

Tavola rotonda

Radicali liberi, stress ossidativo e salute

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 8 settembre 2004

Donatella Pietraforte¹ ed Elisabetta Straface²

¹Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, ISS

²Dipartimento del Farmaco, ISS

Riassunto - Nella tavola rotonda si è discusso del coinvolgimento dei radicali liberi sulla salute umana e sul comportamento animale. Le relazioni presentate comprendevano studi effettuati sui meccanismi molecolari e cellulari coinvolti nel danno e nella riparazione al DNA, e sul ruolo dei radicali liberi in alcune patologie umane, quali l'aterosclerosi, l'immunodeficienza e i tumori. Inoltre, si è discusso del ruolo di alcuni antiossidanti presenti nella dieta mediterranea nella prevenzione del danno ossidativo. Una sessione è stata dedicata alla relazione tra stress ossidativo e comportamento animale.

Parole chiave: danno ossidativo, radicali liberi, antiossidanti

Summary (Round table. Free radicals, oxidative stress and health. Istituto Superiore di Sanità. Rome, September 8, 2004) - In the round table on oxidative stress, the involvement of free radicals on human health and animal behaviour was discussed. Data were presented on the cellular and molecular mechanisms involved in the DNA damage and repair, and on the role of free radicals in human pathologies, such as atherosclerosis, immunodeficiency and cancer. Moreover, the role of some antioxidants present in the Mediterranean diet in the prevention of oxidative damage was discussed. A session was dedicated to the relationship between oxidative stress and animal behaviour.

Key words: oxidative damage, free radicals, antioxidants

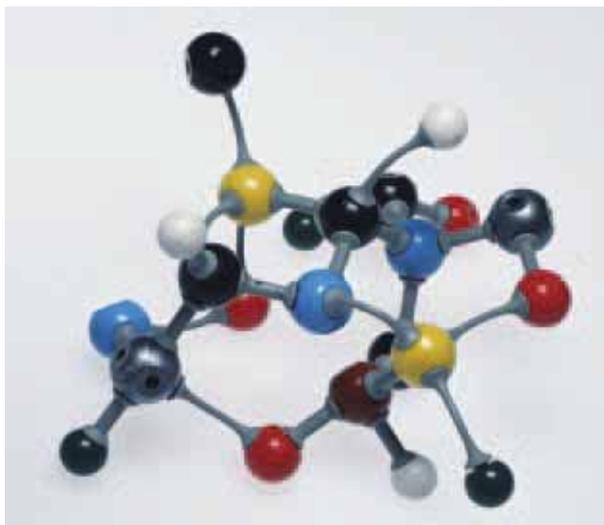
pietra@iss.it straf@iss.it

Tenendo presente la molteplicità e la vastità degli argomenti trattati, la tavola rotonda è stata suddivisa in quattro sessioni dedicate a uno studio approfondito dei meccanismi molecolari e cellulari coinvolti nel danno ossidativo e nella riparazione al DNA, al ruolo dei radicali liberi in patologie degenerative, alla modulazione del danno da parte di antiossidanti presenti nella dieta mediterranea e al comportamento animale.

DNA E STRESS OSSIDATIVO

Questa sessione della tavola rotonda è stata organizzata allo scopo di approfondire i meccanismi molecolari e cellulari coinvolti nel danno ossidativo e

nella riparazione al DNA in relazione al processo di cancerogenesi. In particolare, si è discusso degli effetti dell'interazione tra radicali dell'ossigeno (O_2^- , H_2O_2 , OH^{\cdot}) e DNA, del tipo di lesione (basi ossidate, rotture a singolo e doppio filamento, ecc.) e del meccanismo di riparazione del danno. Indipendentemente dal tipo di sorgente le specie reattive dell'ossigeno (ROS) possono modificare il DNA. La modificazione della guanina, 8-idrossiguanina, è la principale lesione mutagenica indotta da ROS e diversi meccanismi di riparazione assicurano che venga efficientemente riparata. Il principale meccanismo prevede l'escissione della base modificata e sintesi riparativa al sito di danno (*base excision repair*) ma altri meccanismi



