

УДК 612.59 + 612.43/.45 + 612.59

©Коллектив авторов

## ВКЛАД СИСТЕМЫ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ В РЕАЛИЗАЦИЮ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА ОПИОИДОВ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Т.Ю.РЕБРОВА<sup>1</sup>, Л.Н.МАСЛОВ<sup>1</sup>, С.В.ТАМ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория экспериментальной кардиологии,  
НИИ кардиологии СО РАМН, 634050 г.Томск, ул. Киевская, 111, тел.: 21-36-25

<sup>2</sup>Компания "NitroMed", Бэдфорд, США

Предварительное внутривенное введение *in vivo*  $\delta$ -агонистов опиатных рецепторов увеличивает резистентность сарколеммы кардиомиоцитов к повреждающему действию окислительного стресса в изолированном сердце крысы *in vitro*. Стимуляция  $\delta$ -рецепторов предупреждает накопление продуктов перекисного окисления липидов и ингибирование супероксиддисмутазы индуцируемое действием на миокард активных форм кислорода. Кардиопротекторный и «антиоксидантный» эффекты  $\delta$ -агонистов полностью отменялись предварительным *in vivo* введением  $\delta$ -антагониста - ICI 174,864. Стимуляция  $\mu$ -опиатных рецепторов *in vivo* не оказывала защитного эффекта на изолированный миокард от кардиотоксического действия активных форм кислорода.

**Ключевые слова:** Опиоидные пептиды, перекисное окисление липидов, супероксиддисмутаза, каталаза, окислительный стресс.

**ВВЕДЕНИЕ.** Проблема профилактики и лечения острых патологических состояний, связанных с ишемией и реперфузией миокарда, остается одной из наиболее актуальных в медицине, поскольку подобные нарушения имеют место при тромболитической терапии острого инфаркта миокарда, трансплантации сердца, кардиохирургических вмешательствах с использованием искусственного кровообращения. Участие свободнорадикальных процессов в патогенезе ишемических и реперфузионных повреждений сердца сегодня не вызывает сомнения [1, 2]. Согласно современным представлениям, свободнорадикальные реакции затрагивают липидные структуры клеточных мембран и способствуют нарушению их целостности вплоть до необратимых повреждений кардиомиоцитов [1, 3]. В связи с этим вопрос о возможности регуляторного воздействия на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) остается



актуальным. Синтетические антиоксиданты способны эффективно предупреждать повреждения миокарда при экспериментальных ишемических и реперфузионных воздействиях, но оказывают слабый протекторный эффект, если их используют после ишемии [4], что существенно ограничивает возможности клинического использования антиоксидантов. Кроме того, многие антиоксиданты оказывают кардиопротекторный эффект только при использовании в очень больших дозировках. Например, ионол оказывает защитный эффект в дозе 50 мг/кг [5]. Использование столь высоких дозировок антиоксидантов неизбежно повышает вероятность появления нежелательных побочных эффектов, поэтому поиск новых подходов к повышению толерантности сердца к окислительному стрессу является важной задачей медицинской биохимии и фармакологии. Одним из таких подходов к повышению активности системы эндогенных антиоксидантов может быть активация опиатных рецепторов (ОР). Так, ранее нами было показано, что смешанный агонист  $\mu$ - и  $\delta$ -ОР даларгин способен подавлять процессы липопероксидации как на уровне целого организма [6], так и в изолированном перфузируемом сердце крысы [7]. Вместе с тем, оставались неизученными механизмы и рецепторная природа реализации данного эффекта опиоидов.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось исследование эффекта предварительной *in vivo*-стимуляции  $\mu$ - и  $\delta$ -опиатных рецепторов в отношении устойчивости изолированного перфузируемого сердца к свободнорадикальному повреждению, а также выяснение роли супероксиддисмутазы и каталазы в реализации "антиоксидантного" эффекта опиоидов.

