

STRESS OSSIDATIVO

Lo **stress ossidativo** è un concetto introdotto per la prima volta nella teoria di Denham Harman nel 1956, che indica una condizione patologica causata dalla rottura dell'equilibrio fisiologico, in un organismo vivente, fra la produzione e l'eliminazione, da parte dei sistemi di difesa antiossidanti, di specie chimiche ossidanti.

Secondo tale teoria, tutte le forme di vita mantengono un ambiente riducente entro le proprie cellule; l'ambiente cellulare redox è preservato da enzimi che mantengono lo stato ridotto attraverso un costante input di energia metabolica.

Eventuali disturbi in questo normale stato redox possono avere effetti tossici per la produzione di perossidi e radicali liberi che danneggiano tutti i componenti della cellula, incluse proteine, lipidi e DNA.

Le specie ossidanti e i radicali liberi svolgono importantissimi ruoli fisiologici, quali la difesa nei confronti dei batteri, la trasmissione dei segnali biochimici fra le cellule, il controllo della pressione arteriosa ecc.

E' solo il loro eccesso, generalmente riferito a una o più classi di ossidanti, a essere implicato nello stress ossidativo, oggi ritenuto associato a oltre cento patologie umane (quali: fibroplasia retrolenticolare, aterosclerosi, ipertensione arteriosa, malattia di Parkinson, malattia di Alzheimer, diabete mellito, colite, artrite reumatoide, favismo, ecc.), e potrebbe inoltre essere importante nel processo di invecchiamento.

Comunque, le specie reattive dell'ossigeno possono essere benefiche, come quando usate dal sistema immunitario come via per attaccare e uccidere patogeni e come una forma di comunicazione cellulare.

Le specie chimiche ossidanti possono:

- esibire o meno una natura radicalica, a seconda che possiedano o meno, rispettivamente, almeno un elettrone spaiato in uno degli orbitali più esterni;
- contenere atomi di vari elementi (ossigeno, carbonio, azoto, alogeni ecc.)

Quindi, i responsabili dello stress ossidativo non sono solo i radicali liberi dell'ossigeno.

Possono provocare questa patologia specie sia radicali che non radicali (come, ad esempio, l'anione superossido e il perossido d'idrogeno) o su altri elementi, quali lo zolfo (ad esempio il radicale tiile) o il cloro (ad esempio acido ipocloroso).

RADICALI LIBERI

In chimica, si definisce **radicale libero** un'entità molecolare molto reattiva avente vita media di norma brevissima, costituita da un atomo o una molecola formata da più atomi, che presenta un elettrone spaiato: tale elettrone rende il radicale estremamente reattivo, in grado di legarsi ad altri radicali o di sottrarre un elettrone ad altre molecole vicine.

I radicali giocano un ruolo importante in fenomeni come la combustione, la polimerizzazione e nella fotochimica, e molti altri processi chimici, compresi quelli che riguardano la fisiologia umana. In quest'ultimo caso il superossido e il monossido di azoto hanno una funzione importantissima nel regolare molti processi biologici, come il controllo del tono vascolare.

Il termine *radicale* e *radicale libero* sono spesso utilizzati con lo stesso significato. Il primo radicale libero stabile, il trifenilmetile, è stato individuato da Moses Gomberg nel 1900 all'Università del Michigan. Nonostante la loro reattività, la maggior parte di essi ha una vita sufficientemente lunga da permetterne l'osservazione tramite metodi spettroscopici. Si formano spontaneamente in natura o in laboratorio, per azione della luce o del calore in seguito alla scissione omolitica di un legame covalente.

Il concetto di "radicale" ricorda i concetti di "ione" e "gruppo funzionale"; di seguito vengono indicate le analogie e le differenze tra questi concetti:

- gli ioni e i radicali sono entità molecolari, mentre i gruppi funzionali non sono entità molecolari, benchè parti di altre entità molecolari (ad esempio parti di molecole);
- i radicali e gli ioni possono combinarsi con altre entità molecolari; i radicali sono più reattivi degli ioni, quindi si combinano più facilmente con altre entità molecolari, mentre per i gruppi funzionali non ha senso parlare di reattività ;
- i radicali sono entità molecolari neutre (escludendo il caso particolare degli ioni radicalici), mentre gli ioni sono entità molecolari cariche (positivamente o negativamente); per i singoli gruppi funzionali, essendo parte di un'entità molecolare, non è possibile invece definire una "carica";
- i radicali contengono un elettrone spaiato, mentre gli ioni possono avere l'ottetto completo (ad esempio Cl⁻) oppure no, mentre i gruppi funzionali, essendo parte di un'entità molecolare, possono avere solo elettroni condivisi;
- la funzione radicalica indica l'elettrone spaiato); gli ioni vengono accompagnati nella rappresentazione dal numero di cariche positive (indicate da un numero seguito dal simbolo "+" o da tanti segni "+" quanto sono le cariche positive) o negative (indicate da un numero seguito dal simbolo "-" o da tanti segni "-" quanto sono le cariche negative), mentre i gruppi funzionali sono rappresentati indicando i legami che presentano con il resto dell'entità molecolare.

