

**RADICALI
LIBERI
E
STRESS
OSSIDATIVO**

Callegari 1930 S.p.a.
Via Adamello 2/A
43100 Parma
tel 0521/273274 – fax 0521/271296
www.callegari1930.com
e-mail info@callegari1930.com

Indice

Radicali liberi e Stress Ossidativo	2
I danni da radicali liberi	3
la valutazione dello stress ossidativo	5
Il FORT test	5
Il FORD test.....	7
Reagenti ed Avvertenze	9
Interpretazione degli Indici di Stress Ossidativo	10
Gli antiossidanti	12
ELENCO STUDI/PUBBLICAZIONI	18

Radicali liberi e Stress Ossidativo

Non possiamo vederli né sentirli, sono subdoli e silenziosi, eppure i radicali liberi dell'ossigeno (ROS; molecole instabili di ossigeno) rappresentano una costante minaccia per il nostro organismo, perché ne minano l'integrità esercitando una vera e propria aggressione cellulare.

Lo stress ossidativo è un fenomeno derivante dalla particolare condizione di equilibrio fra processi ossidativi e riduttivi che avvengono continuamente in ogni cellula durante le complesse trasformazioni biochimiche del metabolismo fisiologico.

Gli atomi sono chimicamente stabili quando ciascun elettrone dell'orbitale più esterno è associato ad un secondo elettrone che ruota in direzione opposta (detto appaiato). Alcuni processi endogeni quali le ossido-riduzione metaboliche, l'ossidazione dei grassi e le reazioni immunologiche, oppure agenti esogeni quali radiazioni, raggi UV, farmaci, eccesso di ossigeno, xenobiotici e il fumo da sigaretta, possono "strappare" un elettrone dall'orbitale esterno lasciando così un elettrone spaiato. Questi atomi caratterizzati dalla presenza di un elettrone spaiato sono definiti **radicali liberi** (fig. 1). Il radicale libero è quindi una specie molto instabile, estremamente reattiva e con emi-vita breve, cerca infatti di neutralizzare il più rapidamente possibile la propria carica elettrica "rubando" elettroni dalle molecole vicine. Queste molecole, a loro volta, diventano elettricamente instabili innescando così una serie di reazioni a catena che amplificano il fenomeno e, quindi, il numero di radicali liberi prodotti.

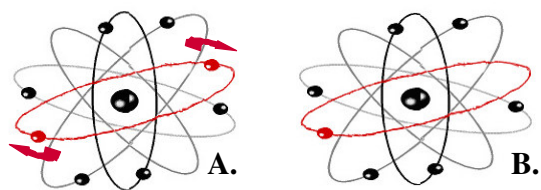


Fig. 1. A. Atomo stabile. B. Atomo instabile-Radicale Libero.

L'ossigeno è la molecola più abbondante nei sistemi biologici e le numerose **specie reattive dell'ossigeno vengono indicate come ROS**. I principali ROS che si formano nell'organismo sono:

- anione superossido $O_2^{\bullet -}$
- idrossile $\bullet OH$
- ossigeno singoletto 1O_2
- idroperossidi ROOH
- acqua ossigenata H_2O_2
- ossido nitrico NO

Gran parte dei processi biologici generano normalmente radicali liberi che possono avere effetti addirittura benefici (ad es., i processi di difesa immunitaria), ma quando la formazione dei radicali liberi diventa eccessiva, essi possono essere estremamente distruttivi e attaccare componenti fondamentali delle cellule come lipidi, proteine e DNA. Di conseguenza, i sistemi viventi sono caratterizzati dalla presenza di efficienti sistemi naturali di difesa antiossidanti, parte dei quali sono composti endogeni (es., enzimi e metallo-proteine), mentre altri vengono introdotti con gli alimenti (es., vitamine).

In generale, gli antiossidanti possono essere suddivisi in:

- meccanismi **enzimatici** (ad es., superossido dismutasi, catalasi e glutazione perossidasi);
- meccanismi **non enzimatici** (vitamina E, vitamina C, carotenoidi, tioli, flavonoidi, albumina, glutazione, metalloproteine, ecc.).

In condizioni normali, le naturali capacità di difesa dell'organismo sono in grado di neutralizzare totalmente l'azione dei radicali liberi, ma se si formano radicali liberi in eccesso e/o tali sostanze ad azione antiossidante sono ridotte o inefficaci, si va incontro al danno ossidativo e si instaura uno stato di **STRESS OSSIDATIVO** cioè una condizione di **sbilanciamento tra sostanze ossidanti ed antiossidanti** (fig. 2).

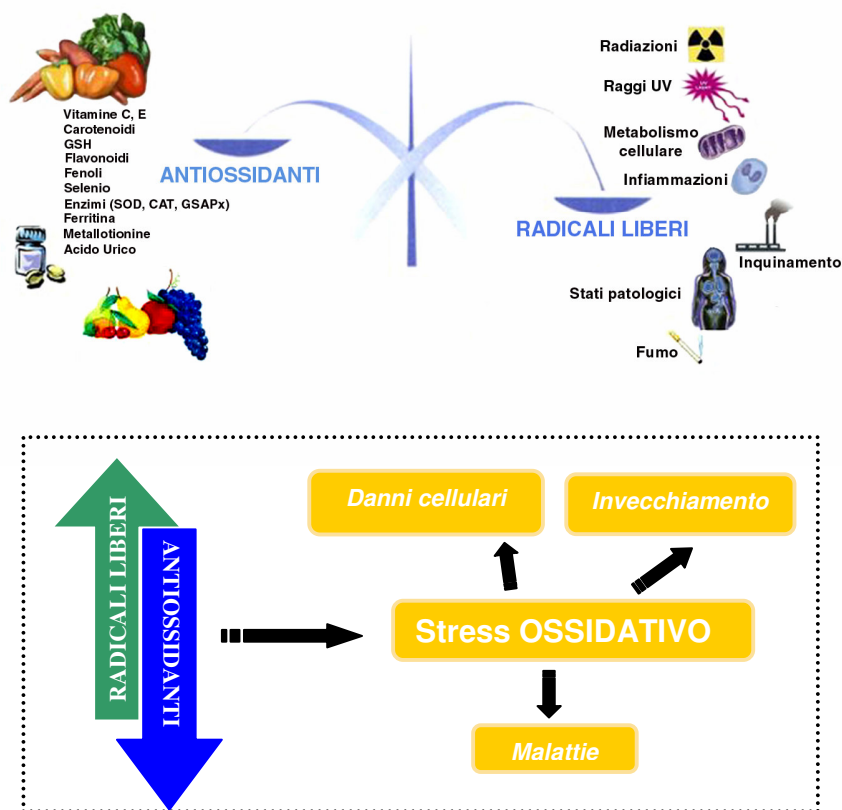


Fig. 2. Generazione di Stress Ossidativo.

I danni da radicali liberi

Gli organismi che respirano ossigeno sono continuamente ed inevitabilmente esposti all'azione dei radicali liberi. Livelli elevati di stress ossidativo risultano associati ai processi di invecchiamento intrinseco ed estrinseco (foto-invecchiamento), oltre che a numerose patologie. Al contrario di queste, però, lo stress ossidativo non è caratterizzato da una sintomatologia specifica, inoltre, non è sempre possibile stabilire se l'azione dei ROS sia una causa, l'effetto oppure un semplice epifenomeno associato alla malattia. In molti casi la produzione di ROS è secondaria all'evento patogeno primario, l'innesco delle reazioni a catena da parte delle specie reattive può però facilmente contribuire ad aggravare un danno in atto. Numerose evidenze scientifiche dimostrano un'aumentata formazione di ROS e/o una riduzione delle difese

antiossidanti in svariate condizioni patologiche: malattie cardiovascolari, neurologiche, stati tumorali, infiammazioni, diabete, retinopatie, infezioni, malattie respiratorie, ect (fig. 3).

