

Extra cellular Superoxide Dismutase activity in lung injuries due to Sulfur Mustard

M Shohrati* M Ghanej** N Shamspour*** M Jafari**** M Norozi Abdi Khasmakhi*****

* Associate professor of pharmacotherapy, Research Center of Chemical Injuries, Baqiyatallah Medical Sciences University, Tehran, Iran

**Professor of medicine-pulmonologist, Research Center of Chemical Injuries, Baqiyatallah Medical Sciences University, Tehran, Iran

*** Researcher of biochemistry, Institute of Applied Science and Technology Red Crescent Society of Iran

****Assistant professor of biochemistry, Research Center of Chemical Injuries, Baqiyatallah Medical Sciences University, Tehran, Iran

***** Researcher of biochemistry, Research Center of Chemical Injuries, Baqiyatallah Medical Sciences University, Tehran, Iran

*Abstract

Background: Pulmonary complications are known to occur in over half of the patients exposed to sulfur mustard (SM). There is controversial regarding the role of extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) in different airway diseases.

Objective: The aim of this study was to evaluate the correlation between lung function and EC-SOD activity in patient with lung injuries due to SM.

Methods: This was a case-control study carried out on 220 patients with lung complication due to SM in the city of Sardasht (Iran) in 2007. Spirometry was used to assess pulmonary function followed by measurement of EC-SOD activity. T test was employed to examine the differences between study groups. Pearson correlation coefficient was also used to find the possible correlation between EC-SOD activity and the lung function.

Findings: The mean EC-SOD activity in control group (70.5 ± 10.8 U/L) was higher than that of moderate to severe group 67.0 ± 6.1 U/L ($p < 0.001$). There was no significant difference for mean EC-SOD activity between mild and control groups. Significant and direct association between EC-SOD activities and lung function was established ($p < 0.001$).

Conclusion: According to our findings, inactivation of EC-SOD may lead to progressive inflammation and lung injury due to sulfur mustard.

Keywords: Oxide Dismutase, Sulfur Mustard, Cells, Lung, Wounds and Injuries, Mustard, Chemical Warfare Agents

Corresponding Address: Research Center of Chemical Injuries, Baqiyatallah University of Medical Science, Mollasadra St., Tehran, Iran. P.O.Box: 19945-581

Email: shohratimajid@yahoo.com

Tell: +98 9123839236

Received: 2007/07/15

Accepted: 2008/04/19

بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی در ضایعه‌های ریوی ناشی از گاز خردل

دکتر مجید شهرتی* دکتر مصطفی قانعی** نواب شمس پور*** دکتر مهوش جعفری**** مجید نوروزی ابدی خمسخی*****

*دانشیار فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی

**استاد ریه دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی

***پژوهشگر مؤسسه آموزش عالی علمی کاربردی هلال ایران

****استادیار بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی

*****پژوهشگر دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

آدرس مکاتبه: تهران، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، تلفن ۰۹۱۲۳۸۳۹۲۳۶ Email: Shohratimajid@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۸۶/۴/۲۴ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱/۳۱

*چکیده

زمینه: مشکلات ریوی به خصوص برونشبولیت در بیش از نیمی از جانبازان مواجهه شده با گاز خردل وجود دارد و در خصوص نقش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی در بیماری‌های ریوی با اختلاف نظر وجود دارد.

هدف: مطالعه به منظور تعیین رابطه عملکرد ریوی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی در بیماران ریوی ناشی از گاز خردل انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد-شاهدی در سال ۱۳۸۵ بر روی ۲۲۰ جانباز شیمیایی با مشکلات ریوی خفیف و متوسط تا شدید ناشی از خردل در شهرستان سردشت انجام شد. که با ۶۰ فرد سالم غیر سیگاری مقایسه شدند. آزمون اسپرومتری جهت بررسی عملکرد ریوی استفاده شد و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی با روش paoletti اندازه‌گیری شد. مقایسه بین گروه‌ها بر اساس آزمون آماری تی مستقل و روابط بین آنزیم و عملکرد ریوی بر اساس ضریب همبستگی پیرسون انجام شد.

