

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE



DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
SCIENZE BIOLOGICHE

TITOLO TESI

**ATTIVITÀ PRO OSSIDANTE DEGLI ANTIOSSIDANTI NATURALI: ANALISI DEGLI EFFETTI
DERIVANTI DALLA PRODUZIONE DI RADICALI LIBERI DA PARTE DI CAROTENOIDI E
POLIFENOLI**

**PRO OXIDANT ACTIVITY OF NATURAL ANTIOXIDANTS: ANALYSIS OF THE EFFECTS
RESULTING FROM THE EMISSION OF FREE RADICALS PRODUCED BY CAROTENOIDS AND
POLYPHENOLS**

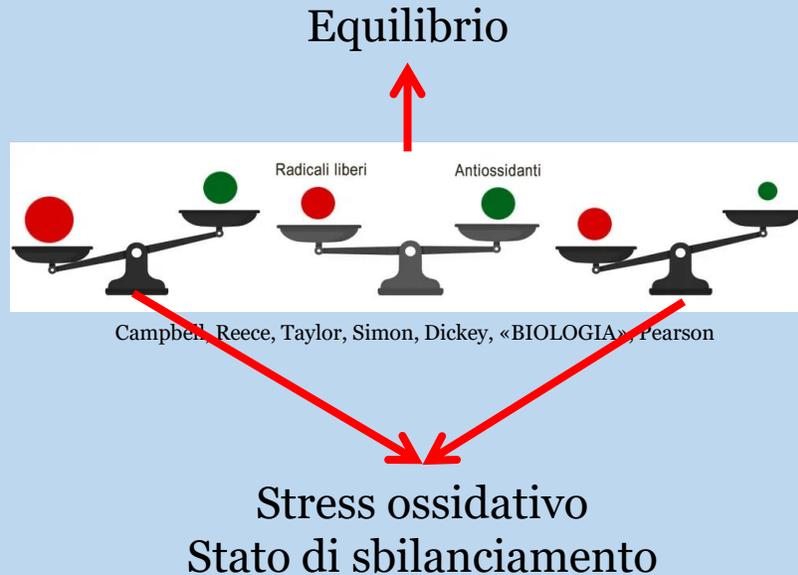
Tesi di Laurea di:
PAGLIUCA LUCIA

Docente Referente
Chiar.ma Prof. BACCHETTI TIZIANA

Sessione Ottobre 2021
Anno Accademico 2020/2021

STRESS OSSIDATIVO

Insieme delle alterazioni che si verificano a livello di tessuti, organi o in generale molecole in seguito ad una esposizione eccessiva ad agenti ossidanti.



ROS

RADICALE IDROSSILICO OH

RADICALE SUPEROSSIDO O_2^-

PEROSSIDO DI IDROGENO H_2O_2

Meccanismi di difesa enzimatici

- Superossido dismutasi
- Catalasi
- Perossidasi

Meccanismi di difesa non enzimatici

- Antiossidanti endogeni
- Antiossidanti esogeni

«Qualsiasi sostanza che, presente in concentrazione molto bassa rispetto a quella di un substrato ossidabile, è in grado di ritardare o inibire significativamente l'ossidazione di quel substrato»

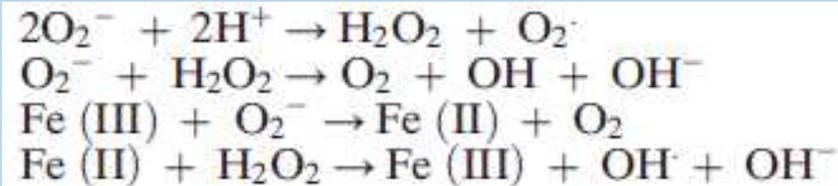
(Halliwell & Gutteridge, 1989)



ATTIVITÀ PRO OSSIDANTE

- In determinate condizioni di pH
- In presenza di metalli di transizione, metalli non di transizione e metalloidi