Esistono inoltre particolari entità molecolari che hanno entrambe le proprietà caratteristiche degli ioni e dei radicali: tali entità molecolari sono dette "ioni radicalici". A parte il caso degli ioni radicalici, che sono dotati di carica (positiva o negativa), i radicali sono entità molecolari neutre.

Siccome il radicale presenta un elettrone spaiato, si potrebbe incorrere nell'errore di considerare il radicale come una entità molecolare carica negativamente.

Tale equivoco nasce nel momento in cui si pensa che il radicale derivi da una entità molecolare neutra a cui sia stato aggiunto un elettrone spaiato, per cui avrebbe carica negativa; in realtà il

radicale non nasce dall'aggiunta di un elettrone ad un'entità molecolare (come avviene invece nel caso della "ionizzazione" di entità molecolari neutre, che da luogo appunto a ioni), bensì dalla "scissione" di una entità molecolare neutra, quindi se l'entità molecolare di partenza è neutra, scindendosi in due parti distinte, darà origine a due radicali neutri: infatti se per assurdo una delle due entità molecolari fosse caricata negativamente, per la conservazione della carica, l'altra dovrebbe essere caricata positivamente, ma in quest'ultimo caso non si avrebbe più il meccanismo di "scissione omolitica" (da cui si originano i radicali), bensì "scissione eterolitica" (da cui si originano ioni).

Considerando un'entità molecolare neutra, in particolare una molecola biatomica A:B (dove i due punti rappresentano un legame singolo tra A e B), i meccanismi di scissione omolitica e eterolitica a cui può essere soggetta la molecola.

L'atomo di cloro presenta quindi 17 elettroni (2 elettroni nel livello 1, 8 elettroni nel livello 2 e 7 elettroni nel livello 3); l'atomo di cloro presenta inoltre 17 protoni e un numero variabile di neutroni (18, 19 o 20), a seconda dell'isotopo considerato. Siccome il numero di elettroni in un atomo di cloro è pari al numero di protoni (come per tutti gli altri elementi chimici), l'atomo di cloro ha carica neutra. Nonostante l'atomo di cloro abbia carica neutra, esso però presenta un "elettrone spaiato", in quanto per raggiungere l'ottetto ha bisogno di formare un legame singolo con un altro atomo.

Una molecola di cloro Cl₂ può dare luogo per scissione omolitica a due radicali. I radicali sono comunque in genere entità molecolari molto reattive e quindi a vita corta. Esistono però radicali a vita lunga, che si possono categorizzare nel modo seguente:

il primo esempio di radicale stabile è l'ossigeno molecolare. I radicali organici possono avere vita lunga se fanno parte di un sistema coniugato, come il radicale che deriva da (vitamina E).

I radicali persistenti sono entità molecolari che possono vivere a lungo perchè attorno al centro radicale esiste un notevole impedimento sterico; la reazione del radicale con altre entità molecolari è di conseguenza fisicamente difficile. Alcuni esempi sono il radicale trifenilmetile scoperto da Gomberg, il sale di Fremy (nitrosodisulfonato di potassio, gli ossidi amminici (formula generale.

Durante i processi di combustione si generano grandi quantità di radicali persistenti, che "possono essere responsabili di stress ossidativo con conseguenti malattie cardio-polmonari e, probabilmente, il cancro che è stato attribuito all'esposizione a polveri sottili presenti nell'aria".

Fisiopatologia

I radicali liberi sono uno dei meccanismi di danno cellulare più importante, sebbene assolvano a molte funzioni fondamentali dell'organismo quando controllati. Sono molecole che posseggono un elettrone spaiato sull'orbitale più esterno e questa configurazione elettronica le rende altamente instabili e particolarmente reattive. I radicali liberi reagiscono facilmente con una qualsiasi molecola si trovi in loro prossimità: (carboidrati, lipidi, proteine, acidi nucleici), danneggiandola e spesso compromettendone la funzione.

Inoltre, reagendo con altre molecole, hanno la capacità di autopropagarsi trasformando i loro bersagli in radicali liberi e scatenando così reazioni a catena che possono provocare estesi danni nella cellula. In condizioni normali, ciascuna cellula produce radicali liberi tramite vari processi, come reazioni enzimatiche (ad esempio la xantina ossidasi o la NO sintasi), fosforilazione ossidativa, difesa immunitaria (granulociti neutrofili e macrofagi). Queste piccole quantità sono

tollerate e vengono inattivate da sistemi enzimatici come il glutatione ed altri antiossidanti detti scavenger per la loro capacità di neutralizzare i radicali liberi.

