

Capitolo 3

Lo stress ossidativo. Aspetti fisiopatologici e clinici.

A cura di Eugenio Luigi Iorio

3. 1 Generalità e definizioni

Il passaggio dall'anaerobiosi a condizioni di parziale anaerobiosi non ha segnato solo un'importante tappa dell'evoluzione, ma ha consentito agli organismi viventi di estrarre una maggiore quantità di energia dai nutrienti. E' ampiamente noto, infatti, che la "combustione" di una molecola di glucosio genera appena 2 molecole di ATP in condizione di anaerobiosi, contro le 36-38 ottenibili in aerobiosi.

Per questo determinante motivo, l'ossigeno, nella sua forma molecolare, è stato da sempre considerato come l'elemento vitale per eccellenza, non essendo possibile immaginare l'esistenza di una qualsivoglia forma di vita – con le dovute eccezioni dei pochi organismi anaerobi – in sua totale assenza.

Tuttavia, nel corso degli anni '50, venne scoperto che una grave forma di cataratta neonatale responsabile di cecità – la cosiddetta fibroplasia retroentoculare – era in qualche modo correlata con la somministrazione, nei primi attimi di vita, di ossigeno a pressioni parziali superiori a quelle esistenti nella nostra atmosfera.

Qualche anno dopo, veniva dimostrato che questa terapia iperbarica "ante litteram" era in grado di determinare la produzione di specie chimiche reattive centrate sull'ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS), in definitiva responsabili dell'opacamento del cristallino osservato nei neonati.

Altre ricerche, intanto, in apparente contrasto con le precedenti, documentavano come alcune specie reattive centrate sull'ossigeno, prodotte dai leucociti polimorfonucleati attivati, erano determinanti per il fenomeno del killing batterico (uccisione dei batteri all'interno del fagosoma) e, dunque, indispensabili nella difesa dell'organismo contro le infezioni da taluni germi patogeni.

Da allora, i risultati di migliaia di studi sperimentali e clinici hanno portato alla conclusione che in qualsiasi organismo aerobio l'ossigeno non funge solo da accettore finale degli equivalenti riducenti estratti dai nutrienti – per produrre energia chimica di legame sotto forma di ATP – ma genera continuamente e "fisiologicamente" specie chimiche più o meno altamente reattive, di enorme importanza per il mantenimento dell'omeostasi. Queste ROS, infatti, insieme ad altre SCR controllano una serie di funzioni vitali, quali la difesa contro germi patogeni e cellule tumorali, la trasduzione di segnali biochimici, l'espressione di alcuni geni, etc.

Oggi, appare finalmente chiaro che in qualsiasi organismo aerobio, quale l'Uomo, esiste, quale condizione eminentemente fisiologica, un delicato equilibrio fra produzione ed eliminazione di SCR. Tale equilibrio è normalmente spostato verso una condizione in grado di garantire la presenza di una determinata quantità di specie reattive, indispensabili per il corretto svolgimento delle varie funzioni vitali ad esse legate. L'eventuale, ulteriore, eccesso di SCR, viene eliminato dal sistema di difesa antiossidante.

Se nell'organismo la quantità di SCR aumenta in maniera significativa, per un incremento della loro produzione e/o per una inefficienza delle difese antiossidanti, si viene a determinare una condizione patologica denominata stress ossidativo. Quest'ultimo, quindi, si configura come la diretta e indesiderata conseguenza dell'accentuazione in senso pro-ossidante dei processi ossido-riduttivi che hanno luogo continuamente in ogni cellula, quale espressione fisiologica delle complesse trasformazioni biochimiche del metabolismo terminale.

Va rilevato, comunque, che se l'appellativo "ossidativo" trova una sua evidente ed esauriente spiegazione nel presente contesto, non v'è dubbio che il termine "stress" possa generare non poca confusione, specialmente tra i "non addetti ai lavori".

A questo proposito, è noto che lo stress è una condizione o stato di tensione psicofisica scatenato da una situazione imprevista. Come tale, esso può assumere una valenza sia positiva (eu-stress) che negativa (di-stress).

Infatti, almeno nella sua forma acuta e "benigna" (eu-stress), lo stress è una condizione reattiva, di chiaro significato adattativo (lotta per la sopravvivenza), che mette l'organismo, sottoposto a vari stressori (agenti fisici, chimici, biologici, psicologici), nelle condizioni ottimali per affrontare una situazione minacciosa, imprevista o imprevedibile, col fine ultimo di superare (fight, lottando) ovvero evitare (fuggendo, flight) l'emergenza. La dilatazione delle pupille (midriasi), l'accelerazione del battito cardiaco (tachicardia), i tremori, la sudorazione fredda, la stipsi, la riduzione della diuresi, ecc., sono le manifestazioni più eclatanti di tale "fisiologica" reazione.

Purtroppo, il persistere degli stressori e/o la loro inadeguata rimozione comporta la cronicizzazione dello stress. Sarà questo "di-stress" ad innescare meccanismi potenzialmente dannosi per la salute (alterazioni neuropsichiche, turbe vasomotorie, etc.).

Trasporre questi concetti dell'etologia e della fisiologia nel campo del danno da SCR non è agevole. Appare, tuttavia, affascinante prendere in considerazione che anche per lo stress ossidativo possa esistere un eu-stress e un di-stress.

La condizione di eu-stress ossidativo andrebbe individuata nel sopra accennato "fisiologico" squilibrio tra produzione ed eliminazione di SCR, quale continua risposta adattativa che consente all'organismo di far fronte alle sue esigenze vitali. Per esempio, la produzione di ROS da parte dei leucociti polimorfonucleati è un chiaro esempio di risposta adattativa ad una stimolazione esterna, con finalità positiva (difesa da una infezione).

Ovviamente, il persistere dello stressore comporterà la cronicizzazione della reazione con tutte le conseguenze indesiderate di una risposta che alla fine si ritorce contro l'organismo stesso (di-stress). Rimanendo nell'esempio sopra preso in considerazione, la persistenza dell'agente infettivo – dovuta all'entità della carica patogena o alla specifica virulenza dei batteri, come si osserva per taluni ceppi di streptococchi – comporta il protrarsi della produzione di SCR che, non più adeguatamente contrastata dai sistemi di difesa antiossidanti, potrà innescare un danno dapprima d'organo e poi sistemico.

In ogni caso, lo studio dello stress ossidativo ha grandissima rilevanza in biomedicina. Ad esso, infatti, viene riconosciuto un ruolo chiave nell'accelerazione dell'invecchiamento e nello sviluppo di malattie croniche e degenerative, quali, ad esempio, l'aterosclerosi (con le sue due più temibili conseguenze, l'ictus cerebrale e l'infarto cardiaco), la malattia di Alzheimer, il morbo di Parkinson, il diabete mellito, e persino alcune forme di cancro.

Scopo del presente capitolo è descrivere l'eziologia, la patogenesi e le implicazioni cliniche dello stress ossidativo.

3.2 Eziologia

Gli organismi aerobi, per effetto della propria attività metabolica, non di rado sotto lo stimolo di agenti esterni, producono già in condizioni fisiologiche una determinata quantità di SCR, le quali svolgono un importante ruolo biologico, presiedendo ai meccanismi stessi dell'omeostasi.

Data la loro più o meno spiccata capacità ossidante, tuttavia, le SCR rappresentano anche una minaccia mortale per la vita delle cellule che, per questo motivo, ne tiene sotto controllo la produzione grazie ad un efficiente sistema di difesa, costituito dall'insieme degli antiossidanti (17, 28, 47, 61).

Purtroppo, in particolari condizioni, quando la produzione di SCR è eccessiva e/o la capacità di smaltire queste ultime si riduce, la cellula è costretta a subire gli effetti potenzialmente lesivi di una serie di reazioni indesiderate che accompagnano

quei processi ossidativi da cui dipende la sua stessa esistenza (16, 53).

Comunque determinatosi, infatti, l'eccesso di SCR provoca una serie di alterazioni funzionali e strutturali della cellula, che possono condurre all'apoptosi o, addirittura, alla necrosi (20, 21, 42).

Sul piano generale, queste lesioni – dapprima cellulari e poi tissutali – saranno responsabili, infine, di patologie d'organo, quali ad esempio la colite o la pancreatite, oppure di condizioni sistemiche, quali l'invecchiamento precoce, l'aterosclerosi e così via (19, 22, 56, 62).

Appare evidente, quindi, che la lesività da SCR si configura come un fenomeno che riguarda, almeno in prima battuta, la singola cellula.

Trasferendo il discorso all'intero organismo, lo stress ossidativo può essere definito come una particolare forma di stress chimico indotto dalla presenza di una quantità eccessiva di specie reattive per un'aumentata produzione e/o inadeguata inattivazione delle stesse (figura 3. 1) (24).



Figura 3. 1 Eziopatogenesi generale dello stress ossidativo

Dal punto di vista eziologico, un aumento della produzione di SCR può essere ricondotto a fattori ambientali, situazioni fisiologiche, stile di vita, fattori psicologici, malattie e fattori iatrogeni, ecc. (tabella 3. 1).

Tabella 3. 1 Cause di aumentata produzione di specie reattive

Eziologia	Esempi
Fattori ambientali	Radiazioni, inquinamento
Stati fisiologici	Gravidanza (?)
Stile di vita	Alimentazione, alcool, fumo, esercizio fisico incongruo
Fattori psicologici	Stress psico-emotivo (?)
Malattie	Traumi, infiammazioni, infezioni, vasculopatie, neoplasie
Fattori iatrogeni	Farmacoterapia, radioterapia, raggi X

Una riduzione delle difese antiossidanti è da imputarsi sostanzialmente ad un deficit assoluto o relativo di antiossidanti, comunque determinatosi (tabella 3. 2).

Tabella 3. 3 Cause di riduzione delle difese antiossidanti

Eziologia	Esempi
Ridotta assunzione di AO	Ipoitaminosi, diete monotone
Ridotto assorbimento di AO	Sindromi da malassorbimento, celiachia
Ridotta capacità di utilizzazione di AO	Deficit dei mec. di captazione e/o trasporto
Insufficienza dei sistemi enzimatici AO	Fattori genetici e/o iatrogeni
Eccessivo consumo di AO	Eccessiva produzione di specie reattive
Assunzione di farmaci	Sovraccarico del sistema microsomiale
Malattie	Vari

AO: antiossidanti

A proposito delle malattie, va precisato che alcune di esse si accompagnano ad un'aumentata produzione di specie reattive, altre ad una riduzione

delle difese antiossidanti, altre ancora, infine, alla combinazione di ambedue i meccanismi.

E' ovvio che il discorso è ben più complesso, ma il concetto appena esposto è sufficiente per comprendere i principali aspetti fisiopatologici dello stress ossidativo e le relative implicazioni sul piano diagnostico e terapeutico, fermo restando che non sempre è possibile stabilire se le SCR sono la causa oppure l'effetto delle lesioni osservate (25, 33).

3. 3 Patogenesi

Dal punto di vista strettamente biochimico, considerando per semplicità le specie centrate sull'ossigeno, il processo che porta alle alterazioni tipiche del danno ossidativo appare articolato in varie fasi (figura 3. 2).

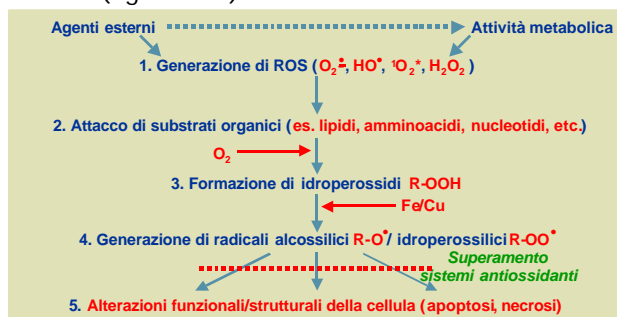


Figura 3. 2 Il processo multifasico del danno ossidativo

Il *primum movens* di tale processo è l'aumento – spesso sotto la spinta di agenti esterni – della produzione di SCR, per stimolazione parziale o generalizzata del metabolismo (figura 3. 3) (16, 19, 47, 56).

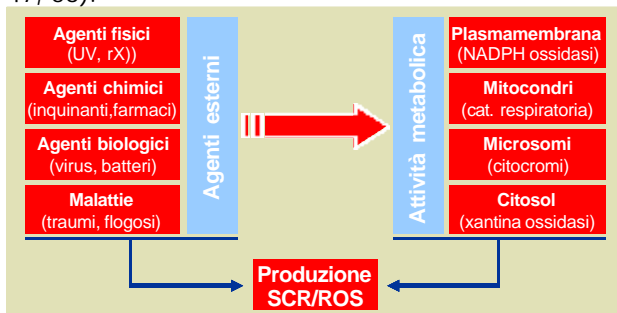


Figura 3. 3 Meccanismi di generazione delle specie reattive

Gli agenti esterni implicati nella generazione di SCR – per via diretta o mediata da un'attivazione metabolica – possono essere di natura fisica, chimica o biologica.

Tra gli agenti fisici, sono da segnalare le radiazioni ionizzanti e i raggi UV. Ambedue queste fonti energetiche possono indurre, tra l'altro, il fenomeno della scissione omolitica dell'acqua, detto anche radiolisi o fotolisi a seconda del tipo di radiazione coinvolto (7).

Nella fotolisi, in particolare, la molecola d'acqua assorbe energia e la utilizza per scindere uno dei suoi due legami covalenti con l'idrogeno: i prodotti saranno due radicali liberi, il radicale idrossile e l'atomo di idrogeno (figura 3. 4) (7).

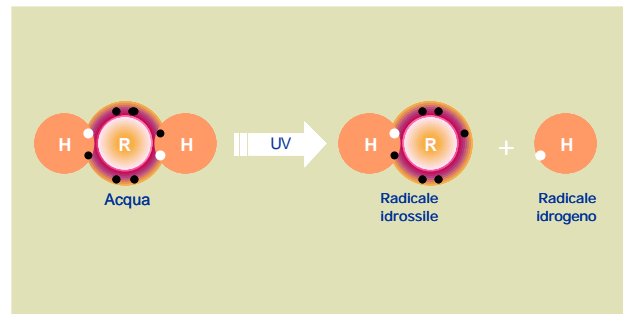


Figura 3. 4 La fotolisi dell'acqua

Considerando che un organismo vivente è costituito prevalentemente da acqua e che trascorre gran parte della sua vita sotto l'effetto di radiazioni (UV o ionizzanti che siano) appare evidente quanto questo fenomeno incida in maniera sostanziale sulla produzione di radicali liberi.

Fra gli agenti chimici in grado di stimolare la produzione di radicali liberi è da citare l'ozono, O_3 , (appartenente alle ROS) che genera direttamente radicali perossilici per interazione con composti fenolici (28).

I due casi finora considerati (radiazioni e ozono) costituiscono esempi di produzione diretta di specie reattive.

Altri agenti chimici, invece, quali gli idrocarburi aromatici policiclici o taluni farmaci, inducono un aumento della produzione delle SCR attraverso un meccanismo indiretto, attivando il sistema del citocromo P_{450} a livello microsomiale (vedi più avanti).

Agenti biologici che tipicamente inducono un aumento della produzione di ROS per attivazione metabolica specifica sono i batteri, nell'ambito del fisiologico processo di difesa dalle infezioni, e taluni anticorpi, nell'ambito di alcune reazioni immunopatogene.

A queste tre classi di agenti vanno aggiunte alcune malattie, come quelle da traumi o su base flogistica che, quindi, possono essere non solo conseguenza, ma anche causa di stress ossidativo.

D'altra parte, un aumento della produzione di SCR può verificarsi per esaltazione patologica dell'attività metabolica, anche indipendentemente da stimolazioni esterne, in uno o più dei siti cellulari ove si svolgono particolari reazioni redox connesse, appunto, con generazione di specie reattive: la plasmamembrana, i mitocondri, i microsomi ed il citosol (vedi capitolo primo).

Infatti, nella plasmamembrana di tutte le cellule e, in particolare di quella dei leucociti, sono localizzati alcuni sistemi enzimatici in grado di generare direttamente SCR. Fra questi, assumono rilevante importanza nella genesi delle lesioni da stress ossidativo la NADPH ossidasi, la lipoossigenasi e la ossido nitrico sintetasi, in vario modo attivate da taluni processi infettivi, come quelli di origine batterica (es. da *Streptococcus pyogenes*, ma anche da ceppi parodontopatogeni, quali *Porphyromonas gingivalis*) ed i processi disreattivi, come quelli associati a rea-

azioni immunopatogene e, nella fattispecie, alle cosiddette malattie reumatiche (artite reumatoide, lupus eritematoso sistemico, etc.).

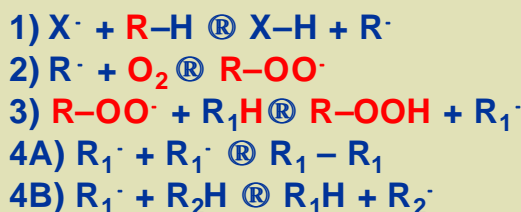
Nei mitocondri, a livello delle *cristae*, sono disposti i sistemi di trasporto degli elettroni della catena respiratoria, responsabili della riduzione dell'ossigeno molecolare e, quindi, della produzione di ATP. Pertanto, un'esaltazione del metabolismo respiratorio, per patologie endocrine (es. ipertiroidismo) ovvero per attività fisica incongrua, determinerà uno shunt degli equivalenti riducenti estratti dai nutrienti direttamente all'ossigeno, che verrà, quindi, ridotto in maniera anomala, con produzione indesiderata di ROS.

Nei microsomi, tradizionalmente sede dei sistemi di detossificazione (citocromo P₄₅₀), numerosissimi agenti chimici, quali alcool, inquinanti atmosferici, contaminanti ambientali, pesticidi e farmaci, possono essere trasformati in specie chimiche altamente reattive, dando ragione delle lesioni ossidative osservate in seguito ad intossicazioni acute o croniche.

Infine, nel citosol, variazioni della pressione parziale di ossigeno, come ad esempio in seguito a riperfusione di un letto vascolare precedentemente ischemico (es. per spasmi arteriosi) inducono la trasformazione della xantina deidrogenasi in xantina ossidasi, con generazione di ROS.

Una volta resesi disponibili in grandi quantità, in seguito all'attivazione dei meccanismi sopra descritti, le SCR sono in grado di attaccare qualsiasi substrato con il quale giungono a contatto, strappando ad essi l'elettrone o gli elettroni necessari per raggiungere la propria stabilità. Ciò, a sua volta, innescava processi radicalici a catena che, se non bloccati tempestivamente, possono provocare gravi conseguenze sul piano dapprima funzionale, poi anche strutturale (figura 3. 2) (16, 17, 20, 33).

Fra i vari meccanismi cito- ed isto-lesivi assume rilevante importanza quello correlato con la formazione degli idroperossidi (ROOH), una classe di derivati o metaboliti reattivi dell'ossigeno (reactive oxygen metabolites, ROM) (37) (figura 3. 5).



RH/R₁H/R₂H = qualsiasi sostanza organica

Figura 3. 5 Reazioni radicaliche e produzione di perossidi

Tale meccanismo, tipico delle reazioni radicaliche a catena, viene innescato dall'attacco, da parte di un ROS (X[•], per esempio, il radicale istolesivo HO[•]), di un generico substrato organico R-H (es. un glicide, un lipide, un amminoacido, un nucleotide

ecc.) (24). Il radicale HO[•], avendo un elettrone spaiato, è molto reattivo e, giunto a contatto con il substrato R-H, strappa a quest'ultimo un atomo di idrogeno per raggiungere la sua stabilità. In tal modo, però, il sito radicalico è ora trasferito al substrato che si trasforma in radicale R[•]. Quest'ultimo, in presenza di ossigeno molecolare, è convertito in radicale (idro)perossile ROO[•], un nuovo radicale che, a sua volta, può attaccare un altro substrato organico R₁H trasformandosi in idroperossido ROOH.

La reazione a catena ormai innescata continuerà a partire dall'ultimo radicale generato (R₁[•]), fino a quando non interverrà un meccanismo di terminazione (es. reazione di combinazione, R₁[•] + R₁[•], per produrre R₁-R₁) oppure un antiossidante.

Il fenomeno della perossidazione – è bene ribadirlo – non è esclusivo dei lipidi, ma può interessare qualsiasi substrato organico, dagli amminoacidi alle proteine, dai peptidi ai nucleotidi.

Non v'è dubbio, tuttavia, che i lipidi, specialmente se insaturi, e, quindi, con doppietti di legame "disponibili" a soddisfare l'avidità di elettroni dei radicali liberi, costituiscano target importanti dell'attacco ossidativo, in particolar modo se inseriti nel contesto di biomembrane e, come tali, maggiormente esposti all'azione radicalica (37, 48).

La perossidazione lipidica segue lo schema generale delle reazioni radicaliche appena discusso, con la variante che, se ad essere colpito è un acido grasso poliinsaturo, quale l'acido arachidonico, ad essere attaccato dal radicale istolesivo HO[•] è uno dei doppi legami C-C (48) (figura 3. 6).

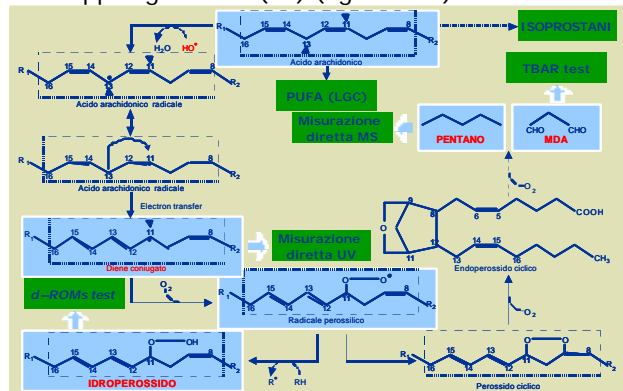


Figura 3. 6 Perossidazione lipidica e sua valutazione

In questo caso specifico, la sottrazione di un atomo di idrogeno da parte del radicale idrossile genera un radicale centrato sul carbonio, che rapidamente va incontro ad una redistribuzione dei doppi legami trasformandosi in diene coniugato. Quest'ultimo, in presenza di ossigeno si trasforma in radicale perossilico.

Tale radicale rappresenta un composto chiave in questa sequenza di reazioni, perché non solo può essere trasformato in idroperossido, ma andare anche incontro, per la sua peculiare struttura chimica, ad ulteriore degradazione fino a malonildialdeide (MDA) e, infine, a pentano, se sono disponibili ulteriori donatori di idrogeno (evento che coincide, in

ultima analisi, con il completo "esaurimento" del sistema antiossidante).

E' interessante osservare che la biochimica analitica consente oggi di monitorare l'intero processo appena descritto attraverso una serie di test in grado di identificare e quantificare i prodotti di partenza (acidi grassi poliinsaturi, PUFA), gli intermedi più significativi (isoprostani, dieni coniugati, idroperossidi) ed i prodotti terminali (pentano, MDA) generati dalla perossidazione (figura 3. 6). In tale contesto, tuttavia, va anticipato che il d-ROMs test consente di quantificare gli idroperossidi totali, non solo quelli generati dalla perossidazione dei lipidi (vedi capitolo quinto).

Oltre che attraverso la perossidazione, le SCR possono attaccare tutte le biomolecole di cui sono costituiti gli organismi viventi anche grazie all'innesco di altre reazioni radicaliche a catena.

In particolare, il danno ossidativo a carico dei carboidrati si tradurrà nella generazione dei cosiddetti prodotti terminali di glicosilazione (advanced glycated endproducts, AGE), quello a carico delle proteine in un incremento dei cosiddetti prodotti avanzati di ossidazione proteica (Advanced oxidative protein products, AOPP), quello a carico dei nucleotidi nella generazione di 8-idrossideossiguanosina (8-OH-dG), prodotti che vanno, quindi ad aggiungersi a quelli derivati dalla perossidazione dei lipidi.

Dalla conoscenza di tali meccanismi trae ancora una volta vantaggio la biochimica clinica (vedi capitolo quinto).

I fenomeni ossidativi non risparmiano nemmeno le lunghe catene dei grandi polimeri, quali le proteine, che possono subire fenomeni di condensazione e formazione di legami crociati, l'acido ialuronico, che può depolimerizzare, e il DNA, che può subire l'interruzione di uno o ambedue i filamenti (tabella 3. 4) (32, 52).

Tabella 3. 4 Bersagli dei ROM e relativi prodotti di ossidazione

Specie reattive	Molecola bersaglio	Prodotti di ossidazione
Radicale idrossile Radicale peridrossile	Lipidi (PUFA)	Idroperossidi lipidici
Radicale idrossile Radicale peridrossile	Proteine	Molecole con legami crociati, idroperossidi
Radicale idrossile Radicale peridrossile	Acido ialuronico	Glucosidi, idroperossidi
Radicale idrossile	DNA/RNA	Interruzione filamenti, rilascio di 8-idrossideossiguanosina

In ogni caso, tra i vari prodotti generati dall'azione delle SCR sui vari substrati organici (glicidi, lipidi, aminoacidi, proteine, nucleotidi), gli idroperossidi – a causa della loro relativa stabilità e del loro potenziale ossidante – continuano a giocare un ruolo rilevante nella patogenesi dello stress ossidativo a livello sia cellulare che extracellulare.

La situazione può essere schematizzata prendendo in considerazione una qualsiasi cellula (es. epiteliale o muscolare) nel suo contesto tissutale, ossia nei suoi intimi rapporti con la matrice extracellulare ed il microcircolo (figura 3. 7).

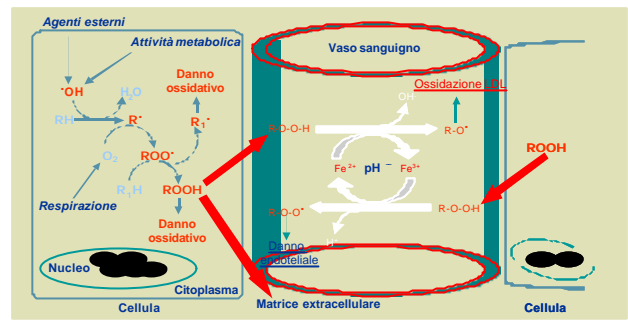


Figura 3. 7 Metabolismo ed effetti patogeni degli idroperossidi

All'interno della cellula, gli idroperossidi, oltre ad essere intermedi della perossidazione, possono generare, se si rendono disponibili metalli di transizione allo stato libero, quali ferro o rame, radicali estremamente reattivi, quali l'alcolossile ed il perossile, secondo la reazione di Fenton. Attraverso questo meccanismo gli idroperossidi possono amplificare, talora in maniera notevole, il danno ossidativo inizialmente indotto dalle ROS, contribuendo alle alterazioni funzionali e/o strutturali della cellula, fino a indurne la necrosi o l'apoptosi (figura 3. 8) (39, 55).

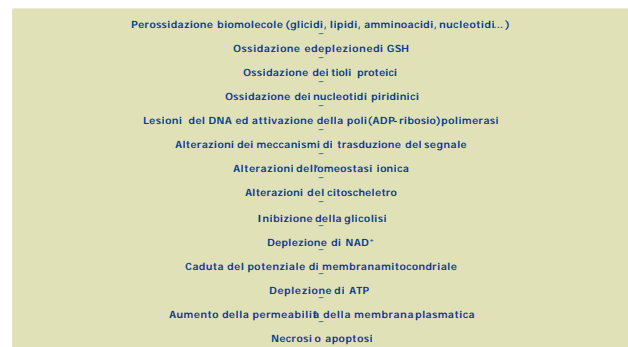


Figura 3. 8 Alterazioni biochimiche cellulari nello s. ossidativo

Continuamente minacciata, nella sua integrità, dalla perossidazione, la cellula, oltre ad attivare i sistemi di difesa antiossidante, tende ad espellere gli idroperossidi nei liquidi extracellulari. E' a questo punto che il danno ossidativo si estende alle strutture viciniori, creando le condizioni ideali per la lesività tissutale, d'organo e, infine, sistemica (figura 3.1).

Il primo potenziale bersaglio degli idroperossidi, una volta all'esterno della cellula, è rappresentato dalla matrice extracellulare.

Qui, infatti, tali agenti possono generare, in presenza di metalli di transizione allo stato libero, radicali alcolossili e perossili altamente ossidanti che si sommano a quelli generati a partire dalle cosiddette cloroammine.

