



3 mars 2004

LES HARAS NATIONAUX

## DÉFICIENCE DU SYSTÈME GLUTATHION CHEZ LE CHEVAL DE COURSE

Par : B. de MOFFARTS<sup>1</sup>, N. KIRSCHVINK<sup>1</sup>, T. ART<sup>1</sup>, J. PINCEMAIL<sup>2</sup> et P. LEKEUX<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de Médecine Sportive Équine,  
Département des Sciences Fonctionnelles - Faculté de médecine vétérinaire et  
<sup>2</sup>Probiox S.A., Centre Hospitalier Universitaire, Université de Liège, Belgique

### Résumé

Le glutathion est une des principales molécules antioxydantes intervenant lors de l'exercice. L'objectif de cette étude a été de caractériser les modifications du système glutathion chez des chevaux sains et entraînés (i) lors d'un exercice intense (étude 1) et (ii) au cours de trois mois d'entraînement et de courses (étude 2). Le système glutathion a été investigué au moyen du dosage du glutathion réduit et oxydé (GSH et GSSG), de l'activité glutathion peroxydase (GPx) et du sélénium (Se). Dans la première étude, 6 trotteurs ont été investigués au repos (R), à l'effort maximum (Emax), et 15 (E15'), 60 (E60') minutes et 48h (E48h) après un exercice sur tapis roulant. Lors de la seconde étude, 10 galopeurs ont été investigués trois fois au repos durant une période de trois mois. La première étude indique que le GSH diminue significativement à Emax et à E15' ; le GSSG augmente à E15' et l'activité GPx diminue à E48h. La deuxième étude indique que le GSH, le Se et l'activité GPx ont significativement diminué par rapport à la première prise de sang et qu'en même temps le GSSG a augmenté. Cette étude suggère que les chevaux à l'exercice subissent un stress oxydant reflété par des modifications du système glutathion autant lors de l'exercice intense que durant les périodes d'entraînement intensif.

**Mots-clés :** exercice, statut anti-oxydant, glutathion

### Summary

Glutathione is one of the most important body antioxidant involved during exercise. The aim of the present study was to characterise changes of the blood glutathione system in healthy trained horses (i) during an intense exercise (study 1) and (ii) throughout a 3-month training and race period (study 2). The glutathione system was assessed by determination of reduced (GSH) and oxidised (GSSG) glutathione, glutathione peroxidase activity (GPx) and selenium (Se). In study 1, 6 standardbred horses were investigated at rest (R), at peak-exercise (Emax), and 15 (E15'), 60 (E60') min and 48 hours (E48h) after an intense treadmill exercise. In study 2, 10 healthy and trained thoroughbred horses were investigated three times at rest over a period of 3 months under field conditions. In study 1, blood GSH was significantly decreased at Emax and E15', GSSG was increased at E15' and GPx activity was decreased at E48h. In study 2, blood GSH, Se and GPx activity significantly decreased from the first to the third sampling, whereas, in the same time, GSSG increased. This study suggests that exercising horses undergo an oxidative stress inducing significant modifications on the glutathione system during short term exercise as well as during a racing period.

**Key-words :** exercise, antioxidant status, glutathione

## INTRODUCTION

Au cours des dernières années, différentes études ont permis, chez le cheval, de mettre en évidence un stress oxydant durant l'exercice. Le stress oxydant a été défini par SIES en 1991 comme un déséquilibre prononcé entre les éléments antioxydants et oxydants en faveur de ces derniers et de leurs effets potentiellement néfastes.

Les origines du stress oxydant sont multiples et mènent à la formation de "formes réactives de l'oxygène" (FRO) au sein de l'organisme. Les FRO comprennent les radicaux libres, c'est-à-dire des espèces chimiques possédant un électron célibataire, ainsi que les molécules non-radicalaires mais chimiquement instables. Ainsi, les FRO possèdent un pouvoir pro-oxydant vis-à-vis des éléments qui l'entourent.

Trois principales voies de génération de ces FRO sont généralement décrites, à savoir la chaîne de transfert des électrons située au niveau des mitochondries (SOHAL *et al.*, 1990), la flambée respiratoire des cellules phagocytaires indispensable à la défense immunitaire (MOSLEN, 1994) ainsi que les enzymes de type oxydase (BECKER *et al.*, 1991).

En condition physiologique, le pouvoir oxydant des FRO est contrebalancé par de nombreux antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques. Cet état d'équilibre permet à l'organisme d'assurer une défense anti-infectieuse efficace (pour revue KOBAYASHI *et al.*, 2001) et de contribuer à la transduction de signaux intracellulaires (pour revue, DAVIS *et al.*, 2001).

