

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 577.112 . 591.11.

**Изменение уровня и активности
антиоксидантных и прооксидантных
металлопротеинов в клеточных формированиях
тканей по половым признакам****Л.Г.Тадевосян, Л.Н.Аракелян, М.А.Симонян,
Г.А.Геворкян***Институт биохимии им.Г.Х.Бунятына НАН РА
0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/1*

Ключевые слова: металлопротеины, активность, клеточные формирования, крысы (самки, самцы)

Состояние регуляторных систем метаболических путей, включая метаболизм активных форм кислорода (АФК) у крыс-самок и самцов, существенно отличается в норме и под действием различных экзогенных и эндогенных факторов. Под влиянием введенной в организм крыс-самок хинолиновой кислоты наблюдается увеличение подвижности этих животных больше, чем у крыс-самцов [6]. 2-Метоксиэстрадиол (активный метаболит эстрадиола) вызывает повышение NADPH-оксидазной активности в коронарных артериях у крыс-самцов, по сравнению с самками. При этом процесс стимулирования сосудистого фиброза у самцов сильнее, чем у самок. 2-Метоксиэстрадиол оказывает протекторное действие на сосудистую систему при гипертензия-индуцированном повреждении крыс-самцов, по сравнению с самками, путем снижения уровня супероксидных радикалов (O_2^-) [4]. Половое различие играет значительную роль при усилении гипертензии, при этом повышение уровня ангиотензина I – рецептора нейрональной вентролатеральной медуллы у крыс-самок вызывает снижение уровня цитозольной субъединицы NADPH-оксидазы p47 phox с ослаблением продуцирования O_2^- [16]. Увеличение содержания хлористого натрия в корме крыс, с большим содержанием жира, вызывает оксидативный стресс, ассоциированный повышением кровяного давления у крыс-самок, на фоне снижения активности кортикальной нитритоксидсинтазы и NADPH-оксидазы. При этом активность NADPH-оксидазы в клетках почек у истощенных крыс-самок не повышается, но повышается у крыс обоих полов с большим содержанием жира [11]. При гипертензии у крыс антистрессорный эффект оказывают темпол или апоцинин (инги-

биторы NADPH-оксидазы), снижая кровяное давление почек у крыс-самцов, но не самок. При этом оксидативный стресс у крыс-самцов вызывает молсидомин, а витамины Е и С снижают кровяное давление у молодых, но не пожилых крыс [12]. При гипертензии у крыс активность NADPH-оксидазы в 1,3 раза выше у самцов, чем у самок, а 17 бета-эстрадиол защищает почки крыс-самок путем снижения уровня O_2^- при почечных заболеваниях [7]. NADPH-зависимое продуцирование O_2^- сосудами мозговой ткани крыс-самцов в 2 раза больше, чем у крыс-самок, причем продуцирование O_2^- подавляется ингибитором NADPH-оксидазы – дифенилениодом. При этом экспрессия NADPH-оксидазы Нокс-1 и Нокс-4 в мозговых сосудах выше у крыс-самцов в 2,4 и 2,8 раза соответственно, тогда как экспрессия Нокс-2, СОД-1, СОД-2 и СОД-3 не изменяется. Причем каталаза снижает NADPH-индуцированную релаксацию в мозговой ткани крыс-самок, а 17 бета-эстрадиол снижает продуцирование O_2^- NADPH-оксидазой [10]. Глубина продуцирования микрососудами NO^+ и O_2^- при гипертензии крыс-самцов и самок существенно отличается. Оксидативный стресс коронарных артерий крыс, определенный микрофлуорографией (гидроетидином), существенно усиливается у крыс при гипертензии, а под влиянием ингибитора NADPH-оксидазы и ангиотензина I в этих сосудах происходит снижение уровня продуцированных O_2^- NADPH-оксидазой у крыс-самцов, хотя этот показатель у самок практически не изменяется [5]. У крыс при внутриутробном исхудании наблюдается оксидативный стресс, ассоциированный снижением СОД активности. Под влиянием ингибитора ксантиноксидазы – оксипуринола, ингибитора нитритоксидсинтазы (L-NAME) или ингибитора циклооксигеназы (диклофена) глубина продуцирования O_2^- в коронарных артериях существенно не изменяется у крыс-самок, однако под влиянием ингибитора NADPH-оксидазы – апоцинина наблюдается снижение продуцирования O_2^- с улучшением функционирования этих сосудов. С другой стороны, при внутриутробном исхудании не изменяется экспрессия гена для р22 рнох и гр91 рнох NADPH-оксидазы, а ангиотензин I стимулирует продуцирование O_2^- в сосудах крыс-самок [8]. У самок при стрептозотацин-индуцированном диабете в эндотелиях дыхательных сосудов наблюдается повышение продуцирования O_2^- и экспрессия гена субъединицы NADPH-оксидазы – р47 рнох, также функциональное нарушение этих сосудов [9]. Фактически уровень и активность вышеприведенных антиоксидантных и прооксидантных металлопротеинов – регуляторов метаболизма АФК у крыс-самок и самцов при различных патологических состояниях изменяются неадекватным образом. С другой стороны, уровень и активность ключевых прооксидантных металло-

