

**CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO PRATICO**  
**“Radicali liberi, antiossidanti e stress ossidativo.**  
**Dalla ricerca di base alla pratica clinica”**

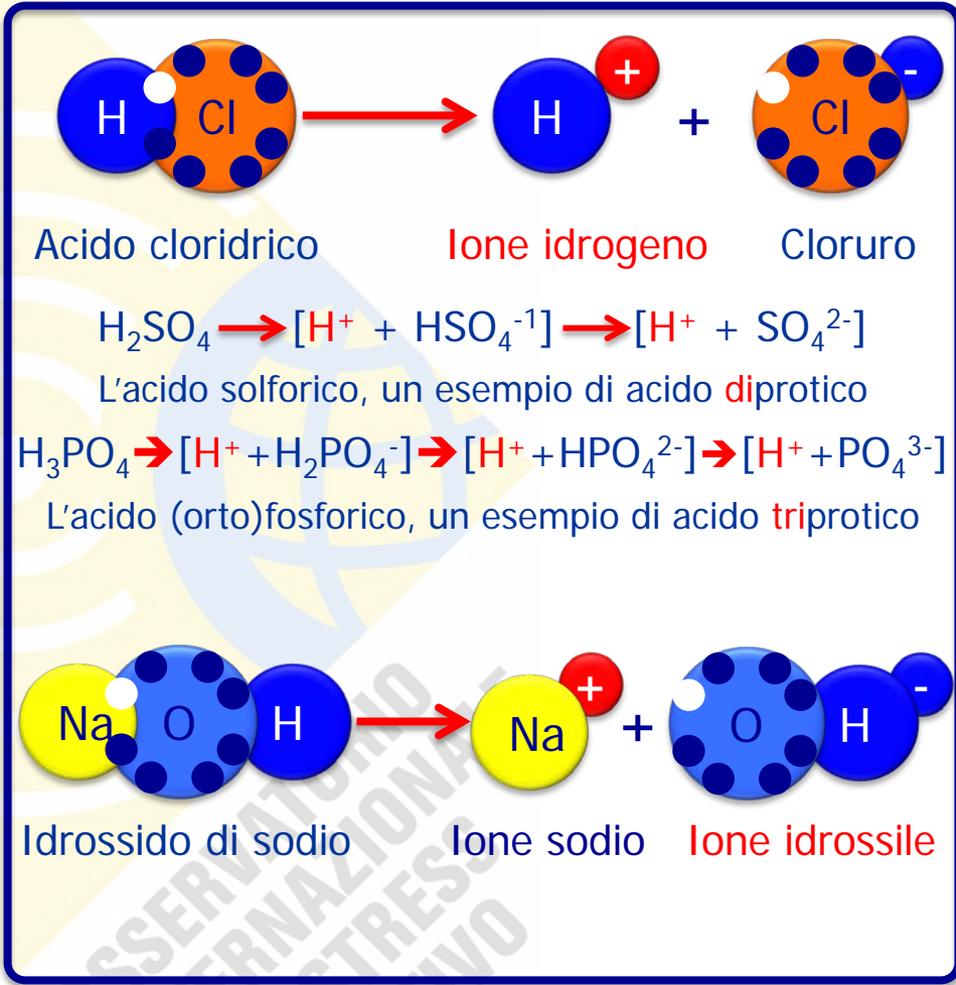
## **INTERVENTO A TEMA 2**

### **Stress ossidativo e acidosi. Implicazioni nutrizionali.**

**Dr.ssa Maria Giuseppa Gargano**  
**Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo**  
**Sezione Medicine Nutrizione e Medicine Complementari**  
**Pagani (Salerno)**

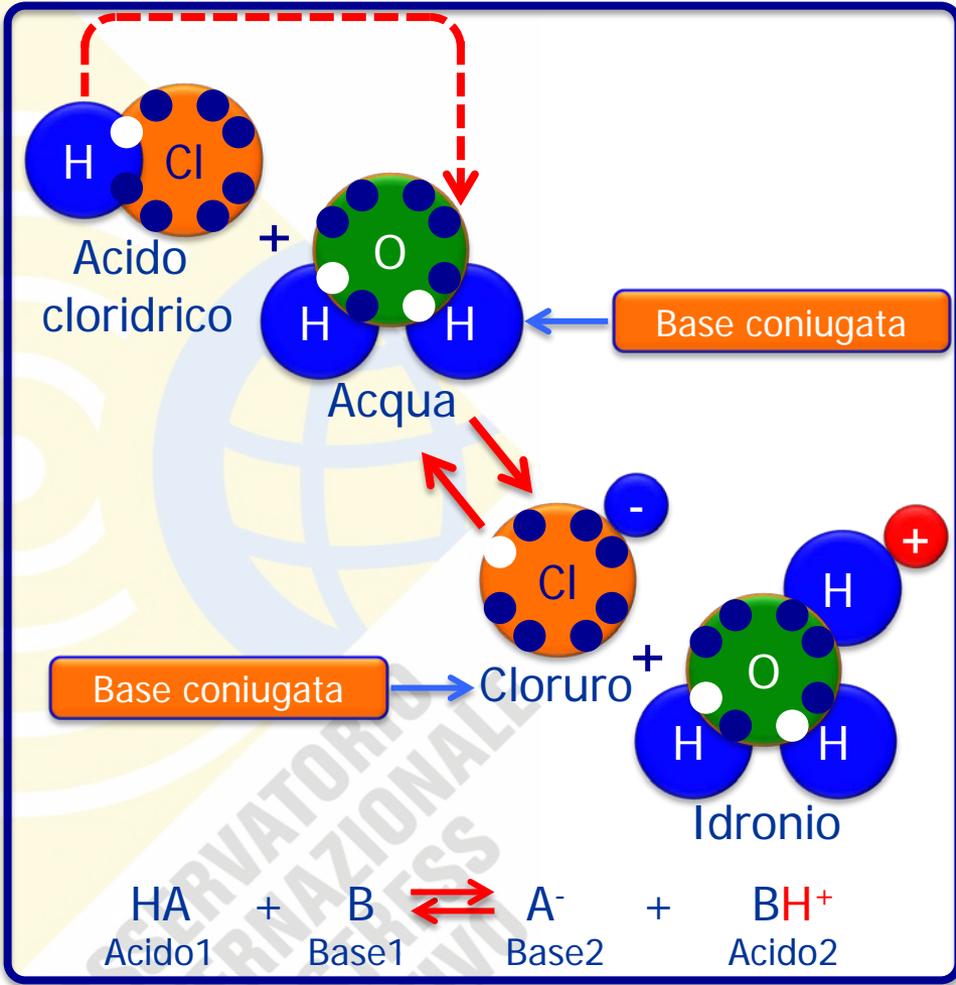
**Salerno. 25 maggio 2013.**  
***Sala Conferenze Ordine dei Medici***

Un acido è una sostanza che in acqua rilascia uno o più **ioni idrogeno** (H<sup>+</sup>) [una base rilascia **ioni idrossile** (OH<sup>-</sup>)]



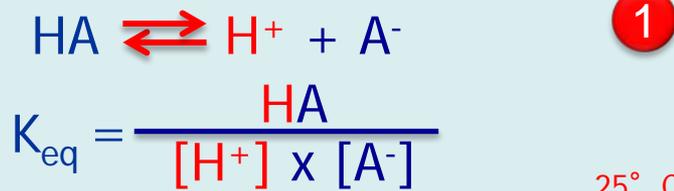
**Svante August Arrhenius (Vik 1859 – Stoccolma, 1927)**  
**Premio Nobel per la Chimica 1923 (ioni-elettricità)**

Dal concetto di acido e di base alla teoria acido-base:  
un *acido* cede uno **ione idrogeno** ad una *base*.

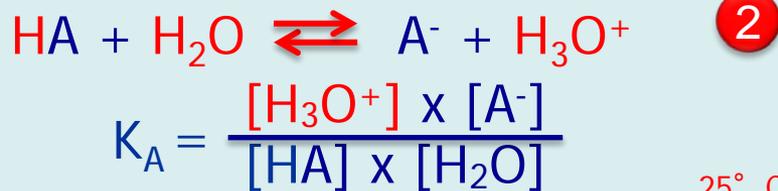


Johannes Nicolaus Bronsted (Varde, 1879–Copenhagen, 1947)  
Thomas Martin Lowry (1874, Yorkshire – 1936)

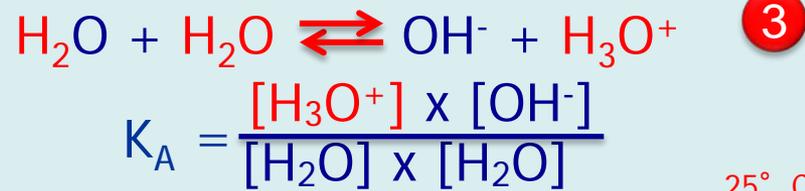
# Acidi forti ed acidi deboli in soluzione. Dalla costante di dissociazione acida ( $K_A$ ) al prodotto ionico dell'acqua ( $K_W$ ).



Un acido, dissociandosi, dà luogo ad un equilibrio chimico regolato da una specifica costante ( $K_{\text{eq}}$ ) il cui valore sarà tanto più alto quanto più alta sarà la tendenza dell'acido stesso a dissociarsi, ovvero la sua forza. Da qui la distinzione tra acidi forti e acidi deboli.



Applicando la teoria di B-Lowry, un acido (HA), cedendo il suo ione idrogeno alla base acqua ( $\text{H}_2\text{O}$ ), dà luogo ad un equilibrio chimico il valore della cui costante ( $K_A$ ) sarà tanto più alto quanto più alta sarà la tendenza di HA a dissociarsi, ovvero la sua forza. Più forte è l'acido più debole sarà la sua base coniugata e viceversa.