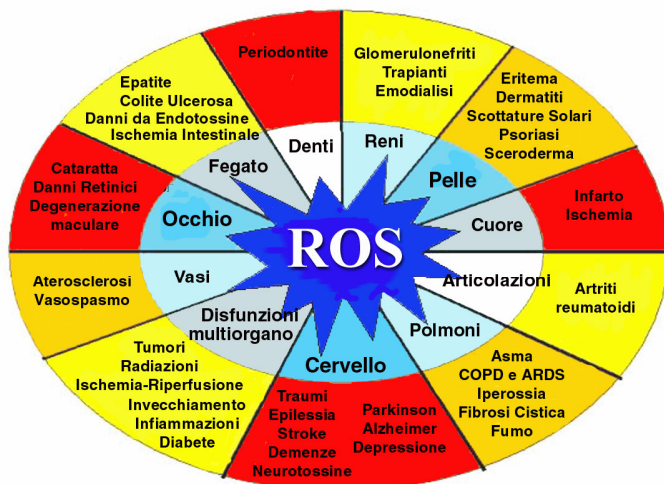


Fig. 3. Patologie associate alla produzione di ROS in diversi organi umani.

Oltre l'ambito fisio-patologico, esistono molti fattori ambientali ed alcuni stili di vita in cui si riscontrano elevati indici di stress ossidativo. Tra i comportamenti che possono favorire tali aumenti, si possono ricordare:

- stress psico-fisico costante ed intenso;
- inquinamento ambientale;
- fumo;
- sovrappeso;
- frequente esposizione senza adeguata protezione ai raggi ultravioletti;
- esposizione a radiazioni ionizzanti;
- eccessiva attività fisica, soprattutto se non associata ad allenamento opportuno;
- dieta povera di frutta e verdura;
- regime alimentare sbilanciato;
- abuso di alcool;
- fattori genetici endogeni.

Le problematiche associate allo stress ossidativo e ai danni legati ai radicali liberi stanno diventando sempre più importanti per la medicina moderna e in campo preventivo. Elevati valori di stress ossidativo possono essere ritenuti nuovi fattori di rischio per la salute, soprattutto se la condizione è prolungata nel tempo e associata ai più noti fattori di rischio quali ipertensione, ipercolesterolemia, iperglicemia, sovrappeso e fumo di sigaretta. L'indice di stress ossidativo può quindi essere ritenuto un fattore di avvertimento importante per prevenire o, perlomeno, per contribuire a rallentare il decorso di stati patologici e del processo di invecchiamento; può, inoltre, essere particolarmente utile per regolare e controllare terapie e supplementazioni, oltre che indurre a scegliere di adottare stili di vita ed abitudini più salutari.

La valutazione dello stress ossidativo può perciò rappresentare un evidente segnale di generale benessere psico-fisico.

Di conseguenza, **l'indice di stress ossidativo rappresenta un fattore di avvertimento importante nella prevenzione delle malattie e dell'invecchiamento, oltre che un evidente segnale di benessere e dello stato di salute.**

La valutazione dello stress ossidativo

Ora c'è a disposizione un sistema denominato FORMPlus in grado di valutare l'indice globale di stress ossidativo in pochi minuti. Il sistema FORMPlus è di uso molto semplice e può essere effettuato da qualunque persona come auto-test, utilizzando una goccia di sangue capillare. Con il sistema FORMPlus è ora possibile:

- individuare con precisione chi si trova in uno stato di evidente stress ossidativo
- sapere chi ha bisogno di antiossidanti
- modulare il dosaggio degli antiossidanti
- decidere la durata del trattamento
- verificare l'efficacia degli antiossidanti e di concomitanti trattamenti di altro genere
- intervenire precocemente sui primi cenni di invecchiamento generale e della pelle

Il FORT test

Il **FORT (Free Oxygen Radicals Test)** è un test colorimetrico basato sulla capacità dei metalli di transizione (es., il ferro) di catalizzare la scissione degli ROOH (idroperossidi, specie radicaliche) presenti nel campione biologico in derivati radicalici secondari, secondo la classica reazione di Fenton. Una volta formatosi a livello cellulare, gli ROOH mantengono la propria reattività chimica e la capacità di generare quantità proporzionali di prodotti alcossilici, RO^\bullet , e perossilici, ROO^\bullet (reazioni 1 e 2). Questi vengono, poi, intrappolati da uno specifico derivato amminico (reagente R1 del FORT test, $CrNH_2$) sviluppando, in una reazione cinetica lineare a $37^\circ C$, un catione radicalico ($Cr-NH_2^{+\bullet}$, reazione 3) più stabile nel tempo e colorato perciò misurabile fotometricamente. In tal modo, in base alla legge di Lambert-Beer, l'intensità del colore sviluppatosi durante la reazione correla direttamente con la quantità dei derivati radicalici e, di conseguenza, con lo stato ossidativo del campione analizzato.

Reazioni coinvolte nel FORT test:

1. $R-OOH + Fe^{2+} \longrightarrow R-O^\bullet + OH^- + Fe^{3+}$
2. $R-OOH + Fe^{3+} \longrightarrow R-OO^\bullet + H^+ + Fe^{2+}$
3. $RO^\bullet + ROO^\bullet + 2CrNH_2 \longrightarrow RO^- + ROO^- + [Cr-NH_2^{+\bullet}]$

Data l'eterogeneità chimica delle specie reattive secondarie derivanti dalla scissione ferro-dipendente degli ROOH nella reazione del FORT test, è stato deciso, per semplicità d'interpretazione, di convertire i valori di assorbanza misurati in **unità convenzionali chiamate unità FORT**. La trasformazione viene eseguita automaticamente dallo strumento così che i risultati sono immediatamente valutabili dall'operatore e di più facile interpretazione.

Per consentire una valutazione assoluta, i risultati possono essere espressi anche in concentrazioni equivalenti di H₂O₂ usato quale idroperossido di riferimento. **Una unità FORT corrisponde a circa 0,25 mg/l – 7,5 µmol/l di H₂O₂.**

I fotometri della serie CR3000/FORM sono calibrati con una curva di riferimento di diverse concentrazioni di H₂O₂ memorizzata nel microprocessore in modo tale che i valori di assorbanza vengano automaticamente convertiti in unità FORT e/o concentrazioni corrispondenti di H₂O₂.

Caratteristiche tecniche del FORT test

Intervallo di linearità: 160-600 unità FORT.

Valori di riferimento: sono considerati normali valori sino a circa 310 unità FORT corrispondenti a 2,35 mmol/l H₂O₂.

Ripetibilità: coefficiente di variazione intra-assay, CV < 5%.

Precisione: CV < 5%.

Interferenze: impiego di agenti chelanti del ferro (es., EDTA, deferoxamina, D-penicillamina, citrato) e/o disinfettanti e altre fonti artificiali di idroperossidi (es., H₂O₂) e/o conservanti con attività antiossidante (es., BHT, BHA, acido ascorbico) e/o valori anormali di ematocrito.

Campione: 20µl di sangue intero. Adattabile per siero/plasma.