протеинов (ПМ) и антиоксидантных металлопротеинов (АМ) тканей крыс-самок и самцов комплексно и одновременно еще не определены. Определение этих факторов на субклеточном уровне позволит расширить и углубить имеющиеся знания о механизмах полдозависимого изменения метаболизма АФК.

Цель работы – изучение количественных и качественных изменений ПМ и АМ в мембранах, ядрах, митохондриях и АМ в цитозолях клеток тканей (печень, почки, сердце, селезенка и костный мозг) интактных крыс-самок и самцов.

Материал и методы

Опыты проводились на белых половозрелых крысах обоих полов массой 200-250 г (по 7 животных в каждой серии эксперимента). Ткани крыс-самцов и самок в отдельности (печень по 10г, почки–5г, селезенка–4г, сердце–4г, мозг–7г), после их промывания физ. раствором, гомогенизировали в 0,25 М сахарозе (1г ткани в 10 мл сахарозы) стеклянным гомогенизатором в течение 1,5 мин при 4°. Ядра, митохондрии и мембраны клеток осаждали дифференциальным центрифугированием. Осадки этих клеточных компонентов двукратно промывали раствором сахарозы (1:10 об/об) с последующим центрифугированием. Далее осадки ядер, митохондрий и мембран клеток (МК) промывали водой (1:20 об/об) и центрифугировали. Очищенные от следов сахарозы и солей осадки ядер, митохондрий и МК смешивали с водой (1:5 об/об) и гомогенизировали в аналогичном режиме.

Фракции изоформ цит b_{558} кислого характера из водных смесей ядер, митохондрий и МК получали лицензированным способом без использования детергента [3]. После центрифугирования водных растворов белковых фракций из ядер и митохондрий, супернатанты подвергали ионообменной хроматографии на колонке с целлюлозой КМ-52 (для удаления следов гемоглобина или других сопутствующих белков основного характера). После центрифугирования водных растворов белковых фракций супернатанты, МК отделяли для определения в них активности суммарной фракции Cu, Zn -СОД (СОД-1) и Мп-СОД (СОД-2), а также активности каталазы [2]. Не задерживающиеся на колонке с целлюлозой КМ-52 кислые белковые фракции подвергали ионообменной хроматографии на колонке с целлюлозой DE-52. После промывания этой колонки сначала водой, далее с 0,01 М калий-фосфатным буфером pH 7,4 (КФБ) фракцию изоформ цит b_{558} кислого характера из супернатантов белковых фракций ядер, митохондрий и МК элюировали 0,1 М КФБ. Уровни этих цит b_{558} определяли путем измерения характерной для цит b_{558} плотности максимального оптического поглощения при 530 нм (бета-полоса поглощения).

СОД-активность фракций и NADPH-зависимую O_2^- -продуцирующую активность [1] фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных

компонентов определяли нитротетразолиевым синим (НТС), путем вычисления процента ингибирования (для СОД) или стимулирования (для изоформ цит b_{558}) образования формазана при 560 нм в результате восстановления НТС супероксидными радикалами. За единицу СОД активности или O_2^- -продуцирующей активности принимали количество белка, которое подавляет или стимулирует образование формазана на 50 % соответственно.

Каталазную активность фракций определяли перманганатометрическим методом, путем вычисления количества расщепленной перекиси водорода в отсутствие и присутствии каталазы. За единицу каталазной активности принимали количество белка, расщепляющее 0,1М перекиси водорода за 1 мин при 20°.

