

La Scuola Se
A cura di Franco Frabboni

Rinaldo Cervellati

Nuovi argomenti di Chimica per l'insegnamento

Radicali liberi, antiossidanti
e reazioni chimiche oscillanti



FrancoAngeli/Scaffale CIRE

La Scuola Se

Collana di cultura pedagogica e di progettazione didattica
diretta da *Franco Frabboni*

La collana **La Scuola Se** diversifica la propria offerta di *cultura pedagogica* e di *progettazione didattica* in tre Sezioni tematiche: *Scuola aperta*, *Fare scuola* e *Scaffale CIRE* (Centro Interdipartimentale di Ricerche Educative dell'Università di Bologna).

Prima sezione: Scuola aperta. Essa raccoglie contributi teorici e progettuali che pongono al centro l'interconnessione/integrazione del sistema di istruzione sia con le agenzie formative extrascolastiche (famiglia, enti locali, privato sociale, mondo del lavoro, associazionismo, chiese), sia con il territorio ambientale, inteso come ambito sia dei beni culturali e artistici della città, sia dei beni paesaggistici del mondo naturale.

Questo primo itinerario editoriale della **Scuola Se** è rivolto agli studenti degli indirizzi *Educatori professionali* ed *Esperti dei processi formativi* delle Facoltà di Scienze della formazione, di Scienze della comunicazione e di Scienze motorie. E ovviamente al mondo degli operatori culturali di territorio.

Seconda sezione: Fare scuola. Essa offre contributi teorici e progettuali per la formazione iniziale e in servizio degli insegnanti di ogni ordine e grado.

Questo secondo itinerario editoriale della **Scuola Se** rivolge particolare attenzione alle competenze professionali dei docenti della Scuola di base (dell'infanzia, primaria e secondaria di primo grado) e della Scuola secondaria di secondo grado: il postobbligo.

Terza sezione: Scaffale CIRE. La sezione – l'ultima nata – raccoglie contributi teorici e progettuali intesi a documentare la fertile attività investigativa e progettuale del Centro Interdipartimentale di Ricerche Educative dell'Università di Bologna rivolta alla qualità dei processi di insegnamento/apprendimento in ambito scolastico e universitario.

Questo terzo itinerario editoriale della **Scuola Se** riceve contributi di alta qualità scientifica redatti da docenti studiosi di **Didattica generale** e di **Didattica disciplinare**.

La Didattica generale ha il compito di ottimizzare sia la *qualità dell'insegnamento* (tramite l'offerta di flessibili modelli organizzativi e curricolari), sia la *qualità dell'apprendimento* (tramite l'offerta di saperi individualizzati sugli stili cognitivi degli allievi). Il tutto attraverso rigorose *pratiche docimologiche* di valutazione diagnostica, formativa e sommativa.

La Didattica disciplinare - dell'Italiano, delle Lingue straniere, della Storia, della Geografia, della Filosofia, della Musica, della Matematica, della Fisica, della Chimica, delle Scienze naturali ecc. - ha il compito di ottimizzare la *morfologia* delle materie scolastiche e accademiche intervenendo sui contenuti, mettendo in rilievo i rispettivi paradigmi interpretativi e metodologie della ricerca. Soprattutto nella direzione di individuare nessi interdisciplinari mirati alla *trasversalità cognitiva*.

Rinaldo Cervellati

Nuovi argomenti di Chimica per l'insegnamento

Radicali liberi, antiossidanti
e reazioni chimiche oscillanti

FrancoAngeli/scaffale CIRE

Il presente volume è stato pubblicato con il contributo del CIRE – Centro Interdipartimentale di Ricerche Educative, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna.

Il CIRE promuove e coordina studi e ricerche sia nel campo della formazione dei docenti e degli operatori nei diversi settori dell'educazione, sia in quello della sperimentazione di innovazioni didattiche.

Il Centro, nato nel 1985, rappresenta un punto di riferimento per le ricerche in didattica generale e nelle didattiche disciplinari dell'Università di Bologna. La sua azione si esplica sia coordinando iniziative riguardanti la formazione iniziale e continua dei docenti che coinvolgono organismi dell'Università di Bologna, sia progettando e realizzando ricerche in proprio e in collaborazione con altri Atenei.

Il Centro svolge inoltre attività di consulenza e di ricerca su contratto o convenzione con Enti esterni pubblici e privati.

