



2024. Номер 9, С 104 – 110

Отримано: 03.04.2024 Прийнято: 22.04.2024 Опубліковано: 23.05.2024

DOI: 10.31890/vttp.2024.09.10

UDC 636.7.09:615.015:612.176:547.972.3

## ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF THE OXIDATIVE STRESS IN DOGS AND PHARMACOLOGY CORRECTION WITH NATURAL ANTIOXIDANTS

**I.O. Zhukova, I.O. Kostyuk, O.M. Denisova, O.M. Bobrytska,**

**L.A. Vodopianova, O.S. Kochevenko, V.A. Tokareva**

*State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine*

*E-mail: [phiziolog.hdzva@ukr.net](mailto:phiziolog.hdzva@ukr.net)*

Annotation. Oxidative stress is the process of cell damage as a result of oxidation. It reflects an imbalance between the manifestations of reactive oxygen species (ROS) in the organism and the ability of the biological system to cleanse itself of intermediate products of peroxidation and restore the damage caused timely. Free radical oxidation is normally one of the necessary factors of homeostasis, since reactive oxygen species with an unpaired electron perform useful functions, they are necessary mediators of many processes of normal cell functioning, such as the biosynthesis of prostaglandins, leukotrienes and other biologically active substances, and also accept participation in pathological processes, such as inflammation, fever, etc. BPO is a process of direct transfer of oxygen to the substrate with the formation of peroxides, ketones, aldehydes, etc. The article presents data on the study of the state of the dog's antioxidant system under established oxidative stress of various etiologies, as well as the correction of these processes with the use of pharmacological (E-selenium, alpha-lipoic (thioctic) acid) and natural (quercetin in the composition of green buckwheat) antioxidants. The experiment used 20 dogs, aged 1-2 years, weighing 10-15 kg, which were divided into four groups: I group – control, II, III and IV – experimental. Dogs in group I did not receive antioxidants, in group II received the drug "E-selenium" subcutaneously at the dose of 0.04 cm<sup>3</sup> for one time only and "Quercetin" orally at the dose of 100 mg/kg daily, group III received alpha-lipoic acid in the amount of 10 mg per animal daily, and group IV was fed powder of unprocessed steamed buckwheat grain (as a source of quercetin) personally at the rate of 2 g per 10 kg of body weight. Blood was examined for the intensity of lipid peroxidation (LP) and enzymes activity on the 14th day of the experiment. It was established that a single subcutaneous injection of "E-selenium" in a dose of 0.04 cm<sup>3</sup> and "Quercetin" orally at the dose of 100 mg/kg daily, alpha-lipoic acid in the amount of 10 mg per animal and adding to the feed a powder of raw steamed buckwheat grains (as a source of quercetin) individually at the rate of 2 g per 10 kg of body weight stimulated the processes of antioxidant protection in the body of experimental dogs. This was characterized by inhibition of the processes of lipid peroxidation (LP) (decrease in the concentration of primary and secondary TBARS-active products – diene conjugates (DC) and malondialdehyde (MDA), and there was also an increase in the activity of antioxidant enzymes (catalase and superoxide dismutase (SOD) and restoration of the pool of endogenous total antioxidant activity (TOA).

**Key words:** *lipid peroxidation, TBARS-active products, total antioxidant activity, alpha-lipoic acid, E-selenium, quercetin.*

## ЕТІОЛОГІЯ І ПАТОГЕНЕЗ ОКИСНОГО СТРЕСУ В СОБАК І ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ПРИРОДНИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ

**І.О. Жукова, І.О. Костюк, О.М. Денисова, О.М. Бобрицька,  
Л.А. Водоп'янова, О.С. Кочевенко, В.А. Токарєва**  
*Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна,  
E-mail: [phiziolog.hdzva@ukr.net](mailto:phiziolog.hdzva@ukr.net)*