IONE FERRICO NELLA REAZIONE DI FENTON



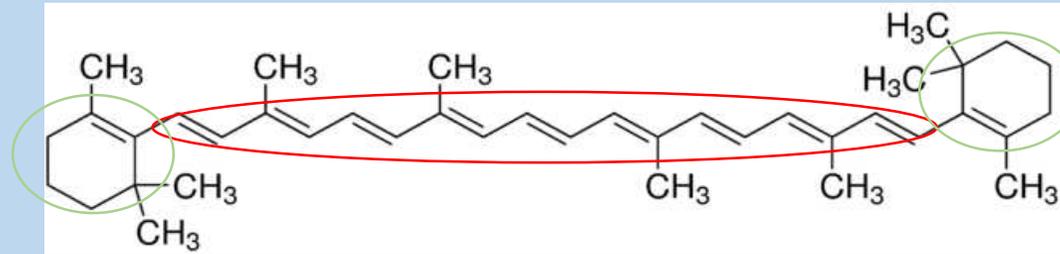
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27241122/>

I pro ossidanti sono composti che, mediante la formazione di ROS o inibizione dei sistemi antiossidanti di difesa, inducono stress ossidativo. I livelli cellulari di ROS, però, aumentano a livelli citotossici nelle cellule tumorali e non nelle cellule normali.

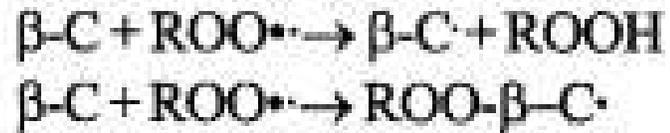
CAROTENOIDI

Attività proossidante mediante auto-ossidazione, ad alta concentrazione ed elevata pO_2 .

B-CAROTENE

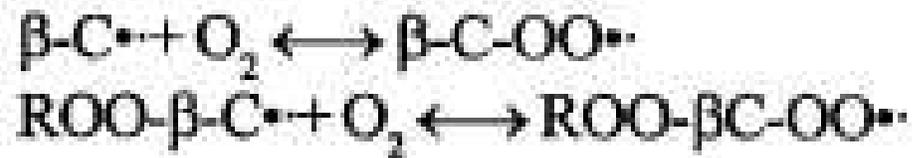


<https://it.wikibooks.org/wiki/File:Beta-carotene.svg>



<https://academic.oup.com/nutritionreviews/article/56/9/257/1860499?login=true>

AUTO OSSIDAZIONE



<https://academic.oup.com/nutritionreviews/article/56/9/257/1860499?login=true>

- In condizioni di alta tensione di ossigeno
- Livelli elevati di ioni metallici Fe e Cu reattivi
- Bassi livelli di enzimi endogeni e antiossidanti



ATTIVITÀ PRO OSSIDANTE CON EFFETTI DI PROMOZIONE DEL TUMORE

POLIFENOLI

Attività pro ossidante in condizioni di pH alcalino, in presenza di O₂ e di elevati livelli di metalli di transizione quali Fe e Cu

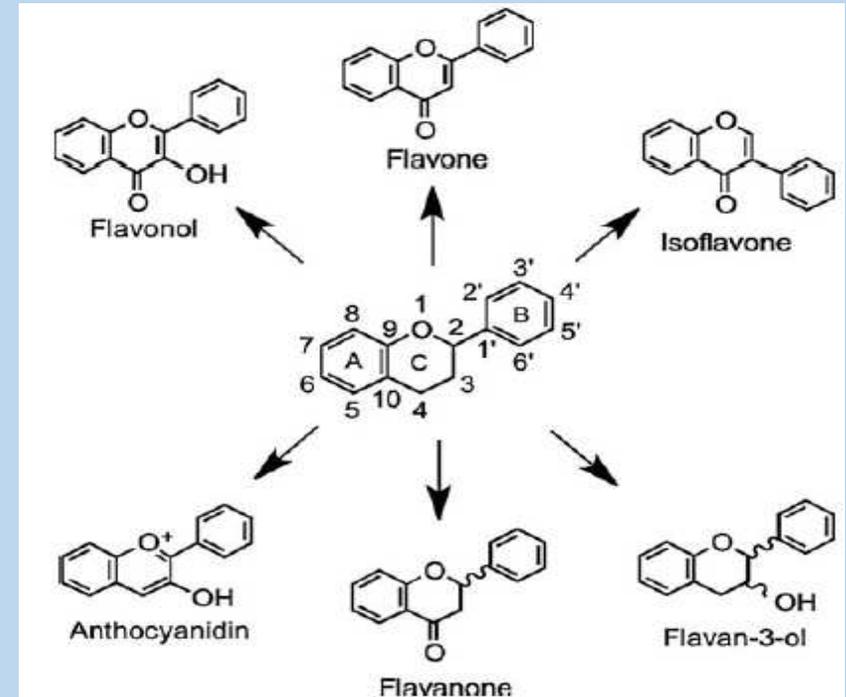
NON FLAVONOIDI

- Acidi fenolici
- Stilbeni: **resveratrolo**

FLAVONOIDI:

- Fenoli semplici
- Cumarine
- Antociani
- Catechine
- Tannini.

