

УДК 577.613

Мембраностабилизирующие эффекты *Stevia rebaudiana Bertoni* при фруктозо-индуцированном диабете второго типа у крыс

Р.М.Симонян¹, В.А.Чавушян², А.С.Исоян², Г.М.Симонян¹,
К.В. Симонян², Л.Г.Аветисян², Х.О.Нагапетян²,
М.А. Бабаханян³, М.А.Симонян¹

¹ Институт биохимии им.Г.Х. Бунятыана НАН РА

² Институт физиологии им.Л.А.Орбели НАН РА

³ Институт проблем гидропоники им. Г.С. Давтяна НАН РА
0028, Ереван, ул. Бр.Орбели, 22

Ключевые слова: фруктоза, *Stevia rebaudiana Bertoni*, NADPH оксидаза

В настоящее время имеются многочисленные публикации о повреждающем действии фруктозы на биосистемы различного характера. Фруктоза вызывает повреждение β -клеток поджелудочной железы крыс путем модуляции активности локализованной NADPH оксидазы (Nox) и за счет продуцированных супероксидных радикалов (O_2^-) приводит к оксидативному повреждению этих клеток, проявляемому в виде снижения степени секреции инсулина и повышения фона воспалительных явлений [6, 12]. В результате потребления 10% фруктозы с питьевой водой в течение трех недель у крыс отмечается увеличение уровня Nox и O_2^- с соответствующим повышением фона оксидативного стресса [10]. Ингибитор Nox (апоцинин) предотвращает индуцированные фруктозо-обогащенной диетой изменения метаболизма и антиоксидантной системы печени крыс [7], а липоиновая кислота за счет антиоксидантной активности проявляет антистрессорный эффект [8]. Сделано заключение о потенциальной пригодности Nox в качестве мишеней превенции / терапии диабета второго типа.

В целом, за счет высокоактивных антиоксидантов положительный антиоксидантный эффект проявляют соединения как растительного, так и животного происхождения. Так, при стрептозотоцин-индуцированном диабете крыс положительный антидиабетический и антистрессорный эффект оказывают гликозиды из растения *Stevia rebaudiana Bertoni* (SrB) [13, 21], а также ЭПОМ (эмбриональный противоопухолевый модулятор Мкртчяна с антиоксидантной активностью) [19]. С другой стороны, препараты с антиоксидантной активностью (галармин, витамин Е) оказывают

мембраностабилизирующее действие путем определенного подавления индуцируемого ферригемоглобином процесса отщепления изоформы Nox из мембран клеточных компонентов тканей млекопитающих [2, 4, 5].

Целью работы явилось выявление возможной роли активности NADPH-зависимой O_2^- -продуцирующей изоформы Nox в механизмах действия SrB при фруктозо-индуцированном диабете второго типа.

Материал и методы

В первой опытной группе (ОГ-1) у белых половозрелых крыс-самцов (по 8 животных массой 230-250г) вызывали сахарный диабет второго типа путем применения с питьевой водой 20% диетической фруктозы в течение девяти недель. В ОГ-2 наряду с фруктозой животные с пищей получали порошок из листьев растения SrB (с 6-й до 9-й недели от начала экспериментов ежедневно по 20 мг/кг). Интактные животные контрольной группы (К) содержались на стандартном корме.

Использовали листья SrB, выращенной методом гидропоники в Институте проблем гидропоники им. Г.С. Давтяна, с целью получения экологически чистого растительного сырья, обогащенного йодом и цинком [1].

В группах ОГ-1 и ОГ-2 под нембуталовым наркозом (40 мг/кг, в/б) портативным глюкометром (Bayer Health Care LLC – Contour; объем образца 0,6 мкл, время измерения 5 сек, шкала измерения 10-600 мг/дцл) индивидуально для каждого животного определяли уровень глюкозы в крови – исходный и спустя 3, 6, 9 недель от начала экспериментов. Данные, представленные в виде $M \pm SEM$, подвергались статистическому анализу с применением Graphpad prism software v.5 (<http://graphpad.com>). Значимость различий оценивалась по t-тесту Стьюдента. Значения $p < 0,05$ рассматривались как значимые.

Для биохимических экспериментов на 9-й неделе животные были декапитированы в глубоком наркотическом сне (нембутал 45 мг/кг, в/б) и кровь забиралась из дорсальной аорты (стабилизировали в 0,2% растворе оксалата натрия при легком перемешивании). У тех же животных изъяты печень, селезенка и легкие.

