

Av **KIRSTI BERG**, bioingeniør, PhD i klinisk medisin, postdoktor ved NTNU, Det medisinske fakultet og **KRISTINE LJONES**, bioingeniør, MSc i molekylærmedisin, student ved NTNU, Det medisinske fakultet  
E-post: kirsti.berg@ntnu.no

# Oksygen – venn eller fiende?

## Dannelse og eliminering av reaktive oksygensubstanser i kroppen

Alle aerobe organismer er avhengig av oksygen for effektiv energiproduksjon. Samtidig gir oksygen opphav til reaktive oksygensubstanser (ROS) som er potensielt skadelige for organismen. Dette blir ofte omtalt som oksygenparadokset (1). ROS er en samlebetegnelse for oksygenradikaler ("frie radikaler") og enkelte ikke-radikale oksygensubstanser. Frie radikaler og oksidativt stress har vært vanlige begreper i medisinsk litteratur i mer enn 40 år. Et søk på PubMed (010210) viser nesten 180 000 publikasjoner når en søker på "free radicals", mens "oxidative stress" gir 12 810 publikasjoner. Allerede i artikkelen "Experimental liver necrosis. v. the fats and lipoids", som ble publisert i *The Journal of Experimental Medicine* i 1907, brukes begrepet radikal om et fettderivat som mulig årsak til levernekrose (2).

Oksidativt stress kan føre til molekylære skader som DNA-mutasjoner og lipid- og proteinoksidering. Dette kan igjen bidra til aldring og aldersrelaterte degenerative sykdommer, fremme kreftutvikling og bidra til inflammatoriske sykdommer (3).

Populærlitteratur og helseprogrammer forteller om "frie radikaler" som noe man må bekjempe, og dette danner grunnlaget for at det anbefales å spise antioksidantrik mat. For noen år tilbake ble stortingsmeldingen "Resept for et sunnere Norge" lagt frem, og med utgangspunkt i denne gikk norske myndigheter ut med anbefalinger om å spise "fem om dagen". Dette ble også benyttet som slagord i en kampanje støttet av frukt- og grønnsaksbransjen for å få nordmenn til å spise mer frukt og grønnsaker. Kampanjen har slått godt an i befolkningen selv om den også har blitt kritisert blant annet fordi den ikke har forklart hvorfor dette gir helsegevinst.

Ikke alle radikaler regnes som skadelige og sykdomsfremkallende. Nitrogenmonoksid ( $\cdot\text{NO}$ ) er et radikal som blant annet har den egenskap at det virker vaso-

dilaterende (blodårer utvides). Det er  $\cdot\text{NO}$  som er virkestoffet i hjertemedisinen nitroglycerin og i potensmiddelet Viagra. Balansen mellom superoksid ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) og  $\cdot\text{NO}$  ser ut til å spille en sentral rolle ved utvikling av aterosklerose og sykdommer relatert til prosesser som hjertekrampe (angina pectoris) og hjerteinfarkt (4).

Denne oversiktsartikkelen vil definere noen viktige begreper i denne sammenhengen, hvordan frie radikaler dannes, elimineres og hvordan disse kan påvirke ulike prosesser i kroppen. Artikkelen viser også noe av samspillet mellom radikaler og antioksidanter som i seinere tid har vist seg å være helt nødvendig for viktige cellulære prosesser som celsignalisering. Artikkelen gir også et kort innblikk i utfordringer med deteksjon av slike forbindelser.

### Materiale og metode

Artikkelen er basert på en ikke-systematisk gjennomgang av litteratur funnet ved søk i PubMed med søkeordene "oxidative stress", "ROS", "antioxidants" samt egne erfaringer gjennom arbeid med temaene oksidativt stress og iskemisk hjertesykdom (5).

## Sammendrag

**Bakgrunn:** Alle aerobe organismer er avhengig av oksygen for effektiv energiproduksjon, men samtidig er oksygen kilde til potensielt skadelige reaktive oksygensubstanser (ROS). Hvordan dannes ROS og hvordan elimineres disse forbindelsene i kroppen? Hva er oksidativt stress og hvor skadelig er dette? Finnes det gode metoder for påvisning av oksidativt stress og hvilke bør man eventuelt velge?

**Materiale og metode:** Artikkelen er basert på ikke-systematisk litteraturgjennomgang og egne vitenskapelige erfaringer.

**Resultater og fortolkning:** ROS dannes under normal fysiologi og har sin funksjon innen normal celsignalisering. Oksidativt stress fører til oksidative skader på biomolekyler som sees ved blant annet aldring og en rekke sykdommer. Påvisning av ROS er en utfordring blant annet på grunn av manglende stabile biomarkører som predikerer sykdom. Som følge av kroppens adaptive mekanismer er det ikke alltid lett å overføre cellestudier til klinikken. Om eksogent tilførte antioksidanter er veien å gå for å hindre sykdom eller forlenge livet på andre måter gjenstår å se.

