

Wpływ rodzaju nośnika smaku słodkiego na aktywność syntazy tlenku azotu i potencjał antyoksydacyjny w ścianie aorty w stanie poposiłkowym u szczurów

Effect of sweet taste carrier on postprandial activity of endothelial nitric oxide synthase and antioxidant status in rat aortic wall

SYLWIA BIEGAŃSKA-HENSOLDT, EWELINA PAŁKOWSKA-GOŹDZIK, DANUTA ROSOŁOWSKA-HUSZCZ

Zakład Fizjologii Żywienia, Katedra Dietetyki, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Wprowadzenie. Poposiłkowy wzrost stężenia glukozy przez indukowanie uszkodzeń oksydacyjnych w komórkach ścian naczyń krwionośnych przyczynia się do rozwoju zmian aterosogenych. Zastępowanie cukru przez sztuczne substancje słodzące jest powszechnie stosowane zarówno w żywieniu indywidualnym, jak i w przemyśle spożywczym. Odpowiedź ścian naczyń na spożycie pokarmu przy zastosowaniu sztucznych substancji słodzących nie została jeszcze zbadana.

Cel. Zbadanie poposiłkowych zmian w statusie antyoksydacyjnym (całkowity status antyoksydacyjny – TAS i aktywność peroksydazy glutationowej – GPx) i zawartości syntazy tlenku azotu (eNOS) w ścianie aorty brzusznej w zależności od źródła węglowodanów i nośnika smaku słodkiego w diecie.

Materiały i metody. Badanie przeprowadzono na dwóch grupach samców szczurów rasy Sprague-Dawley (n=70). W grupie Ma źródłem węglowodanów i nośnikiem smaku słodkiego była maltodekstryna, natomiast w grupie Sc skrobia stanowiła źródło węglowodanów, a nośnikiem smaku słodkiego była sukraloza. Po 3 tygodniach doświadczenia szczury skrwawiono po 12 godzinny okresie głodzenia oraz w 30, 60, 120 i 180 min. po podaniu pokarmu.

Wyniki. Zwierzęta z grupy Sc charakteryzowały się wyższym spożyciem oraz większym przyrostem masy ciała niż z grupy Ma. Po spożyciu posiłku poziom TAS i stężenie eNOS w grupie Sc uległy obniżeniu, natomiast aktywność GPx istotnie wzrosła w porównaniu do grupy Ma.

Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują, że zastąpienie w diecie maltodekstryny przez skrobię i sztuczny nośnik smaku słodkiego może zwiększyć po spożyciu posiłku powstawanie wolnych rodników, o czym świadczy niższy TAS i podwyższona aktywność GPx, a także spowodować obniżenie aktywności eNOS.

Słowa kluczowe: śródbłonek naczyń krwionośnych, słodziki, śródbłonkowa syntaza tlenku azotu, peroksydaza glutationowa, okres poposiłkowy

Introduction. Postprandial increase in blood glucose causes oxidative damage in endothelial cells leading to the development of atherogenic changes. Replacing sugar by artificial sweeteners is widely used in human nutrition and food industry. The effect of artificial sweet taste carriers on the vascular endothelium is still unclear.

Aim. To examine the postprandial changes in the antioxidant status (total antioxidant status – TAS and glutathione peroxidase activity – GPx) and the level of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in the abdominal aorta walls depending on the kind of carbohydrates and a carrier of sweet taste in the diet.

Material & Method. Male Sprague-Dawley rats (n=70) were randomly divided into 2 groups. Each group was provided with isoenergetic diets with the same sweet taste intensity: Ma – maltodextrin, Sc – sucralose. After 3 weeks, rats were sacrificed as follows: after a 12-hour fast and 30, 60, 120, 180 min. after an appropriate meal.

Results. The Sc group consumed more feed and had a significantly higher body weight as compared to the Ma group. The postprandial TAS levels and the eNOS concentration in the group Sc decreased, whereas the GPx activity increased significantly as compared to the Ma group.

