

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ НА ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СПЕКТР И ЭНЗИМАТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПОЧКИ

Куртасова Л.М., Зуков Р.А.

*ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия*

Резюме. Под наблюдением находились 44 больных диссеминированным раком почки в периоде до лечения и после интерферонотерапии. Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови определяли методом проточной цитофлуориметрии. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови изучали биолюминесцентным методом. У больных раком почки после курса интерферонотерапии установлены изменения иммунофенотипического спектра и энзиматической активности лимфоцитов периферической крови.

Ключевые слова: рак почки, иммунитет, метаболизм, интерферонотерапия

Адрес для переписки:

*Куртасова Людмила Михайловна
д.м.н., профессор кафедры клинической
иммунологии ГБОУ ВПО «Красноярский
государственный медицинский университет
имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана
Железняка, 1.
Тел.: 8 (391) 220-06-28.
Факс: 8 (391) 221-16-38.
E-mail: office@aids.krsn.ru*

Адрес для переписки:

*Куртасова Л.М. — д.м.н., профессор кафедры
клинической иммунологии ГБОУ ВПО
«Красноярский государственный медицинский
университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения РФ,
г. Красноярск, Россия
Зуков Р.А. — к.м.н., доцент кафедры онкологии
и лучевой терапии ГБОУ ВПО «Красноярский
государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства
здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия*

Поступила 06.08.2013

Принята к печати 04.09.2013

EFFECTS OF INTERFERON THERAPY UPON IMMUNE MARKER PROFILE AND ENZYMATIC ACTIVITY IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH RENAL CANCER

Kurtasova L.M., Zukov R.A.

Krasnoyarsk State V.F. Voyno-Yasenetsky Medical University, Ministry of Health Care of Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. We have observed forty-four patients with metastatic renal cancer before and after interferon therapy. Immune markers of peripheral blood lymphocytes were determined by flow cytometry. Activity of NAD (P)-dependent dehydrogenase in blood lymphocytes was studied by means of bioluminescence technique. Changes of immune marker profiles and enzymatic activities of peripheral blood lymphocytes were found in patients with renal cancer after a course of interferon therapy. (*Med. Immunol.*, 2014, vol. 16, N 3, pp 281-288)

Keywords: renal cancer, immunity, metabolism, interferon therapy

Address for correspondence:

*Kurtasova Lyudmila M.
PhD, MD, Professor, Clinical Immunology
Department, Krasnoyarsk State V.F. Voyno-Yasenetsky
Medical University
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
Partizan Zhelesnyak str., 1.
Phone: 7 (391) 220-06-28.
Fax: 7 (391) 221-16-38.
E-mail: office@aims.krsn.ru*

Authors:

*Kurtasova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor,
Clinical Immunology Department, Krasnoyarsk State
V.F. Voyno-Yasenetsky Medical University, Ministry
of Health Care of Russian Federation, Krasnoyarsk,
Russian Federation
Zukov R.A., PhD (Medicine), Assistant Professor,
Department of Oncology and Radiation Therapy,
Krasnoyarsk State V.F. Voyno-Yasenetsky Medical
University, Ministry of Health Care of Russian
Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Received 06.08.2013

Accepted 04.09.2013

Введение

Почечно-клеточный рак (ПКР) относится к числу наиболее тяжелых онкоурологических заболеваний. Так, число случаев поздней диагностики рака почки в 3 раза выше, чем при других урологических новообразованиях, а результаты лечения данного заболевания свидетельствуют, что у 40-50% больных в течение первого года после радикального хирургического вмешательства появляются метастазы [1].

В настоящее время важная роль в лечении распространенного рака почки отводится комбинированной терапии, включающей в себя наряду с хирургическим лечением иммунотерапию препаратами интерферона- $\alpha 2$ (IFN) [2, 6].

Противоопухолевое действие IFN опосредуется несколькими механизмами: антипролиферативным эффектом, регуляцией клеточной дифференцировки, ингибированием онкогенов и ангиогенеза, а также иммуномодулирующей активностью [8, 10].

Важную роль в эффективности лечебных мероприятий и прогнозе лечения играет состояние противоопухолевой реактивности организма, уровень которой, главным образом, определяет функциональное состояние иммунокомпетентных клеток.

