

## Revisione Forum

# Ossigeno, Attore Protagonista del Dramma Fisiopatologico: Meccanismi della Trinità, Normossia, Ipossia, ed Iperossia nelle Malattie ed in Terapia

ADITI C. KULKARNI, PERIANNAN KUPPUSAMY, e NARASIMHAM PARINANDI

### SOMMARIO

La vita aerobica si è evoluta in modo tale che la sua mera sopravvivenza dipende dall'ossigeno molecolare. La fosforilazione ossidativa mitocondriale richiede, necessariamente, ossigeno per generare energia utile negli aerobi. L'omeostasi di questi organismi è rigorosamente mantenuta grazie ad uno stato ottimale di ossigenazione cellulare e tissutale controllato da complessi meccanismi sensori dell'ossigeno, reazioni a catena che fungono da segnali e processi di trasporto. Nel caso si verifichi una fluttuazione dei livelli di ossigeno che determini un aumento (iperossia) o una diminuzione (ipossia) dell'ossigeno molecolare, l'organismo si ritroverebbe a dover affrontare una crisi che comporterebbe la deplezione delle riserve energetiche, alterazioni dei segnali a cascata, reazioni/eventi ossidativi, e morte cellulare o danno tissutale. L'ossigeno molecolare è attivato, sia da meccanismi enzimatici che non enzimatici, in specie di ossigeno altamente reattive (ROS). Gli aerobi hanno sviluppato dei sistemi di difesa antiossidativi efficaci per controbattere la reattività delle ROS. Nonostante le ROS siano anche necessarie in molte delle normali funzioni fisiologiche negli aerobi, la loro sovrapproduzione associata ad una loro insufficiente neutralizzazione, mediante gli antiossidanti endogeni, condurrà ad uno stress ossidativo dannoso. Superfluo dire, che l'ossigeno molecolare occupa una posizione centrale nei meccanismi dell'ossigenazione, della fosforilazione ossidativa e dello stress ossidativo. Questa revisione si interessa della biologia e la fisiopatologia dell'ossigeno, con particolare attenzione al trasporto, meccanismi sensori, e attivazione dell'ossigeno, alla fosforilazione ossidativa, e alla terapia con ossigeno. *Antiossidanti, segnali Redox*. 9, 1717-1730.

## INTRODUZIONE

L'ossigeno è il secondo elemento più abbondante dell'atmosfera terrestre. Nonostante esso sia indispensabile per le forme di vita aerobiche, esso ne rappresenta, anche, un grave pericolo (36,56). L'ossigeno, nonostante sia fortemente paramagnetico, a temperatura e pressione standard è una molecola biatomica. La forma più stabile è quella dello stato-tripletta laddove lo stato più reattivo è quello singlet. L'allotropo dell'ossigeno, l'ozono ( $O_3$ ), risiede negli strati superiori dell'atmosfera dove esso viene prodotto in presenza di scariche elettriche o mediante le radiazioni UV solari. L'ossigeno costituisce quasi il 21% dell'atmosfera terrestre. Nonostante le attuali forme di vita aerobiche richiedano necessariamente ossigeno per la loro sopravvivenza, è stato suggerito che sia stata la vita stessa a formare l'atmosfera, e quindi il suo livello d'ossigeno, come è oggi.

L'atmosfera della Terra inizialmente era costituita da  $CO_2$ ,  $N_2$ ,  $H_2O$ , con tracce di  $H_2$ . Nell'ambiente prebiotico, si suppone che l'ossigeno non esistesse nella sua forma libera (35). Durante il periodo dell'origine della vita, i primi organismi fotosintetici rilasciarono ossigeno nell'atmosfera e facilitarono così lo sviluppo di forme di vita aerobiche (36). Dopo molti cambiamenti, l'atmosfera ha raggiunto la sua attuale composizione gassosa, la quale comprende precisi livelli di ossigeno, ottimali per la sussistenza e lo sviluppo della vita. Nonostante l'ossigeno atmosferico sia essenziale per la vita aerobica, alcuni dei suoi derivati ne costituiscono un pericolo. I principali sono i radicali liberi, le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e l'ossigeno nello stato singlet.

La presente revisione pone la sua attenzione sul ruolo dell'ossigeno molecolare e dei suoi derivati in fisiopatologia. La prima sezione si occuperà dell'interdipendenza del trasporto dell'ossigeno, la respirazione ed il processo di produzione di energia che utilizza l'ossigeno. Essa è poi seguita da una breve discussione sui sensori dell'ossigeno e i livelli di ossidazione nell'organismo. Il lato meno nobile dell'ossigeno viene poi visitato - con particolare riguardo alle ROS e gli antiossidanti - sotto la luce dell'inquinamento ambientale e i disturbi patologici. L'ultima sezione si concentra sulle applicazioni terapeutiche dell'ossigeno.

## IL TRASPORTO DELL'OSSIGENO, LA RESPIRAZIONE E I PROCESSI BIOENERGETICI

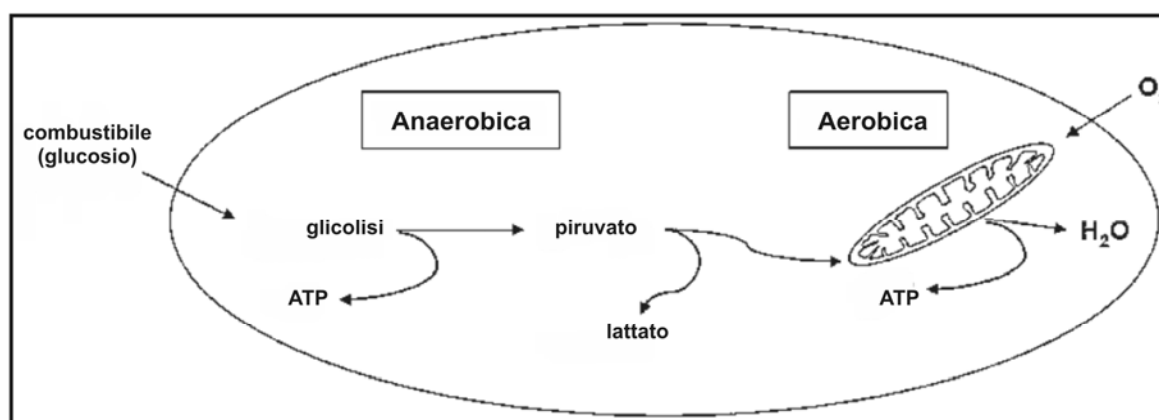
Gli organismi viventi prendono la loro energia unicamente dai substrati combustibili/nutritivi, attraverso la respirazione anaerobica o aerobica. La respirazione anaerobica non prevede l'utilizzo di ossigeno; tuttavia esso è un sistema inefficiente di produzione di energia sotto forma di adenosina-5'-trifosfato (ATP). Contrariamente, negli organismi aerobi, la respirazione cellulare prevede l'ossidazione catalizzata da enzimi, dei substrati combustibili, primariamente ossigeno, per generare l'energia necessaria per i processi biologici. La respirazione aerobica ha luogo in due aree della cellula, essendo la glicolisi nel citoplasma, e il ciclo di Krebs e la catena di trasporto degli elettroni (ETS) nei mitocondri (Fig. 1). Il glucosio, il substrato principale della respirazione aerobica cellulare, viene convertito in piruvato nella fase glicolitica, e poi viene inserito nel ciclo di Krebs per la fosforilazione ossidativa che viene, successivamente, continuata dalla ETS nella membrana interna dei mitocondri. L'ossigeno va incontro alla riduzione di quattro elettroni nella ETS, così da generare ATP, la molecola biologica ultima di energia utile (Fig. 2). L'intero processo della respirazione cellulare aerobica porta alla formazione di 28 molecole di ATP contro le 2 molecole di ATP che sono prodotte durante la respirazione anaerobica. Per cui, risulta evidente che l'efficienza dell'utilizzazione del substrato respiratorio (es: glucosio), per generare il numero massimo di molecole di ATP, è migliore nelle cellule durante la respirazione aerobica, nella quale la presenza dell'ossigeno è essenziale.

Negli organismi complessi, il trasporto d'ossigeno alle cellule dei tessuti è controllato da un'unità di processo centrale come il cervello. Una parte del sistema nervoso centrale, la medulla oblunga, controlla il processo di respirazione e di conseguenza il trasporto dell'ossigeno alle cellule. Esso può modificare il processo di respirazione attraverso un sistema di feedback neurosensoriale. La concentrazione ematica dell'ossigeno, dell'anidride carbonica e il pH (equilibrio acido-basico) sono anche fattori importanti nella regolazione della respirazione.

Complessivamente, la base essenziale della respirazione a livello cellulare è la disponibilità d'ossigeno. Nei mammiferi, inclusa la specie umana, l'ossigeno dai polmoni dopo la respirazione viene trasportato al suo target tissutale per mezzo della proteina trasportatrice dell'ossigeno, l'emoglobina.

A livello del tessuto, dove le cellule sono impegnate attivamente nella respirazione (fosforilazione ossidativa), l'ossigeno viene liberato dal suo legame con l'emoglobina (ossiemoglobina) grazie ai gradienti di concentrazioni, e l'ossigeno così liberato si rende disponibile ai tessuti metabolicamente attivi. Di conseguenza, le cellule del tessuto impegnate attivamente nella respirazione determinano un gradiente di concentrazione di ossigeno molecolare tra diverse interfacce: tra la membrana plasmatica e lo spazio extracellulare, citoplasma e membrana plasmatica e tra i mitocondri e il citosol. Ancora, l'attiva respirazione mitocondriale cellulare crea diversi livelli di gradienti di pressione parziale ( $pO_2$ ) di ossigeno che portano all'entrata dell'ossigeno nelle cellule per la sua utilizzazione metabolica. Di conseguenza, si può inequivocabilmente concludere che l'ingresso molecolare dell'ossigeno in una cellula attivamente impegnata nella respirazione sia guidato metabolicamente. In altre parole, se la respirazione cellulare è lenta o si arresta, il gradiente d'ossigeno creato dalla respirazione cellulare viene meno, e così anche l'immissione - per diffusione - di ossigeno nella cellula. Vice versa, l'apporto di ossigeno alle cellule attivamente impegnate nella respirazione può essere interrotta dall'arresto dell'apporto sanguigno, come nell'ischemia. L'ischemia causa la deficienza o l'assenza di ossigeno nei tessuti bersaglio (cellula), conseguentemente, conduce all'ipossia o anossia. In questo caso, anche se i gradienti  $pO_2$  sussistessero tra i diversi strati a livello delle interfacce extra e intracellulari, a causa della mancanza dell'apporto ematico e quindi dell'apporto di ossigeno, la respirazione cellulare verrebbe drasticamente ridotta o arrestata o entrambi le cose.

I lipidi delle membrane cellulari, compresi quelli della membrana plasmatica, giocano un ruolo critico nell'ingresso dell'ossigeno nelle cellule. Si è dimostrato che il colesterolo, un lipide idrofobico non polare della membrana plasmatica, è in grado di influenzare il rilascio, il trasporto e la disponibilità di ossigeno nei globuli rossi (RBC) (17). E' stato dimostrato che un aumento della concentrazione di colesterolo nelle RBC diminuisce il trasporto di ossigeno attraverso le cellule, presumibilmente per una diminuzione della fluidità di membrana ed un irrigidimento del doppio strato lipidico (18). Si è dimostrato che un aumento del contenuto di colesterolo nella membrana plasmatica delle cellule ovariche di criceti cinesi determina un gradiente più elevato dell'ossigeno, dando ulteriore prova del fatto che il contenuto di colesterolo nella membrana plasmatica sia cruciale nel determinare il valore dei gradienti di ossigeno ai lati della membrana cellulare (48).