Quest'ultimo meccanismo è generalmente innescato dal rilascio, da parte dei fagociti attivati (macrofagi e PMN) nel corso di processi infiammatori, della mieloperossidasi, un enzima a ferro emimico che catalizza la reazione tra perossido di idrogeno e ione cloruro (già a concentrazioni fisiologiche), per produrre il potente ossidante acido ipocloroso (HClO) (figura 1. 8) (60).

L'HClO, a sua volta, gioca un ruolo importante nelle difese messe in atto dai mammiferi contro microrganismi patogeni, in quanto è dotata di potente attività battericida (27).

Prodotto, tuttavia, in quantità eccessive o inadeguate, esso può provocare lesioni a carico dei tessuti nei mammiferi, e questo si ritiene essere importante in alcune patologie umane, quali l'aterosclerosi, le malattie infiammatorie croniche ed alcune forme di neoplasie (27).

I bersagli principali dell'azione dell'HClO, oltre al DNA, ai lipidi, al colesterolo, al NADH, ed ai tioli, sono le proteine (27).

In particolare, è stato dimostrato mediante EPR che l'HClO reagisce con i gruppi amminici di amminoacidi e proteine per produrre le sopra citate cloroammine. Queste, a loro volta, si decompongono e generano radicali liberi, quali, appunto, i radicali alcossilici e perossilici, dimostrabili mediante tecniche di spin trapping combinate con l'EPR (27).

Secondo l'ipotesi più accreditata, il carbonio alfa dell'amminoacido che ha subito l'attacco dell'acido ipocloroso per generare la corrispondente cloroammina, si trasforma in un sito radicalico. Il conseguente attacco dell'ossigeno genera un radicale perossilico che, dimerizzando, forma il tetrossido corrispondente. Dalla scissione di quest'ultimo originerebbero, con l'ossigeno molecolare, i radicali alcossilici (figura 3. 9) (27).

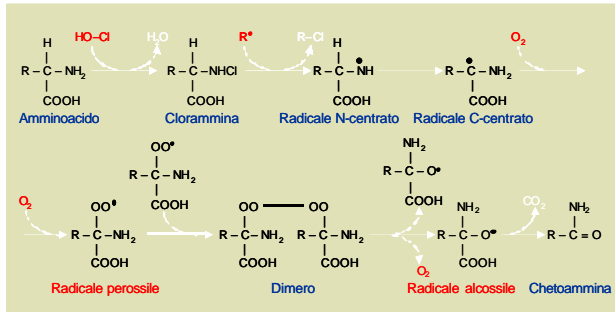


Figura 3. 9 Metabolismo delle cloroammine

Il processo descritto, che è favorito ma non dipende dall'aggiunta di ioni ferro, sembra giocare un ruolo determinante nell'amplificare il danno ossidativo da radicali liberi all'esterno delle cellule anche quando, appunto, non sono disponibili metalli di transizione allo stato libero (27).

Nella matrice extracellulare, radicali alcossilici e perossilici, prodotti attraverso la reazione di Fenton o a partire dalle cloroammine, si uniscono alle altre SCR, comunque generate (per effetto di agenti fisici, chimici o biologici), contribuendo in maniera determinante alla patogenesi del danno ossidativo.

Quest'ultimo si realizza attraverso due modalità: diretta (coagulazione, frammentazione, depolimerizzazione e formazione di legami crociati fra componenti strutturali, quali collagene, elastina, proteoglicani) e indiretta (alterazione dei meccanismi che presiedono all'omeostasi dei sistemi delle metalloproteinasi, della flogosi e della coagulazione).

La conseguenza ultima del danno ossidativo a carico della matrice extracellulare sarà una compromissione più o meno grave della comunicazione fra le cellule (ostacolo al libero transito di ormoni ed altri mediatori biochimici nonché di farmaci) e degli scambi metabolici (ridotto passaggio di nutrienti dal sangue alle cellule e inadeguata rimozione da queste di cataboliti potenzialmente nocivi).

In ogni caso, una volta che gli idroperossidi hanno superato la matrice extracellulare, essi invadono il microcircolo locale, secondo target del danno ossidativo (figura 3. 7).

Nel plasma, ancora una volta, se esistono condizioni tali da indurre il rilascio di ferro allo stato ionico, si innescherà la reazione di Fenton che genererà radicali alcossilici e idroperossilici. Un evento del genere può verificarsi per attivazione temporanea del metabolismo anaerobio, per es. per compressione di un tronco vascolare periferico o in seguito a sforzo fisico intenso. Infatti, l'acidosi transitoria che da ciò deriva nel distretto interessato può indurre localmente un abbassamento del pH a livelli tali da modificare la conformazione della transferrina e indebolirne il legame col ferro, che si rende, così, disponibile in forma libera.

I radicali alcossilici e idroperossilici resisi disponibili in seguito alla scissione degli idroperossidi amplificheranno il danno ossidativo, trasformando le normali LDL in LDL ossidate (ox-LDL) e, soprattutto, attaccando l'endotelio. Si pongono, così, le basi biochimiche per l'avvio del processo aterogenetico e, in definitiva, per l'estensione del danno a livello sistemico (figura 3. 1) (39, 59).

In ogni caso, gli idroperossidi plasmatici, conservando ancora, come nella cellula, una discreta capacità ossidante ed essendo relativamente stabili, possono essere opportunamente messi in evidenza e quantificati (vedi oltre, *d-ROMs test*) (figura 3. 6). Per questo, si dice che gli idroperossidi sono non solo testimoni o marcatori ma anche amplificatori del danno cellulare da SCR (59).

3. 4 Correlazioni clinico-eziologiche

Contrariamente a quanto accade per altre condizioni morbose, lo stress ossidativo non dà origine ad un quadro clinico specifico. Ciò ne rende particolarmente difficile la diagnosi che, per definizione, è quasi esclusivamente basata sui dati di laboratorio (vedi capitolo quarto).

Tuttavia, per rendere meno disagiata l'approccio clinico a questa condizione patologica "trasversale" – in quanto comune a più malattie – può essere utile riferirsi ad alcuni modelli o "paradigmi" patogenetici, costruiti al partire dall'evidenza che la produzione di SCR avviene in ben definiti siti cellulari, quali la plasmamembrana, i mitocondri, il reticolo endoplasmatico liscio (microsomi), i perossisomi ed il citosol (figura 3. 3).

La generazione di SCR in ciascuno di questi siti e gli effetti che da essa ne scaturiscono assume caratteristiche peculiari in rapporto alla specificità dello stimolo ed alle modalità, qualità e quantità di specie chimiche prodotte.

E' evidente che la produzione di SCR da parte dei PMN, conseguente ad attivazione della plasmamembrana, richiede stimoli diversi da quelli necessari per la generazione di specie reattive dalle cellule muscolari, associata all'attivazione del metabolismo mitocondriale.

In linea di massima, infatti, uno stimolo flogistico tenderà prevalentemente ad attivare la plasmamembrana dei PMN laddove un intenso esercizio muscolare tenderà ad esaltare prevalentemente l'attività metabolica mitocondriale delle cellule muscolari.

Ciascuna delle due situazioni, inoltre, è accompagnata dalla produzione di SCR almeno in parte chimicamente differenti fra loro, per il diverso corredo enzimatico delle cellule e delle relative strutture subcellulari interessate.

Per esempio, i mitocondri delle cellule muscolari, che non possiedono la mieloperossidasi non potranno generare HClO, che potrà essere prodotto solo dalla plasmamembrana dei PMN attivati.

Infine, anche gli effetti sistemici delle due condizioni saranno diverse.

Sulla base di queste considerazioni, si può associare a ciascun sito cellulare coinvolto nella produzione di specie reattive un particolare tipo di stress ossidativo:

- stress ossidativo indotto prevalentemente da modificazioni reattive della superficie cellulare;
- stress ossidativo indotto prevalentemente da una ridotta efficienza della respirazione cellulare;
- stress ossidativo secondario prevalentemente ad induzione farmacometabolica;
- stress ossidativo indotto prevalentemente da variazioni intracellulari della tensione di ossigeno;
- stress ossidativo da meccanismi multipli combinati (figura 3. 10).

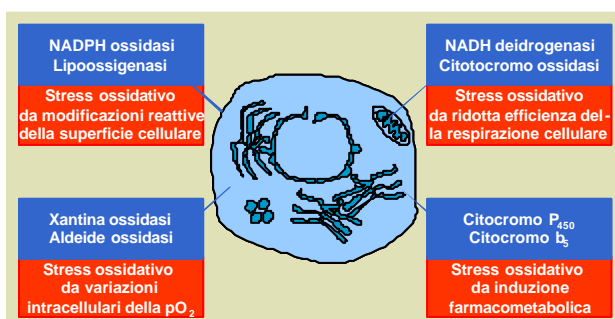


Figura 3. 10 Fonti cellulari di SCR e stress ossidativo

E' evidente che questa impostazione rappresenta un'ipersemplificazione della ben più complessa e multiforme situazione biochimica che si osserva a livello cellulare, tissutale e sistemico nello stress ossidativo.

Infatti, il modello non tiene in adeguata considerazione il ruolo di agenti in grado di indurre un danno ossidativo con meccanismo diretto (es. radiazioni ionizzanti, inquinanti ambientali, contaminanti alimentari etc.).

Inoltre, rimanendo nell'esempio comparativo appena discusso della plasmamembrana dei PMN e dei mitocondri delle cellule muscolari, non bisogna dimenticare che nelle condizioni disreattive, quali le infezioni, la febbre indotta dall'attivazione dei PMN si associa ad un'esaltazione del metabolismo e, viceversa, lo sforzo muscolare intenso può associarsi a condizioni infiammatorie, ritenute responsabili di lesioni traumatiche dell'apparato muscoloscheletrico.

In altri termini, è difficile distinguere nettamente uno stress ossidativo indotto da modificazioni reattive della superficie cellulare da uno stress ossidativo indotto da ridotta efficienza della respirazione cellulare.

Anzi, estendendo ancor di più il discorso, nella patogenesi del danno muscolare legato ad esercizio fisico strenuo entra in gioco anche il meccanismo dell'ischemia-riperfusion, che è alla base dello stress ossidativo da variazioni della pO₂ intracellulare.

E' per questo motivo che nella classificazione dei diversi tipi di stress ossidativo si è convenuto di usare la circumlocuzione "stress ossidativo indotto prevalentemente da...".

Pur nella consapevolezza degli inevitabili limiti legati ai tentativi di classificare i fenomeni biologici, l'individuazione di cinque pattern di stress ossidativo conserva, tuttavia, un'indubbia valenza didattica e concettuale e, pertanto, può essere di grande aiuto non solo al clinico, per l'inquadramento diagnostico del soggetto con compromissione del bilancio redox, ma anche al terapeuta, per orientare la scelta nel complesso labirinto delle opzioni attualmente disponibili (tabella 3. 5).

Tabella 3. 5 Pattern fondamentali dello stress ossidativo (SO)

SO*	Sito [†]	Meccanismo [†]	ROS/ROM	Correlazioni
I	Membrana	Generazione ac. arachidonico	Idroperossidi	Processi reattivi (infiammazione)
		Attivazione NADPH ossidasi	An. superossido	Processi reattivi (infiammazione)
II	Mitocondri	Attivazione metabolica	An. superossido Perossido di H	Ipernutrizione, es. inadeguato
		Disfunzione mitocondriale	An. superossido Perossido di H	Mitocondriopatie (prim. o sec.)
III	Microsomi	Attivazione citocromi P ₄₅₀ /b ₅	Vari	Alcol, farmaci, xenobiotici
IV	Citosol	Attivazione xantina ossidasi	An. superossido Perossido di H	Malattie da ischemia-riperfusion
V	Almeno due	Multipli	Variabilmente centrati [‡]	Fumo, inquinanti, radiazioni

* I: SO prevalentemente da modifiche reattive della superficie cellulare; II: SO prevalentemente da ridotta efficacia della respirazione cellulare; III: SO prevalentemente da induzione farmaco-metabolica; IV: SO prevalentemente da variazioni intracellulari della pO₂; V: SO da meccanismi multipli. [†] Prevalente. [‡] Carbonio, azoto, cloro ecc

Lo stress ossidativo indotto prevalentemente da modificazioni reattive della superficie cellulare è provocato dall'attivazione della plasmamembrana che, come si è detto, è sede di attività enzimatiche generatrici di SCR (54).

Questo tipo di stress ossidativo è generato, nella sua forma più caratteristica, dall'attivazione dei leucociti polimorfonucleati ad opera di batteri o endotossine o immunocomplessi (figura 3. 11) (2).

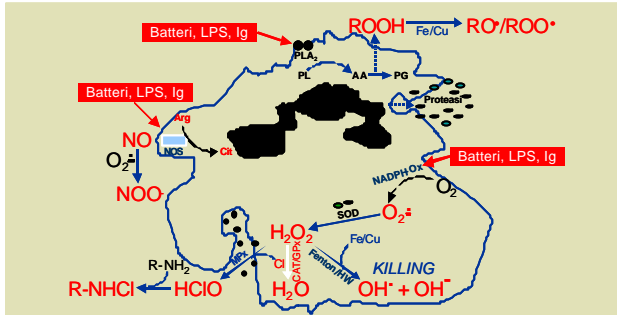


Figura 3. 11 Produzione di specie reattive da PMN attivati

In particolare, il legame di tali agenti alla plasmamembrana induce, anzitutto, l'attivazione della fosfolipasi A₂, che idrolizza i fosfolipidi rilasciando l'acido arachidonico. Quest'ultimo può subire l'attacco ossidativo da parte di altre SCR, in quanto acido grasso poliinsaturo, ovvero essere perossidato dal sistema delle lipoossigenasi, producendo in ambedue i casi idroperossidi (figura 3. 12).

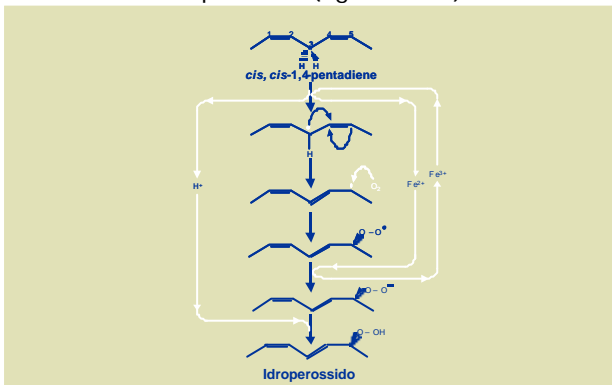


Figura 3. 12 Produzione di perossidi lipoossigenasi-dipendente

D'altra parte, batteri, endotossine o anticorpi possono attivare la NADPH ossidasi, con produzione di anione superossido e, quindi, a cascata, una serie di enzimi direttamente coinvolti nella produzione e, in parte, inattivazione di SCR, quali la superossido-dismutasi (SOD), la mieloperossidasi (MPx), la catalasi (CAT) e la glutazione perossidasi (GPx) (figura 3. 13) (vedi capitolo secondo) (49).

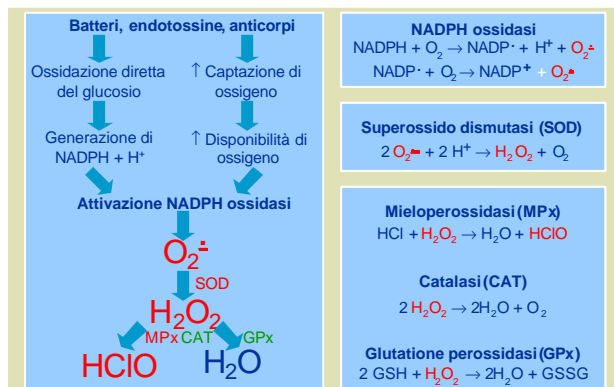


Figura 3. 13 Produzione reattiva di ROS da parte dei PMN

La SOD catalizza la trasformazione dell'anione superossido in perossido di idrogeno che, a sua volta, può essere inattivato ad acqua per azione della CAT o della GPx. Tuttavia, la disponibilità di cloruri – anche a concentrazioni fisiologiche – rende il perossido di idrogeno substrato della MPx. Il risultato finale è la produzione di un agente altamente ossidante, l'acido ipocloroso (HClO). Come si è detto nel precedente paragrafo, l'HClO può attaccare numerosi substrati organici e, in particolare, amminoacidi e proteine, per produrre cloroammine, una potenziale fonte di radicali alcossilici e perossilici (15, 31).

Infine, sono da considerare gli effetti secondari e di amplificazione del danno indotti dalle varie SCR. Per esempio, l'eccesso di anione superossido può favorire la conversione dell'ossido nitrico in perossinitrito, altamente reattivo, mentre la liberazione di ferro dai depositi tissutali può indurre la scissione dei perossidi (idroperossidi organici e perossido di idrogeno) in radicali altamente ossidanti (figura 3. 11).

Lo stress ossidativo da modificazioni reattive della superficie cellulare è tipico dei processi reattivi, quali infezioni (es. batteriche) e infiammazioni (es. artrite reumatoide).

Lo stress ossidativo indotto prevalentemente da una ridotta efficienza della respirazione cellulare è provocato da un'alterazione della funzionalità dei mitocondri che, come è noto, costituiscono una delle fonti primarie di produzione di ROS (58). Nel caso più semplice, l'aumentata produzione di specie reattive è legata ad un'eccessiva attivazione metabolica, quale si riscontra ad esempio durante lo sforzo fisico intenso o nell'iperalimentazione; in questo caso le specie reattive maggiormente prodotte sono i prodotti di riduzione non tetravalente dell'ossigeno, quali l'anione superossido e il perossido d'idrogeno (32).

E' anche possibile che un aumento della produzione di ROS per ridotta efficienza della respirazione cellulare sia legato ad una patologia primaria dei mitocondri ovvero all'innescarsi di un circolo vizioso (attivazione metabolica → produzione di ROS da shunt elettronico → disfunzione mitocondriale → riduzione dell'efficienza respiratoria → ulteriore produzione di ROS da shunt elettronico) (5, 11).

Lo stress ossidativo secondario prevalentemente ad induzione farmacometabolica è provocato da un'attivazione del sistema di idrossilazione a funzione disintossicante del citocromo P₄₅₀. Ne sono frequenti cause l'etilismo cronico e l'esposizione a xenobiotici (44). In questi casi possono essere prodotte specie reattive anche non centrate sull'ossigeno (es. il radicale del paracetamolo, un comunissimo antipiretico e analgesico) (45).

Lo stress ossidativo indotto prevalentemente da variazioni della tensione intracellulare di ossigeno è

tipico delle lesioni da ischemia-riperfusion, che si osservano nell'infarto e in seguito ad interventi di rivascularizzazione chirurgica o trapianto di organi (8, 38, 51).

Si ritiene che, in questi casi, la ridotta disponibilità di ossigeno (fase ischemica) induca un viraggio del metabolismo cellulare in senso anaerobio, con progressiva riduzione delle riserve di ATP, degradazione di nucleotidi purinici, alterazioni dell'omeostasi ionica e di membrana e, infine, rilascio di calcio (figura 3. 14) (29, 50).

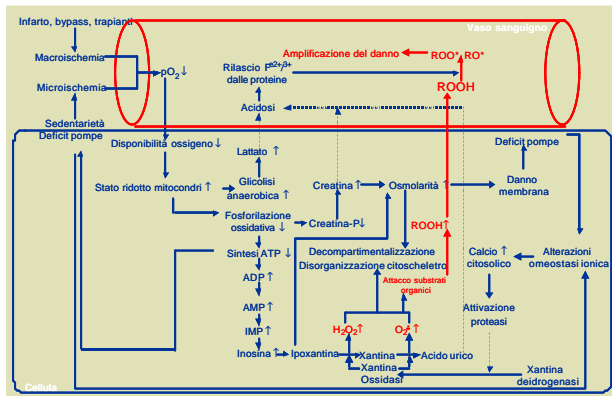


Figura 3. 14 Meccanismi del danno da ischemia-riperfusion

Una volta resosi libero, il calcio determinerebbe l'attivazione di specifiche proteasi, responsabili della conversione, per clivaggio proteolitico, della xantina deidrogenasi (normalmente coinvolta nella conversione dell'ipoxantina in xantina e della xantina in acido urico) in un enzima cataliticamente anomalo, la xantina ossidasi.

Nel momento in cui, spontaneamente o per via farmacologica o chirurgica (es. risoluzione di uno spasmo arterioso, fibrinolisi, trombolisi, etc.) il flusso sanguigno precedentemente ridotto torna ad essere normale (fase di riperfusion), la xantina ossidasi utilizza l'ossigeno appena giunto come accettore degli equivalenti riducenti sottratti ai suoi substrati (xantina e ipoxantina), generando anione superossido e perossido di idrogeno, in definitiva responsabili del cosiddetto danno da ischemia-riperfusion (figura 3. 15).

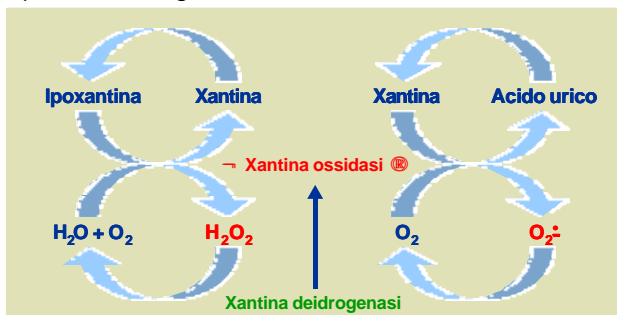


Figura 3. 15 Xantina ossidasi e danno da ischemia-riperfusion

Infine, il fumo di sigaretta, l'esposizione ad inquinanti atmosferici o a radiazioni ionizzanti o UV ovvero ad agenti tossici saranno responsabili di uno stress ossidativo conseguente all'attivazione di meccanismi multipli combinati.

3. 5 Stress ossidativo e senescenza

Nel corso degli ultimi decenni sono state formulate almeno 20 ipotesi per spiegare le cause e i meccanismi dell'invecchiamento, da quella di una modifica delle proteine (anomalie della sintesi – modifiche post-traduzionali – alterazioni del turnover), a quella dell'incapacità nel riparare i danni al DNA, fino a quella dei pace-maker (in base alla quale alcuni organi o sistemi perdendo funzionalità trascinano nell'invecchiamento) (13, 26, 62).

Ovviamente, l'aspetto genetico, costituisce la base di molte di queste ipotesi: non a caso si dice che il metodo più sicuro per andare avanti con gli anni è avere dei genitori longevi.

Tuttavia, un ruolo decisamente importante sembra essere svolto anche da alcuni cofattori, apparentemente acquisiti, quali, ad esempio, il sovrappeso, l'eccesso calorico e l'attività fisica inadeguata, tutti in qualche modo correlati con la produzione di radicali liberi. Non è escluso, pertanto, che lo stress ossidativo, attraverso anche questa via, oltre a quelle note (danno primario a carico di molecole target essenziali, quali il DNA e le proteine) possa contribuire alla riduzione della longevità (13, 22).

Infatti, è noto che la condizione di sovrappeso favorisce la rottura del bilancio redox, laddove la restrizione calorica e l'attività fisica costante (di tipo "salutistico") tendono a riequilibrarlo (13).

In particolare, il sovrappeso – valutabile mediante il cosiddetto indice di massa corporea, IMC o BMI, che esprime il rapporto tra peso in Kg e quadrato dell'altezza in m – è un noto fattore che riduce la sopravvivenza in entrambi i sessi. Indici di massa corporea tra 19 e 21.9 (considerando la normalità a 22.5) si sono dimostrati associati a un basso rischio di mortalità, mentre indici più elevati sono apparsi correlati ad un rischio maggiore (13).

Curiosamente, si è anche osservato che il rischio relativo di mortalità correlato alla massa corporea è più basso negli anziani rispetto ai giovani. Ad ogni modo, è noto come la massa corporea si possa controllare attraverso l'attività fisica e la restrizione calorica (13).

Negli animali da laboratorio, la restrizione calorica favorisce la longevità e riduce la morbilità, soprattutto quella legata a patologie cardiovascolari e tumorali. Il fenomeno è decisamente da correlarsi sia alla ridotta produzione di radicali liberi a livello mitocondriale sia all'aumentata efficienza, in queste condizioni, dei sistemi di difesa antiossidanti, fattori, entrambi, in grado di ridurre l'entità dello stress ossidativo (13). Infatti, come verrà discusso in seguito, i soggetti in sovrappeso presentano al d-ROMs test, rispetto ai normopeso, livelli significativamente più alti di idroperossidi.

L'attività fisica gioca un ruolo decisivo nel rompere o riequilibrare il bilancio redox e, dunque, nel

favorire o rallentare l'invecchiamento, rispettivamente (13).

Infatti, l'attività fisica intensa e concentrata nel tempo favorisce un temporaneo aumento del livello di radicali liberi da attivazione mitocondriale, proprio in coincidenza del momento in cui incrementa il consumo di O₂ sotto sforzo (32). Poiché la domanda di ossigeno non può essere soddisfatta dalla richiesta, si crea una situazione comparabile ad una riduzione del flusso sanguigno (ischemia). Subentrando una condizione di parziale anaerobiosi, i livelli muscolari di ipoxantina aumentano. Infine, nel momento in cui il flusso sanguigno diviene in grado di soddisfare la richiesta di ossigeno (riperfusion) la concomitante attivazione della xantina ossidasi favorisce la conversione dell'ipoxantina in xantina ed acido urico, con produzione di anione superossido e perossido di idrogeno (13).

Viceversa, l'attività fisica regolare e costante, stimola nell'individuo allenato, ovvero abituato allo sforzo, l'attivazione dei sistemi antiossidanti fisiologici e migliora le capacità di tamponamento dell'acidosi, riducendo, di fatto la gravità e l'intensità dello stress ossidativo comunque prodotto.

Nelle persone anziane, come è noto, la spesa energetica totale (TEE, total energy expenditure) appare ridotta, principalmente per diminuzione dell'attività fisica ma anche, seppur in grado minore, del metabolismo basale (BMR, basal metabolic rate) (13).

Non si osservano, invece, riduzioni significative dell'effetto termico dell'alimentazione (TEF, termic effect of feeding), il quale ha una forte correlazione con il consumo di ossigeno e quindi con la produzione di radicali liberi (13).

Sembrirebbe verificarsi lo stesso fenomeno dello sforzo fisico nel soggetto non allenato, ovvero l'inerzia dei sistemi antiossidanti che prolunga, in questo caso, l'effetto dell'impatto calorico. D'altra parte, nell'anziano si verifica il ben noto decremento della massa muscolare (LBM, lean body mass) con incremento della massa lipidica in ambedue i sessi (13).

I fattori coinvolti in questi eventi dipendono almeno in parte dall'attività fisica e dalla diminuzione del GH (growth hormon).

Di fatto, aumentando l'attività fisica si può riportare la LBM a livelli simili a quelli dell'età giovanile. All'appropriata attività fisica, conseguirà il benessere di tutto l'apparato cardiovascolare e quindi una riduzione della morbilità e mortalità cardiovascolare, con favorevoli ripercussioni, in definitiva, sulla longevità (13).

In conclusione, la riduzione dello stress ossidativo – ottenuta mediante il controllo del peso corporeo, la restrizione calorica e l'adeguata attività fisica – sia attraverso dei meccanismi diretti (più efficiente controllo dell'equilibrio redox) che indiretti (riduzione della morbilità e della mortalità) può

contribuire efficacemente al rallentamento del fisiologico processo dell'invecchiamento.

3. 6 Stress ossidativo e malattie

3. 6. 1 Premessa

L'intervento delle SCR è stato chiamato in causa nella patogenesi di almeno 100 diverse malattie (24). Anche se in molti casi la formazione dei radicali è secondaria all'evento patogeno primario, l'innescarsi di reazioni a catena a partire dalle specie reattive comunque prodotte può contribuire ad aggravare il danno cellulare, anche attraverso un vero e proprio effetto "tossico" (12, 26).

Le SCR sono coinvolte direttamente nel danno cellulare e tissutale che si riscontra nella malattia aterosclerotica, nel diabete mellito, nelle malattie su base infiammatoria, in corso di tumori e in alcune epato- e broncopneumopatie (12). In generale, tuttavia, non vi è patologia umana nella quale non sia documentabile un qualche ruolo patogeno delle SCR (nefropatie, endocrinopatie, malattia di Alzheimer, malattia di Parkinson, colite ulcerosa, pancreatite, malattie metaboliche, ecc.) (12, 14, 33).