Les FRO peuvent potentiellement réagir avec chaque composant cellulaire et provoquer son oxydation. Cependant, les cibles préférentielles des FRO sont les lipides, suivis par les protéines et les bases constitutives du matériel génétique (ROBERFROID et CALCERON, 1995). L'oxydation de ces composants cellulaires peut induire des dysfonctions du métabolisme cellulaire, telle qu'une modification de la fluidité membranaire causée par la peroxydation lipidique ou encore une diminution de l'activité d'une enzyme suite à son oxydation.

Le stress oxydant était, auparavant, considéré comme un épiphénomène ou une conséquence inévitable d'un processus inflammatoire. Il est actuellement reconnu en tant qu'acteur potentiel dans la pathogenèse de nombreuses maladies. Le stress oxydant a pu être mis en évidence dans de nombreuses pathologies en médecine humaine (pour la synthèse BABIOR, 2000 ; YOUNG et WOODSIDE, 2001). En médecine vétérinaire équine, le stress oxydant semble jouer un rôle au moins favorisant dans certaines entités pathologiques, à savoir : l'hémorragie pulmonaire induite par l'exercice (DERKSEN, 1997 ; MILLS et HIGGINS, 1997), l'inflammation de voies respiratoires profondes (MILLS *et al.*, 1996a ; ART *et al.*, 1999 ; KIRSCHVINK *et al.*, 2001), certains types de myopathies induites par l'exercice (LOFSTEDT, 1997 ; PERKINS *et al.*, 1998) ainsi que la maladie dégénérative des neurones moteurs (DIVERS *et al.*, 1994 ; POLACK *et al.*, 2000).

Lors de l'exercice, la consommation d'oxygène du cheval peut augmenter jusqu'à 30 fois (ART *et al.*, 1993 ; BUTLER, *et al.*, 1993). Le flux d'oxygène à travers les fibres musculaires varie de 1 à 100 entre le repos et l'exercice maximal (MILNOR, 1980). De plus, il est généralement admis qu'entre 2 et 5 % de l'oxygène est converti dans la chaîne de transfert des électrons en FRO. Il a été montré que l'exercice induit des dommages cellulaires par l'oxydation de ses composants et donc que l'exercice peut conduire à un stress oxydant. Effectivement, dans l'espèce équine, quelques études suggèrent que l'exercice induit un stress oxydant (MILLS *et al.*, 1996 b ; ART *et al.*, 1999 ; KIRSCHVINK *et al.*, 1999). Ce dernier a pu être mis en relation dans différentes espèces animales avec la fatigue musculaire (SEN *et al.*, 1994), les myopathies (JACKSON et O'FARREL, 1993 ; TEWS et GOEBEL, 1998) et une diminution de la défense immunitaire (VIDER *et al.*, 2001).

Parmi les défenses anti-oxydantes les plus importantes de l'organisme figurent la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) ainsi que le système glutathion (Sen *et al.*, 1994 ; Sen et Packer, 2000 ; Urso et Clarkson, 2003). Ce dernier comprend essentiellement (1) le tripeptide  $\gamma$ -glutamyl-cystéinyl-glycine ou GSH, (2) la GPx, l'enzyme catalysant l'oxydation du GSH en GSSG, (3) le sélénium (Se) qui est l'oligo-élément

catalyseur indispensable de la GPx et (4) la glutathion réductase (GR) qui est l'enzyme assurant le recyclage du GSSG en GSH. La réduction du GSSG en GSH par la GR nécessite du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) comme donneur d'électron. Le NADPH permet de maintenir le potentiel oxydoréducteur de la cellule et est généré dans la voie des pentoses phosphates. Lors d'une diminution de l'activité de la GR, un excès en GSSG peut être excrété par la cellule (LEEUWENBURGH et JI, 1995 ; DICKINSON et FORMAN, 2002). Hormis la régénération du GSH, sa synthèse *de novo* est assurée par la  $\gamma$ -glutamyl-cystéine- ou GSH-synthase dont le principal facteur limitant est la cystéine (DRÖGE, 2002).