L'acqua si comporta da sostanza anfotera avendo la possibilità sia di cedere sia di acquistare uno ione idrogeno; in particolare,  $\text{H}_2\text{O}$ , come acido, è debolissimo e, quindi, la sua base coniugata ( $\text{OH}^-$ ) è fortissima (il suo  $K_A$ , infatti, è circa  $10^{-16}$  M).

$$K_W = [\text{H}_3\text{O}^+] \times [\text{OH}^-] = 1.0 \times 10^{-14} \quad 4$$

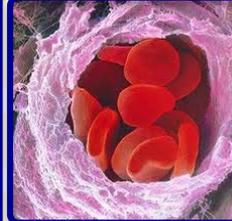
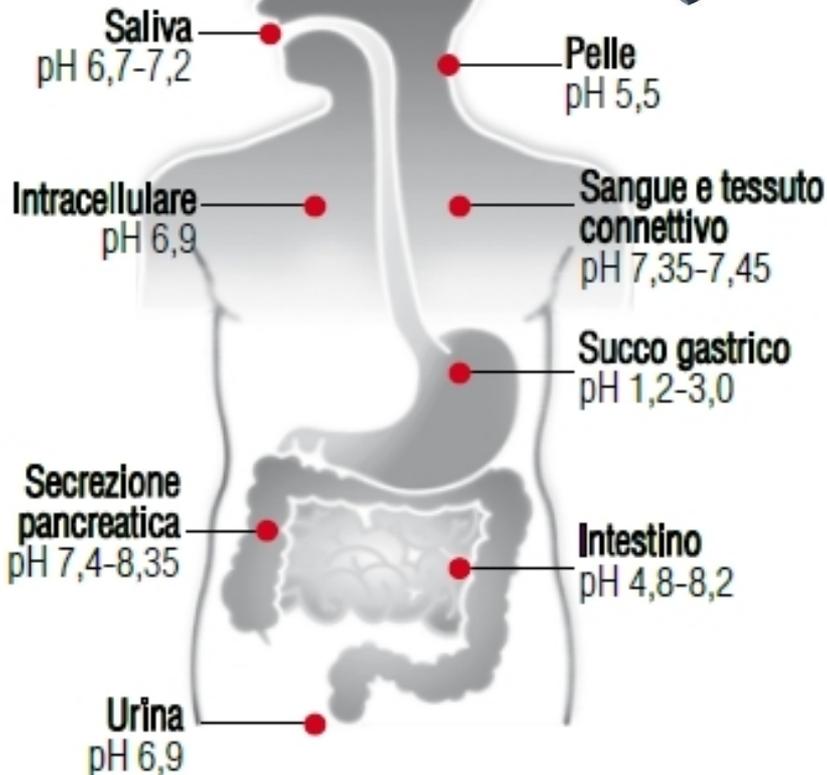
Autodissociandosi l'acqua dà luogo ad un particolare equilibrio, regolato da una specifica costante, il prodotto ionico dell'acqua ( $K_W$ ) ottenuto inglobando in  $K_A$  il denominatore (praticamente costante) di cui all'equazione 3. Quindi, a  $25^\circ \text{C}$ , in qualsiasi soluzione acquosa il prodotto  $[\text{H}_3\text{O}^+] \times [\text{OH}^-]$  è sempre  $10^{-14}$  M.

# Dalla chimica alla matematica



**Balestrieri**

# Il pH nei principali fluidi biologici umani: range fisiologico piuttosto ristretto nel sangue ( $\pm 0.4$ ).



7.35 – 7.45



6.50 – 7.40



6.60 – 6.90



4.50 – 8.00

# Il mantenimento del fisiologico intervallo di pH nel sangue: ruolo dei sistemi tampone *inorganici* ed *organici*.

$\text{CH}_3\text{-COOH}/\text{CH}_3\text{-COO}^-$  acetico/acetato

$\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  ammoniaca/ammonio

*Un sistema tampone è una soluzione acquosa nella quale è disciolta una combinazione di a) un acido debole ( $C_A$ ) con la sua base coniugata ( $C_S$ ) o b) una base debole con il suo acido coniugato. La sua funzione è mantenere costante, entro certi limiti, il pH.*

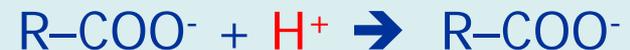
$$[\text{H}_3\text{O}^+] = K_A \times \frac{C_A}{C_S} \quad [\text{OH}^-] = K_B \times \frac{C_B}{C_S}$$
$$\text{pH} = \text{p}K_A + \text{Log} \frac{C_S}{C_A} \quad \text{pOH} = \text{p}K_B + \text{Log} \frac{C_S}{C_B}$$

*Il pH dei sistemi tampone è disciplinato dall'equazione di Henderson-Hasselbach. Da essa si ricava che il potere tampone dipende dalla concentrazione dei suoi componenti e dal loro rapporto (massimo se esso equivale a 1). Ogni tampone è efficiente in un limitato intervallo di pH (dipendente dal  $K_A$  o dal  $K_B$ ).*

$\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$  carbonico/bicarbonato

$\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$  idrogeno-P/diidrogeno-P

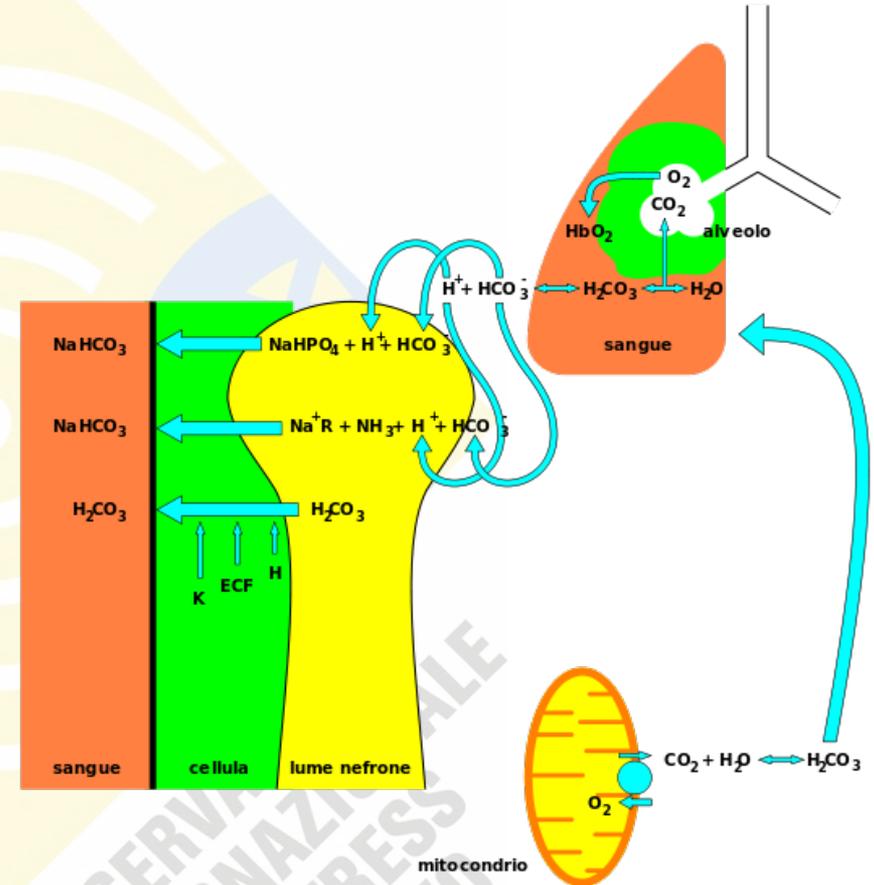
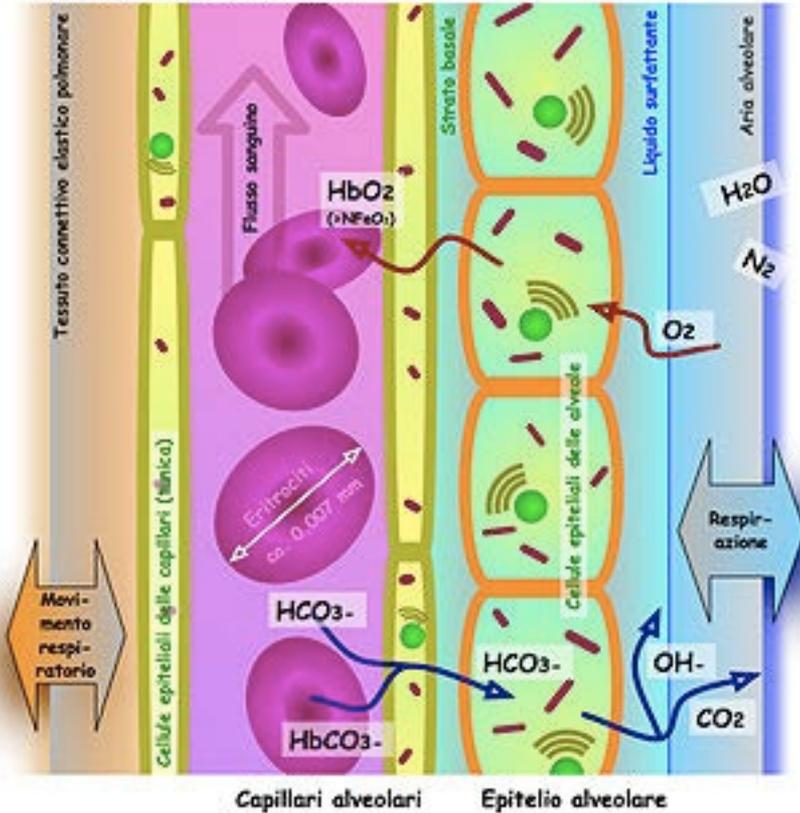
*Nel sangue i principali sistemi tampone INORGANICI sono rappresentati dalla coppia acido carbonico/bicarbonato e diidrogenofosfato/monoidrogeno fosfato, ambedue di limitata efficacia (il primo per lo sfavorevole rapporto, il secondo per il  $\text{p}K$ ).*



