

IZOPROSTANI IN NEUROPROSTANI KOT BIOLOŠKI OZNAČEVALCI OKSIDATIVNEGA STRESA

ISOPROSTANES AND NEUROPROSTANES AS BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS

AVTOR / AUTHOR:

Tjaša Plesničar, dipl. biol. (UN)
Izr. prof. dr. Janez Mravljak, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: janez.mravljak@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Oksidativni stres je stanje v celici ali tkivu, ki nastane zaradi neravnovesja med prooksidanti in antioksidanti v korist prvih (1). Vzrok temu je povečana tvorba reaktivnih kisikovih oz. dušikovih spojin ali zmanjšano nastajanje NAD(P)H in s tem obnavljanje mreže antioksidantov (2). Pri oksidativnem

POVZETEK

Oksidativni stres je stanje, ki nastane zaradi neravnovesja med prooksidanti in antioksidanti v korist prvih. Reaktivni radikali so prooksidanti, ki reagirajo s celičnimi komponentami (jih oksidirajo) ter na njih povzročajo oksidativne poškodbe. Glavna tarča so večkrat nenasičene maščobne kisline v lipidih, iz katerih v nizu radikalskih reakcij nastanejo spojine, ki jih s skupnim izrazom imenujemo izoprostanoidi. Različne serije izoprostanov izvirajo iz arahidonske kisline fosfolipidnih molekul, serije neuroprostanov pa iz dokozaheksaenojske kisline, ki je večinoma v fosfolipidih sive možganovine. Izoprostani in neuroprostani so biološki označevalci oksidativnega stresa pri različnih boleznih, kot so bolezni centralnega živčnega sistema, rak, ishemija-reperfuzija, genetske nepravilnosti, preeklampsija itd. Izoprostanoidi niso le produkti oksidacije lipidov, ampak so tudi biološko aktivne spojine.

KLJUČNE BESEDE:

biološki označevalci, izoprostani, neuroprostani, oksidativni stres

ABSTRACT

Oxidative stress is a state, when in favour of prooxidants, prooxidants and antioxidants become imbalanced. That happens when free radicals oxidize and destroy cell components. The main critical components being oxidized are lipids, from which isoprostanoids are released. Different series of isoprostanoids are generated by free radical-induced peroxidation of arachidonic acid and series of neuroprostanoids from docosahexaenoic acid located mainly in brain grey matter. Isoprostanoids and neuroprostanoids are considered biomarkers of oxidative stress in various diseases, such as central nervous system diseases, cancer, ischemia-reperfusion, genetic disorders, pre-eclampsy, etc. That being said, isoprostanoids are not only produced by radical attacks, they are also biologically active compounds.

KEY WORDS:

biomarkers, isoprostanoids, neuroprostanoids, oxidative stress

stresu se poveča obseg spontanij oksidacij, ki lahko prizadenejo različne celične komponente, tj. DNA, proteine