Ферригемоглобин (ферриHb)-восстанавливающую активность [13] фракций цит b_{558} определяли, используя ферриHb цитоплазмы эритроцитов крыс с величиной плотности максимального оптического поглощения 0,8 (при 565 нм). При этом величина плотности бета-поглощения (A_{530}) изоформ цит b_{558} кислого характера в реакционной смеси составляла 0,03. Непосредственно в кварцевых кюветах спектрофотометра к 3 мл раствору ферриHb добавляли 0,2 мл цит b_{558} с $A_{530} = 0,4$. После перемешивания реакционной смеси ее инкубировали в аэробных условиях в течение 15-16 ч при 30°. После повторного перемешивания реакционной смеси определяли кинетику восстановления ферриHb до ферроHb путем измерения снижения плотности альфа-полосы поглощения ферриHb при 565 нм (такое снижение прямо пропорционально образовавшемуся ферроHb, который имеет максимальное оптическое поглощение при 555 нм). За единицу ферриHb-восстанавливающей активности изоформ цит b_{558} принимали количество белка, снижающее плотность максимального оптического поглощения ферри Hb (при 565 нм) до 0,05 за 1 ч при 30°.

Оптические спектральные измерения осуществляли на спектрофотометре «Specord UV-VIS» (Германия) с длиной оптического пути 1 см. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением критерия достоверности Р.

Результаты и обсуждение

Определены оптические спектральные показатели, уровни и активность фракций ПМ и АМ, которые получены из клеточных образований (мембраны, митохондрий и ядра) белых крыс-самок и самцов с использованием лицензированного биотехнологического способа, исключая применение детергента, который существенно снижает стабильность ПМ (фракции изоформ цит b_{558} кислого характера) [3]. По оптическим спектральным показателям, по характерным максимумам поглощений фракции цит b_{558} , полученные из клеточных формирований селе-

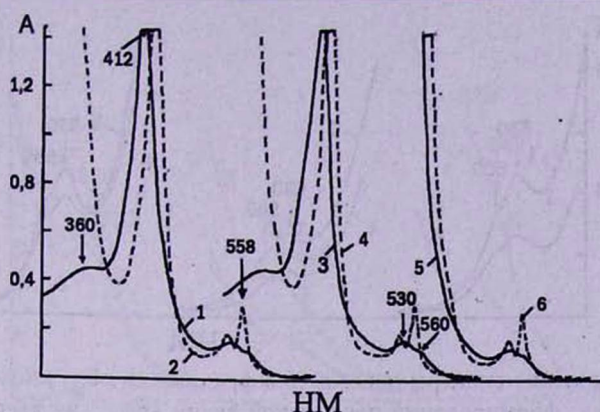


Рис.1. Оптические спектры поглощения фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований селезенки крыс-самцов: из мембран клеток (1) и после его восстановления дитионитом натрия (2), из ядер клеток (3) и после его восстановления (4), из митохондрий (5) и после его восстановления (6).

У крыс-самок эти показатели практически совпадают. Цитохромы b_{558} растворены в 0,1 М КФБ

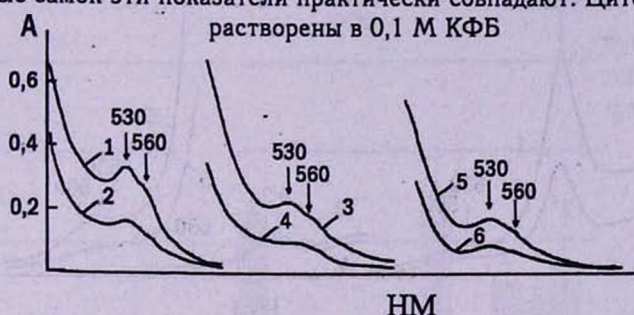


Рис. 2. Оптические спектры поглощения фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований сердечной ткани крыс: из мембран клеток крыс-самцов (1) и самок (2), из ядер клеток самцов (3) и самок (4), из митохондрий клеток самцов (5) и самок (6). Цит b_{558} растворены в 0,1 М КФБ

зенки, печени, сердца, почек и мозговой ткани самок и самцов, практически не отличаются (рис. 1-5). Например, фракции цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований селезенки, после восстановления этих гемопротеинов дитионитом натрия, оптические спектры поглощения по форме и по максимумам поглощений (поглощение при 558 нм) соответствуют аналогичным показателям цит b_{558} из других биообъектов [14]. Более очищенные фракции цит b_{558} кислого характера (КХ) получают из ядер, митохондрий и МК селезенки и сердца, из клеточных формирований мозга, печени и почек фракции b_{558} - содержат следы других белков, о чем свидетельствует повышенное фоновое поглощение цит b_{558} в коротковолновой области спектра. По приведенным оптико-спектральным показателям эти цит b_{558} практически не отличаются у крыс-самок и самцов (рис.1-5). Однако