Conclusion. The results indicate that replacement of maltodextrin with artificial sweetener can increase postprandial formation of free radicals, as evidenced by lower TAS and increased GPx activity, and also cause a decrease in activity of nitric oxide synthase.

Key words: endothelium, sweeteners, endothelial nitric oxide synthase, glutathione peroxidase, postprandial period

© Hygeia Public Health 2016, 51(2): 221-225

www.h-ph.pl

Nadesłano: 08.09.2015

Zakwalifikowano do druku: 30.05.2016

Adres do korespondencji / Address for correspondence

mgr inż. Sylwia Biegańska-Hensoldt

Zakład Fizjologii Żywienia, Katedra Dietetyki, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, SGGW w Warszawie
ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

tel. 793 469 124, e-mail: sylwia_bieganska_hensoldt@sggw.pl

Wprowadzenie

Choroby układu krążenia są w Polsce główną przyczyną zgonów, a umieralność z ich powodu stanowiła w 2011 r. ponad 45% całkowitej liczby zgonów [1]. Zaburzenia funkcji śródbłonka naczyń krwionośnych w znacznej mierze przyczyniają się do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Jednym z aterogennych czynników dla komórek śródbłonka jest poposiłkowy wzrost stężenia glukozy w naczyniach krwionośnych. Powoduje on wzmożoną produkcję reaktywnych form tlenu (RFT), prowadzi do rozwoju reakcji zapalnej i zmniejszenia syntezy tlenu azotu, a tym samym także do zwiększenia ciśnienia krwi w naczyniach [2-4]. Aktywność antyoksydacyjna i aktywność syntazy tlenu azotu przeciwstawiają się tym patogennym skutkom poposiłkowego zwiększenia stężenia glukozy w naczyniach krwionośnych. Największy wzrost stężenia glukozy następuje po spożyciu cukrów prostych. W celu ograniczenia spożycia cukrów prostych, głównie dla zapobiegania nadmiernemu przyrostowi masy ciała, rozpowszechniło się zastępowanie naturalnych substancji słodzących sztucznymi [5].

Maltodekstryny są polisacharydami wytwarzanymi na drodze enzymatycznej lub chemicznej ze skrobi różnego pochodzenia. Cechuje je szybsze niż skrobi trawienie i wchłanianie w przewodzie pokarmowym [6]. Indeks glikemiczny (*glycemic index* – GI) maltodekstryny wynosi 110 [7].

Sukraloza (4,1',6'-trichloro-galakto-sukroza) jest otrzymywana poprzez intensywne chlorowanie sacharozy. Dopuszczona jest do powszechnego stosowania w przemyśle spożywczym UE pod nazwą E955. Słodycz sukralozy zależy od pH, temperatury oraz stężenia i rodzaju produktu, w którym jest stosowana, dlatego też może być słodsza od sacharozy ok. 300-800 razy [8]. Sukraloza jest związkiem stosunkowo słabo wchłanianym z przewodu pokarmowego [9].

W dostępnej literaturze nie znaleziono danych na temat odpowiedzi śródbłonka naczyń krwionośnych na spożycie posiłku w przypadku stosowania sztucznych substancji słodzących. Ze względu na rozpowszechnienie stosowania sztucznych substancji słodzących wydaje się celowe porównanie aktywności antyoksydacyjnej i zdolności do produkcji tlenu azotu po spożyciu posiłku zawierającego sztuczną i naturalną substancję słodzącą.

Cel

Porównanie potencjału antyoksydacyjnego i poziomu syntazy tlenu azotu (eNOS) w ścianie aorty brzusznej na czczo i po spożyciu pokarmu u szczurów na diecie z naturalną substancją słodzącą (maltodekstryna) i sztuczną (sukraloza).

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na 70 ośmiotygodniowych samcach szczurów rasy Sprague-Dawley o początkowej masie ciała $314,41 \pm 8,62$ g. Zwierzęta pochodziły ze zwierzętarni Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Kossakowskiego PAN. Na przeprowadzenie eksperymentu biologicznego uzyskano zgodę III Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Warszawie.