**Nøkkelord:** oksidativt stress, ROS, antioksidanter.

Bioingeniøren er godkjent som vitenskapelig tidsskrift. Denne artikkelen er fagfellevurdert og godkjent etter Bioingeniørens retningslinjer.

## ROS-dannelse

ROS dannes i små mengder under normal metabolisme i alle celletyper. Ulike ROS dannes i stor grad som en kaskade av reaksjoner som starter med produksjon av  $\cdot\text{O}_2$  fra molekylært oksygen via ulike enzymsystemer (figur 1).  $\cdot\text{O}_2$  dismuterer raskt til  $\text{H}_2\text{O}_2$ , enten spontant eller katalysert av enzymet superoksid dismutase (SOD) som øker reaksjonshastigheten med en faktor på  $10^9$  (6).  $\text{H}_2\text{O}_2$  har en halveringstid på et par sekunder og dannes i molare konsentrasjoner *in vivo*. I motsetning til  $\cdot\text{O}_2$ , som er et hydrofilt molekyl, er  $\text{H}_2\text{O}_2$  fettløselig med stor rekkevidde og kan passere cellemembraner. Verken  $\cdot\text{O}_2$  eller  $\text{H}_2\text{O}_2$  ser ut til å være ekstremt reaktive i seg selv, men begge forbindelsene kan inngå i produksjonen av andre mer potente ROS som hydrok-syl ( $\cdot\text{OH}$ ) og peroksynitritt (ONOO $\cdot$ ). I nærvær av reduserte transisjonsmetaller ( $\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^+$ ) spaltes  $\text{H}_2\text{O}_2$  til  $\cdot\text{OH}$  og OH $\cdot$  i en reaksjon kalt for Fentonreaksjonen. Reaksjonen mellom  $\cdot\text{NO}$  og  $\cdot\text{O}_2$ , gir opphav til ONOO $\cdot$ . Både  $\cdot\text{OH}$  og ONOO $\cdot$  har ekstremt kort levetid ( $\cdot\text{OH}$  har en halveringstid på  $10^{-9}$  s) og regnes som de mest potente reaktive substansene (ROS/RNS) som forekommer *in vivo*. De reagerer med alle biomolekyler i umiddelbar nærhet av dannelsesstedet og gir irreversible oksidative skader på lipider i cellemembraner, proteiner (enzym) og DNA. Det er ingen kjente endogene antioksidante forsvarsmekanismer som tar hånd om disse forbindelsene og det er derfor viktig å hindre dannelse av dem.

## Endogene og eksogene forsvarssystemer mot ROS

Antioksidanter eller antioksidantsystemer er en samlebetegnelse på ulike substanser (endogene og eksogene) som er med på å redusere nivået av ROS ved å: 1) hindre dannelse, 2) fjerne allerede dannet ROS – såkalte scavengere, eller 3) reparere allerede skadede molekyler (7, 8).

### (Fri) radikal

Et radikal er et atom eller molekyl som har ett eller flere uparede elektroner i ytterste skall (et fritt elektron), og som derfor er svært reaktivt. Når et radikal reagerer med et ikke-radikal, enten ved å ta opp eller ved å gi fra seg et elektron, vil det dannes et nytt radikal. Dette fører ofte til kjedereaksjoner med dannelse av nye radikaler. I skriftlig terminologi benevnes radikaler med en prikk ("dot") foran. For eksempel superoksid ( $\text{O}_2\cdot$ ).

### Reaktive oksygenstoffer (ROS)

ROS er oksygenbaserte molekyler karakterisert ved høy kjemisk reaktivitet. Begrepet ROS inkluderer både oksygenradikaler, som superoksid ( $\text{O}_2\cdot$ ) og hydroksylradikal ( $\cdot\text{OH}$ ), og enkelte ikke-radikale forbindelser med stort potensial for å utveksle elektroner med andre molekyler. Eksempler på slike ikke-radikale inkluderer hypoklor-syre (HOCl) og hydrogenperoksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Reaktive nitrogensubstanser (RNS) er en betegnelse for reaktive stoffer inneholdende nitrogen, som nitrogenmonoksid ( $\cdot\text{NO}$ ) og peroksynitritt (ONOO $\cdot$ ).

### Oksidasjon

En kjemisk reaksjon hvor et stoff gir fra seg elektroner, tar opp oksygen eller gir fra seg  $2\text{H}^+$ .

### Oksidativt stress

Oksidativt stress er definert som en ubalanse mellom ROS og antioksidanter i favør av ROS (31).

### Oksidativ skade

Skade på biomolekyler som lipider, DNA og proteiner forårsaket av ROS.