3. 6. 2 Stress ossidativo e cardiovasculopatie

Le malattie cardiovascolari rappresentano attualmente la principale causa di morte nei Paesi Occidentali e, in particolare, in quelli Europei e Nordamericani. Alla base della maggior parte delle malattie cardiovascolari note, quali l'ictus cerebrale e l'infarto del miocardio, vi è l'aterosclerosi. Con questo termine intendiamo una patologia generalmente a distribuzione sistemica caratterizzata da un ispessimento dell'intima o, in generale, dello strato dell'arteria prospiciente il lume vasale.

Sono stati descritti tre tipi di ispessimento o "placche", di gravità crescente: placche ateromasiche, placche fibrose e placche complicate.

Le placche ateromasiche si presentano come sollevamenti più o meno pronunciati dell'intima, disposti lungo il maggior asse del vaso, di colorito giallognolo. All'esame microscopico appaiono costituite da "foam cells", cellule ricche di lipidi che possono derivare sia dalle cellule della muscolatura liscia che dai macrofagi.

Le placche fibrose, probabilmente derivate dalla degenerazione dei depositi lipidici delle placche ateromasiche, appaiono come lesioni più o meno tondeggianti, del diametro di circa 1 cm, generalmente biancastre. Una tipica placca fibrosa consiste di un "tappo" fibroso, costituito da cellule della muscolatura liscia e tessuto connettivo contenente collagene, elastina e proteoglicani, che copre un'area ricca di macrofagi, cellule muscolari lisce, linfociti T, e da un "core" necrotico più profondo, che contiene detriti cellulari, depositi lipidici extracellulari e cristalli di colesterolo. La placca fibrosa è in grado di avviare l'ostruzione del vaso dalla cui parete si sviluppa.

Le placche complicate, infine, sono probabilmente placche fibrose alterate da necrosi, deposi-

zione di calcio, emorragie e trombosi, fenomeni nei quali gioca un ruolo determinante la cascata infiammatoria (34). L'ischemia cerebrale e l'infarto del miocardio avvengono quando il lume di un'arteria con caratteristiche di vaso terminale viene occluso completamente, generalmente da un trombo che si è formato sulla placca.

I radicali liberi giocano un ruolo determinante nella patogenesi delle lesioni aterosclerotiche attraverso l'ossidazione delle LDL. Questo processo è innescato dalle cellule endoteliali arteriose, dalle cellule della muscolatura liscia e dai macrofagi. L'ossidazione delle LDL, a sua volta, porta alla degradazione degli acidi grassi poliinsaturi con la coniugazione dei corrispondenti frammenti ai fosfolipidi e all'apoproteina B. Quest'ultima, successivamente, va incontro a sua volta a frammentazione e, modificando la sua conformazione, viene riconosciuta dai recettori scavenger presenti sulla membrana dei monociti/macrofagi e, quindi, fagocitata da questi ultimi. L'espressione dei suddetti recettori, però, al contrario di quanto si osserva per i comuni recettori per le LDL, non è modulata da alcun meccanismo di "down-regulation", per cui i macrofagi, inglobando progressivamente LDL ossidate, si trasformano in foam cells ricche di grassi. L'accumulo di queste cellule nello spazio subendoteliale danneggia l'endotelio sovrastante rendendo possibile l'aggregazione delle piastrine e il rilascio di potenziali mitogeni che contribuiscono a favorire lo sviluppo della lesione. Le LDL ossidate, dal canto loro, hanno delle proprietà che le rendono più aterogenetiche delle LDL native: sono citotossiche, inducono l'espressione di molecole di adesione e la produzione di sostanze chemiotattiche, inibiscono l'attività di fattori di rilasciamento endotelio-dipendenti, incrementano l'espressione di fattori tissutali, attivano le piastrine e le cellule T, e stimolano la crescita delle cellule muscolari lisce, l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno e, più in generale, la reazione immunitaria.

Il danno da radicali liberi nelle malattie cardiovascolari, comunque, non si esaurisce nel favorire lo sviluppo dell'aterosclerosi. Infatti, le evidenze accumulate nel corso degli ultimi trent'anni hanno dimostrato un ruolo chiave delle specie reattive nella patogenesi delle lesioni tissutali da cardiovasculopatie anche attraverso l'induzione del cosiddetto danno "da ischemia-riperfusion" (35). Infatti, durante la ripercuzione di tessuti ischemici, si possono formare specie reattive dell'ossigeno, attraverso l'attivazione della xantina ossidasi (29, 50).

Come è stato detto, nel tessuto normale, questo enzima agisce come deidrogenasi trasferendo una coppia di equivalenti riducenti (elettroni) al NAD^+ trasformando la xantina in ipoxantina e quest'ultima in acido urico. Nel corso di un'ischemia sufficientemente protratta, probabilmente per effetto dell'ossidazione di alcuni gruppi tiolici e/o di una

proteolisi limitata calcio-dipendente, la xantina ossidasi può modificare la sua attività catalitica acquisendo la capacità, nella successiva fase di ripercuzione, di trasferire gli elettroni direttamente all'ossigeno molecolare, con produzione di anione superossido. All'enorme accumulo di questa specie reattiva è, dunque, riconducibile il danno da ischemia-riperfusion, proprio nel momento in cui l'ossigeno viene reintrodotta nei tessuti ischemici.

Questo meccanismo gioca un ruolo determinante nelle lesioni osservate in corso di ischemia cerebrale e dopo infarto del miocardio (8, 38, 51).

3. 6. 3 Stress ossidativo e diabete mellito

La maggior parte delle evidenze finora accumulate sul ruolo dei radicali liberi nell'eziopatogenesi del diabete riguarda il diabete mellito di tipo 2, lo stadio finale di una sindrome cronica e progressiva causata da diverse combinazioni di insulino-resistenza e riduzione della funzione delle cellule pancreatiche, dovuta a danni di natura genetica o acquisita (4, 41).

Il diabete mellito di tipo 2 rappresenta solo la "punta dell'iceberg" di disturbi metabolici di lunga durata in grado di esercitare effetti deleteri su tessuti ed organi. Una diagnosi tempestiva e un trattamento adeguato dei pazienti può essere utile per evitare le complicanze tardive del diabete preservando la qualità della vita del paziente (23).

I radicali liberi giocano un ruolo rilevante nella patogenesi del diabete mellito di tipo 2. In questa condizione morbosa, infatti, accanto all'aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno, secondaria all'iperglicemia e/o all'aumentata resistenza insulinica, si osserva contemporaneamente anche una riduzione delle difese antiossidanti, fino a configurare il classico quadro fisiopatologico dello stress ossidativo. Si ritiene che le specie radicaliche siano in grado di compromettere l'azione dell'insulina, contribuendo a far aumentare la glicemia, mentre l'iperglicemia e l'insulino-resistenza, da sole, possono favorire lo stress ossidativo (la prima, in particolare, riducendo l'efficienza delle difese antiossidanti). Schematizzando al massimo il discorso, quindi, i radicali liberi sono coinvolti nella patogenesi del diabete mellito di tipo 2 almeno attraverso due meccanismi fondamentali: l'iperglicemia e l'insulino-resistenza (43).

L'iperglicemia è ritenuta una delle principali cause responsabili dell'aumento della concentrazione plasmatica di radicali liberi nel diabete mellito (10). Tre i meccanismi postulati alla base dell'aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno: la glicazione non enzimatica, l'autoossidazione del glucosio e l'attivazione intracellulare della via dei polioli.

La glicazione non enzimatica è legata alle proprietà chimiche intrinseche del glucosio (6). Quest'ultimo, infatti, è una poliossialdeide e, come

tale, conserva la reattività del suo gruppo carbonilico nei confronti dei gruppi amminici di amminoacidi, proteine e nucleotidi. Tra i prodotti di questa reattività, sono da segnalare i cosiddetti AGE (advanced glycation end products) la cui formazione è favorita dalle specie reattive dell'ossigeno. Il significato patogenetico di questi fenomeni è notevole, se si pensa che l'accumulo di AGE si accompagna a danni microvascolari in distretti critici (retina, nervi periferici, rene) (7).

Il glucosio, sempre per le sue intrinseche proprietà chimiche, può autoossidarsi, generando direttamente radicali liberi e altre sostanze ossidanti. Come altri monosaccaridi, infatti, esso può subire l'azione catalitica di tracce di metalli di transizione allo stato libero (es. ferro o rame) generando radicale idrossile, anione superossido, perossido di idrogeno e derivati carbonilici tossici. Questi ultimi contribuiscono notevolmente ad amplificare il danno ossidativo a carico di altri target molecolari, quali le proteine.

L'attivazione intracellulare della via dei polioli è secondaria all'aumentata disponibilità di glucosio intracellulare libero che, non potendo essere metabolizzato attraverso la glicolisi a causa del deficit insulinico, è trasformato dall'aldoso reductasi in sorbitolo. Quest'ultimo si accumula nella cellula e, convertito in fruttosio dalla sorbitolo-deidrogenasi, provoca un aumento del rapporto NADH/NAD⁺ citosolico.

La suddetta alterazione del bilancio redox (pseudoipossia iperglicemica) favorisce la produzione di anione superossido attraverso la riduzione della PGG₂ a PGH₂ da parte della prostaglandina idroperossidasi NADH-dipendente.

L'insulino-resistenza, che provoca i suoi effetti più deleteri soprattutto a livello del fegato e del muscolo scheletrico, si associa ad un aumentato livello di perossidazione lipidica, almeno in modelli animali (43).

A questo proposito, in colture di adipociti, si è osservato che l'insulina fa aumentare la produzione di perossido di idrogeno il quale, a sua volta, sembra in grado di mimare l'azione dell'ormone stesso; infatti, la somministrazione di vanadio riproduce l'azione mediata dall'insulina attraverso il rilascio intracellulare di radicali liberi.

D'altra parte, l'iperinsulinemia, in vivo, riduce le concentrazioni di vitamina E. Nel complesso, queste osservazioni suggeriscono, dunque, che livelli aumentati di insulina, tipici dell'insulino-resistenza, possono provocare stress ossidativo.

A conclusione di questa breve panoramica, occorre sottolineare che i radicali liberi possono assumere un ruolo determinante nella patogenesi non solo della malattia diabetica in sé ma anche delle

complicanze ad essa legate, quali le cardiovasculopatie, la neuropatia, la embrio-fetopatia, ecc (4). In particolare, è noto che i pazienti diabetici presentano un deficit dell'attività microbica, probabilmente riconducibile ad una difettosa funzione fagocitaria (ridotta produzione di specie reattive da parte dei leucociti polimorfonucleati).

In ultimo, l'aumentata produzione di radicali liberi e/o la ridotta efficienza dei meccanismi di difesa antiossidanti osservati nel diabete mellito di tipo 2 possono accelerare il fisiologico processo di invecchiamento riducendo ulteriormente l'aspettativa di vita dei pazienti.

3. 6. 4 Stress ossidativo e cancro

L'intervento delle specie reattive dell'ossigeno è decisivo nei tumori indotti da radiazioni ionizzanti, da xenobiotici, da metalli e da composti chimici cancerogeni (57, 37). In particolare, le radiazioni ionizzanti agiscono inducendo la fotolisi dell'acqua, che genera il radicale idrossile (19).

Nota per la sua straordinaria capacità istolesiva, quest'ultimo, insieme ad altre specie reattive, è in grado di interrompere i filamenti di DNA o ossidarne le basi, producendo la 8-idrossiguanosina.

L'effetto mutageno che ne consegue può favorire la trasformazione neoplastica (57).

3. 6. 5 Stress ossidativo ed epatopatie

Nel fegato hanno sede i sistemi enzimatici deputati al metabolismo dell'etanolo ed alla biotrasformazione degli xenobiotici, compresi i farmaci (44, 45). In particolare, i microsomi degli epatociti sono direttamente responsabili della produzione di specie reattive nel modello di stress ossidativo da induzione farmacometabolica (1, 45). Lo squilibrio fra status pro-ossidante e difese antiossidanti che ne consegue è ritenuto responsabile del danno cellulare che si osserva in corso di epatopatie alcoliche, da tossici e da farmaci (15, 36, 40).

3. 6. 6 Stress ossidativo e broncopneumopatie

Nel corso dell'ultimo decennio si sono accumulate molte evidenze di ordine sperimentale e clinico che suggeriscono un ruolo cruciale del danno cellulare mediato da specie reattive nella patogenesi di svariate situazioni ed affezioni dell'apparato respiratorio (3, 18, 31, 46). Lo spettro di tali condizioni va da semplici effetti del fumo di sigaretta nel soggetto normale ai danni cronici caratterizzati dalla distruzione dell'interstizio polmonare (enfisema polmonare) o, viceversa, da un suo irreversibile ispessimento (fibrosi interstiziale da agenti esogeni o da iperossia) fino a manifestazioni acute che richiedono un trattamento intensivo (distress respiratorio dell'adulto) (9, 30).

Bibliografia

1. Arthur MJP. *Reactive oxygen intermediates and liver injury*. **1988**. J Hepatology. 6: 125-131.
2. Badwey JA, Karnovsky ML. *Active oxygen species and the functions of phagocytic leukocytes*. Ann Rev Biochem. **1980**. 46: 695-726.
3. Barnes PJ. *Reactive oxygen species and airway inflammation*. Free Rad Biol Med. **1990**. 9: 235-243.
4. Baynes JW. *Role of oxidative stress in development of complication in diabetes*. Diabetes. **1991**. 40: 405-412.
5. Benzi G. *Peroxidation, energy transduction and mitochondria during aging*. Editions John Libbey Eurotext, Paris. **1990**. Pp. 53.
6. Brownlee M. *Glycation products and pathogenesis of diabetic complications*. Diabetes Care. **1992**. 15: 1835-1843.
7. Brownlee M. *Negative consequences of glycation*. Metabolism. **2000**. 49 (2): 9-13.
8. Buonocore G, Zani S, Sargentini I, Gioia D, Signorini C, Bracci R. *Hypoxia-induced free iron released in the red cells of newborn infants*. Acta Paediatr. **1998**. 87:77-81
9. Carp H, Miller F, Hoidal JR, Janoff A. *Potential mechanism of emphysema: α_1 -proteinase inhibitor recovered from lungs of cigarette smokers contains oxidized methionine and has decreased elastase inhibitory capacity*. Proc Natl Acad Sci. **1982**. 79: 2041-2045.
10. Ceriello A. *Oxidative stress and glycemic regulation*. Metabolism. **2001**. 49 (2): 27-29.
11. Chen JJ, Yu BP. *Alteration in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products*. Free Radic Biol Med. **1984**. 17: 411-418.
12. Cornelli U, Cornelli M, Terranova R, Luca S, Belcaro G. *Importanza dello stress ossidativo come fattore di rischio per la morbilità* La Medicina Biologica. **2000**. 1: 13-18.
13. Cornelli U, Cornelli M, Terranova R, Luca S, Belcaro G. *Invecchiamento e radicali liberi*. Progress in Nutrition. **2000**. 3: 37-50.
14. Cornelli U, Terranova R, Luca S, Di Mauro C, Cornelli M. *Lo stress ossidativo e la demenza senile*. La Medicina Biologica. **2001**. 3: 11-15.
15. Crabb DW. *Pathogenesis of alcoholic liver disease: newer mechanisms of injury*. Keio J Med. **1999**. 48: 184-8.
16. Del Maestro RF. *An approach to free radicals in medicine and biology*. Acta Physiol (Scand). **1980**. 442 (Suppl): 153-168.
17. Di Giuseppe J, Fridovich I. *The toxicity of molecular oxygen*. Crit Rev Toxicol. **1984**. 12: 15-342.
18. Doelman CJA, Bast A. *Oxygen radicals in lung pathology*. Free Radic Biol Med. **1990**. 9: 381-400.
19. Fehér J, Csomós G, Vereckei A. *Free radicals reactions in medicine*. Springer Verlag, Heidelberg. **1987**. Pp. 11-17.
20. Freeman BA, Crapo JD. *Biology of disease: free radicals and tissue injury*. Lab Invest. **1982**. 47: 412-426.
21. Grisham MB, McCord JM. *Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites*. In Taylor AE, Matalon S, Ward PA. Physiology of oxygen radicals. American Physiological Society, Bethesda. **1986**. Pp. 1-18.
22. Gutteridge JMC, Wertermarck T, Halliwell B. *Oxygen radical damage in biological systems*. In Johnson JE Jr, Walford R, Harmon D, Miguel J. Free radicals, aging, and degenerative disease. Alan R. Liss Inc, New York. **1985**. Pp. 99-139.
23. Haffner SM. *Clinical relevance of the oxidative stress concept*. Metabolism. **2000**. 49 (2): 30-34.
24. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd Edn. Clarendon Press, Oxford. **1999**.
25. Halliwell B. *Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence?* Lancet. **1994**. 344:721-724.
26. Harman D. *Free radical theory of aging: role of free radicals in the origination and evolution of life, aging and disease processes*. In Johnson JE Jr., Walford R, Harmon D, Miguel J. Free radicals, aging and degenerative disease. Alan R. Liss Inc, New York. **1986**. Pp. 3-49.
27. Hawkins CL, Davies MJ. *Reaction of HOCl with amino acids and peptides: EPR evidence for rapid rearrangement and fragmentation reactions of nitrogen-centered radicals*. J Chem Soc Perkin Trans. **1998**. 2: 1937-1945.
28. Jacob RA. *The integrated antioxidant system*. Nutr Res. **1995**. 15:755-766.
29. Kakita T, Suzuki M, Takeuchi H, Unno M, Matsuno S. *Significance of xanthine oxidase in the production of intracellular oxygen radicals in an in-vitro hypoxia-reoxygenation model*. J Hepatobiliary Pancreat Surg. **2002**. 9: 249-255.
30. Kalra J, Chaudhary AK, Parsad K. *Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers*. Int J Exp Pathol. **1991**. 72: 1-7.

31. Kanazawa H, Kuikhara N, Hirata K, Takeda T. *The role of free radicals in airway obstruction in asthmatic patients*. Chest. **1991**. 100: 1319.
32. Karlsson J. *Antioxidants and exercise*. Human Kinetics. **1997**.
33. Kehrer J P, Smith CV. *Free radicals in biology: sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases*. In Natural Antioxidants in Human Health and Diseases. Frei B. Academic Press, San Diego (CA). **1994**. Pp. 25–62.
34. Kubes P, Ibbotson G, Russel E, Wallace JL, Granger DN. *Influence of white blood cell in ischemia-reperfusion-induced leukocyte adhesion*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. **1990**. 259: G300–G305.
35. Kurose I, Argenbright LW, Wolf R, Lianxi L, Granger DN. *Ischemia-reperfusion-induced microvascular dysfunction: role of oxidants and lipid mediator*. Am J Physiol Heart Circ Physiol. **1997**. 272: H2976–H2982.
36. Kurose I, Higuchi H, Kato S, Miura S, Ishii H. *Ethanol-induced oxidative stress in the liver*. Alcohol Clin Exp Res. **1996**. 20: 77A-85A.
37. Mc Brian DCH, Slater TF. *Free radicals, lipid peroxidation and cancer*. Academic Press. **1982**. London.
38. McCord JM. *Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury*. N Engl J Med. **1985**. 312:159–163.
39. Miller DM, Buettner GR. *Transition metals as catalyst of "autooxidation" reactions*. Free Rad Biol Med. **1990**. 8: 95-108.
40. Naccarato R, Salvagnini M, De Lazzari F, Bortolami M. *Ruolo dei radicali liberi nella epatopatia alcolica*. In Bompiani GD, Galluzzo A. Radicali liberi in fisiologia e patologia. Edizioni Minerva Medica, Torino. **1990**. Pp. 81-90.
41. Neri S, Bruno CM, Leotta C, D' Amico RA, Pennisi G, Ierna D. *Early endothelial alterations in non-insulin-dependent diabetes mellitus*. Int J Clin Lab Res. **1998**. 28:100-3.
42. Orrenius S. *Mechanisms of oxidative cell damage: an overview*. In: Paoletti R et al. Oxidative processes and antioxidants. Raven Press, NewYork. **1994**.
43. Paolisso G, Giugliano D. *Oxidative stress and insulin action: is there a relationship?* Diabetologia. **1996**. 39: 357-363.
44. Perez-Reyes E, Kalyanaraman B, Mason RP. *The reductive metabolism of metronidazole and ronidazole by aerobic liver microsomes*. Mol Pharmacol. **1980**. 17: 239-44. (146)
45. Peterson FI, Mason RP, Hovsepian I, Holtzman IL. *Oxygen-sensitive and insensitive nitroreduction by Escherichia coli and rat hepatic microsomes*. J Biol Chem. **1979**. 254: 4009-4014.
46. Prior WA, Stone K. *Oxidants in cigarette smoke: radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate and peroxyxynitrite*. Ann N Y Acad Sci. **1993**. 686: 12-27.
47. Pryor WAC. *Free radical reactions and their importance in biochemical systems*. Fed Proc. **1973**. 32: 1862-1869.
48. Rikans LE, Hornbrook KR. *Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging*. Biochim Biophys Acta. **1997**. 1362:116-121.
49. Root RK, Metcalf JA. *H₂O₂ release from human granulocytes during phagocytosis*. J Clin Invest. **1977**. 60: 1266-1279.
50. Saugstad OD. *Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production*. Pediatr Res. **1988**. 23:143–150.
51. Saugstad OD. *Role of xanthine oxidase and its inhibitor in hypoxia: reoxygenation injury*. Pediatrics. **1996**. 98:103–107.
52. Sies H, Menck CFM. *Singlet oxygen induced DNA damage*. Mutat Res. **1992**. 275: 367-375.
53. Sies H. *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. **1991**. Academic Press, San Diego (CA).
54. Steinbeck MJ, Khan AU, Karnovsky MJ. *Intracellular singlet oxygen generation by phagocytosing neutrophils in response to particles coated with a chemical trap*. J Biol Chem. **1992**. 267: 13425-13428.
55. Sutton HC, Winterbourn CC. *On the participation of higher oxidative states of iron and copper in Fenton reactions*. Free Radic Biol Med. **1989**. 6:53–60.
56. Toyokuni F. *Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology*. Pathol Int. **1999**. 49: 91-97.
57. Troll W, Wiesner R. *The role of oxygen radicals ad a possible mechanism of tumor promotion*. Annu Rev Pharmacol Toxicol. **1985**. 25: 509.
58. Turrens JF. *Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain*. Biosci Rep. **1997**. 17:3–8.
59. van den Berg JJM, Op den Kamp JAF, Lubin BH, RoelofsenB, Kuypers FA. *Kinetic and site specificity of hydroperoxide-induced oxidative damage in red blood cells*. Free Rad Biol Med. **1992**. 12: 487–498.
60. Winterbourn CC. *Comparative reactivities of various biological compounds with myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride, and similarity of the oxidant to hypochlorite*. Biochim Biophys Acta. **1985**. 840: 204-210.

61. Yu B P. *Cellular defenses against damage from reactive oxygen species*. *Physiol Rev.* **1994**. 74: 139–162.
62. Zs.-Nagy I, Aloj-Totàro E, Pisanti FA. *Le basi citobiologiche dell'invecchiamento*. Piccin. **1988**.

La valutazione del bilancio ossidativo A cura di Eugenio Luigi Iorio

1. Premesse fisiopatologiche

In tutti gli organismi viventi esiste un delicato equilibrio fra la produzione e l'eliminazione delle cosiddette specie chimiche ossidanti (SCO) (1). Sotto questa denominazione si raggruppa una folta categoria di atomi, singoli o raggruppati, ovvero di molecole in grado di sottrarre, in determinate condizioni, uno o più equivalenti riducenti (atomi di idrogeno e/o elettroni) ad altre specie chimiche, per converso, riducenti (1).

Le SCO vengono generalmente suddivise in due grandi categorie, varietà non radicaliche e varietà radicaliche, quest'ultime essendo caratterizzate dal possedere almeno un elettrone spaiato in uno degli orbitali più esterni (1, 2).

In rapporto all'elemento il cui atomo partecipa direttamente all'azione ossidante si distinguono specie chimiche ossidanti o reattive centrate sull'ossigeno (reactive oxygen species, ROS), sull'azoto (reactive nitrogen species, RNS), sul carbonio (reactive carbon species, RCS), sullo zolfo (reactive sulphur species, RSS) e sugli alogeni, in particolare sul cloro (RAS/RCIS) (1, 3). Va rilevato che non tutte le suddette specie a) sono ugualmente reattive, per cui è più corretto usare il termine "ossidanti" che sicuramente le accomuna tutte e b) hanno una brevissima emivita, alcune di esse potendo addirittura essere isolate (es. trifenilmetile) (3).

Le SCO non rappresentano "schegge impazzite" ma normali prodotti del metabolismo cellulare che giocano un ruolo rilevante nell'economia generale dell'intero organismo (1, 3, 4). Infatti, alcune di esse, quali l'anione superossido ($O_2^{\bullet-}$), il perossido di idrogeno (H_2O_2) e il radicale idrossile (HO^{\bullet}), sono comunemente utilizzate dai leucociti polimorfonucleati per distruggere i batteri (killing fagocitario) (1, 5). Altre, come l'ossido di azoto (NO^{\bullet}), svolgono un ruolo determinante nella regolazione della pressione arteriosa e nella modulazione dei fenomeni reattivi (6). Altre ancora, come l'acido ipocloroso (HClO) costituiscono una valida risorsa per la distruzione di cellule tumorali (7, 8).

Purtroppo, in determinate condizioni, aumentando di livello in determinati distretti (es. apparato cardiovascolare, sistema nervoso, articolazioni, intestino, bronchi, cavo orale etc.), le SCO possono, proprio per la loro capacità ossidante, attaccare e, quindi, danneggiare molecole endogene, quali lipidi, glicidi, acidi nucleici e proteine, con conseguenti lesioni dapprima circoscritte e poi via via più diffuse, fino ad un coinvolgimento sistemico (9). Si parla in tali casi, di stress ossidativo o ossidante, un fattore emergente di rischio per la salute (9).

Per prevenire o, comunque, rallentare questi processi indesiderati di ossidazione, nel corso di millenni di evoluzione, gli organismi viventi si sono "adattati" a convivere con la presenza delle SCO, difendendosi dalla potenziale lesività di queste ultime grazie ad un complesso sistema di difesa, costituito dagli antiossidanti (10). Questi comprendono una serie di enzimi (superossidodismutasi, catalasi, perossidasi) e di agenti non enzimatici, di provenienza sia esogena (vitamine, polifenoli) che endogena (acido urico, bilirubina). E' ovvio che quando livelli e/o attività dei sistemi antiossidanti sono in qualche modo compromessi, anche per questa via può derivarne una condizione di stress ossidativo (11).

Sulla base di queste considerazioni, si può definire lo stress ossidativo come una condizione patologica, localizzata o sistemica, conseguente alla rottura del fisiologico equilibrio tra produzione ed eliminazione di SCO (1, 11). Tale condizione può essere l'effetto di

un' aumentata generazione di SCO e/o di una ridotta efficienza dei sistemi di difesa antiossidanti.

Le cause che portano ad un aumento della produzione di SCO possono essere esogene o endogene (3). Le prime comprendono agenti fisici (es. radiazioni ionizzanti), chimici (es. alcol, farmaci, xenobiotici) e biologici (es. virus, batteri), le seconde sono legate ad un'iperstimolazione dei sistemi enzimatici associati alla generazione di ossidanti (NADPH ossidasi della plasmamembrana, catena respiratoria mitocondriale, citocromo P₄₅₀ microsomiale, xantina ossidasi citosolica, etc.) (12).

Viceversa, un abbassamento delle difese antiossidanti può essere legato ad una ridotta assunzione e/o un' aumentato consumo e/o una diminuita biodisponibilità di antiossidanti ovvero a un deficit di attività enzimatiche preposte ad inattivare le SCO (3, 10).

Indipendentemente dall'eziopatogenesi, è oggi ampiamente riconosciuto che lo stress ossidativo gioca un ruolo rilevante non solo nell'accelerare il fisiologico processo dell'invecchiamento, ma anche nel favorire o aggravare una serie di patologie infiammatorie e/o degenerative, quali l'aterosclerosi e l'ipertensione (e le loro temibili conseguenze, quali l'ictus, l'infarto del miocardio, le ischemie periferiche, etc.), il morbo di Parkinson, la malattia di Alzheimer, il diabete mellito, l'obesità, le dislipidemie e persino alcune forme di cancro (1, 13).

