetti che presentano una situazione di stress ossidativo non esibiscono un quadro clinico specifico, ma lamentano sintomi e segni di malessere generale [1].

4.1 Lo stress ossidativo e l'invecchiamento

L'invecchiamento è un processo complesso. Negli ultimi decenni sono state fatte diverse ipotesi per fare chiarezza sui meccanismi dell'invecchiamento. L'aspetto genetico rappresenta sicuramente la base di molte di queste ipotesi. Tuttavia, un ruolo importante è svolto anche da cofattori quali, ad esempio, il sovrappeso, l'attività fisica inadeguata, l'eccesso di calorie. Tutti questi cofattori sono correlati con la produzione di radicali liberi. Di conseguenza lo stress ossidativo può contribuire ad una minore longevità.

4.2 Lo stress ossidativo e le malattie

I RL sono stati correlati con decine di malattie diverse [2], anche se in molti casi la produzione di RL è secondaria alla patologia.

E' ormai accertato che i RL sono direttamente coinvolti nel danno di cellule e tessuti riscontrabile in malattie come l'aterosclerosi, il diabete mellito, le malattie infiammatorie, i tumori e alcune malattie del fegato e del sistema respiratorio. Più in generale è possibile affermare che non esiste malattia in cui non sia documentabile un ruolo patogeno delle specie reattive dell'ossigeno. In conclusione un eccesso di RL è un importante fattore di rischio per lo sviluppo di malattie e deve essere prevenuto e combattuto.

Radicali liberi e dermatite atopica

E' stata documentata una riduzione significativa delle capacità antiossidanti in pazienti affetti da dermatite atopica con conseguenti implicazioni sugli acidi grassi polinsaturi [4].

Radicali liberi e malattie cardiovascolari

I RL giocano un ruolo importante nella formazione delle placche aterosclerotiche attraverso il meccanismo dell'ossidazione delle LDL [5, 26].

Oltre ad una correlazione tra RL e aterosclerosi è stato dimostrato un loro ruolo chiave nelle vasculopatie.

Radicali liberi e diabete mellito

In questa malattia cronica oltre all'iperglicemia si osserva un aumento della produzione delle specie reattive dell'ossigeno e, contemporaneamente, una riduzione del potere antiossidante e, di conseguenza uno stato di stress ossidativo [6]. Al contrario, in adolescenti affetti da diabete mellito è stato osservato un aumento di antiossidanti (Coenzima Q₁₀ e vitamina E) utili a neutralizzare l'incremento delle specie reattive dell'ossigeno caratteristica di questa patologia [7].

Nel diabete mellito i RL possono assumere un ruolo importante anche relativamente alle complicanze legate alla patologia (cardiovasculopatie, neuropatia, ecc.). Inoltre l'aumento dei RL insieme alla scarsa efficienza del sistema antiossidante possono accelerare il normale processo di invecchiamento riducendo ancor di più le aspettative di vita dei pazienti.

Radicali liberi e tumori

Da letteratura è noto che le specie reattive dell'ossigeno sono coinvolte nei tumori indotti da radiazioni ionizzanti, metalli e composti chimici cancerogeni [8].

4.3. Correlazione tra stress ossidativo e abitudini di vita

E' stata dimostrata la correlazione tra lo stress ossidativo e il fumo di sigaretta. In particolare i forti fumatori presentano, nel 70% dei casi, livelli di idroperossidi significativamente più alti rispetto a quelli riscontrabili nei non fumatori [9]. Analogamente chi abuso di alcol presenta valori di idroperossidi significativamente più alti rispetto ai non bevitori [10].

L'attività fisica incongrua costituisce un importante fattore di rischio per lo stress ossidativo. Gli atleti, ad esempio, dopo intenso sforzo muscolare presentano una concentrazione di idroperossidi sierici aumentati rispetto alle condizioni pre-gara o a individui sedentari di controllo [11, 12]. Tuttavia, questi valori tendono a ridursi già a due giorni dalla gara, inoltre il ritorno ai valori basali è favorito dal trattamento antiossidante [11]. E' stato inoltre osservato che la supplementazione con vitamina C + E o l'assunzione di succo concentrato di frutta e verdura può attenuare il fenomeno dell'ossidazione delle proteine dopo esercizio aerobico molto intenso della durata di 30 minuti [12]. Un altro

recente studio ha dimostrato che l'assunzione di antiossidanti, in particolare vitamine C ed E, è utile per migliorare la quantità di radicali liberi dopo esercizio aerobico [13].