*fig. 1. La respirazione cellulare illustra le vie anaerobiche e aerobiche di produzione d'energia*

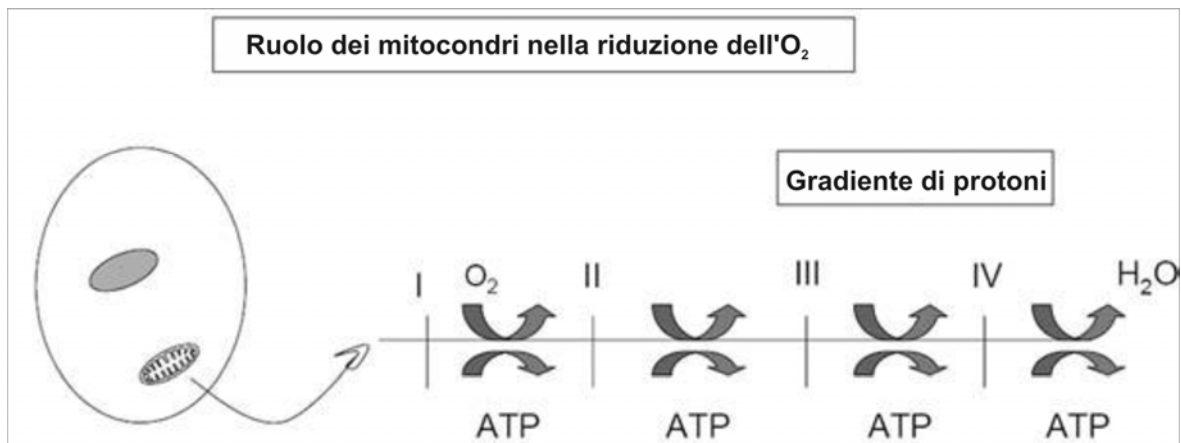


fig. 2. La sequenza della riduzione dell'ossigeno nei mitocondri.

### CONSUMO NON RESPIRATORIO DELL' OSSIGENO

La maggior parte dell'ossigeno che entra in una cellula aerobica è utilizzata nella fosforilazione ossidativa messa in atto dai mitocondri per generare energia utile, ATP. Ciò nonostante, una parte dell'ossigeno cellulare partecipa, come substrato importante, a svariate reazioni ossidative catalizzate dalle ossigenasi (monoossigenasi e diossigenasi) di provenienza non mitocondriale (39). Nella maggior parte di questi enzimi, il ferro (Fe) gioca un ruolo centrale nelle reazioni di ossigenazione. L'attivazione dell'ossigeno mediata da proteine eme e non eme (enzimi) dipende dall'assunzione di ferro da parte della cellula, dalle sue riserve e mobilitazione, complessi di ferro, lo stato redox e altre intricate reazioni di biotrasformazione nei quali la valenza del ferro detta il metabolismo e l'attivazione dell'ossigeno molecolare, e l'ossidazione non mitocondriale (39). L'ossidazione del catecolo a cis-muconato, la biosintesi degli steroli (lanosterolo e colesterolo), la sintesi di prostaglandine per mezzo delle cicloossigenasi, l'azione delle lipoossigenasi nella formazione dei metaboliti dell'acido arachidonico, trasformazioni citocromo P450 mediate, e la catalisi della metalloporfirina sono alcuni esempi importanti di consumo non respiratorio e non mitocondriale dell'ossigeno e della sua utilizzazione da parte della cellula (di mammifero) aerobica. È noto che un ambiente cellulare ricco di metalli (contenente ferro o rame o entrambi) causa l'ossidazione non enzimatica delle biomolecole incluse le catecolamine, i lipidi, le proteine e il DNA attraverso reazioni di tipo Fenton. Queste reazioni ossidative, catalizzate dai metalli nelle cellule, contribuiscono anche all'utilizzazione non respiratoria dell'ossigeno cellulare. In questa sede, dovrebbe essere messo in evidenza che questi vie che riguardano l'utilizzazione non respiratoria e non mitocondriale dell'ossigeno molecolare cellulare sono di estrema importanza per l'omeostasi cellulare fisiologica e sono anche importanti per una pianificazione farmacologica, tossicologica e fisiopatologica.

### MECCANISMI CHE RILEVANO LE VARIAZIONI D'OSSIGENO

Il rilevamento delle variazioni d'ossigeno è un fenomeno intrinseco grazie al quale si può mantenere l'omeostasi dell'ossigeno nell'organismo. Gli organismi rilevano, in modo continuo, le variazioni della concentrazione di ossigeno nell'organismo e ne rispondono di conseguenza: il rilevamento di uno stato di ipossia induce un aumento della ventilazione polmonare attraverso l'aumento della frequenza respiratoria. Il rilevamento dell'ossigeno avviene a due livelli: (a) sistemico (organi e organismo) e (b) locale (cellulare e tissutale). Sono stati allestiti alcuni modelli sperimentali per meglio comprendere il meccanismo di rilevamento e per identificarne il recettore.

Il modello del glomo carotideo umano spiega il meccanismo sensore delle variazioni dell'ossigeno a livello sistemico. Il glomo carotideo, situato nella arteria carotide, è il recettore primario del valore di concentrazione d'ossigeno nei mammiferi (80). Le cellule glomiche del glomo carotideo si depolarizzano in risposta all'ipossia e danno inizio ad una serie di eventi.

Tuttavia, sono stati proposti svariati fattori come responsabili dei meccanismi di rilevamento d'ossigeno a livello locale (livelli tissutale, cellulare, subcellulare e molecolare); questi includono le unità sensori dell'ossigeno cellulare (mitocondri), le membrane (chelazione di ferro e inibizione del canale del potassio), l'efflusso di ATP dai nervi afferenti, intermedi reattivi dell'ossigeno, ossido nitrico, monossido di carbonio, e neurotrasmettitori (54). Sono state proposte diversi meccanismi, per spiegare il funzionamento di questi processi. Uno di questi meccanismi coinvolge i canali ad alta conducibilità del calcio e i canali voltaggio-dipendenti del potassio (47). Evidenze recenti ci inducono a pensare che esista un recettore molecolare localizzato nelle vicinanze di questi canali (47). Un'altra ipotesi controversa è che il mitocondrio sia l'organulo di rilevamento delle variazioni d'ossigeno (7, 54, 90). Si pensa che anche l'ossido nitrico agisca come recettore molecolare e che interagisca con i complessi mitocondriali (54). E' stato anche dimostrato una connessione tra il ruolo del CO<sub>2</sub> (23, 54) e del CO (47) nel rilevamento delle variazioni d'ossigeno. La NAD(P)H ossidasi è stata anche proposta come un possibile recettore dell'ossigeno (90). Tutti questi studi hanno rilevato che i ROS sono coinvolti nel processo di rilevamento dell'ossigeno, ma l'esatto ruolo di questi nei vari processi non è ancora stato chiarito, soprattutto nell'ipossia (90). Nonostante la maggior parte degli studi fatti in questo campo sia orientata verso lo studio dei recettori dell'ipossia, pochi studi hanno posto la loro attenzione anche sulla comprensione della natura dei recettori nell'iperossia. Questi studi rivelano che il p38MAPK è la molecola regolatoria, promotrice (upstream) della produzione di ROS nell'iperossia, ed effettrice (78, 92). Nonostante sia stato dimostrato che la p38MAPK e la Src chinasi regolino l'aumento dell'attività della NAD(P)H ossidasi in cellule endoteliali esposti ad iperossia, le esatte ragioni per cui l'ossigeno molecolare venga avviato verso la produzione di ROS durante un esposizione iperossica devono ancora essere stabilite (25, 78).

E' stato proposto un nuovo affascinante meccanismo di adattamento alle fluttuazioni della pO<sub>2</sub> a livello cellulare e tissutale (50, 84, 85, 92). Negli organi dei mammiferi, la pO<sub>2</sub> presenta un ampio intervallo (tra 90 e <3 torr) in stati di normossia (85) e di conseguenza la normossia diventa una variabile adattabile. Le cellule, in risposta ad una moderata ipossia cronica, sono in grado di adeguarsi a un valore di pO<sub>2</sub> modificando il loro punto di regolazione di normossia, portandosi ad uno stato ossidativo chiamato "iperossia acquisita" (relativo aumento di pO<sub>2</sub>) (85). E' stato dimostrato che questo meccanismo di adattamento ad un aumento marginale relativo del pO<sub>2</sub> attraverso l'iperossia acquisita promuove la differenziazione dei fibroblasti cardiaci a miofibroblasti attraverso un segnale mediato dal gene regolatore p21 (84). In un modello di cuore di ratto sottoposto ad un danno focale di ischemia/riperfusion (I-R), è stato messo in evidenza l'attivazione dei geni sensibili all'iperossia acquisita, nella regione I-R del tessuto cardiaco (85). Con l'uso della tecnica di microdissezione laser con catapultamento a pressione associato all'analisi PCR in tempo reale, si è dimostrato l'induzione del gene p21 da parte dell'iperossia acquisita sia nei fibroblasti e che nei cardiomiociti del cuore sottoposto a I-R *in vivo* (50). Per cui, l'iperossia acquisita gioca un ruolo fondamentale nel rimodellamento e nella riparazione del miocardio (92).

Cambiamenti fluttuanti della concentrazione locale di ossigeno (pO<sub>2</sub>) prevedono delle strategie di adattamento del sistema (cellula/organo) che determinano la protezione dal o una limitazione del danno. I fattori ipossia-indotti (HIF), i fattori di trascrizione, ed importanti regolatori dell'espressione genica ipossia-indotta sono stati ampiamente studiati come elementi chiave della regolazione dei meccanismi di adattamento in sistemi sottoposti ad insulti ipossici (2). E' stato dimostrato che le risposte adattative allo stimolo ipossico sono mediate da un ampio spettro di reazioni a cascata che rispondono alle variazioni del valore d'ossigeno e che interessano la NADPH reduttasi dei fagociti, la ETS mitocondriale, citocromo c ossidasi, HIF prolina ed HIF asparagina idrossilasi (2). Questi elementi sensibili alle variazioni d'ossigeno hanno diversi gradi di sensibilità e, a seconda del tipo di cellula, essi sono distribuiti in diversi compartimenti cellulari in modo da mettere in atto i processi di adattamento alle variazioni di pO<sub>2</sub> nel tessuto attraverso complesse reazioni a catena. Il rilevamento dell'ossigeno è un importante meccanismo che risulta necessario per il normale funzionamento dell'organismo, lo sviluppo fetale, l'adattamento a livelli anomali di ossigeno nell'organismo che si verificano come conseguenza dei variazioni dei livelli di ossigeno nell'ambiente, e condizioni patologiche.

Un danno al sistema di rilevamento di ossigeno nell'uomo si mostra associato ad un numero crescente di condizioni patologiche che comprendono il cancro, ipertensione, apnea notturna, infarto, ictus e la sindrome della morte improvvisa del lattante (94). Complessivamente, non va trascurato il fatto che i meccanismi sensori dell'ossigeno sia a livello locale che sistemico sono interdipendenti tra di loro.

## LIVELLI DI OSSIGENAZIONE NELL'ORGANISMO

Gli organismi aerobici non possono sopravvivere senza ossigeno. Se la concentrazione d'ossigeno nell'organismo si abbassa al di sotto di un livello critico o se supera una certa soglia, i normali processi fisiologici vengono alterati. Di conseguenza, risulta evidente che le normali funzioni fisiologiche dell'organismo lavorano in una condizione di rigoroso controllo della concentrazione d'ossigeno, e che uno squilibrio di questa comporterebbe un'alterazione dei normali processi fisiologici. L'adattamento della cellula o dell'organismo come risposta ad un cambiamento ambientale della concentrazione d'ossigeno viene regolato da complessi reti di segnali ed dall'espressione genica (94).

La normossia, il livello di ossigeno ( $pO_2$ ) richiesto perché avvengano i normali processi fisiologici, è il livello ottimale di ossigeno nell'organismo. L'ipossia viene definita come una deficienza di ossigeno nell'organismo ed è conseguenza della differenza tra l'apporto e il consumo d'ossigeno. Si riconoscono diversi tipi di ipossia, classificati a seconda dei fattori che causano quella particolare condizione ipossica (46). L'ipossia innesca una serie di risposte cellulari, compresa la produzione di fattori di trascrizione. Nella maggior parte dei casi, l'ipossia conduce alla completa deprivazione d'ossigeno e conseguentemente alla morte cellulare. Se una condizione d'ipossia venisse trattata in tempo si potrebbe ottenere la salvezza o il recupero di determinate aree del tessuto. L'ipossia può portare ad diversi gravi disturbi come l'ictus cerebrale o l'infarto del miocardio, e se non trattato, progredisce verso l'anossia, che viene definita come la completa mancanza d'ossigeno. L'iperossia si verifica quando il livello d'ossigeno è più alto del livello presente in uno stato di normossia. Livelli iperossici di ossigeno nell'organismo possono risultare dannosi per i tessuti. Importanti effetti dannosi dell'iperossia sono il danno dei polmoni ed degli organi vitali e danno al SNC. Una condizione prolungata d'iperossia conduce alla morte presumibilmente a causa del danno ossidativo e da ROS. Sia l'ipossia che l'iperossia sono caratterizzati dalla produzione di ROS nelle cellule.