Не вызывает сомнений, что в основе функциональных проявлений лимфоцитов, основного структурно-функционального элемента иммунной системы, лежат их метаболические реакции. Особенно высокой информативностью для исследования метаболизма активированных лимфоцитов обладают окислительно-восстановительные ферменты. Это связано с тем, что, являясь основными переносчиками электронов в клетке, они осуществляют ключевые реакции клеточного метаболизма и координируют сопряженные метаболические пути. Необходимо отметить, что на сегодняшний день иммунотерапия интерфероном- $\alpha 2$ является общепринятым методом лечения диссеминированного рака почки. В то же время эффективность интерферонотерапии при раке почки, по сведениям разных авторов, составляет от 10 до 40% [2], что требует дальнейшего изучения механизмов действия IFN для оптимизации иммунотерапии у больных раком почки.

В связи с чем целью исследования явилось изучение влияния интерферонотерапии на иммунофенотип и показатели ферментативной активности лимфоцитов периферической крови у больных с диссеминированным раком почки.

Материалы и методы

Проведены наблюдения за 44 больными диссеминированным раком почки ($T_{2-4}N_{0-1}M_1$) в возрасте 45-55 лет в период до лечения и после курса интерферонотерапии. Контрольную группу составили 35 здоровых доноров. Всем пациентам выполнена циторедуктивная нефрэктомия. Иммунотерапию проводили через 4 недели после хирургического лечения. Пациенты получали интерферон- $\alpha 2a$ (реаферон) внутримышечно 3 раза в неделю, в дозе подобранной с учетом индивидуальной клеточной чувствительности лейкоцитов крови к препарату *in vitro*. Клеточную чувствительность лейкоцитов крови к интерферону- $\alpha 2a$ определяли способом, разработанным Л.М. Куртасовой с соавт. [3]. Количество инъекций интерферона- $\alpha 2a$ на курс составляло 12.

Мононуклеары выделяли из гепаринизированной венозной крови центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина [7]. Затем осуществляли билюминесцентное определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), лактатдегидрогеназы (НАДЛДГ), малатдегидрогеназы (НАДМДГ), НАД и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ (НАДГДГ и НАДФГДГ соответственно), НАД и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ соответственно), малатдегидрогеназы декарбоксилирующей (НАДФМДГ) и глутатионредуктазы (ГР) [4]. Активность ЛДГ, МДГ, НАДГДГ и НАДФГДГ определяли как по прямому, так и по обратным реакциям (НАДНЛДГ, НАДНМДГ, НАДНГДГ и НАДФНГДГ соответственно). Активность исследуемых оксидоредуктаз выражали в ферментативных единицах ($1E = 1$ мкмоль/мин) на 104 клеток. Исследования проводили на ферментативном препарате NAD(P): FMN оксидоредуктаза-люцифераза из *Photobacterium leiognathi* (полученном в Институте Биофизики СО РАН, г. Красноярск) [5]. Измерение уровня билюминесценции осуществляли на билюминометре БЛМ 8801 (Россия).

Иммунофенотипирование лимфоцитов крови проводили с помощью метода проточной цитофлуориметрии, используя FACS Calibur (Becton Dickinson, США) и реагенты Simul Test IMK-Lymphocyte Kit (США). Определяли содержание $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD19^+$, $CD16^+/56^+$ и HLA-DR-клеток.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета при-

кладных программ «STATISTICA v. 6.0». Количественные параметры в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q_{25} - Q_{75}), где Q_{25} – 25% процентиль, Q_{75} – 75% процентиль. Проверку гипотезы о достоверности выборки проводили с помощью критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

При исследовании иммунологических показателей у больных ПКР до лечения интерфероном- $\alpha 2a$ на фоне относительной лимфопении отмечается повышение процентного содержания CD16⁺/56⁺ клеток по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 1). Кроме того, установлено статистически значимое снижение как по относительным, так и абсолютным показателям CD3⁺ и CD4⁺ клеток в сравнении с величинами группы контроля. Необходимо отметить, уменьшение абсолютного числа В-лимфоцитов и клеток, экспрессирующих активационный маркер HLA-DR (табл. 1).

Анализ иммунологических параметров у больных ПКР после курса интерферонотерапии показал снижение процентного содержания и абсолютного числа лимфоцитов периферической крови относительно значений контрольной группы (табл. 1). При этом обнаружено увеличение процентного содержания клеток, несущих активационный маркер HLA-DR (табл. 1). Следует отметить снижение абсолютного количества зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺), CD4⁺ клеток и В-лимфоцитов по сравнению с контрольными показателями (табл. 1).