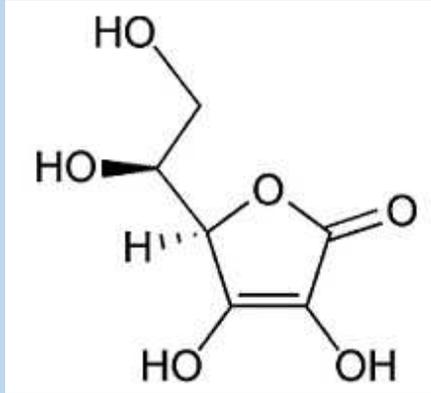
Struttura dello scheletro dei flavonoidi



<https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/ars.2012.4581>

ATTIVITÀ PRO OSSIDANTE MEDIANTE CICLO REDOX O PROCESSO DI AUTO OSSIDAZIONE

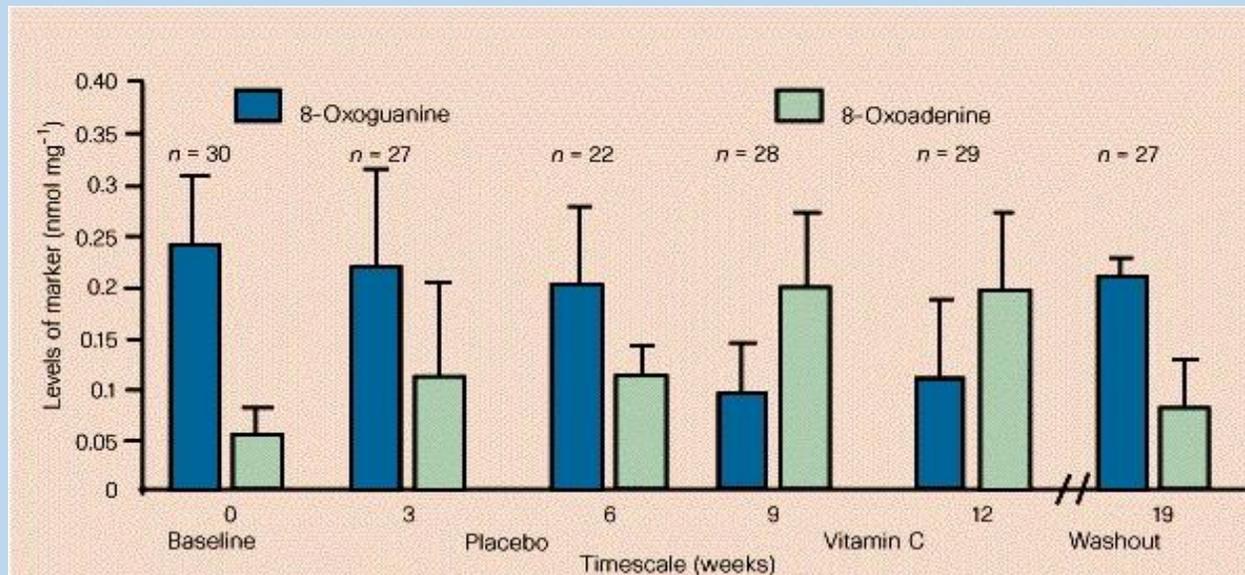
VITAMINA C



Campbell, Reece, Taylor, Simon, Dickey,
«BIOLOGIA», Pearson

Uno studio in vivo su 30 volontari sani, di cui 16 femmine e 14 maschi, ha dimostrato come un'integrazione di circa 500 mg di vitamina C al giorno per sei settimane, determini un significativo aumento dei livelli di ascorbato nel plasma, che una volta ossidato porta alla formazione del radicale ascorbato, in presenza di catalizzatori metallo-proteici.

RADICALE ASCORBATO → diminuzione dei livelli di 8-ossiguanina e aumento dei livelli di 8-ossiadenina nel DNA isolato dai linfociti.