Quando la produzione di radicali liberi è eccessiva si genera ciò che viene chiamato stress ossidativo. I sistemi enzimatici e gli antiossidanti intracellulari non riescono più a far fronte alla sovrapproduzione e i radicali liberi generano danno cellulare che può essere sia reversibile, in tal caso la cellula torna alle condizioni normali, o irreversibile, con conseguente morte cellulare per apoptosi o per necrosi.

Lo stress ossidativo è imputato quale causa o concausa di patologie quali il cancro, l'invecchiamento cellulare e malattie degenerative.

Le specie reattive dell'ossigeno possono essere classificate come ROS (da *Reactive Oxygen Species*), o alternativamente come ROI (da *Reactive Oxygen Intermediate*). Allo stesso modo, le specie reattive dell'azoto possono essere nominate RNS (*Reactive Nitrogen Species*), o RNI **ROS (Reactive Oxygen Species)**.

Le specie reattive dell'ossigeno, i *ROS*, sono i radicali liberi a maggior diffusione.

- I più importanti ROS sono l'anione superossido, il perossido d'idrogeno, e il radicale ossidrilico. L'**anione superossido** è prodotto dalla riduzione incompleta di O₂ durante la fosforilazione ossidativa, da alcuni enzimi (xantina ossidasi) e dai leucociti. Viene inattivato dalle superossido dismutasi che, combinandolo con 2H⁺ e catalizzando la reazione tramite il suo cofattore metallico (Fe, Mn, Cu, Zn o Ni) lo converte in H₂O₂ e O₂. Se non viene inattivato danneggia i lipidi di membrana, proteine e DNA, può inoltre stimolare la produzione di enzimi nei leucociti. Generalmente ha un raggio d'azione limitato.
- Il **perossido d'idrogeno** (H₂O₂) è spesso neutralizzato dalla glutatione perossidasi o da alcune ossidasi contenute nei perossisomi. Viene metabolizzato dalla catalasi dei perossisomi in H₂O e O₂ che catalizza la reazione tramite il suo gruppo eme e dalla glutatione perossidasi nel citosol e nei mitocondri.
- Il **radicale ossidrilico** è generalmente un prodotto dell'idrolisi dell'acqua da parte di radiazioni, oppure è un prodotto della reazione di Fenton a partire dal perossido d'idrogeno (con lo ione ferroso Fe²⁺ quale catalizzatore). È il ROS reattivo ed è prodotto dai leucociti a partire dal perossido d'idrogeno per distruggere patogeni, ma se in eccesso provoca danni alla membrana plasmatica, alle proteine e agli acidi nucleici. Viene inattivato per conversione in H₂O da parte della glutatione perossidasi. Le specie reattive derivate dall'azoto (*RNS*) di maggior interesse sono l'ossido nitrico (NO) ed il perossinitrito (ONOO⁻).
- L'**ossido nitrico** è prodotto dalle NO sintasi di cui esistono, nell'uomo, tre tipi:

NO sintasi neuronale (nNOS), presente nei neuroni e nel muscolo scheletrico, NO sintasi inducibile (iNOS) presente nel sistema cardiovascolare e nelle cellule del sistema immunitario e NO sintasi endoteliale (eNOS), presente nell'endotelio. L'ossido di azoto è un neurotrasmettitore, è coinvolto nella risposta immunitaria, è un potente vasodilatatore, un secondo messaggero e partecipa all'erezione del pene.

- Il **perossinitrito** (ONOO⁻) è formato dalla reazione tra ossido nitrico e ione superossido.

Viene convertito in HNO₂ dalle perossiredossine presenti nel citosol e nei mitocondri. Può danneggiare lipidi, proteine e DNA.

All'interno della cellula i radicali liberi possono essere generati in vari modi:

- Le **radiazioni ionizzanti** idrolizzano l'acqua (H₂O) a idrogeno (H) e radicale ossidrilico. Fanno parte di questa categoria i raggi ultravioletti, i raggi X e i raggi gamma.
- Le **infiammazioni** sono processi che scatenano la produzione di ROS da parte della NADPH ossidasi dei leucociti al fine di sbarazzarsi di organismi patogeni; talvolta però i radicali liberi prodotti danneggiano anche cellule sane.
- Alcuni **enzimi** come la xantina ossidasi che genera O₂⁻, la NO sintasi che genera NO, la superossido dismutasi che genera H₂O₂, oppure a partire da enzimi che metabolizzano farmaci o altre sostanze chimiche esogene.
- La **fosforilazione ossidativa** che si verifica durante la respirazione cellulare e che genera piccole quantità di ciascuno dei tre più importanti ROS.
- I **metalli di transizione** fungono da catalizzatori nelle reazioni che portano alla produzione di radicali liberi. Il più comune è il Fe²⁺ tramite la reazione di Fenton, seguito dal rame (Cu).
- Altri **radicali liberi** possono concorrere alla formazione di ulteriori radicali liberi, per esempio quando NO e O₂⁻ reagiscono per formare il perossinitrito ONOO⁻.