Purtroppo, lo stress ossidativo non è una "malattia" nel senso convenzionale del termine ma una condizione patologica "trasversale" comune a molte malattie, che si genera per effetto della rottura di un equilibrio biochimico (14). Per questo motivo, al contrario di qualsiasi altra condizione morbosa nota, esso non esibisce una propria sintomatologia, non dà luogo ad un quadro clinico peculiare, ma si nasconde in qualche modo tra i segni della malattia di base e, quindi, può essere diagnosticato solo se il clinico, a conoscenza di questa problematica, invita il paziente a sottoporsi a specifiche analisi di laboratorio (14).

Oggi, dopo una lunga fase sperimentale, la diagnostica molecolare offre finalmente al medico la possibilità di identificare e di quantificare una serie di marker di stress ossidativo, attraverso una vasta gamma di test, molti dei quali sono già entrati nell'uso clinico con la finalità generale di prevenire il danno ossidativo, diagnosticare o monitorare una condizione di SO e, infine, valutare le indicazioni e l'efficacia di interventi terapeutici e/o di integrazioni antiossidanti in caso di patologia in atto (13-15). Alcuni di tali marker sono stati finanche proposti come predittivi di malattia (13).

Lo scopo del presente capitolo è quello di valutare, alla luce delle evidenze scientifiche disponibili, le performance analitiche e le applicazioni dei test di laboratorio attualmente disponibili per valutare il bilancio ossidativo nella routine clinica.

2. Principi e razionale della valutazione dello stress ossidativo

Sulla base della definizione sopra riportata di stress ossidativo (SO), un' aumentata produzione di specie chimiche ossidanti (SCO) e/o una ridotta efficienza dei sistemi di difesa antiossidante, all'interno o all'esterno delle cellule, può condurre ad un'eccessiva (per)ossidazione di molecole organiche di interesse biologico (es. glicidi, lipidi, amminoacidi, proteine, nucleotidi, acidi nucleici) con conseguente generazione di sottoprodotti di (per)ossidazione (es. idroperossidi, cloroammine, prodotti finali di avanzata glicosilazione, isoprostani, 8-idrossideossiguanosina, etc.) (15). Ciò, a sua volta, può essere accompagnato da una ridotta concentrazione/attività degli antiossidanti nei tessuti e/o nei liquidi extracellulari che rappresentano, quindi, campioni ottimali sui quali effettuare una valutazione dello SO (13, 16).

In altri termini, quando in un organismo vivente si genera una condizione di SO, una certa quantità di SCO può accumularsi nei tessuti e/o nei liquidi biologici fino a supe-

rare i limiti fisiologici. Pertanto, il primo approccio analitico implica la diretta misurazione di tali ossidanti in un campione biologico. Questo obiettivo può essere raggiunto usando la spettrometria di risonanza magnetica dell'elettrone (ESR), in caso di varietà radicaliche, quali l'idrossile o l'idroperossile (ROO^\bullet) (17), ovvero altre tecniche fluorimetriche/fotometriche, in caso di varietà non radicaliche, come il perossido di idrogeno (*vedi più avanti*). Quando, in particolare, una misurazione diretta delle specie radicaliche non è possibile – e questo può essere dovuto alla mancata disponibilità in sede di uno spettrometro ESR – si devono applicare metodi indiretti, spesso indicati come "finger-printing" (lett. impronte digitali) (18). Secondo questo approccio, l'esistenza in un organismo vivente di SCO, non altrimenti misurabili routinariamente, viene valutata qualitativamente e quantitativamente attraverso la documentazione (nei tessuti e/o nei liquidi extracellulari) della presenza di specie molecolari che, avendo subito un attacco da parte dei radicali liberi, ne sono risultate variamente modificate (18). Infatti, appare ormai chiaro che se il livello di SO è talmente elevato da superare le capacità difensive dei sistemi antiossidanti, le SCO possono teoricamente danneggiare qualsiasi componente biochimico della cellula, quali lipidi, amminoacidi, proteine, nucleotidi etc. generando così da queste dei sottoprodotti (per)ossidati (19). Questi ultimi costituiscono il *finger-printing*, ossia i testimoni dell'avvenuto insulto ossidativo (18). In altre parole, si deduce che *in vivo* si sia verificato un danno ossidativo quando questo genera sottoprodotti identificabili e quantificabili *in vitro*. Tali sottoprodotti – dei quali sono riportati in *figura 4* alcuni esempi – vengono considerato biomarcatori di stato ossidante (18).

In tale contesto, poiché la perossidazione è uno dei più comuni meccanismi del danno indotto dai ROS, il dosaggio degli idroperossidi (ROOH), per esempio, fornisce un'indicazione molto affidabile dello status pro-ossidante di un individuo (3, 20, 21).

In questo modello fisiopatologico, una cellula, sia per effetto di stressori esogeni (agenti fisici, chimici e biologici) che per la sua stessa attività metabolica (soprattutto a livello della plasmamembrana, dei mitocondri, del reticolo endoplasmatico e del citosol) inizia a produrre quantità elevate di radicali liberi, tra cui il temibilissimo radicale idrossile (HO^\bullet), una delle più istolesive specie reattive dell'ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS) (1). Tale radicale, infatti, può "attaccare" qualsiasi substrato molecolare (glicidi, lipidi, amminoacidi, peptidi, proteine, acidi nucleici, etc.) e, strappando un elettrone (sotto forma di atomo di idrogeno), radicalizzarlo. Dalla reazione a catena che ne deriva, in presenza di ossigeno molecolare, sono, infine, generati gli idroperossidi (ROOH), agenti relativamente stabili ma dotati di potenzialità ossidanti (20). Per tale motivo, la cellula espelle al suo esterno questi metaboliti reattivi dell'ossigeno (Reactive Oxygen Metabolites, ROM), i quali, a loro volta, diffondono, attraverso le pareti del microcircolo, sia nella matrice che nei liquidi extracellulari, quali il sangue. Qui, in condizioni di ischemia anche lieve, l'attivazione del metabolismo anaerobio induce un rilascio di cataboliti acidi che, provocando un lieve abbassamento del pH, inducono, tra l'altro, una modifica della conformazione della transferrina, che viene così costretta a rilasciare il ferro in forma libera. Sarà questo elemento di transizione, poi, a indurre per via catalitica (reazione di Fenton) la scissione degli idroperossidi in radicali alcossilici (RO^\bullet) e perossilici (ROO^\bullet) (21, 22), in definitiva responsabili di lesioni ossidative a carico sia dell'endotelio che di componenti plasmatiche, quali le LDL. E' evidente, quindi, che gli ROOH rappresentano non solo i "testimoni" ma anche i potenziali "amplificatori" del danno ossidativo a tutte le cellule dell'organismo (21).

Più in generale, la documentazione nei fluidi biologici della presenza di idroperossidi, così come di MDA o di isoprostani, fornisce "l'impronta digitale" più o meno accurata e fedele della componente ossidante dello SO di un individuo (*vedi più avanti*) (18). Per di più, alcuni di questi biomarcatori, possono anche comportarsi da amplificatori del danno

ossidativo, ulteriormente rinforzando l'importanza di rilevare e quantificare queste specie chimiche allo scopo di ridurre non solo l'effetto ma anche la causa dello SO (*vedi più avanti*) (21).

La valutazione delle difese antiossidanti – che sembra apparentemente più semplice rispetto alla quantificazione delle SCO – è generalmente possibile attraverso metodi diretti che determinano attività enzimatiche (es. superossido-dismutasi, catalasi e perossidasi) o misurano i livelli di antiossidanti, idro- o lipo-solubili, endogeni (es. acido urico) o esogeni (es. vitamina C) attraverso la fotometria o la fluorescenza (*vedi più avanti*).

Ovviamente, non tutti i test hanno la stessa valenza diagnostica, per cui bisognerebbe distinguere i test di prima linea da quelli di seconda linea e, in particolare, per la valutazione dello status antiossidante, i test per determinazioni di parametri intracellulari (es. saggi enzimatici, come quello della glutatione perossidasi) dai test per determinazioni di parametri extracellulari (es. dosaggio di vitamine).

In ogni caso, il test ideale per la valutazione dello SO dovrebbe essere adeguatamente validato per confronto con altre metodiche di riferimento universalmente riconosciute dalla comunità scientifica (15). Tra i principali requisiti, dovrebbe possedere sufficienti livelli di sensibilità, specificità e precisione. Dovrebbe riferirsi, poi, a marker sufficientemente stabili, in grado di: a) consentire un'accurata valutazione del livello di SO, b) fornire indicazioni affidabili già in una fase precoce della condizione morbosa, c) anticipare la progressione o l'aggravamento della malattia nel corso di un monitoraggio sistematico e, infine, d) modificarsi con adeguata sensibilità in rapporto ad eventuali trattamenti specifici per la malattia di base o terapie antiossidanti (13). Infine, dovrebbe essere basato su procedure minimamente invasive, ben accette dal paziente, veloci, ed esibire un rapporto ottimale costo/benefici (13).

In ogni caso, nella scelta dei test più idonei, è opportuno che la valutazione dello SO sia "globale", cioè tenga conto sia della componente pro-ossidante che di quella anti-ossidante (14). Pertanto, bisognerebbe effettuare almeno due test, uno in grado di misurare il livello di produzione di radicali liberi, l'altro atto a determinare la capacità o potenzialità antiossidante (14).

Purtroppo, lo SO costituisce un capitolo della biochimica che quantunque non del tutto recente, probabilmente proprio per il suo carattere di "trasversalità" o "interdisciplinarietà", non ha ancora trovato una sua adeguata e soddisfacente collocazione in Medicina. Eppure, una buona anamnesi, un esame clinico più accurato e l'esecuzione di semplici indagini di laboratorio consentirebbe al Clinico un immediato inquadramento del problema, evitando al paziente una serie di conseguenze tali da comprometterne la durata e/o la qualità della vita già nel breve o medio termine.

A rendere più complesso questo quadro – già di per sé poco confortante – c'è da aggiungere che se il medico, per una serie di ragioni, non sempre è adeguatamente "informato" sull'argomento, l'analista di laboratorio non è generalmente "attrezzato" per l'esecuzione di test miranti alla valutazione dello SO. E intanto – paradossalmente – terapeuti, farmacisti, allenatori sportivi e persino estetisti continuano a prescrivere e/o suggerire al soggetto potenzialmente a rischio di SO l'assunzione di integratori ad attività antiossidante. E non importa se quest'ultima sia reale o presunta. Senza tener conto dei possibili effetti indesiderati legati ad un eventuale eccesso di antiossidanti. Infatti, secondo una prassi ormai consolidata, non è abitualmente prevista l'esecuzione preliminare di test di laboratorio, pur disponibili per la routine clinica, per dimostrare – tramite l'identificazione e la quantificazione nei fluidi extracellulari e/o nei tessuti di adeguati marker biochimici – la necessità oggettiva di tali formulazioni. In altri termini, mentre è ormai acquisito che un farmaco ipocolesterolemizzante va assunto solo dopo che un test abbia documentato ine-

quivocabilmente una condizione di ipercolesterolemia, è diffusa la tendenza all'uso di antiossidanti anche quando non è necessario, proprio perché non è ancora diventata buona prassi eseguire preliminarmente una valutazione di laboratorio dello SO.

Queste considerazioni assumono rilevanza non solo nel campo della medicina umana ma anche in quello della medicina veterinaria, ove le implicazioni dello SO sono molteplici e, quindi, altrettante numerose le indicazioni per la valutazione ed il monitoraggio del bilancio redox.

In tale contesto, fra i test attualmente disponibili, alcuni forniscono una valutazione globale delle capacità ossidanti o antiossidanti totali (es. d-ROMs test o TAS, rispettivamente), altri consentono la quantificazione di intere classi chimiche di sostanze accomunate dal possedere un comune gruppo funzionale (es. tioli plasmatici) ed altri ancora, infine, consentono di dosare più specifiche attività enzimatiche/livelli di metaboliti (es. dosaggio della glutatione perossidasi, dosaggio dei tocoferoli) o addirittura singole specie chimiche (es. vitamina C). Su queste basi sembra utile classificare i test più comunemente disponibili per valutare lo SO in due categorie principali: test per lo stato ossidante e test per lo stato antiossidante (anche se alcuni test proposti recentissimamente consentirebbero con la medesima metodica di avere una valutazione contemporanea dello stato ossidante e antiossidante). In ciascuna di queste categorie, quando possibile, si distingueranno i metodi diretti da quelli indiretti e i globali dagli specifici. Un'ulteriore differenziazione può anche esser fatta considerando il campione di partenza, per cui si hanno test su sangue, test su urine, test su liquidi extracellulari etc.

3. Metodi per la valutazione della capacità o potenziale ossidante

3. 1. Metodi per una valutazione globale

Comprendono diversi metodi. Tra questi, uno dei più noti e diffusi, almeno nella pratica clinica, è il d-ROMs test (21, 23, 24).

Il d-ROMs test, sebbene interpretato da molti AA come metodo per determinare il livello totale di idroperossidi in un campione biologico (23), in realtà è un test per valutare globalmente lo stato ossidante di un campione di fluido biologico, quale il siero il plasma o altri liquidi extracellulari, quali il pleurico ed il cefalorachidiano (21, 25–27). Descritta anche una applicazione su plasma seminale (28).

Il d-ROMs test è basato sull'applicazione *in vitro* di un fenomeno che si verifica *in vivo*, a livello del microcircolo (*vedi figura 5*) (*vedi sopra*). Infatti, la diluizione di un campione di siero o plasma in una soluzione tampone acida (buffer acetato pH 4.8) induce – come osservato *in vivo* quando si verifica una condizione di ischemia con microacidosi – il rilascio da parte della transferrina di ioni ferro, che proprio in quanto liberi possono catalizzare la scissione degli idroperossidi presenti nel campione in radicali liberi (RO·, alcossile, e ROO·, idroperossile), secondo la reazione di Fenton (21). Quando alla suddetta soluzione è aggiunta una soluzione contenente un cromogeno, ossia una sostanza potenzialmente in grado di colorarsi, quali la N,N-dietilparafenilendiammina, i radicali alcossilici e idroperossilici appena generati, altamente instabili, strappano un elettrone dall'ammina aromatica che, per effetto dell'ossidazione subita, si trasforma nel radicale catione corrispondente, il quale da incolore assume una colorazione rosa (21). Dalla misura dell'intensità del colore (proporzionale alla concentrazione del radicale catione) è possibile, mediante un fotometro (calcolo della variazione di assorbanza a 505 nm, $\Delta_{\text{abs}}/\text{min}$) determinare la concentrazione di radicali liberi e, quindi, degli idroperossidi inizialmente presenti nel campione biologico (ovviamente usando un adeguato standard biochimico o calibratore, generalmente un siero di controllo di valore noto) (21).

La dimostrazione che il d-ROMs test è un affidabile test per misurare in maniera efficace il livello di idroperossidi in un liquido biologico è stata fornita fin dal 1997 da Alberti et al. del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), che hanno validato il test mediante la ESR, la tecnica universalmente riconosciuta come il golden standard per lo studio *in vitro* delle specie radicaliche (21, 29). Grazie a questa valutazione comparativa, è stato dimostrato che il segnale ottenuto eseguendo il d-ROMs test nella cella piatta di uno spettrometro ESR è completamente sovrapponibile a quello ottenuto seguendo, in parallelo, l'andamento nel tempo della stessa reazione mediante un fotometro (21).

Tuttavia, il pre-trattamento del campione di siero con agenti chelanti, quali l'etilendiamminotetraacetato (ETDA), rendendo inutilizzabile il ferro ai fini della catalisi, è seguito da una riduzione significativa ma non dall'azzeramento del segnale ESR/fotometrico (21). Questo dato sperimentale indica che, almeno una parte della variazione di assorbanza osservata a 505 nm, rilevata eseguendo il d-ROMs test, non è dovuta tutta agli idroperossidi, ma anche ad altre specie chimiche/attività enzimatiche ossidanti (21). Per esempio, le cosiddette cloroammine, ritenute affidabili marker di danno ossidativo indotto dall'acido ipocloroso sui gruppi amminici di amminoacidi e proteine, possono contribuire alla variazione di assorbanza del test (8). Inoltre, siccome il pretrattamento del campione di siero con sodio azide, una sostanza ritenuta essere un inibitore dell'attività (ferr)ossidasi della ceruloplasmina, si accompagna ad una riduzione della variazione di assorbanza, è possibile che il d-ROMs test valuti, sebbene in minima misura, l'ossidazione della N,N-dietilparafenilendiammina apparentemente dovuta alla ceruloplasmina a basso pH (21, 30), un'attività recentemente ipotizzata essere associata al danno vascolare (31).

L'insieme di queste evidenze, indicando la possibilità che il d-ROMs test può misurare più di una classe di ossidanti, derivanti a loro volta da differenti vie metaboliche, rinforza il significato clinico di questo come un metodo in grado di fornire una misura globale e affidabile della capacità ossidante totale del plasma, ovviamente rispetto al sistema redox N,N-dietilparafenilendiammina base/N,N-dietilparafenilendiammina radicale catione (21, 25, 30).

Il range normale del test, disponibile anche per analizzatori multipli, è compreso fra 250 e 300 U CARR (Unità Carratelli, dal cognome dell'inventore, Mauro Carratelli), dove 1 U CARR è *equivalente* a 0.08 mg/dL di perossido di idrogeno (21, 23, 25).

I risultati di numerosi studi indicano che il d-ROMs test è un test affidabile, preciso, ripetibile, con accettabili coefficienti di variazione inter- ed intra-serie, anche quando eseguito con procedure manuali (1-3%) (32, 33). Il limite inferiore di sensibilità è stimato a 17 U CARR. La massima linearità si ha nel range compreso fra 50 e 500 U CARR (23). Il test non è soggetto a rilevanti interferenze analitiche nei confronti dei più comuni analiti sierici, quali trigliceridi (fino 28.2 mmol/L), l'emoglobina (fino a 0.068 mmol/L) e la bilirubina (fino a 171 mmol/L) (32), e può essere agevolmente eseguito su campioni di siero ripetutamente congelati e scongelati, con variazioni minime nei risultati (34). Secondo quanto riportato in letteratura, il d-ROMs test è stato applicato con successo nella valutazione dello stato ossidante in quasi tutti i campi della medicina umana, fornendo evidenze per un suo possibile impiego persino come marcatore di rischio cardiovascolare (15, 35, 36). Interessanti anche i dati ottenuti da studi eseguiti su diversissime specie animali, dai pesci agli uccelli, dai cani ai maiali, dalle mucche ai cavalli etc. (37-43).

Più recentemente, al d-ROMs test si sono aggiunti altri test che, sulla base di principi simili a quelli descritti, sono ora proposti come indicatori dello stato totale ossidante del plasma. Tra questi sono da segnalare i metodi che sfruttano le proprietà redox della 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), utili anche per valutazioni concomitanti della capacità antiossidante totale (44). I valori, riferiti al siero, riportati in soggetti apparentemente sani

dal punto di vista clinico sono risultati pari a 49.0 ± 41.4 Unità HK (percentuale di perossido di idrogeno nella soluzione standard) (44). Il coefficiente di variazione intraserie è risultato compreso tra 1.4 e 3.5% (con una media del 2.1%), quello interserie tra 4.1 e 8.5% (media 6.1%) (44).

Il TOS (Total Oxidant Status), invece, si basa sulla capacità del campione di siero di ossidare il ferro da ferroso a ferrico e di misurare, quindi, il ferro ferrico generato con lo xilenolo arancio. In soggetti apparentemente sani dal punto di vista clinico i valori del test sono risultati equivalenti a 14.19 micromoli/L di perossido di idrogeno (45, 46). Il limite inferiore di rilevamento è 1.13 con una linearità estesa fino a 200 micromoli/L di perossido di idrogeno. La precisione è inferiore al 3% (45, 46).

Ulteriori studi dovranno valutare l'applicabilità e l'affidabilità di questi ultimi metodi nella misurazione routinaria dello SO.

3. 2. Metodi per una valutazione specifica o selettiva

Comprendono metodi diretti e metodi indiretti, per la misura di specie radicaliche e non radicaliche, a livello del plasma o di altri fluidi biologici.

Al momento le specie radicaliche potenzialmente lesive per l'uomo, che sono generalmente a brevissima emivita, possono essere misurate solo mediante la spettroscopia di spin dell'elettrone o (NMRS) o di risonanza magnetica nucleare (ESR), la quale implica due differenti approcci, ossia la quantificazione diretta dei radicali liberi e la misura indiretta degli stessi mediante metodi di *spin trapping* (47). Quando applicabile, l'ESR/NMRS è considerata la tecnica golden standard per studiare i processi ossidativi e, in particolare, il metabolismo delle specie radicaliche. Purtroppo, quantunque essa rimanga una metodica di riferimento per misurare direttamente i radicali liberi, essa non è applicabile – almeno per il momento, in Italia – alla clinica pratica, a causa della sua scarsa disponibilità (numero di apparecchiature, numero di professionisti adeguatamente formati) ed i suoi costi relativamente elevati.

Un esempio di valutazione diretta di SCO non radicaliche è fornita dal dosaggio del perossido di idrogeno su plasma ematico, basato sull'uso della catalasi, o sull'esalato respiratorio (48). In quest'ultimo caso, la reazione fra il perossido di idrogeno del campione biologico con la 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) e perossidasi da rafano genera 3,3',5,5'-tetrametil-1,19-difenochinone-4,4'-diammina, che può essere misurata monitorando l'assorbanza a 450 nm (limite inferiore di sensibilità $0.1 - 0.3 \mu\text{m}\cdot\text{L}^{-1}$) (48).

Una situazione intermedia è quella relativa all'ossido nitrico, che è dosabile sia come tale (es. nell'esalato respiratorio) che a partire dai suoi sottoprodotti (nitrati o nitriti, perossinitriti) (49).

I metodi indiretti di valutazione specifica dello stato o capacità ossidante possono essere ulteriormente classificati sulla base della classe di biomolecole che ha subito il danno primario (lipidi, amminoacidi e proteine, carboidrati, nucleotidi etc.).

In particolare, i lipidi, per la diffusa frequenza nelle loro molecole di doppi legami, costituiscono un facile bersaglio per i radicali liberi, attraverso sia l'inversione isomerica che la perossidazione (1, 19, 20, 50). Quando questo tipo di danno interessa la plasmamembrana, gli effetti possono variare dalla riduzione della fluidità fino alla perdita di funzione enzimatiche, con conseguente alterazione della permeabilità e, in definitiva, sconvolgimento dell'intero metabolismo cellulare (51).

L'inversione isomerica, ossia il passaggio dei doppi legami degli acidi grassi insaturi dalla conformazione *cis* a quella *trans*, può essere adeguatamente valutata attraverso il profilo lipidomico eritrocitario (50). Invece, per lo studio della perossidazione lipidica e, in generale, del danno ossidativo dei lipidi, esistono numerose tecniche, le quali consentono

di quantificare una serie di metaboliti intermedi e terminali generati dalle reazioni radicaliche a catena, man mano che le capacità antiossidanti del sistema si assottigliano (13, 52, 53).

Sulla base di questo modello, diverse metodiche, generalmente basate sulla gascromatografia associata alla spettrometria di massa, consentono di quantificare gli acidi grassi poliinsaturi (PUFA), come l'acido arachidonico, ovvero la composizione percentuale degli acidi grassi di membrana (*profilo lipidomico delle membrane eritrocitarie*) (50). Inoltre, poiché il danno perossidativo implica una perdita di acidi grassi insaturi dai fosfolipidi di membrana, anche quest'ultima può essere quantificata ed utilizzata validamente come indice di lesione su base ossidativa (54).

Quando il processo perossidativo a carico degli acidi grassi poliinsaturi procede, possono essere generati i cosiddetti dieni coniugati, i quali sono rilevabili e quantificabili direttamente per via spettrofotometrica (assorbimento UV) (53).

Il successivo step della catena di reazioni implicate nella perossidazione, comporta la formazione degli idroperossidi. Questi ultimi sono in parte dosabili mediante il d-ROMs test (*vedi sopra*) (21) ma sotto forma di idroperossidi lipidici, o lipoperossidi, richiedono metodiche più specifiche. Tra queste è da ricordare il dosaggio dei lipoperossidi mediante perossidasi associata al substrato cromogeno tetrametilbenzidina (*vedi sopra*) (44).

Ai perossidi lipidici fa seguito la generazione di una serie di prodotti ciclici, quali isoprostani e endoperossidi, che vengono, infine, frammentati generando prodotti di decomposizione, principalmente aldeidi reattive α , β -insature, quali 4-idrossi-2-nonenale (HNE), 2-propenale (acroleina) e malonildialdeide (MDA), ed alcani, quali il pentano e l'etano (13, 53, 55).

Gli isoprostani F sono specie chimiche contraddistinte dalla presenza, nella loro molecola, di un anello prostaglandinico di tipo F e, quindi, comprendono, virtualmente, l'insieme di 64 classi di composti assimilabili, come struttura di base, alla prostaglandina F₂ (13). I loro immediati precursori, come si è detto, sono i residui di acido arachidonico. Questi ultimi, per azione diretta dei radicali liberi, vengono dapprima ossidati, nel contesto dei fosfolipidi di membrana, di cui occupano la posizione 2-*sn*, e poi rilasciati dalle cellule, per azione catalitica della fosfolipasi A₂, come isoprostani. In questa forma essi possono essere identificati e quantificati, grazie anche alla loro particolare stabilità chimica (13).

Gli isoprostani F₂ sono considerati marcatori molto affidabili di SO per una serie di ragioni (13, 15). Infatti, la loro generazione *in vivo* aumenta in funzione del livello di SO. Inoltre, possono essere misurati accuratamente fino ad ordini di concentrazione bassissimi, come quello picomolare, grazie ad una serie di tecniche, quali la spettrometria di massa (associata a cromatografia in fase gassosa o liquida), molto sensibile e specifica, o il dosaggio immunologico, molto sensibile (se eseguito in RIA) ma meno specifico (in quanto non sempre in grado di distinguere gli isoprostani da altri prostanoidi). Infine, essendo presenti in quantità dosabili in tutti i tessuti ed i liquidi biologici, consentono di definire un intervallo di riferimento, non subiscono oscillazioni ritmiche, non sono modificati dall'apporto lipidico della dieta e si prestano anche a dosaggi non invasivi, essendo presenti anche nell'esalato respiratorio e nelle urine. Numerosi studi hanno dimostrato che questi composti sono utili marcatori *ex vivo* di SO in numerose condizioni cliniche, come le patologie infiammatorie (acute e croniche), le malattie da ischemia-riperfusion, l'aterosclerosi e il diabete (13, 15, 56). Il livello plasmatico degli isoprostani, misurati secondo una delle tecniche più diffuse (8-ISO), è inferiore a 60 pg/mL (*Longini et Al., dati non pubblicati*).

L'insieme dei prodotti aldeidici terminali, in primis la MDA, costituisce il gruppo delle sostanze reattive con l'acido barbiturico (TBARS), universalmente considerate affidabili

marcatori di danno ossidativo di matrice lipidica (13, 15). In realtà, il dosaggio della MDA, almeno nella sua modalità più comune, presenta non poche limitazioni, quali la scarsa specificità (55). Studi recenti suggeriscono che il vero indicatore di danno ossidativo non è la malonildiadeide "legata", cioè presente sotto forma di base di Schiff nel contesto di ammine biologiche, ma quella libera, rilevabile mediante spettrometria di massa con l'uso di uno standard deuterato (55).

Infine, prodotti terminali, quali gli idrocarburi, possono essere dosati nell'esalato respiratorio (21, 29).

Quando la perossidazione interessa molecole circolanti, come il colesterolo e gli acidi grassi insaturi veicolati dalle lipoproteine plasmatiche, essa può essere adeguatamente valutata attraverso il dosaggio delle lipoproteine ossidate (ox-LDL) o degli anticorpi anti-LDL ossidate (15, 57–59).