Выделение и очистка мембран клеточных компонентов тканей крыс

Клеточные компоненты из печени, селезенки и легких выделяли дифференциальным центрифугированием гомогенатов тканей (по 5 г печени, 2 г селезенки и 4 г легких) в 0,25 М сахарозе по 10 мл/г тканей. Ядра клеток выделяли при центрифугировании гомогената 2000x g в течение 10 мин. Из супернатантов митохондрии осаждали центрифугированием при 12 000x g 15 мин. Из полученного супернатанта мембраны клеток осаждали центрифугированием при 5000x g, при pH 5,6, в течение

10 мин. После осаждения клеточных мембран супернатант отделяли для выделения Nox из плазмменных мембран цитоплазмы. Осажденные фракции ядер, митохондрий и мембран клеток гомогенизировали водой (1:50 об/об) для получения мембран этих формирований и удаления водорастворимых антиоксидантов и солей. Осажденные мембраны клеточных формирований дополнительно промывали водой (1:100 об/об) аналогичным образом.

Выделение и очистка эритроцитарных мембран и сыворотки крови

Из крови крыс (по 4-5 мл) эритроциты подвергали самоосаждению при 4°C в течение 2 часов. После отделения клеточных компонентов плазмы (раствор 1) осадок эритроцитов промывали физраствором (1:400 об/об) и окончательно осаждали центрифугированием при 5000 x g в течение 10 мин. Очищенные эритроциты подвергали гемолизу в воде (1:20 об/об) с перемешиванием гемолизата в течение 10 мин. Эритроцитарные мембраны (ЭМ) осаждали, при pH 5,6, при центрифугировании в течение 10 мин при 5000x g. Далее ЭМ три раза промывали водой (1:500) для удаления следов солей и других водорастворимых белков. После центрифугирования раствора 1 сыворотку крови отделяли для выделения экстрацеллюлярной Nox (eNox) из локализованных в сыворотке наночастиц – экзосом [16].

Выделение фракции изоформ Nox из очищенных мембран клеточных компонентов, из плазматических мембран цитоплазмы, из эритроцитарных мембран и экзосом сыворотки

Первичные фракции изоформ Nox из мембран приведенных биосистем выделяли лицензированным способом, используя явление комплексообразования между очищенным ферригемоглобином (5-10 μ M) и изоформами Nox мембран этих клеточных компонентов, при pH 7,4-8, после инкубации растворов при 37°C в течение 2 ч. После 25-30-кратного разбавления этих фракций и центрифугирования при 10 000x g в течение 20 мин, супернатанты клеточных компонентов подвергали ионообменной хроматографии на целлюлозе ДЕ-52 (“Whatman”, Англия). Фракцию экстрацеллюлярной Nox (eNox) из экзосом сыворотки крови после разбавления таким образом подвергали ионообменной хроматографии на сефадексе ДЕАЕ А-50 (“Pharmacia», Швеция). Фракции обогащенных изоформ Nox из колонок с ДЕ-52 элюировали 0,01 М калий-фосфатным буфером, pH 7,4 (КФБ). eNox из колонки с ДЕАЕ А-50 элюировали 0,03 М КФБ и после разбавления водой (в 25 раз) концентрировали на колонке с ДЕ-52, из которой eNox элюировали 0,03 М КФБ [3].

Определение NADPH-зависимой O_2^- -продуцирующей активности изоформ Nox

NADPH-зависимую O_2^- -продуцирующую активность изоформ Nox определяли методом нитротетразолиевого синего (НТС). За единицу O_2^- -продуцирующей активности изоформ Nox принимали количество этого

фермента, который на 50% стимулирует образование формазана при восстановлении НТС супероксидными радикалами [4]. Удельную NADPH-зависимую O_2^- -продуцирующую активность изоформ Nox определяли в расчете на 1 мл эритроцитов, 1 мл сыворотки или 1 г тканей.

Определение удельного содержания изоформ Nox

Расчетное удельное содержание изоформ Nox определяли по плотности характерного максимального оптического поглощения (в оптических единицах – ое) при 530 нм (полоса β -поглощения) для 1 мл Nox, выделенного из 1 мл эритроцитов, 1 мл сыворотки или 1 г тканей. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера, с определением критерия достоверности «р».

