

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.153.478.6-008.61-08

ОЦЕНКА КОРРЕКТИРУЮЩЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АРГИНИНА И КАРНИТИНА НА АКТИВНОСТЬ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КАТЕПСИНОВ L, H СКЕЛЕТНОЙ И ГЛАДКОЙ МЫШЦ ПРИ ВЫРАЖЕННОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

А.С. Ильичева, М.А. Фомина, С.А. Исаков*

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Россия

ASSESSMENT OF CORRECTING ARGININE AND CARNITINE EFFECTS ON ACTIVITY AND DISTRIBUTION OF SKELETAL AND SMOOTH MUSCLE L, H CATHEPSINS IN MARKED HYPERHOMOCYSTEINEMIA

A.S. Ilyicheva, M.A. Fomina, S.A. Isakov*

Ryazan State Medical University named after I.P. Pavlov, Russian Federation

Цель. Изучение активности катепсинов L, H с оценкой изменения проницаемости лизосомальных мембран большеберцовой мышцы и стенки грудной аорты крыс в условиях экспериментальной гипергомоцистеинемии выраженной степени при введении L-аргинина и карнитина.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 96 гомогенизированных образцов мышечных тканей (48 образцов большеберцовой мышцы и 48 образцов стенки грудной аорты) белых конвекционных крыс-самцов линии Wistar. Моделирование тяжелой формы гипергомоцистеинемии осуществляли путем ежедневного внутривидового введения 2 раза в сутки суспензии метионина. Введение аргинина и карнитина в экспериментальных и контрольных группах осуществлялось с интервалом 6 часов от введения соответствующей суспензии.

Результаты. Установлено, что содержание гомоцистеина в сыворотке крови животных, получавших метионин (моделирование гипергомоцистеинемии), статистически значимо выросло относительно соответствующей контрольной группы (293,10 [273,10; 318,20] и 5,90 [5,50; 6,70] мкмоль/л). У животных в выборках, получавших L-аргинин и карнитин на фоне метионина, концентрация гомоцистеина статистически значимо снижалась относительно животных с гипергомоцистеинемией, но не достигала значений контрольной группы. Выраженная гипергомоцистеинемия сопровождается нарастанием активности катепсинов L, H скелетной и гладкой мышц, развитием феномена пермеабилзации лизосомальных мембран.

© Ильичева А.С., Фомина М.А., Исаков С.А., 2016

тел. 8 (496) 618 64 57

e-mail: sergan52006@rambler.ru

[Ильичева А.С. (*контактное лицо) – ассистент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО; Фомина М.А. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО; Исаков С.А. – доктор медицинских наук, профессор кафедры дерматовенерологии].

Выводы. Аргинин снижает активность катепсина Н, кислой фосфатазы, оказывает стабилизирующий эффект на мембрану лизосом в скелетной мышце и снижает активность катепсина L при отсутствии стабилизирующего эффекта на мембраны лизосом в гладкой мускулатуре. Карнитин снижает активность катепсина L и оказывает стабилизирующее действие на лизосомальную мембрану изучаемых мышечных тканей.

Ключевые слова. Катепсин L, H, скелетная мышца, гладкая мышца, гипергомоцистеинемия, проницаемость лизосомальной мембраны, гомотеин, L-аргинин, карнитин.

Aim. The aim of the study was to investigate the activity of L, H cathepsins with assessment of changes in permeability of lysosomal membranes of the rat tibial muscle and thoracic aorta wall in conditions of experimental marked hyperhomocysteinemia when introducing L-arginine and carnitine.

Materials and methods. Ninety six homogenized samples of muscular tissues (48 tibial muscle samples and 48 thoracic aorta wall samples) from white convectional Wistar male rats served as a material to be studied. Modelling of severe hyperhomocysteinemia was realized by means of a daily intragastric introduction of methionine suspension twice a day. In experimental and control groups, arginine and carnitine were introduced with a six-hour interval from introduction of the corresponding suspension.

Results. Blood serum homocystein content in animals receiving methionine (hyperhomocysteinemia modeling) statistically significantly increased versus the corresponding control group (293,10 [273,10; 318,20] and 5,90 [5,50; 6,70] $\mu\text{mol/l}$). In the samples of animals receiving L-arginine and carnitine against the background of methionine, homocysteine concentration significantly decreased versus the animals with hyperhomocysteinemia, but did not reach the control group values. Marked hyperhomocysteinemia is accompanied by growth of activity of skeletal and smooth muscle L, H cathepsins, development of lysosomal membrane permeability.