In questa sede, è importante notare che nonostante alcune linee guida siano state accettate, non ci sono valori di pressione parziale d'ossigeno assoluti ( $pO_2$ ) per definire l'ipossia o la iperossia (46). Il bisogno di ossigeno di un organo, un tessuto, o una cellula dipende dalla sua fisiologia e funzioni. Per cui, i livelli di ossigeno che dettano un cambiamento in senso ipossico/iperossico cambiano a secondo del sistema (cellula/tessuto/organo) a cui si fa riferimento. Per esempio, il cervello e i muscoli necessitano di diversi livelli di ossigeno per esprimere gli stati di normossia e ipossia. Questi particolari valori di ossigeno, in condizioni cliniche, possono anche essere influenzate dalla condizione del individuo. Risulta evidente che il controllo cellulare e tissutale del livello di ossigenazione dipenda anche dalla regolazione dei meccanismi sensori dell'ossigeno sia a livello sistemico che locale. E' necessario un esteso lavoro per definire i livelli tessuto specifici di ossigeno associati alle condizioni di normossia, ipossia e iperossia per i diversi organi e tessuti.

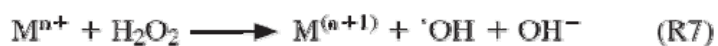
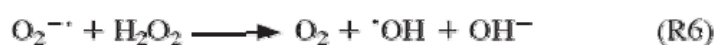
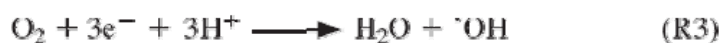
## LE SPECIE REATTIVE DELL'OSSIGENO

L'ossigeno molecolare atmosferico, un radicale libero esso stesso, è relativamente poco reattivo per le restrizioni definite dalle sue condizioni relative di spin. Questa proprietà previene la combustione spontanea dei materiali in un ambiente con atmosfera ricca d'ossigeno. L'ossigeno molecolare viene sottoposto alla riduzione di quattro elettroni per divenire acqua. Queste quattro riduzioni generano intermedi che sono comunemente e collettivamente chiamate ROS. Le ROS includono specie chimiche radicali e non radicali. Per definizione, qualunque specie chimica (atomo o molecola) con un elettrone spaiato viene descritto come un radicale libero (56). Tipici radicali liberi dell'ossigeno sono il superossido ( $O_2^-$ ), il radicale idrossilico ( $OH$ ), il radicale perossido ( $RO_2^-$ ), ed il radicale idroperossido ( $HO_2^-$ ) (tabella 1). I ROS non radicali sono il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ), l'acido ipocloroso, ossigeno singlet, e l'ozono. Le specie reattive del nitrogeno (RNS) come il perossido nitrico ( $OONO^-$ ) e ossido nitrico ( $NO$ ) sono anche compresi a volte tra i ROS (fig. 3). I membri della famiglia delle ROS mostrano una selettività diversa per i vari reagenti chimici e ampi spettri vita media. Per cui, la loro reattività ed i loro effetti nei sistemi biologici variano ampiamente.

<i>ROS</i>	<i>Simbolo</i>	<i>Radicale libero</i>	<i>Vita media</i>	<i>Origine</i>
Superossido	$O_2^{\cdot -}$	Sì	$10^{-6}$ sec	mitocondri, sistema cardiovascolare
Perossido d'idrogeno	$H_2O_2$	No	Stabile	reazioni cellulari
Idrossido	$\cdot OH$	Sì	$10^{-9}$ sec	reazione di Fenton
Radicali perossidi	$ROO^{\cdot}$	Sì	1 sec	danno ossidativo di lipidi, proteine, carboidrati, ecc
Ossido nitrico	$NO^{\cdot}$	No		mitocondri, cellule endoteliali
Perossido nitrico	$OONO^{\cdot}$	No	$10^{-3}$ sec	dal superossido e ossido nitrico
Ossigeno singlet	$^1O_2$	No	$10^{-6}$ sec	prodotto durante le reazioni chimiche
Ozono	$O_3$	No	Stabile	presente nell'atmosfera

**Tabella 1. Caratteristiche e sorgenti delle specie reattive dell'ossigeno**

I ROS sono prodotte da meccanismi enzimatici e non enzimatici. Le sorgenti enzimatiche sono la xantina ossidasi, NADPH reduttasi, cicloossigenasi, lipoossigenasi, mieloperossidasi, la glucosio ossidasi, ossido nitrico sintetasi; anche il disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa a livello della ETS nei mitocondri produce le ROS, soprattutto il radicale superossido (fig.4). Parecchi enzimi sono stati identificati come composti che producono le ROS durante il metabolismo. E' stato dimostrato che il metabolismo di droghe e composti xenobiotici da parte del sistema microsomiale citocromo P450 porta alla formazione delle ROS. Si è anche dimostrato che l'autossidazione di piccole molecole come le catecolamine è in grado di produrre le ROS. Le ROS sono anche prodotte mediante l'esposizione alle radiazioni (ionizzanti, UV). La lista delle condizioni patologiche (malattie) in cui si dimostra un coinvolgimento delle ROS nel meccanismo fisiopatologico si fa sempre più lunga.



L'ossigeno molecolare viene attivato ad anione superossido o da un processo non enzimatico (radiazione ionizzante) oppure da una reazione enzimatica (R1). L'anione superossido è trasformato, dalla superossido dismutasi in perossido d'idrogeno (R2). La riduzione di quattro elettroni dell'ossigeno molecolare porta alla formazione di acqua (R4). La superossido è anche soggetta a dismutazione spontanea (non proporzionato) in ossigeno molecolare e perossido d'idrogeno (R5). Il superossido reagisce con il perossido d'idrogeno (reazione di Haber-Weiss) per formare ossigeno molecolare, radicali idrossilici, e ioni idrossilici (R6). I metalli di transizione ( $Cu^+$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{3+}$ ) catalizzano la degradazione del perossido d'idrogeno (reazione di Fenton) in radicale idrossilico e ione idrossilico (R7). Il perossido d'idrogeno, nonostante sia atossico, porta alla formazione di uno delle ROS più reattive, la specie dei radicali idrossilici ( $\cdot OH$ ) nei sistemi biologici in presenza di metalli di transizione redox-attivi, soprattutto il  $Fe^{2+}$ . E' stato dimostrato che il radicale idrossilico è all'origine di diverse reazioni ROS- mediate nei sistemi biologici.

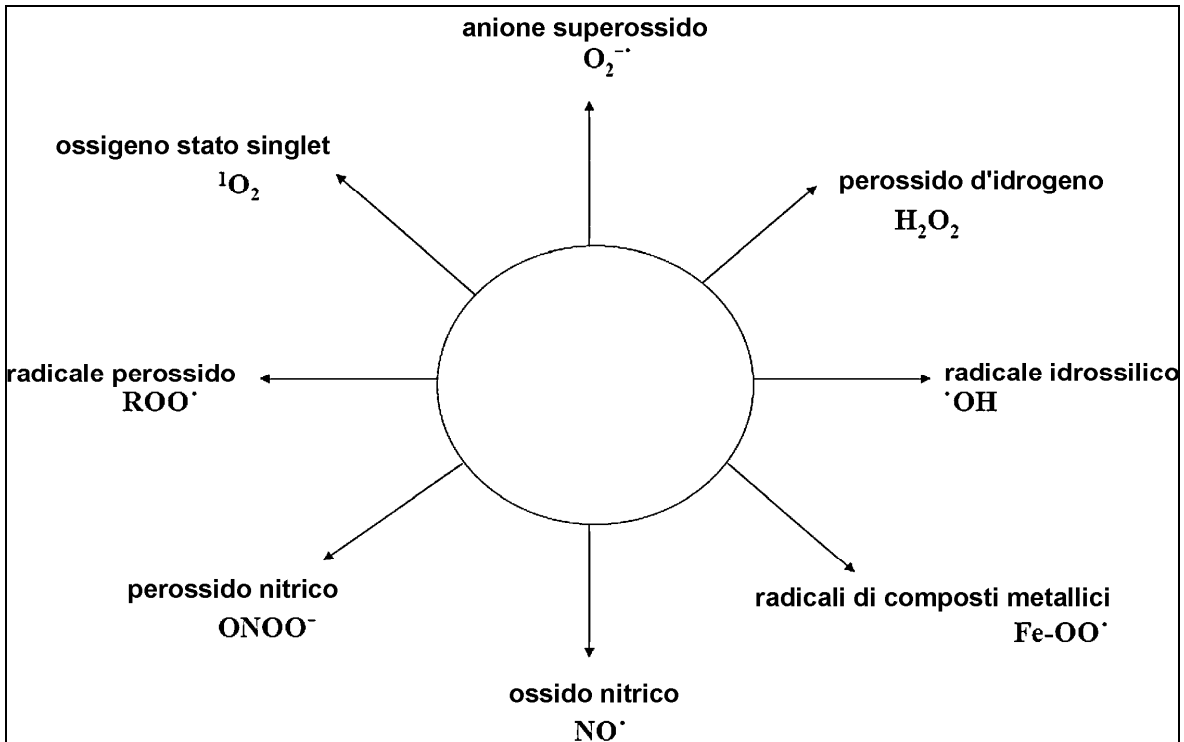


fig.3. Le diverse specie di ROS derivanti dall'ossigeno molecolare

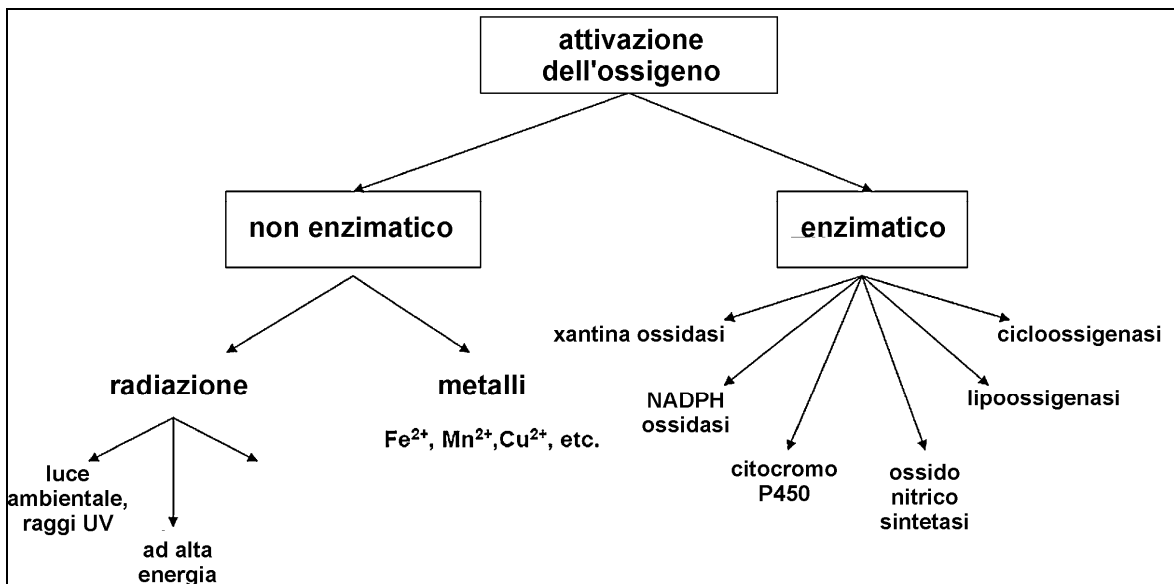


fig. 4. Attivazione dell'ossigeno molecolare attraverso meccanismi non enzimatiche ed enzimatiche

Di conseguenza, i metalli di transizione redox attivi giocano un ruolo importante nelle reazioni che producono le ROS a partire dall'ossigeno molecolare. Le ROS sono altamente reattive e sono in grado di reagire con ogni molecola dell'organismo. La reattività delle ROS con le biomolecole conduce al danno dei lipidi, carboidrati, proteine, e DNA (fig. 5). La perossidazione lipidica dei fosfolipidi di membrana da parte delle ROS è una reazione a catena altamente dannosa.

Per cui, il danno indotto dalle ROS sulle biomolecole presenta importanti implicazioni in molte disturbi fisiopatologici che si verificano a causa delle alterazioni mediate da radicali liberi durante i processi molecolari cellulari. Le proteine, sottoposte all'ossidazione da parte delle ROS, danno origine ad una miriade di prodotti che sono o essi stessi reattivi oppure formano dei radicali liberi in seguito alla loro interazione con altre molecole. Il danno al DNA è anche indotto dalle ROS, soprattutto da parte del radicale, altamente reattivo, idrossilico, che determina danni delle basi, rotture a catena singola, e la formazione di legami crociati, che sono responsabili delle mutazioni chimico- indotte e della carcinogenesi. Per cui, l'ossigeno gioca un ruolo primario nelle modificazioni ossidative mediate dalle ROS sulle biomolecole dal momento che le ROS derivano dall'ossigeno.