Anche i soggetti in soprappeso, e in maggior misura gli obesi, tendono a presentare livelli sierici più elevati di idroperossidi rispetto ai soggetti normopeso.

5. COME DIFENDERSI DALLO STRESS OSSIDATIVO E PREVENIRE LA MALATTIA

La routine quotidiana può contribuire a favorire o ritardare i danni prodotti dai radicali liberi. Le informazioni che pervengono dalla medicina moderna e le antiche conoscenze della medicina naturale, hanno mostrato chiaramente che l'alimentazione contribuisce in modo sostanziale e primario all'insorgenza di tutte le malattie e ai processi dell'invecchiamento. E' stato constatato che una dieta equilibrata ed adeguata può contribuire ad esercitare un'efficace prevenzione nei confronti dello stress ossidativo. Un adeguato apporto di vitamine, di microelementi (zinco, selenio) e di altri nutrienti contenuti in frutta, verdura e legumi, rappresenta una prevenzione efficace per contrastare gli effetti deleteri dei RL. Infatti un puntuale intervento con sostanze antiossidanti permette di rinforzare la barriera antiossidante, riducendo o ritardare i danni che provocherebbe un eccesso di radicali liberi. Tuttavia, non mancano le perplessità riguardo la concreta efficacia degli agenti antiossidanti. Queste perplessità non riguardano gli aspetti qualitativi, bensì quelli quantitativi: numerosi esperti ritengono infatti che per ottenere una adeguata azione anti radicalica sarebbero necessari apporti di antiossidanti di gran lunga maggiori di quelli compresi nelle diete abitualmente consigliate.

Sostanzialmente nel nostro corpo si deve instaurare un equilibrio fra produzione ed eliminazione dei RL, per questo, forse, una dieta non basta, bensì è necessario adottare un corretto stile di vita che comprenda una regolare attività fisica adeguata e l'astensione dal consumo di alcol e dal fumo.

6. SOSTANZE CON PROPRIETA' ANTIOSSIDANTI

Ubichinone e ubichinolo (Co Q₁₀): ha la fondamentale funzione di contribuire alla produzione dell'energia cellulare, di proteggere le membrane biologiche dall'ossidazione e di potenziare l'azione antiossidante della Vitamina E. Diminuzioni intorno al 25-30% dei livelli di queste sostanze sono correlabili con diverse malattie che includono l'immunodeficienza, il cancro, i disturbi cardiovascolari.

Vitamina C: elimina i radicali liberi nei liquidi intra- ed extracellulari ed ha la capacità di rigenerare la Vitamina E dopo che questa è stata neutralizzata dai radicali liberi stessi.

Vitamina E: inibisce la catena delle reazioni di ossidazione, protegge le membrane e le lipoproteine circolanti (LDL) dall'ossidazione lavorando in sinergia con ubichinone e ubichinolo.

Vitamina A: ha effetto anticancerogeno, ed è essenziale per il buon funzionamento del sistema immunitario. Il suo precursore è il Betacarotene.

Betacarotene: sequestra i singoli ioni ossigeno (ossigeno singoletto) ed altri radicali. Protegge le LDL dall'ossidazione.

Licopene: protegge le lipoproteine dall'ossidazione.

Bioflavonoidi: sottogruppo di polifenoli ad attività antiossidante contenuti in frutta e verdure.