یافته‌ها: میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی در گروه سالم $70/5 \pm 10/8$ واحد بر لیتر و در گروه متوسط تا شدید $67/0 \pm 6/1$ واحد بر لیتر و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0/001$). اختلاف معنی‌داری بین گروه خفیف و شاهد در میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی وجود نداشت. رابطه مستقیم و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم و عملکرد ریوی وجود داشت ($p < 0/001$).
نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، ممکن است غیر فعال شدن آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی در پیشرفت التهاب و آسیب‌های ریوی ناشی از خردل نقش داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: اکسید دیسموتاز، سولفور موستارد، سلول‌ها، ریه، زخم‌ها و آسیب‌ها، خردل، مواد جنگ شیمیایی

*مقدمه

خصوصیات الکتروفیل) است که می‌تواند بر تولید DNA و پروتئین‌های غشایی مؤثر باشد.^(۵،۴) همچنین می‌تواند با پروتئین‌ها واکنش دهد و به بافت آسیب رساند و در بافت ریه، موجب التهاب در اپی‌تلیوم نای-برونشی گردد.^(۶)

اگرچه اساس آسیب شناسی گاز خردل بر روی بافت ریه هنوز ناشناخته است، اما مطالعه بر روی حیوان‌های آزمایشگاهی نشان داده است که مکانیسم آسیب‌رسانی گاز خردل، فعال شدن پروتئازها و تولید رادیکال آزاد است که می‌تواند به تنش اکسیداتیو در

در طول جنگ تحمیلی عراق علیه ایران تعداد زیادی از مردم بی‌دفاع در مواجهه با گاز خردل قرار گرفتند.^(۱) آسیب‌های ناشی از خردل اغلب کشنده است. اگرچه تعدادی از این قربانیان باقی مانده‌اند، اما اکثر آنها از مشکلات بالینی در اعضای مختلف بدن رنج می‌برند که در این میان مشکلات ریوی از شایع‌ترین آنهاست.^(۳،۲)

شیوع بالای مشکلات ریوی در بین جانبازان شیمیایی ناشی از تأثیر مستقیم سولفور موستارد بر بافت ریه از طریق مجاری هوایی موستارد (یک عامل آلکیله کننده با

به یافته‌های بالینی، عدم شرکت در یک مطالعه دیگر به طور همزمان، عدم سابقه مصرف سیگار و عدم وجود بیماری‌های قلبی، سرطان ریه، سابقه فامیلی آسم و پنومونی یا برونشیت چرکی حاد. همچنین بیمارانی که تحت درمان با داروهای تداخل کننده با اهداف مطالعه بودند از مطالعه خارج شدند. در این مطالعه ۶۱ فرد غیر سیگاری سالم از ساکنین شهر سردشت که در معرض گاز خردل نبودند، پس از همسان‌سازی از نظر جنسیت، سن، وزن و قد با گروه بیماران مقایسه شدند. این مطالعه در کمیته اخلاق در علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... تهران تصویب شد و از تمام شرکت‌کنندگان رضایت نامه شرکت در این مطالعه اخذ گردید.

عملکرد ریوی با استفاده از اسپرومتری سنجیده شد. بیماران بر حسب عملکرد ریوی در دو گروه خفیف (۱۱۰ نفر) و متوسط تا شدید (۱۱۰ نفر) قرار گرفتند.^(۱۴) وضعیت تنفسی بیماران بر اساس شاخص‌های ظرفیت حیاتی اجباری (FVC)، ظرفیت حیاتی (VC)، حجم بازدمی اجباری در ثانیه اول (FEV1)، حداکثر شدت جریان بازدمی (PEF) و حداکثر شدت جریان میان بازدمی (MMEF) ارزیابی شد. از افراد مورد مطالعه ۵ میلی لیتر خون سیاهرگی بعد از ۱۰ تا ۱۲ ساعت گرسنگی در بین ساعت ۸:۳۰ تا ۱۰:۳۰ گرفته شد تا فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز اندازه‌گیری شود. نمونه‌ها در لوله‌های حاوی هپارین به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۵۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. نمونه پلاسما جدا و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم از روش Paoletti استفاده شد.^(۱۵) در این روش ۰/۸ میلی لیتر بافر TDH (تری اتانولامین - دی اتانولامین - HCL) با PH برابر ۷/۴، ۴۰ میکرولیتر NADH (نیکوتینامید آدنین

بافت‌های مذکور منجر شود.^(۸،۷) با توجه به این مطالعه‌ها ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد رها شده از نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها واسطه‌های مهمی در آسیب به بافت ریه‌اند.^(۹)

متالو آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، اولین آنتی اکسیدانت طبیعی در مقابل سمیت رادیکال‌های آزاد است. سه نوع آنزیم سوپراکسید دیسموتاز وجود دارد که بر حسب وظیفه در جایگاه فعال خود فلزهایی همچون روی، منگنز و مس دارند و در سیتوزول یوکاریوت‌ها، کلروپلاست و بعضی گونه‌های باکتری‌ها وجود دارند.^(۱۰)