Nonostante le ROS siano stati scoperti per le loro azioni dannose, nel corso degli anni, gli studi condotti hanno dimostrato che le ROS sono anche importanti in svariati processi fisiologici sia a livello cellulare e che sistemico. E' stato dimostrato che le ROS attivano i fattori di crescita cellulari nelle cellule muscolari lisce vascolari (5). Essi sono utili nell'eliminazione delle proteine non funzionali per mezzo della loro ossidazione e sono anche essenziali per il funzionamento degli organuli cellulari (70). Le ROS sono coinvolti nel processo dell'invecchiamento e della morte cellulare programmata. Esse inoltre agiscono come mediatori intracellulari (55). Le ROS sono importanti nella regolazione di svariati processi fisiologici(33). D'altro canto, è stato dimostrato il coinvolgimento delle ROS in parecchie malattie e disturbi, o come la causa o come l'effetto o entrambi. Il legame tra le ROS e svariate malattie verrà discussa più avanti in questo articolo.

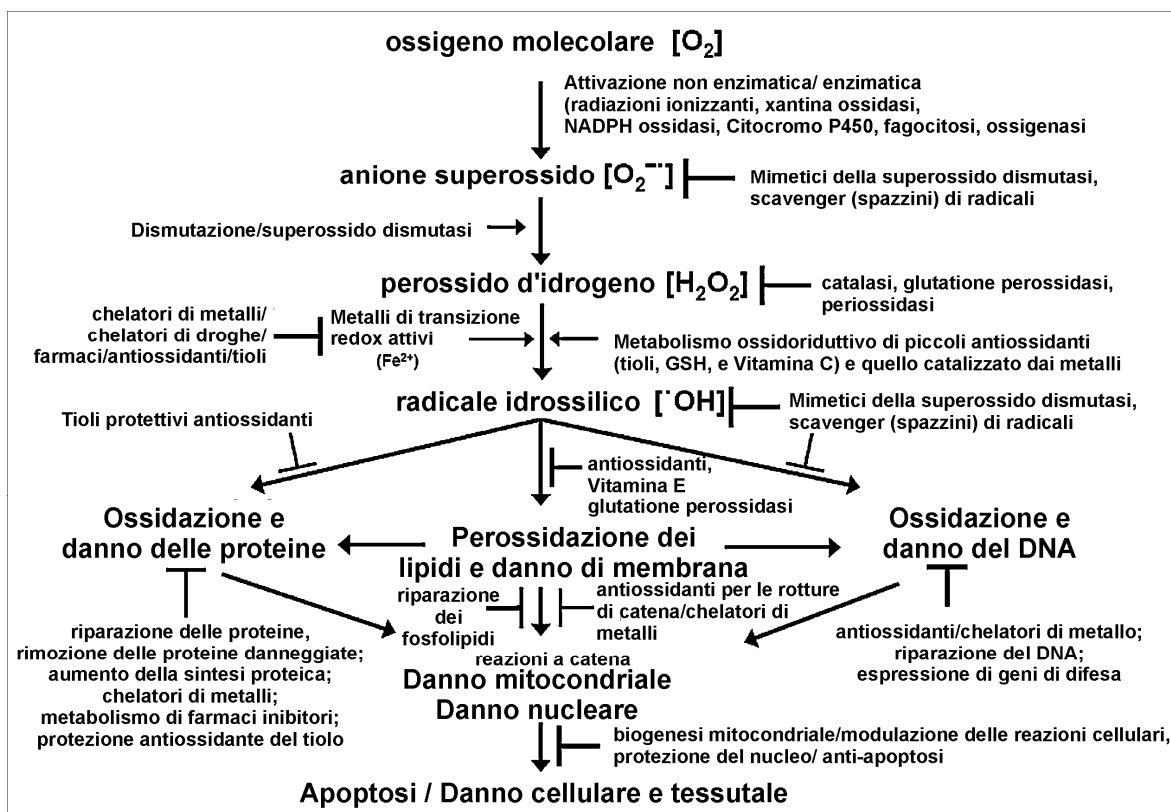


fig. 5 Produzione, reattività, e tossicità delle ROS

## ANTIOSSIDANTI

Gli antiossidanti, per definizione, rallentano o inibiscono le reazioni ossidative mediate dai radicali liberi attraverso diversi meccanismi. La loro principale funzione è quella di proteggere l'organismo dagli effetti dannosi delle ROS e di mantenere l'omeostasi ossidoriduttivo REDOX dell'organismo. Gli antiossidanti possono essere raggruppate in due categorie, enzimatiche e non enzimatiche. Gli antiossidanti enzimatici comprendono la superossido dismutasi (SOD), catalasi, glutazione perossidasi, glutazione reductasi e il tioredoxina (10). Gli antiossidanti non enzimatici sono i tioli (per es. il glutatione, GSH), tioli proteici; vitamine A, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C ed E; il selenio; acido folico; ed i β-carotenoidi (60). I vari componenti del sistema di difesa antiossidativo sono correlate tra di loro e devono lavorare insieme per assicurare una adeguata protezione della cellula.

I meccanismi di difesa antiossidante variano da reti di controllo molto semplici a molto complessi. E' stato dimostrato che queste reti sono attivate dagli ossidanti stessi (107). Le reti degli antiossidanti rilevano lo squilibrio redox dell'ambiente ed immediatamente si attivano per ripristinarne l'equilibrio (56).

I benefici degli antiossidanti derivano dal fatto che essi diminuiscono o aboliscono l'eccesso di ROS nelle cellule, portando alla prevenzione dell'invecchiamento, delle malattie cardiovascolari, e cancro, ossia laddove si è dimostrato che lo stress ossidativo rappresenta un importante fattore di causa. Molti studi sono stati fatti per capire i meccanismi che governano questi effetti antiossidanti protettivi, e la possibilità di usare gli antiossidanti come farmaci ed agenti preventivi in importanti condizioni patologiche, sta rapidamente emergendo. La maggior parte degli antiossidanti (piccola molecola e redox attivi), dipendendo dall'ambiente, possono agire o come pro-ossidanti o antiossidanti. Questo paradosso è molto critico per l'uso della molecola come antiossidante sicuro e efficace. In un ambiente ricco di metalli ed ossigeno, l'antiossidante diviene un pro-ossidante, genera ROS, e causa uno stress ossidativo. Di conseguenza, si deve usare molta prudenza quando si usano dosi elevate (mega) di antiossidanti redox attive o come integratori alimentari o come nutrienti per la prevenzione.

## **MITOCONDRI, ROS, MEDIATORI E APOPTOSI**

Nonostante i mitocondri funzionino da centrale energetica della cellula in quanto generano la maggior parte dell'energia utile della cellula (ATP), questi organuli sono anche in grado di convertire l'ossigeno molecolare (2-3% del totale di ossigeno consumato) in ROS mediante un meccanismo di riduzione di un elettrone e di formare, anche, NO attraverso l'azione della ossido nitrico sintetasi mitocondriale (NOS) la quale utilizza, anch'essa, l'ossigeno molecolare come substrato (43). Di conseguenza, i mitocondri sono anche messi in pericolo dagli stress ossidativi, nitrici, e nitrosi. Ancora, i mitocondri giocano un ruolo fondamentale nella sopravvivenza e morte cellulare, nel quale l'ossigeno molecolare è il giocatore principale. Il SOD mitocondriale gioca un ruolo cruciale nel flusso del  $H_2O_2$  cellulare e nel determinare lo stato redox e le funzioni vitali della cellula (19). Lo stato redox e la presenza di metalli di transizione, anche contribuiscono alla reazione ossidativa mitocondriale, che in ultimo determina l'omeostasi, la sopravvivenza, o la morte (apoptosi) della cellula. Le reazioni a catena delle ROS come mediatori cellulari dai mitocondri al nucleo, stanno dimostrando di essere uno tra i più importanti mediatori dell'invecchiamento e delle malattie nell'uomo, i quali possono essere rigorosamente controllati dagli antiossidanti attraverso la chelazione dei metaboliti attivi dell'ossigeno prodotti nei mitocondri.

## **MALATTIE E DISTURBI ASSOCIATI ALL'OSSIGENO ED ALLE ROS**

La produzione delle ROS e lo stress ossidativo associato sono stati riconosciuti come i giocatori principali nella mediazione di un grande maggioranza di patologie causate dalla mancanza o l'eccesso d'ossigeno. Lo stress ossidativo è una condizione dell'organismo che si verifica quando l'equilibrio antiossidativo-ossidativo risulta alterato e l'equilibrio redox è disturbato, determinando la sovrapproduzione e l'azione di radicali liberi. Per cui, lo stress ossidativo conduce al danno del sistema biologico a livello molecolare, cellulare, di organo e sistemico. La relazione tra lo stress ossidativo, la produzione di ROS, i diversi livelli di ossigenazione, e lo stato patologico dell'organismo è molto complesso. La maggior parte delle volte, la determinazione della causa, che viene regolata da diversi fattori che agiscono sui vari organi/tessuti dell'organismo, apparentemente non è semplice.

L'omeostasi redox viene sottoposta a spostamenti a causa di una pletera di fattori. Le condizioni, che comprendono stati patologici, carenza o eccesso d'ossigeno, infezioni, infiammazioni, insulti tossici, scoppio ossidativo possono benissimo alterare l'omeostasi redox. Questo ha inizio da una serie di risposte, che includono l'induzione di fattori di trascrizione come HIF-1. Sotto certe circostanze, il tessuto/organo usa strategie riparative per ripristinare l'omeostasi redox alterato, ma a volte l'equilibrio non viene ripristinato, portando all'instaurarsi di stati patologici. Il cervello è molto suscettibile agli insulti, che determinano alterazioni dello stato redox attraverso diversi meccanismi (83) Il cervello presenta un elevato fabbisogno d'ossigeno e di conseguenza, una maggiore probabilità produrre ROS. In primo luogo, il cervello ha un basso livello di attività enzimatica antiossidante, soprattutto della catalasi. Secondo, il cervello ha livelli più elevati di acidi grassi poliinsaturi di membrana, che sono suscettibili all'attacco perossidativo mediato dai radicali liberi.

Tutte queste condizioni contribuiscono alla maggiore suscettibilità del tessuto cerebrale allo stress ossidativo ROS-indotto che prevede un'elevata produzione di specie radicali tossici, la degradazione dei lipidi di membrana attraverso la perossidazione, ossidazione proteica, e il danno ossidativo del DNA (29). Il liquido cerebrospinale ha complessi di ferro e di rame a basso peso molecolare, e i neuroni hanno ferro non eme. Questi metalli di transizione catalizzano le reazioni che generano i radicali liberi dell'ossigeno attraverso la reazione di Fenton. Per questo motivo, il cervello va maggiormente incontro ad uno stress ossidativo causato dalle ROS (83). Il rischio aumenta ancora di più nell'ictus emorragico.

Lo stress ossidativo è coinvolto nella maggior parte delle patologie neurodegenerative come il morbo di Alzheimer, la sindrome di Parkinson, e la sclerosi laterale amiotrofica (ALS) (tabella 2) (1, 29, 61, 83, 95). L'ossigeno è anche coinvolto nelle malattie e disturbi vascolari che includono, ma non sono limitati a: l'aterosclerosi, la malattia vascolare periferica, l'ischemia, danno da ischemia/riperfusione, malattia cardiaca congestizia, e ictus (22, 44, 61). L'aterosclerosi è un processo che determina l'ostruzione dei vasi sanguigni da parte di placche (costituiti da lipoproteine a bassa densità, LDL, e detriti cellulari) che si formano sulla parete vascolare. Un meccanismo ampiamente accettato è che l'ossidazione dei LDL da parte dei ROS porta alle lesioni aterosclerotiche (79). Gli enzimi presenti nella parete vascolare, inclusi NAD(P)H, mieloperossidasi, e lipoossigenasi, utilizzano l'ossigeno molecolare per generare ROS (98). Per cui, i processi ROS inducono/avviano quei processi che portano ad alla cascata di reazioni ossidative, che includono la perossidazione dei lipidi. Nonostante la relazione causa-effetto tra l'ossidazione dei lipidi e l'aterosclerosi non sia ancora stata stabilita (98), è chiaro che l'interazione dei lipidi con le specie derivate dall'ossigeno prima o dopo l'iniziazione delle lesioni è di grande interesse. E' stato fatto il tentativo di somministrare una terapia antiossidante, ma non è stato osservata alcuna chiara evidenza della sua efficacia (14).