### Antioksidant

Antioksidanter er en samlebetegnelse for en heterogen gruppe stoffer definert som "en substans som, når den er til stede i lave konsentrasjoner sammenlignet med et oksiderbart substrat, hemmer oksidasjon av substratet" (32). Denne definisjonen eliminerer en del antioksidante substanser som naturlig forekommer i høye konsentrasjoner (urat, glutation (GSH), bilirubin). Det eksisterer derfor også andre definisjoner: "enhver substans som hemmer oksidative skader ved naturlige konsentrasjoner" (33).

Endogene, antioksidierende forsvarssystemer er med på å regulere nivået av ROS i kroppen og er av avgjørende betydning for organismens overlevelse. Forsvarsmekanismene varierer i ulike intracellulære og ekstracellulære rom og består av både enzymatiske og ikke-enzymatiske mekanismer (9, 10). En del av disse reaksjonene er vist i figur 1.

## Abstract

### Oxygen – friend or foe?

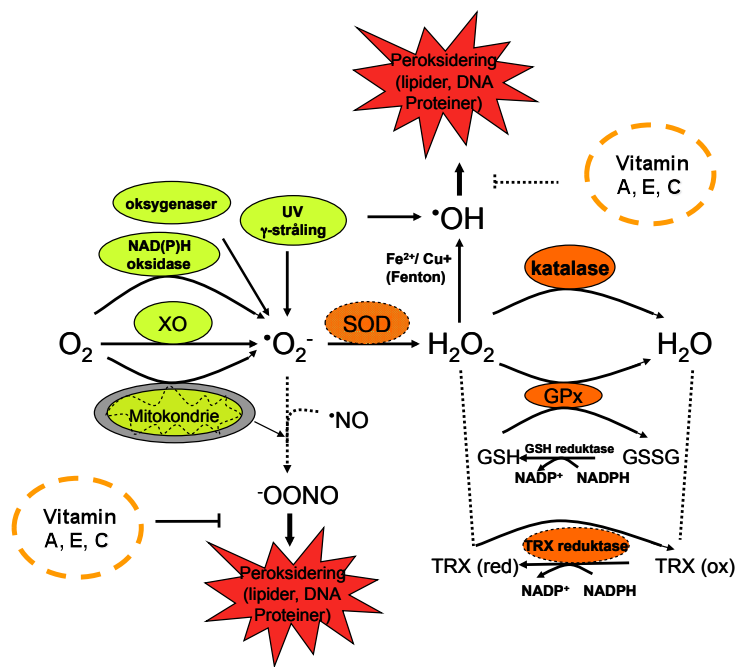
#### Formation and elimination of reactive oxygen substances in the body

**Background:** All aerobic organisms are dependent on oxygen for efficient energy production. However, oxygen is also the source of potentially detrimental reactive oxygen species (ROS). How are ROS produced and how are they eliminated from the body? What is oxidative stress and how harmful is it? Are there any good detection methods for oxidative stress and if so, which should be used?

**Material and method:** This article is based on a non-systematic literature search and own scientific experiences.

**Results and interpretation:** ROS is produced in normal physiology where it functions in normal cell signalling. Oxidative stress results in oxidative damage of biomolecules which is seen in aging and a series of different diseases. Detection of ROS represents a challenge because of the lack of stability of biomarkers that predict disease, among other factors. Furthermore the body's adaptive mechanisms make it difficult to transfer results from cell studies to clinical practice. Whether exogenously supplied antioxidants are the way to go to prevent disease or prolong life by other means is still not clear.

**Keywords:** oxidative stress, ROS, antioxidants.

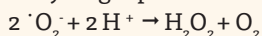


Figur 1. Hovedmekanismer for dannelse og eliminering av ROS. Substanser i de grønne ellipsene representerer enzymsystemer og andre kilder for dannelse av ROS. Orange ellipser representerer antioksidante enzymsystemer. Forkortelser: XO = Xantinoksidase, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> = superoksid, •OH = hydroksylradikal, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = hydrogenperoksid, SOD = superoksid-dismutase, GPx = glutationperoksidase, TRX = tioredoksin.

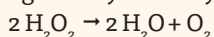
**Endogene, enzymatiske forsvarsmekanismer**

Mange endogene forsvarsmekanismer er metallo-enzymmer (har et metallion i sitt katalytiske sete) noe som er årsaken til at ulike spormetaller har blitt kjent som antioksidanter.