البته در انسان نوع دیگری از این آنزیم به نام سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی وجود دارد که اکثر فعالیت آنزیم در پلاسما، لنف و مایع سینوویال مربوط به این نوع است.^(۱۱) برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که در بیماری‌های ریوی مختلف، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی در پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو افزایش یافته است.^(۱۲) از طرفی در مطالعه‌های دیگر کاهش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی در مجاری هوایی و مایع لاواژ برونشيو الوئولار بیماران آسمی گزارش شده است.^(۱۱،۱۳)

حال با وجود ناشناخته بودن مکانیسم عوارض دیررس ناشی از خردل در ایجاد ضایعه‌های ریوی، این مطالعه با هدف تعیین ارتباط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خارج سلولی به عنوان یک عامل مهم آنتی اکسیدانی با شدت بیماری و عملکرد ریه در ضایعه‌های ریوی ناشی از خردل انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه مورد - شاهدی در سال ۱۳۸۵ بر روی جانبازان شیمیایی با مشکلات ریوی در شهرستان سردشت (۲۲۰ نفر) در سال ۱۳۸۵ انجام شد. شرایط ورود به مطالعه عبارت بودند از: قطعی بودن سابقه مواجهه با گاز خردل، تشخیص بیماری مزمن ریه با توجه

جدول ۱- همبستگی بین آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز خارج سلولی و نتایج اسپرومتری

معنی داری	ضریب همبستگی	شاخص‌های اسپرومتری
۰/۰۰۰	۰/۲۵۱	VC
۰/۰۰۰	۰/۲۶۶	FVC
۰/۰۰۰	۰/۳۴۳	FEV1
۰/۰۰۰	۰/۲۶۸	PEF
۰/۰۰۰	۰/۳۴۶	MMEF

میانگین فعالیت آنزیم در افرادی که شدت تنگی نفس بیش‌تری داشتند یا بر اثر تنگی نفس با اختلال‌های خواب بیش‌تری روبه‌رو بودند، کم‌تر از سایر افراد بود ($p=0/044$). همچنین در افرادی که سرفه دایمی داشتند، فعالیت آنزیم کم‌تر از سایرین بود ($p=0/006$). خلط و خلط خونی، تحت تأثیر فعالیت آنزیم قرار نداشتند (جدول شماره ۲).

جدول ۲- مقایسه آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز خارج سلولی به تفکیک یافته‌های بالینی

سطح معنی‌داری	میانگین آنزیم	تعداد	متغیر	
۰/۰۶۳	$65/6 \pm 13/6$	۳۹	خفیف	تنگی نفس
	$61/6 \pm 12/3$	۱۴۷	متوسط	
	$59/5 \pm 12/2$	۶۴	شدید	
۰/۰۴۴	$62/8 \pm 11/9$	۵۶	بدون مشکل	اختلال‌های خواب ناشی از تنگی نفس
	$62/5 \pm 12/6$	۱۱۸	کم‌تر از یک بار در هفته	
	$61/1 \pm 12/5$	۶۱	یک بار در هفته	
	$53/1 \pm 7/0$	۱۵	دو بار یا بیش‌تر در هفته	
۰/۰۰۶	$59/9 \pm 11/5$	۵۶	خفیف	سرفه
	$63/5 \pm 13/1$	۱۵۵	متوسط	
	$56/8 \pm 10/3$	۳۹	شدید	

*بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز خارج سلولی در بیماران با ضایعه‌های ریوی شدید ناشی از خردل نسبت به گروه سالم کاهش

دی نوکلئوتید) ۷/۵ میلی‌مولار، ۲۵ میکرولیتر محلول اتیلن دی آمین تترا استیک اسید - دی کلرید منیزیم (۱۰۰ میلی‌مولار بر ۵۰ میلی‌مولار) و ۱۰۰ میکرولیتر نمونه پلاسما به یک کووت اضافه شد و بعد از مخلوط کردن مدتی به حال خود گذاشته شد تا جذب آن در ۳۴۰ نانومتر ثابت شود. سپس ۲۰۰ میکرولیتر محلول بتا مرکاپتو اتانل ۱۰ میلی‌مولار اضافه شد. کاهش جذب درست ۵ دقیقه بعد قرائت شد. فعالیت ویژه آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز خارج سلولی بر حسب واحد بر لیتر ثبت گردید. دستگاه مورد استفاده اسپکتروفتومتر مدل ThermoSpectronic, Genesys 10 uv بود و مواد مصرفی مورد استفاده در این مطالعه ساخت شرکت مرک آلمان بودند. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی مستقل و ضریب همبستگی پیرسون تجزیه و تحلیل شدند. و p کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردد.