Le lesioni aterosclerotiche possono bloccare l'apporto sanguigno ad un tessuto o parte di un organo, determinandone l'ischemia. L'ischemia priva il tessuto di ossigeno e substrati (26). E' stato dimostrato che l'ischemia tissutale determina la produzione di radicali liberi (ROS), il deterioramento delle membrane, e il disaccoppiamento dalla catena di trasporto degli elettroni a livello mitocondriale, portando alla perdita della fosforilazione ossidativa. Questi eventi, alla fine, causano la morte cellulare. Le due condizioni cliniche critiche che derivano dall'ischemia sono l'infarto del miocardio e l'ictus cerebrale. L'ischemia del miocardio (deprivazione di ossigeno del tessuto cardiaco) deriva o da un aumento sproporzionato della richiesta d'ossigeno o dall'arresto del flusso ematico al tessuto cardiaco. Esso determina la formazione di tessuto infartuato (tessuto cicatriziale) che intacca la funzione cardiaca. Questo, in seguito, determina svariate disfunzioni, comprese le cardiomiopatie e il cuore congestizio, che sono le cause principali di morte negli Stati Uniti. L'ictus è la risposta del cervello alla privazione d'ossigeno. L'ictus emorragico è causato dalla rottura di un vaso sanguigno. Le placche aterosclerotiche sono state identificate come i fattori responsabili dello stabilirsi di un ictus. E' stato osservato che l'ictus tende a diventare di tipo emorragico se non trattato in tempo. L'ictus determina la morte dei neuroni dell'area ischemica, e - in relazione alla natura ed all'estensione del danno - le funzioni cerebrali e conseguentemente le varie funzioni dell'organismo, ne vengono intaccate. Lo stress ossidativo viene considerato il principale giocatore nei processi post ictali che determinano la morte dei neuroni (30, 61).

Il danno da riperfusione si verifica quando l'ossigeno è reintrodotta nell'area ischemica attraverso il ripristino della circolazione. Questa riperfusione di ossigeno innesca la produzione delle ROS che danneggiano il tessuto ischemico. Questa condizione, nonostante largamente osservata a livello del miocardio, si verifica in qualunque tessuto ischemico e poi riperfuso; ciò è normalmente osservato nel cervello dopo un ictus, e nel fegato (93), ed è di grande interesse nella chirurgia plastica e dei trapianti. Non esiste un consenso comune su come le ROS si formino dall'ossigeno dopo la riperfusione; tuttavia, sono stati proposti vari meccanismi (13, 20). Due dei più importanti includono il coinvolgimento della xantina ossidasi e la NAD(P)H ossidasi. Durante l'ischemia, la produzione e l'accumulo di un substrato porta alla formazione di ROS in presenza d'ossigeno, causando un esteso danno del tessuto, determinando l'apoptosi (65). Sono stati condotti degli studi sull'uso di antiossidanti e inibitori della xantina ossidasi (14, 77) per diminuire il danno ROS indotto nel tessuto post-ischemico- riperfuso. Un altro approccio è quello irrorare il cuore con sangue contenente una determinata quantità d'ossigeno in modo da minimizzare il danno ossigeno-mediato in seguito alla riperfusione con un fluido ricco di ossigeno. L'azione dei radicali liberi e, lo squilibrio degli enzimi antiossidanti nel cancro furono studiati da Oberley e Buettner (76), con particolare attenzione al ruolo del SOD che presenta un ruolo centrale nel cancro fin dal 1978, molto tempo prima che i termini "ROS" e "stress ossidativo" fossero introdotti nel linguaggio di questo campo.

	Malattia di Alzheimer	Morbo di Parkinson	Sclerosi amiotrofica laterale (ALS)
danno ossidativo del DNA	Sì	Sì	Sì
aumentati livelli di 8-OHdG	Sì	Sì	Sì
perossidazione lipidica	Sì	Sì	?
disfunzione mitocondriale	Sì	Sì	Sì
aumentati livelli di ferro nell'encefalo	?	Sì	Sì
Modificazione dell'attività del SOD	Sì	Sì	Sì
Aumento dei carbonili proteici	Sì	Sì	Sì

**Tabella 2. Contributo dello stress ossidativo ROS- mediato nelle patologie neurologiche**

Tokokuni e collaboratori, nel 1995 (104), hanno sviluppato l'ipotesi che lo stress ossidativo contribuisse con un ruolo ben preciso allo sviluppo del cancro. Da quel momento in poi, considerevoli progressi sono stati fatti nella comprensione del ruolo dei ROS e dello stress ossidativo nel cancro, nella crescita tumorale, e nella proliferazione cellulare (11, 16, 99, 106). E' stato dimostrato che il danno delle proteine, lipidi, e DNA sono associati al cancro. E' noto che bassi livelli d'ossigeno nel tumore influenzano la crescita del tumore attraverso angiogenesi (64), indotti da diversi geni, e i fattori di trascrizione come HIF-1 (42, 53, 66, 99, 108). Lo stress ossidativo influenza le metastasi tumorali mediante la diminuzione dell'adesione delle cellule alla lamina basale (52), l'aumento della migrazione cellulare (52), la modificazione della permeabilità vascolare (16), e l'attivazione delle metalloproteinasi di membrana (72, 73).

Lo stress ossidativo gioca un ruolo cruciale nelle patologie dell'occhio. La retinopatia nel pretermine è associata ad un'alta concentrazione d'ossigeno (iperossia) che causa la vascolarizzazione della retina durante gli anni successivi di vita (102). Tuttavia, è stato anche suggerito che altri fattori, inclusi la concentrazione di vitamina E nei prematuri, il peso alla nascita, la durata gestazionale, e l'esposizione alla luce, contribuiscano alla retinopatie nei nati prematuri. Sono stati proposti vari studi per studiare i valori di saturazione d'ossigeno più bassi (SpO<sub>2</sub>, 85-89%) come livelli più sicuri rispetto ai livelli SpO<sub>2</sub> (91-95%) attualmente usati per ridurre la gravità della retinopatia nel pretermine. (102). Vice versa, è stata suggerito che l'ipossia retinica sia un fattore che contribuisca alla neovascolarizzazione nelle retinopatie proliferative ischemiche, con particolare attenzione alle patologie diabetiche dell'occhio (97). E' stato dimostrato che la vitrectomia e la fotocoagulazione pan retinica - le due strategie terapeutiche - riducono o minimizzano efficacemente la neovascolarizzazione retinica diabetica attraverso il miglioramento dell'ossigenazione retinica. Ironicamente, lo stesso ossigeno molecolare ha due differenti personalità come (a) causa della retinopatie del pretermine a livelli elevati, e (b) miglioramento della retinopatia diabetica mediante un aumento dell'apporto d'ossigeno, laddove il primo richieda una riduzione della dose d'apporto d'ossigeno, e il secondo richieda un aumento dei livelli d'ossigeno.

Lo stress ossidativo è un importante fattore da essere considerato nei diabetici (6, 62, 69, 75), patologie renali (63), autismo (68), malattie dipendenti dall'età come l'artrite (57, 103), e molte altre malattie e disturbi. Questo richiede una completa conoscenza del meccanismo di regolazione della malattia da parte dello stress ossidativo e l'efficacia delle terapie allo stesso tempo.

## OSSIGENO, IPEROSSIA, E PATOLOGIE POLMONARI

E' sempre più evidente che l'ossigeno, soprattutto nello stato ipossico, giochi un ruolo di maggiore importanza in parecchie malattie/disturbi polmonari nell'uomo (9, 12, 27). Lo stress ossidativo mediato dai metabolici reattivi derivati dall'ossigeno (ROS) è stato riconosciuto come un fattore di inizio delle malattie polmonari indotte dall'ossigeno (82). Oltre alle ROS, si è dimostrato che anche le RNS partecipano alle malattie polmonari indotte da ossidazione, e i meccanismi di difesa antiossidanti sono considerati importanti nella protezione delle malattie polmonari mediate dallo stress ossidativo (27). Si è dimostrato che i sistemi di difesa antiossidanti, soprattutto il glutatione perossidasi sono stati identificati come regolatori upstream durante lo stress ossidativo nel polmone, che potrebbero rappresentare un importante fattore protettivo contro il danno polmonare mediato dall'ossidazione. Lo stress ossidativo è anche implicato nell'asma. Tra le difese antiossidanti, risposte adattative sono state identificate come giocatori importanti nella difesa contro l'asma indotta dall'ossidazione, che potrebbe anche fornire suggerimenti per identificare le strategie terapeutiche antiossidanti ed antiasmatiche (12). E' stata dimostrata un'associazione tra le proteine del complemento, la fagocitosi, i ROS, e la fisiopatologia nelle malattie polmonari (asma, sindrome da stress polmonare acuto, ARDS) (87).

La tossicità dell'ossigeno nel polmone è associata all'influsso delle cellule infiammatorie fagocitiche nel polmone, aumento dell'espressione delle citochine, e la regolazione del danno polmonare acuto indotto da iperossia, che potrebbe offrire dei suggerimenti per lo sviluppo della tossicità polmonare dell'ossigeno (9). I meccanismi di segnali nell'epitelio polmonare gioca un ruolo cruciale nelle malattie polmonari mediate dall'ossidazione, compresa l'asma, la fibrosi cistica, la bronchite, e la malattia ostruttiva cronica del polmone (COPD) (71). Le proteine chinasi attivate dai fitogeni (MAPK) sono state riconosciute come importanti interruttori di segnale nelle malattie polmonari mediate dall'ossidazione e come possibili bersagli dell'intervento farmacologico in tali condizioni patologiche. Dal momento che le cellule infiammatorie producono e rilasciano i ROS, sia l'infiammazione che il cancro del polmone sembrano strettamente connessi allo stress ossidativo che induce l'attivazione delle proteasi e il danno del DNA (96). L'attivazione dell'ossigeno in ROS e RNS e la loro susseguente partecipazione di questi metaboliti altamente reattivi nel COPD e nelle malattie respiratorie mediate dallo stress ossidativo, sono stati messi in evidenza (32). Il fattore nucleare, il fattore 2 eritroide 2- correlato (Nrf 2), un fattore di trascrizione appartenente alla famiglia di fattori di trascrizione (CNC-bZIP), attiva i mediatori protettivi antiossidanti che sono con ogni probabilità i candidati terapeutici della sindrome acuta da stress respiratorio, fibrosi polmonare, cancro del polmone, ed enfisema, nei quali allo stress ossidativo è stato riconosciuto un ruolo cruciale. In conclusione, è divenuto molto chiaro che l'ossigeno è un giocatore critico nel danno e nelle patologie polmonari mediate dallo stress ossidativo.

## OSSIGENO, STRESS OSSIDATIVO, E TOSSICITÀ AMBIENTALE

E' stata dimostrata la tossicità dell'ossigeno in condizioni tossicologiche in diversi sistemi in vivo, laddove i ROS inducono il danno a livello molecolare, subcellulare, cellulare, e d'organo. La produzione dei ROS indotta dalla radiazione ionizzante e associata a stress e danno ossidativo sono ben dimostrati. Gli inquinanti ambientali [inquinanti gassosi, comprendenti il diossido di solfuro e gli ossidi di nitrogeno, l'ozono, i metalli pesanti e le polveri di metallo, i contaminanti biologici come i pollini, batteri, tossine, spore, funghi, la rabbia e virus animali, chimici agricoli, idrocarburi policiclici aromatici, composti organici, volatili, solventi e particolato urbano (PM), fibre, e gas di scarico del diesel], dopo il loro ingresso nell'organismo, inducono la formazione di ROS a partire dall'ossigeno molecolare attraverso reazioni enzimatiche in un ambiente ricco di metalli o attraverso la formazione metabolica per mezzo delle biotrasformazioni (fig. 6). La via d'ingresso nell'organismo è un fattore critico nell'induzione dello stress ossidativo. L'inalazione di sostanze tossiche nell'aria si è dimostrata causa di stress ossidativo attraverso la formazione di ROS nel tratto respiratorio, polmoni, ed altri tessuti. E' stato dimostrato che l'ingestione o l'assorbimento dietetico o dermico di diversi composti chimici tossici causano lo stress ossidativo in vari organi. Lo stress ossidativo a livello cellulare comporta la perossidazione dei lipidi di membrana ROS/RNS mediata, alterazioni tiolo-redox, alterazioni delle attività enzimatiche e danno del DNA, i quali determinano danno tissutale e perdita della normale funzione fisiologica degli organi. Parecchie importanti reazioni a catena a livello cellulare sono stati dimostrati essere la causa degli danni tossici dopo il loro ingresso. Gli inquinanti gassosi (ossidi di nitrogeno, monossido di carbonio, biossido di carbonio, idrogeno solforoso, e ossidi di zolfo), insieme all'ossigeno molecolare, hanno un profondo impatto i sistemi cellulari, molecolari, e biochimici mediate la regolazione della formazione dei radicali liberi, ROS e RNS, che causano gravi danni

nell'organismo (81). E' stato dimostrato che il ciclo redox nei sistemi biologici, incluso l'uomo, gioca un ruolo importante nella tossicità degli inquinanti ambientali dopo il loro ingresso nell'organismo. Il metabolismo redox è stato preso in causa nella formazione dei ROS attraverso la catalisi NADPH- citocromo P450 riduttasi ed è associato al danno del DNA durante il trattamento con gas di scarico articolato del diesel (51). Il metabolismo redox catalizzato dai flavonoidi dei metaboliti del 2,4,6- trinitrotoluene (TNT) nella citotossicità TNT è stato messo in evidenza (86). E' stato dimostrato che l'erbicida ad ampio uso bipiridilum, paraquato, mostra la sua tossicità negli animali e nell'uomo attraverso la produzione di superossido mediato dal metabolismo redox(40). In conclusione, dovrebbe essere messo in evidenza che lo status dell'ossigeno del sistema è molto critico durante il metabolismo redox dei composti chimici ambientali a causa dei loro effetti dannosi mediati dalla formazione di ROS e stress ossidativo. L'inquinamento atmosferico da parte di gas nocivi e metalli pesanti è causa di effetti dannosi della salute, comprese le malattie e i disordini respiratori, tra gli abitanti dei centri urbani nei paesi industrializzati (91).