Szczury przebywały w klatkach pojedynczo w standardowych warunkach otoczenia (LD 12/12). Po tygodniowym okresie adaptacji zwierzęta poddano trzytygodniowemu doświadczeniu, podczas którego otrzymywały wodę i diety izoenergetyczne ($1g=3,766$ kcal) *ad libitum*. Szczury podzielono na dwie grupy karmione dietami różniącymi się rodzajem węglowodanów i nośnikiem smaku słodkiego. W grupie Ma ($n=35$) maltodekstryna stanowiła źródło węglowodanów i nośnik smaku słodkiego, a grupie Sc ($n=35$) źródłem węglowodanów była skrobia, a nośnikiem smaku słodkiego – sukraloza. Skład diety przedstawiono w tabeli I. Diety tak skomponowano, aby charakteryzowały się jednakową intensywnością smaku słodkiego. Słodycz diet badawczych była równa maksymalnej zalecanej zawartości sacharozy w diecie szczura, tj. 10% całkowitej energii.

Po trzech tygodniach stosowania diet doświadczalnych zwierzęta skrwawiano po poddaniu ich narkozie wziewnej przy zastosowaniu Izofluranu (Baxter Polska Sp. z o.o.) w następujących punktach czasowych: po 12-godzinnym okresie głodzenia i w 30, 60, 120 i 180 minut po podaniu pokarmu ($n=7$ z każdej grupy/punkt czasowy). Z tusz zwierząt wypreparowywano tętnicę brzuszную, którą po opłukaniu w płynie fizjologicznym zamrażano w ciekłym azocie i przechowywano w temp. -80°C do czasu przeprowadzenia dalszych oznaczeń.

Tabela 1. Skład diet eksperymentalnych (g/100 g)

Table I. Diet composition (g/100 g)

Składnik /Ingredients	Dieta /Diet	
	Ma	Sc
Skrobia pszenna /Wheat starch	0	62,93
Maltodekstryna /Maltodextrine	62,94	0
Sukraloza /Sucralose	0	0,0167
Kazeina /Casein	20,0	20,0
Olej sojowy /Soybean oil	7,0	7,0
Skrobia ziemniaczana /Potato starch	5,0	5,0
Mieszanka mineralna /Mineral mix	3,5	3,5
Mieszanka witaminowa /Vitamin mix	1,0	1,0
Inne /Others	0,55	0,55

Przygotowanie preparatu cytoplazmatyczno-mikrosomalnego

Aortę brzuszną homogenizowano w 50 mM buforze Tris HCl z 2 mM dodatkiem kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA) o pH 7,4 (Sigma-Aldrich, Saint, Louis, USA). Uzyskany homogenat poddawano wirowaniu 40 000 x g przez 1 godzinę w temp. 4°C. Otrzymany supernatant (frakcja cytoplazmatyczno-mikrosomalna) przechowywano w temp. -80°C do czasu wykonania analiz biochemicznych [10].

Wykonano oznaczenia zawartości syntazy tlenu azotu, aktywności peroksydazy glutationowej i wartości całkowitego potencjału antyoksydacyjnego w homogenatach aorty. Stężenie eNOS oznaczono metodą immunoenzymatyczną przy pomocy testu TSZ ELISA (nr kat. R6662). Aktywność GPx oznaczono metodą spektrofotometryczną wykorzystując gotowy zestaw RANSEL firmy Randox (nr kat. RS 504) zgodnie z instrukcją producenta. Poziom TAS oznaczono metodą spektrofotometryczną przy użyciu zestawu Total Antioxidant Status firmy Randox (nr kat. NX 2332).

Analizy statystyczne

Do wykonania analiz statystycznych wykorzystano program Statistica wersja 10 (Statsoft, USA). Posłużono się analizą wariancji wieloczynnikowej z testem post hoc najmniejszych istotnych różnic (NIR) Fishera. Za czynniki zmienne przyjęto rodzaj spożywanej diety oraz czas pobrania materiału. We wszystkich przypadkach za poziom istotności przyjęto wartość $p=0,05$. Artykuł jest drugą publikacją z doświadczenia, którego wyniki zostały już częściowo opublikowane [13].