Il CIRE ha svolto un ruolo rilevante nelle proposte di formazione iniziale degli insegnanti a livello locale e nazionale. Infatti ha elaborato un progetto di fattibilità di Scuola di Specializzazione all'Insegnamento Secondario che ha avuto un ruolo propulsivo e di riferimento per le SSIS di tutte le università italiane. Ha contribuito inoltre alla elaborazione di un progetto per la formazione iniziale universitaria degli insegnanti della scuola dell'infanzia e della scuola elementare che ha costituito la premessa per l'istituzione di un Corso di laurea in Scienze della formazione primaria.

Copyright © 2010 by FrancoAngeli s.r.l., Milano, Italy.

L'opera, comprese tutte le sue parti, è tutelata dalla legge sul diritto d'autore. L'Utente nel momento in cui effettua il download dell'opera accetta tutte le condizioni della licenza d'uso dell'opera previste e comunicate sul sito www.francoangeli.it.

Indice

Introduzione	Pag.	9
1. Radicali liberi e antiossidanti	»	13
1.1 Radicali liberi	»	13
1.1.1 Danni causati dallo stress ossidativo	»	16
1.1.2 Patologie di cui lo stress ossidativo è considerato concausa	»	17
1.2 Antiossidanti	»	18
1.2.1 I polifenoli	»	20
1.2.2 Azione dei polifenoli sui radicali liberi	»	23
1.2.3 Come prevenire lo stress ossidativo	»	24
2. Le reazioni chimiche oscillanti	»	25
2.1 La reazione oscillante di Belousov-Zhabotinsky	»	27
2.1.1 Interpretazione cinetico molecolare della reazione BZ	»	30
2.2 La reazione oscillante di Briggs-Rauscher	»	37
2.2.1 Interpretazione delle oscillazioni nella reazione BR	»	39
2.2.2 Il meccanismo della reazione di Briggs-Rauscher	»	41
3. Metodi per determinare l'attività antiossidante e il contenuto totale di fenoli	»	45
3.1 La reazione di Briggs-Rauscher come test per la misura dell'attività antiossidante (metodo BR)	»	46
3.1.1 Procedimento e calcolo dell'attività antiossidante	»	47
3.2 Breve descrizione del metodo TEAC	»	51
3.2.1 Procedimento e calcolo del TEAC	»	53

3.3 Determinazione del contenuto totale di fenoli	Pag.	55
3.3.1 Procedimento e calcolo del GAE	»	56
3.4 Interpretazione meccanicistica degli effetti inibitori sulle oscillazioni della reazione BR da parte di antiossidanti polifenolici	»	58
3.4.1 Le misure sperimentali	»	58
3.4.2 Il meccanismo cinetico e i risultati dei calcoli	»	59
4. Esperimenti didattici sulle reazioni oscillanti	»	62
4.1 Esperimenti didattici sulla reazione di Belousov-Zhabotinsky catalizzata dagli ioni Ce^{4+}	»	62
4.2 Esperimenti didattici sulla reazione di Belousov-Zhabotinsky catalizzata dalla ferroina	»	63
4.3 Esperimenti didattici sulla reazione di Briggs-Rauscher	»	64
5. Attività antiossidante di infusi di tè	»	69
5.1 Attività antiossidante di tè verdi e neri usati in erboristeria	»	69
5.1.1 I principali tipi di tè e la loro composizione	»	70
5.1.2 Attività antiossidante dei principi attivi contenuti nei tè	»	74
5.1.3 Parte sperimentale	»	76
5.1.4 Conclusioni	»	80
5.2 Semplificazione ad uso didattico	»	82
5.2.1 Parte sperimentale	»	83
5.3 Esperimenti didattici su bevande	»	86
5.3.1 Parte sperimentale	»	90
5.3.2 Risultati e discussione	»	91
6. Una ricerca sui succhi di arancia rossa	»	96
6.1 Le varietà di arance rosse e i succhi	»	96
6.1.1 La pigmentazione di arance rosse	»	97
6.2 Prove preliminari su succhi LC	»	98
6.3 Attività antiossidante di una serie di succhi commerciali LC e REF con il metodo BR	»	100
6.4 Determinazione del pH, della vitamina C e del colore	»	108
6.5 Determinazione degli antociani totali e della cianidina-3-O- β -glucoside	»	111
6.6 Determinazione dell'attività antiossidante relativa con metodi diversi da quello BR	»	114