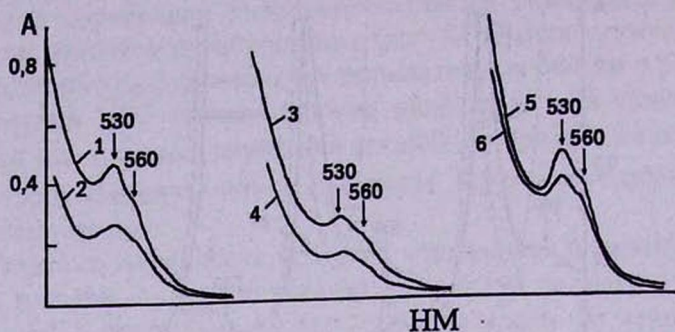


Рис.3. Оптические спектры поглощения фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований печеночной ткани крыс: из ядер клеток крыс-самцов (1) и самок (2), из митохондрий клеток самцов (3) и самок (4), из мембран клеток самцов (5) и самок (6). Цит b_{558} растворены в 0,1 М КФБ

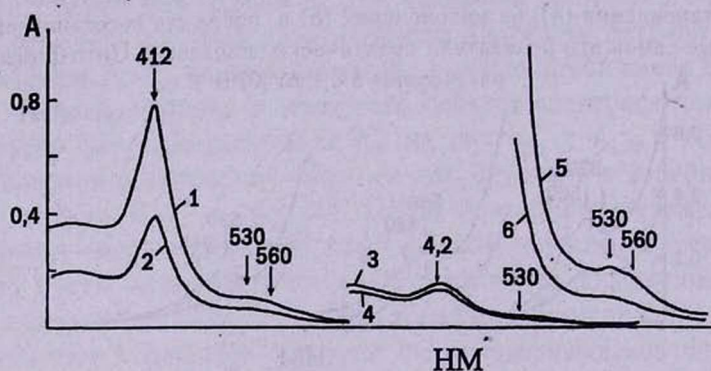


Рис.4. Оптические спектры поглощения фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований мозговой ткани крыс: из мембран клеток крыс-самцов (1) и самок (2), из митохондрий клеток самцов (3) и самок (4), из ядер клеток самцов (5) и самок (6). Фракции цит b_{558} растворены в 0,1 М КФБ

уровни фракций цит b_{558} КХ в ядрах, митохондриях и МК исследуемых тканей крыс-самок и самцов изменяются неадекватным образом. По сравнению со 100 % показателями самцов у самок удельное содержание (количество) цит b_{558} КХ (расчетное количество белка, полученного из 1 г ткани, объемом 1 мл) не изменяется в ядрах клеток печени, почек, но снижается в ядрах клеток мозговой ткани и повышается в ядерных фракциях селезенки и сердца (рис.6). В митохондриях удельное содержание цит b_{558} КХ снижается в клетках печени, почек и сердца и несколько повышается в ядрах клеток мозга и селезенки. Уровень цит b_{558} КХ снижается только в клеточных формированиях почек, не изменяется в МК печени и сердца, но повышается в МК мозговой ткани и селезенки.

По сравнению со 100% показателями крыс-самцов у самок

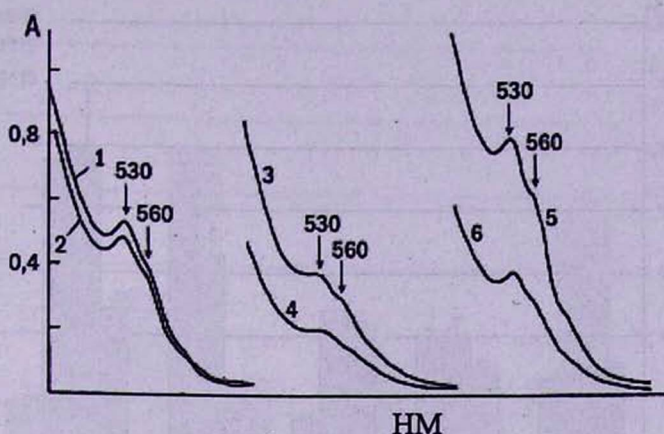


Рис.5. Оптические спектры поглощения фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований почечной ткани крыс: из ядер клеток крыс-самцов (1) и самок (2), из митохондрий клеток самцов (3) и самок (4), из мембран клеток самцов (5) и самок (6). Фракции цит b_{558} растворены в 0,1 М КФБ