**МЕТОДИКА.** Опыты проводились на изолированных сердцах крыс линии Вистар, перфузируемых в изоволюмическом режиме по методу Лангендорфа оксигенированным (95%  $O_2$  + 5%  $CO_2$ ,  $+37^\circ \pm 0,5^\circ C$ ) раствором Кребса-Хензелята следующего состава (в mM): NaCl - 120; KCl - 4,8;  $CaCl_2$  - 2,0;  $MgSO_4$  - 1,2;  $KH_2PO_4$  - 1,2;  $NaHCO_3$  - 20,0; глюкоза - 10. Изолированные сердца сокращались в спонтанном ритме. Процессу активации ПОЛ предшествовал 20-минутный стабилизационный период. В течение следующих 20 мин. перфузии препараты изолированного сердца подвергали воздействию окислительного стресса по методу, опубликованному нами ранее (добавление в перфузионный раствор  $O_2^{\cdot -}$  - генерирующей системы 0,2 mM  $FeSO_4$  + 0,5 mM аскорбата) [7]. Степень нарушения целостности сарколеммы и, соответственно, кардиопротекторный эффект исследуемых лигандов ОР оценивали по активности креатинфосфокиназы (КФК) в оттекающем от сердца перфузате с использованием коммерческих наборов ("Sigma", St. Louis, США). Конечный результат выражали в мкмоль NADH/(мин·л). По завершении эксперимента образцы миокарда замораживали в жидком азоте для определения показателей, характеризующих интенсивность процессов пероксидации липидов. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) оценивали по увеличению оптической плотности гексановых экстрактов миокарда при 232 нм [8], конечный результат рассчитывали на грамм ткани. Вторичный продукт ПОЛ - малоновый диальдегид (МДА) определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой [9]. Параллельно в образцах миокарда проводили определение активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД; КФ 1.15.1.11) и каталазы (КФ 1.11.1.6.). Активность СОД выражали в ммоль/мин·мг белка и оценивали по способности гомогенатов ткани миокарда животных различных групп ингибировать спонтанное окисление



адреналина в щелочной среде (pH10,2) [10]. Каталазную активность исследуемых образцов определяли спектрофотометрически и выражали в ммоль/мин на 1г белка [11]. Для определения содержания белка пользовались биуретовым методом [12]. Для оценки интактного уровня биохимических показателей использовали сердца, перфузированные раствором Кребса-Хензелята в течение 40 мин без добавления FeSO<sub>4</sub> и аскорбата.

Агонисты  $\mu$ -OP DAMGO ([D-Ala<sup>2</sup>,N-Me-Phe<sup>4</sup>,Gly-ol<sup>5</sup>]-enkephalin) [13] и DALDA ([D-Arg<sup>2</sup>,Lys<sup>4</sup>]-dermorphin-(1-4)-amide) [14], а также селективные лиганды  $\delta$ -OP DSLET ([D-Ser<sup>2</sup>,Leu<sup>5</sup>,Thr<sup>6</sup>]-enkephalin) [15] и DTLET ([D-Thr<sup>2</sup>,Leu<sup>5</sup>]-enkephalyl-Thr<sup>6</sup>) [15] вводили внутривенно в дозе 0,1 мг/кг за 20 минут до начала выделения сердца. При выборе дозы опиоидов мы руководствовались нашими ранее опубликованными данными об "антиоксидантной" активности неселективного пептидного агониста  $\mu$ - и  $\delta$ -OP далагина [7]. Селективный антагонист  $\delta$ -OP ICI 174,684 (N, N-dial-Alyl-Tyr-Aib-Aib-Phe-LeuOH, где Aib – alpha – aminoisobutiric acid) [16] вводили внутривенно в дозе 2,5 мг/кг [17] за 30 мин. до выделения сердца или за 15 мин. до инъекции DSLET. Используемые в работе лиганды опиатных рецепторов были синтезированы в компании Chiron Mimotopes Peptide Systems, (San Diego, США) и любезно предоставлены нам Dr. K.Gormley (NIDA, США).

Полученные экспериментальные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.** Моделирование окислительного стресса *in vitro* сопровождалось увеличением содержания МДА в миокарде на 68% и ДК на 41% (табл). Одновременно наблюдалось повышение активности КФК в оттекающем от сердца перфузате в 4,5 раза относительно исходных значений (рис.1). Эти данные свидетельствует об активации ПОЛ и нарушении барьерных свойств сарколеммы кардиомиоцитов в условиях окислительного стресса. Исследование активности ферментативных антиоксидантов в миокарде показало, что стимуляция свободнорадикального окисления липидов приводит к достоверному увеличению активности каталазы и снижению СОД относительно аналогичного показателя в группе интактных животных (табл).