Анотація. Окиснювальний стрес – процес ушкодження клітини в результаті окиснення. Він відображає дисбаланс між проявами активних форм кисню (АФК) в організмі та здатністю біологічної системи своєчасно очищувати себе від проміжних продуктів пероксидації та відновлювати завдану шкоду. Вільнорадикальне окиснення в нормі є одним із необхідних факторів гомеостазу, оскільки активні форми кисню, що мають неспарений електрон, виконують корисні функції, вони є необхідними посередниками багатьох процесів нормального функціонування клітин, таких як біосинтез простагландинів, лейкотрієнів та інших біологічно активних речовин, а також приймають участь у патологічних процесах, таких як запалення, гарячка та ін. ВРО є процесом безпосереднього переносу кисню на субстрат з утворенням перекисів, кетонів, альдегідів тощо. У роботі наведені дані щодо дослідження стану антиоксидантної системи собак за встановленого окисного стресу різної етіології, а також корекцію цих процесів за застосування фармакологічних (Е-селен, альфа-ліпоєва (тіоктова) кислота) та натуральних (кверцетин у складі зеленої гречки) антиоксидантів. Встановлено, що одноразове введення «Е-селену» підшкірно у дозі 0,04 см<sup>3</sup> і щоденне пероральне задавання «Кверцетину», у дозі 100 мг/кг, альфа-ліпоєвої кислоти у кількості 10 мг на тварину та додавання до корму порошку необробленого запареного зерна гречки посівної (як джерела кверцетину) індивідуально з розрахунку 2 г на 10 кг маси тіла стимулювало процеси антиоксидантного захисту у організмі дослідних собак, що характеризувалось інгібіцією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) (зниження концентрації первинних і вторинних його ТБК-активних продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), а також підвищенням активності антиоксидантних ферментів (каталази і супероксиддисмутази (СОД) та відновленням пулу ендогенної загальної антиоксидантної активності (АОА).

**Ключові слова:** *перекисне окиснення ліпідів, ТБК-активні продукти, загальна антиоксидантна активність, альфа-ліпоєва кислота, Е-селен, кверцетин.*

**Вступ.** *Актуальність теми.* У здоровому організмі людини і тварин існує баланс між прооксидативними факторами та антиоксидантними компонентами, що складаються з ферментів, вітамінів, мікроелементів та амінокислот. Численні хвороби, стреси, забруднення повітря, ліки, призводять до зміни цього балансу на користь оксидантів і ці наслідки відомі як «оксидативний стрес» (Shinobu et al., 1988; Cheraskin, 1996; Pizzino et al., 2017). Він характеризується надмірним утворенням активних форм кисню (АФК), які організм вже не може тривало компенсувати (Florence, 1995) і які стають ключовим моментом у патогенезі багатьох хронічних захворювань, таких як гіпертензія (Taniyama & Griendling, 2003), бронхіальна астма, ішемічна хвороба серця (Caramori & Papi, 2004; Ceriello, 2008), цукровий діабет, пухлини (Valko et al., 2006) та інші.

*Аналіз останніх досліджень і публікацій.* Ушкоджуюча дія АФК на клітинні макромолекули, такі як білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти, викликає зміни у білках та нуклеїнових кислотах. Утворення цих вільних радикалів призводить до виникнення та прогресування багатьох захворювань (Valavanidis et al., 2013; Pizzino et al., 2014). Реактивні форми кисню (РФК), що постійно утворюються в мітохондріях, мають особливо сильні окиснювальні властивості. Перекиси ліпідів виникають в результаті реакції між вільними

радикалами та ненасиченими жирними кислотами, що знаходяться в мембранах і призводять до морфологічних змін у клітинних мембранах. За даними Kujoth et al. (2005) та Sies & Jones (2020), цей процес погіршує функцію мембранно-зв'язаних ферментів та рецепторів та пригнічує транспорт іонів у клітинах. Порушення проникності мембран призводить до збільшення припливу кальцію, який ініціює руйнування клітини за допомогою інших механізмів.

Порушення окисно-відновних процесів у клітині призводить до її інтоксикації через виробництво пероксидів та вільних радикалів, які пошкоджують усі структури, у тому числі білки, ліпіди та ДНК. В результаті окиснювального стресу розриваються нитки ДНК і виводяться з ладу нормальні механізми передачі сигналу клітині (Storz, 2006).