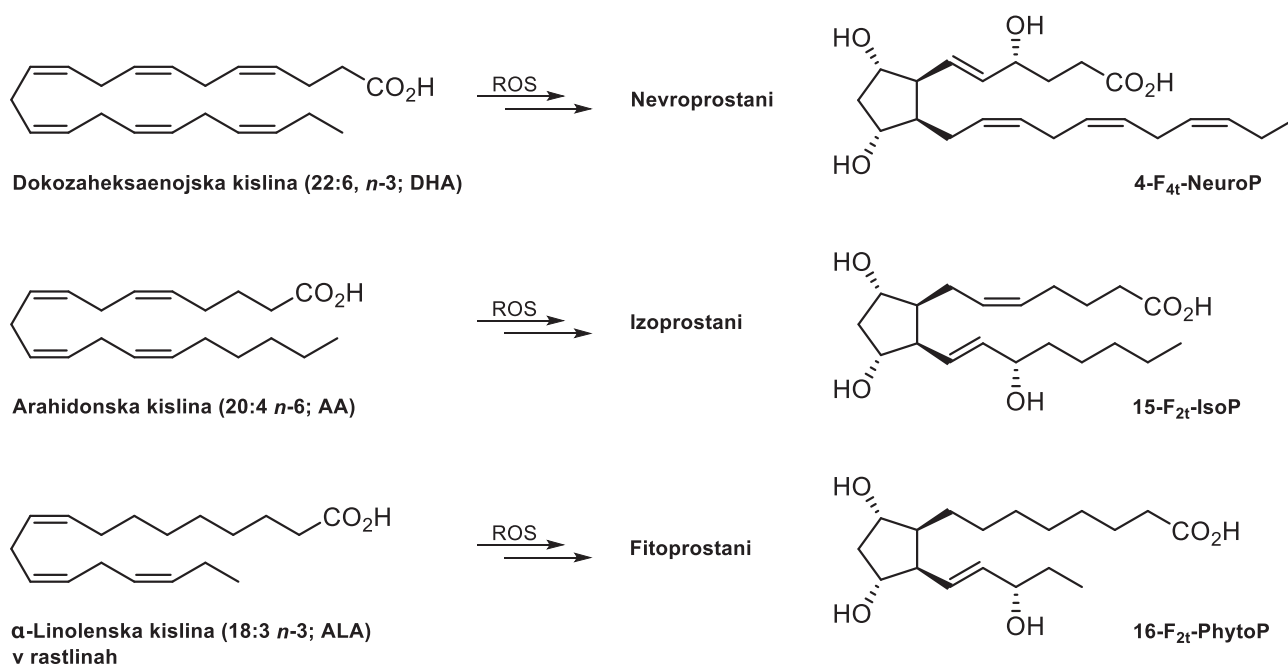


in lipide (2, 3). Pri slednjih so nestabilne zlasti večkrat nenasičene maščobne kisline (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*). Najbolj dovzetne skupine za reakcije z radikali v PUFA so metilenske skupine med dvojnimi vezmi (-CH=CH-CH₂-CH=CH-). Oksidacije lipidov vodijo v nastanek številnih produktov. Med temi so tudi spojine, imenovane izoprostanoidi, ki so jih odkrili v devetdesetih letih prejšnjega stoletja (3). Vse od takrat pa zaradi njihove specifičnosti in občutljivosti veljajo kot dobro orodje za merjenje oksidativnega stresa ter lipidne peroksidacije (4).

Izoprostanoidi so strukturno podobni prostaglandinom s to razliko, da slednji nastajajo le pri encimsko kataliziranih reakcijah s pomočjo ciklooksigenaz, izoprostanoidi pa v nizu nenadzorovanih radikalskih reakcij. Nekateri predstavniki so biološko aktivne spojine (2, 5). Ena izmed skupin izoprostanoidov, izoprostani (IsoP), nastajajo večinoma z neencimsko oksidacijo arahidonske kisline (ω -5-maščobna kislina) z radikali, delno pa z encimsko oksidacijo s ciklooksigenazo pri vnetjih (3, 6, 7). Iz α -linolenske kisline (ω -3-maščobna kislina) se z lipidno peroksidacijo tvorijo fitoprostani (prisotni v rastlinah), iz eikozapentaenojske kisline (ω -3-maščobna kislina) F₃-izoprostani ter iz dokozaheksaenojske kisline (ω -3-maščobna kislina) F₄-izoprostani ali nevroprostani (NeuroP) (3) (slika 1).

2 BIOSINTEZA

Oksidacija PUFA, kot je arahidonska kislina (AA), vključuje več korakov nastanka različnih produktov. Spojina vključuje reaktivno metilensko (-CH₂-) skupino med dvema dvojnima vezema, na kateri poteče oksidacija (5). Kot je prikazano na sliki 2, se proces začne z reakcijo sprožilnega radikala z AA, pri čemer pride do odtegnitve vodikovega atoma iz -CH₂- skupine med dvema dvojnima vezema (**A**). Iz na ogljiku osredotočenega radikala (C-radikala) ob prisotnosti kisika nastane najprej peroksilni radikal (**B**) in po premestitvi dvojne vezi ter intramolekularni adiciji endoperoksidni C-radikal (**C**). Sledi ciklizacija (adicija C-radikala na bližnjo dvojno vez), pri kateri nastane ciklopentanski obroč (2, 5). Pri nastajanju IsoP pride pri tvorbi ciklopentanskega obroča do *cis* orientacije alkilnih verig, za kar je treba premagati nižjo aktivacijsko energijo med dvojno 5-ekso-trig ciklizacijo kot pri nastajanju *trans* orientiranih prostaglandinov, za nastanek katerih je nujna prisotnost encimov. Pri ciklizaciji ponovno nastane C-radikal, s katerim reagira kisik. Nastali peroksilni radikal odtegne vodikov atom sosednjemu lipidu