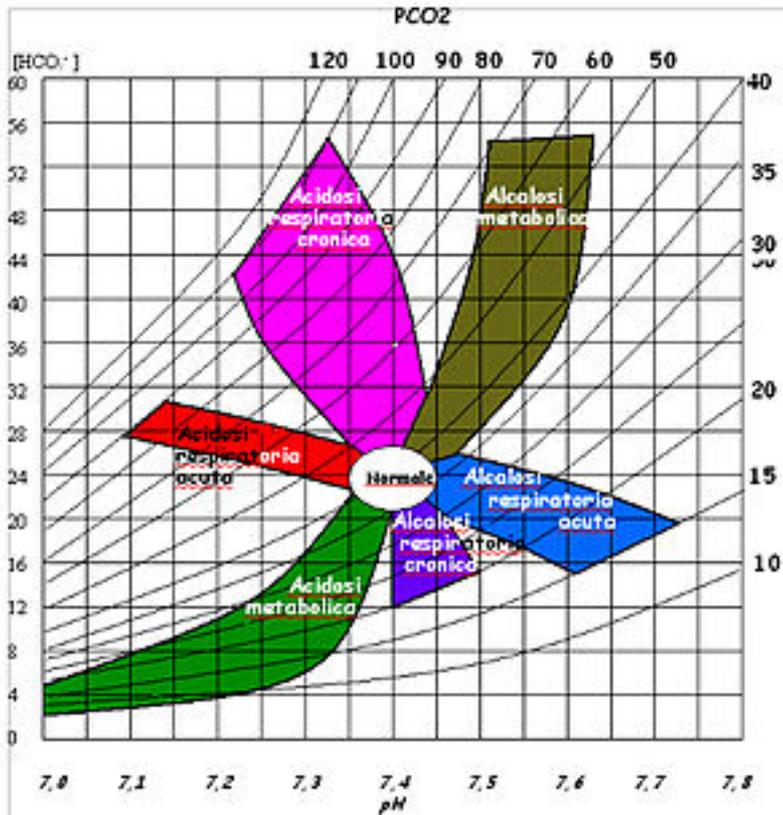
*Nel sangue i più potenti sistemi tampone sono quelli ORGANICI rappresentati dagli amminoacidi, dai peptidi e dalle proteine, i cui gruppi acidi (ammine protonate,  $\text{NH}_3^+$ ), possono cedere  $\text{H}^+$  in caso di aumento del pH, e i cui gruppi basici (ioni carbossilati  $\text{R-COO}^-$ ), possono acquisire ioni  $\text{H}^+$ , in caso di abbassamento del pH.*

# Il mantenimento del fisiologico intervallo di pH nel sangue: il ruolo dei polmoni e dei reni.

Scambio di gas polmonare



# Alterazioni dell'equilibrio acido-base: acidosi ed alcalosi.



**Acidosi/Alcalosi Quadro sinottico**

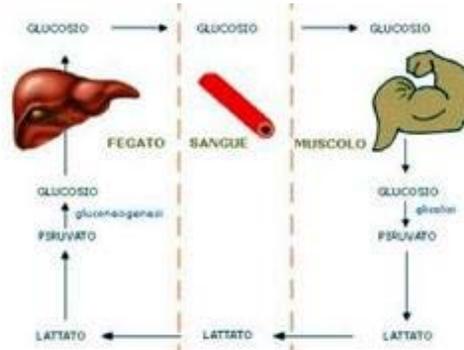
	pH	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	PaCO <sub>2</sub>	BE
<b>Acidosi respiratoria</b>	↓	↓	↑	
<b>Acidosi metabolica</b>	↓	↓		neg
<b>Alcalosi respiratoria</b>	↑	↑	↓	
<b>Alcalosi metabolica</b>	↑	↑	↑ →	pos

# Diverse vie metaboliche favoriscono la produzione (e meno spesso la rimozione) di acidi

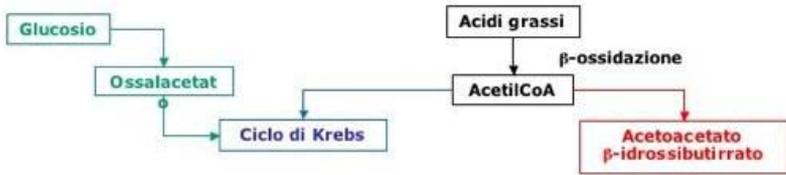
## GLICOLISI



## CICLO DI CORI



## $\beta$ -OSSIDAZIONE E CHETOGENESI

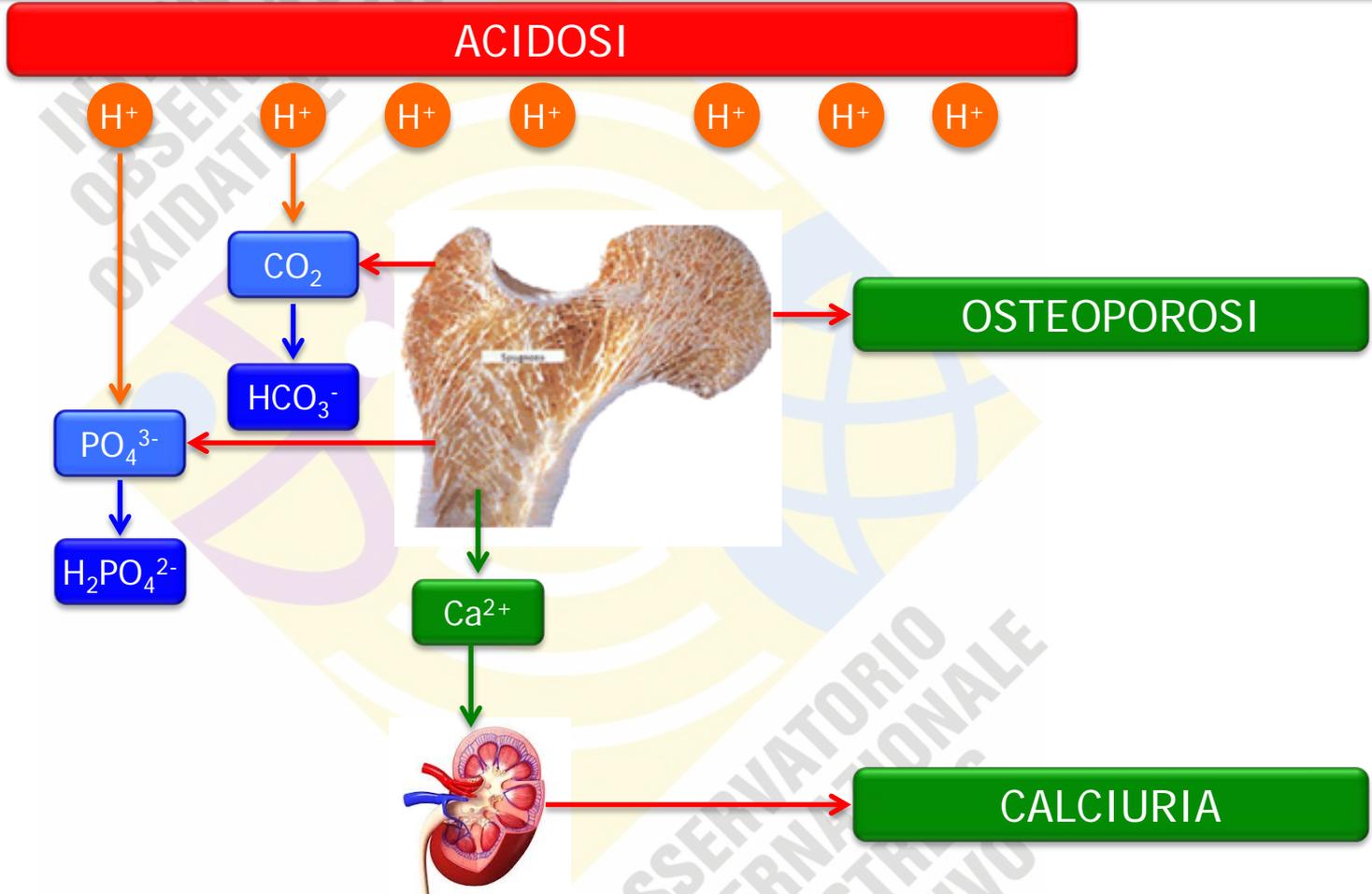


## ALTRE VIE METABOLICHE

Catabolismo delle purine ( $\rightarrow$ acido urico)

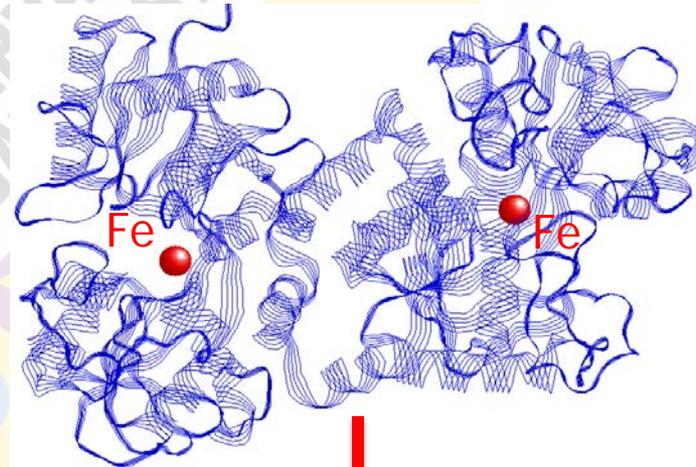
Ossidazione cys/met ( $\rightarrow$ acido solforico)

# Uno degli effetti macroscopici dell'acidosi: l'osteoporosi.



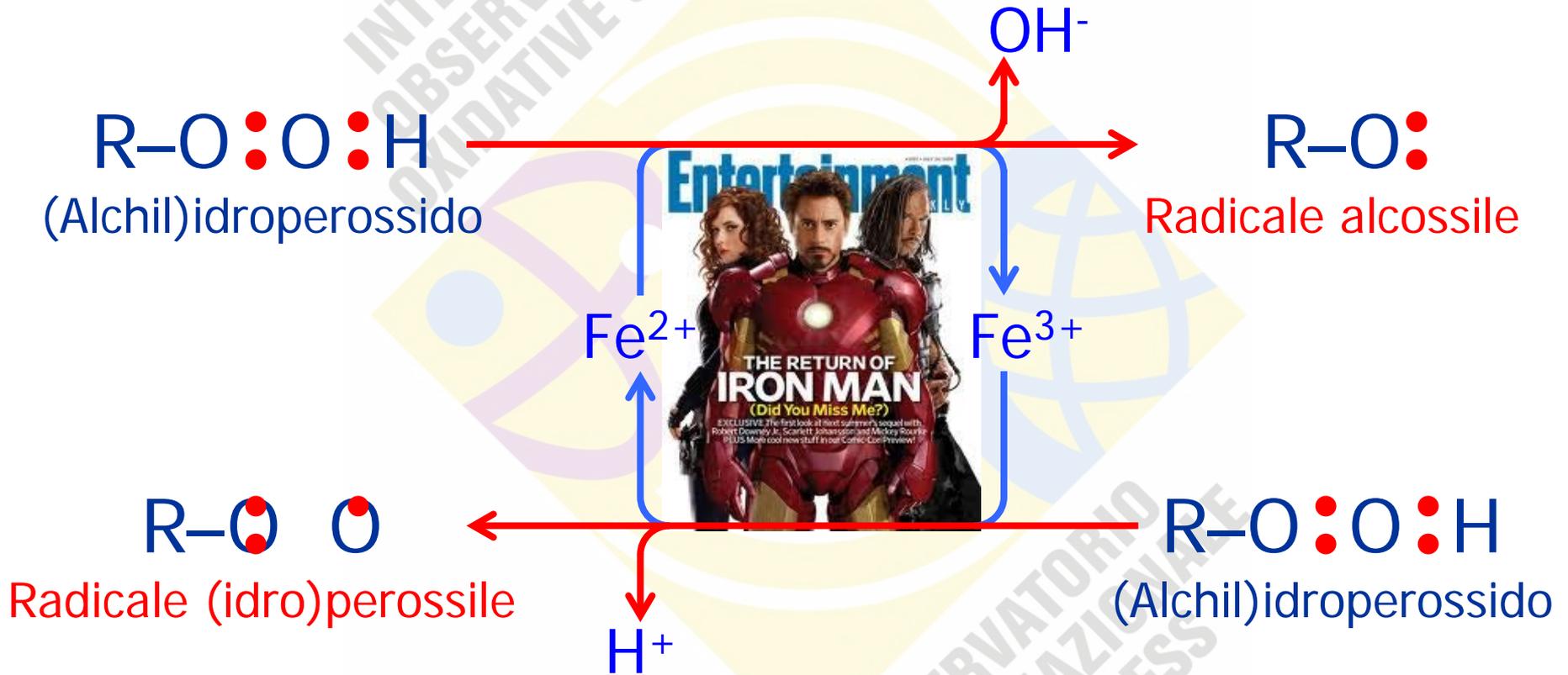
VARI AUTORI

**Gli effetti dell'acidosi a livello molecolare: rilascio di ioni ferrici dalla transferrina per modifiche conformazionali.**