La cellula possiede diversi metodi per metabolizzare i ROS:

- Il sistema più comune è quello che utilizza enzimi deputati alla conversione delle specie reattive dell'ossigeno in prodotti meno reattivi e tossici per la cellula. Sono state citate la superossido dismutasi (ne esistono almeno tre tipi) che agisce su O₂⁻ tramite la reazione $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, la catalasi che opera sul perossido d'idrogeno tramite la reazione $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ e la glutazione perossidasi che agisce sia sul perossido d'idrogeno che sul radicale ossidrilico tramite le reazioni $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$ e $2OH + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$.
- La cellula controlla il livello di metalli di transizione al suo interno, particolarmente quelli del ferro e del rame:
- Il ferro è infatti sempre legato ad una proteina e tendenzialmente mantenuto allo stato ferrico Fe³⁺.
- Nel sangue è legato alla transferrina, la proteina con la maggiore affinità per il suo substrato conosciuta, è immagazzinato nella ferritina, ma è anche utilizzato nel gruppo eme di molte metalloproteine e ferrossidasi a diverso significato.
- Il rame è legato prevalentemente alla ceruloplasmina e all'efestina.
- La cellula possiede antiossidanti deputati alla neutralizzazione di radicali liberi, gli scavenger. Ne fanno parte il glutazione, la vitamina A (retinolo, retinale, acido retinoico), la vitamina C (acido ascorbico) e la vitamina E (tocoferolo).

I radicali liberi tendono a danneggiare particolarmente tre componenti della cellula: i lipidi, le proteine e gli acidi nucleici.

- La **perossidazione lipidica**, in particolare della membrana plasmatica e delle membrane degli organelli intracellulari è un danno cellulare comune dovuto ai ROS e agli RNS. I radicali liberi, in presenza di ossigeno, reagiscono con i doppi legami dei lipidi di membrana generando dei perossidi lipidici che, essendo reattivi, si propagano determinando un danno esteso alle membrane.
- Il ROS più temibile in questo caso si trova nei eritrociti possono provocare quindi emolisi.

- La degradazione dei lipidi operata dai radicali liberi è riscontrabile tramite la presenza di prodotti terminali di lipossilazione avanzata (ALEs, Advanced Lipoxylation End-products).
- L'**ossidazione delle proteine**, in particolare i radicali liberi agiscono ossidando i gruppi laterali degli amminoacidi, danneggiando la funzione della proteina, promuovono la formazione di legami crociati come il legame disolfuro, alterandone la struttura o il ripiegamento. Possono anche dare origine ad amminoacidi modificati (diidrossifenilalanina, ditirosina...).
- Il **danno al DNA**, dal momento che i radicali liberi possono determinare mutazioni o danneggiare macroscopicamente lo stesso DNA e alterare la struttura chimica delle basi azotate formandone di nuove. Tramite questo tipo di danno sono concausa dell'invecchiamento cellulare e promuovono il cancro.

E' possibile misurare sia la concentrazione di sostanze ossidanti (ROS: radicali liberi dell'ossigeno) sia di quelle antiossidanti grazie ad un test di semplice esecuzione, da cui si ottiene un valore detto "indice di stress ossidativo".

Lo stress ossidativo è definito come la mancanza di equilibrio tra lo stato ossidante (danni da radicali liberi) e lo stato antiossidante (difese anti-radicali).

Il test può essere particolarmente utile per le seguenti categorie di persone:

- Adulti sani che vogliono fare un "check-up" in chiave preventiva
- (famigliarità per malattie cardiovascolari, diabete, dislipidemie, malattie atrosiche, ecc.).
- Sportivi, per monitorare l'efficacia di allenamenti e metodologie di scarico e di recupero dopo sforzi od attività agonistica.
- Inoltre, grazie ai parametri del test, è possibile valutare meglio l'azione a livello cellulare e l'eventuale riduzione del danno ossidativo durante:
- Modifiche dello stile di vita (es. riduzione o abolizione del fumo di sigaretta).