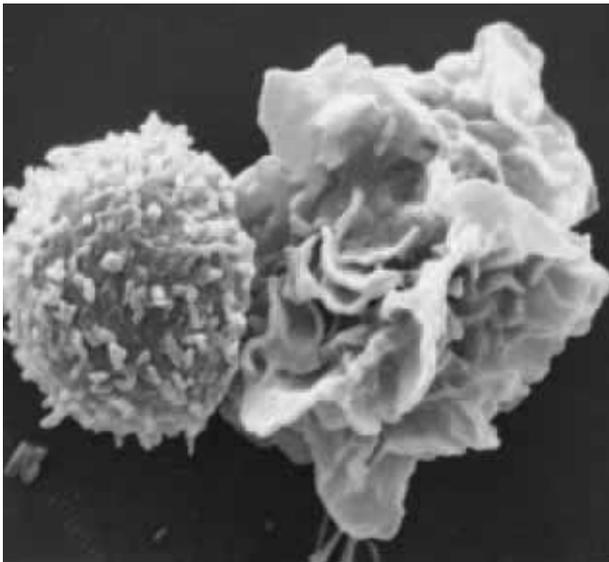
quali il nucleotide *excision repair* e il *mismatch repair* intervengono quando la lesione è presente in geni attivi trascrizionalmente o alla replicazione, rispettivamente. L'uso di modelli murini difettivi nei geni della riparazione del DNA ha permesso di stabilire il ruolo dei diversi meccanismi di riparazione nella protezione del genoma dagli effetti mutageni e cancerogeni del danno ossidativo. Nel caso delle doppie rotture provocate da radicali indotti da radiazioni ionizzanti, una delle risposte cellulari più precoci all'induzione di una doppia rottura sembra essere la fosforilazione della serina 139 dell'istone H2AX. La presenza di foci di fosforilazione, ognuno corrispondente a una doppia rottura, può essere messa in evidenza mediante l'impiego in microscopia a fluorescenza, di anticorpi per l'istone H2AX fosforilato (gamma-H2AX). Questa tecnica risulta molto sensibile ed è in grado di rilevare la presenza di doppie rotture dopo trattamento con dosi estremamente basse di radiazioni o di altri agenti genotossici.

RILEVANZA DELLE ALTERAZIONI REDOX IN PATOLOGIA UMANA

Un'alterazione del bilancio redox a favore degli agenti proossidanti (Tabella) contribuisce in maniera rilevante alla patogenesi di numerose malattie cronicodegenerative. È stato, ad esempio, illustrato il ruolo patogenetico svolto dalle alterazioni redox nel danno cardiovascolare. In particolare, riguardo alle malattie associate all'invecchiamento quali l'aterosclerosi e il diabete, le lipoproteine a bassa densità (LDL) rivestono particolare importanza per la loro aterogenicità dovuta all'attacco dei radicali liberi e pertanto alla loro lipoperossidazione (ox-LDL). In questa sessione della tavola rotonda si è discusso delle ox-LDL come fattori in grado di modulare le funzioni immunitarie sia a livello umorale (inibizione della risposta anticorpale) sia cellulo-mediata (risposta proliferativa, citotossicità NK-mediata, produzione di citochine) e del loro coinvolgimento nel danno endoteliale con particolare attenzione ai recettori che mediano fenomeni pre-infiammatori. Inoltre, sono stati presentati dati relativi all'effetto di antiossidanti quali l'N-acetilcisteina (NAC) e la vitamina E. In particolare, sono stati riportati studi sull'impiego della vitamina E come neuroprotettore nella sperimentazione *in vivo* su animali e soprattutto su pazienti trattati con farmaci antitumorali come il cisplatino. È stato infatti ipotizzato un impiego di antiossidanti, in particolare, la vitamina E, per contrastare alcuni effetti collaterali associati alla chemioterapia, al fine di migliorare la qualità della vita dei pazienti. Inoltre, si è discusso del ruolo della proteina virale Nef e della sua attività redox come regolatore dell'attività immunitaria delle cellule fagocitarie nella patogenesi dell'AIDS e dell'attività che questa proteina svolge nel mantenimento dell'omeostasi cellulare.

