

## MODIFICĂRILE SISTEMULUI GLUTATIONIC ERITROCITAR ÎN NORMĂ ȘI ASTM BRONȘIC ASOCIAT SUB ACȚIUNEA UNOR COMPUȘI BIOLOGICI ACTIVI AUTOHTONI

Valeriana Pantea<sup>1</sup> – doctorand, Olga Tagadiuc<sup>1</sup> – dr. hab. în șt. med., conf. univ.,  
Larisa Procopișin<sup>2</sup> – dr. în șt. med., conf. cercet., Lilia Andronache<sup>1</sup> – cercet. șt.,  
Aurelian Gulea<sup>3</sup> – dr. hab. în șt. med., prof. univ., acad.,  
Valentin Gudumac<sup>1</sup> – dr. hab. în șt. med., prof. univ.,  
<sup>1</sup>IP USMF „Nicolae Testemițanu”,  
<sup>2</sup>IMSP Institutul de Ftziopneumologie „Chiril Draganiuc”,  
<sup>3</sup>IP Universitatea de Stat a Moldovei  
e-mail: [valeriana.pantea@usmf.md](mailto:valeriana.pantea@usmf.md), tel. (37322) 205-136

### Rezumat

S-a studiat influența compușilor biologic activi (CBA) autohtoni - CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 asupra indicilor sistemului glutacionic eritrocitar (GSH, GR, GPO, GST, G-6-PDH) *in vitro* în condiții normale și în astmul bronșic (AB) de severitate diferită. S-a stabilit că CBA autohtoni exercită efecte modulatorie relevante asupra pricipalelor enzime ale metabolismului GSH, preponderent stimulatorie, fapt ce ar putea fi apreciat ca un răspuns pozitiv ce poate proteja celulele de efectele toxice ale stresului oxidativ specific pentru AB. Indicii studiați pot fi folosiți ca biomarkeri informativi pentru monitorizarea procesului patologic și aprecierea eficienței preparatelor noi la restabilirea biochimică și funcțională a sistemelor de protecție celulare în AB și diverse leziuni pulmonare.

**Cuvinte-cheie:** compuși biologic activi, astmu bronșic, glutation, enzime glutacionice

### Summary. The modification of erythrocyte glutathione system in normal conditions and asthma, and the influence of some local biologically active compounds

The influence of local biologically active compounds (CBA) - CMD-4, CMD-8, CMJ-33 and CMJ-23 on the indices of erythrocytes glutathione system (GSH, GR, GPO, GST, G-6-PDH) *in vitro* in normal conditions and asthma (AB) of varying severity was studied. It was established that the local CBA exercises relevant modulatory, mainly stimulants, effects on the key enzymes of the glutathionic metabolism, which could be appreciated as a positive response that can protect cells from the toxic effects of specifically for AB oxidative stress. The studied indices can be used as informative biomarkers for monitoring of the pathological process and for assessing of the effectiveness of new compounds for the biochemical and functional restoration of the cellular protection systems in various lung injury.

**Key words:** biologically active compounds, asthma, glutathione, glutathione enzymes

### Резюме. Изменения глутатионовой системы эритроцитов в норме и бронхиальной астме под влиянием некоторых биологически активных соединений

Было изучено влияние биологически активных соединений (БАС) - CMD-4, CMD-8, CMJ-33 и CMJ-23 на показатели глутатионовой системы эритроцитов (восстановленный глутатион, глутатион редуктаза, глутатион пероксидаза, глутатион-S-трансфераза, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа) *in vitro* в норме и при бронхиальной астме (БА) различной степени тяжести. Установлено, что отечественные БАС оказывают модулирующие в основном стимулирующие эффекты на ключевые ферменты метаболизма глутатиона, что можно считать как положительный сдвиг, направленный на защиту клеток от токсического воздействия оксидативного стресса, специфичного для БА. Изученные показатели могут быть использованы в качестве информативных биомаркеров для мониторинга патологического процесса и оценки эффективности новых препаратов для биохимического и функционального восстановления защитных клеточных систем при БА и других легочных заболеваниях.