Un fonctionnement optimal de ce système antioxydant contribue au maintien des concentrations élevées en GSH au sein de la cellule, permettant ainsi à cet antioxydant d'inactiver des formes réactives de l'oxygène (FRO), soit en réagissant directement avec celles-ci, soit en étant oxydé en GSSG (SEN et PACKER, 2000). L'oxydation du GSH en GSSG permet notamment de restaurer les capacités antioxydantes d'autres antioxydants, tels que l'acide ascorbique ou la vitamine E (SEN et PACKER, 2000).

Certaines études ont montré que les animaux déficients en GSH étaient exposés à un stress oxydant sanguin et tissulaire plus importants lors de l'exercice et que des rats déficients en GSH présentaient une intolérance à l'effort (SEN *et al.*, 1994).

De ce qui précède, il ressort qu'un déséquilibre entre anti- et pro-oxydants en faveur de ces derniers peut au moins favoriser le développement de différentes entités pathologiques. En l'absence d'un processus inflammatoire, l'exercice physique constitue le générateur majeur de FRO. Etant donné que l'exercice physique et les performances sportives sont des éléments clés en médecine équine et que le glutathion joue un rôle primordial dans les stress oxydants associés à l'exercice, l'investigation du système glutathion chez le cheval de course semble intéressant.

Deux protocoles ont été réalisés afin de mieux caractériser l'évolution du système glutathion (i) au cours d'un exercice unique et intense et (ii) au cours d'une saison de travail chez des chevaux de course.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le système GSH a été évalué au moyen de l'analyse de différents marqueurs sanguins : le GSH, le GSSG, l'activité de la GPx ainsi que le Se. Afin d'analyser ces marqueurs, différentes techniques ont été utilisées en accordant une grande importance à la standardisation du « processing » des échantillons ainsi qu'à leur analyse.

*Le glutathion* – Le GSH et le GSSG ont été dosés dans le sang complet par une technique spectrophotométrique en utilisant un kit commercial (Biooxytech® kit GSH/GSSG 412) (Biooxytech, Oxis, Portland, Etats-Unis).

*L'activité de la glutathion peroxydase (GPx)* – Après centrifugation du sang complet, les érythrocytes ont été hémolysés et l'activité de la GPx a été déterminée par spectrophotométrie en utilisant un kit commercial (RANSEL® kit, Randox laboratories, Antrim, Grande-Bretagne).

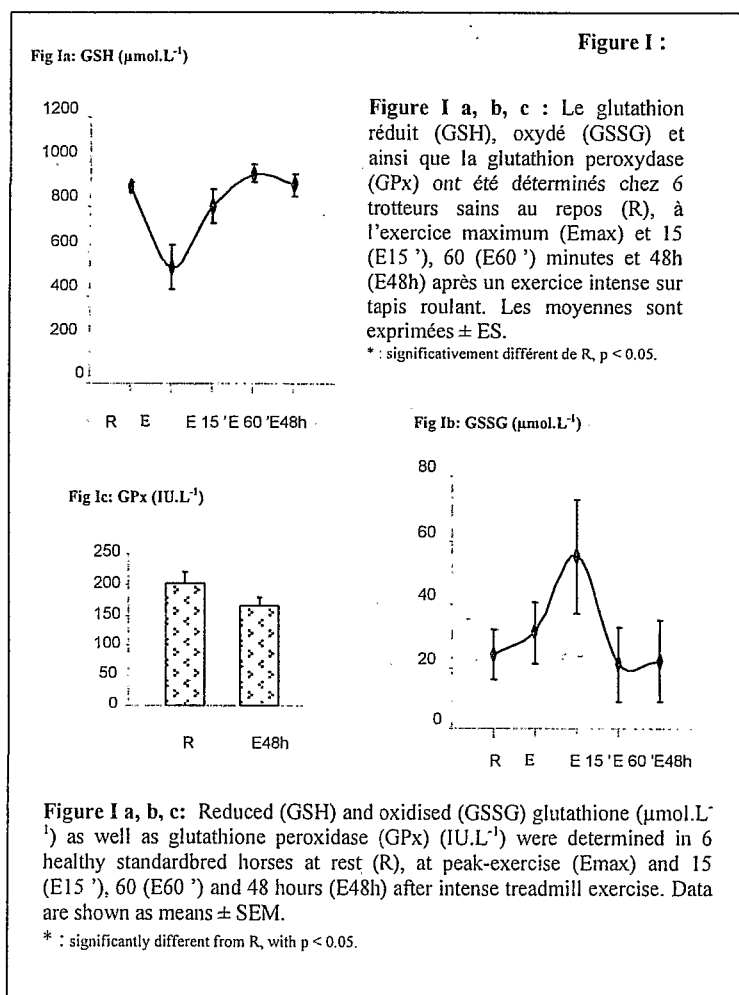
*Le sélénium* – La concentration plasmatique en Se a été déterminée par une technique de spectrométrie d'absorption de masse (Agilent 7500a ICP-MS) (Agilent Technology, Palo Alto, Etats-Unis).