Alogeni

Gli **alogeni** dal greco generatore di sali, sono: fluoro (F), cloro (Cl), bromo (Br), iodio (I) e astato (At). L'astato è un elemento radioattivo molto raro. Anche l'elemento artificiale tennesso (Ts) appartiene a questo gruppo, ma ne sono stati prodotti solo pochi atomi e le sue proprietà chimiche sono poco note.

Gli alogeni reagiscono con quasi tutti gli elementi della tavola periodica, e formano composti ionici o covalenti che sono spesso usati come materiali di partenza per la sintesi di altri composti sia inorganici che organici.

Storia ed etimologia

Nel 1842 il chimico svedese barone Jöns Jakob Berzelius propose il termine "alogeni" "sale" o "mare", e "generare" è "per i quattro elementi (fluoro, cloro, bromo e iodio) che formano composti chiamati sali con i metalli. La parola "alogeno" in realtà era stata proposta per la prima volta nel 1811 da Johann Schweigger come nome per il cloro, appena scoperto. Per questo elemento, però, fu scelto il termine proposto da Davy mentre la parola sostenuta da Schweigger fu tenuta, su suggerimento di Berzelius, come nome per il gruppo di elementi che contiene il cloro.

Il fluoro è l'alogeno più abbondante sulla crosta terrestre, dove è il 13° elemento per abbondanza ed è presente solo come ione fluoruro. La concentrazione di fluoruro nel mare è invece solo 1,3 ppm (parti per milione), perchè i fluoruri sono tipicamente sali insolubili. Il fluoro e i suoi composti si ottengono principalmente dal minerale fluorite CaF_2 . Il cloro è invece il 20° elemento per abbondanza sulla crosta terrestre, mentre è presente nel mare con una concentrazione circa 1,8%. Tramite il processo cloro-soda a partire da salamoie si producono ogni anno 40 milioni di tonnellate di cloro, e circa altrettante di soda caustica. Il bromo è il 62° elemento per abbondanza sulla crosta terrestre.

nel mare la concentrazione è invece 65 ppm. Il bromo è ricavato da salamoie o dal mare; annualmente se ne produce una quantità che è circa un centesimo rispetto al cloro. Lo iodio è il 64° elemento per abbondanza sulla crosta terrestre, mentre nel mare la concentrazione è solo 0,06 ppm. Si ricava da salamoie o dal NaIO_3 contenuto nel nitrato del Cile.

Il fluoro elementare è estremamente tossico. Sotto forma di fluoruro è meno tossico, ma sempre molto velenoso. In piccole quantità il fluoruro è essenziale per l'uomo; un corpo umano ne contiene circa 3-6 g, distribuito principalmente nelle ossa e nei denti. Il fluoro viene utilizzato nei dentifrici in basse concentrazioni, poichè lo ione fluoruro tende a corrodere lo smalto dei denti trasformandolo in fluoruro di calcio insolubile, che va a depositarsi sopra lo smalto stesso rinforzandolo. Il cloro gassoso è tossico, mentre lo ione cloruro è essenziale per molte specie, compreso l'uomo. Ad esempio, gli ioni cloruro hanno un ruolo nel cervello nel mediare l'azione dei recettori GABA e sono usati nello stomaco per produrre acido cloridrico. Un corpo umano contiene circa 95 g di cloro. Il cloruro entra nella nostra dieta soprattutto come NaCl , il comune sale da cucina. Il bromo elementare è molto tossico, mentre come ione bromuro la tossicità è minore; un corpo umano ne contiene circa 260 mg. Lo ione bromuro è presente in piccole quantità in tutti gli esseri viventi; nell'uomo sembra non avere alcun ruolo biologico.

Lo iodio elementare è fortemente tossico; come ione ioduro è poco pericoloso, ma in quantità eccessiva provoca ipertiroidismo.

Lo iodio è un elemento essenziale per l'uomo e gli animali, ma non per le piante. Un corpo umano ne contiene circa 10-20 mg per lo più concentrati nella tiroide. In quantità eccessiva gli alogeni hanno un effetto immunosoppressore ed indeboliscono le capacità cognitive e di coordinamento delle persone.

Gli alogeni sono considerati utili per ottimizzare le cosiddette proprietà ADMET: (Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Escrezione, Tossicità), di potenziali farmaci: migliorano l'assorbimento orale e agevolano l'attraversamento delle barriere biologiche; sono utili per il riempimento delle piccole cavità idrofobiche presenti in molte proteine bersaglio, e prolungano la durata del farmaco.

Applicazioni

Il fluoro elementare è usato principalmente nella sintesi di UF_6 per l'arricchimento dell'uranio, di SF_6 come isolante in trasformatori elettrici, e di ClF_3 per produrre fluorocarburi.