Согласно литературным данным, отмеченное нами ингибирование СОД в условиях активации ПОЛ может являться результатом накопления соединений, взаимодействующих с ионами металлов в активном центре фермента или влияющих на степень их восстановленности [18]. Кроме того, угнетение активности СОД может быть следствием взаимодействия активного центра этого энзима с гидроперекисями ненасыщенных жирных кислот [19], выступающими в роли предшественников ДК [20], повышение уровня которых в ткани миокарда мы обнаружили при активации свободнорадикальных процессов (табл.) Следовательно, возможность ингибирования СОД эндогенными гидроперекисями ненасыщенных жирных кислот в наших экспериментах представляется весьма вероятной.

Обнаруженное увеличение активности каталазы в условиях окислительного стресса может, на наш взгляд, представлять собой элемент компенсаторной реакции в ответ на повышение уровня активных форм кислорода в клетке. Природа обнаруженного нами феномена повышения активности каталазы в ответ на активацию ПОЛ остается неизвестной.



Таблица. Участие лигандов опиатных рецепторов в регуляции процессов перекисного окисления липидов в миокарде крыс при окислительном стрессе ( $X \pm m$ ).

Группа животных	МДА нмоль/г ткани	ДК $\Delta E_{232}/г$ ткани	Каталаза (ммоль/мин/г белка)	СОД (ммоль/мин/мг белка)
Интактные n=15	$1,19 \pm 0,06$	$0,363 \pm 0,021$	$15,2 \pm 0,75$	$7,81 \pm 0,15$
Активация ПОЛ n=15	$2,04 \pm 0,14$ $p_1 < 0,001$	$0,445 \pm 0,014$ $p_1 < 0,01$	$21,9 \pm 1,41$ $p_1 < 0,001$	$2,23 \pm 0,26$ $p_1 < 0,001$
DAMGO (0,1 мг/кг, в/в) + Активация ПОЛ n = 13	$1,22 \pm 0,04$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$0,437 \pm 0,029$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	$14,9 \pm 0,61$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$4,27 \pm 0,13$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
DALDA (0,1 мг/кг, в/в) + активация ПОЛ n = 13	$1,29 \pm 0,06$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$0,408 \pm 0,060$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	$21,5 \pm 0,78$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$4,80 \pm 0,28$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
DSLET (0,1 мг/кг, в/в) + активация ПОЛ n = 12	$1,35 \pm 0,04$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$0,384 \pm 0,013$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$17,97 \pm 0,54$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$	$10,87 \pm 0,36$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
DTLET (0,1 мг/кг, в/в) + активация ПОЛ n = 12	$1,09 \pm 0,038$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$0,372 \pm 0,018$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	$18,72 \pm 0,36$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$	$13,94 \pm 0,47$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
ICI (2,5 мг/кг, в/в) + активация ПОЛ n = 10	$1,78 \pm 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,469 \pm 0,012$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	$19,77 \pm 0,83$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$3,24 \pm 0,38$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
ICI (2,5 мг/кг, в/в) + DSLET (0,1 мг/кг, в/в) + активация ПОЛ n = 10	$1,99 \pm 0,07$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,479 \pm 0,013$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	$20,45 \pm 0,73$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$3,15 \pm 0,29$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$

Примечание:  $p_1$  - достоверность относительно группы интактных сердец,  $p_2$  - достоверность относительно группы сердец, перфузированных смесью  $FeSO_4$  (0,2 mM) + аскорбат (0,5 mM) в течении 20 мин

Предварительное системное введение селективного  $\mu$ - агониста DAMGO не влияло на уровень КФК в перфузате, оттекающем от сердца, в котором были активированы свободно-радикальные процессы (рис.), что свидетельствует об отсутствии кардиопротекторного эффекта при использовании данного лиганда  $\mu$ -ОР в указанных условиях. Активация  $\mu$ -ОР при помощи другого пептида - DALDA - также не сопровождалась повышением резистентности миокарда к повреждающему воздействию окислительного стресса, о чем свидетельствует высокий уровень КФК в перфузате (рис.).