Результаты и обсуждение

Включение листьев SrB в диету было ассоциировано с антигипергликемическим, инсулинотропным, глюкагоностатическим, гипотензивным, антибактериальным, противовоспалительным, иммуностимулирующим и хемопревентивным ответами [17]. Интересно отметить, что влияние SrB на уровень глюкозы крови и артериальное давление наблюдается тогда, когда эти параметры выше нормы [9].

В ОГ-1 нами получены данные о недостоверном повышении уровня глюкозы к 3-й неделе ($5,33 \pm 0,2$ ммоль/л, $p=0,38$) и достоверном повышении к 6-й ($5,97 \pm 0,3$ ммоль/л, $p=0,03$) и 9-й неделе ($7,53 \pm 0,2$ ммоль/л, $p=0,001$) от начала приема фруктозы по сравнению с исходным уровнем средних значений глюкозы ($5,07 \pm 0,2$ ммоль/л) в данной группе (рис., ОГ-1). В ОГ-2 получены данные о достоверном повышении уровня глюкозы к 6-й неделе ($6,45 \pm 0,3$ ммоль/л, $p=0,004$), на фоне которого применение SrB наряду с фруктозой в течение последующих 6-9 экспериментальных недель, обеспечивает уровень глюкозы, недостоверно отличный ($5,42 \pm 0,09$ ммоль/л, $p=0,13$) от предварительного среднего уровня ($5,13 \pm 0,15$ ммоль/л) данной группы (рис., ОГ-2). Результаты указывают на развитие гипергликемии и предотвращение таковой под воздействием SrB. Это свидетельствует о нарушении функционирования β -клеток поджелудочной железы, с соответствующим снижением уровня секретируемого инсулина в ОГ-1. В ОГ-2 SrB оказывает положительную роль в функционировании β -клеток поджелудочной железы животных [11].

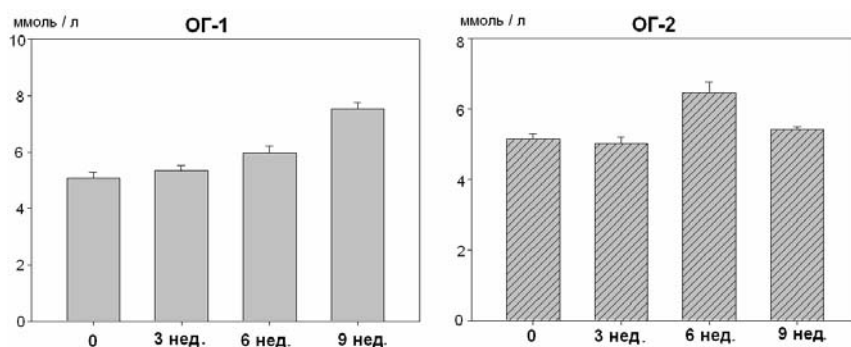


Рисунок. Уровень глюкозы в плазме крови спустя 3, 6, 9 недель после потребления фруктозы для групп фруктоза (ОГ-1) и фруктоза+*Stevia rebaudiana* (ОГ-2)

Таблица 1

Удельное содержание изоформ Nox (A_{530} в оптических единицах) из клеточных компонентов печени, легких, селезенки, а также из эритроцитарных мембран и экзосом сыворотки в группах контроль (К), фруктозо-индуцированный диабет второго типа (ОГ-1) и фруктозо-индуцированный диабет второго типа в сочетании с *Stevia rebaudiana* (ОГ-2)