Il danno delle specie reattive a carico delle proteine può essere valutato attraverso il dosaggio dei carbonili proteici totali, derivati dall'ossidazione dei gruppi carbossilici e/o delle catene laterali degli amminoacidi, quali lisina, arginina, prolina e treonina (60). È possibile anche una stima accurata di tali specifiche specie chimiche, attraverso tecniche di gel-elettroforesi (13). Altre metodiche prevedono la valutazione dei perossidi e della perdita di gruppi tiolici, la riduzione della fluorescenza (monitorando il triptofano), il dosaggio delle proteine clorate o nitate, e la determinazione degli amminoacidi idrossilati (13). Altre possibilità ancora si basano sul dosaggio degli addotti di Michael generati dalla reazione tra le aldeidi α , β -insature e i residui di alcuni amminoacidi quali lisina, istidina e cisteina (ALE) o dalla reazione di glicazione/glicoossidazione tra gruppi aldeidici e la lisina (AGE, advanced glycation end products) (13, 61). Fra i test più diffusi nella pratica clinica, in tale contesto, è da citare l'AOPP (dosaggio dei prodotti di avanzata ossidazione proteica), i cui valori normali sono inferiori a 29 micromoli/L (13).

Il danno ossidativo a carico dei nucleotidi, soprattutto quelli del DNA, può essere quantificato attraverso una serie di test (13). Infatti, il DNA, facile preda dell'attacco da parte dei radicali idrossilici, può generare una serie di sotto-prodotti di ossidazione ove la base azotata e/o il deossiribosio sono variamente modificati. Il dosaggio di tali specie chimiche può essere effettuato mediante spettrometria di massa, associate a cromatografia liquida o gassosa ad alta risoluzione, ovvero immunologiche (62). Il test più diffuso prevede il dosaggio plasmatico o urinario della 8-idrossi-20-deossiguanosina (8-OH-dG), considerata un marcatore specifico di danno ossidativo del DNA (13). Quest'ultimo, tuttavia, può subire anche altri tipi di danno, quali la nitratura o la deamminazione delle basi, con ulteriori possibilità di valutazione (13).

Accanto ai test fin qui descritti per la identificazione e la quantificazione del danno ossidativo a carico di specifiche classi di molecole organiche, sono da citare due test specifici per la valutazione dello SO in funzione dell'attività dei leucociti polimorfonucleati (3). Il primo è il test di chemiluminescenza, considerato un buon indice dell'attivazione del metabolismo ossidativo dei neutrofili; esso consiste nella misurazione dell'emissione di chemiluminescenza da parte dei fagociti del sangue periferico; l'attivazione basale dei neutrofili viene calcolata in cps/cell (colpi rilasciati da un singolo neutrofilo in un secondo); tali valori hanno un range di normalità compreso fra 0.10-0.32 cps/cell; l'attivazione dei neutrofili dopo stimolazione con forbolo miristato acetato (PMA) è anch'essa calcolata in cps/cell ed ha un range di normalità compreso fra 0.55 e 0.90 (63, 64). Il secondo è il dosaggio della mieloperossidasi, l'enzima che catalizza, in presenza di cloruri, la conversione del perossido di idrogeno in acido ipocloroso, un potente ossidante; tale enzima è espressione di processi infiammatori su base ossidativa ed è considerato, secondo alcuni studi, un marcatore e indice predittivo di danno cardiovascolare (7, 8, 65).

Infine, sono associati al danno ossidativo alcune tecniche indirette che misurano il ferro libero (NPBI). I valori normali sono inferiori a 2.3 micromoli/L (*Longini et Al., dati non pubblicati*).

4. Metodi per la valutazione della capacità o potenziale antiossidante

4. 1. Metodi per una valutazione globale

A livello tissutale e, in particolare, ematico, la difesa nei confronti dell'attacco lesivo delle specie ossidanti, e in particolar modo, dei radicali liberi, è garantita dalla cosiddetta barriera antiossidante plasmatica (66). Ne fanno parte sostanze sia di natura esogena (es. ascorbato, tocoferoli, carotenoidi, bioflavonoidi, ecc.) che endogena (es. proteine, bilirubina, acido urico, colesterolo, GSH, ecc.) (66). Ciascuna di queste sostanze possiede un proprio potere o capacità antiossidante, cioè è in grado di opporsi più o meno efficacemente, in funzione del proprio potenziale di ossido-riduzione, all'azione "ossidante" ascrivibile alle specie reattive (3). Tale potere è legato alla proprietà dei componenti della barriera di cedere "equivalenti riducenti" (ossia elettroni o atomi di idrogeno) alle SCO, evitando che queste li sottraggano a componenti biochimici essenziali e prevenendo, in questo modo, l'innescarsi di pericolose reazioni a catena (5). Ovviamente, qualsiasi "insulto" alla barriera antiossidante plasmatica favorisce l'insorgenza delle alterazioni tipiche dell'invecchiamento e delle malattie correlate con lo SO.

I metodi per la valutazione globale dello stato antiossidante (capacità o potenziale antiossidante) si basano sul rationale che la riduzione della concentrazione/attività di uno o più componenti biochimici preposti alla neutralizzazione delle specie ossidanti in un determinato sistema biologico è indicativo di un'alterazione del bilancio ossidativo e, pertanto, segnala una condizione di SO da riduzione delle difese antiossidanti (*vedi appresso*). In genere questo tipo di valutazione si effettua su fluidi extracellulari, in particolare su sangue (plasma o siero), e costituisce un approccio che offre numerosi vantaggi, quali la suscettibilità a modifiche in seguito al trattamento con antiossidanti (*vedi appresso*). Inoltre, il dosaggio contemporaneo di più antiossidanti è considerato uno strumento tecnicamente valido perché molti dei componenti di questo sistema di difesa lavorano tra loro in concerto (67, 68).

Sulla base del principio impiegato si distinguono almeno due differenti gruppi di test per la valutazione dello stato ossidante nel siero/plasma, ognuno dei quali presenta vantaggi e svantaggi.

Il primo gruppo di test si basa sulla capacità di un campione di siero/plasma di inibire l'azione ossidante, esercitata nei propri confronti, da un sistema generatore di specie ossidanti (66, 68). Quanto più elevata è la capacità antiossidante del campione biologico, tanto più bassa sarà la concentrazione della specie ossidante residua, quantificata per via fotometrica mediante apposito cromogeno riducente (66, 68).

Su questo principio si basano il Total Antioxidant Status e l'OXY-Adsorbent test.

In particolare, nel TAS, l'aggiunta al sistema generatore di specie ossidanti – previamente preparato mescolando a *met*-mioglobina con il perossido d'idrogeno – di uno specifico cromogeno, il 2,2'-Azino-Bis(3-etilbenzo-Tiazolin-6-Sulfonato) (ABTS), determina la formazione di un complesso ferroeattivo colorato, rilevabile fotometricamente a 600 nm (69). L'aggiunta del campione di plasma indurrà una decolorazione di entità direttamente proporzionale alla capacità antiossidante del campione testato. Concorrono a tale capacità, in ordine decrescente, l'albumina (43%), l'acido urico (33%), l'ascorbato (9%), l' α -tocoferolo (3%), la bilirubina (2%) ed una serie di agenti/attività non ancora identificate (10%) (70). I risultati vengono espressi in mmoli/L di Trolox equivalenti (usando l'acido 6-idrossi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carbossilico, TEAC). Il valore di riferimento nella po-

polazione adulta apparentemente sana è 1.54 ± 0.02 mmol/L (70). Valori più bassi (1.28 ± 0.03 mmol/L) si riscontrano negli anziani di età superiore ai 70 anni. Il test è lineare da 0 a 2.5 mmol/L (Unità Trolox). La precisione del test è notevole (70). Infatti, il suo coefficiente di variazione intraserie è pari a 0.54% per plasmi ad alto titolo antiossidante e 1.59% per plasmi a basso titolo antiossidante; il coefficiente di variazione inter-serie è, invece, 3.6% e 6.1%, rispettivamente. Il test può essere eseguito su plasma o siero, richiede piccoli volumi (5 microlitri) e fornisce il risultato in meno di 5 minuti. Esso può essere effettuato sia manualmente sia in automatico. Disponibili calibratore e siero di controllo.

L'OXY-Adsorbent test valuta il potere antiossidante della barriera plasmatica misurando la capacità di quest'ultima di opporsi all'azione ossidante massiva dell'acido ipocloroso (HClO) (71, 72). Il principio è analogo a quello del TAS, dal quale il test differisce per la natura del sistema ossidante (l'HClO, appunto) e del cromogeno (la N,N-dietilparafenilendiammina). Rispetto ad un adeguato standard, la concentrazione del complesso colorato sarà in questo caso direttamente proporzionale alla concentrazione di HClO rimasta in eccesso e inversamente proporzionale alla capacità antiossidante del plasma analizzato. In altri termini, quanto più bassa sarà la concentrazione residua dell'HClO, rilevata fotometricamente, tanto più elevata sarà la capacità antiossidante del campione di plasma esaminato, e viceversa. Normalmente, 1 mL di plasma umano è in grado di "adsorbire" almeno 350 μ mol di HClO. Pertanto, vengono considerati normali valori superiori a 350 mM. Il test risulta lineare in un ampio intervallo di concentrazioni e, per quanto riguarda la precisione analitica, in studi controllati, ha esibito un coefficiente di variazione intraserie di 2.2% ed interserie di 6.3%. Disponibili, anche in questo caso, calibratore e siero di controllo (71, 72).

Concettualmente analoghi all'OXY-adsorbent test sono i metodi TRAP (total peroxy radical trapping capacity) (66). La versione originale del TRAP è basata sulla generazione, a velocità costante, di radicali perossilici, per effetto della decomposizione termica di azoiniziatori, secondo la reazione $R-N=N-R + O_2 \rightarrow 2 ROO\cdot + N_2$. Il dosaggio vero e proprio si basa su varie tecniche che prevedono la captazione massimale di ossigeno, la generazione di chemiluminescenza potenziata dal luminolo o l'abbattimento della fluorescenza della ficoeritrina (73). Fra le diverse varianti proposte è da citare test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), che misura l'attività scavenger di un campione di siero/plasma nei confronti dei radicali perossilici indotti dal diidrocloreuro di 2, 2'-azobis (2 amidinopropano) (AAPH), usando la β -ficoeritrina (BPE) come sonda fluorescente (73). In pratica, i radicali perossilici reagiscono con la sonda fluorescente per formare un prodotto non fluorescente che è quantificato fluorimetricamente. La capacità antiossidante viene determinata sulla base della velocità di decremento e della quantità del prodotto formato nel tempo. L'ORAC è un test ampiamente usato anche per quantificare la capacità antiossidante di numerosissime varietà di frutta e verdure (punteggio ORAC).

Un'evoluzione dei metodi TRAP può essere considerato il test TOSC (Total Oxidant Scavenging Capacity), che consente di determinare in maniera specifica la capacità "adsorbente" di antiossidanti nei confronti di tre potenti ossidanti, quali il radicale idrossile, i radicali perossilici ed il perossinitrito, usando come substrato ossidabile l'acido α -cheto- γ -metiolbutirrico (KMBA) e monitorando l'etilene prodotto per via gas-cromatografica (13, 74).

Del tutto differenti come principio, rispetto a quelli appena descritti (TAS, OXY e TRAP), sono i test – secondo gruppo – che valutano la capacità o potenziale antiossidante plasmatico in funzione della capacità del campione ematico di ridurre un metallo di transizione, generalmente il ferro o il rame.

Tra questi, il FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, potere antiossidante ferroduttore), sviluppato da Benzie e Strain, si basa sulla capacità del plasma di ridurre il complesso Fe(III)-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) a complesso Fe(II)-TPTZ, colorato in blu (assorbanza massima a 595 nm) (75). La reazione consente di misurare la capacità antiossidante di agenti riducenti con potenziali redox inferiori a 0.7 Volt e, quindi, in ordine decrescente: l'acido urico (60%), l'acido ascorbico (15%), le proteine (10%), l' α -tocoferolo (5%), la bilirubina (5%) ed altre sostanze/attività non identificate (5%) (75). Il test non consentirebbe, invece, di valutare i tioli. Il range di normalità, nell'Uomo, è compreso fra 612 e 1634 micromoli/L (valori riferiti ad un campione di popolazione di razza cinese). Il coefficiente di variazione intra-serie è inferiore all'1%, quello inter-serie è al di sotto del 3%. Il test è applicabile ad analizzatori multipli (75).

Il BAP test (Biological Antioxidant Potential, potenziale biologico antiossidante), sviluppato da Carratelli, è una versione in qualche modo semplificata del FRAP, del quale condivide il principio generale (76). In questo caso, infatti, il campione di plasma da analizzare è disciolto in una soluzione colorata, preparata al momento mescolando del cloruro ferrico con un isotiocianato; gli antiossidanti riducenti presenti nel campione (gli stessi che reagiscono col FRAP) ridurranno il ferro dalla forma ferrica a quella ferrosa, provocando una proporzionale decolorazione della soluzione iniziale; la reazione viene seguita monitorando l'assorbanza a 505 nm. I risultati sono espressi in micromoli/L di ferro ridotto. Sono considerati ottimali valori superiori a 2200 micromoli/L. Il coefficiente di variazione intra-serie è 4.8%, quello inter-serie 5.4%. Per la sua semplicità e affidabilità, unitamente alla possibilità di essere eseguito su analizzatori multipli, il BAP test si sta rivelando particolarmente utile nella routine clinica per monitorare l'efficacia di trattamenti antiossidanti (77, 78).

Si basano, invece, sulla capacità del plasma/siero di ridurre il rame da rameico (Cu^{2+}) a rameoso (Cu^+), l'AOP-490 ed il CUPRAC (79). Nell'AOP-490, la batocuproina (2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina) forma un complesso 2:1 con il Cu(I), dando origine ad un cromoforo con massimo di assorbimento a 490 nm (66). Nel CUPRAC si usa la neocuproina (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina) che genera un complesso con CuI che assorbe a 450 nm (66). I maggiori limiti di questo sistema sono relativi alla scarsa idrosolubilità dei cromofori ed al più basso numero di agenti riducenti rilevabili nel plasma, rispetto al FRAP o al BAP (dato il più basso potenziale di riduzione del rame rispetto a quello del ferro).

Purtroppo, a causa dei differenti principi chimici che ne sono alla base, i metodi per la valutazione della capacità antiossidante totale fin qui descritti forniscono talvolta risultati tra loro non confrontabili, che potrebbero inficiarne l'utilizzo nella pratica clinica (66). In realtà, ognuno di questi approcci analitici fornisce un tipo di informazione di per sé attendibile, per cui il rischio di errori, nel caso di applicazioni routinarie, può ridursi sottoponendo il paziente ad almeno due di questi test, basati su due differenti principi (es. capacità "adsorbente" nei confronti di specie ossidanti e capacità metallo-riducente) (25).

4. 2. Metodi per una valutazione specifica o selettiva

Esistono diversi metodi per valutare il livello o l'attività dei sistemi antiossidanti a livello di campioni biologici, in particolare nel sangue.

I livelli di antiossidanti possono essere relativi a molecole endogene, di natura proteica (es. albumina, ferritina, transferrina, ceruloplasmina) o non proteica (es. acido urico, bilirubina, melatonina), ovvero esogene, di natura vitaminica (es. carotenoidi, tocoferoli, ascorbato), simil-vitaminica (polifenoli, bioflavonoidi) o minerale (selenio, zinco, rame, ferro, etc.). Vari i principi delle metodiche usate, dalla fotometria alla fluorescenza, con

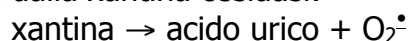
frequente impiego di tecniche di separazione ad elevata prestazione (gas-cromatografia, HPLC etc.) (3, 13).

Un discorso a parte va fatto – come sopra accennato – per la ceruloplasmina, tradizionalmente inserita fra i marker di attività antiossidante. Infatti, legando il rame impedisce ad esso di generare radicali alcossilici e perossilici dai perossidi, secondo la reazione di Fenton. Studi recenti, tuttavia, dimostrano che in condizioni di basso pH la ceruloplasmina può esibire attività pro-ossidanti nei confronti del ferro e di alcune ammine aromatiche così contribuendo al potere ossidante del siero (21). Da questo punto di vista la ceruloplasmina è stata recentemente inserita anche tra i marker di SO correlati con lo sviluppo dell'aterosclerosi (31).

I valori medi riportati per i soggetti apparentemente sani per alcune di queste sostanze sono i seguenti: α -tocoferolo 16.3 ± 3.37 $\mu\text{mol/L}$, acido ascorbico 38.3 ± 13.62 $\mu\text{mol/L}$ e retinolo 1.33 ± 0.30 $\mu\text{mol/L}$ (*Di Lorenzo et Al, dati non pubblicati*).

Le attività enzimatiche misurabili si riferiscono, principalmente, alla superossido-dismutasi, alla glutatione perossidasi, alla glutatione reduttasi ed alla catalasi, delle quali è noto il ruolo difensivo nei confronti di varie specie ossidanti, specialmente a livello dei leucociti polimorfonucleati.

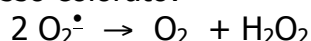
L'attività della superossido-dismutasi (SOD) (70) viene misurata cimentando la fonte enzimatica, un lisato di eritrociti, con un sistema generatore di anione superossido (O_2^\bullet), secondo la reazione catalizzata dalla xantina ossidasi:



L'anione superossido così generato viene fatto reagire con un sale di p-iodonitrotetrazolio (INT) generando così un complesso formazanico colorato in rosso (INT):



A questo punto, la SOD presente nel campione catalizza la trasformazione in acqua ossigenata dell'anione superossido, che viene così sottratto per competizione all'INT, con conseguente inibizione del complesso colorato:



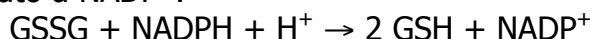
Infine, l'attività della SOD viene quantificata sulla base della misura del grado di inibizione della formazione del complesso colorato.

I risultati sono espressi in UI/grammi Hb. I valori di normalità rilevati in un campione di soggetti adulti apparentemente sani dal punto di vista clinico sono apparsi pari a 954.30 ± 198.0 UI/g Hb negli uomini e 967.60 ± 226.1 UI/g Hb, con oscillazioni in lieve eccesso, ma non statisticamente significative, nei ragazzi e nelle ragazze (70).

L'attività della glutatione perossidasi (70) viene misurata generalmente su lisati di eritrociti, aggiungendo al campione da analizzare glutatione ridotto e cumene idroperossido, secondo la reazione:

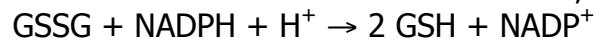


Il glutatione ossidato prodotto è ridotto dalla glutatione reduttasi, in presenza di $\text{NADPH} + \text{H}^+$, che è ossidato a NADP^+ :



L'ossidazione progressiva del NADP^+ nel tempo è, quindi, monitorata fotometricamente seguendo la riduzione dell'assorbanza a 340 nm, sulla base della quale è possibile quantificare, infine, l'attività della glutatione perossidasi inizialmente presente nel campione. I risultati del test sono espressi in U/g di emoglobina. Il valore medio calcolato su soggetti apparentemente sani dal punto di vista clinico è risultato pari a 51.5 ± 13.0 U/g di emoglobina (70). La misura dell'attività glutatione perossidasi, eseguibile anche su analizzatori multipli, è risultata un valido marcatore predittivo di danno cardiovascolare (80).

L'attività della glutatione trasferasi, fondamentale per la rigenerazione del glutatione ridotto, viene anch'essa misurata su lisato di eritrociti o su siero/plasma (70). Nel saggio l'enzima presente nel campione da analizzare riduce il glutatione ossidato, usato come substrato, a spese del $\text{NADPH} + \text{H}^+$ che è rilasciato come NADP^+ , secondo la reazione:



L'attività glutatione-reduttasica è misurata cineticamente misurando il grado di riduzione dell'assorbanza a 340 nm indotta dall'ossidazione del $\text{NADPH} + \text{H}^+$ a NADP^+ . I valori di riferimento nella popolazione apparentemente sana dal punto di vista clinico sono compresi fra 47 e 79 U/L (per siero o plasma) (81).

L'attività della catalasi ematica può essere valutata mediante tecnica fotometrica. Il suo valore di riferimento, calcolato su un ampio campione di soggetti in apparente buona salute, è risultato 111.3 ± 16.5 MU/L (pari a 0.841 ± 0.107 MU/g Hb) (82).

Accanto alla valutazione delle attività enzimatiche, è da ricordare la titolazione dei tioli plasmatici, basata sulla capacità dei gruppi sulfidrilici (-SH) di sviluppare un complesso colorato rilevabile fotometricamente (picco di assorbimento a 405 nm) quando reagiscono con l'acido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico (83). I valori di riferimento (almeno in una delle versioni più diffuse della metodica, l'-SHP test) sono compresi fra 450 e 650 μM (71). Il test si è rivelato particolarmente utile nel rivelare una condizione di alterato bilancio ossidativo nella sindrome di Down, soprattutto per la sua capacità di modificarsi favorevolmente (incremento dei valori nel tempo) dopo trattamento con integratori a base di acido lipoico, una nota "fonte" di gruppi sulfidrilici (71, 84).

Infine, la determinazione del destino di alcuni antiossidanti a basso peso molecolare può essere un buon indicatore del danno ossidativo, perché alcuni addotti sono specifici (70). Per esempio, l'attacco da parte delle SCO dell'acido urico genera la produzione di allantoina, così come l'attacco dell'acido ascorbico genera l'acido deidroascorbico. Analogamente, la determinazione del rapporto tra un ossidante ed un riducente (es. acido ascorbico/deidroascorbico o glutatione ridotto/glutatione ossidato) può essere un utile indicatore di danno ossidativo (13).

5. Metodi per valutare simultaneamente potenziale ossidante e antiossidante

Molto recentemente sono stati proposti test per la valutazione globale del bilancio ossidativo basati sull'impiego di un medesimo substrato cromogeno (es. 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) che viene usato nello stesso saggio, generalmente fotometrico, dapprima come riducente, per misurare la capacità ossidante e poi come ossidante, per misurare la capacità antiossidante del campione biologico prescelto (per lo più plasma o siero) (44).

6. Considerazioni conclusive

Dopo una lunga fase di studio sono finalmente disponibili nella pratica clinica numerosi test per la valutazione del bilancio ossidativo. Grazie ad essi sarà gradualmente possibile porre una diagnosi di laboratorio di SO sempre più precisa ed affidabile. Già da oggi, comunque, è possibile stabilire in tempo reale se lo SO misurato è dovuto ad un' aumentata produzione e/o ad una ridotta capacità di eliminazione dei radicali liberi. In questo modo anche il monitoraggio della terapia antiossidante può iniziare a poggarsi su basi più solide e uscire dalla fase empirica in cui spesso viene a trovarsi.

Inoltre, poiché i comuni test di laboratorio non forniscono alcuna specifica e, quindi, valida indicazione sul bilancio ossidativo dell'organismo *in toto* o di un suo distretto, tutti dovrebbero sottoporsi alla valutazione dello SO, anche in condizioni di buona salute e, a maggior ragione, se si è esposti in maniera non episodica a fattori pro-ossidanti (es. stili di

vita non corretti, inquinanti nell'ambiente di lavoro ecc.) o si è affetti da patologie croniche degenerative (es. diabete, aterosclerosi, neoplasie, demenza, artrite reumatoide, ecc.) o, infine, si è costretti a subire determinati trattamenti (es. dialisi, by-pass, trapianto d'organo, pillola, radioterapia, chemioterapia, ecc.).

Solo grazie a questa valutazione sarà possibile ottimizzare terapie specifiche e monitorare la reale efficacia di formulazioni antiossidanti, troppo spesso assunte senza che un test ne abbia documentato la reale necessità.

Bibliografia essenziale

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd Edn, Clarendon Press, Oxford. **1989**.
2. Gardes-Albert M. *Physico-chemical aspects of reactive oxygen species*. Ann Pharm Fr. **2006**. 64 (6): 365–372.
3. Bompiani GD, Galluzzo A. *Radicali liberi in fisiologia e patologia*. Edizioni Minerva Medica, Torino. **1990**. Pp. 19-24.
4. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. Int J Biochem Cell Biol. **2007**. 39 (1): 44–84.
5. Delattre J. *Introduction: from molecular oxygen to oxidative stress and radical biochemistry*. Ann Pharm Fr. **2006**. 64 (6): 363.
6. Ignarro LJ. *Nitric oxide a unique endogenous signaling molecule in vascular biology*. Nobel Lecture. December, 8. **1998**. 178–198.
7. Winterbourn CC. *Comparative reactivities of various biological compounds with myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride, and similarity of the oxidant to hypochlorite*. Biochim Biophys Acta. **1985**. 840: 204–210.
8. Hawkins CL, Davies MJ. *Reaction of HOCl with amino acids and peptides : EPR evidence for rapid rearrangement and fragmentation reactions of nitrogen-centered radicals*. J Chem Soc Perkin Trans. **1998**. 2: 1937–1945.
9. Cornelli U, Cornelli M, Terranova R, Luca S, Belcaro G. *Importanza dello stress ossidativo come fattore di rischio per la morbilità* La Medicina Biologica. **2000**. 1: 13–18.
10. Cadenas E, Packer L. *Handbook of antioxidants*. Marcel Dekker Inc, New York. **1996**.
11. Favier A. *Oxidative stress in human diseases*. Ann Pharm Fr. **2006**. 64 (6): 390–396.
12. Beaudeux JL, Peynet J, Bonnefont-Rousselot D, Therond P, Delattre J, Legrand A. *Cellular sources of reactive oxygen and nitrogen species. Roles in signal transcription pathways*. Ann Pharm Fr. **2006**. 64 (6): 373–381.
13. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. *Biomarkers of oxidative damage in human disease*. Clinical Chemistry. **2006**. 52 (4): 601–623.
14. Iorio EL, Cinquanta L, Pisano R. *A diagnostic algorithm to manage oxidative stress*. Australasian J Cosmet Surg. **2006**. 2 (1) : 26–30.
15. Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. *Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events*. Circulation. **2004**. 109 (Suppl. IV): IV-6 –IV-19.
16. Ogino K, Wang DH. *Biomarkers of oxidative/nitrosative stress: an approach to disease prevention*. Acta Med Okayama. **2007**. 61(4): 181–189.
17. Kopáni M, Celec P, Danisovic L, Michalka P, Biró C. *Oxidative stress and electron spin resonance*. Clin Chim Acta. **2006**. 364(1–2): 61–66.
18. Karlsson J. *Antioxidants and exercise*. Human Kinetics. **1997**.
19. Therond P. *Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA)*. Ann Pharm Fr. **2006**. 64 (6): 383–389.

20. Miyamoto S, Ronsein GE, Prado FM, Uemi M, Corrêa TC, Toma IN, Bertolucci A, Oliveira MC, Motta FD, Medeiros MH, Mascio PD. *Biological hydroperoxides and singlet molecular oxygen generation*. IUBMB Life. **2007**. 59(4–5):322–331.
21. Alberti A, Bolognini L, Macciantelli D, Carratelli M. *The radical cation of N,N-diethyl-para-phenylenediamine: a possible indicator of oxidative stress in biological samples*. Res Chem Intermed. **2000**. 26 (3): 253–267.
22. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview*. Meth Enzymol. **1990**. 186: 1-85.
23. Trotti R, Carratelli M, Barbieri M. *Performance and clinical application of a new, fast method for the detection of hydroperoxides in serum*. Panminerva Med. **2002**. 44 (1): 37–
24. Vassalle C, Boni C, Di Cecco P, Ndreu R, Zucchelli GC. *Automation and validation of a fast method for the assessment of in vivo oxidative stress levels*. Clin Chem Lab Med. **2006**. 44(11): 1372–1375.
25. Mandas A, Congiu MG, Balestrieri C, Mereu A, Iorio EL. *Nutritional status and oxidative stress in an elderly Sardinian population*. Mediterranean J Nutr Metab. **2008**. 1(2): 99–107.
26. Yamanaka G, Kawashima H, Suganami Y, Watanabe C, Watanabe Y, Miyajima T, Takekuma K, Oguchi S, Hoshika A. *Diagnostic and predictive value of CSF d-ROM level in influenza virus-associated encephalopathy*. J Neurol Sci. **2006**. 243(1–2):71–5
27. Papageorgiou E, Kostikas K, Kiropoulos, Karetsi E, Mpatavanis G, Gourgoulisian KI. *Increased oxidative stress in exudative pleural effusions: a new marker for the differentiation between exudates and transudates?* Chest. **2005**. 128 (5): 3291–3297.
28. Giannattasio A, De Chiara M, Basile G, Peticca M, De Rosa M, Zarrilli S, Metafora S, Hall L. *A new method for the assay of sperm membranes lipoperoxides in normal and pathological human semen*. J Endocrinol Invest. **1998**. 21 (Suppl 7): 187.
29. Alberti A, Della Bona MA, Bolognini L, Carratelli M, Macciantelli D. *Assessing oxidative stress in living organisms by ESR spectroscopy*. Proceedings Third European ESR Meeting. Leipzig, Germany. **1997**. P. 2.
30. Banfi G, Malavazos A, Iorio EL, Dolci A, Doneda L, Verna R, Corsi MM *The iron-o-dianisidine/xylene orange assay in comparative oxidative stress assessment. Some possible shortcomings*. Eur J Appl Physiol. **2005**. 97: 506–508 (REPLY OF AUTHORS).
31. Shukla N, Maher J, Masters J, Angelini GD, Jeremy JY. *Does oxidative stress change ceruloplasmin from a protective to a vasculopathic factor?* Atherosclerosis. **2006**. 187(2): 238–250.
32. Iamele L, Fiocchi R, Vernocchi A. *Evaluation of an automated spectrophotometric assay for reactive oxygen metabolites in serum*. Clin Chem Lab Med. **2002**. 40 (7): 673–676.
33. Hayashi I, Morishita Y, Imai K, Nakamura M, Nakachi K, Hayashi T. *High-throughput spectrophotometric assay of reactive oxygen species in serum*. Mutat Res. **2007**. 631(1): 55–61.
34. Cavalleri A, Colombo C, Venturelli E, Miceli R, Mariani L, Cornelli U, Pala V, Berrino F, Secreto G. *Evaluation of reactive oxygen metabolites in frozen serum samples. Effect of storage and repeated thawing*. Int J Biol Markers. **2004**. 19: 250–253.
35. Komatsu F, Kagawa Y, Sakuma M, Kawabata T, Kaneko Y, Otagontuya D, Chimedregzen U, Narantuya L, Purvee B. *Investigation of oxidative stress and dietary habits in Mongolian people, compared to Japanese people*. Nutr Metab (Lond). **2006**. 3(21): 1–18.
36. Vassalle C, Boni C, Di Cecco P, Landi P. *Elevated hydroperoxide levels as a prognostic predictor of mortality in a cohort of patients with cardiovascular disease*. Int J Cardiol. **2006**. 110(3): 416–416.