Il cloro gassoso è usato in una miriade di applicazioni. Le principali sono: reagente nell'industria chimica, produzione di PVC, trattamento delle acque, produzione di solventi e sbiancanti.

Il bromo e i suoi composti, anche organici, sono usati per molte applicazioni, tra cui coloranti, disinfettanti, prodotti farmaceutici, agrochimici e antifiamma.

Lo iodio viene usato in varie applicazioni, tra cui prodotti farmaceutici, mangimi per animali, inchiostri e coloranti, catalizzatori.

Gli alogeni hanno una chimica completamente non metallica. Nello stato elementare formano molecole biatomiche X_2 , facilmente volatili.

In generale tutti gli alogeni sono molto reattivi, e in quantità sufficienti possono essere letali per gli organismi biologici. La reattività degli alogeni cala lungo il gruppo.

Il fluoro è l'elemento più reattivo della tavola periodica, e in condizioni opportune si combina direttamente e spesso violentemente con tutti gli elementi tranne elio, neon e argon. Attacca molti composti chimici trasformandoli in fluoruri; i composti organici spesso bruciano infiammandosi a contatto con il fluoro. Anche i metalli sono attaccati; blocchi di metalli spesso si ricoprono di una pellicola di fluoruri che arresta la reazione, ma metalli in polvere possono bruciare violentemente.

La grande reattività del fluoro è in parte attribuibile alla bassa energia di dissociazione del legame probabilmente dovuta a effetti di repulsione delle coppie di elettroni non coinvolti nel legame. Inoltre, le reazioni del fluoro con gli altri elementi sono fortemente esotermiche. Questi fattori energetici sono naturalmente collegati alle piccole dimensioni e all'elevata elettronegatività dell'atomo di fluoro.

Il fluoro è l'alogeno che ha la maggior tendenza a formare lo ione in soluzione, notare che il potenziale del fluoro lo rende instabile in acqua. F_2 \tilde{A} quindi un fortissimo ossidante, che può facilmente produrre stati di ossidazione molto elevati e anche inusuali negli elementi con i quali reagisce. D'altra parte l'energia di ionizzazione del fluoro è particolarmente elevata: per questo il fluoro non può formare cationi.

Gli altri elementi del gruppo sono notevolmente meno reattivi del fluoro, ma restano comunque tra gli elementi più reattivi della tavola periodica. La loro reattività cala lungo il gruppo; ad esempio il cloro non reagisce direttamente con carbonio, azoto e ossigeno, come può fare il fluoro. Scendendo lungo il gruppo cala l'energia di ionizzazione, rendendo possibili stati di ossidazione positivi sempre più stabili.

Per lo iodio si formano facilmente anche cationi e altri; cloro e bromo danno alcune specie simili, ma risultano più instabili. Gli alogeni sono tutti solubili in acqua, ma l'entità della reazione con l'acqua ed i meccanismi delle reazioni variano. Il fluoro è un ossidante così forte da reagire violentemente sviluppando ossigeno. Il cloro ha un potenziale di riduzione sufficiente per reagire nello stesso modo, ma questa reazione è molto lenta per motivi cinetici, e avviene invece una rapida reazione di disproporzione.

FAVISMO

Carenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi.

Si intende un quadro patologico ereditario caratterizzato da un deficit funzionale o quantitativo un enzima chiave della via dei pentoso fosfati. La G6PD-carenza costituisce il difetto enzimatico più comune nella specie umana.

La carenza enzimatica è espressa principalmente nella linea cellulare eritroide, da cui si sviluppano i globuli rossi, e, in grado minore, nelle altre cellule ematiche. Per tale ragione, le principali manifestazioni legate alla deficienza enzimatica rientrano nella sfera ematologica: gli individui che

ne sono affetti possono infatti manifestare anemia emolitica non immune in risposta a numerose cause, più comunemente infezioni o esposizione a determinate sostanze chimiche o farmaci.

La carenza di G6PD è strettamente legata al **favismo**, una manifestazione clinica caratterizzata da una crisi emolitica in risposta al consumo di fave. Il termine "favismo" è stato impiegato anche per indicare la carenza di questo enzima; si tratta però di una terminologia impropria, dal momento che non tutte le persone affette da questo disturbo manifesteranno una reazione clinicamente osservabile al consumo di questi legumi.

Epidemiologia e cenni storici

La diffusione della G6PD-carenza e di altre varianti immunogenetiche; da notare come l'areale di questo deficit enzimatico coincida con aree in cui la malaria ha (o ha avuto) una forte incidenza (per confronto).