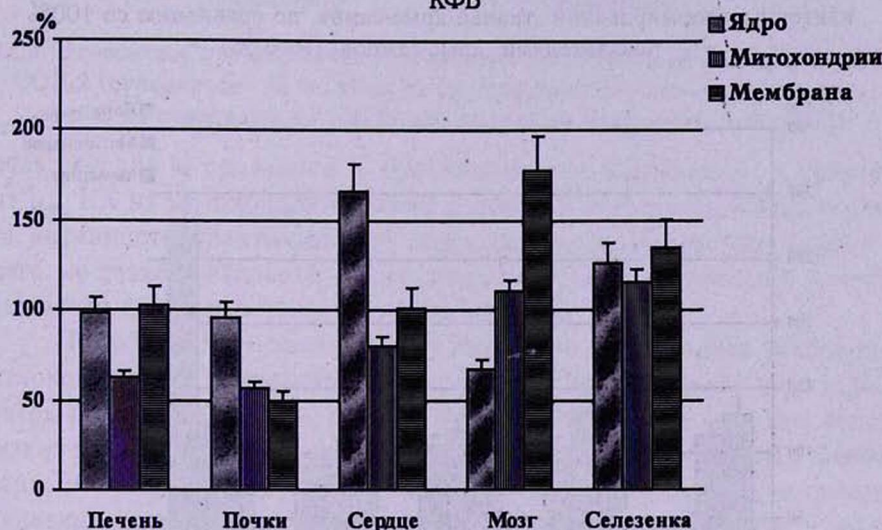


Рис. 6. Относительное изменение (%) удельного содержания фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований тканей крыс-самок, по сравнению со 100% показателями крыс-самцов

NADPH-зависимая супероксид-продуцирующая активность снижается у фракций цит b_{558} КХ из ядер клеток почек, печени, мозга и повышается в ядерных клетках сердца и селезенки. Эта активность снижается только у фракций цит b_{558} КХ митохондрий из клеток почек, митохондрий клеток остальных тканей, особенно из селезенки, NADPH-зависимая супероксид-продуцирующая активность повышается. NADPH-зависимая супероксид-продуцирующая активность фракций цит b_{558} КХ повышается в МК селезенки и мозга, не изменяется в МК

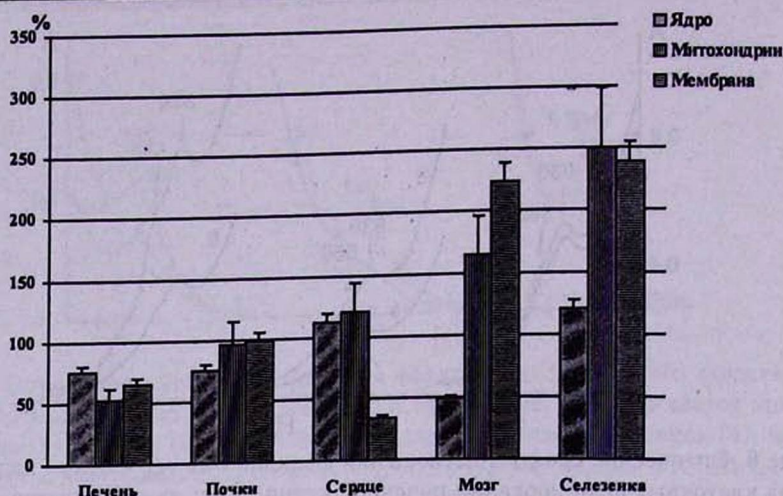


Рис.7. Относительное изменение (%) NADPH-зависимой супероксид-продуцирующей активности фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований тканей крыс-самок, по сравнению со 100% показателями крыс-самцов ($P<0,05$)

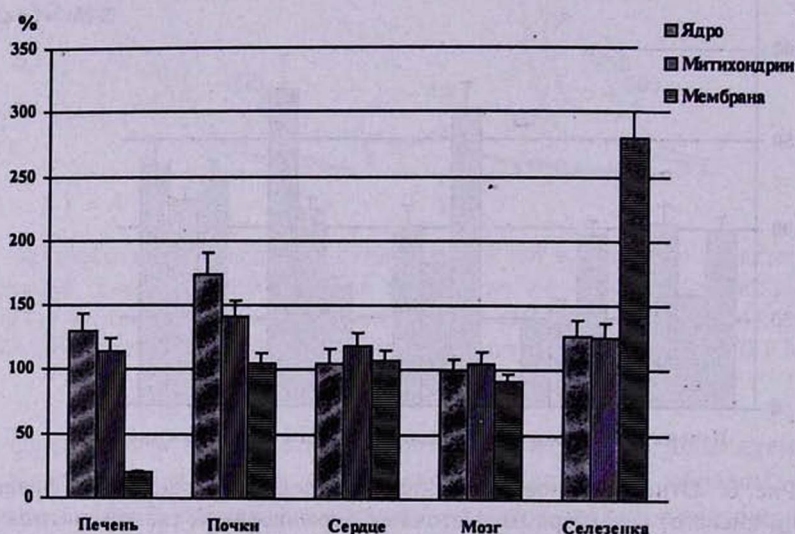


Рис. 8. Относительное изменение (%) метHb-восстанавливающей активности фракций цит b_{558} кислого характера из клеточных формирований тканей крыс-самок, по сравнению со 100% показателями крыс-самцов ($P<0,05$)

печени и снижается в МК почек и сердца (рис.7).