6.7 Conclusioni	Pag.	116
6.8 Semplificazione a uso didattico	»	117
7. Attività antiossidante della cioccolata amara	»	118
7.1 Dai semi di cacao alla tavoletta di cioccolata	»	119
7.2 I principali biofenoli contenuti nel cacao	»	121
7.3 Campioni e composizione	»	121
7.4 Estrazione delle sostanze bioattive dai campioni	»	122
7.5 Determinazione dell'attività antiossidante	»	123
7.6 Determinazione del contenuto totale di fenoli (potere riducente totale)	»	125
7.7 Risultati e discussione	»	126
7.8 Semplificazione a uso didattico	»	130
8. Integratori	»	131
8.1 Vitamina C e vitamina E: meccanismi d'azione e fonti naturali	»	133
8.2 Corteccia di pino: il picnogenolo	»	138
8.3 Il ruolo degli ω -3 come antiossidanti	»	139
8.4 Campioni e composizione	»	140
8.5 Determinazione dell'attività antiossidante e del potere riducente totale	»	141
8.6 Risultati e discussione	»	142
8.7 Osservazioni conclusive	»	145
8.8 Semplificazione a uso didattico	»	146
9. Proprietà antiossidanti del Papavero Rosso (<i>Papaver rhoeas</i> L.)	»	147
9.1 Il papavero rosso e i suoi usi nella medicina (e nella gastronomia) popolare	»	148
9.2 Procedimenti sperimentali	»	148
9.2.1 Attività antiossidante e contenuto totale di fenoli	»	149
9.3 Proprietà farmacologiche	»	152
9.4 Alcune considerazioni finali	»	153
9.5 Semplificazione a uso didattico	»	154
10. Note storiche	»	155
Bibliografia	»	161

Avvertenza

Nel volume viene usato il punto decimale invece della virgola come negli articoli scientifici e nei testi a livello internazionale.

Introduzione

La necessità di fornire ai docenti delle scuole medie e superiori alcuni fondamenti di scienze dell'educazione che consentano loro di rinnovare e razionalizzare la pratica didattica non deve far perdere di vista l'importanza dell'**aggiornamento dei contenuti disciplinari**. In effetti, da parte di moltissimi insegnanti è sentita l'esigenza di aggiornamento dei contenuti poiché vi è la consapevolezza che il rinnovamento di questi, unitamente a quello delle tecniche e delle metodologie didattiche, sono condizioni entrambe necessarie per realizzare un insegnamento che stimoli e dia motivazioni alla volontà e all'intelligenza degli allievi.

L'aggiornamento dei contenuti è finalizzato infatti a inserire nei curricoli sia argomenti "nuovi", scientificamente studiati e sistematizzati, sia, particolarmente negli anni terminali della secondaria superiore, tematiche di attualità oggetto di ricerca sperimentale e riflessione teorica. Questi argomenti non dovrebbero tuttavia appesantire i "programmi" già vasti, ma sostituire contenuti ormai obsoleti oppure costituire materia per rapporti o tesine al termine del percorso di studio.

Per raggiungere questo obiettivo è comunque necessario, soprattutto nelle scienze fisiche e naturali (fisica, chimica, scienze della Vita, scienze della Terra), dotare tutti i tipi di scuola di adeguati spazi e risorse per attività laboratoriali poiché l'attività pratica, in laboratorio o sul campo, fa la differenza fra la ricerca nelle scienze della natura e quella nelle discipline umanistiche. A tale proposito è importante ricordare che, già nel 1928, cioè nel momento in cui la scuola secondaria superiore italiana aveva completato l'assetto previsto dalla "riforma Gentile", R. Olivieri, consulente del ministero, scriveva: «...la quale [chimica] è scienza sperimentale e non si insegna proficuamente se non col sussidio dell'esperienza», e più avanti ribadiva: «...perché, ripeto, la chimica o si insegna sperimentalmente o non si insegna» (Olivieri, 1928).

Pur nella consapevolezza che le indicazioni dell'Olivieri sono state ampiamente disattese dallo stesso Giovanni Gentile e da tutti gli altri ministri che ne hanno raccolto l'eredità a tutt'oggi, chi scrive ritiene che l'ottimismo della volontà di gran parte dei docenti di discipline scientifiche sia in grado di superare il pessimismo della ragione che imporrebbe l'attuale condizione in cui versano gli insegnamenti delle scienze fisiche e naturali nei nostri licei e istituti secondari superiori.