Conclusions. Arginine reduces cathepsin H and acid phosphatase activity, has a stabilizing effect on lysosomal membrane in the skeletal muscle and decreases cathepsin L activity with no stabilizing effect on lysosomal membranes in the smooth musculature. Carnitine reduces cathepsin L activity and has a stabilizing effect on lysosomal membrane of the muscular tissues studied.

Key words. L, H cathepsins, skeletal muscle, smooth muscle, hyperhomocysteinemia, lysosomal membrane permeability, homocysteine, L-arginine, carnitine.

ВВЕДЕНИЕ

В современных источниках гипергомоцистеинемия в основном рассматривают как риск развития тромбоза артерий малого и среднего калибра, гломерулярной дисфункции и склероза, акушерской, неврологической патологии [2, 8]; при этом практически не описывается токсическое действие гомотеина на клетки других органов.

Общезвестным фактом является то, что избыточные количества метаболита метионинового обмена гомотеина при переходе из клеток во внеклеточное пространство и далее в кровь способны воздействовать на эндотелий сосудов. Это воздействие обусловлено образованием супероксида кислорода и перекиси водорода [8], иници-

рующих перекисное окисление липидов, что приводит к образованию окисленных липопротеидов плазмы крови и повреждению эндотелия [10]. Помимо этого, гомотеин принимает участие в формировании дисульфидов, приводящих к дополнительному образованию свободных радикалов и развитию оксидативного стресса.

Катепсины L, H имеют широкую тканевую локализацию и участвуют в деградации соединительной ткани, обменных процессах, клеточной дифференцировке, опухолевой прогрессии. Имеются данные о повышении активности катепсина L при аневризме аорты в пристеночном тромбе [15] и его взаимодействия с белками эндотелия, что изменяет эластичность и механическую прочность артерий. Описана способность

катепсинов к секреции во внеклеточное пространство и стимуляции клеточного апоптоза [13, 14].

В современных источниках описано влияние аргинина на концентрацию маркеров свободнорадикального повреждения, снижение содержания в сыворотке крови гомоцистеина [16], снижение секреции катепсина В в скелетной и гладкомышечной мускулатуре [1]. Помимо этого, аргинин оказывает иммуномодулирующее воздействие благодаря стимулированию активности лимфоцитов, продукции интерлейкина-2 [7]. Карнитин, за счет стимулирования деятельности митохондрий, улучшает энергетический обмен клетки, а также, обладая способностью угнетать активность каспаз [3], снижает риск развития клеточного апоптоза, в осуществлении которого катепсинам отводится не последняя роль.

Исходя из вышеизложенного нами была поставлена задача оценить активность и распределение катепсинов L, H скелетной и гладкой мышц при тяжелой форме гомоцистеинемии и при коррекции ее L-аргинином и карнитином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили 96 гомогенизированных образцов мышечных тканей (48 образцов большеберцовой мышцы и 48 образцов стенки грудной аорты) белых конвекциональных крыс-самцов линии Wistar массой 280–320 г, содержащихся в типовых условиях вивария и разделенных на шесть групп – 3 контрольных (по 8 животных в каждой) и 3 экспериментальных (по 8 животных в каждой) в соответствии с исследуемыми образцами скелетной мышцы и стенки аорты соответственно.

Моделирование тяжелой формы гипергомоцистеинемии осуществляли путем ежедневного внутрижелудочного введения 2 раза

в сутки суспензии метионина в дозе 1,5 г на 1 килограмм массы тела животного в течение 21 дня. В своем составе суспензия содержала (по массе) 25 % метионина, 65 % 1%-ного водного раствора крахмала, 10 % твина 80. Вместо воды животные получали 1%-ный раствор метионина [4]. В качестве контроля использовали группу животных ($n = 8$), получавших в течение 21 дня суспензию, не содержащую метионин (состав по массе: 10 % твина-80, 1 % крахмала, 89 % воды), – группа контроля 1.