Клеточные компоненты					
Источники		ядро	митохондрия	мембрана	цитозоль
Печень	К	$0,24 \pm 0,02$ $p=0,005$	$0,21 \pm 0,006$ $p=0,01$	$0,23 \pm 0,02$ $p=0,003$	$0,15 \pm 0,02$ $p=0,01$
	ОГ-1	$0,37 \pm 0,02$ $p=0,005$	$0,44 \pm 0,03$ $p=0,002$	$0,56 \pm 0,04$ $p=0,01$	$0,25 \pm 0,02$ $p=0,003$
	ОГ-2	$0,26 \pm 0,03$ $p=0,01$	$0,28 \pm 0,01$ $p=0,005$	$0,31 \pm 0,002$ $p=0,003$	$0,14 \pm 0,01$ $p=0,001$
Легкие	К	$1,7 \pm 0,03$ $p=0,02$	$1,2 \pm 0,1$ $p=0,01$	$2,2 \pm 0,2$ $p=0,005$	$0,2 \pm 0,01$ $p=0,01$
	ОГ-1	$2,5 \pm 0,02$ $p=0,001$	$2,8 \pm 0,3$ $p=0,03$	$5,0 \pm 0,2$ $p=0,02$	$0,4 \pm 0,03$ $p=0,01$
	ОГ-2	$2,0 \pm 0,1$ $p=0,002$	$1,6 \pm 0,2$ $p=0,002$	$3,1 \pm 0,4$ $p=0,003$	$0,3 \pm 0,01$ $p=0,002$
Селезенка	К	$2,1 \pm 0,4$ $p=0,01$	$3,2 \pm 0,5$ $p=0,003$	$1,8 \pm 0,3$ $p=0,002$	$0,7 \pm 0,1$ $p=0,01$
	ОГ-1	$3,0 \pm 0,5$ $p=0,03$	$4,1 \pm 0,4$ $p=0,02$	$3,4 \pm 0,2$ $p=0,005$	$1,3 \pm 0,2$ $p=0,001$
	ОГ-2	$2,4 \pm 0,2$ $p=0,005$	$3,6 \pm 0,4$ $p=0,004$	$2,2 \pm 0,4$ $p=0,001$	$0,9 \pm 0,1$ $p=0,003$

Источники	К	ОГ-1	ОГ-2
Эритроцитарные мембраны	$1,2 \pm 0,2$ $p=0,001$	$2,2 \pm 0,4$ $p=0,01$	$1,6 \pm 0,2$ $p=0,003$
Экзосомы сыворотки	$0,16 \pm 0,02$ $p=0,02$	$0,38 \pm 0,04$ $p=0,03$	$0,26 \pm 0,02$ $p=0,001$

С другой стороны, известно, что O_2^- , продуцируемый в β -клетках NADPH оксидазой, в физиологических количествах является важным

компонентом в метаболическом процессе секреции инсулина [11]. Однако вопрос о том как влияют фруктоза и SrB на уровень и активность изоформ Nox в клеточных компонентах других тканей животных остается не исследованным. Как показано в табл. 1, в ОГ-1 по сравнению с показателями группы К наблюдается неадекватное увеличение удельного содержания изоформ Nox из клеточных компонентов (мембраны ядер, митохондрий, мембраны клеток и цитоплазматических мембран цитозоля) тканей легких, печени, селезенки, а также ЭМ и экзосом сыворотки. С другой стороны, NADPH-зависимая O_2^- -продуцирующая активность изоформ Nox клеточных компонентов исследованных тканей в ОГ-1 существенно повышается и приближается к показателям ОГ-2.

Таблица 2

Удельная NADPH-зависимая O_2^- -продуцирующая активность изоформ NADPH оксидазы из клеточных компонентов печени, легких, селезенки, а также из эритроцитарных мембран и экзосом сыворотки в группах контроль (К), фруктозо-индуцированный диабет второго типа (ОГ-1) и фруктозо-индуцированный диабет второго типа в сочетании с *Stevia rebaudiana* (ОГ-2)

Клеточные компоненты					
Источники		ядро	митохондрия	мембрана	цитозоль
Печень	К	11,2 ± 1,4 p=0,01	19,4 ± 2,4 p=0,001	10,2 ± 0,8 p=0,001	11,4 ± 0,9 p=0,003
	ОГ-1	21,2 ± 2,6 p=0,002	27,1 ± 3,1 p=0,003	16,1 ± 2,2 p=0,01	20,0 ± 2,4 p=0,005
	ОГ-2	18,0 ± 1,3 p=0,001	22,6 ± 2,0 p=0,003	11,8 ± 1,0 p=0,005	14,7 ± 1,5 p=0,001
Легкие	К	13,5 ± 1,1 p=0,001	21,8 ± 1,8 p=0,002	10,2 ± 0,4 p=0,01	17,1 ± 2,2 p=0,005
	ОГ-1	19,1 ± 2,0 p=0,001	28,1 ± 3,2 p=0,005	27,7 ± 3,3 p=0,01	22,3 ± 1,7 p=0,001
	ОГ-2	14,3 ± 1,4 p=0,01	24,7 ± 3,1 p=0,01	22,5 ± 3,2 p=0,004	19,7 ± 2,0 p=0,002
Селезенка	К	13,4 ± 1,2 p=0,01	17,8 ± 2,0 p=0,01	12,5 ± 1,1 p=0,004	18,6 ± 2,5, p=0,001
	ОГ-1	31,3 ± 3,6 p=0,01	29,5 ± 3,0 p=0,003	23,4 ± 2,4 p=0,02	38,5 ± 3,4 p=0,005
	ОГ-2	19,4 ± 1,8 p=0,001	22,5 ± 3,1 p=0,003	21,0 ± 2,0 p=0,001	26,4 ± 2,0 p=0,002