La première étude a permis d'évaluer six trotteurs français sains. Ils ont réalisé un test d'effort standardisé pour la vitesse et la pente sur tapis roulant. Le test consistait en un échauffement de 10 minutes (5 min au pas et 5 min au trot à 4 m.s<sup>-1</sup> à une pente de 0 %) suivi par un exercice au trot dont la vitesse était augmentée de 1 m.s<sup>-1</sup> par minute afin de faire parcourir au cheval quatre paliers à la vitesse de 7, 8, 9 et 10 m.s<sup>-1</sup> avec une pente de 6 %. Une période de 5 minutes au pas (pente 0 %) permettait aux chevaux de récupérer. Des prélèvements sanguins permettant de doser les éléments précités du système glutathion ont été réalisés au repos (R), au maximum de l'exercice (E<sub>max</sub>) ainsi que 15 (E15') et 60 (E60') minutes et 48 heures (E48h) après l'exercice.

La deuxième étude a permis d'évaluer 10 galopeurs dans un centre d'entraînement de Chantilly durant les trois derniers mois de la saison de course 2002. Afin de doser les marqueurs du système glutathion, les échantillons sanguins ont été prélevés de façon standardisée à 5 heures du matin. Ces prélèvements ont eu lieu le jour suivant l'exercice le plus intense de la semaine. Le suivi a consisté en trois prises de sang espacées de six semaines (T0, T6 et T12).

## RÉSULTATS

Les résultats du premier protocole sont présentés dans la figure I. La concentration en GSH (Fig Ia) des trotteurs investigués au cours d'un exercice intense était significativement diminuée à Emax et à E15'. Par contre, la concentration en GSSG (Fig Ib) était significativement augmentée à E15'. L'activité de la GPx (Fig Ic) était diminuée de façon significative à E48h.



Les résultats du deuxième protocole sont présentés dans le tableau 1. La concentration en GSH et en Se et l'activité de la GPx diminuaient significativement au cours du temps. Cette diminution était significative à T12 pour le GSH et à T6 et T12 pour le Se et la GPx. La concentration en GSSG était augmentée de façon significative à T12.

Tableaux 1 :

**La concentration des différents marqueurs sanguin a été déterminée chez 10 galopeurs sains et entraînés à (T0), après six (T6) et douze (T12) semaines durant la seconde partie de la saison de course. Les moyennes sont exprimées  $\pm$  ES**

Blood marker concentrations were determined in venous jugular blood in 10 healthy trained thoroughbred horses at (T0), after six (T6) and twelve (T12) weeks during the second part of galloping season. Data are shown as means  $\pm$

Marqueur (unité-)	Temps		
	T	T	T12
GS ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1654 $\pm$ 75	1512 $\pm$ 75	1400 $\pm$ 90*
GSS ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	17.8 $\pm$ 13.4	40.4 $\pm$ 13.4	41.3 $\pm$ 16*
Se ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	108 $\pm$ 6.3	82 $\pm$ 6.3*	73 7.5*
GP (IU gHb <sup>1</sup> )	236 $\pm$ 2.7	187 $\pm$ 12.7*	190 15.2*

GSH : glutathion réduit (reduced glutathione), GSSG : glutathion oxydé (oxidised glutathione), GPx : glutathion peroxydase (peroxidase glutathione), Se : sélénium (selenium).

\* : significativement différent de T0 (significantly different from T0),  $p < 0.05$ .

## DISCUSSION

La première étude a montré que les trotteurs au cours d'un exercice intense sur tapis roulant subissent un déséquilibre du système glutathion. Ce dernier est caractérisé par une chute du GSH associée à une augmentation concomitante du GSSG. En plus, l'exercice semble également induire une diminution de l'activité de la GPx qui est encore détectable 48 heures après l'effort.

Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, chez l'homme, GOHIL et collaborateurs (1988) ont montré des variations similaires des concentrations en GSH et en GSSG. Ces résultats sont également en accord avec ceux de l'étude de MILLS et collaborateurs (1996 b) réalisée chez des galopeurs au cours de deux types d'effort et dans différentes conditions climatiques (augmentation de l'humidité de l'air et de la température), induisant une augmentation significative du GSSG au cours de l'exercice.

