

Prof. Giorgio Sartor

Specie radicaliche e stress ossidativo

Copyright © 2001-2008 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

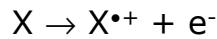
Versione 4.1 – apr 2008

Radicali

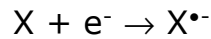
- Specie chimiche con elettroni spaiati
 - occupano da soli un orbitale atomico o molecolare
- Molto instabili e reattivi verso le altre molecole per compensare tale squilibrio
- Autopropagazione per reazioni a catena
- Pericolosità inversamente proporzionale all'emivita

Meccanismi di formazione di radicali

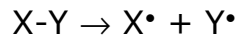
- Perdita di un elettrone:



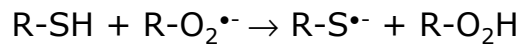
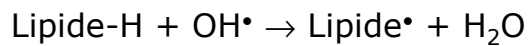
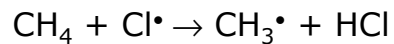
- Acquisto di un elettrone:



- Scissione omolitica di un legame covalente:



- Astrazione di un atomo di idrogeno (H[•]) da parte di un'altra specie radicalica:



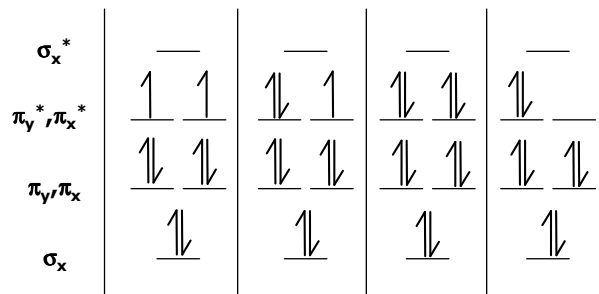
gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

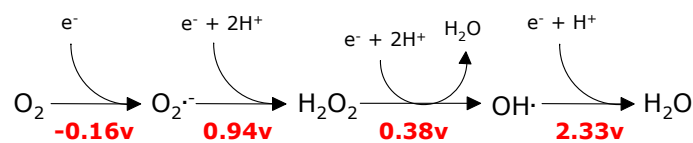
- 3 -

Ossigeno

- Orbitali molecolari dell'ossigeno



- Potenziali di riduzione



gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 4 -

Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS)

- Specie non radicaliche
 - H_2O_2 *acqua ossigenata (perossido di idrogeno)*
 - HOBr *acido ipobromoso*
 - HOCl *acido ipocloroso*
 - O_3 *ozono*
 - $O_2 \ ^1\Delta g$ *ossigeno singoletto*
 - LOOH *perossido lipidico*
 - ONOOH *perossinitrito*
- Radicali prodotti per riduzione ad un elettrone
 - $\bullet O-O\bullet + e^- \rightarrow \bullet O-O\bullet^-$ *anione superossido*
 - $O_2\bullet^- + \bullet OH \rightarrow \ ^1O_2 + OH^-$ *ossigeno singoletto*
 - $2O_2\bullet^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + \ ^3O_2$ *perossido*
 - $O_2\bullet^- + H_2O \rightarrow HOO\bullet$ *idroperossiradicale*
 - $H_2O_2 + e^- \rightarrow OH^- + \bullet OH$ *radicale idrossido*
 - $H_2O_2 + Fe^{2+} (Cu^+) \rightarrow Fe^{3+} (Cu^{++}) + OH^- + \bullet OH$ (R. Fenton)
 - $H_2O_2 + O_2\bullet^-$ (cat. Cu/Fe) $\rightarrow O_2 + OH^- + \bullet OH$ (R. Haber-Weiss)
 - $L + O_2\bullet^- \rightarrow LOO\bullet^-$ *anione lipoperossido*