**Ключевые слова:** биологически активные соединения, астма, глутатион, глутатионовые ферменты

**Introducere.** Astmul se caracterizează printr-un dezechilibru între sistemele de reducere și oxidare (redox), ce favorizează crearea unui mediu prooxidativ [3]. S-a constatat că reprezentanții esențiali ai primei linii de protecție antioxidantă – superoxidismutaza și catalaza au activitatea redusă în astm comparativ cu valorile depistate la persoanele sănătoase,

cu nivel minim la pacienții cu formele grave [2, 11]. Un rol important în protecția antioxidantă îl deține glutatiionul (GSH) și enzimele glutacionice. Glutatiionul este un antioxidant masiv exprimat în lichidul ce căpтуșește epiteliul pulmonar și în celulele căilor respiratorii, în care funcționează ca reglator al ciclului celular și substrat enzimatic [5]. Epiteliul alveolar

și lichidul ce-l căpтуșește conține nu doar GSH, dar și cantități importante de glutatión peroxidază (GPO) și  $\gamma$ -glutamil transferază ( $\gamma$ -GT) care se utilizează în reacțiile de neutralizare a peroxidilor GSH din celulele epiteliale ale căilor respiratorii. Activitatea enzimelor glutatióndependente este diminuată în astmul bronșic, ceea ce dezechilibrează raportul GSH/GSSG și afectează capacitatea de protecție antioxidantă a căilor respiratorii [3, 5, 6].

Identificarea, studiul și testarea unor remedii noi de corecție a dereglărilor sistemului glutatiónic în afecțiunile sistemului respirator, inclusiv, astmul bronșic prezintă un interes deosebit datorită creșterii incidenței acestei patologii și severității procesului patologic cu dizabilitarea persoanelor apte de muncă. Totodată, nu se cunosc în detaliu multe mecanisme de acțiune biochimică a unor compuși biologic activi (CBA) autohtoni, în special, asupra nivelului GSH și activității enzimelor metabolismului glutatiónic în normă și la pacienții cu astm bronșic.

**Scopul** studiului constă în elucidarea mecanismelor de acțiune a unor compuși biologic activi autohtoni asupra indicilor sistemului glutatiónic eritrocitar la testarea *in vitro* în condiții normale și în astmul bronșic (AB) de gravitate diferită.

**Material și metode.** Cercetările au fost efectuate pe eșantioanele de sânge periferic colectat de la 40 pacienți cu vârsta cuprinsă între 20 și 74 ani (vârsta medie 47 ani) care s-au aflat la evidență în IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”, secția Pulmonologie, diagnosticați cu astm bronșic asociat persistent. Lotul-martor a fost constituit din 10 persoane practic sănătoase. Pacienții au fost divizați în următoarele loturi: I - pacienți cu astm bronșic persistent ușor; II - pacienți cu astm bronșic persistent moderat; III - pacienți cu astm bronșic persistent grav.

În studiu s-au utilizat compușii: CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 sintetizați la Catedra Chimie anorganică, Universitatea de Stat din Moldova) [8].

Sângele a fost recoltat dimineața *a jeun*, prin puncția venei cubitale, în cantitate de 2 ml. În condiții sterile, sângele a fost introdus într-un flacon ce conține 8 ml mediu nutritiv Eagle modificat după Dulbecco (DMEM), heparină (2,5 un/ml), gentamicină (100  $\mu$ g/ml) și L-glutamină (0,6 mg/ml). Pentru studiul influenței remediilor autohtone asupra sistemului glutatiónic s-a pipetat câte 1,0 ml din acest amestec în 6 eprubete sterile. În prima eprubetă (1) pentru stabilirea nivelului inițial al indicilor studiați s-a turnat ser fiziologic 0,9% – 0,1 ml. În celelalte s-au adăugat remediile testate, diluate în 0,1 ml ser fiziologic: 2) CMD-4 50 ng/ml; 3) CMD-8 50 ng/ml; 4) CMJ-23 50ng/ml; 5) CMJ-33 50 ng/ml. După incubare la 37°C timp de 24 h, eprubetele au fost centrifugate la 5000 tur/min, timp de 5 min. Masa eritocitară obținută a fost diluată cu 0,5 ml H<sub>2</sub>O distilată și congelată la -40°C până la efectuarea investigațiilor.