Для изучения эффектов аргинина на фоне выраженной гипергомоцистеинемии вводили аргинин *per os* 1 раз в сутки в дозе 500 мг/кг в 0,9%-ном растворе NaCl в течение 10 суток [6] параллельно с введением метионина по схеме, описанной выше (с 12-е по 21-е сутки введения метионина). Животным контрольной группы ($n = 8$) осуществляли введение аргинина *per os* 1 раз в сутки в дозе 500 мг/кг в 0,9%-ном растворе NaCl в течение 10 суток параллельно с введением суспензии, не содержащей метионин, по схеме, описанной выше, – группа контроля 2.

Влияние карнитина изучали в экспериментальной группе животных, получавших карнитина хлорид (производство ФГУ «РКНПК» Минздрава России – ЭПМБП) в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно в течение 21 дня [12] параллельно с введением метионина по схеме, описанной выше. Контрольную группу составили 8 животных, получавших карнитина хлорид в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно в течение 21 дня параллельно с введением суспензии, не содержащей метионин, по схеме, описанной выше, – группа контроля 3.

Введение аргинина и карнитина в экспериментальных и контрольных группах осуществлялось с интервалом 6 часов от введения соответствующей суспензии.

Содержание и выведение животных из эксперимента выполняли согласно правилам, изложенным в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологи-

ческих исследований с использованием животных» (1985) и приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной диагностики». Немедленно после выведения животного из эксперимента извлекали грудную аорту и участок большеберцовой мышцы. После извлечения очищенные ткани взвешивали на электронных весах AJN-220 CE (Япония), измельчали ножницами, помещали в емкость гомогенизатора «Potter S» (Sartorius, Германия) в холодный 0,25 М раствор сахарозы в соотношении 1/100 и гомогенизировали в течение 60 секунд при 1500 об/мин. Полученные гомогенаты центрифугировали 10 мин при 1000 g, используя центрифугу CM-6M ELM1 (Латвия), для осаждения неполностью разрушенных клеток и ядер. Для удаления митохондрий надосадочную жидкость повторно центрифугировали в течение 15 минут при 14000 g, используя рефрижераторную центрифугу K 24 D (Германия). Полученный таким образом супернатант центрифугировали дополнительно при 20000 g в течение 30 минут для получения чистой цитоплазматической (неседиментируемой) фракции. Седиментируемую фракцию (осадок грубой фракции лизосом) ресуспендировали в 0,25 М растворе сахарозы с добавлением раствора тритона X-100 в конечной концентрации 0,1 %.

Активность катепсинов L, H определяли спектрофлуориметрическим методом по A.J. Barret и H. Kirshke [9] отдельно в седиментируемой и неседиментируемой фракциях и обозначали как седиментируемую и неседиментируемую активность (СА и НСА) соответственно.

Для оценки проницаемости лизосомальной мембраны использовали коэффициент лабильности ($K_{\text{лаб}}$), рассчитывающийся как процентное соотношение активности лизосомального фермента во внелизосомальной (неседиментируемой) фракции к общей активности (ОА), представляющей собой сумму НСА и СА для данного фермента [5].

Показателем лабилизации лизосомальных мембран служила активность кислой

фосфатазы (КФ) [14], измеряемая в седиментируемой и неседиментируемой фракциях гомогената унифицированным методом по «конечной точке» с помощью коммерческого набор «Витал Диагностикс», Санкт-Петербург.

Содержание гомоцистеина в сыворотке крови вычисляли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора компании Axis Shield, США.

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и программы Statistika 10. Для каждой выборки рассчитывали медиану (Me), верхний и нижний квартили [Q_1 ; Q_3]. Статистическую значимость отличий показателей экспериментальной группы от группы сравнения оценивали по *U*-критерию Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сопоставлении содержания гомоцистеина в сыворотке крови обнаружено выраженное статистически значимое нарастание показателя у животных с тяжелой формой гомоцистеинемии относительно соответствующей контрольной группы (293,10 [273,10; 318,20] и 5,90 [5,50; 6,70] мкмоль/л). В экспериментальных группах с введением аргинина и карнитина наблюдалось повышение уровня гомоцистеина относительно соответствующих контрольных групп, но результаты измерений (92,80 [58,75; 112,07] мкмоль/л для аргинина и 72,70 [55,27; 91,85] мкмоль/л для карнитина) были статистически значимо ниже, чем в группе, получавшей изолированно метионин (рисунок).