La diminution du GSH d'une part et l'augmentation du GSSG d'autre part pourraient être dues à l'oxydation du GSH en GSSG ainsi qu'à une redistribution du GSH sanguin vers le foie et le muscle squelettique (LEEUWENBURGH *et al.*, 1997).

La deuxième étude a également permis de mettre en évidence une perturbation du système glutathion chez les galopeurs. La diminution progressive en GSH et en Se suggère la présence d'une déplétion progressive des réserves antioxydantes. Des résultats similaires ont été rapportés lors d'exercice répété chez le rat (SEN *et al.*, 1992). La diminution de l'activité GPx peut être mise en relation avec la chute du Se observée dans cette étude, ces deux éléments antioxydants étant en effet corrélés de façon positive. D'autres études indiquent en effet qu'une diminution en Se peut réduire l'activité GPx (BRADY *et al.*, 1979).

Ces deux études ont donc permis de montrer que les chevaux de course subissent des changements significatifs de leur système glutathion et ce, tant lors d'exercices intenses que durant la saison de course. La perspective d'élaborer une complémentation antioxydante, ayant pour but de restaurer ou de maintenir la balance oxydo-réductrice du glutathion, semble dès lors être un objectif intéressant pour maintenir, voire améliorer la santé, le bien-être et la performance du cheval de sport.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ART, T. et LEKEUX, P. Training-induced modifications in cardiorespiratory and ventilatory measurements in thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, 1993, 25 (6), 532-536.
- ART, T., KIRSCHVINK, N., SMITH, N. et LEKEUX, P. Indices of oxidative stress in blood and pulmonary epithelium lining fluid in horses suffering from recurrent airway obstruction. *Equine Vet. J.*, 1999, 31, 397-401.
- BABIOR, B.M. Phagocytes and oxidative stress. *Am. J. Med.*, 2000, 109, 33-44.
- BECKER, B.F., REINHOLZ, N., LEIPERT, B., RASCHKE, P., PERMANETTER, B. et GERLACH, E. Role of uric acid as and endogenous radical scavenger and antioxidant. *Chest*, 1991, 100 (Suppl 3), 176S-181S.
- BRADY, P.S., BRADY, L.J. et ULLREY, D.E. Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *J. Nutr.*, 1979, 109, 1103-1109.
- BUTLER, P.J., WOAKES, A.J., SMALE, K., ROBERTS, C.A., HILLIDGE, C.J., SNOW, D.H. et MARLIN, D.J. Respiratory and cardiovascular adjustments during exercise of increasing intensity and during recovery in thoroughbred racehorses. *J. Exp. Biol.*, 1993, 179, 159-180.
- DAVIS, W. JR, RONAI, Z. et TEW, K.D. Cellular thiols and reactive oxygen species in drug-induced apoptosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 296, 1-6.
- DERKSEN, F.J. Oxidant injury and nitric oxide: a role in exercise-induced pulmonary haemorrhage? *Vet. J.*, 1997, 153, 119-122.
- DICKINSON, D.A. et FORMAN, H.J. Glutathione in defense and signaling: lessons from a small thiol. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2002, 973, 488-504.
- DIVERS, T.J., MOHAMMED, H.O., CUMMINGS, J.F., VALENTINE, B.A., DE LAHUNTA, A., JACKSON, C.A. et SUMMERS, B.A. Equine motor neuron disease: findings in 28 horses and proposal of a pathophysiological mechanism for the disease. *Equine Vet. J.*, 1994, 26 (5), 409-415.
- DRÖGE, W. Aging-related changes in the thiol/disulfide redox state: implications for the use of thiol antioxidants. *Exp. Gerontol.*, 2002, 37 (12), 1333-45.
- GOHIL, K., VIGUIE, C., STANLEY, W.C., BROOKS, G.A. et PACKER, L. Blood glutathione oxidation during human exercise. *J. Appl. Physiol.*, 1988, 64 (1), 115-119.
- JACKSON, M.J. et O'FARRELL, S. Free radicals and muscle damage. *Br. Med. Bull.*, 1993, 49, 630-641.
- KIRSCHVINK, N., ART, T., SMITH, N. et LEKEUX, P. Effect of exercise and COPD crisis on isoprostane concentration in plasma and bronchoalveolar lavage fluid in horses. *Equine Vet. J.*, 1999, Suppl 30, 88-91.
- KIRSCHVINK, N., SMITH, N., FIEVEZ, L., BOUGNET, V., ART, T., DEGAND, G., MARLIN, D., ROBERTS, D., GENICOT, B., LINDSEY, P. et LEKEUX P. Effect of chronic airway inflammation and exercise on pulmonary and systemic antioxidant status of healthy and heaves-affected horses. In Proceedings : 19<sup>th</sup> Veterinary & Comparative Respiratory Society and 2<sup>nd</sup> World Equine Airway Symposium, Edinburgh, Scotland, 2001, 24.
- KOBAYASHI, T., TSUNAWAKI, S. et SEGUCHI, H. Evaluation of the process for superoxide production by NADPH oxidase in human neutrophils: evidence for cytoplasmic origin of superoxide. *Redox Rep.*, 2001, 6 (1), 27-36.