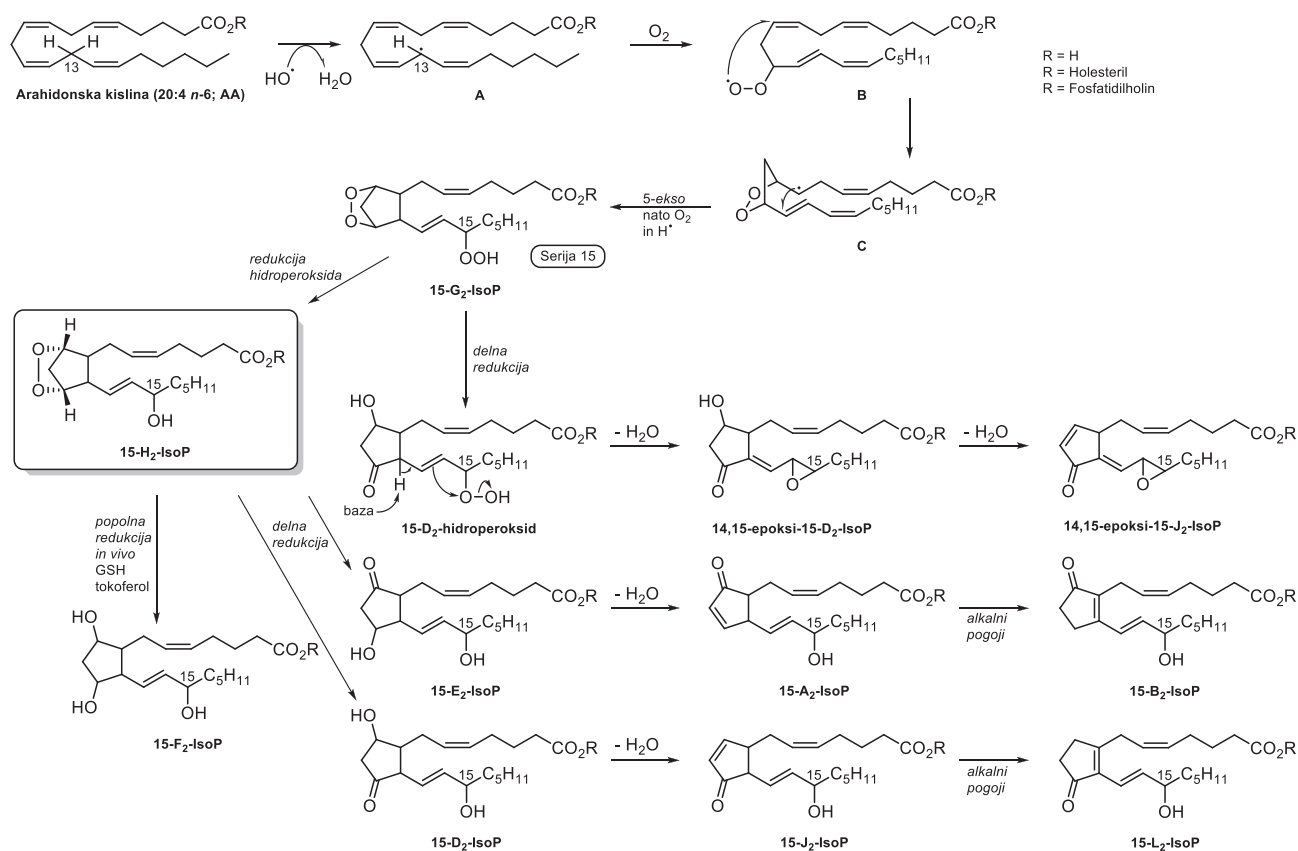


Slika 1: Večkrat nenasičene maščobne kisline s primeri izoprostanoidov. ROS – reaktivne kisikove zvrsti.
Figure 1: Polyunsaturated fatty acids with examples of isoprostanooids. ROS – reactive oxygen species.