В скелетной мышце при моделировании тяжелой формы гомоцистеинемии установлено статистически значимое увеличение активности катепсина L во всех изучаемых фракциях. Для катепсина H увеличение общей активности статистически значимо выросло за счет цитоплазматической доли, активность лизосомальной фракции также увеличилась, хотя оказалась статистически незначимой.

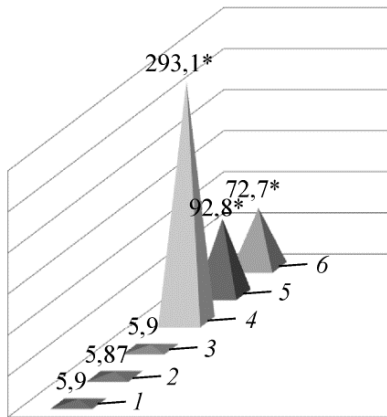


Рис. Содержание гомоцистеина в сыворотке крови экспериментальных и контрольных животных, мкмоль/л: 1 – группа контроля 1; 2 – группа контроля 2; 3 – группа контроля 3; 4 – метионин; 5 – метионин + аргинин; 6 – метионин + карнитин

Статистически значимое нарастание активности катепсина L обнаружено при совместном введении метионина и аргинина относительно соответствующих групп контроля во всех трех фракциях, а также статистически значимое снижение общей, лизосомальной и внелизосомальной активности катепсина H относительно группы животных, изолированно получавшей метионин.

При совместном введении карнитина и метионина в исследуемой скелетной мышце обнаружено статистически значимое нарастание неседиментируемой активности катепсинов L, H, а также седиментируемой и общей активности катепсина L относительно соответствующих групп контроля. Сравнивая активность протеаз скелетной мышцы в выборках с гипергомоцистеинемией и введением карнитина на фоне метионина, обнаружили статистически значимое снижение только для неседиментируемой фракции катепсина L.

Анализируя проницаемость лизосомальной мембраны, опираясь на активность кислой фосфатазы, получили следующие результаты: активность фермента при гипергомоцистеинемии статистически значимо

нарастала во всех фракциях, что указывает на развитие пермеабиллизации мембран лизосом. Статистически значимых изменений для коэффициента лабильности мы не получили.

Экспериментальная выборка с введением аргинина на фоне метионина демонстрировала снижение активности и уменьшение коэффициента лабильности кислой фосфатазы, однако статистически значимыми результаты оказались лишь для активности фермента цитоплазматической фракции, что говорит о стабилизирующем воздействии аргинина на лизосомальную мембрану. Благоприятное влияние на стабильность лизосомальных мембран оказывает и карнитин, что подтверждается статистически значимым снижением активности кислой фосфатазы в неседиментируемой фракции и коэффициента лабильности (табл. 1).

Анализируя изменение активности протеиназ в грудной аорте (табл. 2), мы получили следующие результаты: для катепсина L получено статистически значимое увеличение лизосомальной и общей активности. Для катепсина H статистически значимое увеличение общей активности происходило за счет увеличения активности фермента во внелизосомальной фракции. Активность кислой фосфатазы статистически значимо увеличивалась за счет цитоплазматической фракции, а также возрастали коэффициенты лабильности данного фермента и катепсина H, что подтверждает дестабилизацию мембраны лизосом. При совместном введении метионина с аргинином в гомогенате мышечной ткани грудной аорты обнаружено статистически значимое снижение седиментируемой и общей активности катепсина L, но неседиментируемая активность выросла по отношению к выборке, изолированно получавшей метионин. Вероятно, это связано с повышенным выходом фермента в цитозоль, что подтверждается нарастанием активности цитоплазматической фракции и коэффициента лабильности кислой

Таблица 1

Активность катепсинов L, H, кислой фосфатазы в скелетной мышце (Me [Q₁; Q₃])