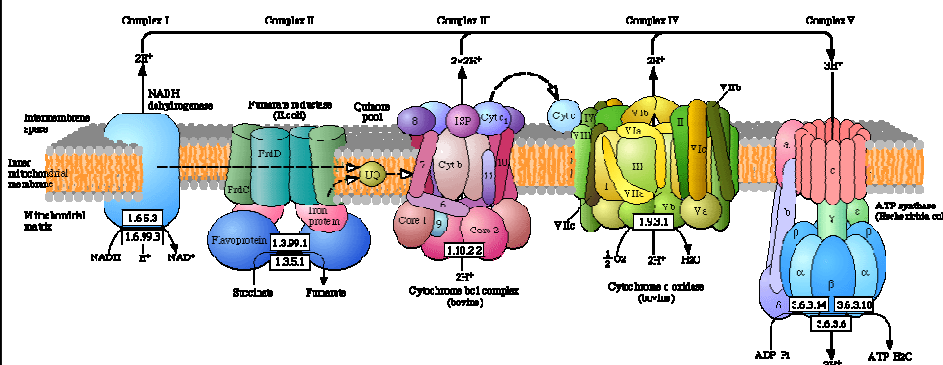
gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 5 -

Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS)

- Prodotte dalla catena respiratoria



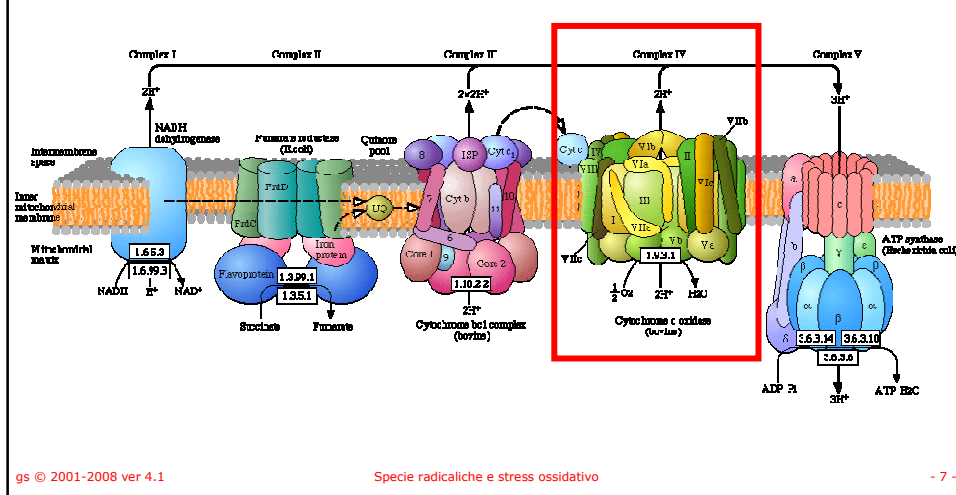
gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

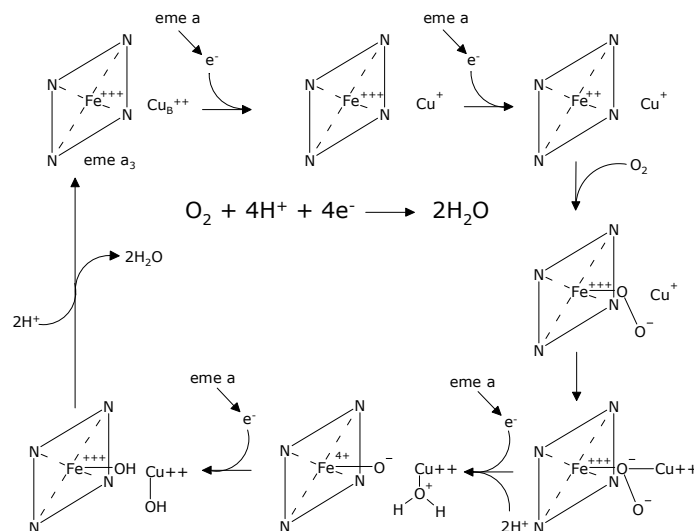
- 6 -

Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS)