- SOD er et metalloenzym med enten mangan (Mn) eller kobber/sink (Cu/Zn) i sitt katalytiske sete. MnSOD finnes i mitokondriene, mens Cu/ZnSOD eksisterer både intracellulært i cytosol og i ekstracellulær væske (plasma). SOD katalyserer dismutasjon av superoksid til hydrogenperoksid:



- Katalase er et metalloenzym som i likhet med hemoglobin inneholder en heme-gruppe (porfyrinring omgitt av et jernatom). Katalase katalyserer videre håndtering av hydrogenperoksid ved hydrolyse til vann og molekylært oksygen:

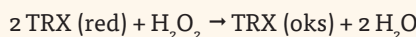


- Glutation peroksidase (Gpx) er et selenholdig

metalloenzym som også er med på å fjerne hydrogenperoksid ved at H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oksiderer redusert glutation (GSH) og det dannes glutation disulfid (GSSG) og vann:



- Tioredoksinsystemet inkluderer tioredoksin-reduktase (TrxR) og tioredoksin (Trx). TrxR regulerer nivået av H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ved å katalysere tilbakedannelsen av oksidert Trx til redusert Trx:



**Ikke-enzymatiske forsvarsmekanismer**

- Vitamin E er en klasse av lipidløselige fenolkomponenter som finnes i cellemembraner og lipoproteiner. De deles inn i subgrupper av tokoferoler (α, β, δ, γ,) og tokotrienoler. α-tokoferol er den vanligste, og den formen av vitamin E som er mest aktiv i mammalske celler. Tokoferoler tar opp uparede elektroner og er viktige hemmere av lipidperoksidering. Dette fører til at de selv blir frie radikaler (tokoferolradikaler), men deres kjemiske struktur gjør dem til mindre reaktive forbindelser enn de opprinnelige. Tokoferol har også evnen til å redusere oksidert jern eller kobber som kan inngå i Fentonreaksjonen, og kan dermed også fungere som en prooksidant (11, 12).

- Askorbinsyre (vitamin C) er en vannløselig antioksidant som har evnen til å fjerne ROS i cytoplasma (reagerer med radikaler og blir selv et mindre reaktivt radikal). Vitamin C reduserer lipidperoksidering både ved å fungere som scavenger for vannløselige radikaler og ved å regenerere oksidert vitamin E sammen med GSH og NADPH (figur 2) (13). Vitamin C kan i likhet med vitamin E være en prooksidant fordi det har evnen til å redusere oksiderte transisjonsmetallioner. Om vitamin E og C fungerer som antioksidant eller pro-

**Eksempel på et medikament med antioksidante virkningsmekanismer**

Glutation (GSH) syntetiseres intracellulært i en energikrevende reaksjon mellom aminosyrene glutamat, glysin og cystein. Cystein er den hastighetsbegrensede faktoren i denne reaksjonen. N-acetyl-cystein (NAC) er et legemiddel som øker nivået av cystein og derved nivået av GSH. NAC har en viktig klinisk anvendelse som antidot ved paracetamolforgiftninger (34). Slike forgiftninger kan tenkes å senke nivået av GSH via detoksiseringsreaksjoner i leveren og NAC vil da øke cystein-nivået intracellulært og derved øke syntesen av GSH (35).

oksidant er avhengig av konsentrasjonen samt tilstedeværelsen av fritt jern (eller kobber) (11).

– Vitamin A er lipidløselige substanser som inkluderer retinol og retinolestere. Retinoler spiller en viktig rolle innen regulering av cellevekst, differensiering og apoptose, og plasmakonsentrasjonen er homeostatisk kontrollert. Retinol og retinolesterens eventuelle antioksidante egenskaper er usikre (14, 15).

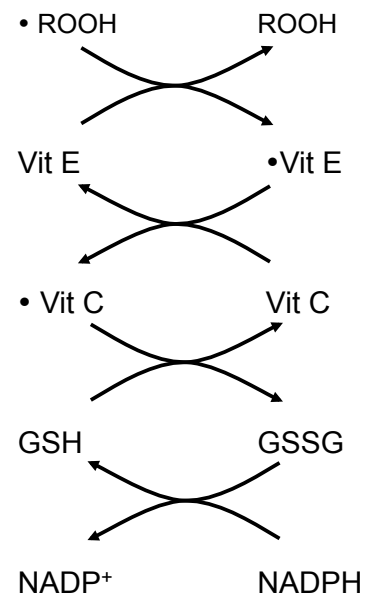
– Karotenoider inkluderer en gruppe på mer enn 600 lipidløselige komponenter som forekommer naturlig i frukt og grønnsaker. Mange karotenoider er forløpere til vitamin A, og blir derfor ofte klassifisert innen denne gruppen. De vanligste formene er  $\alpha$ - og  $\beta$ -karotenoider. I motsetning til retinolene, er ikke karotenoider underlagt homeostatisk kontroll og plasmanivået reflekterer diettinntaket (14). I likhet med tokoferoler har karotenoider vist seg å virke hemmende på lipidperoksidering (16).