Изучение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ПКР в период до проведения иммунотерапии (табл. 2) показало снижение уровня Г6ФДГ – ключевого фермента пентозофосфатного цикла, продукты которого используются в реакциях макромолекулярного синтеза [9, 12].

Анализ активности исследуемых дегидрогеназ с преимущественно энергетической направленностью установил снижение уровня активности НАДНЛДГ в лимфоцитах крови, что отражает понижение субстратного потока по гликолизу. В то же время обнаружено увеличение показателей активности НАДМДГ, одного из ферментов, определяющего интенсивность субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот. В связи с чем можно предположить повышение аэробных внутриклеточных процессов. При этом усиление

субстратного потока по циклу Кребса сопровождается увеличением оттока интермедиатов через повышение уровня НАДНГДГ на реакции аминокислотного обмена (табл. 2). Следует отметить у больных ПКР до лечения падение активности ГР-фермента, который входит в систему антиоксидантной защиты клетки и в определенной степени модулирует пролиферативную активность лимфоцитов [11, 13].

Ферментный статус лимфоцитов крови больных ПКР после проведенного курса интерферонотерапии характеризуется сохранением низких показателей активности ГР, что может привести к понижению эффективности работы глутатион-зависимой антиоксидантной системы клетки (табл. 2). На фоне повышения уровня активности НАДНГДГ обнаружено снижение активности НАДФНГДГ по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 2).

Сравнительный анализ показателей активности исследуемых ферментов в лимфоцитах крови у больных ПКР выявил повышение уровня Г6ФДГ и снижение активности НАДМДГ в период после иммунотерапии относительно показателей, зарегистрированных в период до лечения (табл. 2). Необходимо отметить увеличение показателей активности НАДИЦДГ и понижение уровня НАДГДГ по сравнению с исходными параметрами до лечения (табл. 2).

Таким образом, после интерферонотерапии у больных диссеминированным раком почки на фоне лимфопении повышается процентное содержание в периферической крови количества клеток, экспрессирующих активационный маркер HLA-DR.

Энзиматический статус лимфоцитов крови характеризуется повышением наработки рибозо-5-фосфата и НАДФН-зависимых реакций макромолекулярного синтеза, пониженным уровнем НАД-зависимого окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты. Отмечается высокая активность НАДНГДГ, что позволяет предположить повышение концентрации НАДН в митохондриальном компартменте клетки.

Снижается отток интермедиатов через НАДФНГДГ с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. Кроме того, меняется внутриклеточная активность ферментов, метаболизирующих энергопродуцирующие реакции лимонного цикла.

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ПКР ДО ЛЕЧЕНИЯ И ПОСЛЕ КУРСА ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ (Me, Q₂₅-Q₇₅)

Показатели	Контрольная группа (n = 35) 1	Больные ПКР	
		до лечения (n = 44) 2	после лечения (n = 29) 3
	Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,20 (3,10-6,30)	4,30 (3,90-5,10)	4,40 (3,10-5,10)
Лимфоциты, %	34,5 (27,0-37,0)	26,5 (20,0-36,0) p ₁ < 0,05	22,9 (18,0-18,0) p ₁ < 0,05
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,52 (1,16-2,20)	1,36 (0,95-1,49)	0,99 (0,75-1,12) p ₁ < 0,05
CD3 ⁺ , %	49,0 (44,0-55,0)	45,5 (37,0-52,0) p ₁ < 0,05	47,0 (39,0-49,0)
CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,65 (0,43-1,13)	0,56 (0,29-0,66) p ₁ < 0,05	0,37 (0,15-0,54) p ₁ < 0,01
CD4 ⁺ , %	28,0 (21,0-29,0)	22,0 (16,0-25,0) p ₁ < 0,01	24,0 (17,0-29,0)
CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,42 (0,23-0,45)	0,26 (0,10-0,33) p ₁ < 0,05	0,24 (0,14-0,28) p ₁ < 0,05
CD8 ⁺ , %	22,0 (18,0-26,0)	22,0 (19,0-24,0)	20,0 (15,0-24,0)
CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,35 (0,16-0,66)	0,28 (0,17-0,33)	0,19 (0,09-0,27)
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,19 (0,72-1,47)	0,94 (0,65-1,27)	1,20 (0,83-1,33)
CD16 ⁺ /56 ⁺ , %	28,0 (21,0-30,0)	30,0 (26,0-34,0) p ₁ < 0,05	28,0 (22,0-33,00)
CD16 ⁺ /56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,37 (0,22-0,49)	0,35 (0,24-0,45)	0,27 (0,21-0,32)
CD19 ⁺ , %	26,0 (18,0-29,0)	26,0 (19,0-29,0)	27,0 (19,0-29,0)
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,44 (0,34-0,55)	0,29 (0,19-0,39) p ₁ < 0,05	0,22 (0,18-0,29) p ₁ < 0,01
HLA-DR ⁺ , %	35,0 (30,0-42,0)	35,5 (30,0-41,0)	44,0 (30,0-49,0) p ₁ < 0,05
HLA-DR ⁺ , 10 ⁹ /л	0,61 (0,42-0,74)	0,42 (0,20-0,57) p ₁ < 0,05	0,41 (0,26-0,53)