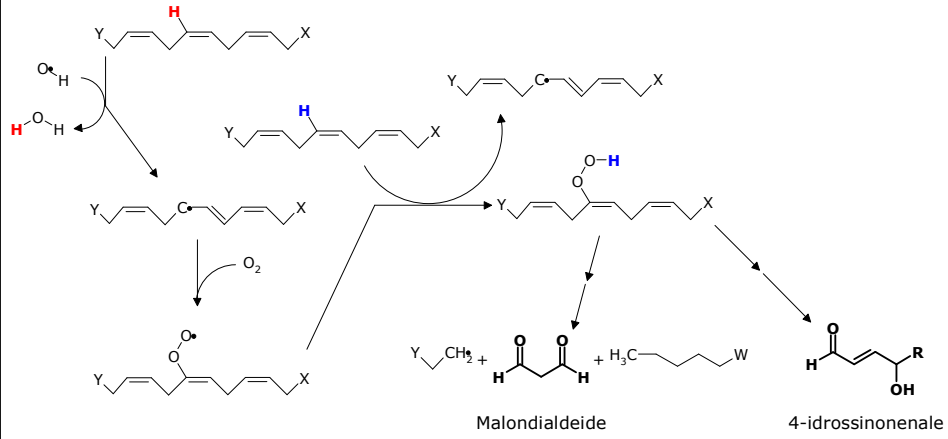
- Prodotte dalla catena respiratoria nel complesso IV



Formazione di H₂O nel complesso IV



Lipoperossidi

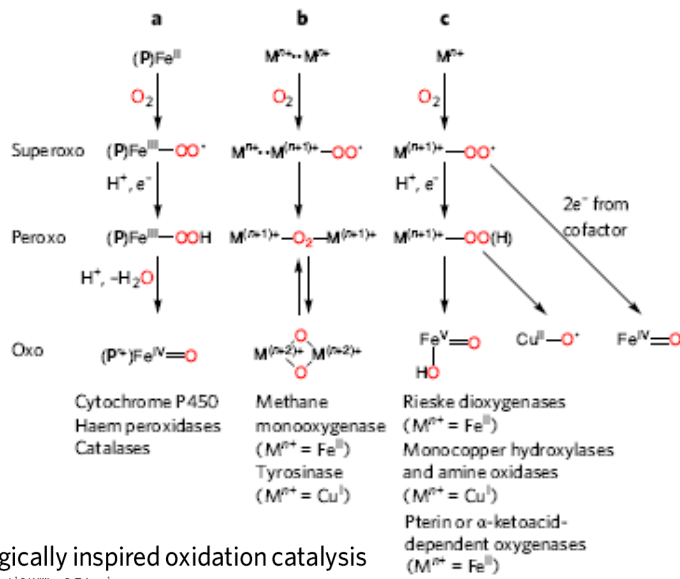


gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 9 -

Nature 2008 18/09



Biologically inspired oxidation catalysis

Lawrence Que Jr¹ & William B. Tolman²

gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 10 -

Specie Reattive dell'Azoto (RNS)

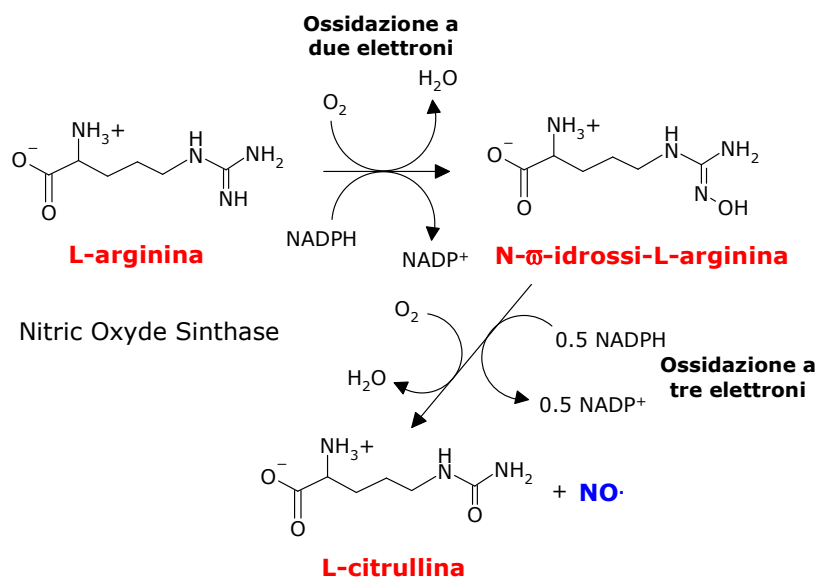
- Prodotti prevalentemente dallo smog fotochimico
- Specie non radicaliche
 - HNO_2 *acido nitroso*
 - NO^+ *catione nitrosile*
 - NO^- *anione nitrosile*
 - N_2O_4 *tetrossido di diazoto*
 - N_2O_3 *triossido di diazoto*
 - NO_2^+ *nitrile*
 - ROONO *alchilperossinitrito*
 - NO_2Cl *cloruro di nitrile*
- Specie radicaliche
 - $\text{O}_2 + \text{L-arginina} \rightarrow \text{NO}^\bullet + \text{L-citrullina}$ *ossido d'azoto*
 - $\text{O}_2^{\bullet-} + \text{NO}^\bullet \rightarrow \text{ONOO}^-$ *perossinitrito*
 - $\text{ONOO}^- + \text{CO}_2 \rightarrow \text{ONOOCO}_2^-$ *nitroperossicarbonato*
 - $\text{ONOOCO}_2^- \rightarrow \text{NO}_2^\bullet + \text{CO}_3^{\bullet-}$ *biossido d'azoto*

gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 11 -

Ossido d'azoto e NOS (EC 1.14.13.39)

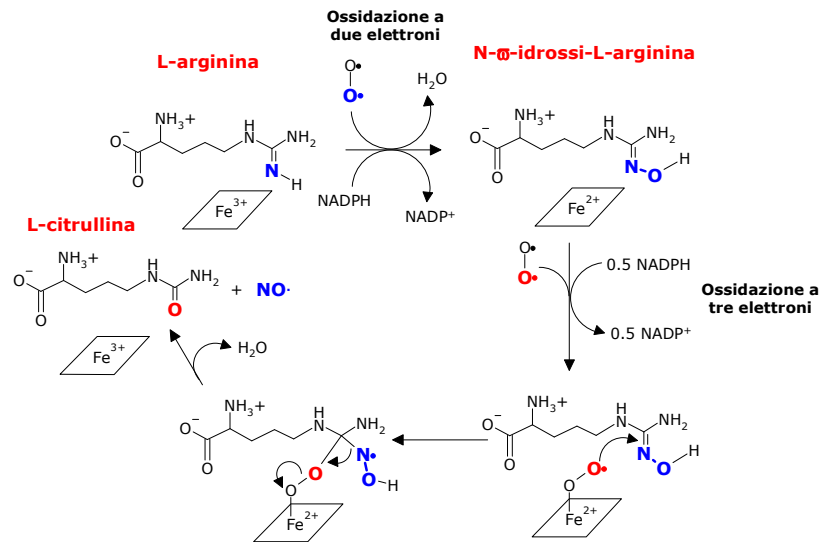


gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 12 -

Ossido d'azoto e NOS (EC 1.14.13.39)