В протистоянні окисному стресу є цілий ряд з'єднань, які мають антиоксидантну дію. Вони представлені ферментами (супероксиддисмутаза, СОД; каталаза, глутатіонпероксидаза), і низькомолекулярними сполуками (аскорбінова кислота, дипептид карнозин, антоціани, флавоноїди, убихінон (коензим-Q),  $\alpha$ -токоферол (вітамін Е), каротиноїди (лікопін, ретиноли), вітамін А, альфа-ліпоева кислота та ін. (Muller et al., 2006; Bee et al., 2018).

За дослідженнями деяких авторів, вітамін Е за своїми антиоксидантними властивостями вважається найбільш ефективним. Він покращує імунний статус у літніх тварин і це дозволяє припустити, що його можна використовувати для продовження життя. Проте застосування у дорослих мишей вітаміну Е, глутатіону, мелатоніну не вплинуло на тривалість життя, хоча вітамін Е достовірно знижував рівень одного з продуктів перекисного окиснення в печінці (Krengel & Tornroth-Horsefield, 2015; Gusti et al., 2021).

Іншою великою групою природних антиоксидантів є флавоноїди і одним із найактивніших з них є кверцетин, що міститься, в огірках, ягодах, цибулі, гречці та інших культурах. У деяких дослідженнях показано, що підвищене споживання флавоноїдів поєднується зі зниженим ризиком розвитку ІХС (Ness et al., 1996; Hollman & Katan, 1999; Rao, 2002; Boots et al., 2008).

Альфа-ліпоева кислота є антиоксидантом, який природним чином виробляється в організмі, а також міститься в харчових продуктах. Він використовується для розщеплення вуглеводів і отримання енергії. Альфа-ліпоева кислота крім важливої ролі коферменту у виробництві клітинної енергії, відіграє центральну роль в антиоксидантній мережі. Як потужний антиоксидант, ALA інактивує вільні радикали та здатна регенерувати інші оксиданти, такі як вітаміни С та Е, кофермент Q10 та глутатіон. Її перевага перед іншими оксидантами полягає в змозі потрапляти у всі тканини та рідини завдяки своїм водорозчинним властивостям, а також у перетині гематоенцефального бар'єру і, таким чином, також мати захисний ефект (Packer & Cadenas, 2011; Van der Pol et al., 2019; Carrese et al., 2023).

Отже, можна зробити висновок, що активні форми кисню мають як позитивний, так і негативний вплив, а антиоксиданти слід розглядати, як можливий, хоча і не доведений засіб профілактики захворювань органів і систем. Захисний вплив на організм роблять не окремі антиоксиданти, а увесь комплекс речовин, що містяться у продуктах живлення і виробляється у організмі.

Метою роботи було встановлення етіології і патогенезу окисного стресу у собак та корекція цього процесу за допомогою речовин з антиоксидантними і мембранопротекторними властивостями як природного, так і фармацевтичного походження.

**Матеріал та методи досліджень.** У досліді використали 20 безпородних собак, яких відловили на вулиці і утримували в умовах віварію кафедри фізіології і біохімії тварин ДБТУ. Тварини віком 1-2 роки, масою 10-15 кг були розділені на чотири групи: I група – контрольна (n=5), II, III і IV – дослідні (n=15). Собаки I групи не отримувала антиоксидантів, II групи – одержувала одноразово препарат «Е-селен» підшкірно у дозі 0,04 см<sup>3</sup> і «Кверцетин», перорально у дозі 100 мг/кг щодня, III – щоденно альфа-ліпоеву кислоту

у кількості 10 мг на тварину і IV групі додавали у корм порошок необробленого запареного зерна гречки посівної (як джерела кверцетину) індивідуально з розрахунку 2 г на 10 кг маси тіла. Кров на інтенсивність ПОЛ і активність ферментів досліджували на 14 добу експерименту.