În lizatele eritrocitare prin micrometode spectrofotometrice adaptate la riderul hibrid multi-modal cu microplăci Synergy H1 (Hydrid Reader) (BioTek Instruments, SUA) au fost evaluați următorii indici: conținutul de glutatión (GSH), activitatea glutatiónreductazei (GR), glutatiónperoxidazei (GPO), precum și a glucozo-6-fosfat dehidrogenazei (G-6-P DH) [7]. Pentru testarea diferenței semnificative dintre indicii studiați ai loturilor comparate s-a utilizat testul statistic nonparametric „U Mann-Whitney” și pragul de semnificație  $p < 0,05$  (StatsDirect statistical software, version 1.9.5, 2001).

**Rezultate.** Influența remediilor studiate asupra indicilor sistemului glutatiónic eritrocitar la testarea *in vitro* în condiții normale și în astmul bronșic (AB) de gravitate diferită este reflectată și prezentată în tabelele 1-5.

Cercetările efectuate denotă că toate remediile testate induc majorarea conținutului de GSH în eritrocitele pacienților, cele mai veridice față de lotul martor fiind înregistrate în cazul tratării cu CMJ-33 ( $p < 0,01$  în AB gravitate ușoară;  $p < 0,001$  în AB gravi-

Tabelul 1

**Influența compușilor CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 asupra conținutului de glutatión redus (GSH,  $\mu$ mol/g Hb) în eritrocitele persoanelor practic sănătoase și la pacienții cu astm bronșic**

Loturile de studiu	Martor	AB persistent ușor	AB persistent moderat	AB persistent grav
Inițial	0,38±0,013	0,44±0,021	0,41±0,025	0,38±0,011
CMD-4	0,38±0,013	0,40±0,002	0,38±0,019	0,38±0,014
CMD-8	0,36±0,016	0,60±0,092 *##	0,38±0,012	0,36±0,015
CMJ-33	0,29±0,011 ***	0,43±0,007 ###	0,47±0,042 ###	0,35±0,014 #
CMJ-23	0,30±0,005 **	0,38±0,01 *-3,##	0,41±0,020 ###	0,34±0,007 **##

Notă: Nivel inițial – până la tratarea eritrocitelor cu remediile studiate; diferență statistic semnificativă față de nivelul inițial: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ; diferență statistic semnificativă față de lotul martor (persoane practic sănătoase): # -  $p < 0,01$ ; ## -  $p < 0,001$ .

Tabelul 2

**Influența remediilor CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 asupra activității glutatation reductazei (GR, nM/s.g Hb) în eritrocitele persoanelor practic sănătoase și la pacienții cu astm bronșic**

Loturile de studiu	Martor	AB persistent ușor	AB persistent moderat	AB persistent grav
Inițial	58,46±4,02	96,35±7,51 ###	81,61±14,17	53,59±4,48
CMD-4	62,90±4,0	133,55±18,41 *##	61,92±5,13	51,07±5,74
CMD-8	62,90±4,0	97,81±16,63	55,83±5,29	48,99±5,88
CMJ-33	64,75±14,54	125,09±8,41 *###	62,25±7,76	57,06±10,50
CMJ-23	51,96±6,68	113,22±15,81 ##	40,82±9,38 *	48,89±4,66

Notă: vezi tab. 1.

tate medie; p<0,05 în AB grav) și, CMJ-23 (p<0,01 în AB gravitate ușoară; p<0,001 în AB gravitate medie; p<0,01 în AB grav).

Totodată, se evidențiază scăderea conținutului de GSH în eritrocite sub influența preparatelor testate în comparație cu nivelul inițial, și excepția lotului cu CMD-8 în cazul AB ușor și lotului cu CMJ-33 în cazul AB moderat, unde are loc creșterea neconcludentă a GSH.

În tabelul 2 sunt prezentate rezultatele evaluării influenței remediilor testate asupra activității GR din care reiese că, nivelul funcțional al acestei enzime la persoanele sănătoase practic nu este influențat de remediile cercetate. Modificări veridice în sensul majorării GR au fost înregistrate în AB forma ușoară sub influența CMD-4 comparativ cu nivelul inițial (p<0,05) și lotul-martor (p<0,01), CMJ-23 comparativ cu martorul (p<0,01) și CMJ-33 comparativ cu nivelul inițial (p<0,05) și lotul-martor (p<0,001).