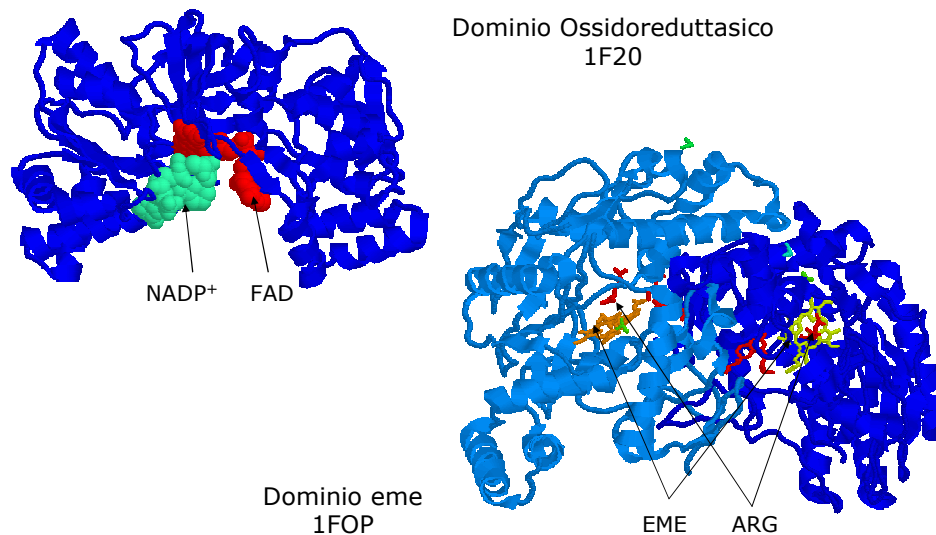


gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 13 -

NO sintasi (EC 1.14.13.39)



gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

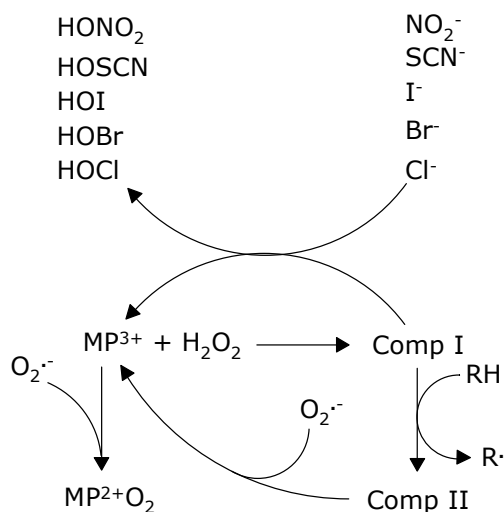
- 14 -

Specie reattive del cloro (RCS)

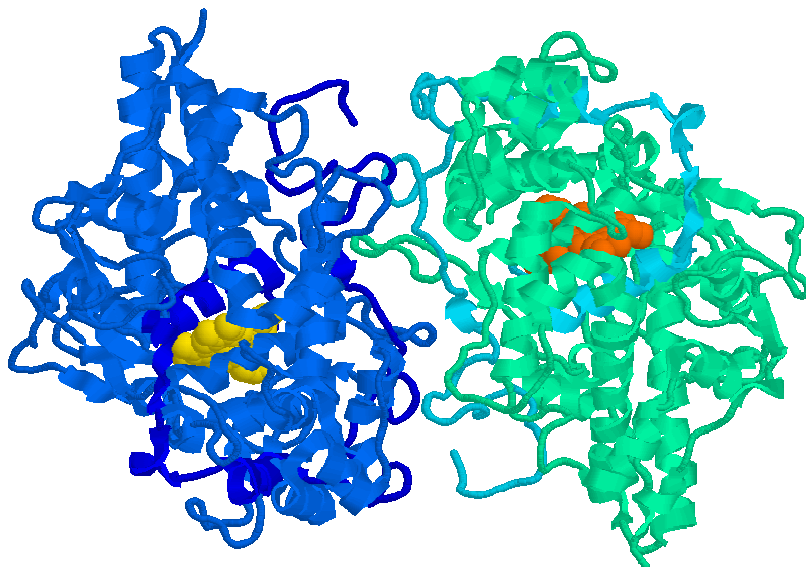
- Radicali
 - Cl^\bullet
- Non radicaliche
 - HOCl acido ipocloroso (ROS)
 - NO_2Cl cloruro di nitrile (RNS)
 - Cloramine
 - Cl_2 cloro

Mieloperossidasi (EC 1.11.1.7)

- La mieloperossidasi (MP^{3+}) è un enzima perossidasi presente nei granuli dei neutrofili.
- Si ritiene che produca HOCl nei fagosomi.
- Può usare anche altri ioni oltre il cloruro.