37. Bagni M, Civitareale C, Priori A, Ballerini A, Finora M, Brambilla G, Marino G. *Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*)*. *Aquaculture*. **2007**. 263: 52–60.
38. Castellini C, Mugnai C, Dal Bosco A. *Meat quality of three chicken genotypes reared according to the organic system*. *Ital J Food Sci*. **2002**. 4 (14): 401–412.
39. Pasquini A, Luchetti E, Marchetti V, Cardini G, Iorio EL. *Analytical performances of d-ROMs test and BAP test in canine plasma. Definition of the normal range in healthy Labrador dogs*. *Vet Res Commun*. **2008**. 32 (2): 137–143.
40. Brambilla G, Civitareale C, Ballerini A, Fiori M, Amadori M, Archetti LI, Regini M, Betti M. *Response to oxidative stress as a welfare parameter in swine*. *Redox Rep*. **2002**. 7 (3): 159–163.
41. Brambilla G, Cantafora A. *Metabolic and cardiovascular disorders in highly inbred lines for intensive pig farming: how animal welfare evaluation could improve the basic knowledge of human obesity*. *Ann Ist Super Sanità*. **2004**. 40 (2): 241–244.
42. Brambilla G, Ballerini A, Civitareale C, Fiori M, Neri B, Cavallina R, Nardoni A, Riannetti L. *Oxidative stress as a bio-marker of estrogen exposure in healthy veal calves*. *Analytica Chimica Acta*. **2003**. 483: 281–288.
43. Bergero D, Miraglia N, Schiavone A, Polidori M, Prola L. *Effect of dietary polyunsaturated fatty acids and vitamin E on serum oxidative status in horses performing very light exercise*. *Ital J Anim Sci*. **2004**. (3): 141–145.
44. Alamdari DH, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, Parizadeh MR, Moohebbati M, Ghafoori F, Kazemi-Bajestani SM, Paletas K, Pegiou T, Koliakos G. *Prooxidant-antioxidant balance as a new risk factor in patients with angiographically defined coronary artery disease*. *Clin Biochem*. **2008**. 41(6): 375–380.
45. Firuzi O, Mladenka P, Riccieri V, Spadaro A, Petrucci R, Marrosu G, Saso L. *Parameters of oxidative stress status in healthy subjects: their correlations and stability after sample collection*. *J Clin Lab Anal*. **2006**. 20(4): 139–148.
46. Silvers KM, Darlow BA, Winterbourn CC. *Lipid peroxide and hydrogen peroxide formation in parenteral nutrition solutions containing multivitamins*. *J Parenter Enteral Nutr*. **2001**. 25(1): 14–17.
47. Swartz HM, Khan N, Khrantsov VV. *Use of electron paramagnetic resonance spectroscopy to evaluate the redox state in vivo*. *Antioxid Redox Signal*. **2007**. 9(10): 1757–1771.
48. Frew EK, Jones P, Scholes G. *Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide and organic hydroperoxide at low concentrations in aqueous solution*. *Anal Chem Acta*. **1983**. 155: 139–150.
49. Kleschyov AL, Wenzel P, Munzel T. *Electron paramagnetic resonance (EPR) spin trapping of biological nitric oxide*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. **2007**. 851 (1–2): 12–20.
50. Ferreri C, Chatgililoglu C. *Geometrical trans lipid isomers: a new target for lipidomics*. *ChemBioChem*. **2005**. 6: 1722–1734.
51. Vance DE, Vance JE. *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. 4th ed. Elsevier, Amsterdam. **2002**.
52. Therond P. *Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA)*. *Ann Pharm Fr*. **2006**. 64 (6): 383–389.
53. Moore K, Roberts LJ 2nd. *Measurement of lipid peroxidation*. *Free Radic Res*. **1998**. 28(6): 659–671.
54. German JB, Gillies LA, Smilowitz JT, Zivkovic AM, Watkins SM. *Lipidomics and lipid profiling in metabolomics*. *Current Opinion Lipidology*. **2007**. 18: 66–71.

55. Cighetti G, Paroni R, Marzorati S, Borotto E, Giudici R, Magnanimiti G, Iapichino G. *Evaluation of oxidative stress in serum of critically ill patients by a commercial assay and gas chromatography-mass spectrometry*. Clin Chem. **2005**. 51 (8): 1515–1517.
56. Sicilia T, Mally A, Schauer U, Pähler A, Völkel W. *LC-MS/MS methods for the detection of isoprostanes [iPF(2alpha)-III and 8,12-iso-iPF(2alpha)-VI] as biomarkers of CCl₄-induced oxidative damage to hepatic tissue*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. **2008**. 861(1): 48–55.
57. Itabe H, Ueda M. *Measurement of plasma oxidized low-density lipoprotein and its clinical implications*. J Atheroscler Thromb. **2007**. 14(1): 1–11.
58. Matsunaga T, Koyama I, Hokari S, Komoda T. *Detection of oxidized high-density lipoprotein*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. **2002**. 781(1–2): 331–343.
59. Koller E, Volf I, Gurvitz A, Koller F. *Modified low-density lipoproteins and high-density lipoproteins. From investigation tools to real in vivo players*. Pathophysiol Haemost Thromb. **2006**. 35 (3–4):322–345.
60. Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A. *Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression*. J Cell Mol Med. **2006**. 10(2):389–406.
61. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. *Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury*. Circulation. **2006**. 114(6):597–605.
62. Malayappan B, Garrett TJ, Segal M, Leeuwenburgh C. *Urinary analysis of 8-oxoguanine, 8-oxoguanosine, fapy-guanine and 8-oxo-2'-deoxyguanosine by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry as a measure of oxidative stress*. J Chromatogr A. **2007**. 1167(1): 54–62.
63. Dahlgren C, Karlsson A. *Respiratory burst in human neutrophils*. J Immunol Methods. **1999**. 232(1–2): 3–14.
64. Ricevuti G, Mazzone A, Fossati G, Mazzucchelli I, Cavigliano PM, Pasotti D, Notario A. *Assay of phagocytic cell functions*. Allerg Immunol (Paris). **1993**. 25(2): 55–66.
65. Shao B, Oda MN, Oram JF, Heinecke JW. *Myeloperoxidase: an inflammatory enzyme for generating dysfunctional high density lipoprotein*. Curr Opin Cardiol. **2006**. 21(4): 322–328.
66. Prior RL, Cao G. *In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods*. Free Radic Biol Med. 1999. 27(11–12):1173–1181.
67. Huang D, Ou B, Prior RL. *The chemistry behind antioxidant capacity assays*. J Agric Food Chem. **2005**. 53(6): 1841–1856.
68. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. *Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma*. Arch Biochem Biophys. **2004**. 430(1):97–103.
69. Romay C, Pascual C, Lissi EA. *The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples*. Braz J Med Biol Res. **1996**. 29:175–83.
70. Habdous M, Herbeth B, Vincent-Viry M, Lamont JV, Fitzgerald PS, Visvikis S, Siest G. *Serum total antioxidant status, erythrocyte superoxide dismutase and whole-blood glutathione peroxidase activities in the Stanislas Cohort: influencing factors and reference intervals*. Clin Chem Lab Med. **2003**. 41(2):209–215.
71. Carratelli M, Porcaro R, Ruscica M, De Simone E, Bertelli AAE, Corsi MM. *Reactive Oxygen Metabolites (ROMs) and prooxidant status in children with Down Syndrome*. International Journal of Clinical Pharmacology Research. **2001**. 21 (2): 79–84.

72. Trotti R, Carratelli M, Barbieri M, Micieli G, Bosone D, Rondanelli P, Bo P. *Oxidative stress and thrombophilic condition in alcoholics without severe liver disease*. Haematologica. **2001**. 86: 85–91.
73. Cao G, Alessio HM, Cutler RG. *Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants*. Free Radic Biol Med. **1993**. 14 (3): 303–311.
74. Franzoni F, Ghiadoni L, Galetta F, Plantinga Y, Lubrano V, Huang Y, Salvetti G, Regoli F, Taddei S, Santoro G, Salvetti A. *Physical activity, plasma antioxidant capacity, and endothelium-dependent vasodilation in young and older men*. Am J Hypertens. **2005**. 18(4 Pt 1): 510–516.
75. Benzie IFF, Strain JJ. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay*. Anal Biochem. **1996**. 239: 70–76.
76. 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*. In Vivo. **2005**. 19 (5): 855–860.
77. Dohi K, Satoh K, Nakamachi T, Yofu S, Hiratsuka K, Nakamura S, Ohtaki H, Yoshikawa T, Shioda S, Aruga T. *Does Edaravone (MCI-186) act as an antioxidant and a neuroprotector in experimental traumatic brain injury?* Antioxid. Redox Signal. **2007**. 8: 281–287.
78. Nakayama K, Terawaki H, Nakayama M, Iwabuchi M, Sato T, Ito S. *Reduction of serum antioxidative capacity during haemodialysis*. Clin Exp Nephrol. **2007**. 11: 218–224.
79. Apak R, Güçlü KG, Özyürek M, Karademir SE. *Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric iron reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method*. J. Agric. Food Chem. **2004**. 52: 7970–7981.
80. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smieja M, Cambien F, Meyer J, Lackner KJ; AtheroGene Investigators. *Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease*. N Engl J Med. **2003**. 349(17):1605-1613.
81. Delides A, Spooner RJ, Goldberg DM, Neal FE. *An optimized semi-automatic rate method for serum glutathione reductase activity and its application to patients with malignant disease*. J Clin Pathol. **1976**. 29(1): 73–77.
82. Vitai M, Góth L Reference ranges of normal blood catalase activity and levels in familial hypocatalasemia in Hungary. Clin Chim Acta. **1997**. 261(1): 35–42.
83. Ellman G, Lysko H. *A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups*. Anal Biochem. **1979**. 93(1): 98–102.
84. Gualandri W, Gualandri L, Demartini G, Esposti R, Marthyn P, Volontà S, Stangoni L, Borgonovo M, Fraschini F. *Redox balance in patients with Down's syndrome before and after dietary supplementation with α -lipoic acid and L-cysteine*. Int J Clin Pharm Res. **2003**. 23 (1): 23–30.

Curriculum vitae Eugenio Luigi Iorio

FORMATO EUROPEO PER IL CURRICULUM VITAE



INFORMAZIONI PERSONALI

Nome e cognome Eugenio Luigi Iorio
Indirizzo Via Paolo Grisignano 21 – 84127 Salerno
Telefono **+39089711952**
Fax **+39089711952**
E-mail **eugenioluigi.iorio@alice.it**
CF **RIOGLG58H21D643I**

Nazionalità ITALIANA

Luogo e data di nascita Foggia, 21 giugno 1958

ESPERIENZA LAVORATIVA

- Date (da – a) *Dal 2006 a oggi*
- Nome e indirizzo del datore di lavoro Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo, via Paolo Grisignano 21, 84127 Salerno
- Tipo di azienda o settore *Sanità*
- Tipo di impiego Medico Chirurgo Specialista in Biochimica e Chimica Clinica
- Principali mansioni e responsabilità Presidente, Libero professionista

- Date (da – a) *1998 - 2005*
- Nome e indirizzo del datore di lavoro Aziende pubbliche e private
- Tipo di azienda o settore *Sanità*
- Tipo di impiego Medico Chirurgo Specialista in Biochimica e Chimica Clinica
- Principali mansioni e responsabilità Libero professionista

- Date (da – a) *2001 - 2006*
- Nome e indirizzo del datore di lavoro Seconda Università degli Studi di Napoli
- Tipo di azienda o settore *Università*
- Tipo di impiego Docente a contratto Scuola Specializzazione Scienza Alimentazione/Biochimica Clinica
- Principali mansioni e responsabilità Attività didattica

- Date (da – a) *1999 - 2005*
- Nome e indirizzo del datore di lavoro CEPAS
- Tipo di azienda o settore Viale di Val Fiorita, ROMA
- Tipo di impiego *Ente di Certificazione della Formazione e delle Professionalità*
- Principali mansioni e responsabilità Prestazione a consulenza
- Principali mansioni e responsabilità *Responsabile Gruppo Valutazione Sistemi Qualità in Sanità (certificato)*

- Date (da – a) *1993 - 1994*
- Nome e indirizzo del datore di lavoro
Seconda Università degli Studi di Napoli
- Tipo di azienda o settore *Università*
- Tipo di impiego
Docente a contratto Corso di Laurea in Scienze Infermieristiche (disciplina "Chimica e Propedeutica Biochimica")
- Principali mansioni e responsabilità
Attività didattica
- Date (da – a) *1989 - 1992*
- Nome e indirizzo del datore di lavoro
Scuola per Infermieri Professionali, Ospedale Cardarelli. Napoli
- Tipo di azienda o settore
Azienda Ospedaliera Cardarelli, Napoli
- Tipo di impiego
Docente a contratto
- Principali mansioni e responsabilità
Attività didattica
- Date (da – a) *1988 - 1993*
- Nome e indirizzo del datore di lavoro
Varie località della Campania
- Tipo di azienda o settore *Aziende Sanitarie Locali*
- Tipo di impiego
Libero professionista con incarichi saltuari di Guardia Medica e Medicina di Base
- Principali mansioni e responsabilità
Medico Generico

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

- Date (da – a) *1973 – 1977*
- Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione
Liceo Classico Statale "Francesco de Sanctis", Salerno
- Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio
Lettere, Greco, Latino, Storia, Filosofia, Matematica, Scienze naturali, Fisica, Chimica
- Qualifica conseguita
Diploma di maturità classica (votazione finale: sessanta/sessanta; Salerno, 03/07/1977)
- Livello nella classificazione nazionale (se pertinente)
- Date (da – a) *1977 – 1987*
- Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione
Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli
- Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio
Fisica, Chimica, Biologia, Istologia, Anatomia, Biochimica, Fisiologia, Patologia, Clinica, Medicina Interna, Medicina Legale, Chirurgia, Farmacologia, Igiene
- Qualifica conseguita
Dottore in Medicina e Chirurgia (votazione finale: centodieci/centodieci e lode, con menzione e dignità di stampa della tesi "Biochimica delle poliammine e loro ruolo nel Sistema Nervoso"; Napoli, 28.07.1987)
- Livello nella classificazione nazionale (se pertinente)
- Date (da – a) *1990 – 1993*
- Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione
Corso di Dottorato di Ricerca in Scienze Biochimiche (V Ciclo), Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli
- Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio
Biochimica, biologia molecolare, biologia della cellula, genetica molecolare
- Qualifica conseguita
Dottore di Ricerca in Scienze Biochimiche (non prevista votazione finale ma solo conseguimento titolo; tesi "Attivazione della biosintesi del Fattore

di Attivazione Piastrinica (Platelet Activating Factor, PAF) da parte di lipopolisaccaridi e di porine batteriche"; Roma, 02.09.1993)

PhD

- Livello nella classificazione nazionale (se pertinente)
 - Date (da – a)
- Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione
- Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio
 - Qualifica conseguita
- Livello nella classificazione nazionale (se pertinente)

1995 – 1998

Corso di Specializzazione in Biochimica e Chimica Clinica (a norma UE), Facoltà di Medicina e Chirurgia, Seconda Università degli Studi di Napoli, Napoli

Chimica clinica, biochimica clinica, biologia molecolare clinica , genetica molecolare clinica

Medico Specialista in Biochimica e Chimica Clinica (votazione finale cinquanta/cinquanta e lode; tesi "La valutazione esterna di qualità nel laboratorio di analisi chimico-cliniche"; Napoli, 28.10.1998)

PhD

CAPACITÀ E COMPETENZE

PERSONALI

Acquisite nel corso della vita e della carriera ma non necessariamente riconosciute da certificati e diplomi ufficiali.

PRIMA LINGUA

ITALIANO

ALTRE LINGUE

- Capacità di lettura
- Capacità di scrittura
- Capacità di espressione orale

INGLESE

Buona

Ottima

Buona

FRANCESE

Ottima

Ottima

Ottima

- Capacità di lettura
- Capacità di scrittura
- Capacità di espressione orale

SPAGNOLO

Buona

Buona

Buona

- Capacità di lettura
- Capacità di scrittura
- Capacità di espressione orale

CAPACITÀ E COMPETENZE

RELAZIONALI

Vivere e lavorare con altre persone, in ambiente multiculturale, occupando posti in cui la comunicazione è importante e in situazioni in cui è essenziale lavorare in squadra (ad es. cultura e sport), ecc.

Spiccato senso del lavoro di gruppo, con capacità e competenze di leader nei settori sanitario ed agro-alimentare, con particolare riferimento alle problematiche relative ai radicali liberi ed ai sistemi antiossidanti.

<p>CAPACITÀ E COMPETENZE ORGANIZZATIVE <i>Ad es. coordinamento e amministrazione di persone, progetti, bilanci; sul posto di lavoro, in attività di volontariato (ad es. cultura e sport), a casa, ecc.</i></p>	<p>Documentate capacità e competenze nella progettazione, realizzazione e sviluppo di corsi ECM in Medicina e programmi di educazione sanitaria nella scuola dell'obbligo</p>
<p>CAPACITÀ E COMPETENZE TECNICHE <i>Con computer, attrezzature specifiche, macchinari, ecc.</i></p>	<p>Uso disinvolto editor di testi e di diapositive ed internet browser</p>
<p>CAPACITÀ E COMPETENZE ARTISTICHE <i>Musica, scrittura, disegno ecc.</i></p>	<p>Spiccate capacità di realizzazioni grafiche al computer (diapositive e testi scientifici). Buona capacità di esecuzione di brani musicali al clarinetto.</p>
<p>ALTRE CAPACITÀ E COMPETENZE <i>Competenze non precedentemente indicate.</i></p>	<p>Documentata abilità di comunicatore in talk show televisivi.</p>
<p>PATENTE O PATENTI</p>	<p>Patente di guida italiana B</p>
<p>ULTERIORI INFORMAZIONI</p>	<p>Il sottoscritto è a conoscenza che, ai sensi dell'art. 26 della legge 15/68, le dichiarazioni mendaci, la falsità negli atti e l'uso di atti falsi sono puniti ai sensi del codice penale e delle leggi speciali. Inoltre, il sottoscritto autorizza al trattamento dei dati personali, secondo quanto previsto dalla Legge 196/03</p>
<p>ULTERIORI INFORMAZIONI</p>	<p>Abilitato allo svolgimento della professione medica (Napoli, 1987) Iscritto all'Albo dei Medici Chirurghi della Provincia di Salerno (dal 1988) Socio della Società Italiana di Biochimica e Biologia Molecolare (dal 1990) Socio della Società Italiana di Medicina di Laboratorio (dal 2000) Membro onorario Associazione AMIK-KOUSHINE Consulente Scientifico associazione Borgo di Terravecchia (Giffoni Valle Piana,SA) Vincitore di 4 borse di studio Co-inventore di un brevetto per l'analisi dei fosfolipidi (N°94045A39, CNR) 2000-03: docente Corso Formazione Docenti Scuole Regione Campania (SA) Autore/co-autore di circa 100 lavori scientifici (in parte su riviste straniere) Relatore a circa 100 convegni/seminari/simposi sia in Italia che all'Estero Presidente Osservatorio Internazionale Stress Ossidativo (Parma) Responsabile Gruppo Valutazione Sistemi Qualità in Sanità Membro del Comitato Scientifico "Natura e Benessere", FN EDITRICE – Roma Direttore Comitato Tecnico-Scientifico "Festa della Pizza" – Salerno</p>
<p>ALLEGATI</p>	<p>Allegato 1. Approfondimenti curriculum. Allegato 2. Pubblicazioni sullo stress ossidativo (selezione). Allegato 3. Eventi scientifici sullo stress ossidativo (selezione).</p> <p><i>Il sottoscritto è a conoscenza che, ai sensi dell'art. 26 della legge 15/68, le dichiarazioni mendaci, la falsità negli atti e l'uso di atti falsi sono puniti ai sensi del codice penale e delle leggi speciali. Inoltre, il sottoscritto autorizza al trattamento dei dati personali, secondo quanto previsto dalla Legge 196/03.</i></p>

In fede.

(Eugenio Luigi Iorio)

Salerno, 25 agosto 2011.

Allegato 1. Approfondimenti curriculum.

Eugenio Luigi Iorio, nato a Foggia il 21 giugno 1958, dopo aver concluso il liceo classico con il massimo dei voti, ha conseguito, con lode e speciale menzione, la Laurea in Medicina e Chirurgia presso l'Università degli Studi di Napoli discutendo una tesi in neurochimica – alla quale è stata riconosciuta la dignità di stampa – sul ruolo delle poliammine nel Sistema Nervoso Centrale. Dottore di ricerca in scienze biochimiche presso la Facoltà di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali dell'Università Federico II di Napoli nonché specialista in biochimica e chimica clinica, a indirizzo diagnostico (normativa UE), ha svolto intensa attività didattica e di ricerca presso il Dipartimento di Biochimica e Biofisica della Seconda Università di Napoli, presso cui ha un incarico di docenza a contratto (in attesa di trasferimento all'Università di Roma La Sapienza).



I suoi interessi sperimentali si sono focalizzati dapprima sui meccanismi basilari della biosintesi proteica (studio sulle modifiche conformazionali del Fattore di Allungamento EF-Tu da *Escherichia coli* e sintesi di un tRNA marcato con sonda fluorescente) e sui prodotti di oncogeni correlati (*ras*), quindi, su un inibitore proteico dell'enzima pectinametilesterasi (proteina coinvolta nel ciclo di maturazione della frutta) da kiwi (*Actinidia chinensis*), sul proteoma del pomodoro San Marzano (studi di elettroforesi bidimensionale), sull'enzima acetil-CoA: arilammia N-acetiltrasferasi (proteina chiave nei processi di disintossicazione da idrocarburi aromatici espressa prevalentemente nel fegato) e, infine, sul metabolismo del Fattore di Attivazione Piastrinica (Platelet Activating Factor, PAF) in leucociti polimorfonucleati, cellule mesangiali e cellule endoteliali di derivazione umana (particolarmente dopo stimolazione con porine batteriche).

In particolare, lo studio degli inibitori recettoriali del PAF, i ginkolidi, classe eterogenea di sostanze ad elevato potere antiossidante estratte da *Ginkgo biloba*, ha aperto la strada, grazie all'incontro determinante con il ricercatore pientino Mauro Carratelli, alle attuali ricerche sullo stress ossidativo, in tutti i suoi risvolti, sia in ambito umano che zootecnico-agroalimentare. Particolarmente interessanti i suoi studi sui rapporti fra radicali liberi, stili di vita (in rapporto al modello alimentare mediterraneo ed all'esercizio fisico) e patologie (dislipidemie, obesità, cancro).

Attualmente è il massimo esperto al mondo di uno dei più diffusi sistemi di valutazione della capacità ossidante del siero nella pratica clinica, il d-ROMs test. Notevoli, comunque, anche le sue competenze relative ai diversi metodi di valutazione del bilancio ossidativo nell'Uomo e negli Animali. E' in tale ambito, tra l'altro, che egli ha recentemente individuato i valori di normalità di alcuni marcatori biologici di stress ossidativo nei cani Labrador.

Per dare corpo e sistematicità agli studi sull'equilibrio redox, ha recentemente fondato l'Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo (sede legale in Salerno), associazione senza fini di lucro, il cui scopo primario è quello di trasferire nella pratica clinica i risultati degli studi della ricerca di base sui radicali liberi e gli antiossidanti. Il relativo sito internet in lingua italiana (www.osservatoriosstressossidativo.org) è attualmente recensito tra le prime otto voci (su un totale di oltre 40.000 pagine web) associate a "stress ossidativo" dal motore di ricerca Google e riceve mensilmente migliaia di contatti da diversi Paesi del Mondo. In fase di aggiornamento anche la versione inglese (www.oxidativestressobservatory.org).

In qualità di Presidente della suddetta istituzione, presente in Italia ed in circa 30 Paesi, Eugenio Luigi Iorio è stato diverse volte *invited speaker* a numerosi congressi scientifici, non solo in Europa (Spagna, Portogallo, Svizzera, Francia, Austria, Germania, Polonia, Repubblica Ceca, Norvegia, Grecia, Turchia, etc.) ma anche negli Stati Uniti, in Messico, in Giappone, in Corea del Sud, etc.

Attualmente, dopo aver sviluppato il primo software al mondo per la gestione dello stress ossidativo nella pratica clinica (WIN OS MANAGER[®]), Eugenio Luigi Iorio sta ampliando i suoi interessi scientifici alle correlazioni fra stress ossidativo, lipidomica e genomica. E' in tale contesto che nel dicembre 2008 anno ha introdotto in occasione del I convegno dell'associazione mondiale di medicina genomica, svoltosi a LA CORUNA (Spagna), l'innovativo concetto di "redoxomica".

Le attività scientifiche dell'Osservatorio, documentate da una serie di pubblicazioni con peer-review, si sono concretizzate nelle diverse aree di intervento, quali l'informazione, la formazione, la ricerca ed il monitoraggio del bilancio ossidativo in diverse popolazioni.

Nell'ambito dell'informazione, egli ha promosso nel 2005 una campagna sullo stress ossidativo presso la Provincia di Salerno, intitolata "Liberi dai radicali... liberi!", conclusasi con la speciale premiazione del professore Kenneth H. Cooper (Dallas, Texas), uno dei massimi esperti al mondo di stress ossidativo (medico, tra l'altro, dell'ex presidente degli USA, George Bush), e con la pubblicazione di un originale fumetto. Piuttosto attiva anche la presenza dell'Associazione su *magazine* rivolti al grande pubblico, come "Oggi", "Silhouette donna", "Viver sani e belli", "Ciclismo", ma anche su riviste specialistiche destinate a professionisti della salute. Valga tra tutte quella, costante, su "Collegamenti", organo ufficiale dell'Unione Tecnica Italiana Farmacisti (UTIFAR), in distribuzione in 17.500 farmacie italiane. Nel dicembre del 2007 ha scritto un capitolo sullo stress ossidativo nell'ambito del best-seller "Il manifesto di lunga vita" (edizioni Sperling-Kupffer, presentazione di Umberto Veronesi).