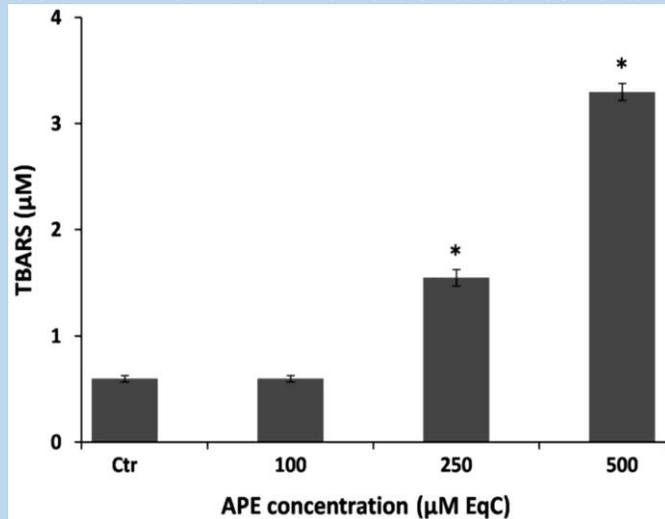
Livello dei marcatori del danno al DNA in relazione al numero di settimane di somministrazione della vitamina C.

<https://www.nature.com/articles/33308/figures/1>

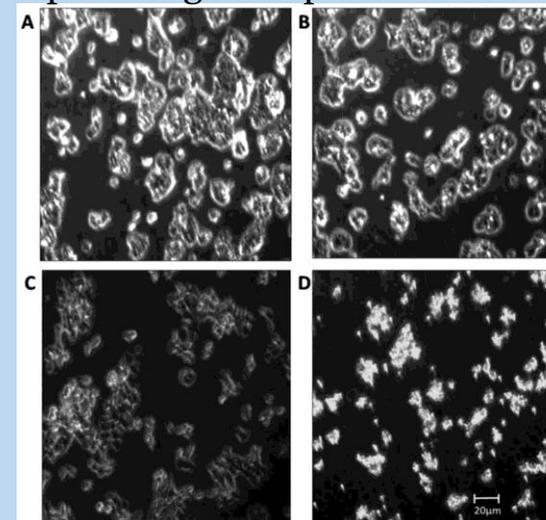
ESTRATTO POLIFENOLICO DELLA MELA ANNURCA (APE)

Un effetto pro-ossidante dei polifenoli è stato associato ad una funzione pro-apoptotica in vari tipi di cellule tumorali, data l'azione citotossica in esse selettiva per mezzo dell'aumento dei ROS.

Produzione dei TBARS in funzione della concentrazione di APE Cellula al microscopio in seguito a produzione di ROS mediata da APE



<https://www.spandidos-publications.com/ijo/51/3/939#>



<https://www.spandidos-publications.com/ijo/51/3/939#>

Dallo studio è emerso che le motivazioni per cui l'effetto pro-apoptotico dell'estratto polifenolico della mela Annurca APE sia correlato all'attività pro ossidante di quest'ultimo, sono tre:

- 1) APE provoca l'arresto delle cellule MCF-7 in fase G2/M del ciclo cellulare
- 2) APE induce un marcato aumento del soppressore tumorale p53
- 3) APE provoca una diminuzione della proteina ERK1/2 fosforilata

CONCLUSIONI

- ❖ Sono lo stato redox della cellula e la concentrazione dell'antiossidante a far sì che quest'ultimo mostri un'attività pro ossidante. Proprio per questo ancora oggi, il dosaggio di vitamine, sotto forma di integratore o per mezzo della dieta, è oggetto di studio, anche se dai risultati è possibile affermare che, in linea generale, un antiossidante esibisce azione pro ossidante solo se in concentrazioni elevate. Ciò può essere ricollegato al fatto che l'organismo umano espelle molto velocemente i polifenoli dai reni, dopo che essi sono stati metabolizzati dal fegato.
- ❖ Esistono tanti composti pro-ossidanti il cui meccanismo di azione è poco chiaro: l'unica sicurezza è che la loro attività rappresenta un'arma a doppio taglio in quanto se in determinate situazioni favorisce un effetto pro-apoptotico mediato da ROS in linee di cellule tumorali, in altre condizioni può causare danno al DNA e mutagenesi.
- ❖ La maggioranza degli studi circa l'attività pro-ossidante degli antiossidanti naturali è stata effettuata in vitro e non vi è quindi assoluta certezza che un esperimento svolto precedentemente in vitro e poi ripetuto in vivo conduca agli stessi risultati. Basti pensare semplicemente alla condizione necessaria affinché i polifenoli esibiscano la propria attività pro-ossidante, ossia la presenza di metalli di transizione: nell'organismo umano la concentrazione degli ioni Fe e Cu risulta essere, infatti, ampiamente minore rispetto a quella impiegata per gli studi in vitro, eccezion fatta in condizioni patologiche, come nel caso delle placche aterosclerotiche o in malattie cardiovascolari.