Группа	Показатель	Катепсин L, нмоль/с·г белка	Катепсин H, нмоль/с·г белка	Кислая фосфатаза, нмоль/с·г белка
Контроль 1	HCA	0,04 [0,01; 0,06]	0,09 [0,07; 0,12]	6,54 [6,5; 6,48]
	CA	0,19 [0,07; 0,41]	2,19 [1,83; 2,37]	135,19 [122,3; 178,18]
	OA	0,23 [0,09; 0,42]	2,28 [1,91; 2,45]	142,28 [129,17; 185,39]
	K _{латв}	9,48 [4,47; 40,04]	4,48 [3,41; 5,13]	4,61 [3,99; 5,42]
Метионин	HCA	0,13 [0,07; 0,14]*	0,19 [0,14; 0,22]*	22,38 [20,19; 26,17]*
	CA	1,09 [0,83; 2,18]*	2,56 [2,15; 2,91]	344,72 [234,05; 423,78]
	OA	1,26 [0,91; 2,28]*	2,77 [2,35; 3,11]*	366,74 [260,70; 445,20]
	K _{латв}	8,99 [4,37; 17,68]	7,15 [6,15; 7,41]*	6,03 [4,87; 7,88]
Контроль 2	HCA	0,03 [0,02; 0,04]	0,08 [0,07; 0,09]	7,36 [6,96; 7,94]
	CA	0,23 [0,11; 0,46]	2,02 [1,76; 2,16]	139,41 [121,96; 161,44]
	OA	0,25 [0,15; 0,49]	2,09 [1,85; 2,24]	146,92 [129,24; 169,76]
	K _{латв}	10,12 [5,28; 21,69]	3,92 [3,26; 4,58]	5,37 [4,33; 5,84]
Метионин + + аргинин	HCA	0,08 [0,07; 0,09]*	0,08 [0,06; 0,096]#	12,75 [11,39; 14,69]**
	CA	1,58 [1,53; 1,96]*	1,87 [1,28; 2,19]#	284,96 [212,49; 337,18]*
	OA	1,66 [1,61; 2,07]*	1,91 [1,38; 2,27]#	297,14 [228,37; 350,93]*
	K _{латв}	4,78 [4,18; 5,56]#	4,28 [2,86; 6,49]	4,83 [3,66; 6,54]
Контроль 3	HCA	0,03 [0,02; 0,04]	0,08 [0,07; 0,09]	9,40 [8,27; 9,70]
	CA	0,23 [0,11; 0,46]	2,02 [1,76; 2,16]	139,56 [129,96; 153,20]
	OA	0,25 [0,15; 0,49]	2,09 [1,85; 2,24]	148,60 [137,26; 162,28]
	K _{латв}	10,12 [5,28; 21,69]	3,92 [3,26; 4,58]	5,94 [4,68; 6,65]
Метионин + + карнитин	HCA	0,06 [0,04; 0,06]**	0,16 [0,16; 0,19]*	16,61 [14,67; 18,7]**
	CA	1,46 [1,07; 2,21]*	2,04 [1,58; 2,52]	439,59 [357,56; 645,02]*
	OA	1,51 [1,1; 2,26]*	2,21 [1,72; 2,76]	456,6 [375,15; 662,83]*
	K _{латв}	2,94 [2,40; 4,15]*	8,58 [6,62; 10,35]*	3,09 [2,69; 4,27]**

Примечание: здесь и в табл. 2: * – статистически значимые отличия от контрольной группы ($p < 0,05$); # – статистически значимые отличия от группы, получавшей метионин ($p < 0,05$).

Таблица 2

Активность катепсинов L, H, кислой фосфатазы в стенке сосуда (Me[Q₁; Q₃])