Wyniki

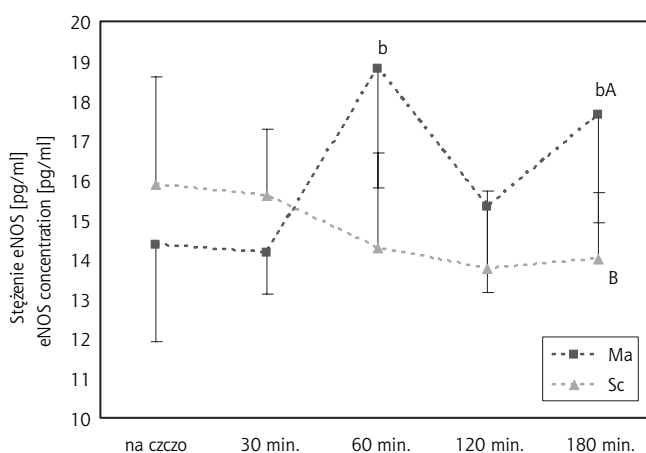
Początkowa masa ciała szczurów nie różniła się między grupami. Szczury z grupy Sc charakteryzowały się wyższym średnim przyrostem masy ciała w porównaniu do grupy Ma (odpowiednio: $94,16 \pm 6,11$ g vs. $77,39 \pm 6,58$ g; $p=0,0000$). Średnie spożycie diety z sukralozą ($30,28 \pm 0,9$ g/dzień) było istotnie wyższe ($p=0,0000$) od spożycia diety z maltodekstryną ($25,56 \pm 1,58$ g/dzień).

Zawartość eNOS w ścianie aorty szczurów na czczo nie różniła się w obydwu grupach. Po spożyciu pokarmu w grupie Ma wystąpił istotny wzrost stężenia eNOS po 60 min. ($p=0,0008$) i 180 min ($p=0,005$). W obydwu tych punktach stężenie eNOS w ścianie aorty szczurów było istotnie wyższe w grupie Ma niż w Sc ($p=0,002$). W grupie Sc nie obserwowano istotnych zmian zawartości eNOS po spożyciu posiłku (ryc. 1).

Poziom TAS w ścianie aorty szczurów na czczo nie różnił się istotnie w obu grupach. Po 60 min. od

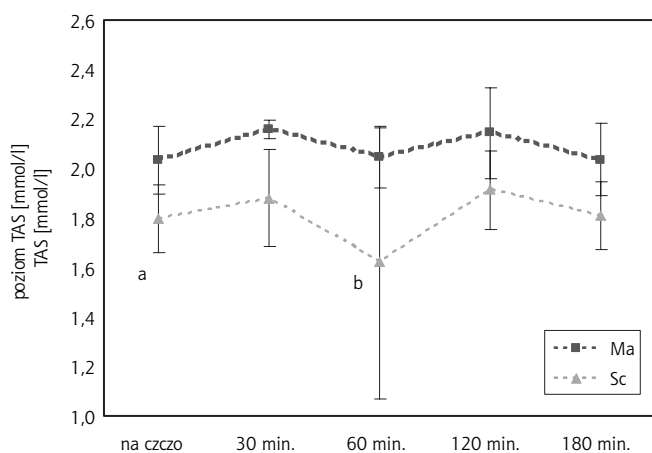
spożyciu pokarmu tylko w grupie Sc nastąpiło istotne obniżenie TAS ($p=0,002$), ale we wszystkich punktach pomiarowych poziom TAS nie różnił się istotnie między grupami (ryc. 2).

Aktywność GPx w ścianie aorty szczurów na czczo nie różniła się między grupami. W 60 min. od spożycia pokarmu tylko w grupie Sc wystąpił istotny wzrost aktywności GPx ($p=0,0000$), utrzymujący się na jednakowym poziomie do 180 min. po posiłku (w 120 min., $p=0,0091$; w 180min., $p=0,0007$) (ryc. 3).