У крові тварин визначали кількість еритроцитів за допомогою калібрувальних графіків, концентрацію гемоглобіну – гемоглобінціанідним методом, кількість лейкоцитів підраховували у камері Горяєва. У сироватці крові визначали активність ферментів: аспартат- та аланінамінотрансфераз (АсАТ) (К.Ф.2.6.1.1.) і (АлАТ) (К.Ф.2.6.1.2.) за допомогою тест-наборів фірми «Фелісім-Діагностика», м. Дніпро; каталази (К.Ф.2.3.2.1) – за допомогою тест-реактивів фірми *PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o.*, Чехія, супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) з використанням реакції аутоокиснення адреналіну в лужному середовищі у присутності нітросинього тетразолію. Показники активності ферментів розраховували за даними спектрофотометричних досліджень за кольоровими реакціями.

Інтенсивність процесів перекисного окиснювання ліпідів (ПОЛ) оцінювали через за визначення у плазмі крові концентрації його продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), стану показників антиокиснювальної системи (АОС), рівня загальної антиокислювальної активності (АОА) ліпідів плазми крові. Результати досліджень оброблені статистично з використанням пакета програм *Microsoft Excel*, вірогідність отриманих даних оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Усі маніпуляції проводили відповідно Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Дослідження перед додаванням тваринам антиоксидантів, показали високий вміст початкових і кінцевих продуктів пероксидації як в контрольній, так і в трьох дослідних групах тварин, що свідчило про наявність окисного стресу в результаті важких умов проживання, неправильного харчування і захворювань різної етіології (табл. 1).

Таблиця 1.

**Динаміка вмісту початкових (ДК) і кінцевих (МДА) ТБК-активних продуктів у плазмі крові собак за окисного стресу (M±m; n=5)**

Групи тварин	Інтенсивність ПОЛ, продукти	
	дієнові кон'югати (ДК), мкмоль/л	малоновий діальдегід (МДА), ΔД
До початку дослідю		
I – Контроль	37,4±0,7	6,1±0,3
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	39,02±0,4	7,5±0,07
III – Альфа-ліпоева кислота	66,70±0,2	6,3±0,1
IV – «Зелена гречка»	41,60±0,3	5,9±0,2
14 доба дослідю		
I – Контроль	42,83±0,7	6,13±0,7
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	17,02±0,4*	2,75±0,03*
III – Альфа-ліпоева кислота	16,70±0,2*	2,93±0,04**
IV – «Зелена гречка»	19,60±0,3*	2,91±0,02*

Примітки: різниця значень вірогідна за: \* – (p≤0,001), \*\* (p≤0,01), відносно значень такого показника у контрольних тварин.

У процесі додавання природних і фармацевтичних антиоксидантів у собак дослідних груп ці показники значно знизились, а саме: концентрація ДК у 2,5 рази у II, у 2,6 разів – у III і у 2,2 рази – у IV групі тварин (p≤0,001) і МДА у 2,2; 2,1 і 2,1 рази відповідно (p≤0,01), що свідчить про перешкоджання антиоксидантами утворенню перекисів.

На 14 добу досліду у крові собак всіх груп не відмічено достовірного відхилення у кількості еритроцитів, лейкоцитів і концентрації гемоглобіну і ці показники знаходилися у межах фізіологічної норми (табл. 2)

Таблиця 2

**Кількість еритроцитів, лейкоцитів і рівень гемоглобіну крові собак за окисного стресу і корекції антиоксидантами (M±m; n=5)**

Група тварин	Терміни дослідження, доба
	14
Кількість еритроцитів, Т/дм <sup>3</sup>	
I – Контроль	5,33±0,2
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	4,75±0,4
III – Альфа-ліпоєва кислота	5,17±0,3
IV – «Зелена гречка» – джерело кверцетину	5,22±0,4
Концентрація гемоглобіну, г/дм <sup>3</sup>	
I – Контроль	134,7±7,20
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	125,3±9,01
III – Альфа-ліпоєва кислота	128,0±6,24
IV – «Зелена гречка»	130,2±2,25
Кількість лейкоцитів, Г/дм <sup>3</sup>	
I – Контроль	9,2±0,3
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	8,7±0,41
III – Альфа-ліпоєва кислота	8,7±0,34
IV – «Зелена гречка»	9,3±0,41

За додавання до раціону антиоксидантів (II, III і IV дослідні групи) спостерігали активацію обох ланок АОС, а саме: достовірне збільшення рівня активності обох досліджуваних індикаторних ферментів (супероксиддисмутази і каталази) та показника загальної АOA (табл. 3), що в якійсь мірі узгоджується з дослідями Amani, M.T et al., 2021.