**VARI AUTORI**

# Le conseguenze del rilascio di ferro allo stato libero: la conversione degli idroperossidi a radicali liberi.



**AUTORI**

# Stili di vita ed acidosi, una condizione spesso misconosciuta o sottovalutata.

**Insufficiente apporto di nutrienti alcalinizzanti**  
(frutta, verdura)



**Eccesso di alimenti acidificanti**  
(carne, formaggi, salumi)



Medicinali,  
Farmaci, ecc.



Insufficiente  
apporto di liquidi



**I fattori più importanti che causano acidosi metabolica**



Nicotina,  
Alcool



Sport  
intensivo



Vita sedentaria



Stress

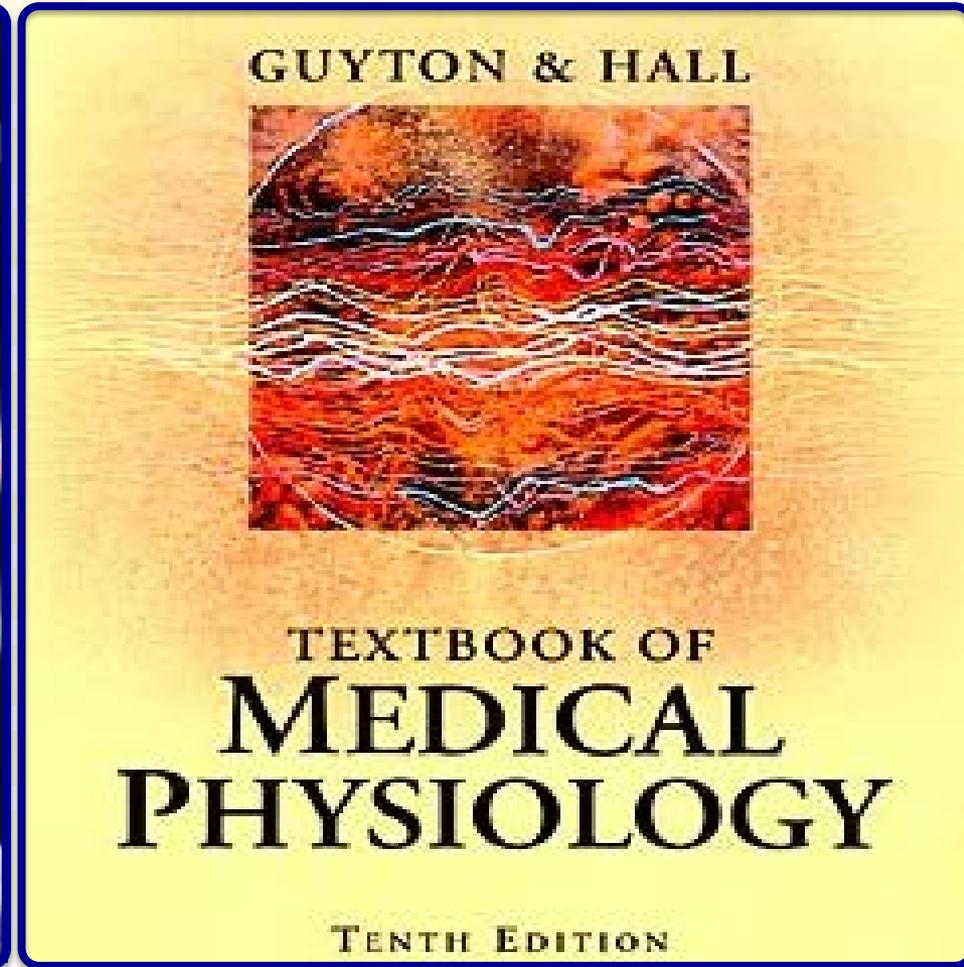
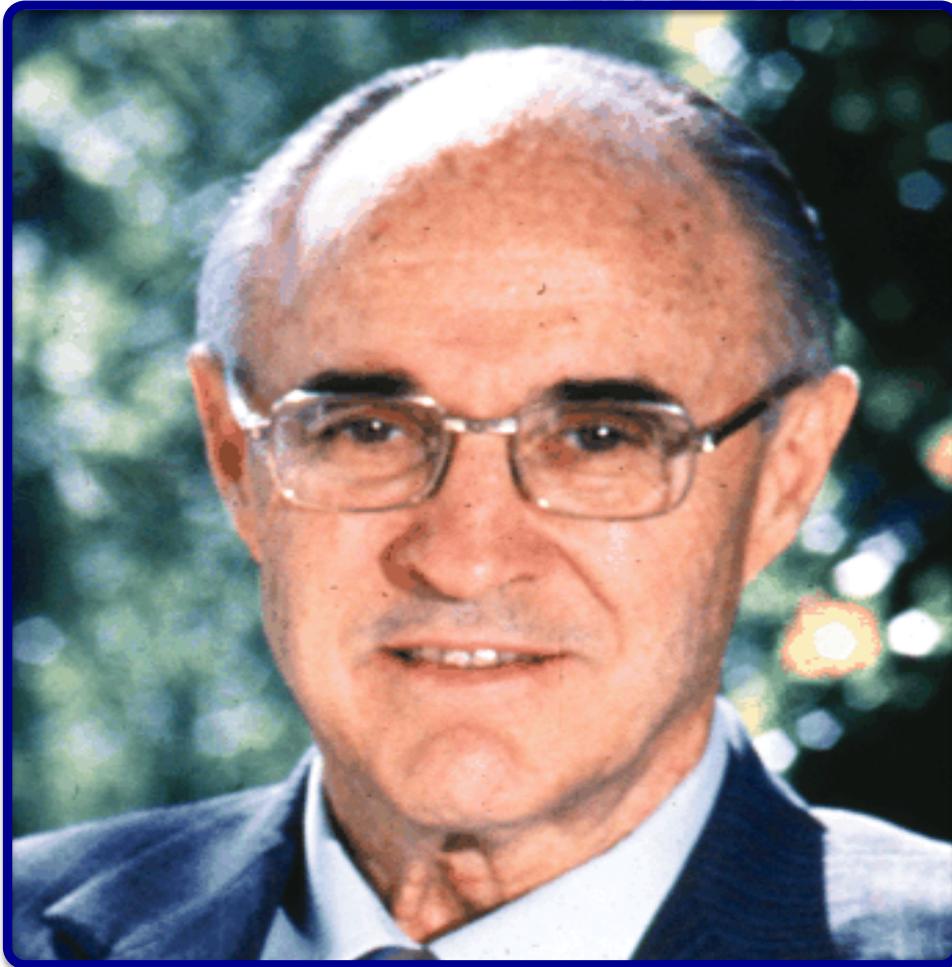
✓ Il PRAL (Potential Renal Acid Load) rappresenta il tenore acidificante o alcalinizzante dei cibi, calcolato in base al contenuto di proteine, fosforo, potassio, magnesio e calcio.

✓ Alimenti come pesce e carne hanno un alto potenziale di carico acido renale (PRAL) così come molti prodotti derivati del grano e formaggi.

✓ Viceversa, frutta e verdura hanno un PRAL negativo, il che significa che forniscono elementi alcalinizzanti.