*یافته‌ها:

میانگین سنی افراد مورد مطالعه $46/2 \pm 10/9$ سال (با محدوده ۲۰ تا ۶۰ سال) بود و بین دو گروه مورد و شاهد از لحاظ سن، وزن و قد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه شاهد $70/5 \pm 10/8$ و در گروه متوسط تا شدید $67/0 \pm 6/1$ واحد بر لیتر و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0/001$). میانگین فعالیت این آنزیم در گروه خفیف $72/5 \pm 6/9$ واحد بر لیتر بود که این اختلاف در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود.

بررسی ضریب همبستگی بین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و یافته‌های اسپرومتری نشان‌دهنده وجود رابطه مستقیم و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم و عملکرد ریوی بود ($p < 0/001$) (جدول شماره ۱).

معمول تنش اکسیداتیو ممکن است به مصرف سیگار و شدت نارسایی انسدادی ریه در بیماران ریوی با علل مختلف مربوط باشد و محتوای آنتی اکسیدانی در پلاسما با معیارهای انسداد مجرای هوایی مرتبط باشد.^(۲۱) به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً افزایش رادیکال‌های آزاد و آسیب به سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از عوامل مهم پیشرفت بیماری در ضایعه‌های دیررس ریوی ناشی از خردل باشد و می‌توان به این بیماران توصیه نمود که برای کاهش آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم آنتی اکسیدانی، از آنتی اکسیدان‌های مکمل یا داروهای آنتی اکسیدانی استفاده کنند. البته اثرات مخرب گاز خردل به ویژه در بیماران با علائم شدید، به تحقیقات بیش‌تری در سطح مولکولی نیازمند است و لازم است مطالعه‌هایی دیگری درباره متغیرهای دیگر درگیر در سیستم آنتی اکسیدانی افراد دارای سابقه مواجهه با گاز خردل انجام شود.

*سپاس‌گزاری:

از همکاری پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان و معاونت درمان بنیاد جانبازان قدردانی می‌شود.

*مراجع:

1. Reports of specialists appointed by the Secretary General to investigate allegations by the Islamic Republic of Iran concerning the use of chemical weapons. New York Security Council of United Nations document S/16433; 1986
2. Khateri S, Ghanei M, Keshavarz S, et al. Incidence of lung, eye and skin lesions on late complications in 34,000 Iranian with wartime exposure to mustard agent. J Occu Environ Med 2003 Nov; 45(11): 1136-43
3. Attaran D, Khajedaloui M, Jafarzadeh R, Mazloomi M. Health-related quality of life

معنی‌داری دارد و بین عملکرد ریوی و فعالیت این آنزیم نیز رابطه معنی‌داری مشاهده شد. مطالعه بر روی مایع لاواژ بیماران ریوی نیز کاهش فعالیت آنزیم مذکور را نشان داده‌است.^(۱۷،۱۶) در مطالعه بر روی دیگر بیماری‌ها مانند بیماری‌های قلبی، کلیوی و گوارشی نیز افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گزارش شده است.^(۱۸) در مطالعه حاضر افزایش میانگین فعالیت این آنزیم در بیماران با ضایعه‌های ریوی خفیف ناشی از خردل مشاهده شد. این اختلاف با گروه شاهد معنی‌دار نبود، ولی نسبت به گروه بیماران با ضایعه‌های شدید، معنی‌دار بود. در حالت عادی در بدن در بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن تعادل برقرار است. ولی اگر به هر دلیلی این تعادل به هم بخورد و تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یابد، سیستم آنتی اکسیدانی تضعیف می‌شود.^(۱۶)