Тем не менее, стимуляция  $\mu$ -ОР с помощью DAMGO способствовала снижению содержания МДА в ткани миокарда на 66% относительно контрольной группы, но не влияла на уровень ДК (табл.). Аналогичные изменения уровня продуктов ПОЛ были обнаружены в препаратах миокарда, подвергшихся окислительному стрессу на фоне активации  $\mu$ -ОР с помощью DALDA. Так, уровень МДА при этом снижался на 36,7 %, а показатель ДК достоверно не изменялся относительно группы контроля (табл.).

МКМОЛЬ  
NADH/ (МИН $\times$  Л)

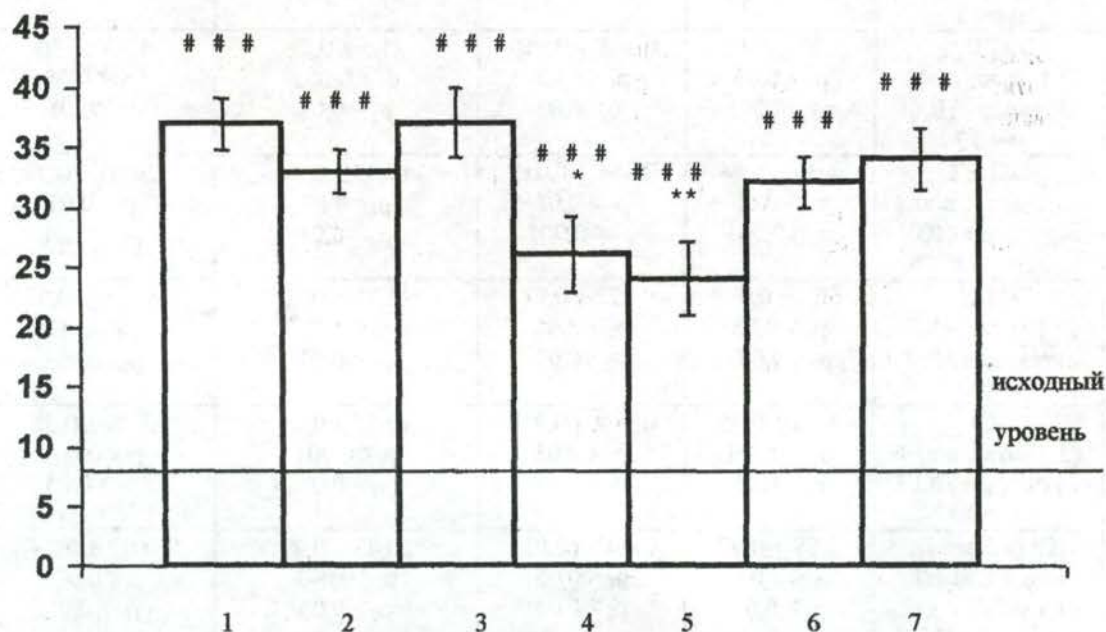


Рисунок 1

Влияние агонистов и антагонистов опиатных рецепторов на уровень креатинфосфокиназы в оттекающем от сердца перфузате.

1- группа сердец, подвергшихся активирующему ПОЛ воздействию;  
2 - DAGO + активация ПОЛ; 3 - DALDA + активация ПОЛ; 4 - DSLET + активация ПОЛ;  
5 - DTLET + активация ПОЛ; 6 - ICI + активация ПОЛ; 7 - ISI + DSLET + активация ПОЛ.

Примечание: достоверные отличия от группы контроля : \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

Отличия от исходных значений : # -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ; ### -  $p < 0,001$ .

Как известно, МДА образуется не только в результате деградации диеновых конъюгатов жирных кислот, но и в процессе образования простагландинов [21], поэтому снижение продукции МДА в ответ на стимуляцию  $\mu$ -ОР могло явиться следствием угнетения биосинтеза некоторых простагландинов. Так, ранее нами было установлено, что агонисты  $\mu$ - и  $\delta$ -ОР способны угнетать биосинтез тромбоксана в миокарде [6,7]. После стимуляции  $\mu$ -ОР с помощью DAMGO в условиях окислительного стресса активность СОД увеличилась на 51% относительно группы стресс-контроля, а активность каталазы возвратилась к интактному уровню (табл.). Сходные изменения активности СОД были обнаружены нами и после применения другого  $\mu$ -агониста - DALDA.