– Glutation (GSH;  $\gamma$ -glutamyl-cysteinglysin) er en av de viktigste beskyttelsesmekanismene mot ROS. GSH finnes i alle kroppens celler og har til hovedfunksjon å beskytte cellene mot oksidative skader ved å redusere  $H_2O_2$  og andre peroksider. I prosessen omdannes GSH til dets oksiderte form, glutation disulfid (GSSG). Som følge av at glutation reduktase raskt tilbakedanner redusert glutation, finnes forbindelsen hovedsakelig i redusert form. GSH/GSSG-ratioen i celler har vært mye brukt som et mål på oksidativt stress (17).

– Proteiner som binder til seg transisjonsmetallioner og dermed kan forhindre Fentonreaksjon (for eksempel transferrin, ferritin og albumin) (3, 10, 18).

– Protein-, lipid-, og DNA-reparasjonssystemer som spesifikt reparerer oksidativ skade av slike makromolekyler (19).

Tabell 1. Kriterier for en ideell biomarkør for oksidativ skade
A. Kjernekrterium
a. Biomarkøren er prediktiv for senere utvikling av sykdom
B. Teknisk kriterium
a. Metoden skal være nøyaktig og presis
b. Nivået skal ikke variere for samme pasient under samme forhold ved ulike tidspunkt
c. Metoden skal være basert på kjemisk robust teknologi
d. Biomarkøren skal ikke variere med diett
e. Biomarkøren skal detektere hoveddelen, eller i det minste en bestemt prosentandel, av total oksidativ skade i forhold til en på forhånd definert markør in vivo
f. Biomarkøren skal være mest mulig stabil



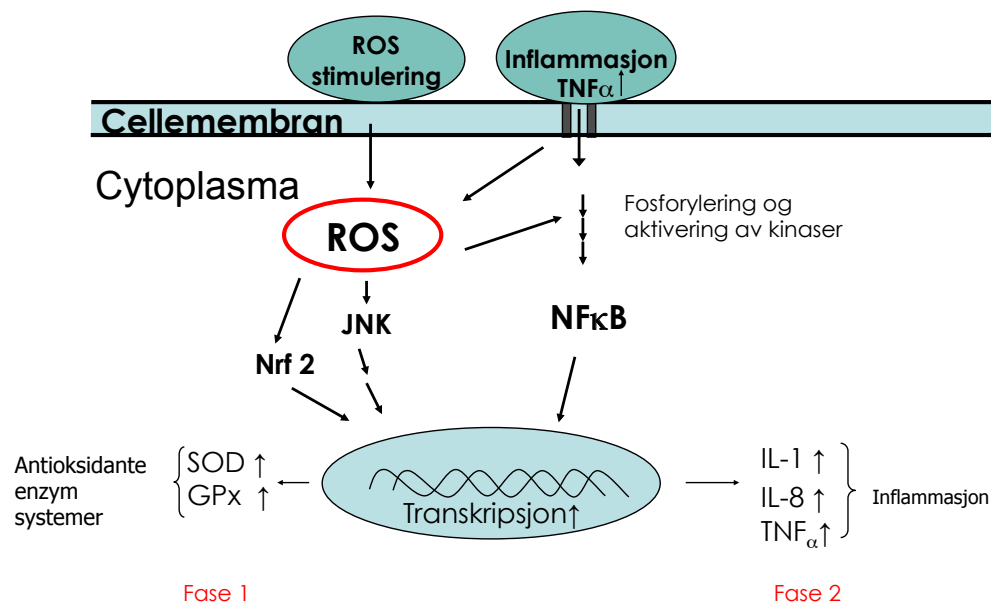
Figur 2. Regenerering av peroksyldradikal ( $\bullet$  ROOH) ved hjelp av Vitamin E, Vitamin C, GSH og NADPH.

– Oksidativt stress stimulerer gjerne antioksidierende mekanismer, inkludert SOD. Dette fører til at oksidativt stress ofte er forbundet med kompensatorisk forhøyede enzymnivåer (20).

## ROS som signalmolekyl

Mange av de høyreaktive ROS-typene forekommer hovedsakelig i områder med inflammasjon og der man finner infiltrerende leukocytter, hvor de bidrar til å uskadeliggjøre bakterier, virus og andre skademediatorer. Dette ble lenge oppfattet som den eneste fysiologiske funksjonen til ROS. Det har i den senere tid imidlertid blitt stadig tydeligere at ROS også har sentrale roller som regulatorer av et stort antall reversible, biologiske prosesser i så å si alle celler og vev (3, 21, 22). ROS kan blant annet fungere som signalmolekyler (second messenger) for veksthormoner, cytokiner og G-proteinkoblede reseptorer. ROS deltar i reguleringen av ulike transkripsjonsfaktorer, inkludert Nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), c-Jun N-terminal kinase (JNK), NR-E2-related factor (Nrf-2) og påfølgende genekspressjon (se figur 3). Det er også med i reguleringen av transportproteiner og ionekanaler (spesielt  $K^+$ - og  $Ca^{2+}$ -kanaler), immunfunksjoner (blant annet i leukocytter) og i regulering av celleproliferasjon (lave ROS-nivåer er vist å indusere deling og proliferasjon, mens høyere nivåer induserer apoptose (programmert celledød) og eventuelt nekrose) (3, 23).