По сравнению с показателями самцов у самок метHb-восстанавливающая активность не изменяется у фракций цит b_{558} КХ из ядер сердца и мозга и повышается у цит b_{558} из ядер почек и селезенки. Эта активность повышается у фракций цит b_{558} КХ из митохондрий клеток

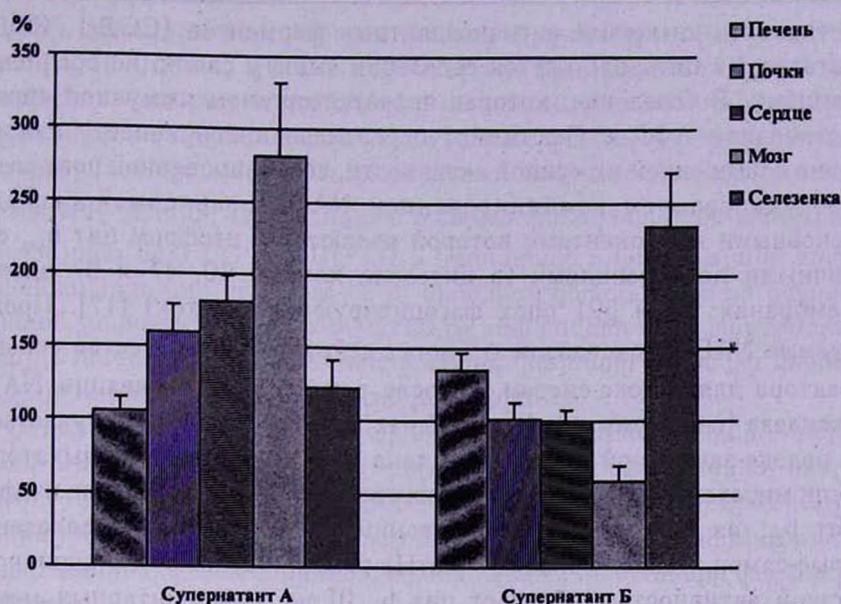


Рис.9. Относительное изменение (%) активности суммарной фракции СОД-1 и СОД-2 (супернатант А) и каталазы (супернатант Б) клеток тканей крыс-самок, по сравнению со 100% показателями крыс-самцов ($P < 0,05$)

почек, сердца и селезенки и практически не изменяется у фракций цит b_{558} КХ из митохондрий печени и мозга. В МК приведенных тканей эта активность практически не меняется в клетках почек, сердца и мозга, но резко повышается в митохондриях клеток селезенки и заметно снижается в МК печени крыс-самок (рис. 8).

По сравнению с показателями крыс-самцов суммарная активность антиоксидантных ферментов СОД-1 и СОД-2 повышается в цитозоле клеток печени, селезенки, почек и особенно в клетках сердца и мозга. Низкая каталазная активность наблюдается в цитозоле клеток мозговой ткани. Эта активность не изменяется в сердце и почках, но повышается в клетках печени и, особенно, в цитозоле клеток селезенки у крыс-самок (рис. 9). Таким образом, изменение активности ключевых антиоксидантных ферментов в цитозоле клеток приведенных тканей имеет неадекватный характер. Продуцируемые O_2^- играют ключевую роль в клетках иммунной системы при фагоцитозе [14,15], O_2^- участвует в дыхательных процессах митохондрий и образовании макроэргов. Как и эритроцитарный цит b_{558} III [13], изоформы цит b_{558} клеточных формований тканей обладают ферриHb- (метHb) восстанавливающей активностью и являются потенциальным регулятором кислородного гомеостаза. Примечательно, что уровень NADPH-зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности изоформ цит b_{558} КХ из клеточных формований (ядра, митохондрий и МК), а также