Verrà ora illustrata con qualche dettaglio l'articolazione di questo Quaderno.

Come riportato nel titolo, ci occuperemo anzitutto dei concetti teorici su cui si fonda la chimica dei radicali liberi e degli antiossidanti, e delle reazioni classificate come oscillanti. Si tratta di argomenti di grande attualità, vediamo perché.

Attualmente le parole radicali liberi e antiossidanti sono conosciute dal grande pubblico attraverso i numerosi spot pubblicitari che compaiono quotidianamente sui mezzi di informazione. Anche se la maggior parte delle persone non sa cosa sono i radicali liberi, essi vengono comunque percepiti come entità infide da cui bisogna ben guardarsi perché responsabili di molti misfatti quali la comparsa di rughe e macchie sulla pelle, la caduta dei capelli, i prematuri segni di invecchiamento, etc. Gli antiossidanti sono invece percepiti come entità benefiche, prodotti quasi miracolosi che evitano i danni prodotti dai radicali (Pedulli, 1995).

Si cercherà allora di spiegare cosa sono i radicali liberi, come si formano e quale ruolo rivestono nel nostro organismo, la loro chimica e quindi quali i danni che un loro eccesso può provocare, nonché l'azione che certe sostanze, dette antiossidanti, rivestono nel limitarne la produzione quando necessario.

Le reazioni chimiche denominate oscillanti sono l'esempio forse più immediato e spettacolare di un fenomeno "complesso". Anche il tema della complessità è un argomento molto attuale: quasi tutti conoscono la metafora di Lorenz per cui il battito d'ali di una farfalla in Brasile può provocare un tornado nel Texas. I fenomeni complessi si ritrovano in tutti i campi del sapere: dalle scienze, alla meteorologia, all'economia fino alla psicologia e alla sociologia. La caratteristica dei fenomeni (o meglio dei sistemi) complessi è che, in generale, quando le loro parti interagiscono, lo fanno in modo tale che il comportamento di ciascuna dipende da quello delle altre, facendo emergere proprietà di insieme che, oltre a non essere riconducibili a una somma delle proprietà delle parti, sono del tutto nuove rispetto a quelle che avrebbe una semplice mescolanza delle parti stesse. Un esempio molto calzante è il seguente: quando una serie di amminoacidi

si “associano” per formare un peptide, le proprietà chimico fisiche di quest’ultimo sono completamente diverse da quelle di ogni singolo amminoacido o di un miscuglio di questi (Del Re, 1994).

Vale la pena tener presente che la complessità, coinvolgendo i fondamenti di tutte le discipline, possiede rilevanti implicazioni epistemologiche, che hanno dato lo spunto per dibattiti culturali anche molto accesi.¹

A questo punto il lettore si chiederà quale rapporto ci sia tra radicali liberi, antiossidanti e reazioni oscillanti. Ebbene, è abbastanza ovvio pensare che siano stati messi a punto metodi analitici per valutare l’efficacia degli antiossidanti nel contrastare i (o meglio l’eccesso dei) radicali liberi. Uno di questi metodi, messo a punto da chi scrive e collaboratori insieme a ricercatori americani e tedeschi, utilizza proprio una reazione oscillante (Cervellati et al, 2001).

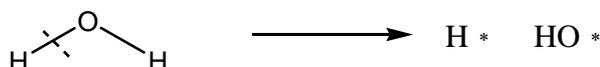
Nella seconda parte del Quaderno sono illustrate ricerche scientifiche e esperimenti pratici, effettuabili anche in un laboratorio scolastico poco attrezzato, sia come dimostrazione di alcune reazioni oscillanti sia per valutare l’attività antiossidante relativa di alcuni prodotti di uso comune largamente pubblicizzati: tè, succhi di frutta, infusi di piante e altri. Molti di questi esperimenti sono stati eseguiti da studenti di scuole secondarie superiori e dell’università.

¹ Ad esempio nel nostro Paese, un lungo dibattito su tale questione ha visto come principali protagonisti il fisico Carlo Bernardini e il chimico fisico Enzo Tiezzi che si sono scontrati sulle pagine dedicate alla scienza dei principali quotidiani. A questo dibattito hanno poi partecipato altri scienziati italiani nonché il premio Nobel per la chimica Ilya Prigogine (AA.VV. *Api o architetti-Quale universo. Quale ecologia*, Editrice l’Unità, Roma, 1990).