Figur 3. Figuren viser ROS sin innvirkning på ulike signalveier intracellulært etter eksponering av for eksempel en partikkel ved forurensning eller via tumornekrosefaktor (TNF) $\alpha$ . ROS er helt sentral i forbindelse med aktivering av transkripsjonsfaktorer, med blant annet aktivering av ulike kinaser. ROS aktiverer i første fase (Fase 1) antioksidative reaksjonsveger via transkripsjonsfaktor Nrf2 og kinasevegen JNK med økt transkripsjon av bl.a. SOD og Gpx. Fase 2 aktiveres via NF $\kappa$ B som er en helt sentral transkripsjonsfaktor ved inflammasjon og regulerer genuttrykk for mange ulike proinflammatoriske produkter – cytokiner og kjemokiner vist her ved interleukin (IL) -1 og 8 samt TNF $\alpha$ .

NF- $\kappa$ B er en sentral transkripsjonsfaktor ved inflammasjon og er som sådan en viktig regulator av ekspresjonen av mange ulike proinflammatoriske proteiner som interleukin (IL)-1 og -8 og TNF- $\alpha$ . Nrf-2 ser derimot ut til å være en transkripsjonsfaktor med stor innflytelse på gener som gir opphav til ulike antioksidative produkter, som Gpx og SOD (figur 3). Dette viser også klare sammenhenger mellom oksidativt stress og inflammasjon. Ved en tilfeldighet oppdaget en gruppe hjerteforskere i 1986 at små episoder med iskemi (reduert blodtilførsel) og reperfusjon (reetablering av blodtilførselen) før en lengre iskemi reduserte infarktstørrelsen (24). Fenomenet kalles prekondisjonering, og det er vist at effekten av prekondisjonering går via aktivering av ROS-relaterte signalveier. Den beskyttende mekanismen induseres ikke bare av iskemi, men også av medikamentelle manipuleringer (25). Mye tyder på at prekondisjonering kan være en av effektene av høyintensiv trening (utholdenhetstrening) hvor nivået av ROS øker. Kroppen responderer med å oppregulere det antioksidante forsvaret, noe som gir en redusert risiko for utvikling av ulike sykdommer som blant annet hjerteinfarkt og kardiovaskulær død. Under trening blir kroppen utsatt for store mengder oksygen og derfor store mengder ROS. Mange studier har vist en økning av blant annet katalase, Gpx og SOD etter slike treningsopplegg (26).

## Nivåbasert oksidativt stress hypotese

Som vist i figur 3 ser det ut til å være en nær sammenheng mellom oksidativt stress, inflammasjon og programmert celledød (apoptose). Om det er ROS som fører til inflammasjon eller omvendt, strides det om, men flere av mekanismene bak ROS-dannelse ser ut til å påvirke inflammatoriske prosesser og omvendt. En hypotese om "Nivåbasert oksidativt stress" ble beskrevet av en amerikansk gruppe og publisert i 2003 (27) (figur 4). Ved normale fysiologiske forhold dannes små mengder med ROS for normal celledesignalering (nivå 0). Økt dannelse av ROS i moderate mengder setter i gang antioksidative forsvarssystemer som adaptive prosesser ved for eksempel prekondisjonering (nivå 1). Ytterligere skade som overskrider de antioksidative forsvarsmekanismene fører til oksidativt stress og inflammasjon (nivå 2). Ved ytterligere oksidativt stress manifesteres en irreversibel skade og apoptose (nivå 3).

## Ny definisjon av oksidativt stress

De molekylære effektene av ROS innen celledesignalering er først og fremst som modulator i redoks-sensitive signalveier. Den klassiske definisjonen av oksidativt stress (se side 7) viser til en ubalanse mellom oksidantproduksjonen og antioksidierende forsvars-

mekanismer i cellen (cellens globale redoksstatus). En rekke nyere studier har pekt i retning av at individuelle signalveier kontrolleres av subcellulært avgrensede redokskjeder og at unormal aktivitet kan føre til oksidativ skade uten at det kan registreres endring i den globale redoksbalansen. Dette førte til at D.P. Jones i 2006 fremsatte en alternativ definisjon av oksidativ stress: "A disruption of redox signalling and control" (28).

## Deteksjon av ROS

På grunn av ROS' flyktige natur er det en stor utfordring å kvantifisere ROS eller oksidativ stress *in vivo*. I eksperimentelle cellestudier benytter man seg ofte av prober som omdannes til målbare, stabile produkter basert på fargereaksjoner, fluorescens eller kjemiluminescens. Slike prober må være tilstede før ROS dannes og er som regel toksiske. Dette gjør metodene uegnet i kliniske studier.