активность ключевых антиоксидантных ферментов (СОД-1, СОД-2 и каталаза) в цитозоле клеток селезенки выше у самок, по сравнению с самцами. В селезенке, которая является органом иммунной системы, метаболизм АФК с участием супероксидов интенсивнее у самок, на фоне повышенной иммунной активности, ассоциированной повышенным продуцированием комбинированной NADPH-зависимой оксидазой, основными компонентами которой являются 5 изоформ цит b_{558} с различными локализациями (в цитозоле клеток: 40, 47 и 67 phox и в мембранах: 22 и g91 phox фагоцитирующих клеток) [17]. Продуцируемые NADPH-оксидазой O_2^- могут действовать в качестве основного фактора для редокс-систем, и после рецепторной активации NADPH-оксидаза (изоформы цит b_{558}) в ядрах клеток также может участвовать в редокс-зависимой экспрессии гена и стимулировании дыхательной цепи митохондрий в исследованных тканях [17]. На этом фоне изоформы цит b_{558} из клеточных формирований тканей, особенно селезенки у крыс-самок, также обладают метHb-восстанавливающей активностью (такой активностью обладает цит b_{558} III из эритроцитарных мембран млекопитающих *in vitro* [13].

Таким образом, в зависимости от пола крыс изменяется уровень NADPH-зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности изоформ цит b_{558} КХ из ядер, митохондрий и МК, а также активность ключевых антиоксидантных ферментов цитозоля клеток селезенки, сердца, почек, печени и мозга у крыс-самок и самцов. Полученные результаты являются новыми факторами полозависимого отличия метаболизма АФК, с возможным ассоциированием характерных изменений активности иммунной системы, редокс-экспрессии гена, кислородного гомеостаза и дыхательной цепи митохондрий, причем интенсивность этих процессов более выражена у самок, по сравнению с самцами.

Поступила 05.03.10

Հակաօքսիդանտային և պրօօքսիդանտային մետաղապրոտեինների մակարդակի և ակտիվության սեռակախյալ փոփոխությունները առնետների հյուսվածքների բջիջների բաղադրամասերում

Լ.Հ. Թադևոսյան, Լ.Ն. Առաքելյան, Մ.Ա. Միմոնյան,
Գ.Ա. Գևորգյան

Օգտագործելով մախկինում մշակված և արտոնագրված եղանակը՝ առաջին անգամ արու և էգ առնետների լյարդի, երիկամների, սրտի, ուղեղի և փայծաղի բջիջների կորիզներից, միտոքոնդրիումներից և բաղադրանքներից ստացվել են թթվային բնույթի ցիտոքրոմ (ցիտ) b558-ի

իզոմերների ֆրակցիաներ: Միաժամանակ նշված հյուսվածքներում անջատվել են ՍՕԴ-1, ՍՕԴ-2 և կատալազի ֆրակցիաներ: Արու և էգ առնետների նշված բաղադրամասերից ստացված ցիտ b558-ի իզոմերների ֆրակցիաները օպտիկական սպեկտրալ չափանիշներով գործնականորեն չեն տարբերվում միմյանցից: Սակայն ցիտ b558-ի տեսակարար քանակները, NADPH-կախյալ O_2^- գոյացման և մեթHb վերականգնման ակտիվությունը, ինչպես նաև ՍՕԴ-1, ՍՕԴ-2 և կատալազի ակտիվությունը արու և էգ առնետների մոտ փոխվում են ոչ միանման կերպով: Նշված կենսաքիմիական չափանիշները խթանված են էգ առնետների մոտ, հատկապես իմունային համակարգի օրգան հանդիսացող փայծաղի բջիջների կորիզներում, միտոքոնդրիումներում և թաղանթներում:

Ստացված արդյունքներից կարող ենք եզրակացնել, որ կան ակտիվ թթվածնի նյութափոխանակության կարգավորիչների սեռակախյալ տարբերություններ՝ իմունային համակարգի, գենի ռեդոքս-էքսպրեսիայի, թթվածնային հոմեոստազի և միտոքոնդրիալ շնչառական ակտի խթանման հետ հնարավոր համակցմամբ, հատկապես էգ առնետների փայծաղի բջիջներում:

The sex-dependent changes of the levels and activities of antioxidant and prooxidative metalloproteins in rat tissue cell components

L.G.Tadevosyan, L.N.Arakelyan, M.A.Simonyan, G.A.Kevorkian

Using the earlier elaborated licensed method for the first time fractions of the acidic character cytochrome (cyt b_{558}) from female and male rats liver, kidney, heart, brain and spleen cells nuclei, mitochondria and membranes were isolated. Simultaneously from cytosoles of these cells there were separated fractions of SOD-1, SOD-2 and catalase. The optical absorptions spectra of these cyt b_{558} s from these cell components of female and male rats in fact were similar. In female and male rats the specific content, NADPH-dependent O_2^- producing and metHb-reducing activities of these cyt b_{558} s, as well as the activities of the key antioxidative enzymes (SOD-1, SOD-2 and catalase) were changed not in similar amounts.