Однако активность каталазы при этом оставалась на уровне стресс-контроля. Из полученных данных следует, что предварительная стимуляция  $\mu$ -ОР, в значительной степени, предупреждает снижение активности СОД в ответ на активацию свободнорадикальных процессов в миокарде. Однако, подобная  $\mu$ -опиатергическая активация СОД, видимо, оказывалась недостаточной для того, чтобы в полной мере защитить миокард от повреждающего действия активных форм кислорода. Свидетельством тому может служить тот факт, что в перфузате, оттекающем от сердец крыс, получавших агонисты  $\mu$ -ОР, сохранялась такая же высокая активность КФК, как и в контрольной группе.

Активация  $\delta$ -ОР с помощью внутривенного введения их селективных агонистов DSLET или DTLET сопровождалась в обоих случаях снижением уровня КФК в оттекающем от сердца перфузате в 1,4 раза по сравнению с группой контроля (рис.), что свидетельствует о повышении устойчивости кардиомиоцитов к повреждающему воздействию окислительного стресса.

Кардиопротекторный эффект исследуемых  $\delta$ -агонистов сочетался со снижением уровня продуктов ПОЛ в миокарде. После предварительной инъекции DSLET содержание ДК уменьшалось на 36%, а МДА - на 54% относительно группы сердец, подвергшихся окислительному стрессу (табл.). Предварительное системное введение DTLET способствовало снижению уровня ДК на 16 %, а МДА на 47 % по сравнению с контрольными значениями.

Способность агонистов  $\delta$ -ОР подавлять процессы ПОЛ, скорее всего, связана с повышением активности антиокислительных ферментов. Действительно, в наших экспериментах предварительное введение DSLET или DTLET способствовало нормализации активности СОД на фоне окислительного стресса до уровня, определяемого в интактном миокарде. Вместе с тем, уровень каталазной активности, повышенный при воздействии окислительного стресса, не менялся под влиянием DSLET или DTLET.

Стимулирующее действие агонистов  $\delta$ -ОР на активность СОД и каталазы может, на наш взгляд, обеспечивать высокую толерантность сердца к окислительному стрессу. Так, общеизвестно, что каталаза способствует инактивации  $H_2O_2$ , образующейся в реакции дисмутации  $O^*$  под действием СОД. В данном случае эти два фермента работают сопряженно и их активность изменяется однонаправленно, поэтому повышение активности СОД и каталазы после активации  $\delta$ -ОР в условиях окислительного стресса обеспечивает снижение количества свободных радикалов и продуктов ПОЛ, а в конечном итоге - кардиопротекторный эффект  $\delta$ -агонистов.

Обнаруженные нами кардиопротекторный и "антиоксидантный" эффекты агонистов  $\delta$ -ОР носят рецепторную природу, так как предварительная блокада данного типа рецепторов с помощью их селективного антагониста ICI 174,684 полностью устраняла кардиопротекторное действие DSLET при активации свободнорадикальных процессов. Так, в серии экспериментов с совместным введением  $\delta$ -антагониста ICI 174,684 и агониста  $\delta$ -ОР DSLET уровень КФК в перфузате не отличался от значений, обнаруженных в контрольной группе (рис.).

Из табл. видно, что блокада  $\delta$ -ОР с помощью ICI 174,684 не влияла на содержание продуктов перекисидации липидов в ткани миокарда и активность антиокислительных ферментов при окислительном стрессе. Однако предварительная инъекция данного  $\delta$ -антагониста препятствовала  $\delta$ -рецептор-зависимой активации СОД и снижению продукции МДА и ДК в ответ на



фармакологическую стимуляцию  $\delta$ -ОР. Следовательно, кардиопротекторный и "антиоксидантный" эффект  $\delta$ -агонистов связаны с активацией кардиальных ОР. Молекулярный механизм указанных эффектов требует дополнительного изучения.