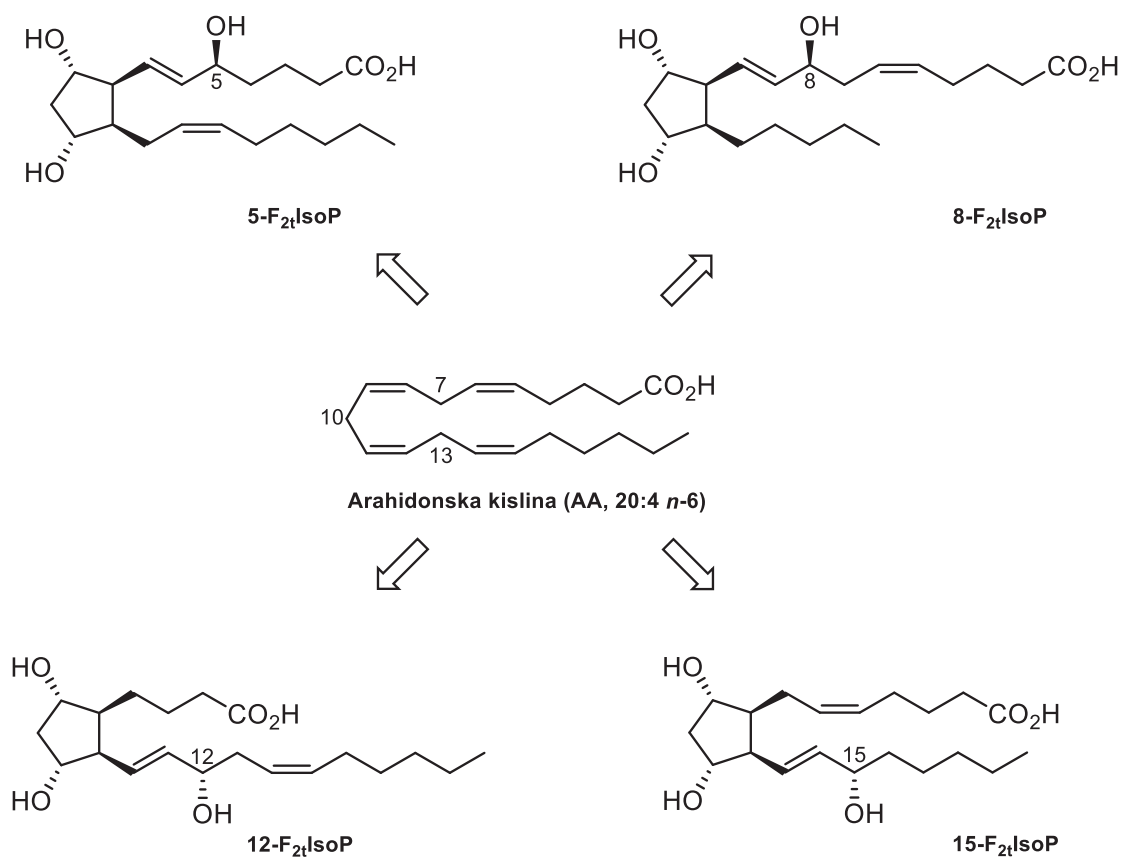
ali antioksidantu ter nastane G_2 -IsoP (3). Hidroperoksidna skupina se najprej reducira v H_2 -IsoP, nato pa lahko glede na redukcijske pogoje (odvisno od količine glutationa in α -tokoferola v celicah) nastanejo različne družine IsoP. Tako s popolno redukcijo endoperoksida nastaja F-tip IsoP (ciklopentanski obroč z dvema alkoholnima funkcionalnima skupinama), pri delni redukciji pa nastajata D- in E-IsoP (ciklopentanski obroč s hidroksi-ketonom). Zaradi njune nestabilnosti v fizioloških razmerah z lahkoto pride do odcepa vode na hidroksil-ketonskih skupinah ter nastanka A- in J-tipa IsoP (5). Ta ciklopentenonska IsoP reagirata kot elektrofila s tiolnimi skupinami proteinov ter s tem prispevata k svoji citotoksičnosti oz. nevrotoksičnosti in s tem tudi k patogenezi oksidativne neurodegeneracije (2, 8). S premestitvijo IsoP endoperoksidov lahko nastajajo γ -ketoaldehidi (npr. izoketali, izolevuglandini), ki so zelo reaktivni in lahko poškodujejo nevrone (8). Serija IsoP metabolitov so tudi epoksi-izoprostani. G_2 -IsoP intermediat se reducira v hidroksi- D_2 -IsoP, ki se zaradi ki-

slosti α -keto vodikovega atoma in hidroperoksidne skupine pretvori v epoksi- D_2 -IsoP. Ta spontano dehidrira v epoksi- J_2 -IsoP. Pokazali so, da epoksi-IsoP delujejo protivnetno. Najdemo jih lahko pri aterosklerotičnih lezijah z zmerno oksidiranimi lipoproteini z nizko gostoto (oLDL) (5). Poleg zgoraj naštetih izoprostanov obstajata tudi B- in L-tip, ki pri bazičnih pogojih nastaneta z izomerizacijo dvojnih vezi tipov A- in J-IsoP (5).

Radikal lahko iz AA in ostalih PUFA odtegne vodikov atom iz več metilenskih skupin med dvema dvojnima vezema. Pri AA lahko pride do odtegnitve vodika na mestih C-7, C-10 ter C-13 (9). Tako nastane več serij IsoP, in sicer serije 5, 8, 12 ter 15, glede na mesto hidroperoksidne oz. hidroksilne skupine v verigi (2) (slika 3). Najpogostejši seriji *in vivo* sta 5 in 15 (4). Če upoštevamo še prostorsko usmerjenost skupin, je možnih 64 izomernih F_2 -IsoP (2). Metaboliti, ki tudi nastanejo iz AA, so izofurani – spojine s furanskim obročem. Povišana koncentracija kisika favorizira njihov nastanek (9).



Slika 2: Biosinteza izoprostanov serije 15 iz arahidonske kisline.
Figure 2: Isoprostane biosynthesis of 15-series from arachidonic acid.



Slika 3: Glavni izomeri F_2 -IsoP, ki nastanejo iz arahidonske kisline.
 Figure 3: The main F_2 -IsoP isomers derived from arachidonic acid.