1. Radicali liberi e antiossidanti

1.1 Radicali liberi

La definizione più semplice e più generale del termine **radicale libero** è la seguente: è un radicale libero qualsiasi specie chimica che possiede uno o più elettroni spaiati. In tal senso sono radicali liberi tutte le specie atomiche: H, Br, Cl, etc. Un radicale libero molto noto e pericoloso per l'organismo è il radicale ossidrile HO• che si forma, fra l'altro, per rottura omolitica di un legame O-H dell'acqua come segue:



Ora, le due specie prodotte restano con un elettrone spaiato e sono quindi radicali liberi. Tuttavia, le specie con un elettrone spaiato cercano quasi sempre di riformare una coppia elettronica sottraendo un elettrone a qualsiasi molecola incontrino sul loro cammino. Si dice anche che i radicali liberi cercano di reagire con qualsiasi molecola che incontrano, cioè che mostrano una **reattività** molto accentuata.

Accanto ai radicali liberi, anche molecole neutre, come ad esempio il perossido di idrogeno H₂O₂ (acqua ossigenata) sono specie molto reattive, e poiché la reattività è centrata sull'ossigeno si parla più propriamente di specie reattive all'ossigeno (ROS = reactive oxygen species). Altri radicali e molecole potenzialmente dannose per l'organismo hanno la reattività centrata sull'azoto (RNS).

Le specie reattive all'ossigeno (ROS) e all'azoto (RNS) sono normalmente prodotte in ogni cellula dell'organismo umano, come risultato

della riduzione dell'ossigeno ad acqua a livello della catena respiratoria mitocondriale.

Lo squilibrio tra la produzione di ROS e RNS e la capacità antiossidante cellulare porta all'alterazione dell'omeostasi redox della cellula nota come **stress ossidativo**.

Esso contribuisce all'insorgenza di un vasto numero di condizioni patologiche, risultanti dai danni provocati dall'ossidazione delle proteine, del DNA e della perossidazione lipidica.

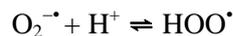
Fattori ambientali e nutrizionali, come radiazioni (raggi X, raggi γ , UV), inquinanti atmosferici (ozono, N_2O_2 , NO_2 , fumo di sigaretta), una dieta povera di frutta e verdura, di acidi grassi poliinsaturi e vitamine antiossidanti, possono incrementare l'attività dei sistemi generanti i ROS, inducendo lo stress ossidativo.

Un radicale prodotto in grande quantità è l'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$), che promuove l'iniziale formazione di altre specie radicaliche. Infatti esso reagisce con il perossido di idrogeno (H_2O_2) formando il pericoloso radicale ossidrilico (HO^{\cdot}).

In base alla reattività i radicali liberi si possono suddividere in:

- radicali molto reattivi, come l'ossidrilico HO^{\cdot} e gli alcossili RO^{\cdot} , che possono attaccare tutte le molecole biologiche;
- radicali moderatamente reattivi, quali l'anione superossido $O_2^{\cdot-}$, l'idroperossile HOO^{\cdot} e i perossili ROO^{\cdot} che, invece, possono reagire solo con poche molecole biologiche (lipidi poliinsaturi), ma capaci di originare perossidi e idroperossidi che sono i precursori sia dell'ossidrilico, sia degli alcossili estremamente reattivi.

Il radicale anione superossido origina radicali idroperossili secondo la seguente reazione:



A pH fisiologico questo equilibrio è fortemente spostato verso sinistra. $O_2^{\cdot-}$ agisce anche da vasodilatatore e può avere un ruolo nei segnali intracellulari e nella regolazione della crescita. Tuttavia anche altri radicali possono essere potenzialmente dannosi per gli organismi: in particolare i radicali centrati sul carbonio, che reagiscono istantaneamente con l'ossigeno per formare i radicali perossili e i tiili (che sono comunque poco reattivi e soprattutto presenti in quantità molto modeste).

Esistono due metodi che conducono alla formazione di radicali liberi:

- rottura omolitica di un legame;
- trasferimento di un singolo elettrone da una specie ad un'altra.

La rottura omolitica di un legame può avvenire per effetto dell'assorbimento di energia sotto forma di una radiazione elettromagnetica o di calore.

Il trasferimento monoelettronico porta alla formazione di un radicale catione e di un radicale anione, caratterizzati dall'aver, oltre che un elettrone spaiato, anche una carica elettrica.