**Il potere acidificante dei cibi è misurabile con il cosiddetto PRAL. Gli studi del prof. Sante Zanella.**

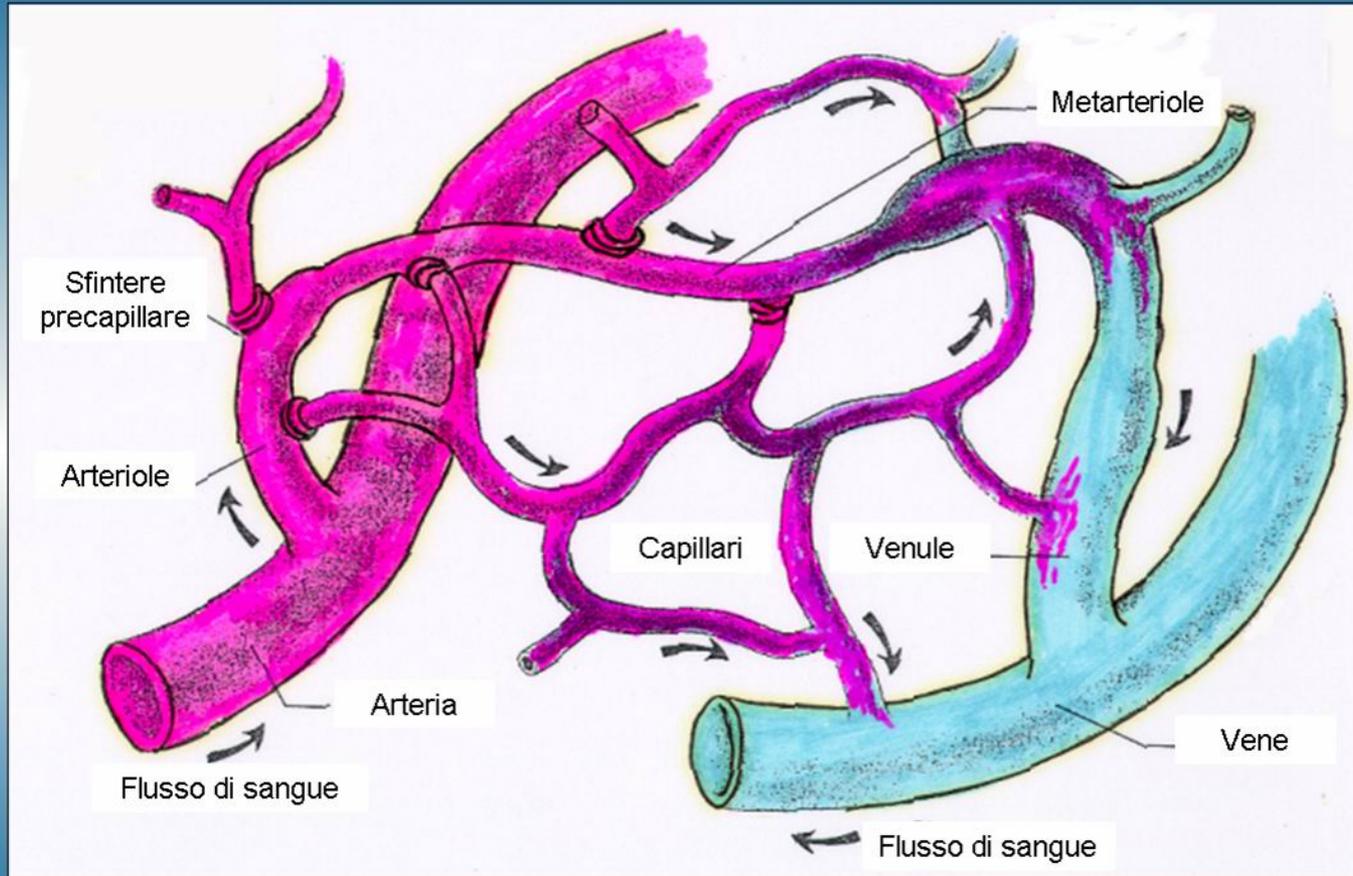
**“Qualunque sofferenza o stato di malattia nasce da un’insufficiente ossigenazione cellulare”**



**A. C. Guyton (1919 – 2003). Fisiologo emerito.**

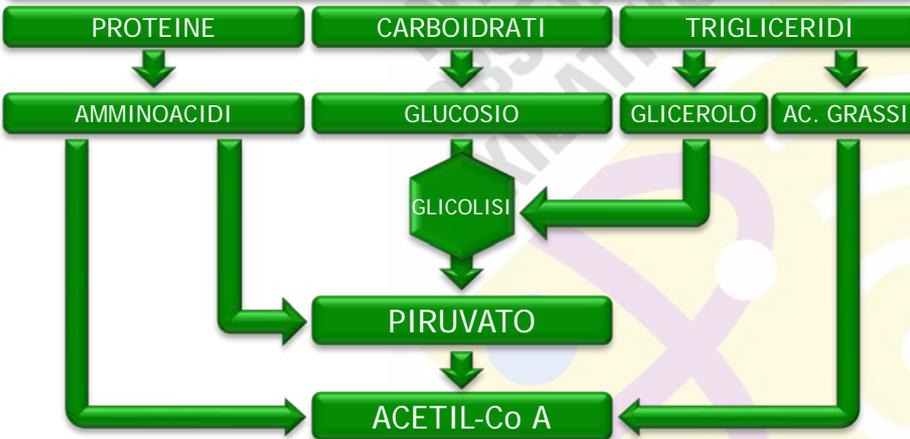
# I POSSIA DEL MICROCIRCOLO

Dr. Enzo Boncompagni, Cardiologo

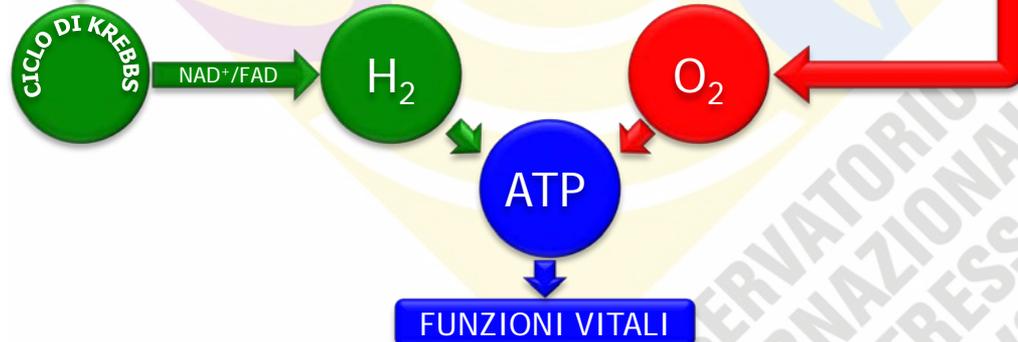


# Iidrogeno dalla nutrizione + ossigeno dalla respirazione

## NUTRIZIONE



## RESPIRAZIONE



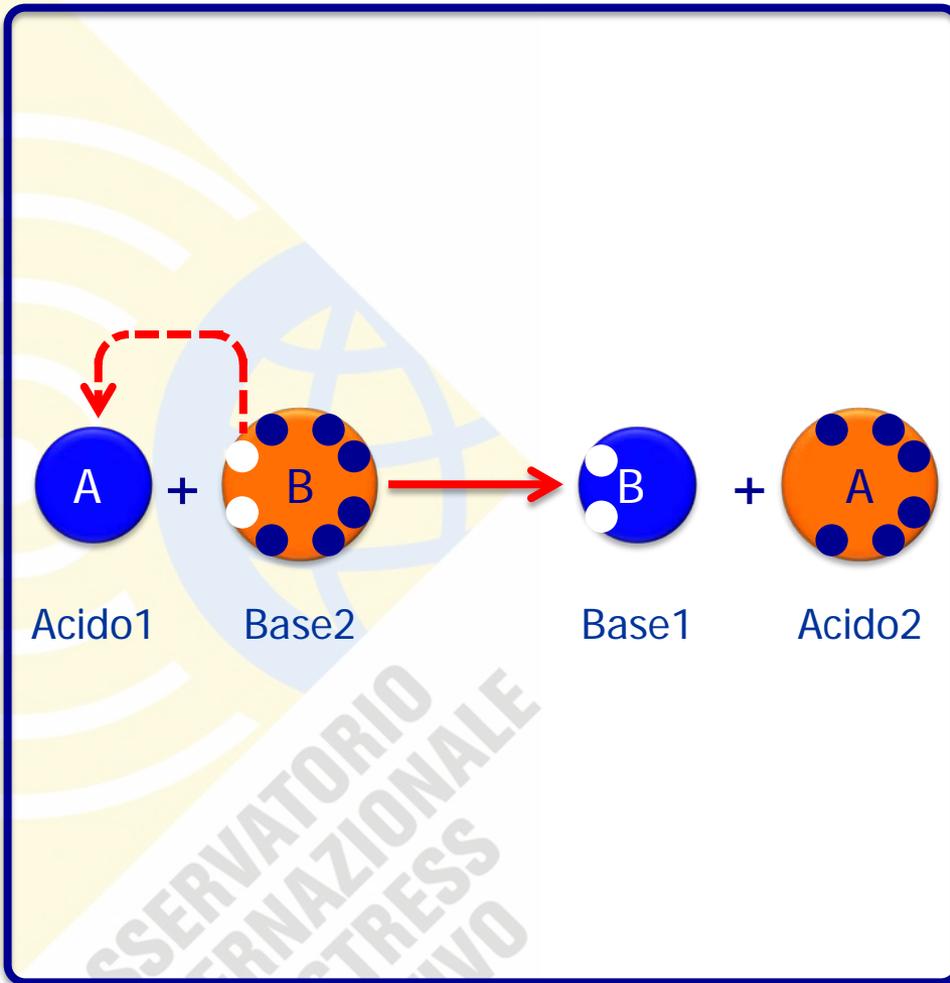
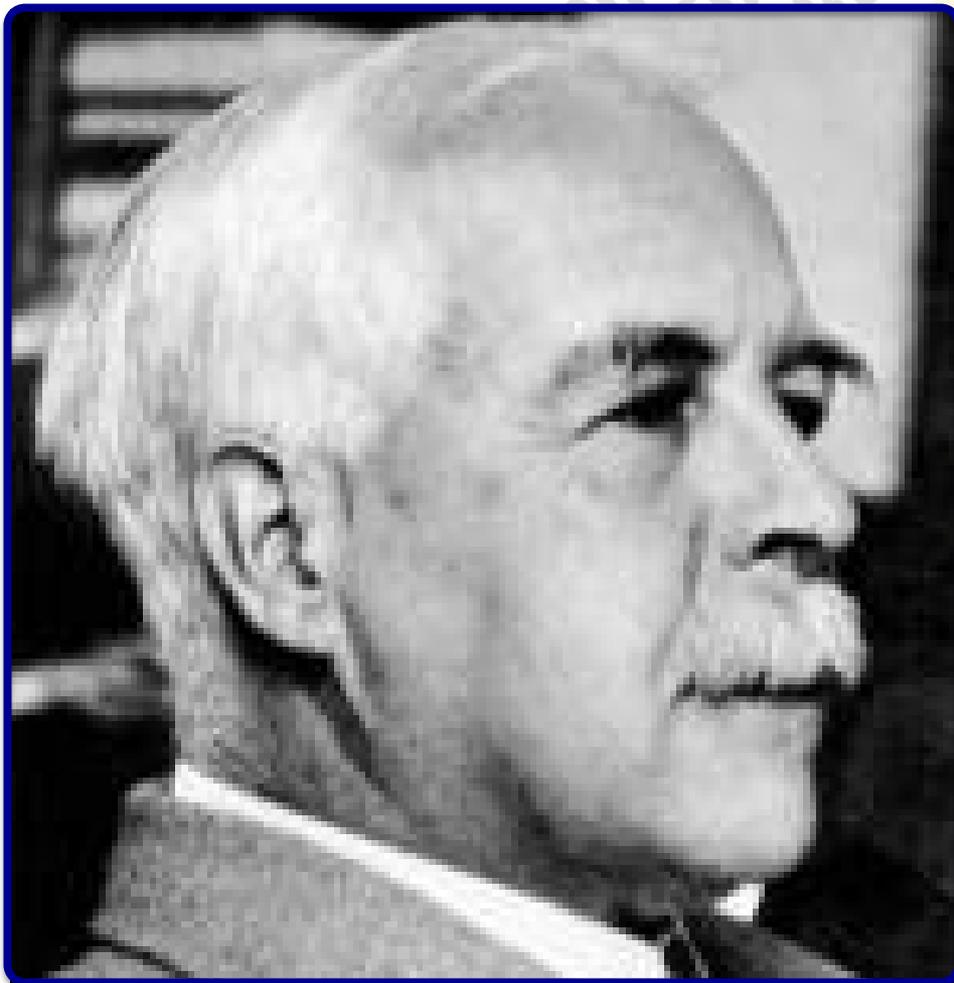
**Risultato = sintesi di ATP.**

# L'ipossia, causa primaria di acidosi e di stress ossidativo.



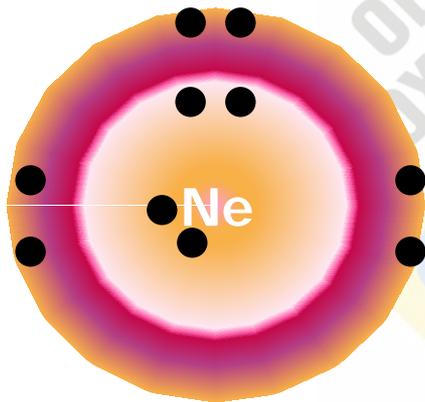
**Una condizione spesso subdola**

Evoluzione del concetto di acido come sostanza che strappa **due elettroni** ad un'altra sostanza detta base.