Lipidna peroksidacija lahko poteče na različnih PUFA, ne samo na AA, ki je glavna ω -6-PUFA v celičnih membranah pri človeku. Iz dokozaheksanojske kisline (DHA, 22:6 *n*-3), ki je v sivi možganovini in retini, nastajajo nevroprostani (NeuroP) ter nevrofurani (9). Izoblikuje se lahko 8 serij NeuroP (serije 4, 7, 10, 11, 13, 14, 17 in 20), med katerimi sta najpogostejši seriji 4 in 20. Poteče lahko tudi oksidacija eikozapentanojske kisline (EPA, 20:5 *n*-3). EPA in DHA večinoma vnašamo v telo z morskoro hrano, npr. ribami in algami (5). Iz adrenske ali samo *cis*-7,10,13,16-dokozaetraenojske kisline (22:4 *n*-6), prisotne v beli možganovini (v mielinu) in retini, nastajajo tako imenovani dihomio-izoprostani (9). Iz α -linolenske kisline (18:3 *n*-3), ki je glavna ω -3-PUFA v listih rastlin, pa nastajajo fitoprostani (5). Ti so za človeka pomembni predvsem zaradi njihovega vpliva na zdravje preko rastlinske prehrane in vdihovanja cvetnega prahu (5, 9). V raziskavah so poročali o spreminjanju imunske odzivnosti, protivnetnem delovanju ter varovanju nediferenciranih

živčnih celic in spodbujanju diferenciacije oligodendrocitov delno preko aktivacije prepisovalnega dejavnika PPAR γ (5, 10). Pod vplivom fitoprostanov so spodbudili tudi apoptozo Jurkat T-celic (5).

3 BIOLOŠKA AKTIVNOST

Izoprostani niso samo biološki označevalci lipidne peroksidacije, ampak tudi mediatorji oksidativne poškodbe (3). So vazokonstriktorji, spreminjajo aktivnost trombocitov, povzročajo adhezijo monocitov in sprožajo proliferacijo endotelnih in gladkih mišičnih celic. Izoprostani imajo biološki vpliv zaradi aktivacije ali inhibicije več prostanooidnih receptorjev (3, 11). Biološka aktivnost nevroprostanov pa je slabo proučena (11).

4 IZOPROSTANI IN NEVROPROSTANI KOT BIOLOŠKI OZNAČEVALCI

Lipidna peroksidacija je znak oksidativnega stresa, ki je pogosto biološko stanje pri različnih vrstah bolezni, kot so nevrološke, srčno-žilne bolezni, sladkorna bolezen ter ledvične okvare (5).

4.1 ANALIZA

Odkrili so kar nekaj bioloških označevalcev lipidne peroksidacije, vendar pa je njihova učinkovitost slaba zaradi njihove reaktivnosti, metabolizma ter nezanesljive metode kvantifikacije (6). F_2 -IsoP so v bioloških tekočinah ob pravilni hrambi relativno stabilni ter se pojavljajo povsod v telesu. Lahko jih določamo v urinu, krvi, cerebrospinalni tekočini, kondenzatu izdihanega zraka, amnijski tekočini in slini (8, 11).

Za merjenje F_2 -IsoP spojin uporabljamo tri tehnike:

- plinska kromatografija – masna spektrometrija (GC-MS),
- tekočinska kromatografija – masna spektrometrija (LC-MS),
- encimska imunoabsorpcijska preiskava (ELISA) (11).

GC-MS s kemično ionizacijo z zajetjem elektronov in zaznavo negativnih ionov (ECNI) predstavlja zlati standard za merjenje F_2 -IsoP zaradi zelo dobrih selektivnosti in občutljivosti (5). Treba je poudariti, da sta masna spektrometrija in ELISA šibko skladni (3). Rezultati imunoloških testov so lahko napačni zaradi strukturnih podobnosti med F_2 -IsoP in prostaglandini ter drugimi sorodnimi molekulami. Tudi pri zbiranju in shranjevanju plazme je potrebna previdnost, saj se lahko te molekule tvorijo z *ex vivo* oksidacijo arahidonske kisline v plazmi (11). V plazmi ali urinu merimo dvig F_2 -IsoP, predvsem $5-F_{2t}$ -IsoP ter $15-F_{2t}$ -IsoP, kar kaže na prisotnost oksidativne poškodbe celic (5). Pri ljudeh so z LC-MS/MS v plazmi za $15(RS)-15-F_{2t}$ -IsoP določili koncentracije 40–170 pg/mL (4). Pri določanju v urinu se moramo zavedati, da zaradi metabolizma v jetrih prihaja tudi do presnove molekule F_2 -IsoP v različne metabolite (11). Glavna urinska metabolita $15-F_{2t}$ -IsoP sta 2,3-dinor-5,6-dihidro- $15-F_{2t}$ -IsoP in 2,3-dinor- $15-F_{2t}$ -IsoP (4, 11). Pri ljudeh so z LC-MS/MS v urinu za $15(RS)-15-F_{2t}$ -IsoP določili koncentracije 30–303 ng/g kreatinina (4).