6.1 Esempi dell'effetto degli antiossidanti in alcune patologie

Malattie cardiovascolari

La somministrazione di antiossidanti previene la perossidazione lipidica, l'ossidazione delle LDL, l'insorgenza e progressione dell'aterosclerosi [5] e lo stress ossidativo in pazienti colpiti da infarto del miocardio [18]. Un recentissimo studio giapponese ha dimostrato che il tè verde (da 2 a 5 tazze al giorno) è benefico e protettivo nei confronti del sistema cardiovascolare e lo è in particolare nelle donne e nell'ictus [19]

Cataratta e degenerazione maculare da invecchiamento

L'ossidazione del cristallino sembra giocare un ruolo centrale nella formazione di problemi

dell'occhio osservati durante l'invecchiamento. Dati recenti indicano che il consumo di sostanze antiossidanti è associato con un ritardo nello sviluppo di varie forme di cataratta [20, 21]. Esiste una correlazione tra una deficienza di antiossidanti (vitamina E, C, e carotenoidi) e la maculopatia retinica [22].

Sindrome di Ménière's

La terapia antiossidante ha dimostrato un miglioramento dello stress ossidativo in pazienti affetti da labirintite e sindrome di Ménière's [23].

Disturbi della funzione cognitiva

La qualità della vita delle persone con demenza senile dipende profondamente dalla loro capacità di movimento fisico, presenza mentale, e funzione cognitiva. E' stato suggerito da vari autori che il declino di queste facoltà è prevenibile o riducibile con l'apporto di antiossidanti.

Diabete

Un supplemento in sostanze antiossidanti (multivitaminici, metalli e minerali) è importante negli anziani per mantenere la tolleranza al glucosio.

7. ALIMENTI RICCHI DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

I nutrienti ad attività antiossidante in natura sono centinaia (quelli noti) e per conoscere i loro effetti sull'organismo e sulle loro innumerevoli funzioni servirebbero decenni.

Vi sono alcune caratteristiche che un antiossidante deve avere per essere considerato efficace per i nostri bisogni. Gli antiossidanti ideali innanzitutto devono avere un basso peso molecolare, in modo da poter passare intatti dall'apparato digerente al circolo sanguigno.

Il cibo è la principale fonte di antiossidanti endogeni è quindi importante avere un'alimentazione equilibrata e ricca di antiossidanti.

Il *betacarotene* rappresenta il pigmento principale di frutta e ortaggi gialli e arancioni. Ne sono ricche le carote, i vegetali a foglia verde scuro come gli spinaci e broccoli. Inoltre è contenuto in pomodori, prezzemolo, eperoncino, basilico, patate dolci, zucca, albicocche, mango, e anche nel fegato di bovino [25].

La *vitamina C* ha la funzione di sostenere la crescita e la riparazione dei tessuti e di mantenere sane gengive, vasi sanguigni, ossa e denti. Il corpo ha bisogno di vitamina C anche per produrre il collagene (collante delle cellule). Questa vitamina non si accumula nell'organismi, quindi è necessario l'apporto esterno giornaliero. E' impossibile un eccesso di vitamina C, in quanto quantità in più vengono espulse con le urine. Le migliori fonti sono: albicocche, ribes nero, broccoli, cavolini di Bruxelles, ciliegie, agrumi, uva, peperoni verdi, cavolo verde, prezzemolo, fragole, pomodori.

E' importante considerare che la vitamina C viene distrutta con il calore, quindi frutta e verdura andrebbero consumate crude o appena scottate [25].

La *vitamina E* protegge tutte le cellule dall'attacco dei radicali liberi. Fa parte della più ampia famiglia dei tocoferoli. I cibi ricchi di questa vitamina sono gli oli vegetali, i semi oleosi (noci, nocciole, mandorle dolci) e i cereali integrali. Anche l'olio di pesce ha un alto contenuto di vitamina E [25].

Il *Selenio* è un minerale che esalta i poteri delle vitamine presenti nell'organismo e lavora in sinergia con la vitamina E. Ne sono ricchi il tonno, i gamberi, il merluzzo, la sogliola, l'agnello, il coniglio, il maiale, il fegato, i fagioli, il riso [25].

I *flavonoidi* sono un gruppo di sostanze non nutritive chiamate polifenoli. Studi recenti hanno evidenziato il loro effetto protettivo nei confronti del cancro e della malattia coronarica. Sono presenti nelle foglie e nelle parti esterne delle piante, solo in tracce nelle parti interne. I flavonoidi sono presenti in alcuni vini rossi e nel tè, nelle cipolle, nei cavoli, negli agrumi, nelle mele, nel melone, nelle fragole, nell'indivia [25].