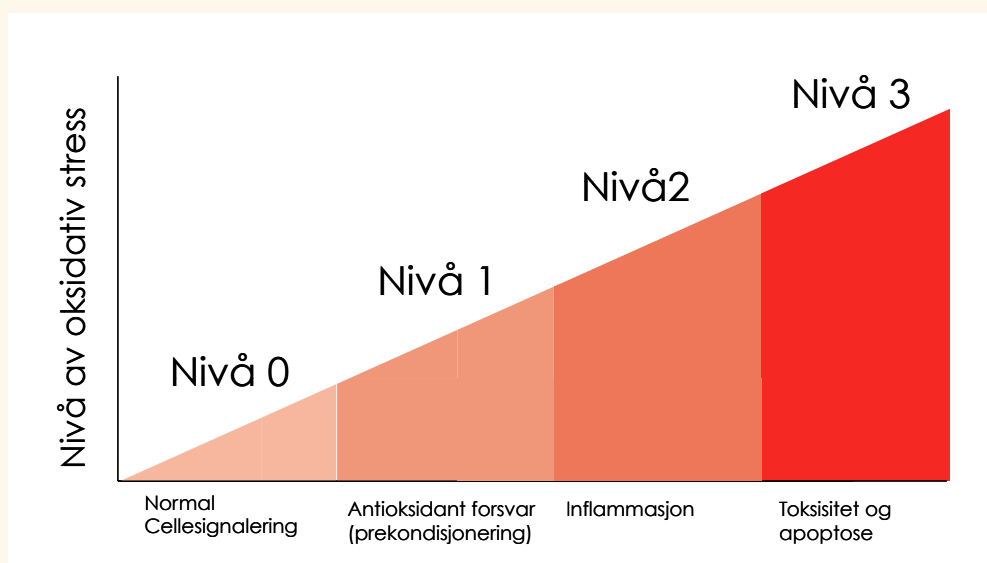
Det eksisterer kun en teknologi som kan måle ROS direkte og det er ved hjelp av elektron spin resonans (ESR) som detekterer uparede elektroner (analogt til magnetisk resonans (MR) som detekterer protoner). En må imidlertid ofte benytte et eksternt tilført biomolekyl ("spin trap") som fanger opp de frie elektronene fra radikalet og danner et produkt som kan detekteres. ESR er ikke i rutinemessig, klinisk bruk i Norge i dag, men er å finne på enkelte forskningslaboratorier. Deteksjon av oksidativ stress har derfor for en stor del vært basert på indirekte målinger med deteksjon av ROS-modifiserte biomolekyler, som lipidperoksidierungsprodukter (eks. F<sub>2</sub>-isoprostaner, malondialdehyd (MDA)), DNA-skade (8-hydroxy-2'-deoksyguanosine (8OHdG), Comet-assay) eller proteinderivater (nitrosylerte proteiner). En annen mulighet er å måle nivå av antioksidanter i kroppen før og etter intervensjon. Her eksisterer det i dag flere kommersielle assay som påberoper seg å måle total antioksidant-

status i kroppen (se artikkelen på side 14). Dette er metoder som har liten klinisk relevans da de kun måler den vannløselige fraksjonen av antioksidanter som kvantitativt hovedsakelig er albumin og urinsyre (5).

En annen utfordring ved deteksjon av ROS og oksidativ stress er at en er avhengig av å vite når en skal måle. Korte episoder med forhøyet ROS-nivå kan være tilstrekkelig til å sette i gang skadelige kjedereaksjoner. Det vil derfor ikke alltid være mulig å detektere forhøyede ROS-verdier hos pasienter med kroniske sykdommer hvor ROS mistenkes å være en del av patogenesen. Videre aktiverer ROS, som tidligere nevnt, adaptive prosesser. Dette medfører at nivået av antioksidante enzymsystemer ved tilstander som skyldes oksidativ stress, like gjerne kan være forhøyet som lavt avhengig av hvor i sykdomsprosessen en er. Barry Halliwell, en av guruene innen fagfeltet, har gitt en oppsummering av hva som vil være den ideelle biomarkør for oksidativ skade. Den er gjengitt i en litt omskrevet versjon i tabell 1. Til dags dato eksisterer det ingen metode som oppfyller kjernekrterium A. Halliwell mener imidlertid selv at deteksjon av F<sub>2</sub>-isoprostaner ligger nærmest (29).

## Konklusjon

ROS dannes under normal fysiologi og har sin funksjon innen normal celledisignalisering. Oksidativ stress fører til oksidative skader på biomolekyler som sees ved blant annet aldring og ved en rekke sykdommer. Påvisning av ROS er en utfordring ikke minst på grunn av lite stabile endeprodukter. Som følge av kroppens adaptive mekanismer er det ikke alltid lett å overføre cellestudier til klinikken. Om tilførte antioksidanter er veien å gå for å hindre sykdom eller forlenge livet på andre måter gjenstår å se. "All aspects of aerobic life involve free radicals and antioxidants – you cannot escape them, nor should you wish to" (30). ■



Figur 4. Nivåbasert oksidativ stress hypotese. (Modifisert etter Xiao et. al The J of Biol Chem 2003).