4.2 DIAGNOSTIKA

V eni izmed metaanaliz so s primerjavami meritev F_2 -izoprostanov kot označevalcev oksidativnega stresa pokazali

obsežna povečanja oksidativnega stresa pri boleznih ledvic, npr. kronični odpovedi ledvic, obstruktivni spalni apneji in preeklampsiji, kot tudi boleznih respiratornega trakta, kot je cistična fibroza. Zanimivo je to, da so imela v raziskavi stanja, za katera so mislili, da povzročajo velik oksidativni stres, tj. kajenje tobaka in srčno-žilne bolezni, le blago povišanje tega biološkega označevalca. Majhna povečanja so odkrili tudi pri hipertenziji, metabolnem sindromu in astmi (7).

F_2 -IsoP ali njihovi metaboliti niso najprimernejši biološki označevalci za vse bolezni, povezane z oksidativnim stresom, vendar pa velja, da je povišanje $15-F_{2t}$ -IsoP v srčno-žilnih boleznih bolj zanesljivo kot pri nevroloških motnjah (5).

4.2.1 Ishemija-reperfuzija

Ishemija-reperfuzija je eden glavnih patoloških pojavov pri ortopedskih operacijah. Po prevezi uda in ponovni vzpostavitvi krvnega pretoka pride do oksidativnih poškodb tkiva, ki sprožijo lokalni ali sistemski vnetni odziv (3). Ishemija-reperfuzija se pojavlja tudi po drugih kirurških posegih, kot sta operacija aortokoronarnih obvodov in transplantacija organov. Številne raziskave so pokazale povišanje vrednosti F_2 -IsoP v času operacije aortokoronarnih obvodov ali operacije srčno-pljučnega obvoda, kar kaže na povečan oksidativni stres. Ta pa prispeva k pooperativnim zapletom (npr. akutni okvari ledvic) (11). Odkrili so, da je prišlo do povišanja vrednosti F_2 -IsoP tudi pri bolnikih s kronično ishemijsko spodnjega uda, po ishemični možganski kapi in po pretrganju anevrizme (11).

Da bi znižali oksidativni stres med operacijama aortokoronarnih obvodov in srčno-pljučnega obvoda, so izvedli prve raziskave v smeri zdravljenja. Poskusili so z acetilsalicilno kislino ter paracetamolom. Pojavila se je tudi ideja, da bi uporabili takšna anestezijska sredstva, ki imajo antioksidativno aktivnost (11).

4.2.2 Centralni živčni sistem

Možgani so na oksidativne poškodbe najbolj občutljivi zaradi velike porabe kisika, nizkih koncentracij antioksidativnih encimov (katalaze in glutation-peroksidaze), višjih koncentracij železa (močan katalizator za tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti) in sposobnosti oksidacije različnih substratov (npr. membranske PUFA, ki predstavlja velik delež lipidov v možganskem tkivu, predvsem DHA). Peroksidacija membranskih lipidov ruši nevronske homeostazo (8, 9).

Povišano tvorbo F_2 -IsoP so našli v številnih možganskih tkivih in telesnih tekočinah pri številnih neurodegenerativnih



boleznih, kot so Alzheimerjeva, Parkinsonova, Huntingto-nova bolezen ter Creutzfeldt Jakobova bolezen, multipla skleroza in amiotrofična lateralna skleroza. Merjenje F_2 -IsoP v plazmi in urinu ni specifično za določen organ, zato je v tem primeru bolje uporabiti cerebrospinalno tekočino, ki bolje odraža spremembe oksidativnega stresa v možganih (8, 11). Koncentracija F_2 -IsoP se v cerebrospinalni tekočini povišuje tudi s starostjo ter s poškodbo možganov (11).

Pri oksidativnih poškodbah možganskih tkiv se specifično uporablja F_4 -NeuroP, ki se v primerjavi s F_2 -IsoP kaže kot bolj primeren biološki označevalec za nevrodegenerativne in možganske poškodbe (vključno z Rettovim sindromom in ishemično možgansko kapjo) (5).

4.2.3 Tveganje za nastanek raka

Narejenih je bilo nekaj raziskav, ki povezujejo F_2 -IsoP in tveganje za nastanek raka. Višje vrednosti F_2 -IsoP so v raziskavah primerov s kontrolami povezali s tveganjem za nastanek raka, in sicer raka dojke, hepatocelularnega karcinoma, prostate, želodca in kolorektalnega adenoma. Vendar so se nekatere raziskave, ki so bile narejene na primerih s kontrolami, razlikovale od tistih, narejenih prospektivno (npr. raziskava o raku želodca). Možna razlaga za takšno neskladje je najverjetneje to, da ni jasno, ali je oksidativni stres vzrok ali posledica raka (11).