8 TEST DI LABORATORIO PER LA VALUTAZIONE GLOBALE DELLO STRESS OSSIDATIVO

La valutazione dello stress ossidativo rappresenta, in sintesi, una fonte preziosa di informazioni per:

- la diagnostica clinica;
- la prevenzione dell'invecchiamento cellulare e dell'insorgere di malattie;
- il monitoraggio e il trattamento dell'evoluzione di svariate patologie (malattie cronico-degenerative, malattie cardiovascolari, problemi della sfera riproduttiva, malattie infiammatorie croniche, stress psicologico, ecc.);
- la valutazione nel tempo, dell'efficacia di terapie specifiche e di trattamenti antiossidanti messi in atto per prevenire o ridurre il danno da stress ossidativo [14].

L'AntiAging Profile permette, con un unico prelievo di sangue venoso, di valutare lo stress ossidativo, misurando sia la concentrazione di radicali liberi (idroperossidi) che il potere antiossidante (acido urico, tocofeoli, bilirubina, ascorbato, ecc..) [3].

La determinazione dei **radicali liberi** (idroperossidi) viene effettuata attraverso il **Free Radicals Test (F.R.T.)**, un d-ROMs test sviluppato con metodica spettrofotometrica. Il test permette di valutare in maniera accurata la capacità ossidativa del plasma, che si esplica principalmente con la liberazione di radicali liberi dell'ossigeno. La produzione di questi radicali è un evento fisiologico, quando però si sconfinava in condizioni di stress ossidativo, è stato ampiamente dimostrato che i RL possono provocare danni anche molto gravi modificando le caratteristiche strutturali e funzionali di cellule e tessuti. Il principio di questo test nasce dalla ricerca italiana, e consente di determinare la concentrazione degli idroperossidi (ROOH), molecole generate nelle cellule dall'attacco ossidativo, responsabili dell'invecchiamento e di patologie correlate con lo stress ossidativo stesso [15, 16]. Questo test consente di valutare il reale stato delle nostre difese fisiologiche e di segnalare, precocemente, squilibri e tendenze verso l'insorgere di stati patologici. Il test utilizza un kit composto da una soluzione tampone (acetato pH 4,8) che permette la scissione degli idroperossidi presenti nel siero in radicali idroperossilici e alcossilici. A tale soluzione viene aggiunto un agente cromogeno con la proprietà di cambiare colore nel momento in cui viene ossidato dai radicali iperossilici e alcossilici trasformandosi in una sostanza, anch'essa radicalica, ma più stabile degli idroperossidi, in modo da consentirne

la determinazione quantitativa per via fotometrica. L'intensità del colore nella cuvetta di reazione sarà direttamente proporzionale alla concentrazione dell'analita presente nel campione (idroperossidi).

La misurazione della concentrazione di idroperossidi è espressa in UNITA' CARRATELLI (U.CARR; ogni U.CARR corrisponde a 0,08 mg/100mL di perossido di idrogeno).

RADICALI LIBERI DELL'OSSIGENO	
valori di riferimento (U.CARR)	
200-300	Normale
301-320	Valore di attenzione
321-340	Stress ossidativo lieve
341-400	Stress ossidativo medio
401-500	Stress ossidativo grave
> 500	Stress ossidativo gravissimo

VALORI < 200 U.CARR POSSONO ESSERE INDICATIVI DI UNO STATO DI IMMUNODEPRESSIONE O DI TRATTAMENTI IN ATTO CON FARMACI IMMUNODEPRESSIVI.

VALORI COMPRESI TRA 200 e 300 U.CARR SONO NELLA NORMA. IL SOGGETTO E' DOTATO DI BUONE CAPACITA' ANTIOSSIDANTI PRESUMIBILMENTE LEGATE AD UNA DIETARICCA IN ANTIOSSIDANTI O ALL'ASSUNZIONE DI INTEGRATORI MIRATI.

VALORI >300 U.CARR SONO INDICATIVI DI UNO STATO DI STRESS OSSIDATIVO, QUINDI DI UNO STATO DI INVECCHIAMENTO IN ACCELERAZIONE.