**Gilbert Newton Lewis (1875 – 1946)**

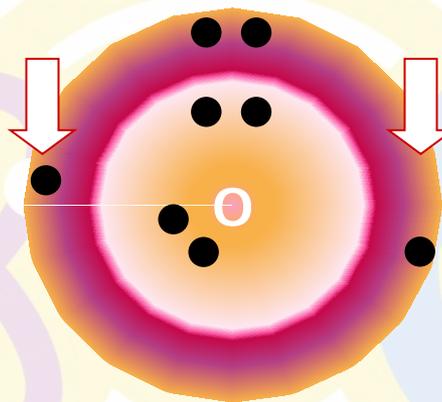
# I radicali liberi



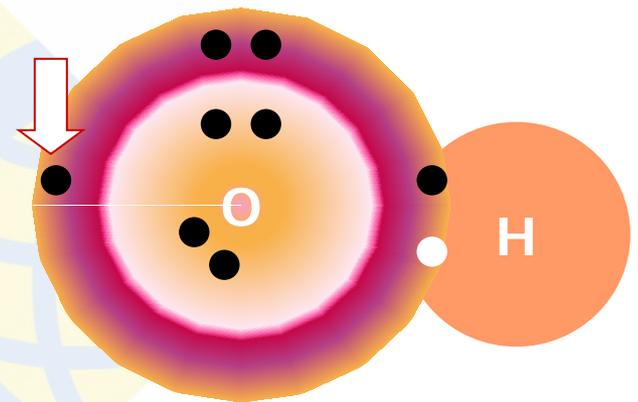
**L'atomo di Ne**  
Solo elettroni appaiati  

---

**Atomo (stabile)**



**L'atomo di O**  
Due elettroni spaiati

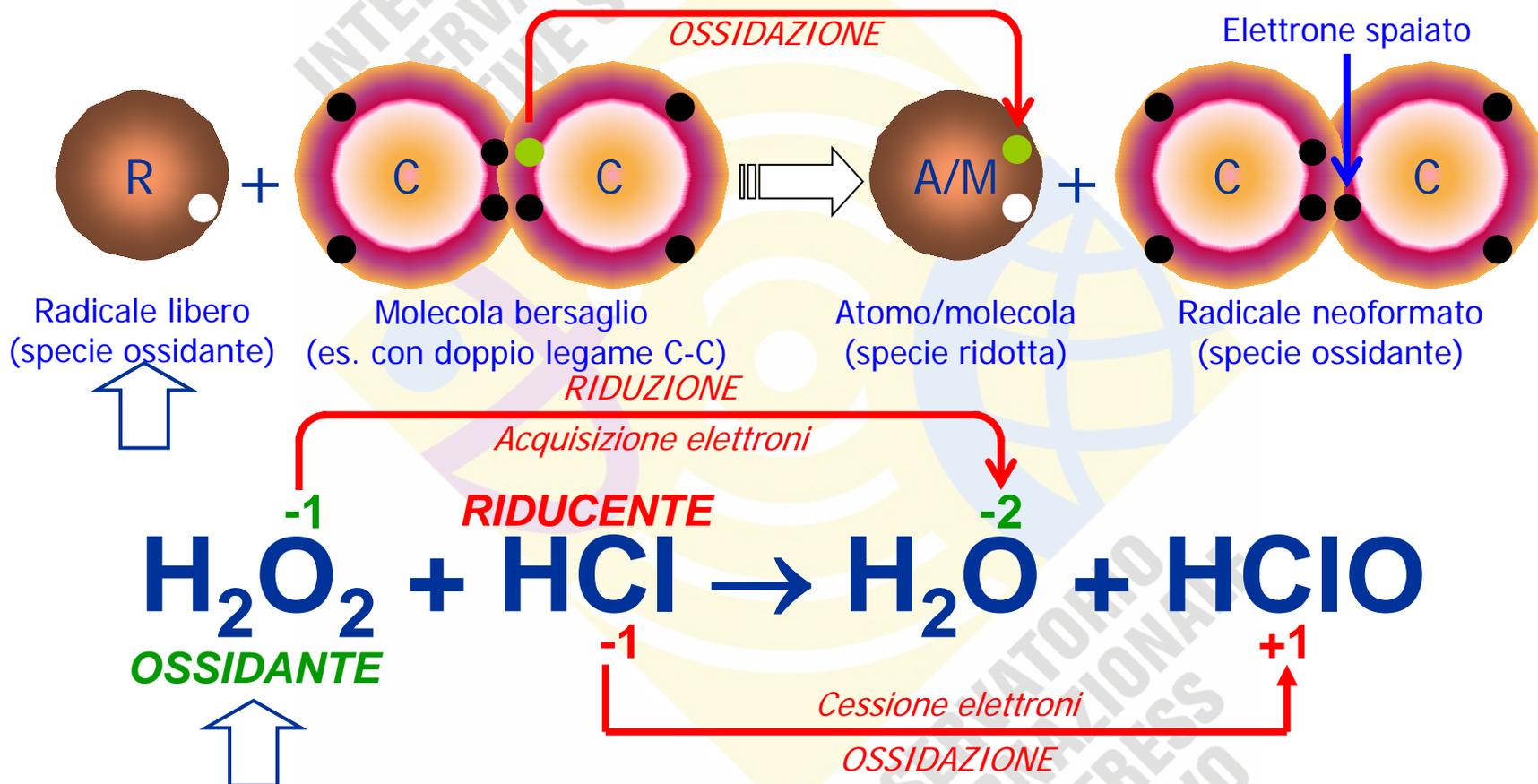


**Il radicale idrossile (HO·)**  
Un elettrone spaiato

**Radicali liberi dell'ossigeno (instabili)**

**Atomi (singoli o raggruppati) con almeno un elettrone spaiato (anziché in coppia) in uno degli orbitali esterni**

# L'azione ossidante dei radicali liberi



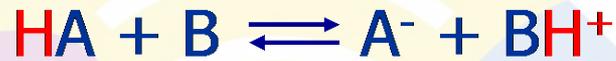
Strappare elettroni per raggiungere la propria stabilità

# Acidi e ossidanti: elettroni da strappare.

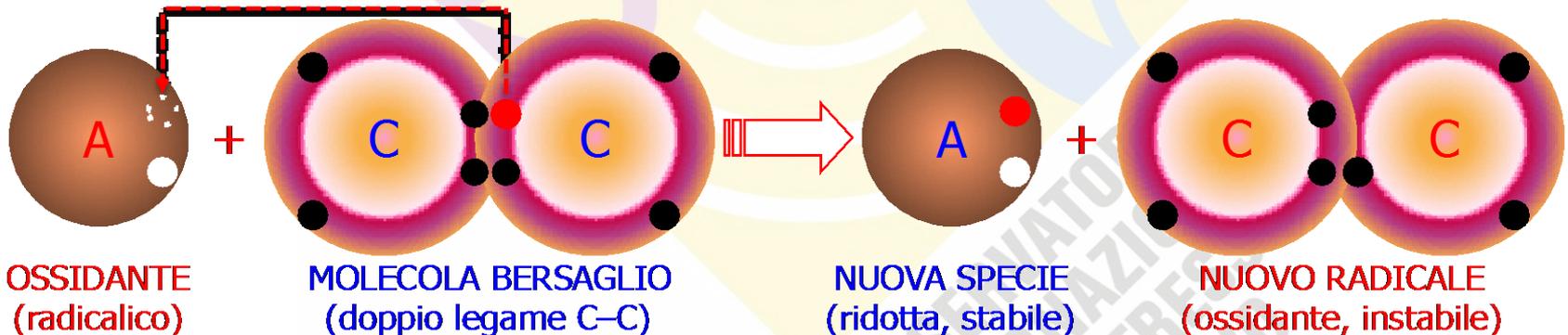
Arrhenius



Bronsted-Lowry



Lewis



Acidosi + stress ossidativo = stress elettrofilo.

# Molti alimenti aumentano il rischio di acidosi (quantificabile attraverso la determinazione del PRAL)

## "POTENTIAL RENAL ACID LOAD"

$PRAL = (0.4888 * \text{proteine g/die}) + (0.0366 * \text{fosforo mg/die}) - (0.0205 * \text{potassio mg/die}) - (0.0263 * \text{magnesio mg/die})$

J.Am.Diet.Assoc.(1995)

CARNI BIANCHE: + 10,5  
CARNI ROSSE: + 10  
INSACCATI / AFFETTATI: + 8,6  
  
UOVA: + 8,2  
PESCE: + 7,8  
  
PARMIGIANO: + 23  
**MOZZARELLA: + 16,9**  
RICOTTA: + 6,5  
YOGURT: + 1,4  
  
FRUTTA & VERDURA: PRAL -

**Valori massimi nella mozzarella**

# Alimenti Alcalinizzanti

# Alimenti Acidificanti



Journal of Clinical Nutrition, 1994;59:1356-61.