Accessori richiesti: centrifuga, se il test viene eseguito su sangue intero.

L'intervallo di normalità del FORT deriva da anni di raccolta diretta dei dati, oltre ad essere stato confermato da uno studio di popolazione¹.

unità FORT	mmol/l H₂O₂ eq.	
<300-310	<2,28-2,35	Valori Normali
300-330	2,28-2,50	Border line
>330	>2,50	Stress Ossidativo

Diverse condizioni fisiologiche e/o para-fisiologiche, oltre a quelle patologiche, sono associate ad anomali valori di FORT. Tra cui:

Condizioni con livelli elevati:

- ♦ Gravidanza
- ♦ Assunzione estro-progestinici
- ♦ Terapie ormonali sostitutive
- ♦ Dialisi
- ♦ Farmacoterapie (es., antitumorali, antibiotici, analgesici, immunosoppressivi)
- ♦ Attività fisica eccessiva in soggetti non allenati
- ♦ Processi infiammatori

¹ Dal Negro RW et al., GIMT, Italian Journal of Chest Disease, 57(3): 199-209, 2003.

-
- ♦ Cancro
 - ♦ Malattie respiratorie
 - ♦ Fumo di sigaretta
 - ♦ Diete sbilanciate e stili di vita non sani

Condizioni con livelli ridotti:

- ♦ Neonati
- ♦ Supplementazione e/o integrazione con antiossidanti.

Sostanze interferenti causa di risultati FORT erroneamente bassi:

- ♦ Agenti ad azione chelante (es., EDTA, desferal, citrati)
- ♦ Conservanti con potere antiossidante (es., BHT, BHA, acido ascorbico)
- ♦ Valori anormalmente alti di ematocrito.

Sostanze interferenti causa di risultati FORT erroneamente alti:

- ♦ Disinfettanti e altre fonti esterne di perossidi (es., H₂O₂, perossido benzoico)
- ♦ Valori anormalmente bassi di ematocrito.

I FORD test

Il **FORD (Free Oxygen Radicals Defence)** test determina la capacità antiossidante totale nel plasma. L'organismo umano possiede numerosi sistemi di difesa ad azione antiossidante fondamentali per prevenire l'eccessivo innalzamento del livello di radicali liberi e, quindi, mantenere sotto controllo lo stato ossidativo. Questi antiossidanti sono in parte fisiologici, tra cui acido urico, bilirubina, ceruloplasmina, transferrina, tioli, glutazione, ecc., e in parte derivano dagli alimenti (soprattutto frutta e verdura) tra cui le vitamine E, C, ed A, polifenoli, flavonoidi, carotenoidi ect.

Considerate sia la complessità e l'interdipendenza dei vari sistemi antiossidanti e la loro indispensabile funzione per limitare i danni da radicali liberi, sia l'importante influenza di abitudini, dieta, supplementazioni e stile di vita nel determinare lo stato ossidativo globale di un individuo, la possibilità di valutare le difese antiossidanti disponibili risulta di primaria rilevanza.

Il FORD test è un test colorimetrico basato sulla formazione di un radicale colorato che si riduce in presenza di sostanze ad azione antiossidante. In ambiente acido (pH=5,2), un opportuno ossidante (FeCl₃) reagisce con il cromogeno non colorato (Cromogeno, reagente FORD C1) formando il corrispondente catione radicalico (Cromogeno^{•+}): in questa forma il cromogeno è stabile e colorato; è perciò possibile effettuare misure fotometriche a 505nm (reazione 1). I composti antiossidanti (AOH) presenti nel campione aggiunto riducono il catione radicalico determinando una scomparsa del colore della soluzione proporzionale alla loro quantità (reazione 2).

I valori di assorbanza letti vengono trasformati in concentrazioni applicando la legge di Lambert Beer, facendo riferimento alla curva standard ottenuta con Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), un derivato della vitamina E permeabile alle cellule con elevate proprietà antiossidanti e perciò comunemente usato come standard.

Reazioni coinvolte nel FORD test

1. Cromogeno (incolore) + Fe^{2+} + H^+ → Cromogeno^{•+} (porpora)
2. Cromogeno^{•+} (porpora) + AOH → Cromogeno⁺ (incolore) + AO

Caratteristiche tecniche del FORD test

Intervallo di linearità: 0.25-3.0 mmol/l Trolox.

Valori di riferimento: 1.07 – 1.53 mmol/l Trolox equivalenti.

Ripetibilità: coefficiente di variazione intra-assay, CV < 5%.

Precisione: CV < 8,5%.

Interferenze: conservanti con attività antiossidante (es., BHT, BHA, acido ascorbico) e/o valori anormali di ematocrito.

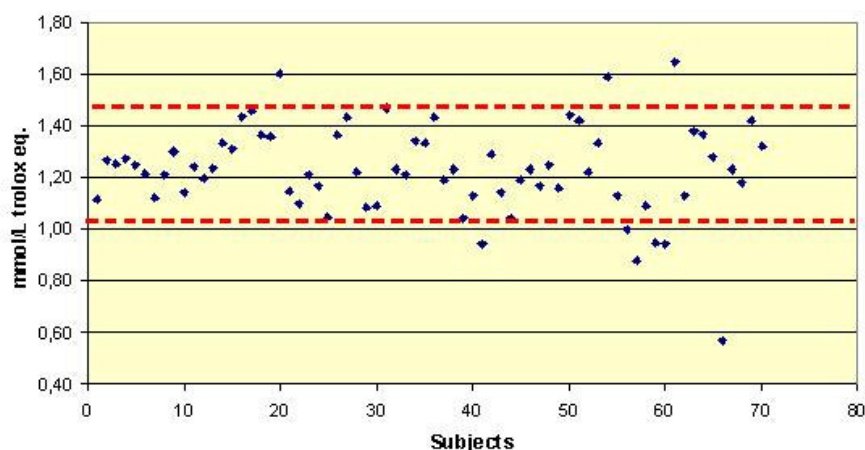
Campione: 50µl di sangue intero.

Accessori richiesti: centrifuga.

Risultati FORD

I risultati del test FORD, come avviene per molti altri metodi analoghi, vengono espresso in concentrazioni equivalenti (mmol/l) di Trolox, composto idro-solubile analogo alla vitamina E normalmente impiegato come standard.

Sulla base di un numero preliminare di dati (70, vedi figura) ottenuti su soggetti apparentemente sani (M/F = 37/33; 20-70 anni, età media: 36) e dei valori di riferimento riportati in letteratura², al momento i valori di normalità del test FORD sono stimati essere inclusi nell'intervallo 1.07-1.53 mmol/l Trolox eq. (valore medio = 1.23 mmol/l Trolox eq) che comprende circa l'85% dei valori.



² Clinical Science 1993, 84:407; Clinical Chemistry 1998, 44(6): 1309; BMC Clinical Pathology 2002, 2(3): 1; Archives of Biochemistry and Biophysics 2004, 430: 97.