La valutazione del **potere antiossidante** viene effettuata attraverso l'**Antioxidant Capacity Test (A.C.T.)**, un BAP test sviluppato con metodica spettrofotometrica. Questo test permette di misurare la capacità degli antiossidanti presenti nel circolo ematico di ridurre gli ioni ferro. Tale capacità può essere assunta come la misura del potere antiossidante del plasma analizzato [17].

POTERE ANTIOSSIDANTE TOTALE	
valori di riferimento ($\mu\text{moli/L}$)	
> 2200	Valore ottimale
2200-2000	Valore di attenzione
2000-1800	Stato di discreta carenza
1800-1600	Stato di carenza
1600-1400	Stato di forte carenza
< 1400	Stato di fortissima carenza

Il range arbitrario, stimato negli individui “sani” è di 2200-4000 $\mu\text{moli/L}$. UNA RIDUZIONE DEI VALORI DEL TEST AL DI SOTTO DI QUESTO INTERVALLO E' CORRELABILE CON UNA RIDOTTA EFFICIENZA DEL POTERE ANTIOSSIDANTE PLASMATICO

8.1 Importanza della valutazione dello stress ossidativo

Sarebbe consigliabile che ognuno di noi conoscesse il proprio stato ossidativo in condizioni di buona salute, poiché esso è subordinato al metabolismo basale e alle abitudini alimentari. Fino ad ora l'assunzione di antiossidanti è avvenuta senza conoscere se fosse necessario ricorrere a questi prodotti. Questo perché non era possibile conoscere il proprio *status* ossidante. Ad esempio: come potremmo assumere un prodotto anti-colesterolo senza conoscere la nostra colesterolemia? In ugual modo ci si deve comportare con i radicali liberi che rappresentano un alto fattore di rischio per la salute. Pertanto è necessario conoscere il valore dello stress ossidativo, impostare di conseguenza i trattamenti e successivamente poter modulare la posologia a seconda delle necessità individuali, a tal proposito è importante tenere presente che dosaggi eccessivi di antiossidanti potrebbero esplicare un'azione opposta a quella aspettata, in particolare potrebbero provocare un'azione pro-ossidante.

9. LINEE GUIDA [24]

Il punto di partenza nella valutazione dello stress ossidativo è l'esecuzione dell'F.R.T. Questo test andrebbe effettuato in condizioni di buona salute o "basali" in quanto, valutando anche lo stato metabolico, fornisce risultati che sono influenzati dallo stile di vita.

I risultati del test devono essere inquadrati dal medico nella situazione clinica del singolo paziente.