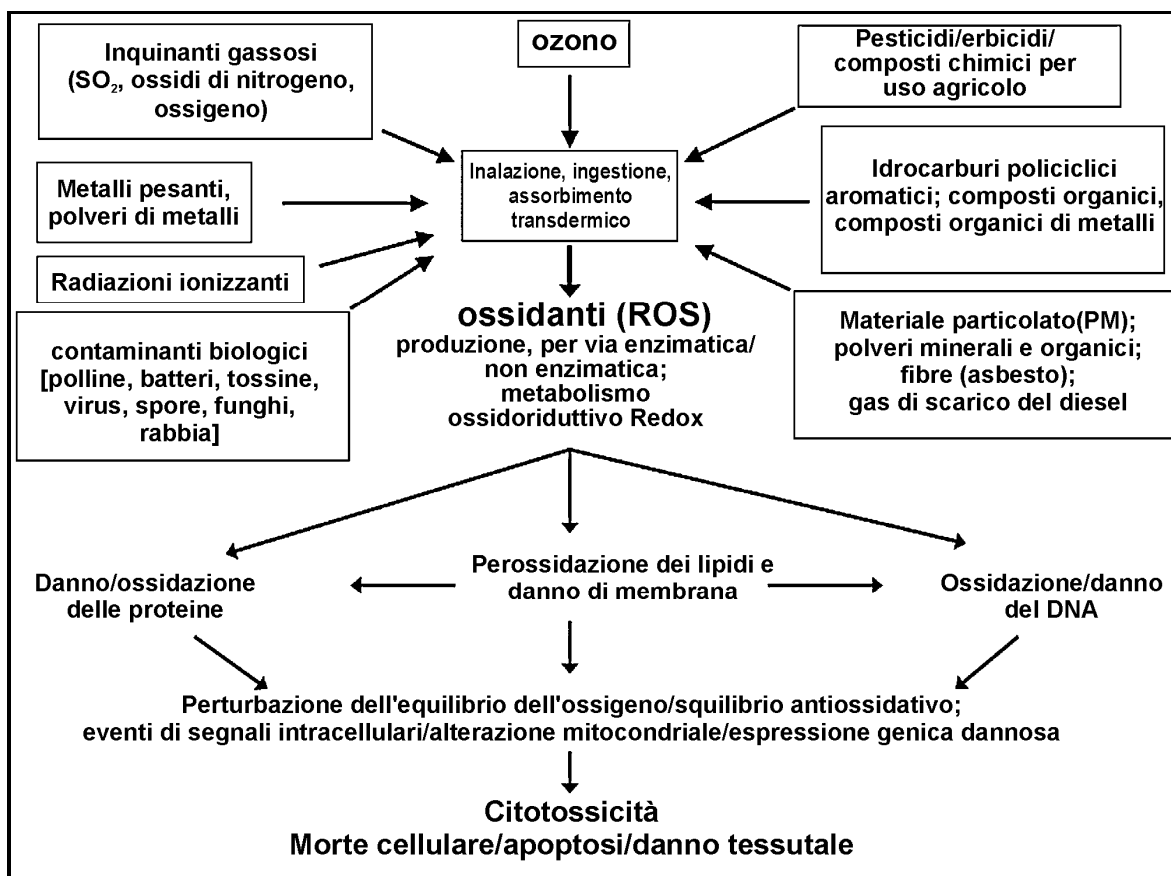


fig .6. Tossicità dei composti chimici ambientali mediata dalla produzione delle ROS e dallo stress ossidativo

E' stato dimostrato che l'asma è associata agli inquinanti atmosferici compresi il particolato (PM) e l'ozono; la suscettibilità genetica individuale ed i sistemi di difesa antiossidanti giocano un ruolo fondamentale (67). Gli inquinanti atmosferici PM (2,5-10µm) nell'aria sono note come tossine aeree ambientali associate alla mortalità e morbilità cardiopolmonare negli Stati Uniti e nelle città industrializzate del mondo (101). E' stato dimostrato che i PM atmosferici inducono la formazione di ROS e stress ossidativo nelle vie respiratorie, causando infiammazione polmonare. E' stato inoltre messo in evidenza che i PM nell'aria esacerbano l'infiammazione polmonare negli individui affetti da asma e COPD(101). L'analisi del PM urbano ha rivelato la presenza di materiali biologici (pollini e batteri), composti organici, idrocarburi, ioni, acidi, gas, e metalli di transizione assorbiti ad un nucleo di carbonio (101). E' stato provato che i PM inalabili causano la formazione di ROS ed inducono uno stress ossidativo e danno ossidativo. E' stato dimostrato che l'inalazione di particolato dall'ambiente o per esposizione professionale aumenta il rischio di cancro al polmone, probabilmente a causa della produzione di ROS particolato-indotto ed associata genotossicità (49). L'esposizione ambientale alla 2,3,7,8,-tetraclorodibenzo-p-diossina ed altri idrocarburi alogenati piani è causa di embriotossicità cardiovascolare (38).

L'analisi tramite risonanza magnetica elettronica ha rivelato la formazione di ROS indotto da PM atmosferici inalabili che catalizzano mediante i metalli di transizione e il ciclo redox chinone che comprende le reazioni di Fenton (105). Il PM atmosferico ultrafine (<0.1  $\mu\text{m}$ ) ha assunto una grande importanza negli ultimi anni come un grave inquinante atmosferico nei centri urbani, che epidemiologicamente risulta associato a maggiori rischi di ischemia miocardica, aritmia cardiaca, ipertensione, bradicardia, infiammazione, e trombosi (31). Nonostante gli esperimenti su animali e i dati epidemiologici suggeriscano una forte correlazione tra l'inquinamento atmosferico ambientale di PM e le malattie/tossicità cardiopolmonari e cardiovascolari, devono ancora essere identificate e stabilite le specie chimiche del PM responsabili ed i precisi meccanismi sottostanti (8). Non di meno, sta emergendo il coinvolgimento dell'ossigeno molecolare e i ROS nelle malattie/tossicità cardiopolmonari e cardiovascolari.

## OSSIGENOTERAPIA

L'ossigeno può essere usato come agente terapeutico per assistere al recupero di alcune condizioni che erano associate ad insufficienza d'ossigeno (fig.7). L'ossigeno può essere somministrato con due modalità: tramite ossigenoterapia supplementare od ossigenoterapia iperbarica, a seconda dei casi. Nell'ossigenoterapia supplementare, al paziente viene somministrato ossigeno per inalazione al fine di combattere l'insufficienza d'ossigeno nel sangue/tessuti. La terapia può essere applicata a breve termine per il recupero da alcune condizioni o a lungo termine per alcune patologie croniche respiratorie. L'ossigeno viene somministrato o attraverso un impianto di concentrazione o come gas compresso o da una sorgente liquida di ossigeno. Questa terapia aiuta ad aumentare i livelli di ossigeno arterioso e quindi ad alleviare gli effetti dannosi delle condizioni d'ipossia. Esso migliora il sonno, riduce la dispnea, e diminuisce il rischio di arresto cardiaco nei pazienti con gravi problemi respiratori. L'ossigenoterapia è utile in condizioni come asma, COPD(41), enfisema, bronchiti, cancro del polmone, fibrosi cistica, ipertensione polmonare (58) ed insufficienza cardiaca congestizia. L'ossigeno è anche utilizzato per resuscitare dei neonati, ma esistono controversie sulla necessità e la frequenza con cui debba essere utilizzato l'ossigeno (28, 88). Cilindri trasportabili di ossigeno sono usati come ausilio durante attività fisiche, quali le scalate di alta montagna (per l'ipossia ad elevate altitudini) e per immersioni profonde.

Un altro tipo di terapia con l'ossigeno è l'ossigenoterapia iperbarica (HBO). Nella HBO, al paziente viene somministrato ossigeno al 100% ad valori di pressione di >1atm., che aiuta a superare l'ipossia diminuendo il livello di ossigeno disciolto nel plasma. Di conseguenza, esso è indicato in molte condizioni che presentino complicanze ipossiche come nei casi di embolia gassosa, avvelenamento da monossido di carbonio, riparazione di ferite, malattia da decompressione rapida. La HBO aiuta la riparazione di ferite mediante la diminuzione dell'edema per vasocostrizione, l'uccisione di batteri, e promuovendo l'angiogenesi (15, 37). Esso viene inoltre usato nel trattamento delle ulcere del piede diabetico (45). Lo HBO si è anche dimostrato utile come terapia adiuvante nel trattamento dei tumori con radioterapia, chemioterapia, e fototerapia (3). La maggior parte di questi vantaggi derivano dalla diminuzione dell'ipossia nei tumori. L'uso della HBO nel trattamento dell'avvelenamento da monossido di carbonio, ustioni, lesioni da schiacciamento deve essere ancora valutato (89). Un'altra indicazione della HBO è la malattia da decompressione (37).

Da osservazioni sperimentali e cliniche, è sempre più evidente che il trauma cranico ed il metabolismo aerobico siano correlati (4). Il danno nell'apporto d'ossigeno e la susseguente disfunzione mitocondriale nel cervello dovuto all'ipossia sono stati individuati come ruoli critici nel danno cerebrale da trauma. Questa situazione si verifica a causa dell'ipossia arteriosa o diminuzione dell'apporto sanguigno, o entrambi (4), che conduce anche al 80-90% di mortalità in questi pazienti. Le strategie terapeutiche, incluso l'aumento della pressione di perfusione cerebrale, l'aumento della  $p\text{O}_2$  arteriosa (ossigeno iperbarico), e l'iperossia a pressione atmosferica sono state sviluppate per migliorare il metabolismo ossidativo nell'encefalo traumatizzato. Di questi, l'iperossia normobarica è stata messa in evidenza come scelta terapeutica per salvare l'encefalo da danni traumatici (4).

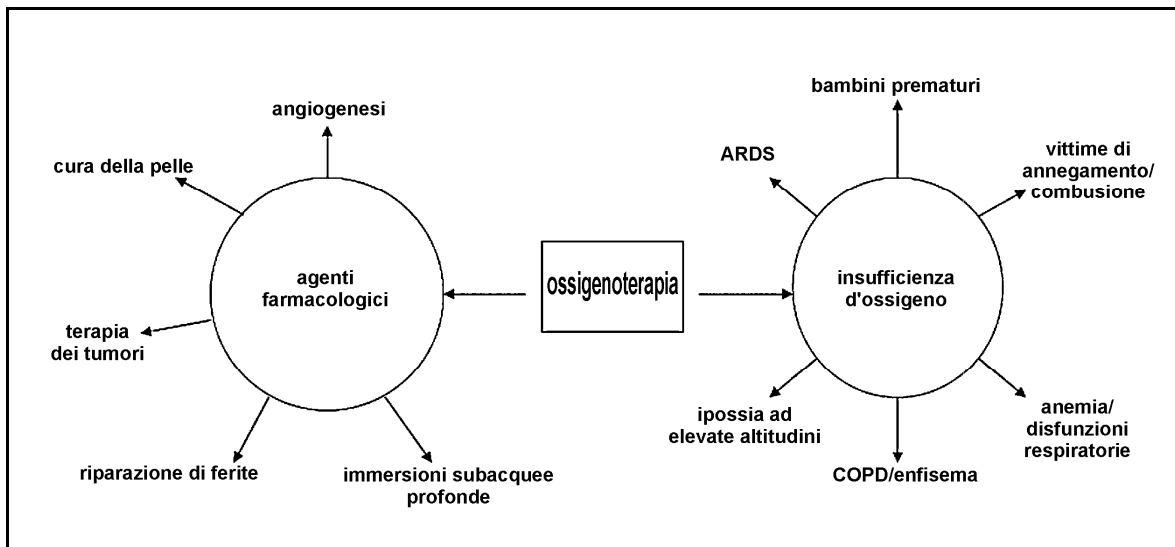
E' stato notato che durante la transizione dal sonno NON REM al sonno REM, vi è un aumento del flusso sanguigno cerebrale e dell'apporto di glucosio al cervello con diminuzione dell'aumento dell'influsso d'ossigeno (59). Questo ha suggerito che la diffusione dell'ossigeno sia limitata in questa condizione, il che è anche sostenuto dalle osservazioni delle regioni ipossiche nell'encefalo dovute a ipossia a livello capillare microregionale e susseguente glicolisi anaerobica. L'ipossia riduce notevolmente la durata del sonno REM, laddove l'iperossia l'aumenti; di conseguenza, una diminuzione della  $p\text{O}_2$  arteriosa o del trasporto di ossigeno o di entrambi divengono una minaccia nel sonno REM in condizioni patologiche (59). Per questo motivo, diviene sempre più evidente come l'ossigenazione del sangue e dell'encefalo, in un modo associato, regoli gli schemi del sonno nell'essere umano.