FORD (mmol/l)	
>1,53	Condizione Ottimale
1,07-1,53	Valori Normali
<1,07	Stato di Carenza

Stato di Carenza

A questa condizione deve essere rivolta particolare attenzione. Essendo carenti le difese antiossidanti, gli individui con valori FORD pari a circa 1,1 o addirittura minori devono essere considerati a rischio di stress ossidativo in quanto potenzialmente non in grado di bilanciare il danno da radicali liberi. Le cause di una tale condizione possono essere differenti:

1. Il regime alimentare, generalmente caratterizzato da basso introito di frutta e verdura.
2. Può essere la conseguenza di una produzione di radicali liberi nell'organismo talmente elevata da provocare il calo delle difese naturali. Potrebbe corrispondere con una situazione temporanea successiva ad un forte stato ossidativo indotto: gli agenti antiossidanti non sono ancora stati rigenerati dai normali processi fisiologici di recupero e/o i composti vitaminici non sono ancora stati ripristinati mediante una dieta opportuna.
3. Si potrebbe trattare di una 'normale' condizione individuale. Il soggetto può avere caratteristiche genetiche tali per cui la propria capacità di difesa risulta metabolicamente ridotta. In questo caso, è fondamentale controllare e regolare un giusto apporto di sostanze antiossidanti dall'esterno tramite la dieta o supplementazione ausiliaria.
4. Potrebbe essere associata alla presenza di un disordine non ancora manifesto oppure asintomatico, ad uno stadio precoce di una patologia. In caso tale condizione persista nel tempo, sono da raccomandarsi ulteriori accertamenti.
5. Condizione tipica negli stati patologici.

Reagenti ed Avvertenze

Le procedure operative, semplici e rapide (meno di 10 minuti, inclusi prelievo e centrifugazione per ciascun esame), associate ad una tecnica accurata rendono gli apparecchi della serie FORM dei sistemi ideali per le applicazioni *point of care*.

I reagenti sono pre-dosati e monouso, non è quindi necessario l'impiego di pipette o altra strumentazione specifica né l'impiego di operatori specializzati. Vengono conservati a temperatura ambiente riducendo ulteriormente la manutenzione occorrente. In particolare, il reagente R1-FORT e C1-FORD sono fissati sul fondo della cuvetta di lettura in uno stato di liofilizzazione che ne rende più sicuro l'utilizzo limitando il contatto diretto con l'operatore, garantendo comunque un'ottima solubilità.

I sistemi della serie FORM sono stati sviluppati in modo da ridurre al minimo la manualità dell'utilizzatore e la possibilità di inconvenienti e/o errori durante l'esecuzione del test. Si raccomanda comunque di seguire le seguenti precauzioni:

- Evitare di provocare emolisi premendo eccessivamente il polpastrello durante il prelievo di sangue capillare.
- Evitare la formazione di bolle d'aria all'interno durante la raccolta del campione.
- Accertarsi che non vi sia sangue in eccesso sulle pareti esterne del capillare.
- Non utilizzare acqua ossigenata come disinfettante né EDTA o citrato come anticoagulanti, se necessari.

- Testare il sangue capillare immediatamente dopo il prelievo.
- Controllare che il valore del fattore K indicato sul display corrisponda con quello segnato sull'etichetta della confezione dei reagenti.
- Inserire la cuvetta nel vano lettura dello strumento in modo tale che i lati zigrinati si trovino nella posizione indicata.

Interpretazione degli Indici di Stress Ossidativo

FORT: > 310 Unità FORT

FORD: < 1.07 mmol/l Trolox

Tanto più alto è il valore di FORT ottenuto e tanto più basso il valore di FORD, tanto più elevato è il grado di stress ossidativo. In caso di valori al di fuori dei livelli normali indicati, si consiglia di apportare variazioni nel proprio stile di vita, seguire una dieta bilanciata, fare regolarmente attività fisica e, nel caso, assumere integratori a base di sostanze antiossidanti.

Importante: Per meglio interpretare i risultati è preferibile fare sempre riferimento al valore basale soggettivo di ciascun individuo in modo da rilevare prontamente significative variazioni. In caso di valori superiori a quelli ritenuti normali, si raccomanda di consultare personale medico qualificato in grado di suggerire opportuni cambiamenti di stile di vita, dieta e/o abitudini, oppure prescrivere adeguate supplementazioni e terapie, o, nel caso, indicare analisi cliniche più approfondite.

Lo stress ossidativo è definito come la mancanza di equilibrio tra lo stato ossidante (danni da radicali liberi) e lo stato antiossidante (difese anti-radicaliche), risulta pertanto importante valutare e monitorare nel tempo entrambi i fattori. FORT e FORD eseguiti contemporaneamente permettono un'analisi globale del livello di stress ossidativo.

Inoltre, poiché gli indici di stress ossidativo dell'individuo sono fortemente influenzati dalle caratteristiche genetiche, oltre che dalle abitudini alimentari e dallo stile di vita, si può riscontrare una certa eterogeneità nella popolazione 'normale'.



Valori Normali/Ideali

Quando la quantità di radicali liberi prodotti (valori FORT) ed il potere antiossidante totale (valori FORD) sono in equilibrio, ci si trova nella condizione di normalità e/o ideale che coincide presumibilmente con uno stato di benessere e salute fisica.

Pur trovandosi in una situazione di normalità, l'individuo deve seguire ritmi e stili di vita normalmente suggeriti per mantenere sotto controllo lo stress ossidativo e, quindi, assicurare uno stato di salute buono. Ciò comprende una dieta bilanciata, moderata attività fisica, mantenimento del peso corporeo, non fumare ecc..

Controlli suggeriti: ogni 8-10 mesi.

Valori Normali in soggetti a rischio

Valori normali di FORT e FORD possono essere riscontrati in soggetti potenzialmente più a rischio di altri a causa del tipo di lavoro svolto, dell'ambiente in cui viene trascorso molto tempo e di 'cattive' abitudini. Sono inclusi, ad esempio, gli individui:

- che vivono in area ad elevato tasso di inquinamento;
- che giornalmente sono a contatto con sostanze chimiche, radiazioni o altri materiali tossici;
- sedentari;
- fumatori;
- sovrappeso.

In questi soggetti 'a rischio' i livelli sia di FORT (come indice di danno da radicali liberi) sia di FORD (quale indice di efficienza dei sistemi di difesa) dovrebbero essere regolarmente verificati per potere prontamente intervenire in caso di variazioni.

Controlli suggeriti: ogni 4-5 mesi.

Stress Ossidativo Latente

Il FORT test dà valori normali ma il FORD indica livelli al di sotto di 1,00 mmol/l trolox. Si tratta di una condizione di rischio potenziale. L'individuo, pur non trovandosi in uno stato di danno ossidativo in corso (valori FORT <310 Fort U.), evidenzia uno sbilanciamento, risulta perciò soggetto allo stress ossidativo. Infatti le ridotte difese antiossidanti lo rendono incapace di opporsi efficacemente ad un eventuale attacco da parte dei radicali liberi. Le cause possono essere varie, tra cui una inadeguata disponibilità o, all'opposto, un eccessivo utilizzo/consumo degli antiossidanti disponibili (dieta sbilanciata, ridotto assorbimento intestinale, fabbisogno temporaneamente aumentato, ecc.). Qualunque fattore endogeno e/o esogeno capace di formare radicali liberi determinerà danni ossidativi molto più facilmente in questo tipo di individui rispetto a coloro che hanno normali capacità di difesa.

Controlli suggeriti: ogni 3 mesi.

Stress Ossidativo Compensato

I valori di FORT sono al di sopra dei livelli normali, mentre quelli del FORD sono buoni. Il lieve grado di squilibrio risulta pertanto sotto controllo. Esistono cause responsabili di un'aumentata formazione di radicali liberi, ma la barriera antiossidante è ancora capace di limitare i danni ossidativi. Se le cause non vengono opportunamente eliminate e/o arginate

(es. ridurre o eliminare le sigarette, perdere il peso in eccesso, fare moderata attività fisica, introdurre supplementazioni, ecc.), progressivamente la situazione potrebbe peggiorare arrivando ad una condizione di stress ossidativo nettamente manifesto.