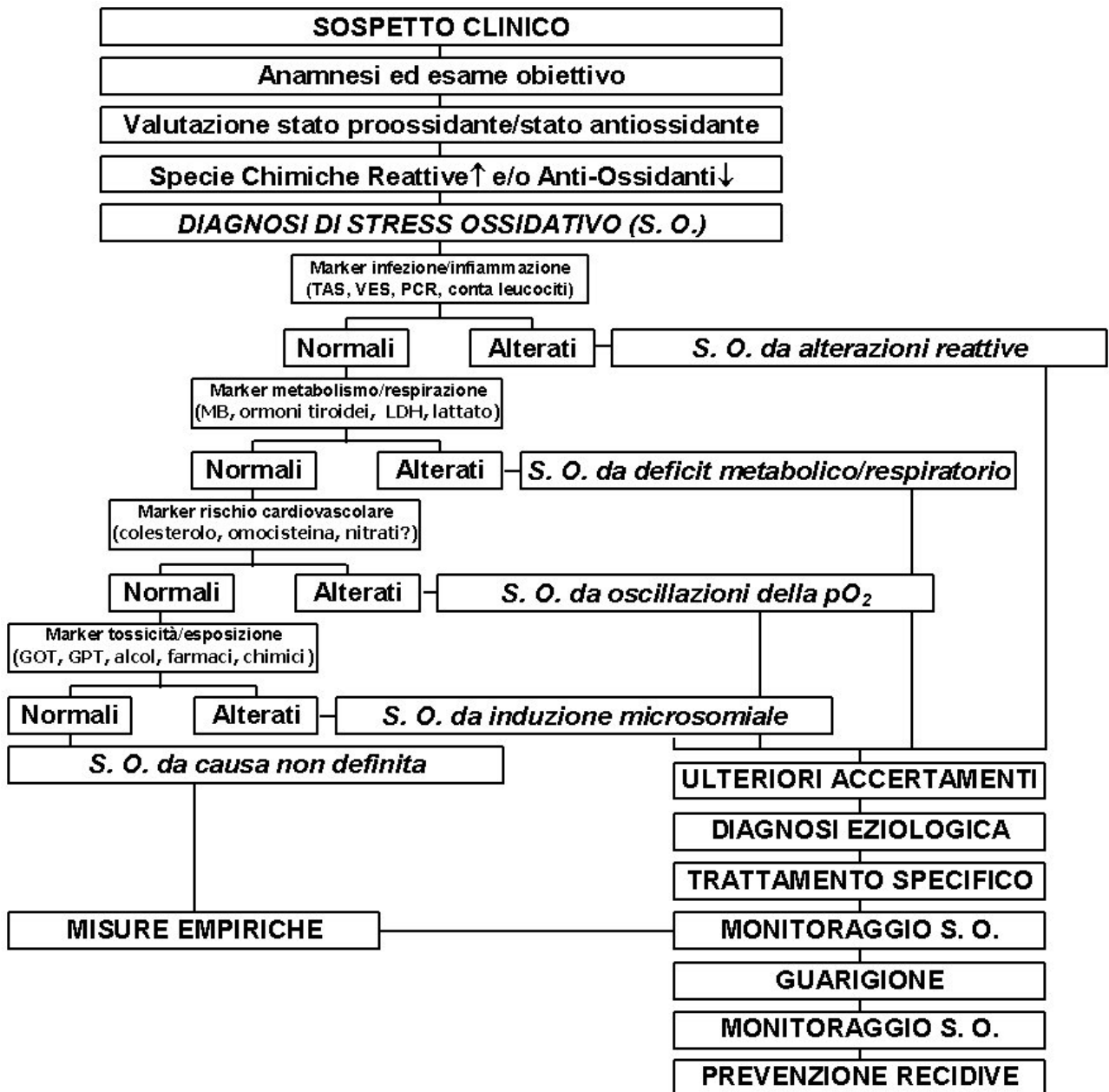
Lo stress ossidativo può essere una condizione temporanea negli individui normali se è legato all'accelerazione di produzione di energia in ragione delle necessità. Ci si può quindi aspettare che, nel soggetto sano, i livelli di U.CARR: durante il riposo siano più bassi rispetto a quelli del soggetto in attività. I livelli tendono ad aumentare durante la giornata quando il soggetto è in attività mantenendosi comunque prevalentemente nel range di normalità

Di fronte a valori <250 U.CARR e in assenza di errori nell'esecuzione della procedura analitica, è necessario considerare attentamente l'esame obiettivo del paziente (chiarire se è affetto da patologie particolari o se assume farmaci e quali). Per esempio l'uso, anche topico, di cortisonici riduce in maniera rilevante il livello di idroperossidi, mascherando il risultato analitico.

Valori borderline (tra 300 e 320 U.CARR) non vanno sottovalutati. In alcuni casi è sufficiente riequilibrare il regime alimentare o l'attività fisica, in altri non è possibile escludere a priori una patologia in atto. E' consigliata terapia antiossidante preventiva.

Valori superiori a 321 U.CARR indicano uno stato di stress ossidativo e devono essere considerati molto attentamente e caso per caso. In particolare è necessario considerare il tipo di attività fisica svolta dal paziente, il consumo di alcol, il tabagismo, il sovrappeso o l'obesità e alcune patologie classicamente associate allo stress ossidativo (ipertensione, vasculopatie, malattie cronico degenerative). L'integrazione antiossidante è fortemente consigliata.

Il seguente algoritmo rappresenta un esempio di come affrontare casi di pazienti con sospetto clinico di stress ossidativo, utile per individuarne la causa.



Riferimenti bibliografici

Tra parentesi quadre è riportata la traduzione in lingua italiana del titolo del lavoro scientifico.