Таким образом, вышеизложенные результаты позволяют считать, что активация  $\delta$ -рецепторов способствует повышению резистентности сердца к «кардиопатогенному» действию окислительного стресса. Кардиопротекторный эффект  $\delta$ -агонистов реализуется за счет повышения активности СОД в миокарде, что приводит к снижению интенсивности пероксидации липидов и уменьшению количества кардиотоксических продуктов ПОЛ. Остается открытым вопрос о механизмах опиатергической регуляции СОД и каталазы. Активация  $\mu$ -ОР не влияет на устойчивость миокарда к действию активных форм кислорода.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Биленко М.В. (1989) Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). М., Медицина.
2. Литвицкий П.Ф., Сандриков В.А., Демуров Е.А. (1994) Адаптивные и патогенные эффекты реперфузии и реоксигенации миокарда. М., Медицина.
3. Чернов Ю.Н., Васин М.В., Батищева Г.А. (1992) Экспериментальная и клин. фармакол. 57 (4). 67-72.
4. Klein H.N., Pich S., Lindert S., Nabendahl K., Niedmann P., Kreuzer H. (1989) Am. Heart J. 118, 667-673.
5. Меерсон Ф.З. (1984) Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М., Медицина.
6. Лишманов Ю.Б., Травков Ю.А., Федотова Т.В. и др. (1991) Бюлл. экспер. биол. мед. №6, 619 – 621.
7. Лишманов Ю.Б., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А. и др. (1992) Бюлл. экспер. биол. мед. № 11, 88 – 91.
8. Лебедев А.В., Афанасьев С.А., Алексеева Е.Д. и др. (1995) Бюлл. экспер. биол. мед. 6. 584-586.
9. Yagi K.A. (1976) Biochem Med. 15. 212-216.
10. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. (1976) Бюлл. экспер.биол. и мед. 81, 33-34.
11. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. (1988) Лаб. дело. № 1, 16-19.
12. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. (1991) Справочник биохимика. М. Мир.
13. Handa B.K., Lane A.C., Lord J.A.H. et al. (1981) Eur. J. Pharmacol. 70, 531-540.
14. Schiller P.W., Nguyen T.M.-D., Chung N.N. et al. (1990) The International Narcotic Research Conference'89, Alan R.Liss. New York, pp. 53-56.

15. Delay-Goyet P., Zajac J.M., Rigaudy P., et al. (1985) FEBS Let. **183**(2), 439-443.
16. Cotton R., Giler M., Miller L., et al. (1984) Eur. J. Pharmacol. **97**, 331-332 ..
17. Dauge V., Rossignol P., Roques B.P. (1988) Psychopharmacology, **96**, (3), 343-352.
18. Поберезкина Н.Б., Осинская Л.Ф. (1989) Укр. Биох. ж. **61** (2), 14-27.
19. Гудзь Т.И., Пешикова Е.Г., Гончаренко Е.Н. (1982) Радиобиология **22** (5), 674-677.
20. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. (1972) Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М. Наука.
21. Белоусов Ю.Б., Азизова О.А., Разумов В.Б. и др. (1989) Кардиология, № 2, 42-45.

Поступила 23.04.00.

## THE INVOLVEMENT OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF $\delta$ -OPIOIDS DURING OXIDATIVE STRESS

T.YU. REBROVA<sup>1</sup>, L.N. MASLOV<sup>1</sup>, S.W. TAM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cardiology, Kyevskay str 111, 634050 Tomsk, Russia

<sup>2</sup>"NitroMed", Bedford, Massachusetts, USA

Intravenous administration of peptide  $\delta_2$ -opioid receptor agonists increased cardiac sarcolemma resistance to subsequent oxidative stress in the isolated perfused rat heart *in vitro*.  $\delta$ -Opioid receptor stimulation prevented oxidative stress-induced accumulation of lipid peroxides in myocardium and inhibition of superoxide dismutase. The cardioprotective and "antioxidant" effects of  $\delta$ -agonists were completely abolished by *in vivo* pretreatment with the  $\delta$ -receptor antagonist ICI 174,864.  $\mu$ -Opioid receptor activation *in vivo* did not protect the isolated myocardium from cardiotoxic action of activated oxygen species.

**Key words:** opioid peptides, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, oxidative stress