V obsežni prospektivni raziskavi so v urinu raziskovali dvig koncentracije F_2 -IsoP in njegovega metabolita 2,3-dinor-5,6-dihidro-15- F_{2t} -IsoP kot biološka označevalca tveganja za nastanek raka dojke. Odkrili so, da so vrednosti teh dveh označevalcev povezane tudi z indeksom telesne mase (ITM). Vrednosti F_2 -isoP in 2,3-dinor-5,6-dihidro-15- F_{2t} -IsoP so bile povezane z zmanjšanim tveganjem za nastanek raka dojke med ženskami z ITM < 25, z ITM \geq 25 pa sta bila označevalca povezana s povečanim tveganjem za nastanek te bolezni. Raziskava s tem kaže, da imajo ženske z visokim ITM povečano tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti in s tem povečano tveganje za nastanek raka dojke (11, 12). Da je vloga oksidativnega stresa pri razvoju raka dojke odvisna od debelosti, ne preseneča, saj je maščobno tkivo vir reaktivnih intermediatov, ki nastajajo v procesu lipidne peroksidacije in vplivajo na celo telo.

Nasprotno pri ženskah z normalnim ITM lahko osnovne ravni reaktivnih kisikovih zvrsti v fizioloških razmerah sprožijo aktivacijo p53, neposredno sodelujejo v apoptozi in povzročijo staranje. Poleg tega F_2 -IsoP povečuje z glukozo inducirano sintezo TGF- β 1 tumorskega supresorja v začetni fazi. Določeni dejavniki (fizična aktivnost, normalna nose-

čnost, preeklampsija), ki varujejo pred rakom dojke, tudi povišujejo vrednosti F_2 -IsoP. Iz tega lahko sklepamo na kompleksno vlogo F_2 -IsoP pri patofiziologiji raka (11, 12).

4.2.4. Preeklampsija

Preeklampsija je kompleksna nosečnostna bolezen neznane etiologije, ki prizadene tako otroka kot mater. Oksidativni stres pa morda prispeva k patogenezi tega sindroma. Pri razvoju ploda sta potrebna tako AA kot DHA, ki se lahko oksidirata s pomočjo radikalov v F_2 -IsoP in izofurane ter v F_4 -NeuroP (13).

Leta 1996 so pri preeklampsiji s proteinurijo odkrili v plazmi povišane vrednosti F_2 -IsoP. V novejših raziskavah pa so pokazali, da so pri nosečnicah s preeklampsijo v krvi povišane vrednosti F_4 -NeuroP in izofuranov, ne pa F_2 -IsoP v primerjavi z nosečnicami brez preeklampsije. Vrednosti F_4 -NeuroP v popkovnični krvi so bile povišane tudi pri novorojenčkih žensk s preeklampsijo. Ker vrednosti F_4 -NeuroP iz materine krvi niso bistveno korelirale z vrednostmi F_4 -NeuroP iz popkovnične krvi v nosečnosti s preeklampsijo in brez nje, so pokazali na izvor F_4 -IsoP, ki je neodvisen od materine plazme. Pri normalni nosečnosti pa so ugotovili, da je porodna teža novorojencev negativno povezana z materinimi F_2 -IsoP, izofurani in F_4 -NeuroP. Obratna povezava med materinim F_2 -IsoP, izofurani in F_4 -NeuroP in porodno težo bi lahko bila pomemben napovedovalec nizke porodne teže in normalne nosečnosti (9, 13).

4.2.5 Genetske nepravilnosti

Oksidativni stres je vključen v patofiziologijo številnih človeških genetskih nepravilnosti. Vrednosti F_2 -IsoP so povišane pri ljudeh z motnjami avtističnega spektra, Smith-Lemli-Opitzovim sindromom, anemijo srpastih celic, cistično fibrozo in različnimi prirojenimi napakami metabolizma. Vrednosti F_2 -IsoP so povišane v plodovnici nosečnic s plodom z Downovim sindromom (11).

IsoP in oksidativni stres so dobro proučili pri osebah z Rettovim sindromom. Gre za motnjo avtističnega spektra, ki se v 95 % razvije zaradi mutacije v X vezanem genu za MECP2 (3, 9). V zgodnjih fazah bolezni so odkrili povišane vrednosti F_2 -IsoP, F_4 -NeuroP in F_2 -dihomo-izoprostanov, ki se nato znižajo (9). Do nedavnega so mislili, da se prevladujoča okvara centralnega živčnega sistema pojavi v sivi možganovini, vendar ravno povečana tvorba F_2 -dihomo-izoprostanov nakazuje soobstoj zgodnje poškodbe bele možganovine. Na podlagi slikanja možganov z magnetno resonanco so postavili hipotezo, da lahko poškodba bele

možganovine predstavlja zgodnji dogodek pri Rettovem sindromu, s tem pa bi F₂-dihomo-izoprostani lahko predstavljali zgodnje označevalce te bolezni. Tudi F₄-NeuroP je pomemben biološki označevalec sindroma. Plazemski F₄-NeuroP so povezani z resnostjo nevroloških simptomov, tipom mutacije in klinično sliko (3). Odkrili so, da olje morskih rib lahko zmanjša oksidativni stres pri bolnikih z Rettovim sindromom, kar je vodilo v dodatne klinične raziskave, pri katerih je dodajanje EPA in DHA pri zgodnjih stopnjah bolezni vodilo v delno klinično remisijo te bolezni (9).