Nell'ambito della formazione, egli ha sta curando un programma quadriennale di Educazione Continua in Medicina (ECM), riconosciuto dal Ministero della Salute, focalizzato sui radicali liberi, gli antiossidanti e lo stress ossidativo nella pratica clinica. Tale programma, della durata quadriennale, ha già coinvolto oltre mille partecipanti, tra dietisti e laureati in medicina e chirurgia, biologia e farmacia. Dal 2008, tre diversi varianti dell'evento sono state proposte, in Puglia, ai biologi nutrizionisti, in Sardegna, ai farmacisti afferenti alla cooperativa COSAFACA e, in tutta l'Italia, ai farmacisti serviti dal grande gruppo COMIFAR, che cura la distribuzione in circa 13.500 farmacie. I contenuti del corso sono stati presi come riferimento anche dal Collegio Nazionale dei Farmacisti di Spagna, che ha prodotto, con la collaborazione di Eugenio Luigi Iorio, una speciale edizione ECM (due volumi con annesso CD-ROM) dedicato all'interpretazione delle indagini di laboratorio e, quindi, dei test sullo stress ossidativo, nella pratica professionale (del farmacista). Un analogo programma è stato avviato dalla Facoltà di Farmacia dell'Università di Nihon (Tokyo, Giappone), in collaborazione con il professore Nagata.

Nell'ambito della ricerca, l'Osservatorio ha portato a termine e pubblicato o risultati di interessanti studi, in diverse popolazioni a rischio di stress ossidativo e, in particolare, in anziani sardi affetti da malnutrizione, in bambini obesi, in pazienti affetti da cancro della laringe, in donne in trattamento per cancro della mammella, in pazienti affetti da AIDS sottoposti a trattamento anti-retrovirale, etc. Importanti anche gli studi di efficacia di alcuni comuni integratori antiossidanti e di nutraceutici (proteine da siero di latte). Tuttora

in corso, invece, uno studio sulla biodisponibilità del glutathione somministrato per via orale. Nel 2008 l'Osservatorio ha presentato al pubblico l'innovativo kit "svelarancido" a tutela del consumatore nei confronti delle alterazioni ossidative a carico dei grassi alimentari (in particolare l'olio di oliva).

Nell'ambito del monitoraggio sul territorio, l'Osservatorio, attraverso il software WIN OS MANAGER è in grado di ricevere via INTERNET ed elaborare i risultati di analisi dello stress ossidativo provenienti da qualsiasi parte del mondo. Finora sono stati ottenuti dati dalle popolazioni italiana, giapponese, mongola, greca, turca, sud-coreana, sud-adriatica, etc. Interessati sono anche i report relativi agli animali.

Dal 2008 l'Osservatorio ha eletto come laboratorio di riferimento OXIGENLAB, laboratorio di analisi certificato con sede in Brescia, presso il quale è possibile eseguire qualsiasi analisi del bilancio ossidativo, insieme ad una serie di test sulla genomica, la proteomica e la lipidomica, nell'ambito del concetto altamente innovativo di REDOXOMICA.

Appassionato studioso di psico-oncologia e di psinoneuroendocrinoimmunologia, pluriborsista, inventore di un metodo per l'analisi dei fosfolipidi eteri in fluidi biologici (successivamente brevettato con il Consiglio Nazionale delle Ricerche), oltre ad una lunga esperienza didattica presso la scuola Infermieri Professionali dell'Ospedale Cardarelli e la Seconda Università degli Studi di Napoli, Eugenio Luigi Iorio vanta un'intensissima attività di relatore/moderatore a congressi ed eventi formativi in Italia (circa 60 all'anno) e all'Estero. Particolarmente rilevante sotto il profilo scientifico è il rapporto con il Giappone, ove ogni anno, a Tokyo, è principale relatore del "Free Radical Seminar" un evento scientifico internazionale, giunto nel 2009 alla sua settima edizione.

La polimorfa attività speculativa e sperimentale di Eugenio Luigi Iorio si è concretizzata nella revisione scientifica di alcuni libri di testo dell'Editore Ferraro di Napoli (*Progetto Chimica, di Balestrieri; Chimica e Laboratorio, di Balestrieri e Cardamone; Biologia, di Morescalchi, Lewin, Basilisco*) in uso nelle scuole medie superiori italiane. Inoltre, ha scritto il primo capitolo (*Pathogenesis of glomerular diseases*) del testo specialistico *Immunopharmacology of the renal system* (Academic Press, New York, 1993). Più recentemente ha scritto, insieme al professore Umberto Cornelli, della Loyola University di Chicago (Illinois, USA), il libro "Antiossidanti. Aspetti terapeutici e diagnostici" (edizioni Guna, Milano; 2007) e tre capitoli, dei quali uno dedicato alla valutazione dello stress ossidativo, uno alla lipidomica ed uno al controllo di qualità nei laboratori di analisi, dell'VIII volume del Trattato di Medicina di Laboratorio (edizioni Piccin, Padova, 2009). Oltre un centinaio le pubblicazioni scientifiche (*vedi appendice*), le ultime delle quali sul ruolo dello stress ossidativo nel rimodellamento osseo (*Clin Chem Lab Med, 2008*) e sugli effetti pro-ossidanti della terapia antiretrovirale in pazienti sieropositivi per l'HIV (*J Biomed Biotech, 2009*).



Per diversi anni Eugenio Luigi Iorio ha fatto parte del gruppo di lavoro dell'Ente di Certificazione delle Professionalità CEPAS, accreditato SINCERT, cooperando attivamente alla definizione dei profili professionali di valutatore e di responsabile gruppo valutazione sistemi qualità in Sanità, profilo, quest'ultimo, rivestito attivamente per 4 anni.

Già consulente di prestigiose aziende operanti nel settore del giornalismo e dell'informazione medico-scientifica (Italpromo, Momento Medico), con un trascorso di direttore tecnico di una società di servizi (Studio Multimedia snc, Salerno), egli è

attualmente referee di alcune riviste scientifiche internazionali e membro del comitato di redazione di alcuni *magazine* italiani (es. *Natura* e *Benessere*, *Esteticamente*, *Hod Magazine* etc.). Dal 2007 è membro del Comitato Scientifico e di Redazione della rivista scientifica *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* (edizioni Springer).

Iscritto all'Ordine Professionale dei Medici Chirurghi della provincia di Salerno, Eugenio Luigi Iorio, oltre che presidente dell'Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo, è membro dell'Associazione Italiana Medici Antiaging (AMIA, Milano), membro onorario dell'Associazione Italiana Farmacisti Antiaging (AIFAn, Milano), dell'Associazione Italiana Medici Kousmine (AMIK-ONLUS, Borgomanero) e dell'Accademia IL CHIRONE; inoltre, è socio ordinario della Società Italiana di Biochimica e Biologia Molecolare (SIB), della Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMEL), dell'Associazione Italiana Patologi Clinici (AIPAC-MEM), della Società Italo-Latino-Americana di Etnomedicina (SILAE) e, infine, responsabile per la biochimica applicata del Gruppo di Lavoro ADI (Associazione Italiana di Dietologia e nutrizione clinica) sullo Stress Ossidativo nonché membro del comitato tecnico-scientifico dell'Associazione Culturale Borgo di Terravecchia (Giffoni Vallepiana, Salerno).

Nel maggio del 2005, come sopra riportato, egli ha conferito un premio speciale al famoso professore Kenneth H. Cooper di Dallas (l'inventore dell'omonimo test ampiamente usato in medicina sportiva e propugnatore della "rivoluzione antiossidante") e a Mauro Caratelli (inventore del d-ROMs test).

Eugenio Luigi Iorio vanta anche prestigiose collaborazioni nazionali (Istituto Superiore di Sanità, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Università, CONI, ICRAM) ed internazionali tra cui quella con il Nobel per la Medicina 1998, Louis J. Ignarro (il ricercatore italo-americano che ha scoperto il ruolo dell'ossido nitrico nella fisiopatologia cardiovascolare) e con il Nobel per la Medicina 2008, Luc Montagnier (colui che ha identificato il virus dell'AIDS).



Professionista eclettico, co-autore del programma "Di medico e di cuoco . . ." in onda su un network televisivo satellitare, il dr. Eugenio Luigi Iorio è un esperto di prodotti tipici italiani e, in particolare, di quelli

legati al modello alimentare mediterraneo, quali l'olio di oliva, il vino rosso, i pomodori e la mozzarella di bufala campana.

Progettista

dell'Osservatorio per la qualità e la sicurezza alimentare della Provincia di Salerno (2000), responsabile scientifico del complesso polifunzionale "La Fabbrica dei Sapori" (Battipaglia, Salerno), egli vanta l'insolito primato di



essere uno dei massimi studiosi internazionali di pizza tradizionale artigianale cotta con il forno a legna. Infatti, insieme al pizzaiolo imprenditore Cosimo Mogavero, egli ha guidato il gruppo di lavoro che ha condotto alla certificazione della prima "verace pizza napoletana artigianale" al mondo, secondo la norma UNI 10791:98 (Roma, luglio 2001), alla realizzazione della prima "pizza fitness" al mondo (Rimini, giugno 2002) e, molto più

recentemente, alla produzione della prima "pizza integrale antiossidante" al mondo (Roma, settembre 2005). Alcuni dei risultati degli studi sulla pizza condotti dal dr. Eugenio Luigi Iorio sono stati presentati anche alla Seconda Conferenza Internazionale sulla Dieta Mediterranea MEDIET (Atene, aprile 2005). In tale ambito, occorre sottolineare che il dr. Eugenio Luigi Iorio è il nutrizionista del portale mondiale della pizza (www.pizza.it).

Inoltre, egli ha dimostrato le proprietà anti-infiammatorie di estratti di pomodoro San Marzano su cellule endoteliali umane in coltura (*Free Radical Res Biol Med*, 2004, 36: 1058–1067). In tale contesto, è uno dei fondatori dell'associazione culturale de "I devoti del San Marzano", il cui scopo è tutelare l'identità e promuovere il consumo di tale prodotto tipico, nelle *cultivar* che hanno ottenuto recentemente il riconoscimento del marchio di denominazione di origine di prodotto (DOP) da parte dell'Unione Europea.

Consulente tecnico-scientifico, con Cosimo Mogavero, del Consorzio per la Tutela



del Formaggio Mozzarella di Bufala Campana per la realizzazione del progetto QUIPIZZA[®], destinato a favorire l'uso della mozzarella di bufala DOP sulla pizza napoletana, egli condotto a termine l'iter di qualificazione, presso il Ministero delle Politiche Agricole, di alcuni prodotti tipici italiani, quali il famoso "fusillo" di Felitto (2003) e lo "scazzatiello" di Castel San Lorenzo (2006), ha dimostrato per primo le proprietà antiossidanti della "colatura di Alici di Cetara" e di alcuni vini campani (aglianico),

ha avviato l'iter per l'inserimento del "tarallo di San Lorenzello" nell'elenco dei prodotti tradizionali del Ministero delle Politiche Agricole, ha caratterizzato le proprietà nutrizionali del "torrone di San Marco dei Cavoti" e ha contribuito a dare visibilità alla filiera dell'olio d'oliva della Campania (come coautore di un testo-guida), rivestendo il ruolo di giudice nella valutazione di una "sfogliatella" gigante e di un lunghissimo "panuozzo", ambedue candidati al Guinness dei primati.

Nel settembre 2009, Eugenio Luigi Iorio è stato *invited speaker* al 50° Convegno Mondiale dell'Associazione Ningen Dock (Tokyo, Giappone), nell'ottobre 2009 relatore al Convegno Europeo di Medicina Estetica (Parigi, Francia) e il 1° novembre 2009 ha valutato il bilancio ossidativo di un gruppo di maratoneti dilettanti (farmacisti appartenenti al team Valore Salute) che hanno portato a termine la 40a Maratona della Città di New York.

Più recentemente (gennaio 2010) è stato invited speaker al "9th annual meeting of SFRR-India on the Advances in Free Radical Research and Natural Products in health", a Hyderabad, India. Gli ultimi eventi internazionali ai quali ha partecipato con una Lettura Plenaria, sono stati il convegno internazionale di PROTEOMICA (PEP-COM, Pechino, 23-25 marzo 2010) ed il VIII Free Radical Seminar (Tokyo, 25 aprile 2010).

A handwritten signature in blue ink that reads 'Eugenio Luigi Iorio'. The signature is written in a cursive, flowing style.

Salerno, 25 gennaio 2011.

Eugenio Luigi Iorio

Si fornisce il consenso al trattamento dei dati personali sopra riportati, secondo la normativa vigente.

Allegato 2. Selezione bibliografica. Gli ultimi 10 anni di ricerca del dr. Eugenio Luigi Iorio nel campo dello stress ossidativo.

1. Iorio EL. *Courses of food education in the schools: to eating well – to eating safely* [original title "*Corsi di educazione alimentare nelle scuole: mangiare bene – mangiare sicuro*"]. *Scientific Nutrition Today*. **2000**. 2: 17.
2. Iorio EL. *Mediterranean diet and oxidative stress* [original title "*Dieta mediterranea e stress ossidativo*"]. *Proceedings Conference "The Mediterranean Diet"*. April 7–9, 2000. Salerno, Italy. **2000**. Pp. 4–5.
3. Liotti F, Maselli R, De Prisco R, Iorio EL, De Seta C, Sannolo N. *Oxidant agents in work environment and professional bronchopneumopathies* [original title "*Agenti ossidanti in ambiente di lavoro e broncopneumopatie professionali*"]. *Proceedings Meeting "Giornate Scientifiche della Facoltà 2000"*. May 17–19, 2000. Second University of Naples. Naples, Italy. **2000**. Pp. 555-556.
4. Capunzo M, Iorio EL, Cavallo P. *Correlation between oxidative stress and plasma lipids levels: results of a preliminary study* [original title "*Correlazione fra stress ossidativo e livello di lipidi plasmatici: risultati di uno studio preliminare*"]. *I Quaderni dell'Università di Salerno*. **2001**. 91–102.
5. De Prisco R, Attianese P, Lione D, Balestrieri C, Iorio EL. *Oxidative stress and serum lipids*. *Proceedings 10th Congresso Italo-latinoamericano de Etnomedicina*. September 23–28, 2001. Isla de Margarita, Venezuela. **2001**.
6. Iorio EL, Carratelli M, Quagliuolo L, Caletti G. *Oxidative stress evaluation in athletes*. *Proceedings 2nd International Conference on Oxidative Stress and Aging*. April 2–5, 2001. Maui, Hawaii (USA). **2001**. P. 60.
7. Iorio EL, Carratelli M, Alberti A. *A simple test to monitor the oxidative stress by evaluating total serum hydroperoxides*. *Proceedings 2nd International Conference on Oxidative Stress and Aging*. April 2–5, 2001. Maui, Hawaii (USA). **2001**. P. 25.
8. Iorio EL, Escalona M, De Prisco R, Attianese P, Carratelli M. *Impairment of redox balance in obesity*. *Proceedings 10th Congresso Italo-latinoamericano de Etnomedicina*. September 23–28, 2001. Isla de Margarita, Venezuela. **2001**.
9. Iorio EL, Quagliuolo L, Carratelli M. *The d-ROMs test: a method to monitor oxidative stress in vascular diseases* [original title "*d-ROMs test: metodo di monitoraggio dello stress ossidativo nelle patologie vascolari*"]. *Minerva Cardioangiologica*. **2002**. 50 (6, Suppl. 1): 143–144.
10. Iorio EL. *Oxidative stress as a health risk factor. The role of environment factors*. [original title "*Lo stress ossidativo quale fattore di rischio per la salute. Il ruolo dei fattori ambientali*"]. *Proceedings Giornate Medico-Chirurgiche Romane "Ambiente: salute o malattia"*. October 31, 2003. Rome, Italy. **2003**.

11. Iorio EL. *The global assessment of oxidative stress* [original title "*La valutazione globale dello stress ossidativo*"]. *Il Patologo Clinico*. **2003**. 5/6: 155–159.
12. Iorio EL, Boccellino M, Balestrieri P, De Prisco, R, Quagliuolo L. *d-ROMs test and oxidative stress assessment*. *Rendiconti e Atti della Accademia di Scienze Mediche e Chirurgiche*. **2003**. 157: 49–61.
13. Balestrieri ML, De Prisco R, Nicolaus B, Pari P, Schiano Moriello V, Strazzullo G, Iorio EL, Servillo L, Balestrieri C. *Lycopene in association with α -tocopherol or tomato lipophilic extracts enhances acyl-platelet-activating factor biosynthesis in endothelial cells during oxidative stress*. *Free Radical Biology & Medicine*. **2004**. 36 (8): 1058–1067.
14. Carratelli M, Iorio EL. *Potential usefulness of oxidative stress in nutrition and food supplementation*. *Proceedings IV Greek Congress on Free Radicals and Oxidative Stress*. October, 7–10, 2004. Larissa, Greece. **2004**. P. 15.
15. Iorio EL. *d-ROMs test and global assessment of oxidative stress* [original title: "*Il d-ROMs test e la valutazione globale dello stress ossidativo*"]. *Diacron International Eds*. Grosseto, Italy. **2004**.
16. Iorio EL. *d-ROMs test in sport*. *Cosmetic News*. **2004**. 157: 272–275.
17. Iorio EL. *Oxidative stress and nutrition*. *Proceedings VI Macedonian Nutrition Congress*. November 19-21, 2004. Thessaloniki, Greece. **2004**. Pp. 143–144.
18. Iorio EL. *Oxidative stress and nutrition* [original title "*Stress ossidativo ed alimentazione*"]. In "Comunicazione ed educazione alimentare". III Edizione a cura della Centrale del Latte Salerno (Salerno, Italy). **2005**. 13–16.
19. Iorio EL. *Oxidative stress, sport trauma and rehabilitation. New proposals for an integrated approach*. *Proceedings XIV International Congress on Sports Rehabilitation and Traumatology "The accelerated rehabilitation of the injured athlete"*. April 9-10th, **2005**. PP 127. Bologna, Italy.
20. Iorio EL. *The global evaluation of oxidative stress. The role of the laboratory* [original title "*La valutazione globale dello stress ossidativo. Il ruolo del laboratorio*"]. *Proceedings Congress "Reactive oxygen species: biochemistry, pathology, prevention, laboratory"*. Palermo, Mondello Palace Hotel. May 25th, 2005. Palermo, Italy. **2005**. P. 27.
21. Iorio EL. *Thermal medicine and oxidative stress*. *Rev Latinoamer Quim*. **2005**. 33 (suplemento especial): 63.
22. Iorio EL, Balestrieri ML. *d-ROMs test and POX ACT test. Comparison impossible*. *Clinical Chemistry Laboratory Medicine*. **2005**. 43(4): 457–458.

23. Iorio EL, Cinquanta L, Pisano R. *A diagnostic algorithm for the oxidative stress* [original title "Un algoritmo diagnostico per lo stress ossidativo"]. Italian Journal of Laboratory Medicine. **2005**. 1 (3): 137.
24. Rosolia A, Di Leo T, Iorio EL, Lipartiti T. *The d-ROMs test automation: analytical performances and clinical applications* [original title "Automazione del d-ROMs test: performance analitiche ed applicazioni cliniche"]. Italian Journal of Laboratory Medicine. **2005**. 1 (3): 172.
25. Banfi G, Malavazos A, Iorio EL, Dolci A, Doneda L, Verna R, Corsi MM. *The iron-o-dianisidine/xyleneol orange assay in comparative oxidative stress assessment. Some possible shortcomings*. Eur J Appl Physiol. **2006**. 96 (5): 506 – 508.
26. Carratelli M, Iorio EL, Bianchi L. *Methods to measure the oxidative stress* [original title "Metodi di misurazione dello stress ossidativo"]. ADI Magazine. **2006**. 4 (10): 405 – 414.
27. Corsi MM, Pagani D, Iorio EL, Dogliotti G, Verna R, Sambataro G, Pignataro L. *Blood reactive oxygen metabolites (ROMs) and total antioxidant status (TAS) in patients with laryngeal squamous cell carcinoma after surgical treatment*. Clin Chem Lab Med. **2006**. 44(8): 1047–1048.
28. Iorio EL. *Hypoxia, free radicals and antioxidants. The "Deutrosulfazyme®" paradox*. Hypoxia Medical J. **2006**. 1-2: 32.
29. Iorio EL. *Oxidative stress assessment in Animals. Actuality and perspectives* [original title "La valutazione dello stress ossidativo negli animali. Attualità e prospettive"]. Proceedings "67° Convegno Nazionale Unione Zoologica Italiana". Napoli (Italy). **2006**, September 12nd-15th. Pp. 28.
30. Iorio EL, Cinquanta L, Pisano R. *A diagnostic algorithm to manage oxidative stress*. Australasian J Cosmet Surg. **2006**. 2 (1) : 26-30.
31. Iorio EL, D'Amicantonio T. *The oxidative stress in Odontology. From the basic research to the clinical practice* [original title "Lo stress ossidativo in odontoiatria. Dalla ricerca di base alla pratica clinica"]. Proceedings III Congresso ANMCO. **2006**. Rome, October, 13.
32. Iorio EL. *Oxidative stress and ageing: diagnosis, causes, effects, and treatments* [original title "Stress ossidativo e invecchiamento: diagnosi, cause, effetti, terapie"]. Proceedings "Giornate Siciliane di Medicina Estetica". Palermo (Italy). **2006**, March 17th-19th. Pp. 10-11.
33. Iorio EL, Bianchi L, Storti A. *Deutrosulfazyme®: a powerful antioxidant* [original title "Deutrosulfazyme®: un potente antiossidante"]. La Medicina Estetica. **2006**. 30 (1): 115 – 116.

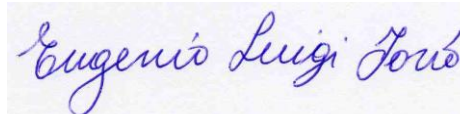
34. Iorio EL, Carratelli M, D'Amicantonio T. *Oxidative stress and diseases* [original title "*Stress ossidativo e malattia*"]. ADI Magazine. **2006**. 4 (10): 399 – 404.
35. Cavallini M, Iorio EL. *Effect of training and antioxidant supplementation on oxidative balance in martial arts*. Journal of Molecular and Clinical Pathology. **2007**. 2: 14-15.
36. Cornelli U, Iorio EL. *Antioxidants. Therapeutic and diagnostic aspects* [original title: *Antiossidanti. Aspetti terapeutici e diagnostici*]. **2007**. GUNA Eds. Milan.
37. De Bernardi Di Valserra M, Iorio EL, Tripodi S, Pedroni F, Dogliotti G, Galliera E, Corsi MM. *Peripheral arterial occlusive disease and CO₂ balneotherapy: effect on free radicals release (ROMs) and total antioxidant status (TAS)*. Journal of Molecular and Clinical Pathology. **2007**. 4: 27–31.
38. Iorio EL. *Oxidative stress and sport* [original title: "*Stress ossidativo e sport*"]. European Journal of Health, Sport and Nutrition. **2007**. 1: 102–103.
39. Iorio EL. *Oxidative balance and nutritional supplementation in chronic and degenerative disorders* [original title: "*Bilancio ossidativo ed integrazione nutrizionale nelle patologie cronico-degenerative*"]. Proceedings 3^o Congresso Internazionale Nutrizione e malattie cronico-degenerative. 2007, June 2nd and 3rd, Ponzano Veneto (TV), Italy. **2007**. 34–39.
40. Iorio EL, D'Amicantonio T, Nardi GM. *Nutrition and oxidative stress. From biochemistry to the clinical practice* [original title: "*Alimentazione e stress ossidativo. Dalla biochimica alla pratica clinica*"]. ADI MAGAZINE. **2007**. 92–97.
41. Iorio EL, Ferreri C, Cozzolino R, Manara S, Ferreri R. *Plasma total oxidant status and erythrocyte plasmamembrane lipidomics. A preomising synergy in the molecular diagnostics of anti-aging*. Proceedings 9th International Congress of Aesthetic Medicine. 2007, October 11th –13th Milan, Italy. **2007**. Pp. 145.
42. Melillo G, Iorio EL, Giuliano F, Balzano, Melillo EM. *Oxidative stress in patients with chronic obstructive pulmonary disease: validation of a new photometric test (exhalation test) for the measurement of hydrogen peroxide in exhaled breath condensate*. Rassegna di Patologia dell'Apparato Respiratorio. **2007**. 22: 98-104.
43. Pasquini A, Luchetti E, Marchetti V, Cardini G, Iorio EL. *Analytical performances of d-ROMs test and BAP test in canine plasma. Definition of the normal range in healthy Labrador dogs*. Vet Res Commun. **2008**. 32 (2): 137–143.
44. Regano N, Iorio EL, Guglielmi A, Mazzuoli S, Francavilla A, Fregnan S, Leogrande G, Guglielmi Fw. *The assessment of oxidative stress in clinical practice and its importance in nutrition*. Nutritional Therapy & Metabolism. **2008**. Vol. 26 no. 4, pp. 149-162
45. Mandas A, Congiu MG, Balestrieri C, Mereu A, Iorio EL. *Nutritional status and oxidative stress in an elderly Sardinian population*. Mediterr J Nutr Metab. **2008**. DOI 10.1007/s12349-008-0016-1.

46. Banfi G, Iorio EL, Corsi MM. *Minireview: oxidative stress, free radicals and bone remodeling*. Clin Chem Lab Med. **2008**. Oct 10. [Epub ahead of print]. PMID: 18847368.
47. Iorio EL. *The laboratory in oxidative stress study* [original title "El laboratorio en el estudio del estrés oxidativo"]. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Plan Nacional de Formación Continuada. Análisis Clínicos II. Módulo II. **2008**. 1–28.
48. D'Amicantonio T, Polizzi E, Iorio EL, Gherlone E. *Free radicals and antioxidants in the oral cavity* [original title "Radicali liberi e antiossidanti nel cavo orale. Un delicato equilibrio"]. Prevenzione odontostomatologica. **2009**. 1: 3–15.
49. Iorio EL, Balestrieri ML. *The oxidative stress* [original title "Lo stress ossidativo"]. Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio, di Angelo Burlina, Ed. Balestrieri C, Piccin, Padua, Italy. **2009**. 533–549.
50. Mandas A, Iorio EL, Congiu MG, Balestrieri C, Mereu A, Cau D, Dessì S, Correlli N. *Oxidative imbalance in HIV-1 infected patients treated with antiretroviral therapy*. Journal of Biomedicine and Biotechnology. **2009**. Article ID 749575, 7 pages. doi:10.1155/2009/749575.
51. Landoni G, Mariani E, Oriani G, Donarini C, Guerrerio T, Iorio EL. *Improvement of antioxidant status in women conventionally treated for breast cancer after 12 months of a cow milk whey-based supplementation. A preliminary study*. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism. **2009**. 2(2): 127-131.
52. Iorio EL. *New perspectives in oxidative stress research: the Redoxomics*. Proceedings International Conference on Advances in Free Radicals Research, Natural Products, Antioxidants and Radioprotectors in Health – Ninth Annual Meeting of the Society of Free Radical Research India. January 11th-13th, 2010. Hyderabad (India). **2010**. 26–27.
53. Iorio EL. *The novel field of Redoxomics*. Proceedings BIT Life Sciences' 3rd Annual PepCon-2010. March 21th-23th, 2010. Beijing (China). **2010**. 283.

Salerno, 8 luglio 2010.

Eugenio Luigi Iorio

Si fornisce il consenso al trattamento dei dati personali sopra riportati, secondo la normativa vigente.



Allegato 3. Eventi scientifici sullo stress ossidativo (selezione).
Il dr. Eugenio Luigi Iorio è stato responsabile scientifico/docente/relatore
ai seguenti eventi scientifici (triennio 2006-2008)

ITALIA

VI CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo".*

2 dicembre 2006 – Milano

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio, dr.ssa Gemma Martino.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici".

Tutor: *dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

CORSO DI FORMAZIONE PER MEDICI DI MEDICINA GENERALE "Judo e formazione psicofisica del ragazzo in età scolare"

18 novembre 2006 – Napoli

Titolo dell'intervento: "Il paradosso sportivo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

III CORSO DI AGGIORNAMENTO*

Promosso all'Ordine dei Farmacisti e dalla Federfarma della provincia di Frosinone

16 novembre 2006 – Frosinone

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo. Un nuovo fattore di rischio per la salute?".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

V CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo".*

11 novembre 2006 – Udine

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio, dr. Taboga.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

CORSO BASE **ASSOCIAZIONE MEDICA ITALIANA KOUSMINE (AMIK) ONLUS***

28 ottobre 2006 – Borgomanero (Novara)

Titolo dell'intervento 1: "Stress ossidativo".