Таблиця 3

**Рівень показників інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові собак за окисного стресу і корекції антиоксидантами» (M±m; n=5)**

Група пугиці (n=10)	Строки досліджень, діб
	14
Активність каталази, нмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /сек мг білка	
I – Контроль	75,4±0,8
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	119,2±1,0*
III – Альфа-ліпоєва кислота	122,5±0,9
IV – «Зелена гречка»	100,7±1,2**
Активність СОД, од.акт./мг білка	
I – Контроль	2,4±0,07
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	3,3±0,03*
III – Альфа-ліпоєва кислота	3,9±0,11*
IV – «Зелена гречка»	3,14±0,10**
Загальна АOA, % інгібіції	
I – Контроль	63,4±1,0
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	80,2±1,6*
III – Альфа-ліпоєва кислота	82,7±1,5** ##
IV – «Зелена гречка»	79,6±2,1* #
Загальний білок, г/дм <sup>3</sup>	
I – Контроль	29,0±1,6
II – «Кверцетин»+ «Е-селен»	36,0±1,0



III – Альфа-ліпоєва кислота	41,0±2,7
IV – «Зелена гречка»	43,0±1,0

Примітки: \* –  $p \leq 0,05$ , \*\* –  $p \leq 0,01$  відносно показників контролю.

Так, у сироватці крові тварин цих груп встановлено підвищення активності каталази на 33,6-62,5-58,7 %, ( $p \leq 0,01$ ), СОД – на 37,5-62,5-30,8 % ( $p \leq 0,01$ ) та рівня загальної АОА – на 26,6-30,4-25,5 % ( $p \leq 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ) відповідно, відносно контролю.

## Висновки

1. Дослідження показали, що до початку експерименту собаки знаходились у стані окисного стресу, про що свідчив високий вміст початкових і кінцевих продуктів пероксидації - дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду як у контрольній, так і у дослідних групах тварин.

2. Застосування у терапії антиоксидантних препаратів «Е-селену» у поєднанні з «Кверцетином», альфа-ліпоєвої кислоти та додавання у корм необробленого меленого зерна гречки, як джерела кверцетину дає ефект відновлення ендогенних антиокисних ресурсів – обох антиоксидантних ферментів (каталази і супероксиддисмутази) та відновлення пулу ендогенної загальної АОА.

## References

- Gusti, A. M. T, Qusti, S. Y., Alshammari, E. M., Toraih, E. A., & Fawzy, M. S. (2021). Antioxidants-related Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPX), Glutathione-S-Transferase (GST), and Nitric Oxide Synthase (NOS) Gene Variants Analysis in an Obese Population: A Preliminary Case-Control Study. *Antioxidants (Basel)*, 10(4), 595. doi: <https://doi.org/10.3390%2Fantiox10040595>
- Bee, L. T., Mohd, E. N., Winnie-Pui-Pui, L. & Heshu, S. R. (2018). Antioxidant and oxidative stress: a mutual interplay in age-related diseases. *Front Pharmacol*, 9, 1162. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162>
- Boots, A. W., Haenen, G. R. & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585(2-3), 325-37. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.03.008>
- Capece, U., Moffa S., Improta, I., Di Giuseppe, G., Nista, E.C., Cefalo, C. M. A., Cinti, F., Pontecorvi, A., Gasbarrini, A., Giaccari, A. & Mezza, T. (2023). Alpha-lipoic acid and glucose metabolism: a comprehensive update on biochemical and therapeutic features. *Nutrients*, 15(1), 18. <https://doi.org/10.3390%2Fnu15010018>
- Caramori, G. & Papi, A. (2004). Oxidants and asthma. *Thorax*, 59(1), 170-173. <https://doi.org/10.1136%2Fthorax.2002.002477>
- Ceriello, A. (2008). Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Diabetes Care*, 31 (2), 181-184. <https://doi.org/10.2337/dc08-s245>.
- Cheraskin, E. (1996). Antioxidants in health and disease. *Journal of the American Optometric Association*, 67(1), 50-57. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0375-3>
- Florence, T. M. (1995). The role of free radicals in disease. *Australian and New Zealand journal of ophthalmology*, 23(1), 3-7. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.1995.tb01638.x>
- Chambial, S., Dwivedi, S., Shukla, K. K., Placheril, J. J. & Praveen, S. (2013). Vitamin C in disease prevention and cure: an overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 28(4), 314-28. <https://doi.org/10.1007%2Fs12291-013-0375-3>
- Hollman, P. C. & Katan, M. B. (1999). Health effects and bioavailability of dietary flavonols. *Free Radical Research*, 31, 75-80. <https://doi.org/10.1080/10715769900301351>.
- Krengel, U. & Tornroth-Horsefield, S. (2015). Coping with Oxidative Stress Science, 347, 125-126. <https://doi.org/10.1126/science.aaa3602>