Tabella - Principali radicali liberi, specie reattive e precursori coinvolti nello stress ossidativo

Specie	Origine
$O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $\cdot OH$, 1O_2	Metabolismo dell' O_2 . Potenziato da iperossia, infiammazione e radiazioni
$\cdot NO$, NO^+ , NO^- , $ONOO^-$, $ONOOCO_2^-$	Sintetasi dell'ossido nitrico
$\cdot NO_2$, N_2O_3 , N_2O_4 , HNO_2 , NO_2^+	
$\cdot NO_2$, O_3	Inquinamento fotochimico dell'aria
Perossidi lipidici	Prodotti secondari della propagazione dei radicali o metabolismo dei prostanoidi
Ipoclorito	Infiammazione
Semichinoni	Trasporto di elettroni mitocondriale
Metalli di transizione	Emoproteine, metalloproteine, metalli liberi o complessati
Idrocarburi aromatici	Ambiente



ANTIOSSIDANTI DELLA DIETA NELLA PREVENZIONE DELLE PATOLOGIE DEGENERATIVE

Nonostante esistano dati epidemiologici molto forti a supporto dell'effetto della dieta sulle patologie degenerative, studi biochimici non sono riusciti a stabilire con certezza il motivo dell'efficacia del consumo di antiossidanti naturali tanto che per alcuni di essi si è addirittura ipotizzata la capacità pro-ossidante. Ad esempio, il carotenoide licopene, contenuto essenzialmente nei pomodori, sembra rappresentare un fattore di rischio per il tumore della prostata mentre altri composti sembrano esserlo per diversi tumori del tratto digerente. Effetti analoghi sono stati osservati anche per il beta-carotene, molecola capace anche di promuovere danno cardiovascolare nei fumatori. Per capire i motivi di queste incertezze bisogna considerare che negli alimenti esistono migliaia di molecole con differente attività antiossidante e diversa biodisponibilità dovuta probabilmente a processi di trasformazione a livello gastrico per cui non si conosce né la concentrazione reale né la molecola realmente attiva. Infine, oltre a interagire l'uno con l'altro, molti antiossidanti mostrano attività biologica propria e sono in grado di modulare alcuni geni e segnali che portano alla sopravvivenza o apoptosi della cellula, o agiscono come agenti chemopreventivi o, paradossalmente, come *chemical stressors*.

COMPORAMENTO E STRESS OSSIDATIVO

L'attivazione di geni correlati con lo stress ossidativo riveste un ruolo importante nella risposta cellulare alla produzione dei radicali liberi. Alcuni studi sono stati condotti in topi transgenici mancanti della proteina p66 (p66shc *-/-*), che vivono il 30% più dei corrispettivi animali *wild type* e sono più resistenti

allo stress ossidativo. Recentissimi studi sembrano indicare che: a) i radicali dell'ossigeno interagiscono con l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, il maggior sensore dello stress nei vertebrati superiori; b) esiste una relazione tra attivazione genica, infiammazione e stress ossidativo, che mette in evidenza modifiche comportamentali e neurochimiche in un modello animale con patologia neurodegenerativa. Inoltre, in ratti neonati, è stata indotta una selettiva ipofunzionalità colinergica del prosencefalo basale che ha portato, allo stadio adulto, all'insorgenza di deficit cognitivi ed elettrofisiologici simili a quelli riscontrati nella sindrome di Alzheimer. In questo modello sperimentale si è osservata un'alterata espressione di proteine correlate con lo stress ossidativo, quali le preniline cerebrali (1 e 2) e l'RNA messaggero della Cicloossigenasi 2 dell'ippocampo. Questi modelli animali di topi p66shc *-/-* e di selettiva ipofunzionalità colinergica neonatale possono fornire importanti indicazioni neurochimiche sul ruolo dello stress ossidativo nel comportamento.

CONCLUSIONI

Nonostante la diversità degli argomenti trattati nella tavola rotonda, è stato sottolineato il ruolo importante svolto dai radicali liberi sulla salute umana offrendo un'ampia panoramica sui meccanismi, sulle risposte cellulari e sistemiche. Sono state altresì discusse le potenzialità degli antiossidanti della dieta nel modulare gli effetti del danno radicalico.

Gli argomenti trattati in questa tavola rotonda verranno pubblicati in forma estesa nella serie *Rapporti ISTISAN*, dell'Istituto Superiore di Sanità e disponibili *online* all'indirizzo www.iss.it