Il PRAL (Potenziale di Carico Acido Renale) viene calcolato con il seguente algoritmo:

$$\text{PRAL} = [ + (0,4888 \times \text{proteine g/die}) + (0,0366 \times \text{fosforo mg/die}) - (0,0205 \times \text{potassio mg/die}) - (0,0263 \times \text{magnesio mg/die}) ]$$

# Cosa comporta una condizioni di acidosi?

## Effetti clinici

**Sul metabolismo:** progressiva deossigenazione dell'emoglobina (effetto Bohr); insulino-resistenza.

**Sull'apparato gastrointestinale:** atonia.

**Sul fegato:** ipoafflusso ematico.

**Sull'apparato cardiovascolare:** aritmie, possibile riduzione della gittata cardiaca, ipotensione

**Sul sistema nervoso centrale:** possibile riduzione dello stato di allerta e delle percezioni sensoriali.

## Possibile sintomatologia

- ✓ Respiro corto
- ✓ Sensazione di affaticamento
- ✓ Dolore addominale
- ✓ Altri dolori vaghi e aspecifici

## Segnali

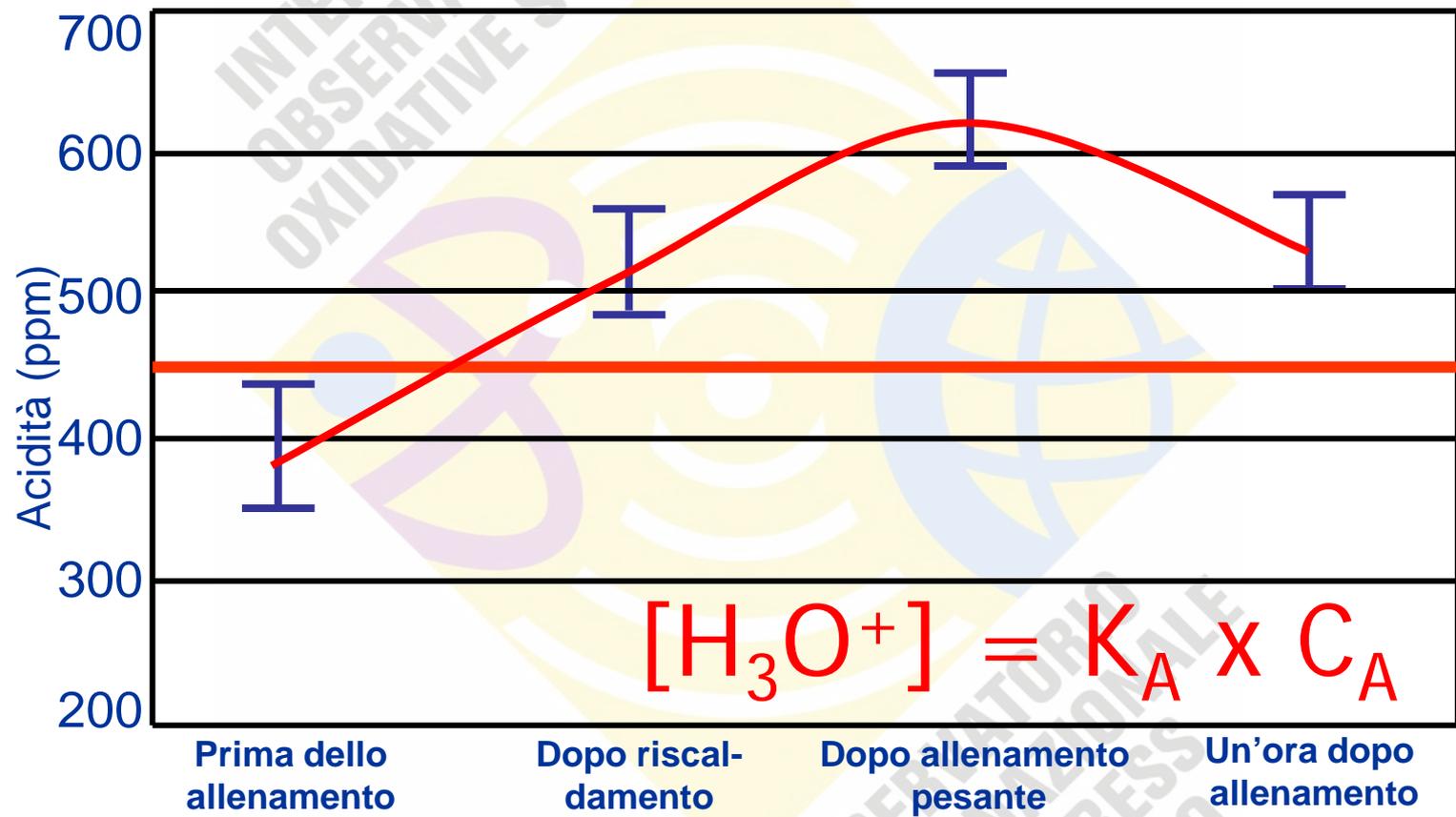
- ✓ Vomito
- ✓ Turbe della funzionalità cardiaca
- ✓ Costrizione polmonare
- ✓ Respiro di Kussmaul (iperventilazione compens.)
- ✓ Dilatazione arteriosa periferica
- ✓ Costrizione venosa periferica

## Laboratorio

- ✓ Aumento del numero dei globuli bianchi
- ✓ Iperglicemia
- ✓ Iperuricemia
- ✓ Innalzamento dei livelli di potassio
- ✓ Innalzamento dei livelli di fosfato
- ✓ Innalzamento del calcio, paratormone.

## Gli effetti a livello sistemico

L'acidosi si può misurare grazie ad un test su sangue intero, anche capillare (MAC test, v. n. 150–450 ppm)



Aumento significativo dei livelli di acidità nei campioni di SUMO dopo pasto ipercalorico seguito da match.

## Acidosi? Che fare?

### SALI ALCALINIZZANTI

Bicarbonato di sodio  
( $\text{NaHCO}_3$ )

Bicarbonato di potassio  
( $\text{KHCO}_3$ )

Carbonato di calcio  
( $\text{CaCO}_3$ )

Carbonato di magnesio  
( $\text{MgCO}_3$ )

**Il ruolo dell'alimentazione e degli alcalinizzanti**

# POTASSIO, MAGNESIO, CALCIO, SODIO.



# Il latte come fonte di calcio per combattere l'osteoporosi

- ✓ Il latte è diventato un alimento quotidiano (per la prima volta) nel dopo-guerra ed ha ridotto l'incidenza dei decessi per malnutrizione.
- ✓ Oggi, tuttavia, il suo impiego è fortemente sotto accusa perché comporta un eccesso di macronutrienti (es. grassi e zuccheri semplici), favorisce squilibri tra i micronutrienti (abnormi rapporti calcio/magnesio/fosforo) ed espone al rischio di contaminanti tossici (soprattutto liposolubili).
- ✓ In natura, il latte è l'alimento previsto per la crescita dei cuccioli dei mammiferi ed è diverso, in composizione di nutrienti da specie a specie.
- ✓ Nessun mammifero, tranne l'Uomo, consuma il latte di un'altra specie.
- ✓ Nessun mammifero continua a bere latte dopo lo svezzamento e, una volta svezzato, è in grado di vivere cibandosi degli alimenti per cui sono biologicamente adatti

**Il contributo della dottoressa Anna Villarini  
(Istituto Nazionale dei Tumori, Milano)**

# Latte vaccino, ossa, IGF-1 e tumori.

✓ L'IGF-1 prodotto dal fegato in seguito a stimolazione con ormone della crescita (GH) gioca un ruolo determinante nell'accrescimento dell'osso.

✓ La sintesi di IGF-1 aumenta notevolmente per effetto dell'assunzione di proteine, la cui idrolisi, ad opera dei processi digestivi, serve proprio a fornire gli amminoacidi necessari per l'accrescimento dei tessuti bersaglio, quali l'osso.

✓ Purtroppo, un'alimentazione particolarmente ricca in proteine, come quella associata ad un uso regolare e continuativo di latte vaccino, può favorire la produzione di una quantità impropriamente elevata di IGF-1.

✓ Numerosi studi evidenziano un'associazione tra livelli circolanti di IGF-1 e sviluppo di tumori che trovano nell'ormone una spinta proliferativa abnorme (mammella, colon, prostata, ovaio e probabilmente altri).

*Norat Tet et al. Eur J Clin Nutr. 2007. 61(1):91-98. Qin LQ, He K, Xu JY. Int J Food Sci Nutr. 2009. 60 Suppl 7: 330-340. George Davey Smith, David Gunnell "Editorial / British Medical Journal BMJ 2000. 321:847-848. Rinaldi S et al. Endocr Relat Cancer. 2006. 13(2):593-605. Amir Abbas Samani et al. Endocrine Reviews. 2007. 28(1):20-23. Holly JMP et al J Endocrinol. 1999. 162: 321-330. Jenkins PJ, Bustin SA. Eur J Endocrinol. 2004. W83-8. Appleby PN et al. Lancet Oncol. 2010. 11 (6): 530-542. Rinaldi et al Int J Cancer. 2010. 126 (7):1702-1715. Rowlands MA, Int J Cancer. 2009. 124(10):2416-2429. Roddam AW et al Ann Intern Med. 2008. 149(7):461-471.*

**Molte domande, poche risposte.**

## Significato di biologico...

Le mucche da pascolo d'altura



Le mucche da allevamento intensivo



**Il latte di montagna contiene quantità significative di terpeni, sostanze aromatiche, b-carotene e vitamina A.**

# Il calcio, quando carente, non è l'unico responsabile dell'osteoporosi

E' dimostrata una correlazione tra la frequenza di fratture ossee ed il consumo di proteine animali ma non in relazione al consumo di calcio.