Mieloperossidasi (EC 1.11.1.7)



gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 17 -

Stabilità dei radicali

RADICALE		TEMPO DI VITA
Radicale idrossido	$\cdot\text{OH}$	10^{-9} s
Radicale alcossido	$\cdot\text{OR}$	10^{-6} s
Ossigeno singoletto	$^1\text{O}_2$	10^{-5} s
Anione perossinitrito	ONOO^-	0.05-1.0 s
Ossido di azoto	$\cdot\text{NO}$	1-10 s
Radicale perossido	$\text{ROO}\cdot$	7 s
Anione superossido	$\text{O}_2^{\cdot-}$	10^3 - 10^4 s

gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 18 -

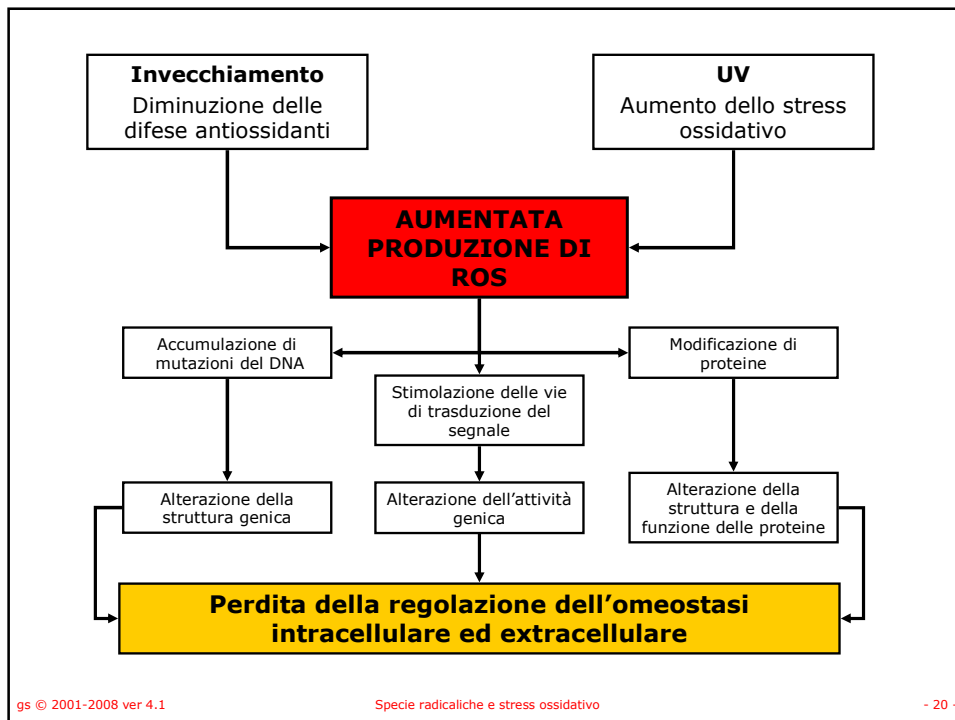
Sorgenti di Radicali

- Endogene:
 - Catena respiratoria,
 - Fotosintesi,
 - Sintesi di prostaglandine,
 - Metabolismo dei nucleotidi
 - Perossisomi,
 - Autossidazione,
 - Fagocitosi,
 - Ossiemoglobina,
 - Enzimi ossidativi...
- Esogene:
 - Xenobiotici,
 - Radiazioni
 - Ionizzanti (raggi X)
 - Non ionizzanti (UV)
 - Calore,
 - Infezione,
 - Iperossia,
 - Inquinamento...

gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

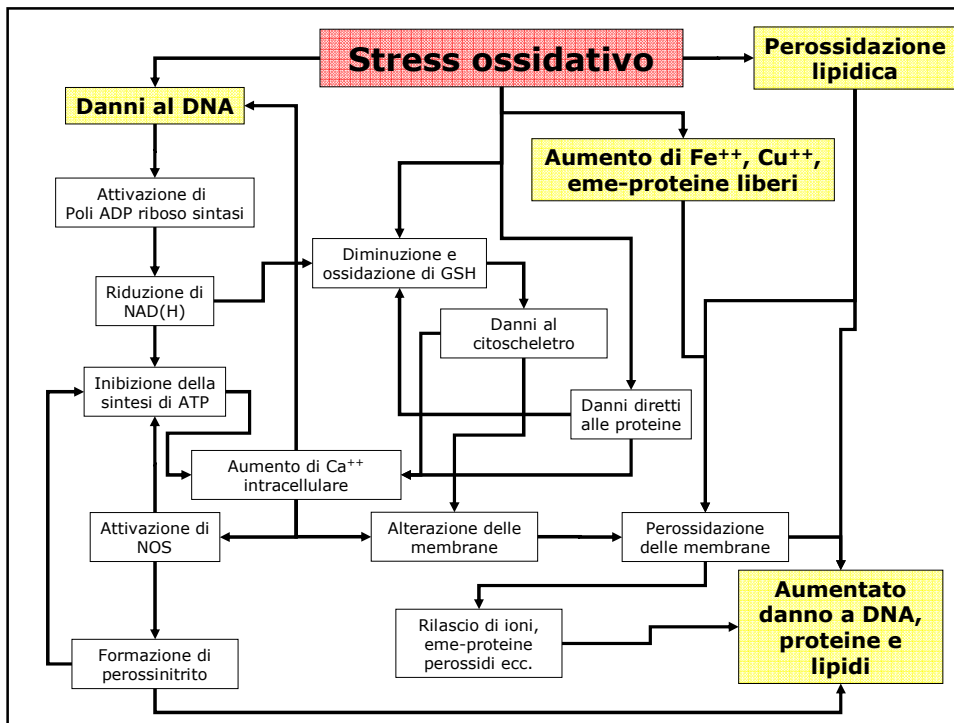
- 19 -



gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 20 -



Danni al DNA

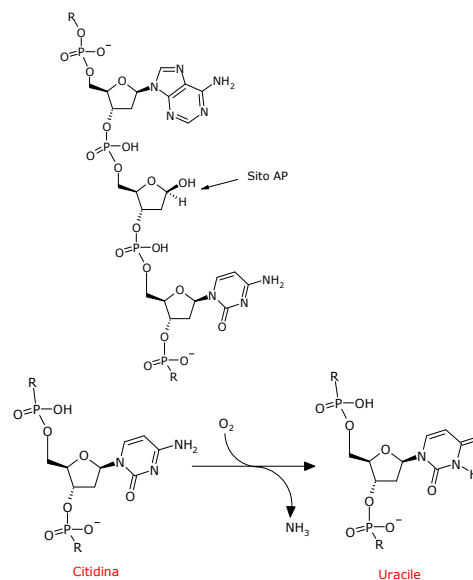
gs © 2001-2008 ver 4.1 Specie radicaliche e stress ossidativo - 22 -

Tipi di danni al DNA

- Danni naturali
- Danni fisici (radiazioni ionizzanti e UV)
- Danni chimici (ROS e inquinanti organici)

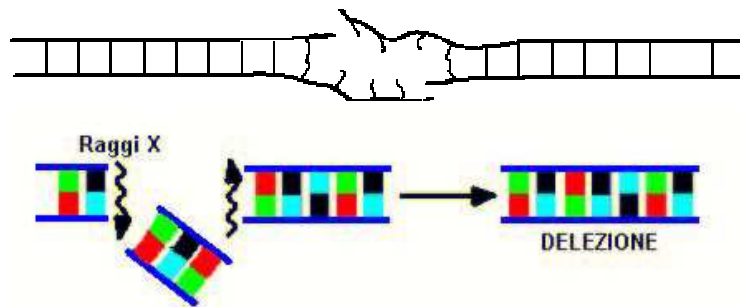
Danni Naturali

- Perdita di basi: il legame glicosidico è labile sotto condizione fisiologiche (formazione di un sito AP).
- Deaminazione: i gruppi amminici primari sono a volte instabili e possono venire convertiti in chetoni.



Danni Fisici: Radiazioni Ionizzanti

- Danni diretti: *Single Strand Break, Double Strand Break, mismatched bases.*
- Danni indiretti: produzione di ROS.