Controlli suggeriti: ogni 3 mesi.

Stress Ossidativo A Rischio

I livelli di FORT sono border line e, oltre tutto, associati a valori FORD chiaramente ridotti. Potrebbe essere la conseguenza di cattive abitudini e comportamenti protratti per lungo tempo; è assolutamente indispensabile intervenire introducendo variazioni nello stile di vita e/o supplementazioni, e procedere con ulteriori metodi preventivi. Si potrebbe trattare di un disordine non ancora manifesto o asintomatico, oppure di uno stadio precoce di una patologia. In caso tale condizione persista nel tempo, sono da raccomandarsi ulteriori accertamenti.

Controlli suggeriti: ogni 2 mesi.

Stress Ossidativo in Corso/Manifesto

Livelli di FORT al di sopra dei 330-340 FORT U. indicano sempre uno stato di stress ossidativo in corso. In alcuni casi, fisiologici e non, possono essere anche associati ad una capacità antiossidante elevata. Si può trattare di situazioni temporanee, ad es. il post-gara in un atleta ben allenato oppure soggetti in trattamento farmacologico che seguono un'ottima alimentazione e/o ben supplementati.

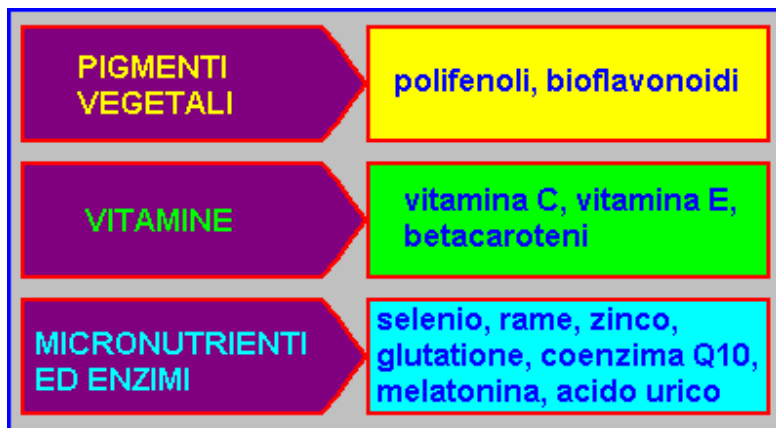
Alti livelli di FORT e bassi di FORD si riscontrano tipicamente in condizioni patologiche.

Controlli suggeriti: ogni 1-2 mesi.

Gli antiossidanti

La diminuzione dello stress ossidativo può passare attraverso due tipi di strategie: cercare di ridurre la produzione di radicali liberi oppure aumentare le difese antiossidanti. Dal momento però che non sempre è possibile modificare lo stile di vita, l'assunzione di sostanze antiossidanti può essere un utile aiuto nella prevenzione dell'invecchiamento e nel mantenimento del benessere e della salute.

Tra gli antiossidanti che possono essere utilizzati come integratori della dieta possiamo ricordare:



Vitamina C - Acido ascorbico

Il nome chimico, acido ascorbico, è dovuto alla capacità della vitamina C di curare lo scorbuto, una malattia mortale che colpiva soprattutto gli equipaggi delle navi, costretti a rimanere a lungo in mare senza potersi approvvigionare di alimenti vegetali freschi.

Si tratta di una vitamina sensibile all'ossigeno che deve essere assunta mediante la dieta poiché il corpo umano non è capace di sintetizzarla. Si trova in abbondanza nelle piante ricche di clorofilla e di carotene e nella frutta fresca, soprattutto agrumi e frutta esotica. Nei tessuti animali si trova soprattutto nel fegato, nel cervello e nel rene.

La vitamina C è assente in: uova, pesci, formaggi, cereali e derivati.

Co-vitamina, cioè coadiuvante dell'acido ascorbico, è la vitamina P che integra la sua azione e regola la resistenza e la permeabilità delle cellule e dei capillari. Per uso esterno, la vitamina C è un potente antiossidante ed opportunamente formulato è capace di penetrare nella cute proteggendola dai danni da raggi UV.

La vitamina C e E combinate insieme costituiscono un fondamentale sistema di protezione antiossidante.

Consigliati circa 200 mg al giorno.

Vitamina E – α -Tocoferolo

E' la vitamina antiossidante per eccellenza. E' liposolubile e svolge un'azione protettiva soprattutto nei confronti delle membrane cellulari. Cattura i radicali liberi e li distrugge prima che possano provocare un danno.

Numerosi studi hanno messo in correlazione l'effetto antiossidante della vitamina E con un suo potenziale ruolo preventivo nelle malattie degenerative come cancro, aterosclerosi, ecc. La vitamina E ha inoltre azione antisterile e stimola l'accrescimento.

Si trova nei germogli dei cereali, negli oli spremuti a freddo (soia, girasole, arachide ed oliva), nella frutta secca e nel tuorlo d'uovo. Nei tessuti animali si trova nel fegato, nei grassi, nel burro, nel latte e nel tuorlo d'uovo.

Viene generalmente associata alla vitamina C per la loro stretta interrelazione, la vitamina C può infatti rigenerare la vitamina E ridandole efficacia attraverso processi di ossido-riduzione. La maggiore efficacia si ha quindi mediante la somministrazione contemporanea delle due vitamine.

Carenza

E' piuttosto rara ma provoca:

- nel bambino si hanno disturbi carenziali dovuti a malassorbimento lipidico o a scarsa produzione di sali biliari. I sintomi principali della carenza di vitamina E sono una colorazione cerea della pelle, la comparsa di lesioni muscolari e l'eccessiva distruzione dei globuli rossi;
- nell'adulto la causa della carenza può essere una dieta ricca di grassi insaturi, durante la quale possono manifestarsi ulcere gastriche, distrofia muscolare, impotenza;
- nella donna si ha aborto abituale, minacce di aborto e parto prematuro.

Non sono dimostrati disturbi da eccessi di assunzione.

Il fabbisogno giornaliero per gli adulti è di 10 mg.

Vitamina A

Si trova in natura sia sotto forma di vitamina A che di sostanze simili, chiamate pro-vitamine, che una volta assunte vengono trasformate dall'organismo in vitamina A. Impedisce l'ossidazione della vitamina C. Assunta però in eccesso è dannosa e può provocare caduta dei capelli e danni alla salute.

Il fegato può accumularne grosse riserve, in modo da sopperirne ai bisogni per un lungo periodo di tempo. L'eliminazione avviene per via urinaria.

La vitamina A si trova soltanto negli alimenti di origine animale, e ne sono particolarmente ricchi l'olio di fegato di pesce ed il fegato dei mammiferi.

Pro-vitamine cioè precursori della vitamina A sono il retinolo, di origine animale, e i carotenoidi, di origine vegetale. Il retinolo si trova nel tuorlo d'uovo e nel fegato di merluzzo. I carotenoidi si trovano invece nella frutta e nella verdura di colore arancione (albicocche, melone, pesche, cachi, carote, zucche, ect.) e negli ortaggi di colore verde scuro (spinaci, cicoria, radicchio, lattuga, ect.). In una dieta corretta, circa il 75% di vitamina A proviene dai carotenoidi.