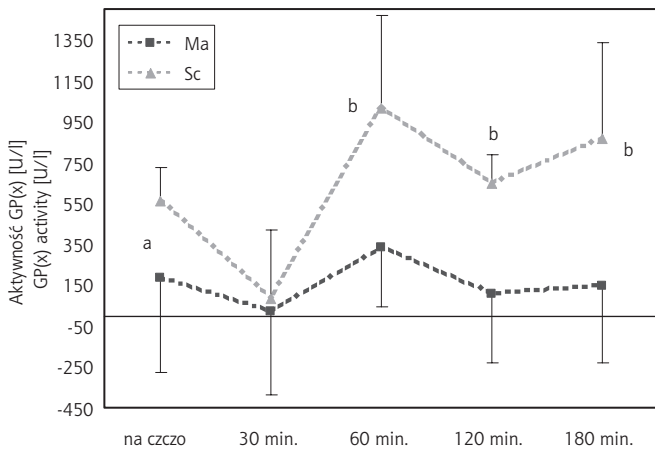
Ryc. 1. Stężenie eNOS na czczo i po spożyciu posiłku (M±SD); a, b – różnice istotne statystycznie w obrębie grupy w stosunku do wartości na czczo; A, B – między grupami

Fig. 1. Plasma eNOS concentrations [pg/ml] in rats; values expressed as mean with their standard errors. Different a, b letters indicate significant differences within fasting group and 30, 60, 120, 180 min. after meal ($p \leq 0.05$). Different A, B letters indicate significant differences between groups



Ryc. 2. Poziom TAS na czczo i po spożyciu posiłku (M±SD); a, b – różnice istotne statystycznie w obrębie grupy w stosunku do wartości na czczo

Fig. 2. Total antioxidant status [mmol/l] in rats; values expressed as mean with their standard errors. Different a, b letters indicate significant differences within fasting group and 30, 60, 120, 180 min. after meal ($p \leq 0.05$). Different A, B letters indicate significant differences between groups



Ryc. 3. Aktywność GPx na czczo i po spożyciu posiłku ($M \pm SD$); a, b – różnice istotne statystycznie w obrębie grupy w stosunku do wartości na czczo

Fig. 3. GPx activity [U/l] in rats; values expressed as mean with their standard errors. Different a, b letters indicate significant differences within fasting group and 30, 60, 120, 180 min. after meal ($p \leq 0.05$). Different A, B letters indicate significant differences between groups

Dyskusja

Zastosowane w pracy diety charakteryzowały się jednakowym poziomem słodkości, a więc także jednakową relacją między smakiem słodkim i wartością energetyczną pożywienia. Pomimo to spożycie, a także przyrost masy ciała, różniły się istotnie i były wyższe u szczurów otrzymujących sukralozę (Sc). Na tej podstawie można przypuszczać, że uczucie sytości następowo szybciej podczas spożywania diety zawierającej maltodekstrynę, a więc spożywanie diety z sukralozą może prowadzić do nadmiernego spożycia pokarmu. Trzeba wziąć pod uwagę możliwość występowania u szczurów z naszego doświadczenia preferencji do smaku sukralozy wykazanej u samic tej samej rasy Sprague Dawley w stosunku do roztworów sukralozy w szerokim zakresie stężeń (0,25-4 g/l) w porównaniu do wody [11, 12]. Ponadto oznaczana w tych samych warunkach insulina, stanowiąca ważny sygnał sytości, osiągnęła istotnie niższe stężenie w osoczu w grupie Sc niż Ma [13]. W innych badaniach wykazano, że sukraloza, inaczej niż sacharoza, nie aktywuje dopaminergicznych dróg śródmózgowia [14] związanych z regulacją pobierania pokarmu [15], co może powodować hiperfagię.