## Referanser

- Davies KJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp*, 1995; 61: 1-31.
- Jackson HC og Pearce RM. Experimental Liver Necrosis. V. The Fats and Lipoids. *J Exp Med*, 1907; 9(5): 578-587.
- Bartosz G. Reactive oxygen species: Destroyers or messengers? *Biochem Pharmacol.*, 2009; 77(8): 1303-15.
- Muller G og Morawietz H. Nitric oxide, NAD(P)H oxidase, and atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal*, 2009; 11(7): 1711-31.
- Berg K. Oxidative stress and the ischemic heart: A study in patients undergoing coronary revascularization. Trondheim: Norwegian University of Science and Technology, Department of Circulation and Medical Imaging, 2005.
- Fridovich I. Oxygen toxicity: a radical explanation. *J Exp Biol*, 1998; 201(Pt 8): 1203-1209.
- Halliwell B. Antioxidants: The basics - What they are and how to evaluate them. *Adv. Pharmacol.*, 1997; 38: 3-20.
- Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 1980; 492: 153-68.
- Paravicini TM og Touyz RM. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care*, 2008; 31 Suppl 2: S170-80.
- Dhalla NS, Temsah RM og Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens.*, 2000; 18(6): 655-73.
- Halliwell B og Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press, Inc., 1999.
- Halliwell B, Rafter J og Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr*, 2005; 81(1 Suppl): 268S-276S.
- Frei B, England L og Ames BN. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989; 86(16): 6377-6381.
- Kristal AR. Vitamin A, retinoids and carotenoids as chemopreventive agents for prostate cancer. *J Urol*, 2004; 171(2 Pt 2): S54-8 discussion S58.
- Dragsted LO. Biomarkers of exposure to vitamins A, C, and E and their relation to lipid and protein oxidation markers. *Eur J Nutr*, 2008; 47 Suppl 2: 3-18.
- Senthil S, Veerappan RM, Ramakrishna Rao M og Pugalendi KV. Oxidative stress and antioxidants in patients with cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta*, 2004; 348(1-2): 131-137.
- Anderson ME. Glutathione and glutathione delivery compounds. *Adv Pharmacol*, 1997; 38: 65-78.
- Selemidis S, Sobey CG, Wingler K et al. NADPH oxidases in the vasculature: molecular features, roles in disease and pharmacological inhibition. *Pharmacol. Ther.*, 2008; 120(3): 254-91.
- Pacifici RE og Davies KJ. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. *Gerontology*, 1991; 37(1-3): 166-80.
- Heistad DD, Wakisaka Y, Miller J et al. Novel aspects of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ J*, 2009; 73(2): 201-7.
- Biswas S, Gupta MK, Chattopadhyay D og Mukhopadhyay CK. Insulin-induced activation of hypoxia-inducible factor-1 requires generation of reactive oxygen species by NADPH oxidase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007; 292(2): H758-66.
- Bedard K og Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol. Rev.*, 2007; 87(1): 245-313.
- Ushio-Fukai M. Compartmentalization of Redox Signaling through NADPH Oxidase-derived ROS. *Antioxid Redox Signal*, 2008.
- Murry CE, Jennings RB og Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986; 74(5): 1124-36.
- Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol*, 2001; 33(11): 1897-1918.
- Kavazis AN. Exercise preconditioning of the myocardium. *Sports Med*, 2009; 39(11): 923-35.
- Xiao GG, Wang M, Li N et al. Use of proteomics to demonstrate a hierarchical oxidative stress response to diesel exhaust particle chemicals in a macrophage cell line. *J Biol Chem*, 2003; 278(50): 50781-50790.
- Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, 2006; 8(9-10): 1865-79.
- Halliwell B. The wanderings of a free radical. *Free Radic Biol Med*, 2009; 46(5): 531-42.
- Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*, 2006; 141(2): 312-22.
- Sies H. *Oxidative stress: Introductory remarks*. London: Academic Press, 1985.
- Halliwell B. Antioxidants: The basics - What they are and how to evaluate them. *Adv Pharmacol*, 1997; 38: 3-20.
- Halliwell B og Gutteridge JM. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med*, 1995; 18(1): 125-126.
- Prescott L. Oral or intravenous N-acetylcysteine for acetaminophen poisoning? *Ann Emerg Med*, 2005; 45(4): 409-13.
- Ruffmann R og Wendel A. GSH rescue by N-acetylcysteine. *Klin Wochenschr*, 1991; 69(18): 857-62.