Примечание. p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ (МКЕ) ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПКР ДО ЛЕЧЕНИЯ И ПОСЛЕ КУРСА ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ (Me, Q₂₅-Q₇₅)

Показатели	Контрольная группа		Больные ПКР	
	(n = 35) 1	до лечения (n = 44) 2	после лечения (n = 29) 3	
		Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)
Г6ФДГ	3,11 (0,53-6,24)	0,46 (0,01-2,03) p ₁ < 0,01	1,30 (0,19-3,45) p ₂ < 0,05	
ГЗФДГ	0,00 (0,00-1,01)	0,09 (0,00-2,50)	0,84 (0,00-1,69)	
НАДЛДГ	11,53 (2,37-20,34)	7,85 (1,51-27,52)	6,33 (0,00-29,05)	
НАДФМДГ	0,33 (0,00-1,14)	0,08 (0,00-0,38)	0,24 (0,05-0,37)	
НАДФГДГ	0,53 (0,00-4,52)	0,64 (0,00-2,48)	1,26 (0,00-6,18)	
НАДФИЦДГ	2,99 (1,87-6,32)	1,96 (0,37-5,35)	1,66 (0,18-5,99)	
НАДМДГ	4,58 (0,00-11,61)	32,26 (0,00-114,78) p ₁ < 0,01	0,00 (0,00-59,18) p ₂ < 0,01	
НАДГДГ	4,24 (0,00-15,48)	8,63 (0,00-28,01)	4,98 (0,00-7,81) p ₂ < 0,05	
НАДИЦДГ	0,56 (0,00-13,79)	0,21 (0,00-3,22)	7,19 (0,14-13,81) p ₂ < 0,01	
НАДНЛДГ	30,57 (0,00-52,46)	0,00 (0,00-16,51) p ₁ < 0,01	6,59 (0,00-37,70)	
НАДНМДГ	58,13 (24,98-114,15)	58,18 (27,51-95,54)	49,19 (25,27-67,60)	
ГР	13,82 (7,24-36,74)	1,30 (0,00-7,63) p ₁ < 0,01	3,25 (0,29-11,43) p ₁ < 0,05	
НАДНГДГ	5,19 (0,00-22,70)	19,93 (5,19-32,28) p ₁ < 0,05	33,34 (4,49-44,92) p ₁ < 0,05	
НАДФНГДГ	25,20 (11,20-46,79)	25,27 (1,95-43,80)	13,02 (1,57-26,54) p ₁ < 0,05	

Примечание. p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ – статистически значимые различия с показателями в период до лечения.

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что после интерферонотерапии у больных диссеминированным раком почки на фоне лимфопении изменяется иммунофенотипический спектр лимфоцитов периферической крови. Интерферонотерапия влияет на основные энерге-

тические и биосинтетические внутриклеточные реакции лимфоцитов крови, переключает субстратные потоки преимущественно на пластические процессы. Вероятно, полученные нами данные необходимо учитывать при разработке схем и режимов интерферонотерапии у больных раком почки.

Список литературы

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2009 г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2011. – Т. 24, № 3. (прил. 1). – С. 54-92.
2. Молчанов О.Е., Карелин М.И. Иммунологический мониторинг биотерапии диссеминированных форм почечно-клеточного рака // Онкоурология. – 2009. – № 4. – С. 13-18.
3. Пат. 2293988 Российская Федерация. Способ оценки чувствительности к интерферону у больных раком почки / Л.М. Куртасова, Е.А. Шкапова, А.А. Савченко, А.И. Крыжановский, Р.А. Зуков, Н.В. Рачкова. – № 2005100610; Заявл. 11.01.05; Опубл. 20.02.07 // Бюллетень изобретения. Полезные модели. – 2007. – № 5. – 5 с.
4. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биolumинесцентным методом // Лабораторное дело. – 1989. – № 11. – С. 23-25.
5. Тюлькова Н.А., Антонова Э.В. НАД(Ф) – реагент для биolumинесцентного анализа. Препринт № 157Б Института Биофизики СО АН СССР. – Красноярск, 1991. – 18 с.