La carenza di G6PDH è il più comune deficit enzimatico umano, presente in oltre 400 milioni di persone nel mondo. Gli individui di etnia africana, mediorientale e asiatica meridionale presentano la maggiore prevalenza, forse perchè questa deficienza enzimatica conferisce a tali popolazioni una maggiore resistenza alla malaria, in particolare a quella causata dal *Plasmodium falciparum*; una correlazione simile esiste anche tra malaria e anemia falciforme o talassemia.

Il favismo è una manifestazione clinica della G6PD-carenza conosciuta sin dall'antichità.

E' noto il divieto pitagorico di cibarsi di fave; per tale divieto esistono due possibili spiegazioni, una materialista e l'altra strutturalista. La prima è collegata proprio al favismo, che secondo studi medici era particolarmente diffuso nella zona del crotonese; la seconda fa riferimento a credenze antiche secondo cui le fave erano considerate connesse al mondo dei morti, della decomposizione e dell'impurità dalle quali il filosofo si deve tenere lontano.

La moderna comprensione di questa condizione iniziò con l'analisi dei pazienti che manifestavano sensibilità alla primachina. La scoperta della G6PD-carenza è strettamente correlata ai test effettuati somministrando primachina su volontari prigionieri dell'*Illinois State Penitentiary*, studi oggi non più effettuabili.

Ad alcuni prigionieri fu somministrata una dose di questo farmaco antimalarico; alcuni di questi svilupparono una anemia emolitica, altri non ebbero conseguenze. In seguito a studi condotti sul meccanismo di sviluppo di questa crisi emolitica tramite test al cromo-51 si comprese definitivamente che l'effetto emolitico della primachina era dovuto ad un difetto intrinseco degli eritrociti.

Tutti gli individui fabici mostrano G6PD-carenza, ma non tutti i G6PD-carenti mostrano favismo: ad esempio, in un piccolo studio in cui è stato preso un campione di 757 maschi sauditi, oltre il 42% di essi mostrò di possedere almeno una variante di G6PD carenza, ma nessuno di essi mostrò i segni e i sintomi del favismo.

La deficienza di G6PD nella via alternativa causa un accumulo di glucosio ed un incremento dei prodotti irreversibili di glicazione avanzata (AGE, *advanced glycosylation end products*). La riduzione delle riserve di NADPH in seguito alla G6PD-carenza si ripercuote anche sulla produzione dell'ossido di azoto (NO).

L'alta prevalenza di diabete mellito di tipo 2 ed ipertensione arteriosa negli Afro-Caraibici può essere messa direttamente in relazione con l'elevata incidenza della G6PD-carenza in queste popolazioni.

Le donne portatrici di una mutazione nel gene della glucosio-6-fosfato deidrogenasi possono manifestare una lieve forma di carenza (la cui gravità dipende dal grado di inattivazione del cromosoma X che possiede il gene *wild-type*), ma sono state descritte anche femmine omozigoti per il gene mutato; queste femmine presentano anche un'incidenza aumentata di un raro disturbo immunologico noto come malattia granulomatosa cronica (CGD, dall'inglese *chronic granulomatous disease*).

Quando le riserve di glutazione ridotto vengono consumate, l'esposizione degli eritrociti con G6PD mutata ad alti livelli di ossidanti determina la formazione di legami crociati tra i gruppi S-H delle cisteine presenti nelle catene globiniche dell'emoglobina; la conseguente denaturazione di questa proteina causa la formazione di precipitati che si legano alla membrana eritrocitaria, i *corpi di Heinz*, i quali possono essere messi in evidenza come inclusioni scure se i globuli rossi vengono colorati con opportune colorazioni, come il cristal-violetto

I corpi di Heinz sono causa dei gravi danni alla membrana all'origine di fenomeni di emolisi intravascolare, ma sono responsabili anche di danni meno gravi, quali riduzione della deformabilità delle emazie e modificazioni citoscheletriche che conferiscono ai globuli rossi una forma sferica (sferocitosi). Gli eritrociti danneggiati vengono poi sequestrati nella milza, ove sono facilmente riconosciuti e fagocitati dai macrofagi presenti nella polpa rossa (eritrocateresi).

I macrofagi stessi riconoscono i corpi di Heinz, rimuovendoli dagli eritrociti assieme a una piccola parte della membrana; queste cellule parzialmente fagocitate presentano una forma anomala, quasi fossero state "morse" dai macrofagi, e pertanto sono note come *bite cells* (dall'inglese, *cellule morsicate*). I fenomeni di emolisi intravascolare iniziano da due a tre giorni dopo l'esposizione a ossidanti. Il prodotto del catabolismo dell'emoglobina è la bilirubina, che ad alte concentrazioni nel sangue (iperbilirubinemia) dà luogo ad ittero.