1. Favier A. Oxidative stress in human diseases. [Stress ossidativo nelle patologie umane] *Ann Pharm Fr.* 2006; 64(6): 390-396.
2. Da Vela G; Casini MC; Della Lena R; Gozzi F. Dalla ricerca teorica alla pratica quotidiana: i radicali liberi in alcune situazioni patologiche, utilità, limiti e prospettive. *Etruria Medica.* 1995; 2: 29-34.
3. Iorio EL. New diagnostic tools to evaluate oxidative balance in the clinical practice. [Nuovi strumenti diagnostici per la valutazione dell'equilibrio ossidativo nella pratica clinica]. International Observatory of Oxidative Stress, Salerno, Italy.
4. Briganti S; Picaro M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. [Attività antiossidante, perossidazione lipidica a patologie della pelle. What's new.]. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2003; 17(6): 663-669.
5. Digiesi V; Oliviero C; Giannò V; Rossetti M; Fiorillo C; Oradei A; Lenuzza M; Nassi P. Reactive metabolites of oxygen, lipid peroxidation, total antioxidant capacity and vitamin E in essential arterial hypertension. [Metaboliti reattivi dell'ossigeno, perossidazione lipidica, capacità antiossidante totale e vitamina E nell'ipertensione arteriosa essenziale.] *Clin Ter.* 1997; 148(11): 515-519.
6. Akkus I; Kalak S; Vural H; Caglayan O; Menekse E; Can G; Durmus B. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. [Perossidazione lipidica nei leucociti, superossido dismutasi, glutatione perossidasi e siero e livelli di vitamina C nei leucociti dei pazienti con diabete mellito di tipo II.] *Clin Chim Acta.* 1996; 244: 221-227.
7. Salardi S; Zucchini S; Elleri D; Grossi G; Bargossi AM; Gualandi S; Santoni R; Cicognani A; Cacciari E. High glucose levels induce an increase in membrane antioxidants, in terms of vitamin E and Coenzyme Q₁₀, in children and adolescent with type 1 diabetes. [Elevati livelli di glucosio inducono un aumento degli antiossidanti di membrana in termini di vitamina E e coenzima Q₁₀, in bambini e adolescenti con diabete di tipo 1.] *Diabetes Care.* 2004; 27(2): 630-631.
8. La Torre F; Orlando R; Silipigni A; Giacobello T; Pergolizzi S; Aragona M. Incremento dei radicali liberi dell'ossigeno in pazienti neoplastici chemio e radiotrattati. *Minerva Medica.* 1996; 86: 1-4.
9. Bamonti-Catena F; Cighetti G; Novembrino C; Ippolito S; Lonati S; Soresi E. Oxidative stress in smokers and non-smokers: effect of an antioxidant supplementation. [Stress ossidativo nei fumatori e non fumatori: effetto della somministrazione di antiossidanti.] *Clin Chem Lab Med.* 2002; 40(special supplement): S180.
10. Vitola NM; Paraggio C; De Luna A; Nigro C. Il dosaggio dei radicali liberi sierici quale possibile marker di abuso alcolico. Reportt of the Laboratori of Radioimmunology. Hospital of Battipaglia, Salerno, Italy. 1999; CLINICAL REPORT.
11. Beltrami G; Fanton F; Schiavottiello G. Determinazione dei radicali liberi in differenti

attività sportive e sue applicazioni. Report of Italian Baseball And Softball Medical Federal Commission. Scientific Institute for Sport Italian National Olympic Committee (CONI), Rome, Italy. 1999. CLINICAL REPORT.