5 SKLEP

Izoprostani in nevroprostani so znanilci oksidativnega stresa. Pojavljajo se pri različnih boleznih, kot so ishemijska reperfuzija, bolezen centralnega živčevja, preeklampsija, rak itd. Povišanje ravni izoprostanov kaže na povečano tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti, ki oksidirajo arahidonsko kislino fosfolipidov v celičnih membranah. F₂-IsoP nastaja po dveh biokemičnih poteh, in sicer neencimsko z radikali in deloma pod vplivom ciklooksigenaz pri vnetjih, na kar moramo biti pozorni pri določanju. Izoprostani so sicer dobro specifični označevalci lipidne peroksidacije, a zelo nespecifični pri določanju njenega izvora. Nevroprostani nastajajo z oksidacijo dokozaheksaenojske kisline fosfolipidov, ki je v veliki meri v sivi možganovini. Ti biološki označevalci so veliko bolj specifični za določanje nevrodegenerativnih in možganskih poškodb, vendar pa so slabše raziskani kot izoprostani.

6 LITERATURA

1. Sies H. *Oxidative stress: introductory remarks*. London: Academic Press; 1985. p. 1-8.
2. Pečar S, Mravljak J. *Šumi življenja ali radikali in druge reaktivne snovi v telesu*. Ljubljana: Slovensko farmacevtsko društvo; 2015. p. 77-100, 199-241.
3. Galano JM, Mas E, Barden A, Mori AT, Signorini C, De Felice C, et al. *Isoprostanes and neuroprostanes: Total synthesis, biological activity and biomarkers of oxidative stress in humans*. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*. 2013 Dec; 107: 95-102.
4. Vigor C, Bertrand-Michel J, Pinot E, Oger C, Vercauteren J, Le Faouder P, et al. *Non-enzymatic lipid oxidation products in biological systems: Assessment of the metabolites from polyunsaturated fatty acids*. *Journal of Chromatography B*. 2014 Aug; 964: 65-78.
5. Galano JM, Lee YY, Oger C, Vigor C, Vercauteren J, Durand T, et al. *Isoprostanes, neuroprostanes and phytoprostanes: An overview of 25 years of research in chemistry and biology*. *Progress in Lipid Research*. 2017 Oct; 68: 83-108.
6. Milne LG. *Classifying oxidative stress by F2-Isoprostane levels in human disease: The re-imagining of a biomarker*. *Redox Biology*. 2017 Aug; 12: 897-898.
7. van't Erve TJ, Kadiiska MB, London JS, Mason RP. *Classifying oxidative stress by F2-isoprostane levels across human diseases: A meta-analysis*. *Redox Biology*. 2017 Aug; 12: 582-599.
8. Miller E, Morel A, Saso L, Saluk J. *Isoprostanes and Neuroprostanes as Biomarkers of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014; 2014: 572491.
9. Bultel-Poncé V, Durand T, Guy A, Oger C, Galano JM. *Non enzymatic metabolites of polyunsaturated fatty acids: friend or foe*. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*. 2016 Jan-Feb; 23(1): D118.
10. Medina S, Gil-Izquierdo A, Durand T, Ferreres F, Dominguez-Perles R. *Structural/Functional Matches and Divergences of Phytoprostanes and Phytofurans with Bioactive Human Oxylipins*. *Antioxidants [Internet]*. 2018 Nov [cited 2018 Nov 22]; 7(11). Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/7/11/165/htm> DOI: 10.3390/antiox7110165
11. Milne GL, Dai Q, Roberts LJ 2nd. *The isoprostanes—25 years later*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2015 Apr; 1851(4): 433-445.
12. Dai Q, Gao YT, Shu XO, Yang G, Milne G, Cai Q, et al. *Oxidative Stress, Obesity, and Breast Cancer Risk: Results From the Shanghai Women's Health Study*. *Journal of Clinical Oncology*. 2009 May; 27(15): 2482-2488.
13. Barden AE, Corcoran TB, Mas E, Durand T, Galano JM, Roberts LJ 2nd, et al. *Is There a Role for Isofurans and Neuroprostanes in Pre-Eclampsia and Normal Pregnancy?* *Antioxidants & Redox signalling*. 2012 Jan, 16(2): 165-169.