Lo studio Harvard Nurses' Health, condotto su 78.000 donne seguite per 12 anni, ha evidenziato che il latte non protegge dalle fratture. *Le donne che assumevano tre bicchieri di latte al giorno risultavano aver avuto più fratture rispetto a quelle che assumevano latte raramente.*

In generale negli adulti non risultano studi che abbiano dimostrato una protezione da consumo di latte e latticini nella prevenzione delle fratture osteoporotiche *mentre esistono studi che non hanno trovato alcuna protezione*

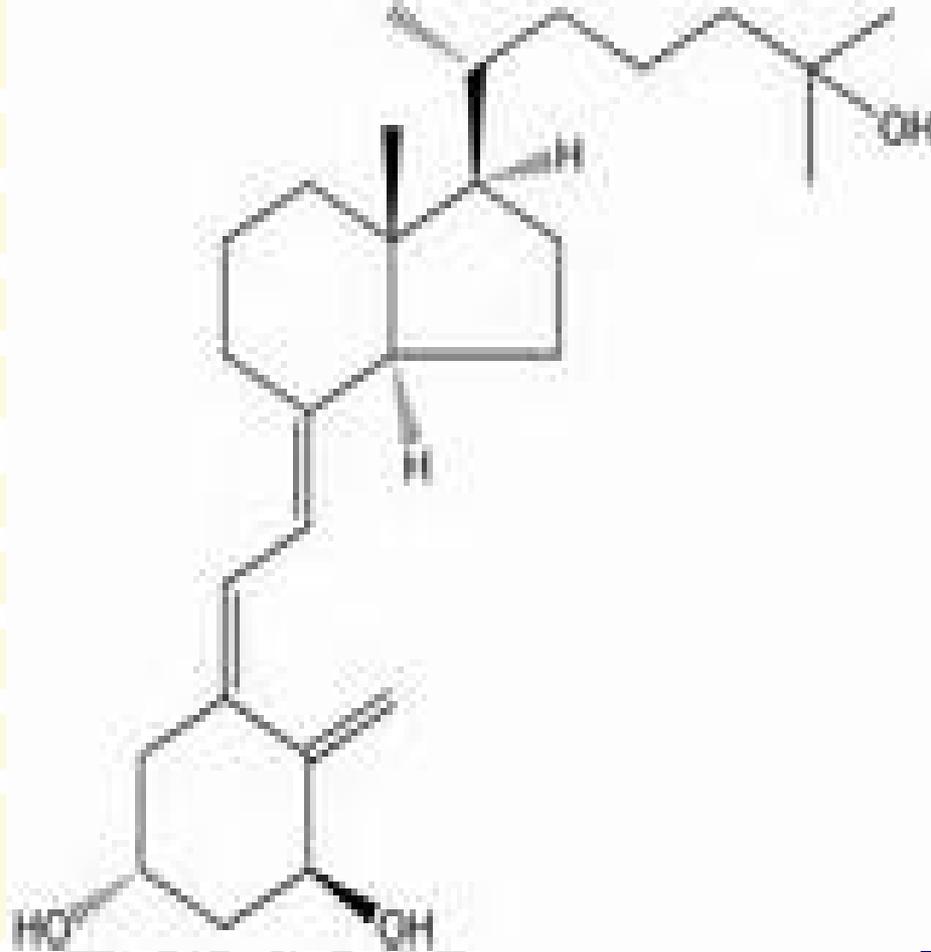
*Dawson-Hughes B, Am J Clin Nutr 1991 Jul;54(1 Suppl):274S-280S.  
Mazess RB, Barden HS Am J Clin Nutr 1991 Jan;53(1):132-42.  
Nelson ME, et al. Am J Clin Nutr 1991 May;53(5):1304-11.  
Nielsen FH, et al. FASEB J 1987 Nov;1(5):394-7.  
Zemel MB, et al. J Nutr 1981 Mar;111(3):545-52.  
Hegsted M, et al. J Nutr 1981 Mar;111(3):553-62.  
Marsh AG, et al. J Am Diet Assoc 1980 Feb;76(2):148-51  
Abelow BJ, et al. Calcif Tissue Int 1992 Jan;50(1):14-8*

*Riggs BL, et al. J Clin Invest 1987 Oct;80(4):979-82.  
Feskanich D, et al. Am J Public Health 1997 Jun;87(6):992-7  
John A. Kanis et al. Osteoporos Int 2005 16; 799-804  
Tavani A, et al. Epidemiology 1995 Sep; 6(5):554-7  
Feskanich D et al " Journal of Public Health 1997;87:992-997*

## Un aumento dell'assunzione di calcio non protegge dalle fratture ossee

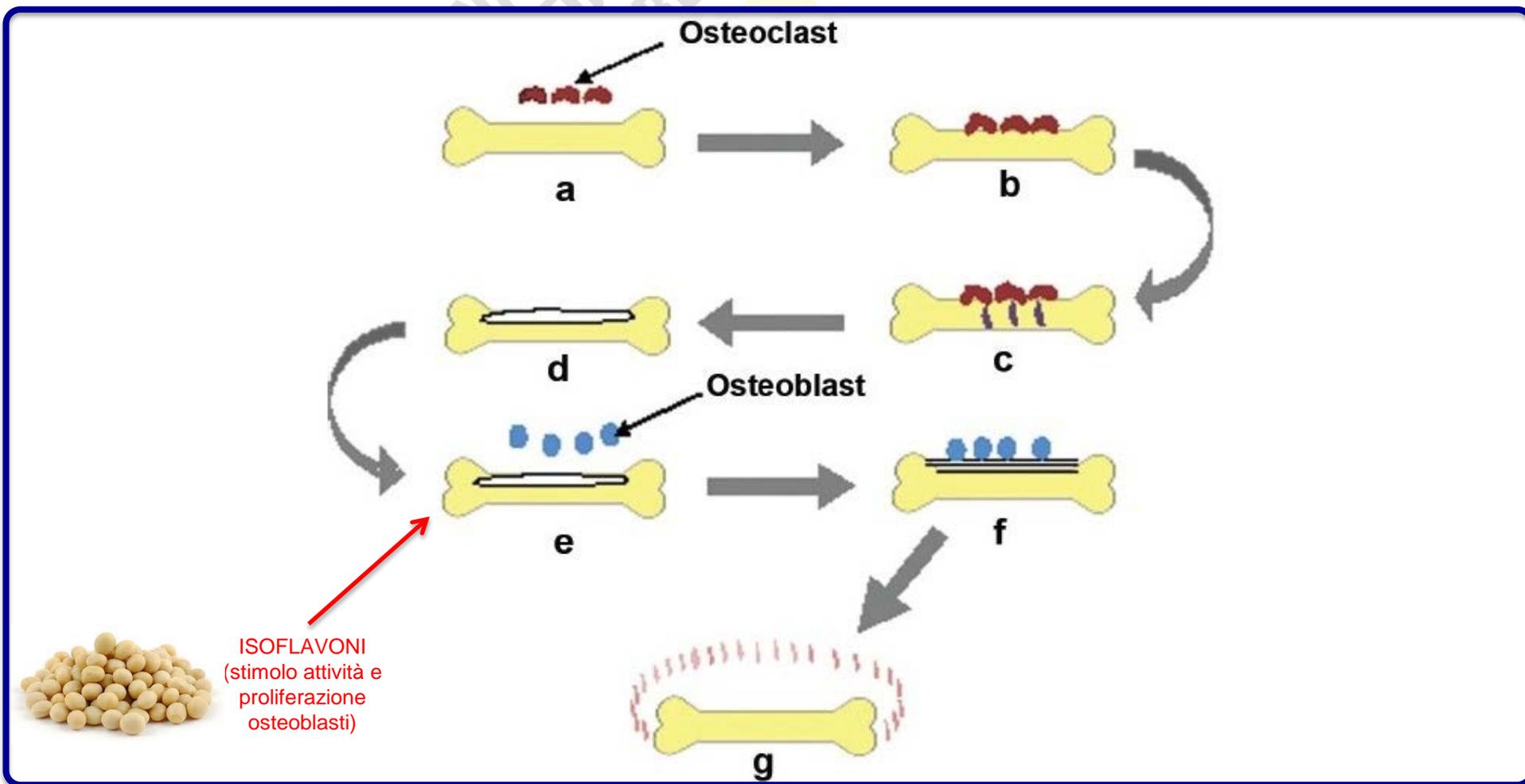
# A proposito di vitamina D

- ✓ La Vitamina D si attiva attraverso la luce solare, per cui la prima regola è quella di esporsi ad essa in maniera idonea.
- ✓ La vitamina D favorisce il riassorbimento di calcio a livello renale, l'assorbimento intestinale di fosforo e calcio ed i processi di mineralizzazione dell'osso
- ✓ Una recente indagine chimica su 42 diversi campioni di latte ha rinvenuto solo nel 12% un contenuto di vitamina D nella norma.
- ✓ Il contenuto di Vitamina D del latte non è costante e per questo esistono preparati con vitamina aggiunta.
- ✓ L'eventuale integrazione con vitamina D deve avvenire sulla guida dei valori ematici: ai fini della calibrazione della dose, se bassa è inutile, se alta, può esporre al rischio di tossicità.



. . . latte e metabolismo osseo

# Componenti bioattivi della soia



## Meccanismo d'azione sull'osso

# **LE 5 REGOLE D'ORO PER IL CONTROLLO DELLO STRESS OSSIDATIVO**

- 1. Ridurre l'esposizione a fattori ambientali che inducono il rilascio di radicali liberi, curando l'igiene dell'ambiente di vita e di lavoro: limitare il contatto con l'aria inquinata, evitare o ridurre l'esposizione al fumo passivo, alle radiazioni ecc.**
- 2. Migliorare il proprio stile di vita: respirare adeguatamente, ridurre o eliminare il fumo di sigaretta, ridurre il consumo di bevande alcoliche, praticare attività fisica.**
- 3. Cucinare o mangiare in maniera antiossidante, privilegiando il modello alimentare mediterraneo; in particolare consumare pane e pasta integrale, favorire alcuni matrimoni alimentari( es: pomodori ed olio extravergine d'oliva) ed assumere verdura e frutta colorata di stagione preferibilmente fresca e da agricoltura biologica(almeno 5 porz al giorno)**
- 4. Limitare l'abuso di farmaci. Integrare, quando necessario, l'alimentazione con antiossidanti, sotto il diretto controllo del medico e dopo aver effettuato un'accurata valutazione di laboratorio.**
- 5. Controllare periodicamente il livello di stress ossidativo con test semplici e precisi, tipo dROMs test e l'anti-ROMs test.**

*Si vis incolumem,  
si vis te reddere sanum,  
curas tolle graves  
irasci crede profanum  
parce mero, coenato parum  
non sit tibi vanum  
surgere post epulas  
somnum fuge meridianum.  
Non mictum retine,  
nec comprime fortiter anum.  
Haec bene si serves,  
tu longo tempore vives.*

*Si tibi deficient Medici, medici tibi fiant haec tria:  
mens laeta, requies, moderata diaeta.*

*[Regimen Sanitatis – Schola Medica Salernitana, IX sec.  
a. C.]*

**CORSO DI AGGIORNAMENTO TEORICO PRATICO**  
**"Radicali liberi, antiossidanti e stress ossidativo.**  
**Dalla ricerca di base alla pratica clinica"**



**GRAZIE**

**Salerno. 25 maggio 2013.**  
***Sala Conferenze Ordine dei Medici***