L'essere umano, durante l'esposizione ad elevate altitudini, si trova ad affrontare ipossia da elevata altitudine, e nonostante le differenze genetiche che esistono tra gli individui è stato osservato un adattamento all'ipossia cronica da elevata altitudine (34). Anche se viene utilizzato un supplemento temporaneo d'ossigeno per l'ipossia di montagna, il meccanismo molecolare dell'adattamento ipossico - che interessa le regolazioni epigenetiche come lo stato antiossidante, la trascrizione, la traduzione, e le modificazioni post-traslative - si svolge comunque nell'uomo che si avventura in spedizioni ad elevate altitudini.

La COPD è strettamente associato alla produzione di ossidanti, stress ossidativo, ed infiammazione (82). Lo stress ossidativo durante la COPD conduce all'inattivazione delle antiproteasi, in attivazione dei surfattanti, eccessiva secrezione mucosa, deterioramento ossidativo dei lipidi di membrana, danno epiteliale del polmone, alterazioni della matrice extracellulare, e morte cellulare per apoptosi. Sono state proposte alcune strategie terapeutiche che comprendono la somministrazione di antiossidanti per trattare la COPD. Tuttavia, è stato oggetto di dibattito se trattare i pazienti con COPD tramite maschere ad ossigeno al 28%, quali quelle usate dai paramedici, che potrebbero esacerbare la condizione iperossica nei pazienti con iperossigenazione (74).

Anche la fagocitosi dei batteri da parte dei leucociti e la sintesi del collagene utilizzano l'ossigeno molecolare come un importante substrato (24). Immediatamente dopo l'intervento chirurgico, durante il periodo post-operatorio (a causa di diversi fattori come l'ipoventilazione conseguente alla depressione farmacologica, l'ipossia, e il tremore indotto dall'aumento del metabolismo), la somministrazione dell'ossigeno ambientale non è sufficiente; per questo motivo, è raccomandato un supplemento di ossigeno peri-operatorio per un miglior recupero del paziente.

L'importanza dell'ossigeno nella guarigione di ferite diventa sempre più evidente. E' stata messa in evidenza l'azione reciproca dell'ipossia e dell'iperossia nella riparazione di ferite cutanee in modelli animali sperimentali (100). Per la riparazione di ferite cutanee, è raccomandata una combinazione di fattori di crescita ed ossigeno molecolare. L'importante ruolo dell'HIF-1 in tale combinazione nella terapie delle ferite cutanee è stato oggetto di particolare interesse. L'uso d'ossigeno non è privo però di complicanze; esistono infatti studi sulle complicanze nelle ossigenoterapie a breve termine (21) e nelle terapie iperbariche (37). Questo deve portare ad un uso prudente dell'ossigeno in terapia.



*fig .7. Utilizzo dell'ossigeno in terapia*

## CONCLUSIONI

E' stato inequivocabilmente stabilito come l'ossigeno molecolare sia un elemento assolutamente necessario per la sopravvivenza delle forme di vita aerobiche, inclusa quella umana. Nonostante l'ossigeno sia uno degli ingredienti più importanti nella produzione di energia utilizzabile (ATP), il trasporto d'ossigeno, l'ossigenazione cellulare, ed il rilevamento dell'ossigeno sono fenomeni cruciali nella regolazione della fosforilazione ossidativa mitocondriale. A parte la sua partecipazione nella produzione di ATP, l'ossigeno molecolare può anche essere trasformato in ROS altamente reattive, che giocano un ruolo utile nelle normali funzioni fisiologiche oppure possono risultare dannose per l'organismo, a seconda dell'equilibrio ossidanti-antiossidanti. I livelli dell'ossigenazione cellulare e tissutale sono strettamente controllati dal consumo cellulare d'ossigeno, dai complessi segnali del sistema sentore d'ossigeno, ed dal trasporto dell'ossigeno; mantengono inoltre lo stato normale della fosforilazione ossidativa. In condizioni di cambiamento degli stati ossigenativi tissutali e cellulari (ipossia e iperossia), l'ossigeno molecolare si allontana e viene trasformato in ROS, che sono dannose per l'omeostasi fisiologica. Questo fenomeno anormale si riscontra spesso in una pletera di condizioni fisiopatologiche e malattie. Un'ampia comprensione del comportamento dell'ossigeno molecolare ai diversi livelli di ossigenazione, trasporto, sensori, fosforilazione ossidativa, e la produzione di ROS nelle normali condizioni fisiologiche e in condizioni fiso patologiche, offrirà certamente un miglioramento delle strategie terapeutici di gravi disturbi e malattie nel quale l'ossigeno gioca un ruolo principale.

## ABBREVIAZIONI

ALS, sclerosi amiotrofica laterale;  
ARDS sindrome da stress respiratorio acuto;  
COPD, malattia da ostruzione polmonare cronica;  
ETS, catena di trasporto degli elettroni;  
HBO, ossigeno iperbarico;  
HIF, fattore ipossia -indotto;  
LDL, lipoproteine a bassa densità;  
MAPK, proteinchinasi fitogeno-attivate;  
NO, ossido nitrico;  
NOS, ossido nitrico sintetasi;  
NREM movimento oculare non rapido;  
PM, materia articolata;  
RBC, globuli rossi;  
REM movimento oculare rapido;  
RNS, specie reattive del nitrogene;  
ROS, specie reattive dell'ossigeno;  
SOD, superossido dismutasi;  
TNT, 2, 4, 6,- trinitrotoluene.

## REFERENZE

1. Abou-Sleiman PM, Muqit MM, and Wood NW. Expanding insights of mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 7: 207–219, 2006.
2. Acker T and Acker H. Cellular oxygen sensing need in CNS function: physiological and pathological implications. *J Exp Biol* 207: 3171–3188, 2004.
3. Al-Waili NS, Butler GJ, Beale J, Hamilton RW, Lee BY, and Lucas P. Hyperbaric oxygen and malignancies: a potential role in radiotherapy, chemotherapy, tumor surgery and phototherapy. *Med Sci Monit* 11: RA279–R289, 2005.
4. Alves OL, Daugherty WP, and Rios M. Arterial hyperoxia in severe head injury: a useful or harmful option? *Curr Pharm Des* 10: 2163–2176, 2004.
5. Baas AS and Berk BC. Differential activation of mitogen-activated protein kinases by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 77: 29–36, 1995.
6. Baynes JW and Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 48: 1–9, 1999.
7. Bell EL, Emerling BM, and Chandel NS. Mitochondrial regulation of oxygen sensing. *Mitochondrion* 5: 322–332, 2005.
8. Bernstein JA, Alexis N, Barnes C, Bernstein IL, Bernstein JA, Nel A, Peden D, Diaz-Sanchez D, Tarlo SM, and Williams PB. Health effects of air pollution. *J Allergy Clin Immunol* 114: 1116–1123, 2004.
9. Bhandari V and Elias JA. Cytokines in tolerance to hyperoxia-induced injury in the developing and adult lung. *Free Radic Biol Med* 41: 4–18, 2006.
10. Blokhina O, Virolainen E, and Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot (Lond)* 91(spec no): 179–194, 2003.
11. Bottaro DP and Liotta LA. Cancer: out of air is not out of action. *Nature* 423: 593–595, 2003.
12. Bowler RP. Oxidative stress in the pathogenesis of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 4: 116–122, 2004.
13. Brems JJ. Ischemia-reperfusion: putting the pieces of the puzzle together. *Crit Care Med* 34: 1570–1571, 2006.
14. Brigelius-Flohe R, Kluth D, and Banning A. Is there a future for antioxidants in atherogenesis? *Mol Nutr Food Res* 49: 1083–1089, 2005.
15. Broussard CL. Hyperbaric oxygenation and wound healing. *J Vasc Nurs* 22: 42–48, 2004.
16. Brown NS and Bicknell R. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer: oxidative stress: its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. *Breast Cancer Res* 3: 323–327, 2001.
17. Buchwald H, Menchaca HJ, Michalek VN, Rohde TD, Hunninghake DB, and O'Dea TJ. Plasma cholesterol: an influencing factor in red blood cell oxygen release and cellular oxygen availability. *J Am Coll Surg* 191: 490–497, 2000.
18. Buchwald H, O'Dea TJ, Menchaca HJ, Michalek VN, and Rohde TD. Effect of plasma cholesterol on red blood cell oxygen transport. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27: 951–955, 2000.
19. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VG, and Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in cells and thereby their biological state. *Free Radic Biol Med* 41: 1338–1350, 2006.
20. Burlacu A, Jinga V, Gafencu AV, and Simionescu M. Severity of oxidative stress generates different mechanisms of endothelial cell death. *Cell Tissue Res* 306: 409–416, 2001.
21. Carpagano GE, Kharitonov SA, Foschino-Barbaro MP, Resta O, Gramiccioni E, and Barnes PJ. Supplementary oxygen in healthy subjects and those with COPD increases oxidative stress and air way inflammation. *Thorax* 59: 1016–1019, 2004.

22. Ceconi C, Boraso A, Cargnoni A, and Ferrari R. Oxidative stress in cardiovascular disease: myth or fact? *Arch Biochem Biophys* 420: 217–221, 2003.
23. Cherniack NS. Oxygen sensing: applications in humans. *J Appl Physiol* 96: 352–358, 2004.
24. Chikungwa MT and Jonsson K. The need for peri-operative supplemental oxygen. *Cent Afr J Med* 48: 72–74, 2002.
25. Chowdhury AK, Watkins T, Parinandi NL, Saatian B, Kleinberg ME, Usatyuk PV, and Natarajan V. Src-mediated tyrosine phosphorylation of p47phox in hyperoxia-induced activation of NADPH oxidase and generation of reactive oxygen species in lung endothelial cells. *J Biol Chem* 280: 20700–20711, 2005.
26. Clarkson AN, Sutherland BA, and Appleton I. The biology and pathology of hypoxia-ischemia: an update. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 53: 213–225, 2005.
27. Comhair SA and Erzurum SC. Antioxidant responses to oxidant mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283: L246–L255, 2002.
28. Corff KE and McCann DL. Room air resuscitation versus oxygen resuscitation in the delivery room. *J Perinat Neonatal Nurs* 19: 379–390, 2005.
29. Coyle JT and Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 262: 689–695, 1993.
30. Crack PJ and Taylor JM. Reactive oxygen species and the modulation of stroke. *Free Radic Biol Med* 38: 1433–1444, 2005.
31. Delfino RJ, Sioutas C, and Malik S. Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particle mass and cardiovascular health. *Environ Health Perspect* 113: 934–946, 2005.
32. Domej W, Foldes-Papp Z, Flogel E, and Haditsch B. Chronic obstructive pulmonary disease and oxidative stress. *Curr Pharm Biotechnol* 7: 117–123, 2006.
33. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47–95, 2002.
34. Foldes-Papp Z, Domej W, Demel U, and Tilz GP. Oxidative stress caused by acute and chronic exposition to altitude. *Wien Med Wochenschr* 155: 136–142, 2005.
35. Forster RE and Estabrook RW. Is oxygen an essential nutrient? *Annu Rev Nutr* 13: 383–403, 1993.
36. Freeman BA. Oxygen: the air-borne nutrient that both sustains and threatens life. *Nutrition* 16: 478–480, 2000.
37. Gill AL and Bell CN. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. *QJM* 97: 385–395, 2004.
38. Goldstone HM and Stegeman JJ. Molecular mechanisms of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin cardiovascular embryotoxicity. *Drug Metab Rev* 38: 261–289, 2006.
39. Groves JT. The bioinorganic chemistry of iron in oxygenases and supramolecular assemblies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 3569–3574, 2003.
40. Han JF, Wang SL, He XY, Liu CY, and Hong JY. Effect of genetic variation on human cytochrome p450 reductase-mediated paraquat cytotoxicity. *Toxicol Sci* 91: 42–48, 2006.
41. Hanania NA, Ambrosino N, Calverley P, Cazzola M, Donner CF, and Make B. Treatments for COPD. *Respir Med* 99(suppl B): S28–S40, 2005.
42. Harris AL. Hypoxia: a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2: 38–47, 2002.
43. Heck DE, Kagan VE, Shvedova AA, and Laskin JD. An epigrammatic (abridged) recounting of the myriad tales of astonishing deeds and dire consequences pertaining to nitric oxide and reactive oxygen species in mitochondria with an ancillary missive concerning the origins of apoptosis. *Toxicology* 208: 259–271, 2005.
44. Heistad DD. Oxidative stress and vascular disease: 2005 Duff lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26: 689–695, 2006.