12. Kujoth, G. C., Hiona, A., Pugh, T. D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S. E., Hofer, T. A., Seo, Y., Sullivan, R., Jobling, W. A., Morrow, J. D., Van Remmen, H., Sedivy, J. M., Yamasoba, T., Tanokura, M., Weindruch, R., Leeuwenburgh, C. & Prolla, T. A. (2005). Mitochondrial DNA Mutations, Oxidative Stress, and Apoptosis in Mammalian Aging. *Science*, 309(5733), 481-4 <https://doi.org/10.1126/science.1112125>
13. Muller, F. L., Song, W., Liu, Y., Chaudhuri, A., Pieke-Dahl, T. -T., Huang, S., Epstein, C. J., Roberts, L. J., Csete, M. Faulkner, J. A. & Van Remmen, H. (2006). Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy. *Free Radical Biology and Medicine*, 40, 1993-2004. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.01.036>
14. Packer, L. & Cadenas, E. (2011). Lipoic acid: energy metabolism and redox regulation of transcription and cell signaling. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 48 (1), 26-32. <https://doi.org/10.3164/jcfn.11-005FR>
15. Pizzino, G., Bitto, A., Interdonato, M., Galfo, F., Irrera, N., Mecchio, A., Pallio, G., Ramistella, V., De Luca, F., Minutoli, L., Squadrito, F. & Altavilla, D. (2014). Oxidative stress and DNA repair and detoxification gene expression in adolescents exposed to heavy metals living in the Milazzo Valle del Mela area (Sicily, Italy). *Redox Biology*, 2, 686-693. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.05.003>
16. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 8416763 <https://doi.org/10.1155/2017/2F8416763>
17. Rao, A. V. (2002). Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, 227(10). 908-913. <https://doi.org/10.1177/153537020222701011>
18. Shinobu, M., Muhammad, A., M., Salka, S. & Sperelakis, N. (1988). Myocardial dysfunction and ultrastructural alterations mediated by oxygen metabolites. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 20, 1009-1024. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(88\)90578-0](https://doi.org/10.1016/0022-2828(88)90578-0)
19. Sies, H. & Jones, D.P. (2020). Reactive Oxygen Species (ROS) as Pleiotropic Physiological Signalling Agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 363-383, <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
20. Storz, P. (2006). Reactive Oxygen Species-Mediated Mitochondria-to-Nucleus Signaling: A Key to Aging and Radical-Caused Diseases. *Science Signaling*, 3, <https://doi.org/10.1126/stke.3322006re3>
21. Taniyama, Y. & Griendling, K. K. (2003). Reactive oxygen species in the vasculature. *Hypertension*, 42, 1075-1081. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.0000100443.09293.4f>
22. Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, K. & Loridas, S. (2013). Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(9), 3886-3907, [doi: https://doi.org/10.3390/ijerph10093886](https://doi.org/10.3390/ijerph10093886)
23. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40. [doi: https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009)
24. Van der Pol, A., Van Gilst, W.H.; Voors, A.A.; Van der Meer, P. (2019). Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *European Journal of Heart Failure*, 21, 425-435. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1320>