Il fabbisogno giornaliero nell'adulto è di circa 5.000 UI (unità internazionali), uno sportivo richiede circa 50.000 UI al giorno.

Luteina - Zeaxantina

La luteina è il principale carotenoide contenuto nella retina, dove agisce come filtro protettivo dalla luce solare.

Si trova negli spinaci, porri, insalata e piselli.

Supplementazioni con luteina hanno dimostrato sperimentalmente la riduzione dell'insorgenza della degenerazione maculare, patologia associata all'età e causa principale della cecità nell'anziano, ai fumatori, le donne in post-menopausa e le persone con occhi chiari.

La zeaxantina è un altro carotenoide e potente antiossidante. E' contenuta soprattutto nei peperoni rossi e nel grano.

Polifenoli

I flavonoidi sono un gruppo di pigmenti contenuti nelle piante, a cui la scienza ha riconosciuto un largo spettro di azioni biologiche, tra cui una considerevole attività protettiva contro i danni causati dai radicali liberi. Sono detti anche bioflavonoidi e ne fanno parte la vitamina C2, P, i flavoni, etc. Tra questi ricordiamo inoltre la quercitina, l'epicatechina, i flavonoidi (colore chiaro dall'avorio al giallo), le antocianidine, le antocianine (colore rosso), il pycnogenolo, etc.

A questi composti si devono in gran parte i colori delle piante, dei fiori e dei frutti, e in base alla struttura chimica sono state individuate e classificate più di 4000 sostanze flavonoidi.

Hanno un effetto sinergico con la vitamina C e hanno grande importanza nel rafforzare i vasi sanguigni soprattutto i capillari. Esercitano una particolare azione protettiva nei confronti delle lipoproteine a bassa densità, LDL (colesterolo "cattivo" che si accumula nelle arterie), che hanno un ruolo fondamentale nella distribuzione cellulare dei grassi e della colesterina. Hanno inoltre proprietà antinfiammatorie, antiallergiche e antivirali. Proteggono particolarmente dalla cardiopatia ischemica (malattie delle coronarie, infarto) e dai tumori in genere.

Il fabbisogno giornaliero non è noto, ma si ritiene sufficiente un apporto di 50-200 mg/die.

Acido Lipoico

Conosciuto anche con il nome di acido tioctico, viene classificato fra le vitamine liposolubili. L'acido lipoico viene normalmente prodotto dal nostro corpo (capacità che diminuisce drasticamente dopo i 50 anni) oppure viene introdotto con le quote alimentari degli acidi grassi.

La principale funzione per cui è noto riguarda la sua azione antiossidante, azione molto potente che in alcuni casi riesce a sopperire alla carenza di vitamina C e vitamina E. Rigenera la vitamina E. Gli studi sulle sue azioni antiossidanti ne hanno evidenziato l'azione protettiva sui molti organi bersaglio dei radicali liberi in modo particolare sul cervello. L'acido lipoico esplica un'importante azione protettiva anche nei riguardi del colesterolo LDL (che quando aggredito dai radicali liberi porta ai depositi di grasso sulle pareti delle arterie).

Al contrario di molti altri antiossidanti, l'acido lipoico è solubile sia in acqua che in lipidi, questo gli consente di raggiungere i fluidi extracellulari attraverso il sistema ematico e, contemporaneamente, di svolgere la sua azione di difesa nei confronti del processo di perossidazione lipidica delle membrane cellulari.

La sua forma ridotta è detta acido diidrolipoico (DHHLA) ed è ancora più efficace.

E' assorbito in elevata quantità per via orale (80%), pur essendo attivo anche topicamente sulla pelle grazie alla facilità di penetrazione.

E' ipotizzabile l'uso in caso di calvizie androgenetica, infiammazioni, reazioni autoimmuni, psoriasi, acne, invecchiamento cutaneo. Una soluzione di acido lipoico al 5% protegge inoltre la pelle dall'ossidazione, e insieme alla sua forma ridotta (DHHLA) può prevenire e ridurre gli effetti dell'aging e del photoaging da raggi solari.

Trova inoltre applicazione nelle diete dimagranti, per l'ottimizzazione dell'utilizzazione dei carboidrati e della stabilizzazione dei livelli glicemici.

Un potente prodotto da tenere quindi considerazione per contrastare l'invecchiamento in generale (intrinseco ed estrinseco), da parte di chi pratica sport, da chi cura il proprio corpo, contro tutti i danni dei radicali liberi, dai diabetici, da chi pratica una dieta dimagrante.

La dose consigliata è fino a 600 mg al giorno circa.

Selenio

Tra gli oligoelementi, sostanze di cui l'organismo necessita in quantità esigue, è uno dei più importanti. La sua azione fondamentale consiste nell'attività antiossidante che esplica assieme alla vitamina A e soprattutto assieme alla vitamina E. E' inoltre contenuto nella glutazione perossidasi.

Si trova principalmente nei cereali, nelle uova e negli alimenti vegetali. La quantità di selenio riscontrata nel cibo dipende da quella presente nel suolo in cui sono stati coltivati, varia perciò notevolmente da zona a zona. In Italia l'alimentazione ne contiene quantità appena adeguate. In altri Paesi, la quantità nel terreno è così bassa che le carenze sono abbastanza diffuse.

Rame

Minerale che nell'organismo umano svolge molteplici funzioni biologiche tra le quali l'intervento nell'azione dell'enzima superossido dismutasi che neutralizza i radicali liberi. È presente nella sintesi dei fosfolipidi, nella produzione dell'acido ribonucleico (RNA), nell'utilizzazione della vitamina C e della tirosina. Favorisce l'accrescimento osseo e lo

sviluppo del sistema nervoso. Nei globuli rossi del sangue è richiesto per la sintesi del ferro, indispensabile al trasporto dell'emoglobina. È necessario per tenere uniti collagene ed elastina, per la produzione di melanina e per il metabolismo energetico.

La capacità di assorbimento del rame viene ridotta dalla presenza di zinco.

La carenza di rame provoca sintomi simili a quelli da carenza di ferro dei quali il più evidente è l'anemia.

Un eccesso produce irregolarità nelle mestruazioni, perdita di capelli e insonnia. Abbassa la quota di zinco presente.

Il fabbisogno giornaliero nell'adulto è di circa 2-3 mg.

Zinco

Minerale presente nei muscoli e nel fegato è parte integrante delle ossa e dei denti. Svolge diverse funzioni biologiche che rendono possibile l'azione di moltissimi enzimi. Insieme al rame potenzia l'azione dell'enzima superossido dismutasi. Interviene nella formazione delle proteine, in alcune funzioni ormonali e del sistema nervoso, nei processi di accrescimento e di riparazione dei danni ai tessuti e nella difesa immunitaria. La sua presenza si rende indispensabile per l'ottimale metabolismo del fosforo, per la digestione dei carboidrati, per la sintesi dell'acido nucleico e per l'assorbimento delle vitamine. Dipende dallo zinco anche la formazione dello sperma maschile e dell'ovulo femminile. Favorisce la formazione dell'insulina.

La carenza di zinco porta a disturbi anche seri a livello metabolico. Possono provocare una carenza di zinco i farmaci anti-MAO, i corticosteroidi, i diuretici ed altri. L'eccesso di alcool può determinare una carenza di zinco in quanto questo minerale fa parte dell'enzima indispensabile per scomporlo.

L'inalazione o ingestione di cadmio, come avviene per i fumatori, non permette un'ottimale utilizzazione di zinco.