45. Heyneman CA and Lawless-Liday C. Using hyperbaric oxygen to treat diabetic foot ulcers: safety and effectiveness. *Crit Care Nurse* 22: 52–60, 2002.
46. Hockel M and Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 93: 266–276, 2001.
47. Hoshi T and Lahiri S. Cell biology: oxygen sensing: It's a gas! *Science* 306: 2050–2051, 2004.
48. Khan N, Shen J, Chang TY, Chang CC, Fung PC, Grinberg O, Demidenko E, and Swartz H. Plasma membrane cholesterol: a possible barrier to intracellular oxygen in normal and mutant CHO cells defective in cholesterol metabolism. *Biochemistry* 42: 23–29, 2003.
49. Knaapen AM, Borm PJ, Albrecht C, and Schins RP. Inhaled particles and lung cancer, part A: mechanisms. *Int J Cancer* 109: 799–809, 2004.
50. Kuhn DE, Roy S, Radtke J, Khanna S, and Sen CK. Laser microdissection and capture of pure cardiomyocytes and fibroblasts from infarcted heart regions: perceived hyperoxia induces p21 in peri-infarct myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H1245–H1253, 2007.
51. Kumagai Y, Arimoto T, Shinyashiki M, Shimojo N, Nakai Y, Yoshikawa T, and Sagai M. Generation of reactive oxygen species during interaction of diesel exhaust particle components with NADPH-cytochrome P450 reductase and involvement of the bioactivation in the DNA damage. *Free Radic Biol Med* 22: 479–487, 1997.
52. Kundu N, Zhang S, and Fulton AM. Sublethal oxidative stress inhibits tumor cell adhesion and enhances experimental metastasis of murine mammary carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 13: 16–22, 1995.
53. Kung AL, Wang S, Klco JM, Kaelin WG, and Livingston DM. Suppression of tumor growth through disruption of hypoxia-inducible transcription. *Nat Med* 6: 1335–1340, 2000.
54. Lahiri S, Roy A, Baby SM, Hoshi T, Semenza GL, and Prabhakar NR. Oxygen sensing in the body. *Prog Biophys Mol Biol* 91: 249–286, 2006.
55. Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J* 11: 118–124, 1997.
56. Lane N. *Oxygen: the molecule that made the world*. Oxford: Oxford University Press, 2002.
57. Lavrovsky Y, Chatterjee B, Clark RA, and Roy AK. Role of redox-regulated transcription factors in inflammation, aging and age-related diseases. *Exp Gerontol* 35: 521–532, 2000.
58. Lee SH and Rubin LJ. Current treatment strategies for pulmonary arterial hypertension. *J Intern Med* 258: 199–215, 2005.
59. Lenzi P, Zoccoli G, Walker AM, and Franzini C. Cerebral circulation in REM sleep: is oxygen a main regulating factor? *Sleep Res Online* 3: 77–85, 2000.
60. Mandelker L. The natural activities of cells: the role of reactive oxygen species, and their relation to antioxidants, nutraceuticals, botanicals, and other biologic therapies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 34: 39–66, 2004.
61. Mariani E, Polidori MC, Cherubini A, and Mecocci P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 827: 65–75, 2005.
62. Maritim AC, Sanders RA, and Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 17: 24–38, 2003.
63. Martin CJ and Goeddeke-Merickel CM. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Nephrol Nurs J* 32: 683–685, 2005.
64. Maulik N and Das DK. Redox signaling in vascular angiogenesis. *Free Radic Biol Med* 33: 1047–1060, 2002.
65. Maulik N, Yoshida T, and Das DK. Oxidative stress developed during the reperfusion of ischemic myocardium induces apoptosis. *Free Radic Biol Med* 24: 869–875, 1998.
66. Maxwell PH, Dachs GU, Gleadle JM, Nicholls LG, Harris AL, Stratford IJ, Hankinson O, Pugh CW, and Ratcliffe PJ. Hypoxia inducible factor-1 modulates gene expression in solid tumors and influences both angiogenesis and tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 8104–8109, 1997.

67. McCunney RJ. Asthma, genes, and air pollution. *J Occup Environ Med* 47: 1285–1291, 2005.
68. McGinnis WR. Oxidative stress in autism. *Altern Ther Health Med* 10: 22–36; quiz 37, 92, 2004
69. Mehta JL, Rasouli N, Sinha AK, and Molavi B. Oxidative stress in diabetes: a mechanistic overview of its effects on atherogenesis and myocardial dysfunction. *Int J Biochem Cell Biol* 38: 794–803, 2006.
70. Moldovan L and Moldovan NI. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochem Cell Biol* 122: 395–412, 2004.
71. Mossman BT, Lounsbury KM, and Reddy SP. Oxidants and signaling by mitogen-activated protein kinases in lung epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 34: 666–669, 2006.
72. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, and Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol* 18: 1135–1149, 2000.
73. Nelson KK and Melendez JA. Mitochondrial redox control of matrix metalloproteinases. *Free Radic Biol Med* 37: 768–784, 2004.
74. New A. Oxygen: kill or cure? prehospital hyperoxia in the COPD patient. *Emerg Med J* 23: 144–146, 2006.
75. Niedowicz DM and Daleke DL. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochem Biophys* 43: 289–330, 2005.
76. Oberley LW and Buettner GR. Role of superoxide dismutase in cancer: a review. *Cancer Res* 39: 1141–1149, 1979.
77. Pacher P, Nivorozhkin A, and Szabo C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol Rev* 58: 87–114, 2006.
78. Parinandi NL, Kleinberg MA, Usatyuk PV, Cummings RJ, Pennathur A, Cardounel AJ, Zweier JL, Garcia JG, and Natarajan V. Hyperoxia-induced NAD(P)H oxidase activation and regulation by MAP kinases in human lung endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 284: L26–L38, 2003
79. Pennathur S, Bergt C, Shao B, Byun J, Kassim SY, Singh P, Green PS, McDonald TO, Brunzell J, Chait A, Oram JF, O'Brien K, Geary RL, and Heinecke JW. Human atherosclerotic intima and blood of patients with established coronary artery disease contain high density lipoprotein damaged by reactive nitrogen species. *J Biol Chem* 279: 42977–42983, 2004.
80. Prabhakar NR. Oxygen sensing by the carotid body chemoreceptors. *J Appl Physiol* 88: 2287–2295, 2000.
81. Pryor WA, Houk KN, Foote CS, Fukuto JM, Ignarro LJ, Squadrito GL, and Davies KJ. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291: R491–R511, 2006.
82. Rahman I and Kilty I. Antioxidant therapeutic targets in COPD. *Curr Drug Targets* 7: 707–720, 2006.
83. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 9: 526–533, 1995.
84. Roy S, Khanna S, Bickerstaff AA, Subramanian SV, Atalay M, Bierl M, Pendyala S, Levy D, Sharma N, Venojarvi M, Strauch A, Orosz CG, and Sen CK. Oxygen sensing by primary cardiac fibroblasts: a key role of p21(Waf1/Cip1/Sdi1). *Circ Res* 92: 264–271, 2003.
85. Roy S, Khanna S, Wallace WA, Lappalainen J, Rink C, Cardounel AJ, Zweier JL, and Sen CK. Characterization of perceived hyperoxia in isolated primary cardiac fibroblasts and in the reoxygenated heart. *J Biol Chem* 278: 47129–47135, 2003.
86. Sarlauskas J, Nemeikaite-Ceniene A, Anusevicius Z, Miseviciene L, Julvez MM, Medina M, Gomez-Moreno C, and Cenas N. Flavoenzyme-catalyzed redox cycling of hydroxylamino- and amino metabolites of 2,4,6-trinitrotoluene: implications for their cytotoxicity. *Arch Biochem Biophys* 425: 184–192, 2004.
87. Sarma VJ, Huber-Lang M, and Ward PA. Complement in lung disease. *Autoimmunity* 39: 387–394, 2006.
88. Saugstad OD. Oxygen for newborns: how much is too much? *J Perinatol* 25(suppl 2): S45–S49; discussion S50, 2005.

89. Saunders PJ. Hyperbaric oxygen therapy in the management of carbon monoxide poisoning, osteoradionecrosis, burns, skin grafts, and crush injury. *Int J Technol Assess Health Care* 19: 521–525, 2003.
90. Schumacker PT. Current paradigms in cellular oxygen sensing. *Adv Exp Med Biol* 543: 57–71, 2003.
91. Schwela D. Air pollution and health in urban areas. *Rev Environ Health* 15: 13–42, 2000.
92. Sen CK, Khanna S, and Roy S. Perceived hyperoxia: oxygen-induced remodeling of the reoxygenated heart. *Cardiovasc Res* 71: 280–288, 2006.
93. Serracino-Inglott F, Habib NA, and Mathie RT. Hepatic ischemiareperfusion injury. *Am J Surg* 181: 160–166, 2001.
94. Sieck GC. Oxygen sensing in health and disease. *J Appl Physiol* 96: 1–2, 2004.
95. Simonian NA and Coyle JT. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36: 83–106, 1996.
96. Smith CJ, Perfetti TA, and King JA. Perspectives on pulmonary inflammation and lung cancer risk in cigarette smokers. *Inhal Toxicol* 18: 667–677, 2006.
97. Stefansson E. Oxygen and diabetic eye disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 228: 120–123, 1990.
98. Stocker R and Keaney JF, Jr. New insights on oxidative stress in the artery wall. *J Thromb Haemost* 3: 1825–1834, 2005.
99. Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci* 10: 1881–1896, 2005.
100. Tandara AA and Mustoe TA. Oxygen in wound healing: more than a nutrient. *World J Surg* 28: 294–300, 2004.
101. Tao F, Gonzalez-Flecha B, and Kobzik L. Reactive oxygen species in pulmonary inflammation by ambient particulates. *Free Radic Biol Med* 35: 327–340, 2003.
102. Tasman W, Patz A, McNamara JA, Kaiser RS, Trese MT, and Smith BT. Retinopathy of prematurity: the life of a lifetime disease. *Am J Ophthalmol* 141: 167–174, 2006.
103. Taylor PC and Sivakumar B. Hypoxia and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 17: 293–298, 2005.
104. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, and Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett* 358: 1–3, 1995.
105. Valavanidis A, Fiotakis K, Bakeas E, and Vlahogianni T. Electron paramagnetic resonance study of the generation of reactive oxygen species catalysed by transition metals and quinoid redox cycling by inhalable ambient particulate matter. *Redox Rep* 10: 37–51, 2005.
106. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, and Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160: 1–40, 2006.
107. Winyard PG, Moody CJ, and Jacob C. Oxidative activation of antioxidant defence. *Trends Biochem Sci* 30: 453–461, 2005.
108. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, Buechler P, Isaacs WB, Semenza GL, and Simons JW. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 59: 5830–5835, 1999.

Per la richiesta di ristampe, si prega rivolgersi a:

N. Parinandi, Ph.D.  
Dorothy M. Davis Heart and Lung Research Institute  
Division of Pulmonary, Critical Care, Allergy, and Sleep Medicine  
The Ohio State University  
473 West 12th Avenue, Room 611-A  
Columbus, OH 43210  
E-mail: [parasimham.parinandi@osumc.edu](mailto:parasimham.parinandi@osumc.edu)

Data della prima comunicazione ad ARS Central: 27 aprile 2007; data dell'invio della versione finale revisionata: 7 maggio 2007; data di accettazione: 13 maggio 2007.