În AB moderat are loc reducerea GR sub influența CMJ-23 comparativ cu nivelul inițial (p<0,05).

În AB forma gravă tratarea sângelui cu remediile testate practic nu influențează asupra activității GR,

aceasta menținându-se în limitele valorilor inițiale înregistrate la incubarea sângelui cu ser fiziologic fără remedii.

Rezultatele evaluării influenței remediilor studiate asupra activității G-6-PDH denotă o diminuare veridică a acestei enzime la persoanele practic sănătoase comparativ cu valorile inițiale (tabelul 3).

Incubarea sângelui pacienților cu AB în mediu nutritiv și ser fiziologic fără remedii timp de 24 ore induce schimbări esențiale ale activității G-6-PDH – creșterea pregnantă de 6,5 ori în AB forma ușoară, de 4,6 ori în AB forma moderată și de 2 ori în cea gravă în comparație cu valorile martorului (p<0,001).

La tratarea cu substanțele studiate, în toate formele de AB acest indice atinge un nivel net superior martorului (p<0,001 și p<0,01 în toate loturile), dar practic nu se deosebește de valorile inițiale.

Rezultatele evaluării influenței remediilor studiate asupra activității GPO denotă o diminuare veridică a acestei enzime sub influența CMD-4 și CMJ-23 la persoanele practic sănătoase comparativ cu valorile inițiale (tabelul 4).

Incubarea sângelui pacienților cu AB în mediu

Tabelul 3

**Influența remediilor CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 asupra activității glucozo-6-fosfat dehidrogenazei (G-6-PDH, nM/s.g Hb) în eritrocitele persoanelor practic sănătoase și la pacienții cu astm bronșic**

Loturile de studiu	Martor	AB persistent ușor	AB persistent moderat	AB persistent grav
Inițial	20,15±0,84	130,16±3,63 ###	92,08±1,08 ###	41,83±1,71 ###
CMD-4	14,87±1,49 **	126,45±4,84 ##	109,65±9,46 ###	36,31±2,98 ###
CMD-8	15,67±1,24 **	135,08±7,48 ###	84,56±9,45 *,###	35,18±1,92 *.,###
CMJ-33	15,58±0,76 **	131,1±8,4 ###	90,09±9,95 *.,###	34,26±1,17 *.,###
CMJ-23	15,97±1,03 *	128,2±6,03 ##	90,20±7,77 ###	31,78±2,38 *.,###

Legendă: vezi tab.1.

Tabelul 4

**Influența remediilor CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 asupra activității glutatationperoxidazei (GPO, nM/s.g Hb) în eritrocitele persoanelor practic sănătoase și la pacienții cu astm bronșic**

Loturile de studiu	Martor	AB persistent ușor	AB persistent moderat	AB persistent grav
Inițial	69,39±1,95	92,88±0,83 ##	97,42±3,15 ###	67,86±4,18
CMD-4	60,65±2,01 **	95,10±4,26 ###	94,07±2,68 ###	64,19±2,14
CMD-8	65,56±3,70	95,01±1,43 ##	92,29±1,57 ###	72,54±2,48
CMJ-33	66,62±5,26	96,75±3,60 ##	89,31±2,62 ###	67,52±1,06
CMJ-23	55,67±3,79 **	94,38±3,21 ###	87,09±5,27 ###	65,55±3,77

Legendă: vezi tab. 1.

Tabelul 5

**Influența remediilor CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 asupra activității glutatation-S-transferazei (GST), nM/s.g Hb) în eritrocitele persoanelor practic sănătoase și la pacienții cu astm bronșic**

Loturile de studiu	Martor	AB persistent ușor	AB persistent moderat	AB persistent grav
Inițial	8,85±1,11	7,00±0,65	7,94±0,74	9,34±0,89
CMD-4	7,50±0,43	5,80±0,16	7,12±0,83	10,13±1,11#
CMD-8	7,73±0,51	4,01±0,67 *.,##	7,12±0,83	10,70±0,94 #
CMJ-33	7,73±0,51	12,71±0,60 *.,##	6,59±1,24	9,76±0,45 #
CMJ-23	6,41±0,50	10,22±1,24 *.,##	11,04±1,06 *.,##	8,94±1,15

Legendă: vezi tab. 1.

nutritiv și ser fiziologic fără remedii timp de 24 ore induce creșterea statistic semnificativă a GPO în AB forma ușoară și moderată în comparație cu valorile martorului.