Trudno odnieść uzyskane wyniki do danych literaturowych, gdyż dotychczas nie badano wpływu spożycia sukralozy i maltodekstryny na parametry śródbłonna naczyń krwionośnych w ścianie aorty w stanie poposiłkowy. W naszym badaniu po spożyciu posiłku poziom eNOS w ścianie aorty szczurów był istotnie niższy u zwierząt na diecie z dodatkiem sukralozy w porównaniu do zwierząt otrzymujących maltodekstrynę. Obniżona aktywność eNOS wiąże się ze zmniejszoną produkcją NO, którego niedobór

jest ważną przyczyną rozwoju promiastdzycowego fenotypu śródbłonna naczyń krwionośnych. Badania na ludzkich komórkach śródbłonna żyły pępowinowej (*human umbilical vein endothelial cells* – HUVECs) inkubowanych przez 16 godzin w roztworach sukralozy o stężeniu 5, 20 i 50 mmol/l wykazały istotne obniżenie ekspresji eNOS. Stwierdzono ujemną korelację między stężeniem roztworu sukralozy a ekspresją syntazy tlenu azotu w komórkach HUVECs [16].

Mechanizm prowadzący do obniżenia aktywności syntazy tlenu azotu pod wpływem spożycia substancji słodzących jest nieznan. Melancon i wsp. [17], podając przez 4 tygodnie genetycznie hipertensyjnym szczurom wysoko sacharozową dietę stwierdzili istotne obniżenie poziomu eNOS w homogenatach mięśni brzuchatych łydki w odniesieniu do zwierząt zdrowych. Obniżone stężenie eNOS w homogenatach aorty szczurów Wistar, zaobserwowali również Miatello i wsp. [18], którzy podawali zwierzętom wodny 10% roztwór fruktozy przez 8 tygodni. W doświadczeniu Kopilas i wsp. [19] przeprowadzonym na młodych szczurach z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem, którym podawano przez okres 6 tygodni dietę ze skrobią i maltodekstryną (w stosunku 3,3:1) lub sacharozą stwierdzono istotnie obniżony poziom eNOS w tętnicach krezkowych zwierząt z grupy otrzymującej sacharozę. Autorzy tych badań wykazali ponadto, że suplementacja chromem (Cr^{3+}) przez cały okres trwania badania znacznie zwiększyła poziom eNOS u szczurów na diecie wysoko sacharozowej, czego nie zauważono u zwierząt z otrzymujących skrobię i maltodekstrynę [19].

W naszym badaniu dla oceny zdolności antyoksydacyjnej oznaczono całkowity status antyoksydacyjny oraz aktywność peroksydazy glutationowej w ścianie aorty. U zwierząt otrzymujących sukralozę i skrobię stwierdzono niższą wartość TAS pomimo wyższej aktywności GPx po spożyciu posiłku. Niższej wartości TAS nie można wytłumaczyć prooksydacyjnymi warunkami wynikającymi z wyższego stężenia glukozy, ponieważ poposiłkowy wzrost stężenia glukozy u szczurów otrzymujących sukralozę i skrobię był znacząco niższy w porównaniu do zwierząt karmionych maltodekstryną [13]. Może to wynikać z niższego indeksu glikemicznego skrobi niż maltodekstryny [7]. W badaniach z udziałem ludzi wykazano podwyższenie wartości TAS na czczo po 10-dniowym stosowaniu diety z niskim indeksem glikemicznym [20]. Wzrost aktywności GPx może świadczyć o wzroście zagrożenia oksydacyjnego [21], a więc aktywność tego enzymu po spożyciu posiłku także przemawia za silniej wyrażonym prooksydacyjnym środowiskiem w grupie Sc niż Ma.

Uzyskane wyniki wskazują, że dieta zawierająca sukralozę może powodować obniżenie potencjału an-

tyoksydacyjnego i aktywności syntazy tlenu azotu, co może zwiększać zagrożenie powstawaniem uszkodzeń oksydacyjnych ścian naczyń i nadciśnienia, a więc usposabiać do rozwoju chorób układu krążenia.