L'episodio emolitico è solitamente autolimitante, dal momento che riguarda esclusivamente i globuli rossi più vecchi in quanto hanno una riserva di GSH più scarsa degli eritrociti più giovani. Al termine della fase emolitica è spesso presente una marcata reticolocitosi. Dal momento che gli episodi emolitici legati alla G6PD carenza sono discontinui, sono assenti la gran parte dei segni e delle manifestazioni legate ad altre anemie emolitiche croniche (splenomegalia, colelitiasi ecc.).

Segni e sintomi

La gran parte degli individui affetti da G6PD-carenza sono asintomatici. I pazienti sintomatici sono quasi esclusivamente maschi, per via dell'ereditarietà correlata al cromosoma X di questa malattia; le portatrici di sesso femminile potrebbero comunque manifestare clinicamente la malattia, qualora, a causa di un'eventuale inattivazione del cromosoma X sfavorevole, venga casualmente inattivato, in alcuni progenitori midollari, proprio il cromosoma X che contiene la variante "sana" del gene della G6PD; in questo modo si viene a creare una popolazione di globuli rossi carenti dell'enzima che convive con una popolazione eritrocitaria normale.

L'emolisi nei G6PD carenti può manifestarsi in diversi modi:

- ittero neonatale prolungato;

- crisi emolitiche in risposta a diverse condizioni che portano ad un incremento dello stress ossidativo, in particolare malattie specialmente infettive, quali epatite virale, polmonite e febbre tifoide.
- alcune sostanze chimiche e taluni farmaci;
- alcuni cibi, in particolare le fave;
- chetoacidosi diabetica.

Crisi emolitiche particolarmente gravi possono causare insufficienza renale acuta.

Diagnosi

La diagnosi di G6PD-carenza è in genere sospettata quando un paziente di una certa etnia manifesta ittero e segni di emolisi in seguito all'esposizione ad uno dei fattori scatenanti, soprattutto se all'anamnesi risulta un caso di positività in un familiare.

In fase di emolisi acuta si riscontra, all'indagine di laboratorio, anemia, emoglobinemia ed emoglobinuria. Tra gli esami richiesti, per confermare il sospetto di G6PD-carenza:

- emocromo e conta dei reticolociti (la reticolocitosi, un segno di aumentata eritropoiesi in risposta all'anemia);
- in G6PD-carenza attiva, all'esame microscopico di uno striscio di sangue possono essere rintracciati corpi di Heinz negli eritrociti.

Terapia e prevenzione

Il consumo di fave espone i G6PD-carenti al rischio di crisi emolitiche per via della presenza, all'interno dei semi, di sostanze ossidanti come *divicina* e *convicina*. La principale misura per contrastare le manifestazioni cliniche della G6PD-carenza è costituita dalla prevenzione, che consiste fondamentalmente nell'evitare le sostanze che possono innescare una crisi emolitica.

In risposta alle malattie infettive il rimedio più opportuno è costituito dalla vaccinazione contro alcuni comuni patogeni (ad esempio, virus dell'epatite A e B).

Negli individui fabici è inoltre opportuno astenersi dal consumo di fave, che contengono diversi agenti ossidanti, tra cui la *divicina* e la *convicina*. Numerosi farmaci costituiscono un potenziale pericolo per gli individui affetti da G6PD-carenza. Alcuni farmaci antimalarici possono scatenare emolisi acuta, tra cui primachina, pamachina e cloroquina; vi sono anche evidenze che altri antimalarici possono esacerbare la carenza della glucosio-6-fosfato deidrogenasi, ma solo a dosaggi elevati.

Sulfamidici (come sulfanilamide, sulfametossazolo e mafenide), tiazosolfone, blu di metilene e naftalene dovrebbero allo stesso modo essere evitati dai G6PD carenti, come alcuni farmaci antinfiammatori non-steroidi (aspirina, fenazopiridina e acetanilide) ed alcuni antibiotici non sulfamidici (acido nalidixico, nitrofurantoina, isoniazide e furazolidone).

In caso di emolisi acuta può rendersi necessario ricorrere a trasfusioni di sangue e dialisi nel caso in cui il paziente sia affetto anche da insufficienza renale. La trasfusione si rivela un'importante misura sintomatica, dal momento che gli eritrociti trasfusi non sono normalmente G6PD carenti e sopravvivono nel circolo del ricevente per un periodo di tempo normale (circa 120 gg).

Alcuni pazienti potrebbero trarre beneficio dalla rimozione chirurgica della milza, essendo quest'ultima un importante sito di distruzione degli eritrociti.

Somministrazioni di acido folico potrebbero essere opportune per eventuali disordini riguardanti un turnover eritrocitario particolarmente elevato.

La somministrazione di vitamina E e selenio, nonostante le loro proprietà antiossidanti, non incide sulla gravità delle manifestazioni cliniche della G6PD-carenza.