Alcuni alimenti e minerali presenti nella dieta come i cereali crudi, le fibre, la caseina del latte, il ferro, il calcio e il rame, riducono la quantità di zinco assorbita a livello intestinale.

Un eccesso di zinco può impedire l'assorbimento del ferro e del rame.

Glutatione

Tripeptide prodotto nel fegato e composta da: cisteina, acido glutammico e glicina. E' tra i più potenti ed importanti antiossidanti prodotti dall'organismo, con una spiccata azione anti-invecchiamento.

Svolge numerose funzioni biologiche. E' indispensabile per l'attività della glutatione perossidasi, un enzima che svolge un'azione antiossidante all'interno delle membrane cellulari. Impedisce ai radicali liberi di legarsi alle proteine fibrose, salvaguardando così l'elasticità del collagene con benefici per la pelle e per le arterie. Specialmente a livello polmonare interviene nel sistema immunitario e contribuisce all'utilizzo ottimale degli aminoacidi della cisteina. Migliora l'utilizzo e la biodisponibilità del ferro ingerito con gli alimenti. Grazie alla sua capacità di chelare cioè legare i metalli, aiuta l'organismo a liberarsi dai metalli tossici come il mercurio, piombo, cadmio. Tampona gli effetti tossici dell'alcool, degli additivi e sostanze chimiche ingerite o inalate come i nitriti, nitrati, anilina, derivati dal toluolo e dal benzolo, ecc. Lo stesso per gli effetti dovuti a radiazioni e chemioterapici.

Avocado, cocomero, asparagi, pompelmo, patate, fragole, pomodori, arance, melone, carote, spinaci, pesche sono tra gli alimenti più ricchi di glutatione. Attenzione: cuocendo o riscaldando tali verdure o frutta, il glutatione presente viene completamente distrutto.

Non sono mai stati dimostrati effetti collaterali o tossici associati dovuti ad assunzione eccessiva.

Coenzima Q10

Appartiene al gruppo degli ubiquinoni. Viene sintetizzato dal nostro organismo ma la sua produzione diminuisce con l'invecchiamento.

Ha un'azione simile alla vitamina E. Tra le sue funzioni biologiche si evidenzia quella antiossidante in quanto nei mitocondri cellulari partecipa alla produzione di energia trasportando l'idrogeno nelle catene di ossido-riduzione.

Ha effetti benefici sul sistema cardiocircolatorio.

E' estremamente importante in quanto a differenza delle altre vitamine svolge la sua azione sia nella porzione acquosa che in quella lipidica delle cellule.

Il fabbisogno giornaliero per l'adulto è di circa 5 mg, aumenta quando si oltrepassano i 35-40 anni.

Melatonina

Secreta dalla ghiandola pineale (epifisi) posta al centro del cervello, è il risultato di complesse reazioni biochimiche che vedono come elementi di partenza il triptofano (aminoacido) e la serotonina (neurotrasmettitore).

La formazione di melatonina avviene anche nella retina, nell'intestino tenue, nelle piastrine del sangue, ecc.

La produzione di melatonina varia quantitativamente nell'arco delle 24 ore. Il picco massimo viene raggiunto di notte, tra l'una e le cinque (nella terza e quarta fase REM del sonno profondo). Questo permette un sonno ristoratore in grado anche di migliorare la capacità di autoriparazione e autorigenerazione delle cellule.

Intorno ai 40-45 anni diminuisce la sua secrezione.

Le sue principali funzioni biologiche, oltre a regolare i cicli di sonno-veglia, sono quelle di protezione del DNA cellulare dall'attacco dei radicali liberi e di stimolo del sistema immunitario. Contribuisce alla rigenerazione dei tessuti connettivi e alla protezione del sistema cardiocircolatorio. Regola il tono dell'umore, migliora la capacità di affrontare lo stress e gli stati patologici in quanto rafforza l'effetto delle endorfine e abbassa il livello di aldosterone e cortisolo (detti "ormoni dello stress").

La sua azione antiossidante è particolarmente efficace, in quanto agisce su diverse tipologie di radicali liberi, con una potenza valutata del doppio rispetto alla vitamina E e di ben cinque volte rispetto al glutatione.

ELENCO STUDI/PUBBLICAZIONI

Studi di Validazione

1. Oxidative stress detection: what for? Part I. Palmieri B, Sblendorio V. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 10(6): 291-317, 2006.
2. The FORD assay: a preliminary study. Torri C. Callegari SpA, 2006.
3. The FORT test: Reply to dr Harma and colleagues. Abramson JL. The FORT test: A novel oxidative stress marker or a well-known measure of ceruloplasmin oxidase activity? Harma MI. *Atherosclerosis* 187: 441-444, 2006.
4. Confronto fra due metodi di misura dei lipidi-idroperossidi nel plasma. Giovannini F, Masini A, Torri C, Trenti T. *Biochimica Clinica*, 28 (1): p.200, 36° Congresso Nazionale SIBioC, 2004.
5. Hydroperoxides in venous blood: a comparison between two photometric methods. Dossett A and Arends J. *Klinik für Tumorbologie an der Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg*.
6. Normal Values and Reproducibility of the Major Oxidative Stress obtained thanks to FORM System. Dal Negro R W, Visconti M, Micheletto C, Pomari C, Squaranti M, Turati C, Trevisan F, Tognella S. *GIMT, Italian Journal of Chest Diseases*, 57 (3): 199-209, 2003.
7. Oxidative Stress, Human Diseases and Biomarkers. Torri C. *Clinical Laboratory International*, 27(5): 28-29, 2003.
8. Innovatives Testsystem kann oxidativen stress messen. *Naturamed* 18 (4): 2003.
9. Radicales Oxidativos Libres. Flichman JC, Adelardi V, Erijman M. *Pren Mèd Argent*, 90: 710-712, 2003.
10. FORT Linearity. Bonaretti Pietro, Callegari SpA, 2003.
11. Comparison between two Different Methods of Lipid Peroxidation Determination. Masini A., Giovannini F. Dept. Biomedical Sciences, Sect. Pathology, University of Modena and Reggio Emilia, Italy, 2003.
12. Oxidativer Stress – ausgefeilte Technik macht Messung möglich. *Der Neue Apotheker*, Juli, 2003.
13. The Form System: an EPR Analysis, Callegari SpA, 2003.
14. Einfache, schnelle Messung der freien Radikale. *Deutsche Apotheker Zeitung* 142 Jahrgang; 22: 2002.
15. Oxidativer Stress – Radikalassoiierte Erkrankungen: Belastung mit freien Radikalen ermitteln. *Symposium MEDICAL 8*: 2002.
16. Oxidativer Stress – Neues Testgerät ermöglicht gezielte Patientenberatung. *PharmaRundschau* 7-8: 2002.
17. Oxidativer Stress – endlich ohne groben Aufwand messbar! Döll M. *HealthCare*, Ausgabe, 1: 2002.
18. Report on the Efficiency and Reliability of the FORM System. Jori G. Dept. of Biology, University of Padova, Italy, 2002.