In chimica si conoscono moltissimi modi per fare avvenire o l'una o l'altra di queste due reazioni mentre in biologia se ne conoscono meno e i più importanti tra questi sono:

- radiazioni ad alta energia (come i raggi cosmici, i raggi γ , X e UV);
- la reazione di Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^\bullet + \text{HO}^-$);
- la riduzione dell'ossigeno molecolare a radicale superossido.

Di per sé il radicale superossido non è molto reattivo, ma, come è stato precedentemente detto, la sua pericolosità risiede nel fatto che a pH fisiologico esso è in equilibrio con il radicale idroperossile il quale è più reattivo ed è in grado di convertirsi in acqua ossigenata attraverso una reazione di estrazione di idrogeno. È importante tenere presente che fino a quando si vivrà in condizioni di bassa radioattività rimarranno pericolosi per gli organismi viventi solo i radicali ossidrilici ed alcossilici i quali si originano dalla reazione tra perossidi (acqua ossigenata e perossidi organici) e ioni metallici, cioè la reazione di Fenton (Pedulli, 1995).

In figura 1 sono mostrati i danni prodotti in una cellula umana sotto attacco da un eccesso di radicali liberi.

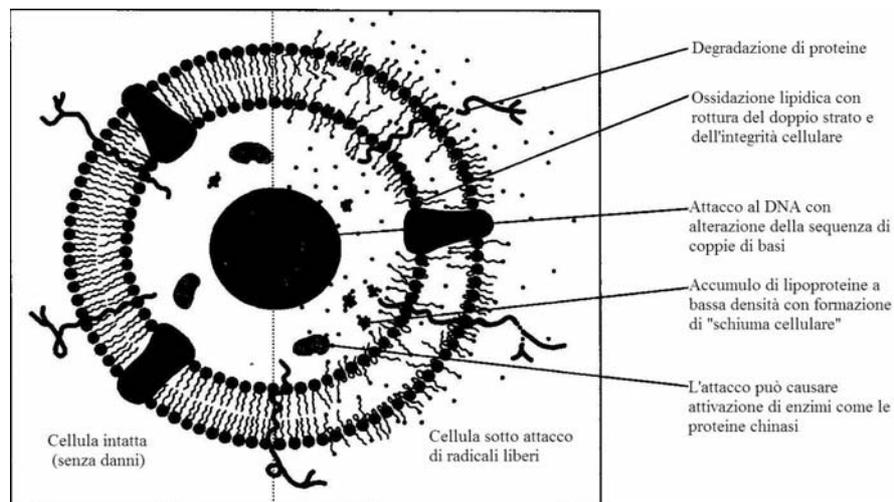


Fig.1 A sinistra è mostrata una cellula integra, a destra la stessa sotto attacco di radicali liberi.

Questi danni verranno ora discussi in dettaglio.

1.1.1 Danni causati dallo stress ossidativo

I ROS differiscono tra loro per reattività, emivita e diffusibilità e queste caratteristiche determinano la modalità con la quale essi reagiscono con le componenti cellulari.

Danni ai lipidi

I radicali liberi agiscono da iniziatori del processo di perossidazione lipidica. Essi, infatti, sono molto reattivi a causa del loro elettrone spaiato e riescono a strappare un idrogeno ad un acido grasso polinsaturo. Il sito dell'attacco radicalico è un metile adiacente a due doppi legami, in quanto il radicale dell'acido grasso che si forma è stabilizzato dalla struttura di risonanza, che presenta un doppio legame coniugato in seguito allo spostamento di un doppio legame e dell'elettrone di derivazione omolitica. Successivamente, la struttura a dieni coniugati, per interazione con l'ossigeno, dà origine ad un radicale perossidico dell'acido grasso. Quest'ultimo, reagendo con un acido grasso insaturo adiacente, si riduce a idroperossido e trasforma l'acido grasso in radicale, propagando così la perossidazione. L'idroperossido dell'acido grasso va incontro a ciclizzazione interna e attraverso successive reazioni di scissione può venire degradato a prodotti a più basso peso molecolare, che possiedono una elevata reattività chimica.