În AB forma ușoară și moderată toate substanțele testate mențin veridic la nivel sporit funcționalitatea enzimei comparativ cu nivelul martor, aflându-se totodată la același nivel cu cel inițial. În AB forma gravă remediile testate nu induc schimbări esențiale ale nivelului GPO în eritrocite în raport cu indicii martorului.

Rezultatele evaluării influenței remediilor studiate asupra activității GST denotă o tendință de diminuare fără semnificație statistică a acestei enzime la persoanele practic sănătoase comparativ cu valorile inițiale (tabelul 5).

Incubarea sângelui pacienților cu AB în mediu nutritiv și ser fiziologic fără remedii timp de 24 ore nu induce careva modificări statistic semnificative ale funcției catalitice ale GST, de notat doar o tendință slabă de reducere a GST în AB forma ușoară în comparație cu valorile martorului.

În AB forma ușoară CMD-8 scade veridic, iar substanțele CMJ-23 și CMJ-33 induc creșterea rele-

vantă a GST în raport cu indicii martorului și valorile inițiale.

În AB persistent moderat s-a constatat că doar CMJ-23 crește semnificativ veridic funcționalitatea enzimei, comparativ cu nivelul inițial și cel al martorului. În AB forma gravă toate remediile testate induc creșterea esențială a nivelului GST în eritrocite în raport cu indicii martorului, cu excepția CMJ-23 care influențează neimportant activitatea enzimei menționate.

**Discuții.** Tulburările metabolismului GSH-lui alveolar și pulmonar sunt recunoscute ca o caracteristică centrală a multor boli pulmonare inflamatorii, inclusiv, astmul bronșic [5, 6, 10]. După cum se știe, eritrocitele sunt echipate cu un sistem eficient de apărare antioxidantă. Protecția enzimatică este asigurată de mai multe sisteme enzimatice, precum GR, GPO, GST, superoxid dismutază, catalaza și alt., sistemul enzimatic legat de GSH fiind una dintre cele mai importante sisteme de protecție în celule, în special, în hematii. Cunoașterea mecanismelor de reglare a sistemului GSH și echilibrului redox tiolic ar putea conduce la dezvoltarea de noi terapii bazate pe manipularea farmacologică a producției acestui antioxidant

important în AB și diverse leziuni pulmonare [5, 9].

Rezultatele cercetărilor efectuate demonstrează că remediile studiate manifestă proprietatea de a menține la valori sporite și chiar de a induce activitatea principalelor enzime ale sistemului glutatonic – GR, GPO și GST, precum și a enzimei șuntului pentozic - G-6-PDH în eritrocite la pacienții cu AB. GSH este un produs al reacției catalizată de GR, iar creșterea activității G-6-PDH poate fi privită drept o reacție de adaptare orientată spre sporirea fondului de NADPH redus necesar pentru menținerea potențialului înalt reducător celular, cât și al homeostaziei celulare. De menționat, că NADPH, regenerat de către G-6-PDH este folosit nu numai pentru regenerarea GSH de către GR, dar și pentru funcționarea eficientă a GPO, care necesită două enzime secundare (GR și G-6-PDH) și cofactori (GSH, NADPH și glucozo-6-fosfat). Din aceste considerente, GR și G-6-PDH sunt considerate enzime antioxidante secundare, deoarece ele nu acționează asupra RLO direct, ci permit GPO să funcționeze eficient [6]. GSH redus este utilizat pentru protecția grupărilor tiolice ale proteinelor intracelulare, captarea de  $H_2O_2$  și altor peroxizi organici, în detoxifierea xenobioticelor și contracararea evenimentelor oxidative. În eritrocite GSH detoxifică radicalii liberi prin intermediul GST care are, de asemenea, activitate peroxidazică și poate ataca direct peroxizii. Interacțiunea hemoglobinei (Hb) cu radicalii liberi poate denatura Hb. Denaturarea oxidativă a Hb duce la eliberarea de hemină capabilă să oxideze proteinele membranare. GST poate lega hemina și reduce daunele cauzate membranei eritrocitare [9].