RIASSUNTO ESTESO

Categorie di antiossidanti naturali presenti nelle piante, quali polifenoli, fra cui antociani e flavonoidi, e carotenoidi, hanno mostrato, oltre alla propria azione antiossidante, un'attività pro-ossidante che, attraverso la produzione di specie reattive dell'ossigeno ROS, può portare ad una condizione di stress ossidativo consistente nella perdita di quell'equilibrio redox tipico della cellula, quindi nello squilibrio tra produzione di agenti ossidanti e difese enzimatiche o non enzimatiche da parte dell'organismo. La condizione di stress ossidativo rappresenta una delle cause principali responsabili dell'insorgenza di numerose malattie neurodegenerative e cardiovascolari, oltre che dei tumori.

Solitamente le classi sopracitate di fitonutrienti esibiscono la propria attività pro-ossidante a concentrazione elevata e in presenza di metalli di transizione, specialmente ferro Fe e rame Cu, metalli non di transizione e metalloidi, che cedono il loro elettrone ad uno dei composti antiossidanti per poi reagire con il perossido di idrogeno e formare radicali liberi, secondo la chimica di Fenton. Ruolo fondamentale nell'espressione di tale attività è svolto anche dalla struttura chimica del composto e in particolare dal numero di idrossili presenti nell'anello aromatico dei polifenoli: l'attività pro-ossidante è infatti direttamente proporzionale al numero di sostituzioni ossidrili (in particolare in posizione orto).

Tra i carotenoidi, si distinguono per una potente azione pro-ossidante il β -carotene, il licopene, la luteina e l'astaxantina, i quali si auto-ossidano ad alte concentrazioni e in presenza di un'elevata pO_2 . Tra i polifenoli sono di rilevante importanza i flavonoidi, i quali producono ROS tramite una auto-ossidazione o un ciclo redox, per mezzo dei metalli di transizione e in presenza di determinate condizioni di pH. Un polifenolo che ha mostrato potente attività pro-ossidante e potenzialmente mutagena è la vitamina C.

Spesso un'azione pro-ossidante di un composto è associata ad una funzione pro-apoptotica in alcuni tipi di cellule tumorali, come avviene nel caso dell'estratto polifenolico della mela Annurca, che induce apoptosi mediata da ROS nella linea cellulare di cancro al seno MCF-7.

BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

- Taiz L., Zeiger E., Fisiologia vegetale, Piccin, Nuova Libreria, 2012, quinta edizione
- Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L, Biochimica, Zanichelli editore S.p.A., 2012, settima edizione
- Campbell, Recce, Taylor, Simon, Dickey, (2012), «Biologia», Pearson, Milano-Torino
- Juhyun Shin, Min-Ho Song, Jae-Wook Oh, Young-Soo Keum, Ramesh Kumar Saini, (2020), “Pro-oxidant Actions of Carotenoids in Triggering Apoptosis of Cancer Cells: A Review of Emerging Evidence”, doi: 10.3390/antiox9060532
- D'Angelo S., Martino E., Ilisso P. C., Bagarolo M. L., Porcelli M., Cacciapuoti G., (2017), «Pro-oxidant and pro-apoptotic activity of polyphenol extract from Annurca apple and its underlying mechanisms in human breast cancer cells”, in «International Journal of Oncology»
- Eghbaliferiz S., Iranshahi M., (2016), «Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and Carotenoids: Updated review of mechanisms and catalyzing metals», DOI: 10.1002/ptr.5643, in «Wiley Online Library»
- Del Rio D., Rodriguez-Mateos A., Spencer J.P.E., Tognolini M., Borges G., Crozier A., (2013) “Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases”, DOI: 10.1089/ars.2012.4581
- Podmore I.D., Griffiths H.R., Herbert K.E., Mistry N., Mistry P., Lunec J., (1998) “Vitamin C exhibits pro-oxidant properties”, in “Nature”
- Palozza P., “Prooxidant Actions of Carotenoids in Biologic Systems”, <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01762.x>