Danni al DNA

Tra i ROS, l'anione superossido e il perossido di idrogeno sono meno reattivi verso il DNA, invece il radicale ossidrilico è il maggior responsabile dei danni alla doppia elica. Il meccanismo più frequente di danno al DNA da parte dei ROS consiste nell'ossidazione delle basi. In particolare il doppio legame tra i carboni cinque e sei della pirimidina è facilmente ossidabile da OH^\bullet generando timina glicole, uracile glicole, 5-idrossi-dU e 5-idrossi-dC. Se, invece, OH^\bullet ossida le basi puriniche, si ottengono 8-idrossi-dG e 8-idrossi-dA.

Gli effetti di questi prodotti dell'ossidazione sono molto gravi: timina glicole blocca la replicazione del DNA e questo è potenzialmente letale per la cellula, 8-idrossi-dG viene saltata dalla DNA polimerasi dando origine a mutazioni (Yoke, 1998).

Inoltre, in seguito alla rottura dell'elica del DNA si ha attivazione dell'enzima poli ADP-ribosio polimerasi, che consuma l'ADP cellulare e di conseguenza anche i livelli di ATP scendono notevolmente. In mancanza di ATP, viene compromessa l'attività di tutti gli enzimi ATP-dipendenti tra cui la Na⁺, K⁺-ATPasi e la Ca²⁺-ATPasi e questo porta, infine, alla morte della cellula (Gee Peter et al, 1998).

Danni alle proteine

Nelle proteine, il gruppo tiolico è il sito di attacco preferito dei ROS. Spesso, però, il sito catalitico degli enzimi contiene gruppi SH e, se essi vengono ossidati, si perde l'attività enzimatica. In particolare, l'inibizione dell'attività catalitica delle proteine di trasporto del calcio della membrana plasmatica e del reticolo endoplasmatico porta alla perdita della capacità di pompare fuori il calcio dalla cellula o di immagazzinarlo nei compartimenti intracellulari. L'aumento della concentrazione del calcio citoplasmatico attiva diversi enzimi tra i quali la fosfolipasi e le endonucleasi, che frammentano il DNA.

Inoltre, anche un sovraccarico dei sistemi di detossificazione può portare alla morte cellulare. Infatti, se il glutatione disolfuro (GSSG) formatosi per attività della glutatione perossidasi è in quantità troppo elevata, la glutatione riduttasi non riesce a ripristinare adeguatamente glutatione (GSH). L'aumento del glutatione ossidato determina l'inibizione della sintesi proteica e della divisione cellulare. La cellula si protegge dall'alterazione dello stato redox dei gruppi tiolici attraverso il trasporto attivo di GSSG all'esterno di questa. Tale meccanismo porta ad una diminuzione di glutatione e quindi della capacità di disattivare i ROS. In definitiva, il danneggiamento dell'omeostasi del calcio sembra, quindi, essere alla base dell'attività citotossica dei ROS.

1.1.2 Patologie di cui lo stress ossidativo è considerato concausa

Si hanno tantissime evidenze cliniche ed epidemiologiche che correlano lo stress ossidativo a numerose disfunzioni cellulari quali, l'aterosclerosi, l'artrite reumatoide, la cataratta e alcune forme di cancro (Yoke, 1998).

Il meccanismo di formazione delle placche aterosclerotiche a livello della tunica intima delle arterie è molto complesso e comprende anche la formazione di specie radicaliche.

La prima tappa di questo processo consiste in una lesione dell'endotelio del vaso, che, nonostante non sia morfologicamente evidente, provoca l'adesione di monociti e alterazioni della biosintesi delle prostaglandine e dell'NO.

Le cellule endoteliali, inoltre, legano le LDL (Low Density Lipoproteins) e i monociti a esse adese (e le cellule stesse), attivati dalla lesione, producono radicali liberi che ossidano le LDL legate, mediante perossidazione lipidica. Si ha anche distruzione dei recettori proteici necessari per la normale clearance delle LDL, così che le LDL modificate vengono catturate e internalizzate dai macrofagi.

I macrofagi diventano così cellule schiumose e migrano nel sottoendotelio formando bande di grasso, che vengono poi ricoperte da tessuto connettivo fibroso. La placca ateromatosa, successivamente, si può rompere agendo da substrato per lo sviluppo del trombo.

Numerosi studi su modelli animali hanno messo in evidenza come i più comuni fattori di rischio per l'aterosclerosi, quali l'ipertensione, il diabete, l'invecchiamento, il fumo e l'ipercolesterolemia, inducano un incremento della produzione dei ROS da parte delle cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni.