با توجه به شدت بیش‌تر بیماری در بیماران با مشکلات ریوی شدید می‌توان نتیجه گرفت که التهاب بر اثر عوارض دیررس گاز خردل ممکن است در ایجاد رادیکال آزاد^(۱۷،۱۶) و از دست رفتن فعالیت این آنزیم یا در غیر فعال شدن آن نقش داشته باشد که این کاهش فعالیت می‌تواند با آسیب ریوی بیش‌تر در این گروه در ارتباط باشد. اگرچه افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بیماران با علائم خفیف نیز می‌تواند به دلیل نقش این آنزیم در دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد تولید شده بر اثر عوارض دیررس ناشی از خردل باشد.^(۱۸) در مطالعه حاضر بین فعالیت آنزیم مذکور با یافته‌های اسپیرومتري ارتباط معنی‌داری یافت شد که نشان دهنده نقش مهم این آنزیم در بیماری‌های ریوی ناشی از گاز خردل است. یک مطالعه همه‌گیر شناختی، ارتباط بین عدم تعادل اکسیدان/ آنتی اکسیدان و عملکرد ریه را نشان داده است.^(۱۹) همچنین مطالعه‌های مختلفی ارتباط بین شاخص‌های مختلف تنش اکسیداتیو با متغیرهای اسپیرومتري در بیماران ریوی را گزارش کرده‌اند.^(۲۰) به علاوه، بعضی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که شاخص‌های

in patients with chemical warfare-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Iran Med* 2006 Oct; 9(4):359-63

4. Yamakido M, Ishioka S, Hiyama K, Maeda A. Former poison gas workers and cancer: Incidence and inhibition of tumor formation by treatment with biological response modifier N-CWS. *Environ Health Perspect* 1996 May; 104 Suppl 3:485-8

5. Gross CL, Meier HL, Papirmeister B, et al. Sulfur mustard lowers nicotinamide adenine dinucleotide concentrations in human skin grafted to athymic nude mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985 Oct; 81(1): 85-90

6. Emad A, Rezaian GR. Immunoglobulins and cellular constituents of the BAL fluid of patients with sulfur mustard gas-induced pulmonary fibrosis. *Chest* 1999 May; 115(5): 1346 -51

7. Husain K, Dube SN, Sugendran K, et al. Effect of topically applied sulphur mustard on antioxidant enzymes in blood cells and body tissues of rats. *J Appl Toxicol* 1996 May- Jun; 16(3):245-8

8. Kopff M, Zakrzewska I, Strzelczyk M, et al. Superoxide dismutase and catalase activity in psoriatic patients treated topically with ointment containing 2-chloroethyl-3-chloropropyl sulfide. *Pol J Pharmacol* 1994; Sep-Oct; 46(5): 439-44

9. Comhair SA, Erzurum SC. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002 Aug; 283(2): L246-55

10. MacPherson JC, Comhair SA, Erzurum SC, et al. Eosinophils are a major source of nitric oxide-derived oxidants in severe asthma: characterization of pathways available to eosinophils for generating

reactive nitrogen species. *J Immunol* 2001 May 1; 166: 5763-72

11. Comhair SA, Bhatena PR, Dweik RA, et al. Rapid loss of superoxide dismutase activity during antigen-induced asthmatic response. *Lancet* 2000 Feb 19; 355 (9204): 624

12. Levitt JM, Lodhi IJ, Nguyen PK, et al. Low-dose sulfur mustard primes oxidative function and induces apoptosis in human polymorphonuclear leukocytes. *Int Immunopharmacol*. 2003 May; 3(5):747-56

13. Till GO, Beauchamp C, Menapace D, et al. Oxygen radical-dependent lung damage following thermal injury of rat skin. *J Trauma* 1983 Apr; 23(4): 269-77

14. Paul G. Schmitz, Kevin J. Martin. *Internal Medicine. Just the Facts McGraw-Hill Professional*; 2008. 146-7

15. Paoletti F, Mocali A. Determination of superoxide dismutase activity by purely chemical system based on NAD (P)H oxidation *Methods Enzymol* 1990;186: 209-20

16. MacPherson JC, Comhair SA, et al. Erzurum SC, et al . Eosinophils are a major source of nitric oxide-derived oxidants in severe asthma: characterization of pathways available to eosinophils for generating reactive nitrogen species. *J Immunol* 2001 May 1; 166(9): 5763-72

17. Wu W, Samoszuk MK, Comhair SA, Eosinophils generate brominating oxidants in allergen-induced asthma. *J Clin Invest* 2000 May; 105(10): 1455-63

18. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999 Nov; 32(8): 595-603

19. Hippeli S, Elstner EF. Oxygen radicals and air pollution. In: Sies H, editors. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. New York, NY: Academic Press; 1991. 3-55

20. Rahman I, Swarska E, Henry M, et al. Is there any relationship between plasma antioxidant capacity and lung function in

smokers and in patients with chronic obstructive pulmonary disease? Thorax 2000 Mar; 55(3):189-93

21. Hu G, Cassano PA. Antioxidant nutrients and pulmonary function: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). Am J Epidemiol 2000 May; 151(10): 975- 81