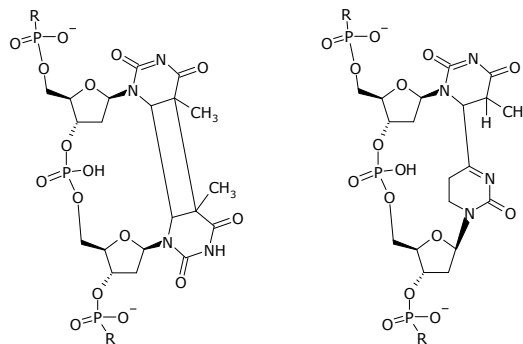
gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 25 -

Danni Fisici: Radiazioni UV

- Stress ossidativo: foto-carcinogenesi e foto-invecchiamento (UV-B)
- Foto-dimerizzazione: formazione di CPD e 6-4PP (UV-C).



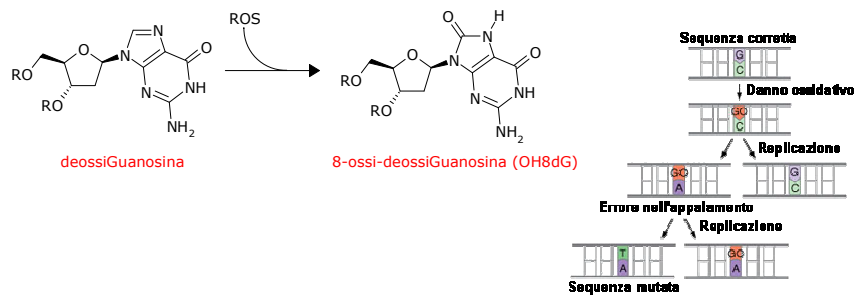
gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 26 -

Danni chimici: ROS

- Causano ossidazione delle basi e **amplificano** deaminazioni e depurinazioni.
 - Un esempio di composto ossidato è OH8dG: causa trasversioni delle basi GC → TA



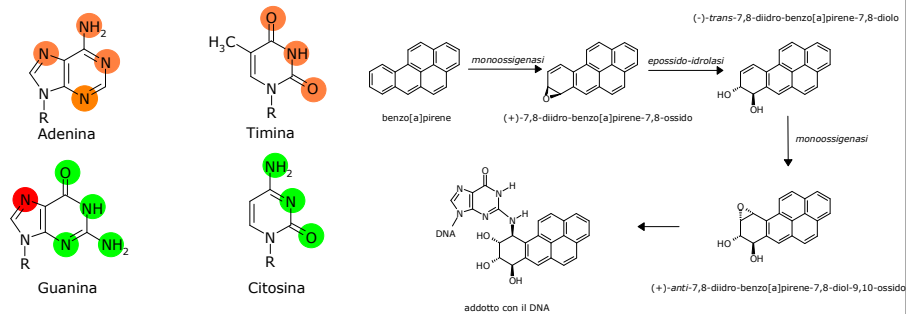
gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 27 -

Danni chimici: inquinanti Organici

- Genotossici: danno diretto al DNA tramite formazione di addotti (alchilanti in posizioni nucleofile).
- Epigenetici: danno indiretto al DNA attraverso stress ossidativo o l'attivazione di composti pericolosi. Es. IPA.



gs © 2001-2008 ver 4.1

Specie radicaliche e stress ossidativo

- 28 -

Antiossidanti

- Gli antiossidanti non sono, in genere, dei radicali liberi. Quindi quando un antiossidante agisce si forma un radicale derivato dall'antiossidante.
- Se un radicale libero perde o guadagna un elettrone non è più un radicale libero:
$$\text{NO}^\bullet \rightarrow \text{e}^- + \text{NO}^+$$
$$\text{NO}^\bullet + \text{e}^- \rightarrow \text{NO}^-$$
- La reazione tra specie radicaliche porta alla perdita netta di radicali
$$\text{O}_2^{\bullet-} + \text{NO}^\bullet \rightarrow \text{ONOO}^-$$
- nello specifico lo ione perossinitrito può generare radicale idrossile.
$$\text{ONOOH} \rightarrow \text{OH}^\bullet + \text{NO}_2^\bullet$$

Meccanismi di riparo del danno

- Fisiopatologia ambientale...

Referenze sul WEB

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici:
<http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database):
<http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry
<http://www.atsdr.cdc.gov>

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:
<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>
- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor

Università di Bologna a Ravenna

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it