12. Banfi G; Malavazos A; Iorio EL; Dolci A; Doneda L; Verna R; Corsi MM. Plasma oxidative stress biomarkers, nitric oxide and heat shock protein 70 in trained elite soccer players. *Eur J Appl Physiol*. 2006; 96(5): 483-486.
13. Bloomer RJ; Goldfarb AH; Mckenzie MJ. Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements. [Risposta dello stress ossidativo alla ginnastica aerobica: raffronto tra integratori antiossidanti.] *Med Sci Sport Exercise*. 2006; 38(6): 1098-1105.
14. Cornelli U; Terranova R; Luca S; Cornelli M; Alberti A. Bioavailability and antioxidant activity of some food supplements in men and women using the d-ROMs test as a marker of oxidative stress. [Biodisponibilità e attività antiossidante di alcuni integratori alimentari in uomini e donne che utilizzano il test d-ROM come marcatore dello stress ossidativo.] *J Nutr*. 2001; 131(12): 3208-3211.
15. Cesarone MR; Belcaro G; Carratelli M; Cornelli U; De Sanctis MT; Incandela L; Barsotti A; Terranova R; Nicolaidis A. A simple test to monitor oxidative stress. [Un semplice test per il monitoraggio dello stress ossidativo.] *Int Angiol*. 1999; 18(2): 127-130.
16. Trotti R; Caratelli M; Barbieri M. Performance and clinical application of a new, fast method for the detection of hydroperoxides in serum. [Efficacia e applicazione clinica di un metodo nuovo e rapido per l'individuazione di iperossidi nel siero]. *Panminerva Med*. 2002; 44(1): 37-40.
17. Dohi K; Satoh K; Ohtaki H; Shioda S; Miyake Y; Shindo M; Aruga T. Elevated plasma levels of bilirubin in patients with neurotrauma reflect its pathophysiological role in free radical scavenging. [L'elevato tasso di bilirubina nel plasma in pazienti con neurotrauma ne riflette la funzione patofisiologica nell'eliminazione dei radicali liberi.] *In Vivo*. 2005; 19(5): 855-860.
18. Gasparetto C; Malinverno A, Culacciati D, Gritti D, Prosperini PG, Specchia G, Ricevuti G. Antioxidant vitamins reduce oxidative stress and ventricular remodeling in patients with acute myocardial infarction. [Vitamine antiossidanti riducono lo stress ossidativo e il rimodellamento ventricolare nei pazienti con infarto miocardico acuto.] *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2005; 18(3): 487-496.
19. Kuriyama S, Shimazu T, Ohmori K, Kikuchi N, Nakaya N, Nishino Y, Tsubono Y, Tsuji I. Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan. [Consumo di tè verde e mortalità da patologie cardiovascolari, cancro e qualsiasi altra causa in Giappone.] *JAMA*. 2006; 296(10): 1255-1265.
20. Mastromatteo A; Labate A; Cappello V; Recupero V; Cruciali F; Senofonte O. Indagine preliminare sulla concentrazione dei radicali liberi nel siero di pazienti con cataratta avanzata. *Oftalmologia Sociale*. 2003; 24(4): 20-26.
21. Christen WG; Liu S; Glynn RJ; Gaziano JM; Buring JE. Dietary carotenoids, vitamins C and E, and risk of cataract in women: a prospective study. [Carotenoidi dietetici,

vitamine C ed E e rischio di cataratta nelle donne: uno studio prospettico.] *Arch Ophthalmol.* 2008; 126(1): 102-109.

22. Simonelli F; Zarrilli F; Mazzeo S; Verde V; Romano N; Savoia M; Testa F; Vitale DF; Rinaldi M; Sacchetti L. Serum oxidative and antioxidant parameters in a group of Italian patients with age-related maculopathy. [Parametri ossidativi e antiossidanti del siero in un gruppo di pazienti italiani con maculopatia collegata all'età.] *Clinica Chimica Acta.* 2002; 320: 111-115.
23. Raponi G; Alpini D; Volontà S; Capobianco S; Cesarani A. The role of free radicals and plasmatic antioxidant in Menière's syndrome. [Il ruolo dei radicali liberi e degli antiossidanti plasmatici nella sindrome di Menière.] *Int Tinnitus J.* 2003; 9(2): 104-108.
24. Iorio EL. d-ROMs test e stress ossidativo. Diacron International, prima ed. 2003; pp62.
25. Earle L. Piccola guida agli antiossidanti. I nutrienti per combattere i radicali liberi e mantenere giovani le cellule. *L'altra Medicina/204*; ed. red. 2000.
26. Ridker PM; Brown NJ; Vaughan DE; Harrison DG; Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. [Definizione di biomarkers plasmatici per la valutazione degli eventi aterotrombotici.] *Circulation.* 2004; 109s(4): 6-19.