Titolo dell'intervento 2: "Acidi grassi poliinsaturi".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CONVEGNO INTERNAZIONALE SULLA SINDROME DI WILLIAMS

27 ottobre 2006 – Roma (Ospedale San Giovanni Battista del Sovrano Militare Ordine di Malta)

Partecipazione come discente

XVII CONVEGNO NAZIONALE ASSOCIAZIONE ITALIANA DI DIETETICA E NUTRIZIONE CLINICA (ADI) "La nutrizione come terapia: tradurre nella pratica le evidenze scientifiche".*

19 ottobre 2006 – Vicenza

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo e malattie".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

CONVEGNO "Il polmone: luogo di scambio e integrazione fra Medicina Allopatrica e Medicina Complementare".*

14 ottobre 2006 – Milano

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo e le malattie respiratorie";

*EVENTO ACCREDITATO ECM

8° CONGRESSO INTERNAZIONALE DI MEDICINA ESTETICA*

14 ottobre 2006 – Milano

Titolo della relazione: "Dalla sostanza amorfa alla matrice extracellulare. Implicazioni cliniche e farmacologiche in Medicina Estetica".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

III° CONGRESSO NAZIONALE AMNCO "Il futuro dell'Odontoiatra fra sistemi regolatori dell'organismo e biocompatibilità".*

13 ottobre 2006 – Roma

Titolo dell'intervento: "**Lo stress ossidativo in Odontoiatria. Dalla ricerca di base alla pratica clinica**".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

IV CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo".*

6 ottobre 2006 – Genova

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

*EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

MASTER "New trend in tema di alimentazione ed integrazione nello sportivo"

23 settembre 2006 – Napoli

Titolo dell'intervento: "Il paradosso sportivo".

6th INTERNATIONAL CONFERENCE "Hypoxia in medicine. Effects of intermittent hypoxia: from high altitude to clinical rehabilitation".

21 settembre 2006 – Milano

Poster: "Ipossia, Radicali Liberi ed Antiossidanti. Il paradosso "Deutrosulfazyme[®]".

67° CONGRESSO NAZIONALE UNIONE ZOOLOGICA ITALIANA (UZI)

14 settembre 2006 – Napoli.

Titolo dell'intervento: "La valutazione dello stress ossidativo negli animali. Attualità e prospettive".

III CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo".*

9 settembre 2006 – Rivoli (*Torino*)

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr. Carlo Alberto Zaccagna.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

XVIII SALONE DEL NATURALE. ALIMENTAZIONE, SALUTE, AMBIENTE. **"SANA"**. CONVEGNO MEDICO-SCIENTIFICO "Inquinamento e danno da stress ossidativo. Dalla sofferenza cellulare all'ipossia. Metodi diagnostici e terapia".

10 settembre 2005 – Bologna

Titolo dell'intervento (su supporto registrato): "Cellfood®. Le basi biochimiche".

SINPE SPRING EVENT 2006: "Scientific Workshop. ROS and anti-oxidants: implication for clinical nutrition".*

24 giugno 2006 – Acquafredda di Maratea (*Potenza*)

Lecture: "Oxidative stress and neurological disorders".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

II CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo".*

17 giugno 2006 – Napoli

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatore *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

I CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Radicali Liberi e antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo".*

10 giugno 2006 – Roma

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatore *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

CONVEGNO "Aggiornamento in tema di vitamina B₁₂, folato, omocisteina, stress ossidativo. Dalla ricerca alla clinica"*

9 giugno 2006 – Milano

Titolo dell'intervento: "Algoritmo diagnostico per valutazione stress ossidativo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

VIII CONVEGNO NAZIONALE ISENRO'

Organizzato dalla Scuola di Naturopatia e Reflessologia Olistica

2 giugno 2006 – Grado

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo. Cause, effetti, diagnosi, terapie".

CORSO TEORICO-PRATICO IN OSSIGENO E OZONOTERAPIA*

Organizzato dalla Società Italiana di Ossigeno-Ozono Terapia (SIOOT)

27 maggio 2006 – Gorle (Bergamo)

Titolo dell'intervento 1: "I processi di invecchiamento: cause e meccanismi".

Titolo dell'intervento 2: "Gli integratori dietetici".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

INTERNATIONAL CONGRESS OF ANTIAGING MEDICINE*

20 maggio 2006 – Milano

Titolo dell'intervento: "Un algoritmo diagnostico per la gestione dello stress ossidativo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

1° CONGRESSO DI DERMATOLOGIA PLASTICA ISPLAD*

12 maggio 2006 – Stresa (Verbania)

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CORSO DI AGGIORNAMENTO "Medicina dello sport: dall'atleta di elite al soggetto patologico"

6 maggio 2006 – Firenze (*Istituto Prosperius*)

Titolo dell'intervento: "Benefici e rischi dell'attività sportiva. Un nuovo paradosso?".

XXVII CONGRESSO NAZIONALE SOCIETÀ ITALIANA DI MEDICINA ESTETICA*

5 maggio 2006 – Roma

Titolo dell'intervento: "Deutrosulfazyme®. Un potente antiossidante".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

II CORSO DI AGGIORNAMENTO*

Promosso all'Ordine dei Farmacisti e dalla Federfarma della provincia di Frosinone

4 maggio 2006 – San Giorgio a Liri

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo. Un nuovo fattore di rischio per la salute?".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

I CORSO DI AGGIORNAMENTO*

Promosso all'Ordine dei Farmacisti e dalla Federfarma della provincia di Frosinone

27 aprile 2006 – Frosinone

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo. Un nuovo fattore di rischio per la salute?".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CORSO DI AGGIORNAMENTO AMIA*

9 aprile 2006 – Milano

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo e invecchiamento".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

SEMINARIO CDC DI AGGIORNAMENTO PER MEDICI

24 marzo 2006 – Napoli

Titolo dell'intervento: "Dalla ricerca novità per la pratica clinica. Il nuovo ferro in liposomi".

SALUS VERONA 2006 - Corso di aggiornamento "Basi scientifiche. Dalle medicine tradizionali alla dietoterapia moderna"*

18 marzo 2006 – Verona

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

I GIORNATE PALERMITANE DI MEDICINA ESTETICA*

18 marzo 2006 – Palermo

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo e invecchiamento".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

II° CORSO DI AGGIORNAMENTO "Radicali liberi e antiossidanti: aspetti clinici e laboratoristici"*

10-11 marzo 2006 – Napoli

Titolo dell'intervento: "La valutazione di laboratorio dello stress ossidativo".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

XI CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo").*

15 dicembre 2007 - Roma

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio; dr. Maurizio Muscaritoli.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

*EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)
PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo")"*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo. Un nuovo fattore di rischio per la salute".

14 dicembre 2007 – Bari

Responsabile scientifico *Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.*

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa: *Dr.ssa Marisa Campanile, Ordine Nazionale dei Biologi, Delegazione Provinciale di Bari.*

*EVENTO ACCREDITATO ECM

IV CONGRESSO NAZIONALE AMNCO "Odontoiatria unica: ricerca, clinica, implicazioni"

29 novembre 2007 – Bologna

Titolo dell'intervento: "Matrice extracellulare, stress ossidativo e malattia parodontale. What's news?"

X CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo").*

10 novembre 2007 – MILANO

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

*EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)

XII CONGRESSO NAZIONALE ADI*

27 ottobre 2007 – Catania

Assemblea generale soci ADI: proposta di costituzione gruppo di lavoro "Stress Ossidativo ADI"

*EVENTO ACCREDITATO ECM

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

XXIII IATMO CONFERENCE ITALY

21 ottobre 2007 – Trieste

Titolo dell'Intervento: "*Hypoxia, oxidative stress and cancer. New possibile integrated strategies*"

V CONGRESSO NAZIONALE SIAS*

19 ottobre 2007 – Empoli (*Firenze*)

Titolo dell'Intervento: "Stress ossidativo e sport"

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

IX CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

17 ottobre 2007 – IMOLA

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

9° Congresso Internazionale di Medicina Estetica*

12 ottobre – Milano

Titolo dell'Intervento: "Plasma total oxidant status and erythrocyte plasmamembrane lipidomics. A promising synergy in the molecular diagnostics of anti-aging".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

II CONGRESSO NAZIONALE SICT "La chiave del benessere"*

29 settembre – Milano

Titolo dell'Intervento: "Disbiosi e matrice extracellulare. Ossigeno e integrazione nutrizionale".

CORSO DI AGGIORNAMENTO INTERREGIONALE "X-files in nutrizione clinica e artificiale"

20-21 settembre – Genova

Titolo dell'Intervento: "Tecniche di valutazione dello stress ossidativo".

CORSO TEORICO-PRATICO DI AGGIORNAMENTO NAZIONALE "La nutrizione nella pratica sportiva.

Fabbisogni reali ed abusi"

14 settembre 2007 – Lecce

Titolo dell'Intervento: "Valutazione del livello ematico di metaboliti reattivi dell'ossigeno, mediatori ed amplificatori del danno ossidativo tissutale".

CORSO DI AGGIORNAMENTO AMIK-ONLUS PER MEDICI "Lipidomica"

21 luglio 2007 – Milano

Titolo dell'intervento: "Basi biochimiche dello stress ossidativo".

VI CORSO NAZIONALE "Progress in nutrizione clinica"*

13-15 giugno 2007 – Portonovo (*Ancona*)

Titolo dell'intervento: "I processi ossidativi: aspetti clinico-diagnostici".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

3° CONGRESSO INTERNAZIONALE "Nutrizione e malattie cronico-degenerative"*

2-3 giugno – Ponzano Veneto (*Treviso*)

Titolo dell'Intervento: "Bilancio ossidativo ed integrazione nutrizionale nelle patologie cronico-degenerative".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CONGRESSO UNID "Le medicine non convenzionali: ruolo e applicazioni pratiche per l'odontoiatra e l'igienista dentale nella quotidianità".*

26 maggio – L'Aquila

Titolo dell'Intervento: "Stress ossidativo e parodontopatie. potenziale utilità clinica di formulazioni spray orali ad azione antiossidante".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

5° CONGRESSO ASSOCIAZIONE MEDICINA ESTETICA E BENESSERE – 1° Salone del benessere

20 maggio 2007 – Genova

Titolo dell'Intervento: "Terapie anti-stress ossidativo".

CORSO DI FORMAZIONE SIAS "Nutrizione ed integrazione nello sport"*

19 maggio – Coverciano (Firenze)

Titolo dell'Intervento: "Lo stress ossidativo nell'atleta".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

CORSO DI AGGIORNAMENTO AMNCO "Approccio olistico in Odontoiatria"*

18 maggio 2007 – Roma

Titolo dell'Intervento: "Malattia parodontale e stress ossidativo. Potenziale utilità clinica di formulazioni antiossidanti spray orali".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

XVII CONVEGNO NUTRIZIONE E DIETETICA ADI COMO/CANTON TICINO*

17 maggio 2007 – Como

Titolo dell'Intervento: "I processi ossidativi: aspetti clinico-diagnostici".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

VIII CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

12 maggio 2007 – Monza

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio; dr.ssa Carla Ferreri.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

*EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)
PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

CORSO DI AGGIORNAMENTO PER FARMACISTI*

Promosso da FEDERFARMA FROSINONE

10 maggio 2007 – Isola Liri (*Frosinone*)

Titolo dell'Intervento: "Oltre gli acidi grassi poliinsaturi. Dalla biochimica alla clinica".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

CICLO DI INCONTRI SCIENTIFICI PER MEDICI SULLO STRESS OSSIDATIVO "Liberi dai radicali 2007" – 6

*Promosso dall'azienda **DIACRON INTERNATIONAL***

7 aprile 2007 – Anagni (*OSPEDALE, DIPARTIMENTO DI CARDIOLOGIA*)

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo e malattie cardiovascolari".

CORSO DI AGGIORNAMENTO SIBIOC. "Stress ossidativo e colture cellulari: dal laboratorio di ricerca all'applicazione in clinica".*

4 maggio 2007 – Napoli

Titolo dell'Intervento: "Fisiopatologia dei radicali liberi".

*EVENTO ACCREDITATO ECM

CORSO DI AGGIORNAMENTO PER FARMACISTI*

Promosso da FEDERFARMA FROSINONE

3 maggio 2007 – Frosinone (*Ordine dei Farmacisti*)

Titolo dell'Intervento: "Oltre gli acidi grassi poliinsaturi. Dalla biochimica alla clinica".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CONVEGNO "Nutrizione. Linee-guida"*

Promosso dalla Centrale Latte di Salerno

21 aprile 2007 – Salerno

Titolo dell'Intervento: "Stress ossidativo e alimentazione. Risultati di uno studio preliminare eseguito su un campione di studenti delle scuole medie superiori di Salerno".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

2nd INTERNATIONAL CONGRESS OF PREVENTIVE MEDICINE AND HEALTHY AGING*

14 aprile 2008 – Milano

Titolo dell'Intervento: "Established and emerging oxidative stress biomarkers as analytical tools to evaluate the cardiovascular risk in anti-aging medicine":

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

STAGE IN MEDICINA ESTETICA E IN MEDICINA ANTIAGING*

11 marzo 2007 – Verona

Titolo dell'Intervento 1: "La gestione dello stress ossidativo in medicina antiaging".

Titolo dell'Intervento 2: "Longevità e iperomocisteinemia. Potenziale utilità clinica di un nuovo integratore in formulazione spray".

Titolo dell'Intervento 3: "S-adenosilmetionina. Una nuova via per una vecchia molecola".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

VII CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).

10 marzo 2007 – Como

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio; dr. Alfredo Vanotti.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

XIX CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).

29 novembre 2008 – Milano

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr.ssa Gemma Martino.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Alberto Cola; dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

CORSO DI FORMAZIONE AVANZATA ALIMENTI E SALUTE "Alimenti, nutrizione e tumori dell'apparato digerente".*

27 novembre – Firenze

Titolo dell'intervento: "Alimenti e tumori: ruolo dello stress ossidativo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

IV CONGRESSO NAZIONALE "Fitoterapia in urologia ed andrologia"*

22 novembre 2008 – Forlì

Titolo dell'intervento: "Lo stress ossidativo: implicazioni in urologia e andrologia".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

11° STAGE IN MEDICINA ESTETICA E CHIRURGIA PLASTICA-ESTETICA*

15 novembre 2008 – Caserta

Titolo dell'intervento: "La gestione dello stress ossidativo in medicina estetica".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

XIII CONGRESSO NAZIONALE ADI "Aqua 2008"*

6 novembre 2008 – Genova

Titolo dell'intervento: "La diagnostica dello stress ossidativo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CONFERENZA SUL CIBO E SULL'ALIMENTAZIONE "CIBARIA"*

25 ottobre 2008 – Roma

Titolo dell'intervento: "Il ruolo dello stress ossidativo"

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

[SCARICA IL PROGRAMMA: [2008_iorio_cibaria_roma_programma](#)]

XVIII CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

25 ottobre 2008 – Pisa

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio; prof. A. Pompella; prof. G. Siciliano.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr.ssa Selina Piazza; dr.ssa Annalisa Lo Gerfo.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO "Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti: dalla ricerca di base alla pratica clinica. Il ruolo dell'esercizio fisico".*

18 ottobre 2008 – Brescia

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr.ssa Maria Grazia Marin; Dr. Romano Aronne.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un fattore di rischio emergente per la salute. Il ruolo dell'esercizio fisico".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

OXIGENA.LAB – Via Marconi, 11 – 25123 Brescia (MI)

Tel. + 39 030 3386212 – Fax +39 030 3386136– E-mail: simona.signorini@oxygenlab.com

***EVENTO SPOSTATO AD ALTRA DATA IN CORSO DI ACCREDITAMENTO ECM**

CORSO TEORICO-PRATICO "L'uso della strumentazione analitica dedicata *CARPE DIEM* nella valutazione del bilancio ossidativo".

Con la partecipazione straordinaria dell'inventore del d-ROMs test, Mauro Carratelli.

13-14 ottobre – Grosseto

Titolo dell'intervento: "Principi ed applicazioni del d-ROMs test e del BAP test".

10° CONGRESSO INTERNAZIONALE DI MEDICINA ESTETICA DELL'AGORÀ

10 Ottobre – Milano

Titolo dell'intervento: Valutazione combinata del profilo genetico di rischio e del bilancio ossidativo in Medicina Estetica. L'analisi clinica diventa personale.

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

XVII CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

4 ottobre 2008 – Venezia

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr. Paolo Pallini.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

I CONVEGNO DELL'ACCADEMIA DI STUDI E RICERCHE DI ODONTOSTOMATOLOGIA E PREVENZIONE ODONTOSTOMATOLOGICA "**IL CHIRONE**"

27 settembre 2008 – Roma

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo e neoplasie del cavo orale. What's news?"

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

XX SALONE INTERNAZIONALE DEL BENESSERE "**SANA**". CONVEGNO MEDICO-SCIENTIFICO "Nutrizione e metabolismo - Lo stress ossidativo: cause, effetti, diagnosi e terapie"

13 settembre 2008 – Bologna

Titolo dell'intervento: "Aggressione radicalica e irrigidimento di membrana".

CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO "Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti: dalla ricerca di base alla pratica clinica. Aspetti fisiopatologici e diagnostico-terapeutici".*

12 settembre 2008 – Brescia

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr.ssa Daniela Uberti; Dr. Ruggiero Grazioli.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un fattore di rischio emergente per la salute".

Tutor: *dr. Nicola Giovanelli.*

Segreteria organizzativa

OXIGENA.LAB – Via Marconi, 11 – 25123 Brescia (MI)

Tel. + 39 030 3386212 – Fax +39 030 3386136 – E-mail: simona.signorini@oxygenlab.com

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO "Diagnosi e prevenzione del danno da stress ossidativo L'efficacia degli antiossidanti nell'intervento contro i danni provocati dai radicali liberi"*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo. Le difese fisiologiche. Le reazioni dell'organismo umano in condizioni di stress ossidativo".

18-19 giugno 2008 – Bari

Responsabile scientifico *Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.*

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr.ssa Francesca Noli.*

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa: *Dr.ssa Marisa Campanile, Ordine Nazionale dei Biologi, Delegazione Provinciale di Bari.*

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

XVI CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

14 giugno 2008 – Arezzo

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr. Emanuele Ceccherini.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr.ssa D. Tozzuoli; inf. B. Rossi.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

XV CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

7 giugno 2008 – Genova Nervi

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr. Roberto Aquilani.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

VII CORSO NAZIONALE "Progress in nutrizione clinica"*

28 maggio 2008 – Portonovo (*Ancona*)

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo: aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CORSO DI AGGIORNAMENTO "Lipidomica e stress radicalico"*

24 maggio 2008 – Bologna

Titolo dell'intervento 1: "Stress radicalico. Fonti fisiologiche e patologiche".

Titolo dell'intervento 2: "L'analisi dello stress ossidativo e radicalico: vari mezzi diagnostici a confronto".

Segreteria scientifica e organizzativa: Consiglio Nazionale delle Ricerche. Bologna.

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

II EDIZIONE ITALIANA "Le giornate nazionali di nutrizione pratica"*

23 maggio – Milano

Titolo dell'intervento: "È possibile proteggersi dai raggi UV, induttori di radicali liberi, con una strategia alimentare?".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

SCUOLA DI MEDICINA ANTIAGING AGORA'

23 maggio – Milano

Titolo dell'intervento (lezione): "Stress ossidativo e funzione mitocondriale".

CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO "Stress ossidativo, radicali liberi e antiossidanti: dalla ricerca di base alla pratica clinica".*

22 maggio 2008 – Brescia

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr. Diego Di Lorenzo; Dr. Ruggiero Grazioli.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un fattore di rischio emergente per la salute".

Tutor: *dr. Nicola Giovanelli.*

Segreteria organizzativa

OXIGENA.LAB – Via Marconi, 11 – 25123 Brescia (MI)

Tel. + 39 030 3386212 – Fax +39 030 3386136– E-mail: simona.signorini@oxygenlab.com

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

CORSO DI AGGIORNAMENTO "Nutrizione e integrazione alimentare nella pratica sportiva. Fabbisogni reali ed abusi".*

*Promosso dalla **Centrale del Latte di Salerno***

9 – 10 maggio 2008 – Salerno

Titolo dell'intervento 1: "Presentazione dei risultati di uno screening di salute in un campione di studenti".

Titolo dell'intervento 2: "Il latte nella nutrizione dello sportivo. Novità dalla ricerca".

Titolo dell'intervento 3: "La valutazione dello stress ossidativo nello sportivo".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

CONGRESSO "Alimentazione, stili di vita e donatori di ossido nitrico: sinergia di intenti con obiettivo prevenzione".*

Con la partecipazione straordinaria del NOBEL 1998 per la MEDICINA PROF. LOUIS IGNARRO

12 aprile 2008 – Rimini

Titolo dell'intervento (fuori programma): "Stress ossidativo, alimentazione e ossido nitrico. Dalla ricerca di base alla pratica clinica".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

XIV CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

5 aprile 2008 – Bologna

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. Eugenio Luigi Iorio; dr.ssa Carla Zagonara.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Gaetano Landoni.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

XIII CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (*già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo"*).*

15 marzo 2008 – Trieste

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio; prof. G. Biolo; dr.ssa M. Zanetti.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Beniamino Ciochi.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

3° CONGRESSO INTERNAZIONALE DI MEDICINA PREVENTIVA ED HEALTHY AGING*

8 marzo 2008 – Milano

Titolo dell'intervento: "Sindrome fibromialgica e stress ossidativo. Ruolo dell'integrazione antiossidante".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

2° CONGRESSO INTERNAZIONALE DI DERMATOLOGIA PLASTICA (ISPLAD)*

7 marzo 2008 – Milano

Titolo dell'intervento: "Valutazione di efficacia di formulazioni antiossidanti. Metodiche a confronto".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

SIMPOSIO "Stress ossidativo e integrazione nutrizionale. dalla ricerca di base alla pratica clinica"

23 febbraio 2008 – Salerno

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo ed integrazione nutrizionale. Potenziale utilità clinica di formulazioni antiossidanti naturali ad azione sinergica".

I CORSO DI AGGIORNAMENTO AMIK-ONLUS PER MEDICI "Malattie neurodegenerative e stress ossidativo"

16 febbraio 2008 – Firenze

Relatore: Prof. Umberto Cornelli (Chicago, Loyola University).

Presenza come discente

DERMOPHYSIOLOGIQUE CONVENTION

3 febbraio 2008 – Principina Terra (*Grosseto*)

Titolo dell'intervento: "Stress ossidativo, benessere e qualità della vita".

XII CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO-PRATICO (PROGRAMMA QUADRIENNALE) "Stress Ossidativo, Radicali Liberi e Antiossidanti. Aspetti nutrizionali, clinico-farmacologici e diagnostici" (già "Radicali Liberi e Antiossidanti. Fisiopatologia, clinica e diagnostica dello stress ossidativo").*

26 gennaio 2008 – Vicenza

Responsabile scientifico

Dr. Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD.

Relatori: *dr. E. L. Iorio; prof. G. Ronzani.*

Lettura magistrale a cura del dr. Eugenio Luigi Iorio

"Lo stress ossidativo: un nuovo fattore di rischio per la salute".

Tutor: *dr. Eugenio Luigi Iorio.*

Segreteria organizzativa

DMF (Dietetic Metabolic Food) s.r.l. – Via Mazzini, 13 – 20051 Limbiate (MI)

Tel. + 39 02 9969124 – Fax + 39 02 9969887 – E-mail: acentorani@dmfmetabolic.it

***EVENTO ACCREDITATO ECM (6 CREDITI FORMATIVI ASSEGNATI)**

PER MEDICI, BIOLOGI, FARMACISTI, DIETISTI

I CONVEGNO NAZIONALE MULTIDISCIPLINARE DI MEDICINA*

19 gennaio 2008 – Roma

Titolo dell'intervento (fuori programma): "Stress ossidativo ed integrazione nutrizionale. Potenziale utilità clinica di formulazioni antiossidanti naturali ad azione sinergica".

***EVENTO ACCREDITATO ECM**

ESTERO

2nd ISTAMBUL ANTI-AGING – MEDICAL AESTHETICS CONGRESS AND EXHIBITION.

23-26 novembre 2006 – *Istanbul (Turchia)*

Lecture: "Managing the oxidative stress in clinical practice to preventing the ageing".

INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON COENZYME Q₁₀ AND ANTIOXIDANTS

22 ottobre 2006 – Seoul (Corea del Sud)

Lecture 1: "The latest information about oxidative stress researches with d-ROMs test, OXY-Adsorbent test and BAP test".

Lecture 2: "Research on measuring oxidative stress and antioxidative capacity. The principle of d-ROMs and BAP tests of FRAS (Free Radical Analytical System)".

PRE-WORKSHOP OF INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON COENZYME Q₁₀ AND ANTIOXIDANTS

21 ottobre 2006 – Seoul (Corea del Sud)

Lecture 1: "Why we need free radical test?".

OXIDATIVE STRESS SPAIN TOUR – IIIrd SEMINAR

30 settembre 2006 – Barcellona (*Spagna*)

Titolo dell'intervento: "El estrés oxidativo. De la investigación a la práctica clínica".

OXIDATIVE STRESS SPAIN TOUR – IInd SEMINAR

29 settembre 2006 – Madrid (*Spagna*)

Titolo dell'intervento: "El estrés oxidativo. De la investigación a la práctica clínica".

OXIDATIVE STRESS SPAIN TOUR – Ist SEMINAR

28 settembre 2006 – Bilbao (*Spagna*)

Titolo dell'intervento: "El estrés oxidativo. De la investigación a la práctica clínica".

XIII BIENNIAL MEETING OF THE SOCIETY FOR FREE RADICAL RESEARCH INTERNATIONAL

15 al 19 agosto 2006 – Davos (Svizzera)

Solo presenza

IV FREE RADICAL SEMINAR

9 luglio 2006 – Tokyo (*Giappone*)

Plenary Lecture: "The latest information about oxidative stress researches with d-ROMs test, OXY-Adsorbent test and BAP test".

MEDICA COMPAMED 2007

15-17 novembre – Dusseldorf (*Germania*)

Solo presenza

PRAGA VITAMIN 2007 – International Conference

19 settembre 2007 – Praga (Repubblica Ceca)

Titolo dell'intervento: "New diagnostic tools to evaluate oxidative stress in the clinical practice. The general biochemical significance and successful cases from clinical practice with d-ROMs test/BAP test".

ANTI-AGING MEDICINE WORLD CONGRESS

22-23 marzo – Montecarlo (*Principato di Monaco*)

Titolo dell'intervento: "Managing the oxidative stress: an original algorithm".

V FREE RADICAL SEMINAR

15 luglio – TOKYO (Giappone)

Titolo dell'intervento: "The latest oxidative stress research information. The general biochemical significance and successful cases from clinical practice with d-ROMs test/BAP test".

IIIrd EUROSPE ANNUAL CONFERENCE AND Ist MEETING OF THE WORLD ASSOCIATION OF GENOMIC MEDICINE

11-14 dicembre – La Coruña (*Spagna*)

Titolo dell'intervento 1: "Redoxomics. An integrated and practical approach to genomics, metabolomics and lipidomics to manage oxidative stress".

Titolo dell'intervento 2: "Future challenges for personalised Medicine in the European Union. The contribution of International Observatory of Oxidative Stress"

Scarica gli interventi:

VIth FREE RADICAL SEMINAR

13 luglio - Tokyo (*Giappone*)

Titolo dell'intervento: "d-ROMs test and BAP test and new diagnostic tools to evaluate oxidative stress in preventive medicine".

4th ANNUAL CONGRESS OF MIND AND PHYSIQUE AESTHETICS ACADEMY OF JAPAN

10 luglio - Tokyo (*Giappone*)

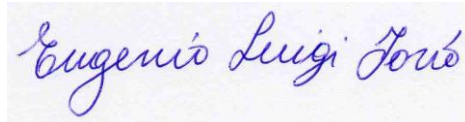
Titolo dell'intervento: "The management of oxidative stress in aesthetic medicine"

Ist ANNUAL IBERIAN CONGRESS OF ANTIAGING MEDICINE AND BIOMEDICAL TECHNOLOGIES

30 maggio 2008 – Lisbona (*Portogallo*)

Titolo dell'intervento: "Managing the oxidative stress in clinical practice to preventing the early ageing".

In fede.



Salerno, 25 gennaio 2011.

(Eugenio Luigi Iorio)

Si concede autorizzazione al trattamento dei dati personali ai sensi e per effetto del D. Lgs. n. 196/2003 "Codice in materia di protezione dei dati personali".