Oltre alle malattie cardiovascolari (che sono la prima causa di morte nei paesi industrializzati), ai tumori e alle altre disfunzioni sopra riportate, si è recentemente ipotizzato che tra le varie cause che possono portare all'insorgenza di patologie neurodegenerative quali il morbo di Parkinson e la malattia di Alzheimer vi sia lo stress ossidativo. Infatti in uno studio (Martins et al, 1999) è stato evidenziato che persone affette dal morbo di Alzheimer hanno un decremento dei livelli di antiossidanti endogeni (vitamina E e melatonina) e un danno al DNA nucleare nella corteccia del cervello due volte maggiore rispetto agli individui normali.

Va comunque sottolineato che mentre vi sono chiare evidenze epidemiologiche sull'incidenza dei radicali liberi nelle malattie cardiovascolari (Jemal et al, 2005), non vi sono prove altrettanto conclusive per quanto riguarda patologie neoplastiche (Scalbert et al, 2005).

1.2 Antiossidanti

Come dice la parola, gli antiossidanti sono sostanze capaci di prevenire l'ossidazione, cioè le reazioni provocate dall'ossigeno (e dai ROS).

Antiossidante è quindi un termine molto generale, che non riguarda solo la prevenzione dall'eccesso di radicali liberi. Un esempio a tutti noto è la

vernice rossa che viene usata sui cancelli di ferro per evitare che si arrugginiscono. La ruggine è infatti il prodotto dell'ossidazione del ferro da parte dell'ossigeno atmosferico in presenza di umidità. La vernice rossa, a base di composti del piombo, evita la corrosione del ferro perché reagisce con l'ossigeno più rapidamente di lui. Un altro esempio molto noto è la zincatura delle grondaie o simili. In questo caso è lo zinco che protegge il ferro dall'ossidazione. Vernice rossa e zinco sono quindi antiossidanti.

Ma qui ci interessano quegli antiossidanti in grado di eliminare i radicali liberi.

Naturalmente, il nostro organismo per poter sopravvivere ha sviluppato dei meccanismi di difesa contro l'eccesso di radicali liberi, soprattutto sotto forma di enzimi, come la superossido dismutasi, la catalasi e la glutazione reduttasi. Questi antiossidanti sono detti **endogeni**, poiché prodotti dall'organismo stesso.

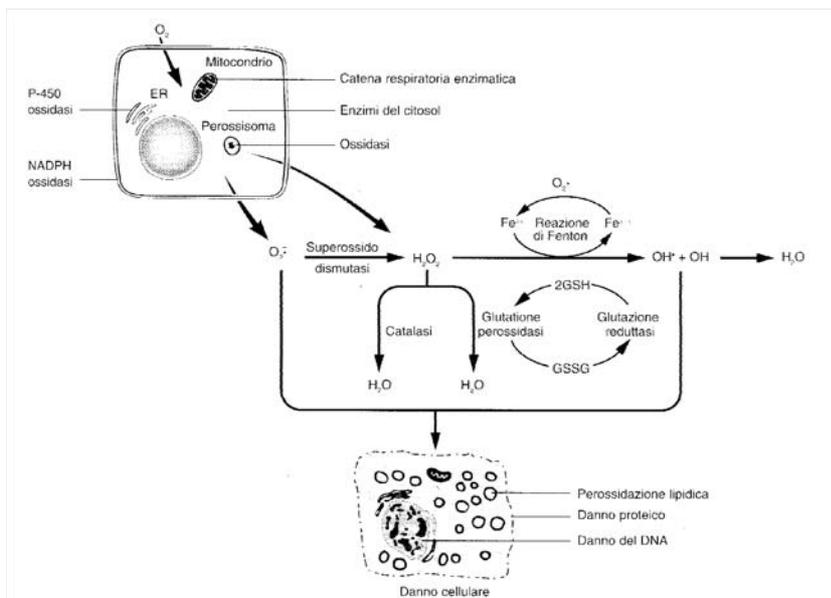


Fig. 2 Meccanismi antiossidanti endogeni nei sistemi biologici e stress ossidativo

Quando però l'organismo è sotto stress ossidativo (sbilanciamento fra radicali e antiossidanti endogeni) occorre assumere una quantità maggiore di antiossidanti attraverso la dieta. Questi antiossidanti sono detti **esogeni**. Esempi noti a tutti di antiossidanti esogeni sono le vitamine, in particolare le vitamine C ed E.