Wnioski

1. Dieta z dodatkiem sukralozy zwiększa spożycie pokarmu, a tym samym powoduje nadmierny przyrost masy ciała u szczurów.

2. Spożywanie sukralozy obniża całkowity status antyoksydacyjny w ścianie aorty brzusznej szczurów, co może świadczyć o zachwianiu mechanizmów śródbłonkowej obrony antyoksydacyjnej.
3. Odnotowany istotnie niższy poziom eNOS w ścianie aorty szczurów u zwierząt na diecie z dodatkiem sukralozy w porównaniu do zwierząt otrzymujących maltodekstrynę może świadczyć o różnicach w regulacji ciśnienia tętniczego i podatności na aterosclerogenezę.

Piśmiennictwo / References

1. Informacja o sytuacji społeczno-gospodarczej kraju. GUS, Warszawa 2012.
2. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005, 54: 1615-1625.
3. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 2010, 29: 1058-1070.
4. Hamilton SJ, Watts GF. Endothelial dysfunction in diabetes: pathogenesis, significance, and treatment. *Rev Diabet Stud* 2013, 10: 133-156.
5. Swithers SE, Martin AA, Davidson TL. High-intensity sweeteners and energy balance. *Physiol Behav* 2010, 100: 55-62.
6. Gibiński M, Korus J. Maltodekstryny jako skrobiowe zamienniki tłuszczu. *Biul IHAR* 2006, 239: 303-318.
7. Whelan WJ. The wars of the carbohydrates, Part 6: What a name! *IUBMB Life* 2008, 60: 555-556.
8. Grotz VL, Munro IC. An overview of the safety of sucralose. *Regul Toxicol Pharmacol* 2009, 55: 1-5.
9. Binns NM. Sucralose – all sweetness and light. *Br Nutr Found Nutr Bull* 2003, 28: 53-58.
10. Cahill PA, Redmond EM, Hodges R, et al. Increased endothelial nitric oxide synthase activity in the hyperemic vessels of portal hypertensive rats. *J Hepatol* 1996, 25: 370-378.
11. Loney GC, Torregrossa AM, Carballo C, Eckel LA. Preference for sucralose predicts behavioral responses to sweet and bittersweet tastants. *Chem Senses* 2012, 37(5): 445-453.
12. Sclafani A, Clare RA. Female rats show a bimodal preference response to the artificial sweetener sucralose. *Chem Senses* 2004, 29(6): 523-528.
13. Bigos A, Pałkowska E, Rosołowska-Huszcz D. Effect of artificial and natural sweeteners on glucose and insulin in plasma of rats. *J Pre-Clin Clin Res* 2012, 6: 93-97.
14. Frank GKW, Oberndorfer TA, Simmons AN, et al. Sucrose activates human taste pathways differently from artificial sweetener. *NeuroImage* 2008, 39: 1559-1569.
15. Abizaid A, Horvath TL. Brain circuits regulating energy homeostasis. *Regul Pept* 2008, 149: 3-10.
16. Rogers O, Hua Y, Nair S. Sucralose and its effect on levels of nitric oxide synthase in endothelial cells. *Undergrad Res Day* 2014, 59: 79-83.
17. Mélançon S, Bachelard H, Badeau M, et al. Effects of high-sucrose feeding on insulin resistance and hemodynamic responses to insulin in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006, 290(6): H2571-H2581.
18. Miatello R, Risler N, Castro C, et al. Aortic smooth muscle cell proliferation and endothelial nitric oxide synthase activity in fructose-fed rats. *Am J Hypertens* 2001, 14: 1135-1141.
19. Kopilas MA, Dang LN, Anderson HD. Effect of dietary chromium on resistance artery function and nitric oxide signaling in the sucrose-fed spontaneously hypertensive rat. *J Vasc Res* 2007, 44: 110-118.
20. Botero D, Ebbeling CB, Blumberg JB, et al. Acute effects of dietary glycemic index on antioxidant capacity in a nutrient-controlled feeding study. *Obesity* 2009, 17: 1664-1670.
21. Comhair SAA, Erzurum SC. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxid Redox Signal* 2005, 7: 72-79.