Ссылки 6-13 см. в References (сmp. 287-288). See References for numbers 6-13 at pp. 287-288.

References

1. Davydov M.I., Aksel' E.M. Zbolevaemost' zlokachestvennyimi novoobrazovaniyami naseleniya Rossii i stran SNG v 2009 g. [The incidence of malignant tumors of Russian and CIS population in 2009]. *Vestnik RONTs imeni N.N. Blokhina RAMN – Bulletin of the RCRC Named After N.N. Blokhin*, 2011, vol. 24, no. 3 (suppl. 1), pp. 54-92.
2. Molchanov O.E., Karelin M.I. Immunologicheskii monitoring bioterapii disseminirovannykh form pochechno-kletochnogo raka [Immunological monitoring of biotherapy of disseminated forms of renal cell carcinoma]. *Onkourologiya – Oncourology*, 2009. Vol. 4. pp. 13-18.
3. Kurtasova L.M., Shkapova E.A., Savchenko A.A., Kryzhanovsky A.I., Zukov R.A., Rachkova N.V. Sposob otsenki chuvstvitel'nosti k interferonu u bol'nykh rakom pochki [A method of sensitivity evaluating to interferon in patients with renal cancer]. *Pat. 2293988 RF N 2005 100610; Stated 11.01.05; Publ. 20.02.07. Bulletin of the Inventions. Utility models*, 2007, no. 5. 5 p.
4. Savchenko A.A., Suntsova L.N. Vysokochuvstvitel'noe opredelenie aktivnosti degidrogenaz v limfotsitakh perifericheskoy krovi bioluminescentnym metodom [Highly sensitive determination of dehydrogenase activity in lymphocytes of peripheral blood of bioluminescent method]. *Laboratornoe delo – Laboratory Diagnostics*, 1989, vol. 11, pp. 23-25.
5. Tyul'kova N.A., Antonova E.V. NAD(F) – reagent dlya bioluminescentnogo analiza. Preprint N 157 B Instituta Biofiziki SO AN SSSR [NAD (P) – a reagent for bioluminescent analysis. Preprint number 157 B of the Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the USSR]. *Krasnoyarsk*, 1991. 18 p.
6. Avnet S., Cenni E., Perut F., Granchi D., Brandi M.L., Giunti A., Baldini N. Interferon-alpha inhibits *in vitro* osteoclast differentiation and renal cell carcinoma – induced angiogenesis. *Int. J. Oncol.*, 2007, vol. 30, no. 2, pp. 469-476.
7. Böyusn A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1968, vol. 21 (suppl. 97), pp. 77-89.
8. Kelly J.D., Dai J., Eschwege P., Goldbreg J.S., Duggan B.P., Williamson K.E., Bander N.H., Nanus D.M. Downregulation of Bcl-2 sensitizes interferon-resistant renal cancer cells to Fas. *Br. J. Cancer*, 2004, vol. 91, no. 1, pp. 164-170.
9. Mailloux R.J., Harper M.E. Glucose regulates enzymatic sources of mitochondrial NADPH in skeletal muscle cells; a novel role for glucose-6-phosphate dehydrogenase. *FASEB J.*, 2010, vol. 24, no. 7, pp. 2495-2506.

10. Motzer R.J., Hudes G.R., Curti B.D., McDermott D.F., Escudier B.J., Negrier S., Duclos B., Moore L., O'Toole T., Boni J.P., Dutcher J.P. Phase I/II trial of temsirolimus combined with interferon-alpha for advanced renal cell carcinoma. *J. Clin. Oncol.*, 2007, vol. 25, no. 25, pp. 3958-3964.
11. Pallardo F.V., Markovic J., Garcia J.L., Vina J. Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. *Mol. Aspects Med.*, 2009, vol. 30, no. 1-2, pp. 77-85.
12. Stanton R.C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. *IUBMB Life*, 2012, vol. 64, no. 5, pp. 362-369.
13. Waggiallah H., Alzohairy M. The effect of oxidative stress on human red cells glutathione peroxidase, glutathione reductase level, and prevalence of anemia among diabetics. *N. Am. J. Sci.*, 2011, vol. 3, no. 7, pp. 344-347.