Oncologia

1. A phase II study with antioxidants, both in the diet and supplemented, pharmacnutritional support, progestagen, and anti-cyclooxygenase-2 showing efficacy and safety in patients with cancer-related anorexia/cachexia and oxidative stress. Mantovani G, Macciò A, Madeddu C, Gramignano G, Lusso MR, Serpe R, Massa E, Astara G, and Deiana L. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15(5): 1030-1034, 2006.
2. Efficacy of L-carnitine administration on fatigue, nutritional status, oxidative stress, and related quality of life in 12 advanced cancer patients undergoing anticancer therapy. Gramignano G, Lusso MR, Madeddu C, Massa E, Serpe R, Deiana L, Laconica G, Dessì M, Spiga C, Astara G, Macciò A, and Mantovani G. *Nutrition* 22: 136-145, 2006.
3. Hemoglobin levels correlate with interleukin-6 levels in patients with advanced untreated epithelial ovarian cancer: role of inflammation in cancer-related anemia. Macciò A, Madeddu C, Massa D, Mudu MC, Lusso MR, Gramignano G, Serpe R, Melis CB and Mantovani G. *Blood* 106 (1): 362-367, 2005.
4. Cancer related anorexia/cachexia (CACS) and oxidative stress: an innovative approach beyond current treatment. Mantovani G, Madeddu C, Macciò A, Gramignano G, Lusso MR, Massa E, Astara G, Serpe R. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13: 1651-1659, 2004.
5. Subcutaneous interleukin-2 in combination with medroxyprogesterone acetate and antioxidants in advanced cancer responders to previous chemotherapy: phase II study evaluating clinical, quality of life, and laboratory parameters. Mantovani G, Madeddu C, Gramignano G, Lusso MR, Mocchi M, Massa E, Ferreli L, Astara G, Macciò A, and Serpe R. *J Exp Ther Oncol* 3: 205-219, 2003.

Malattie Cardiovascolari

1. Relationship between Oxidative Stress parameters and Atherosclerotic Carotid plaque. Riccioni G, Sblendorio V, Mancini B, Paolino I, Palumbo N, Guerra PA, Palmieri B. *World Conference of Stress*. 23-26 August, Budapest, Hungary, 2007.
2. Association between novel oxidative stress markers and C-reactive protein among adults without clinical coronary heart disease. Abramson JL, Hooper WC, Jones DP, Ashfaq S, Rhodes SD, Weintraub WS, Harrison DG, Quyyumi AA, Vaccarino V. *Atherosclerosis* 178: 115-121, 2005.
3. Form System Application on Healthy and Phlebopathic Subjects. Tomasi A. *Sect. of Pathology, Dept. of Biochemical Sciences, University of Modena and Reggio Emilia, Italy*, 2002.

Ematologia

1. FORT and FORD two novel assays for the assessment of oxidative stress in patients with thalassemia intermedia and sickle cell disease. Papastamataki M, Apostolou F, Lazaropoulou C, Masiouri C, Ladis V, Kanavakis E, Kattamis A. *12th Congress of the European Hematology Association (EHA), Neue Messe Vienna, Austria, June 7-10, 2007*.

Malattie Infiammatorie ed Infettive

1. Oxidative status in Chronic Liver Disease. Sblendorio V, Palmieri B, Tesini EMC; Vandelli C. World Conference of Stress. 23-26 August, Budapest, Hungary, 2007.

Ostetricia e Ginecologia

1. Menopause and Oxidative Stress: Effect of methyltetrahydrofolate Supplementation. Sblendorio V, Cannoletta M, Palmieri B, Cagnacci A. World Conference of Stress. 23-26 August, Budapest, Hungary, 2007.

Neonatologia e Pediatria

1. Changes of Reactive Oxygen Species (ROS) in Infants after Supplementary Surfactant. Parmigiani S. J Perinat Med 34 (Suppl. I) – Advances in Perinatal Medicine – 5th, 2006.
2. C-Reactive protein versus reactive oxygen species in infants. Parmigiani S and Bevilacqua G. J Perinat Med 33 (Suppl 1), 2005.
3. Reactive oxygen species (ROS) after surfactant administration in premature infants. Parmigiani S and Bevilacqua G. 20th International Workshop on Surfactant Replacement, Belfast, 2-5 June, 2005.
4. Determination of Reactive Oxygen Species: Evaluation of a Simple Colorimetric Method. Parmigiani S, Grassi L, Solari E, Torri C, Bacchi-Modena A, Bevilacqua G. J Perinat Med 31 (Suppl 1): pp-264, 6th World Congress of Perinatal Medicine, 2003.

Malattie Respiratorie

1. Blood measures of oxidative stress assessed in capillary blood: range of measures in normals and asymptomatic current smokers. M. Visconti, C. Micheletto, S. Tognella, F. Trevisan, C. Pomari, RW. Dal Negro. European Respiratory Journal 22 (Suppl 45): pp. 83S, 13th ERS Annual Congress, 2003.
2. Effects of montelukast 10 mg OD or placebo on blood ROS levels in current smokers: a controlled, randomised, double blind-study. RW. Dal Negro, C. Micheletto, M. Visconti. European Respiratory Journal 22 (Suppl 45): pp. 101S, 13th ERS Annual Congress, 2003.
3. Indicatori Bed-side dello Stress Ossidativo. C. Micheletto, M. Visconti. UO Pneumologia, Ospedale Orlandi, Bussolengo, VR. Proceedings of the 6° ACCP Meeting (American College of Chest Physicians, Capitolo Italiano), Asma Bronchiale e BPCO: Obiettivi Rimedi Strategie, 22-24 Gennaio, Palazzo della Gran Guardia, Verona, Italy, 2003.
4. Variabilità, Ripetibilità e Valori di Normalità delle Misure di Stress Ossidativo determinate mediante Form System. Visconti M, Micheletto C, Dal Negro RW. UO Pneumologia, Ospedale Orlandi, Bussolengo, VR. Proceedings from 6° ACCP Meeting (American College of Chest Physicians, Capitolo Italiano), Asma Bronchiale e BPCO: Obiettivi Rimedi Strategie, 22-24 Gennaio, Palazzo della Gran Guardia, Verona, Italy, 2003.

-
5. Oxygen Free Radicals Measurement in Capillary Blood in Healthy Subjects, Smokers and COPD Patients. Verduri A, Del Donno M, Chetta A, Olivieri D. Dip. Malattie Respiratorie, Università degli Studi di Parma. Proceeding from 98th International Conference, American Thoracic Society, May 17-22, Atlanta, Georgia, USA, 2002.

Dermatologia

1. A quantitative evaluation of the PEFS treatment by Thermotone Plus and oxidative stress level measurement. E. Raposio, I. Baldelli, P. Barabino, E. Canini, F. Ugolini, A. Caielli, C. Porzio, P.L. Santi, U.O. 2th International Congress of Preventive Medicine and Healthy Aging, Milan, 13-14 April, 2007.

Malattie Neurodegenerative

1. Form and Parkinson's Disease. Agnati L.F. and Leo G. Sect. of Physiology, Dept. of Biochemical Sciences, University of Modena and Reggio Emilia, Italy, 2002.

Disordini Metabolici

1. Form and Obesity. Agnati L.F. and Leo G. Sect. of Physiology, Dept. of Biochemical Sciences, University of Modena and Reggio Emilia, Italy, 2002.

Medicina Alternativa

1. Oxidative Stress and Quantum Therapies. Zabala BE, Flichman JC. Quant Med Assoc, 33-35, 2005.
2. Hyperacusis treatment with a combination of Laser therapy, Pulsed Electromagnetic Field Therapy and Reactive Oxygen Specimen Control. PA Mikael Backman, ALIR Forlag, 2004.

Odontoiatria

1. Kvicksilver i amalgamfyllningar – en oacceptabel halsorisk. Magnus N. Medikament 5-04, Sweden, 2004.