Источники	К	ОГ-1	ОГ-2
Эритроцитарные мембраны	15,5 ± 1,4 p=0,001	27,3 ± 3,4 p=0,01	20,1 ± 2,0 p=0,005
Экзосомы сыворотки	25,1 ± 2,2 p=0,003	29,7 ± 4,1 p=0,003	27,4 ± 3,0 p=0,003

Каковы возможные механизмы приведенных изменений ?

Использованные листья SrB обладают существенной СОД-миметической активностью (20 ед/мг), определенной методом обесцвечивания кумассибриллиантового синего супероксидными радикалами, генерированными при расщеплении перекиси водорода [15] (напомним, что активность Cu, Zn-СОД составляет 3000 ед/мг). С другой стороны, препараты с антиоксидантной активностью подавляют релизинг Nox из мембран клеточных формирований [2,5]. Наряду с этим, в последнее время показано, что процесс релизинга изоформ Nox из мембран различных клеточных формирований млекопитающих стимулируется ферригемоглобином, за счет образования нестабильного комплексного соединения с Nox, локализованной в биомембранах, и на этом основании был разработан лицензированный способ получения изоформ Nox из клеточных формирований [3]. Именно процесс такого отщепления изоформ Nox подавляется под влиянием биоактивных соединений, обладающих антиоксидантной активностью. Это свидетельствует о роли перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот мембран клеточных формирований при отщеплении из них изоформ Nox. Путем подавления этого процесса антиоксидантами соответственно снижается и интенсивность отщепления Nox, которая является важным структурно-функциональным компонентом биомембран. За счет продуцируемых супероксидов Nox регулируют окислительно-восстановительные метаболические процессы, происходящие при фагоцитозе, экспрессии генов, митохондриальном дыхании и кислородном гомеостазе [14,20]. В этом и заключается большая заинтересованность к исследованиям Nox. Фактически, подавление релизинга изоформ Nox из клеточных формирований тканей крыс в ОГ-2 в основном ассоциируется с антиоксидантной активностью SrB, хотя не исключается воздействие второго, пока неизвестного фактора. Примечательно, что в приведенных условиях SrB не изменяет оптические спектральные характеристики и ферментативную активность изоформ Nox. Таким образом, путем подавления релизинга Nox из приведенных биомембран SrB оказывает мембраностабилизирующий эффект. При этом SrB защищает мембраны клеточных компонентов от повреждающего действия супероксидов, соответственно, и гидроксильных радикалов, которые являются активными стимуляторами липидной пероксидации клеточных мембран. Возможно, SrB, защищая этим путем и β -клетки поджелудочной железы, обеспечивает нормальную секрецию инсулина.

Можно заключить, что SrB обладает высокой СОД-миметической активностью, за счет чего подавляет релизинг изоформ Nox из мембран клеток, ядер, митохондрий, плазмменных мембран цитозоля тканей крыс, а также из ЭМ и экзосом сыворотки, тем самым проявляя мембраностабилизирующий эффект, возможно, путем селективного ингибирования Nox. С тех пор как игнорирование физиологического значения реактивного кислорода привело к неудовлетворительным клиническим резуль-

татам, классические методы антиоксидантной терапии считаются неадекватными, более оправданным и приемлемым подходом могут быть селективные ингибиторы Nox [18].