In comparison with the male rats, in female rats the above mentioned indices were increased in the spleen cell, as of the immune system organ.

The obtained results can be used as new sex-dependent changes of the regulators of reactive oxygen species metabolism, possibly associated with the increase of the gene redox-expression, activity of immune system, oxygen homeostasis and mitochondrial breathing activation.

Литература

1. Симомян Г.М., Симомян Р.М., Бабаян М.А., Карапетян А.А., Симомян М.А. ФАД и углеводные остатки в составе эритроцитарного мембранного цитохрома b_{558} III, его НАДФН-зависимая супероксид-продуцирующая активность и ЭПР спектральные характеристики. Мед.наука Армении НАН РА, 2003, т. XLIII, 1, с.30-34.
2. Симомян М.А., Симомян Г.М., Симомян Р.М. Способ получения металлопротеинов. Лицензия изобрет. Армпатента 341, Ереван, 1997.
3. Симомян М.А., Симомян Г.М., Симомян Р.М. Способ получения цитохромов b из мембран эритроцитов. Лицензия изобретения Армпатента 908, Ереван, 2001.
4. Bonacasa B., Sanchez M.L., Rodriguez F. et al. 2-Methoxyestradiol attenuates hypertension and coronary vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Maturitas*, 2008, V.61, 4, p.310-316.
5. Dantas A.P., Franco Mdo C., Silva-Antonialli M.M. et al. Gender differences in superoxide generation in microvessels of hypertensive rats: role of NADPH-oxidase. *Cardiovasc. Res.*, 2004, V.61, 1, p.5-6.
6. Emerich D.F., Zubrich E.M., Shypley M.T. et al. Female rats are more sensitive to the locomotor alteration following quinolinic acid-induced striatal lesions: effects of striatal transplantant. *Exp. Neurol.*, 1991, V. 111, 3, p.369-378.
7. Ji H., Sheng W., Menini S. et al. Female protection in progressive renal disease is associated with estradiol attenuation of superoxide production. *Gend. Med.*, 2007, V.4, 1, p.31-32.
8. Franco Mdo C., Akamine E.H., Di Marco G.S. et al. NADPH oxidase and enhanced superoxide generation in intrauterine undernourished rats: involvement of the rennin-angiotensin system. *Cardiovasc. Res.*, 2003, V.59, 3, p.767-775.
9. Lopes-Lopes J.G., Moral-Sanz J., Frazziano G. et al. Diabetes induces pulmonary artery endothelial dysfunction by NADPH-oxidase induction. *Am.J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2008, V.295, 5, p.725-726.
10. Miller A.A., Drummond G.R., Mast A.E. et al. Effect of gender on NADPH-oxidase activity, expression, and function in the cerebral circulation: role of estrogen. *Stroke*, 2007, V.38, 7, p.2142-2149.
11. Riaz S., Madala-H. V.K., Dantas A.P., Hu X., Ecelbarger C.A. Sex differences in renal nitric oxide synthase, NADPH-oxidase and blood pressure in obese Zucker rats. *Gend. Med.*, 2007, V.4, 3, p.214-229.
12. Sartori-Valinotti J.C., Liescu R., Fortepiani L.A., Yanes L.L., Reckelhoff J.F. Sex differences in oxidative stress and the impact on blood pressure control and cardiovascular disease. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2007, V.34, 9, p.938-945.
13. Simonyan G.M., Simonyan R.M., Simonyan M. A. The reduction of ferrihemoglobin by erythrocytes membranes cytochrome b_{558} III at various pathological states in vitro. *NAS RA Electronic J. Natural Sciences*, 2006, V.2, 7, p.3-6.
14. Ushio-Fukai M. Localizing NADPH oxidase-derived ROS. *Sci. STROKE*, 2006, 349, p. re8.
15. Vignais P.V. The superoxide-generating NADPH-oxidase: structural aspects and activation mechanisms. *Cell Mol. Sci.*, 2002, V.59, 9, p.1428-1459.
16. Wang G., Milner T.A., Speth R.C. et al. Sex differences in angiotensin signaling in bulbospinal neurons in the rat rostral ventrolateral medulla. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2008, V.295, 4, p.1147-1148.
17. Zhang Y., Yu Y., Zhang F., Zhang V.K., Shi Z., Gao X.Y., Wang W., Zhu G.O. NADPH-oxidase in paraventricular nucleus contributes to the effect of angiotensin II on cardiac sympathetic afferent reflex. *Brain Res.*, 2006, 1082(1), p.132-141.