- LEEUEWENBURGH, C. et JI, L.L. Glutathione depletion in rested and exercised mice: biochemical consequence and adaptation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1995, 316, 941-949.
- LEEUEWENBURGH, C., HOLLANDER, J., LEICHTWEIS, S., GRIFFITHS, M., GORE, M. et JI, L.L. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am. J. Physiol.*, 1997, 272, R363-R369.
- LOFSTEDT, J. White muscle disease of foals. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 1997, 13, 169-185.
- MILLS, P.C., ROBERTS, C.A. et SMITH, N.C. Effect of ozone and airway inflammation on glutathione status and iron homeostasis in the lungs of horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1996a, 57, 1359-1363.
- MILLS, P.C., SMITH, N.C., CASAS, I., HARRIS, P., HARRIS, R.C. et MARLIN, D.J. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 1996b, 74, 60-66.
- MILLS, P.C. et HIGGINS, A.J. Oxidant injury, nitric oxide and pulmonary vascular function: implications for the exercising horse. *Vet. J.*, 1997, 153, 125-148.
- MILNOR, W.R. In: Medical physiology, 14<sup>th</sup> edn, Editor V.B. Mountcastle. St Louis, Missouri, 1980, 1102-1103.
- MOSLEN, M.T. Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. In ARMSTRONG, D. *Free radicals in diagnostic medicine: a systems approach to laboratory technology, clinical correlations, and antioxidant therapy*. New York : Plenum Press, 1994, p. 17-26.
- PERKINS, G., VALBERG, S.J., MADIGAN, J.M., CARLSON, G.P. et JONES, S.L. Electrolyte disturbances in foals with severe rhabdomyolysis. *J. Vet. Intern. Med.*, 1998, 12, 173-177.
- POLACK, E.W., KING, J.M., CUMMINGS, J.F., MOHAMMED, H.O., BIRCH, M. et CRONIN, T. Concentrations of trace minerals in the spinal cord of horses with equine motor neuron disease. *Am. J. Vet. Res.*, 2000, 61, 609-611.
- ROBERFROID, M. et CALDERON, P.B. Antioxidants and radical scavengers : some therapeutical uses. In ROBERFROID, M., CALDERON, P.B. *Free radicals and oxidation phenomena in biological systems*. Chapter V, New York : Marcel Dekker, Inc., 1995, p. 193-236.
- SEN, C.K., MARIN, E., KRETZSCHMAR, M. et HANNINEN, O. Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. *J. Appl. Physiol.*, 1992, 73, 1265-1272.
- SEN, C.K., ATALAY, M. et HANNINEN, O. Exercise-induced oxidative stress : glutathione supplementation and deficiency. *J. Appl. Physiol.*, 1994, 77, 2177-2187.
- SEN, C.K. et PACKER, L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, 72 (Suppl 2), 653S-669S.
- SIES, H. Oxidative stress: introduction. In SIES, H. *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. London : Academic Press, 1991, p. xv-xxii.
- SOHAL, R.S., SVENSSON, I. et BRUNK, U.T. Hydrogen peroxide production by liver mitochondria in different species. *Mech. Ageing Dev.*, 1990, 53, 209-215.
- TEWS, D.S. et GOEBEL, H.H. Cell death and oxidative damage in inflammatory myopathies. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1998, 87, 240-247.
- URSO, M.L. et CLARKSON, P.M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 2003, 189 (1-2), 41-54.
- VIDER, J., LEHTMAA, J., KULLISAAR, T., VIHALEM, T., ZIMLER, K., KAIRANE, C., LANDOR, A., KARU, T. et ZILMER, M. Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology*, 2001, 7, 263-270.
- YOUNG, I.S. et WOODSIDE, J.V. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.*, 2001, 54, 176-186.