Putem conchide că CBA autohtoni - CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 exercită efecte modulatorie relevante asupra principalelor enzime ale metabolismului GSH, preponderent stimulatorie, fapt ce ar putea fi apreciat ca un răspuns pozitiv ce poate proteja celulele de efectele toxice ale stresului oxidativ specific pentru AB.

### Concluzii:

1. Au fost elucidate particularitățile acțiunii unor CBA autohtoni noi asupra indicilor sistemului glutatonic eritrocitar la testarea *in vitro* în normă și în astmul bronșic de gravitate diferită.

2. Compușii bioactivi autohtoni - CMD-4, CMD-8, CMJ-33 și CMJ-23 determină scăderea nivelului GSH redus, a activității GPO și funcționalitatea G-6PDH, asociate cu tendința de majorare a activității GR în eritrocitele persoanelor sănătoase.

3. În forma ușoară a astmului bronșic (AB) toate remediile studiate exercită efecte modulatorie potente, asupra enzimelor metabolismului glutatonicului, fapt confirmat prin majorarea conținutului de GSH, creșterea activității

GR, G-6-PDH și GPO comparativ cu cele specifice persoanelor sănătoase.

4. În formele moderate și grave ale AB remediile testate influențează important doar activitatea G-6-PDH care se menține la valori majorate și, condiționează reducerea până la valorile martorului sau menținerea la acest nivel a funcționalității GPO.

5. Indicii studiați pot fi folosiți ca biomarkeri informativi pentru monitorizarea procesului patologic în AB și aprecierea eficienței preparatelor noi la restabilirea biochimică și funcțională a sistemelor de protecție celulare în AB și diverse leziuni pulmonare.

### Bibliografie

1. Biswas S. K., Rahman I. *Environmental Toxicity, Redox Signaling And Lung Inflammation: The Role Of Glutathione*. In: Mol. Aspects Med. 2009 ; 30(1-2): 60–76.
2. Comhair S. A., Erzurum S. C. *Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases*. In: Am J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002; 283: L246–255.
3. Deveci F., Ilhan N., Turgut T. et al. *Glutathione and nitrite in induced sputum from patients with stable and acute asthma compared with controls*. In: Annals of Allergy, Asthma & Immunology. 2004;93(1):91-97.
4. Fitzpatrick A. M., Teague W. G., Holguin F., Yeh M., Brown L. A. *Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress*. In: J. Allergy Clin Immunol. 2009;123(1):146-152.
5. Fitzpatrick A. M., Jones D. P., Brown L. A. *Glutathione redox control of asthma: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities*. In: Antioxid. Redox. Signal. 2012 15;17(2):375-408.
6. Franco R., Schoneveld O. J., Pappa A. et al. *The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases*. In: Arch. Physiol. Biochem. 2007;113(4-5):234-58.
7. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., Sardari V. et al. *Investigații biochimice. Elaborare metodică. Micrometode*. Vol.II. Ch.: Elena V. I. SRL, 2010, 104 p.
8. Gulea A., Poirier D., Roy J. et al. *In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: Chemical synthesis and structure activity relationships*. In: J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2008, vol. 23, no. 6, pp. 806-818.
9. Ruscoe J. E., Rosario L. A., Wang T. et al. *Pharmacologic or Genetic Manipulation of Glutathione S-Transferase PI-1 (GST $\pi$ ) Influences Cell Proliferation Pathways*. JPET. 2001; 298 (1):339-345.
10. Murdoch J. R., Lloyd C. M. *Chronic inflammation and asthma*. In: Mutation Research. 2010; 690(1-2):24–39.
11. Mak J. C.W., Chang-Yeung M. W. *Reactive oxidant species in asthma*. In: Curr. Opinion Pulm Med. 2006;12:7-11.
12. Vural H., Uzun K. *Serum and red blood cell antioxidant status in patients with bronchial asthma*. In: Can. Respir. J. 2000;7(6):476-80.