Работа осуществлена при финансовой поддержке
гранта Государственного комитета по науке
Республики Армения 13 - 1F 279,
а также в рамках проекта 13-1F072 ГКН РА

Поступила 08.12.14

***Stevia rebaudiana Bertonii*-ի թաղանթկայունացնող ազդեցությունը
ֆրոկտոզայով հարուցված երկրորդ տիպի շաքարախտով
առնետների մոտ**

**Ռ.Մ. Միմոնյան, Վ.Ա. Չավուշյան, Ա.Ս. Իսոյան, Գ.Մ. Միմոնյան,
Կ.Վ. Միմոնյան, Լ.Գ. Ավետիսյան, Խ.Հ. Նահապետյան,
Մ.Ա. Բաբախանյան, Մ.Ա. Միմոնյան**

Օքսիդատիվ սթրեսը համարվում է նյութափոխանակության խանգարումների (շաքարախտ և ինսուլինային ռեզիստենտականություն) գլխավոր օղակը, և հակաօքսիդանտային կարգավիճակի կարգավորումը կարող է զգալիորեն փոխել ախտաբանության զարգացումը: *Stevia rebaudiana Bertonii* (SrB) բույսի տերևները նվազեցնում են ֆրոկտոզայով հարուցված երկրորդ տիպի շաքարախտով առնետների արյան գլյուկոզայի մակարդակը:

Տվյալ աշխատանքի նպատակն է հանդիսացել ֆրոկտոզայով հարուցված երկրորդ տիպի շաքարախտի ժամանակ որոշել SrB դեղաբույսի հակաօքսիդանտային ակտիվությունը և NADPH օքսիդազի (Nox) NADPH-կախյալ O_2^- -արտադրող իզոմերների ակտիվության հնարավոր դերը SrB ազդեցության մեխանիզմներում: Շնորհիվ բարձր ՍՕԴ-միմետիկ ակտիվության (20 միավոր/մգ)՝ SrB արգելակում է ֆերիհեմոգլոբինով խթանված Nox իզոմերի անջատումը բջջաթաղանթներից, կորիզից, միտոքոնդրիումից, պլազմատիկ թաղանթից և ցիտոզոլից, ինչպես նաև էրիթրոցիտների թաղանթից և շիճուկի էկզոսոմներից՝ դրսևորելով թաղանթկայունացնող ազդեցություն՝ կապված սուպերօքսիդների և հիդրօքսիլ ռադիկալների՝ լիպիդային պերօքսիդացման և հյուսվածքների օքսիդատիվ սթրեսի ակտիվ խթանիչների՝ վնասակար ազդեցություններից պաշտպանելու հետ:

The membrane stabilizing effects of *Stevia rebaudiana* Bertoni in fructose-induced type II diabetic rats

R.M.Simonyan, V.A.Chavushyan, A.S.Isoyan, G.M.Simonyan,
K.V.Simonyan, L.G.Avetisyan, Kh. H.Nahapetyan, M.A.Babakhanyan,
M.A. Simonyan

Oxidative stress is the main link of the mechanisms of metabolic dysfunctions, such as diabetes and insulin resistance, and the change in the antioxidant status can significantly alter the development of pathology. *Stevia rebaudiana* Bertoni (SrB) leaves reduce the blood glucose level in fructose-induced type II diabetic rats.

The aim of this study was to determine the antioxidant activity of SrB and the possible role of NADPH-dependent O²-production of isoforms (Nox) of NADPH oxidase in mechanisms of action of SrB in fructose-induced type II diabetes. *Stevia* inhibits ferrihemoglobin-inducible releasing of Nox isoform from cell membranes, nuclei, mitochondria, cytosol and plasma membrane as well as from erythrocyte membranes and serum exosomes due to its high SOD-mimetic activity (20 units/mg), thereby showing membrane-stabilizing effect associated with protection against the damaging effects of superoxide and hydroxyl radicals – active stimulators of tissue lipid peroxidation and oxidative stress.

Լիտերատուրա

1. Բարսիսյան Մ.Ա., Հովհաննիսյան Լ., Գուլյան Ա., Նահապետյան Խ., Դարաշահյան Պ., Բեգլարյան Գ. Նոր տեխնիկական մշակաբույս մերախոտի (*Stevia Rebaudiana Bertoni*) ինտրոդուկցիան ՀՀ-ում և ԼՂՀ-ում՝ շահավետ հեռանկարային առաջարկ պետական և մասնավոր ներդրումների համար: Ագրագիտություն, 2012, 5-6 մայիս-հունիս, էջ 296-302:
2. Симосян Р.М., Галоян К.А., Симосян Г.М., Хачатрян А.Р., Бабаян М.А., Оксюзян Г.Р., Симосян М.А. Ферригемоглобин индуцирует релизинг NADPH оксидазы из клеток мозговой ткани ex vivo: подавление этого процесса галармином. Нейрохимия, 2013, т. 30, 3, с.1-5.
3. Симосян Р.М., Симосян Г.М., Симосян М.А. Способ выделения изоформ NADPH оксидазы (Nox) из биосистем. Лицензия изобретения агентства индивидуальности РА N2818 А, Ереван, 2014 .
4. Փեսչյան Ս.Մ., Симосян Р.М., Енгибарян А.А., Симосян М.А. Роль гемоглобина в процессе появления экстрацеллюлярной NADPH оксидазы в сыворотке донорской крови и асцитной жидкости яичника женщин. Вопр.теорет.клин.мед., 2012,т. 15,4, с. 12-16.
5. Փեսչյան Ս.Մ., Симосян Р.М., Сарգсян А.С.и др. α-Токоферол подавляет релизинг изоформ NADPH оксидазы из мембран клеточных компонентов тканей крыс. Вопр.теорет.клин.мед., 2013, т. 16,1, с. 36-39.
6. Carolina L. Román, Luis E. Flores, Bárbara Maiztegui et al. Islet NADPH oxidase activity modulates β-cell mass and endocrine function in rats with fructose-induced

- oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, December 2014, vol. 1840(12), p. 3475–3482.
7. *Castro M.C., Francini F., Schinella G., Caldiz C.I. et al.* Apocynin administration prevents the changes induced by a fructose-rich diet on rat liver metabolism and the antioxidant system. *Clin. Sci. (Lond.)*, 2012, vol. 123, 12, p. 681-92.
 8. *Castro M.C.¹, Massa M.L., Schinella G., Gagliardino J.J., Francini F.* Lipoic acid prevents liver metabolic changes induced by administration of a fructose-rich diet. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, vol. 1840, 3, p. 1145-51.
 9. *Chatsudhipong V., Muanprasat C.* Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & Therapeutics*, 2009, vol. 121, p. 41-54.
 10. *Fariña J.P., García M.E., Alzamendi A. et al.* Antioxidant treatment prevents the development of fructose-induced abdominal adipose tissue dysfunction. *Clin. Sci. (Lond.)*, 2013, vol. 125, 2, p. 87-97.
 11. *Koulajian K., Desai T., Liu G.C. et al.* NADPH oxidase inhibition prevents beta cell dysfunction induced by prolonged elevation of oleate in rodents. *Diabetologia*, 2013, vol. 56, 5, p. 1078-1087.
 12. *Rayssiguier Y., Gueux E., Nowacki W. et al.* High fructose consumption combined with low dietary magnesium intake may increase the incidence of the metabolic syndrome by inducing inflammation. *Magnes. Res.*, 2006, vol. 19, 4, p. 237-43.
 13. *Shivanna N., Naika M., Khanum F., Kaul V.K.* Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of *Stevia rebaudiana*. *J. Diabetes Complications*, 2013, vol. 27, 2, p. 103-113.
 14. *Simonyan G.M., Simonyan R.M., Simonyan M.A.* The reduction of hemoglobin by erythrocyte membranes cytochrome b558 at various pathological states in vitro. *Electronic J. of Natural Sci. NAS RA*, 2006, vol. 2, 7, p. 3-6.
 15. *Simonyan M.A.* Reduction of some organic and inorganic oxidants in alkaline media by superoxide dismutase and scavengers of hydroxyl radicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1982, vol. 108, 4, p. 1751-1756.
 16. *Simonyan R.M., Chailyan G.S., Shrinian S.V., Simonyan G.M., Alexanyan S.S., Simonyan M.A.* Inadequate changes of the level and activity of extracellular NADPH oxidase, isolated from fluid's nanoparticles of ascetic human lung carcinoma depending on the duration of the disease. *Intern. symp. NANO*, 2014, Moscow, July 13-18, p. 144.
 17. *Thomas J. E., Glade M.J.* Stevia: It's not Just about Calories. *The Open Obesity Journal*, 2010, vol. 2, p. 101-109.
 18. *Tullia Maraldi* Natural Compounds as Modulators of NADPH Oxidases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, vol. 2013.
 19. *Vahedian V., Aghajanova Y.M., Kevorkian G.A., Simonian M.A.* Antioxidative effects of proteoglycans of embryonic genesis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Research and Reports in Biochemistry*, 2013, vol. 3, p. 31-36.
 20. *Vignais P.V.* The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2002, vol. 59, 9, p. 1428-1459.
 21. *Wölwer-Rieck U.* The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review. *J Agric Food Chem.*, 2012, Feb 1; vol. 60, 4, p. 886-95.