Группа	Показатель	Катепсин L, нмоль/с·г белка	Катепсин, нмоль/с·г белка	Кислая фосфатаза, нмоль/с·г белка
Контроль (n = 8)	HCA	0,14 [0,06; 0,45]	0,07 [0,06; 0,13]	36,41 [28,10; 42,63]
	CA	0,54 [0,24; 1,66]	0,61 [0,43; 1,02]	170,05 [142,77; 203,33]
	OA	0,68 [0,30; 2,10]	0,76 [0,51; 1,10]	210,53 [181,43; 234,04]
	K _{латв}	21,63 [18,71; 22,56]	12,93 [10,26; 16,69]	16,99 [15,35; 19,88]
Гипергомоци- стеинемия (n = 8)	HCA	0,37 [0,27; 0,62]	0,46 [0,34; 0,60]*	72,03 [56,48; 78,93]*
	CA	2,52 [1,16; 3,66]*	1,07 [0,32; 1,71]	170,05 [133,20; 261,43]
	OA	3,18 [1,43; 4,22]*	1,48 [0,74; 2,26]*	244,78 [177,40; 341,43]
	K _{латв}	12,38 [9,72; 23,55]	34,03 [20,35; 51,05]*	24,76 [18,22; 30,04]*
Контроль 2	HCA	0,25 [0,19; 0,35]	0,57 [0,1; 0,16]	49,92 [47,13; 56,95]
	CA	0,76 [0,57; 1,08]	1,73 [1,66; 2,29]	145,03 [132,46; 171,45]
	OA	1,03 [0,71; 1,40]	2,23 [2,19; 3,07]	201,84 [178,15; 222,09]
	K _{латв}	23,56 [21,32; 30,64]	22,93 [20,83; 27,13]	23,78 [21,65; 25,69]
Метионин + + аргинин	HCA	0,5 [0,41; 0,54]**	0,73 [0,56; 0,93]	43,88 [38,65; 50,02]#
	CA	1,08 [0,82; 1,25]#	3,60 [2,62; 3,85]**	152,38 [132,10; 215,81]
	OA	1,49 [1,35; 1,76]#	4,49 [3,18; 4,89]**	208,29 [162,46; 259,82]
	K _{латв}	14,15 [13,08; 27,65]	14,15 [11,23; 15,31]*	20,70 [15,51; 24,50]#

Окончание табл. 2

Группа	Показатель	Катепсин L, нмоль/с:г белка	Катепсин, нмоль/с:г белка	Кислая фосфатаза, нмоль/с:г белка
Контроль 3	НСА	0,14 [0,10; 0,21]	0,33 [0,28; 0,40]	30,15 [26,65; 32,09]
	СА	0,53 [0,33; 0,66]	1,22 [0,83; 1,38]	92,96 [76,55; 114,52]
	ОА	0,70 [0,43; 0,84]	1,55 [1,15; 1,76]	122,38 [106,61; 145,68]
	K _{лизо}	22,12 [19,10; 25,70]	23,93 [18,07; 24,50]	22,22 [19,01,55; 23,95]
Метионин + + карнитин	НСА	0,05 [0,02; 0,11]**	0,07 [0,06; 0,09]*	6,81 [5,15; 7,19]#
	СА	2,98 [2,65; 3,18]*	7,44 [5,91; 8,11]**	277,17 [250,27; 317,26]#
	ОА	3,05 [2,71; 3,28]*	7,52 [5,95; 8,20]**	283,15 [257,68; 324,58]
	K _{лизо}	4,01 [1,4; 8,78]*	1,85 [1,67; 2,72]*	2,13 [1,92; 2,30]#

фосфатазы. Для катепсина Н получен статистически значимый рост седиментируемой и общей активности в экспериментальной группе, что, к сожалению, демонстрирует слабовыраженное корректирующее действие аргинина на эффекты гомоцистеина в гладкомышечной ткани стенки сосуда. При введении карнитина нами было получено статистически значимое снижение активности цитоплазматической фракции катепсина L, активность катепсина Н увеличилась за счет лизосомальной фракции, что, вероятно, обусловлено феноменом увеличения количества лизосом [11]. Это подтверждается статистически значимым увеличением лизосомальной фракции кислой фосфатазы.

Однако корректирующий эффект карнитина отражался на цитоплазматической активности данного фермента и коэффициента лабильности, которые статистически значимо снижались относительно выборки животных с тяжелой формой гомоцистеинемии, что подтверждает его стабилизирующее действие на лизосомальную мембрану, защиту от повреждающего воздействия других ферментов [17], инициирующих клеточный апоптоз.

Выводы

1. Выраженная гипергомоцистеинемия сопровождается нарастанием активности катепсинов L, Н скелетной и гладкой мышц. Повышение активности кислой фосфатазы в большеберцовой мышце и нарастание ко-

эффициентов лабильности катепсина Н и кислой фосфатазы в грудной аорте демонстрируют феномен пермеабиллизации лизосомальных мембран.

2. Корректирующее действие аргинина выражается в снижении активности катепсина Н, снижении активности и коэффициента лабильности кислой фосфатазы в скелетной мышце, что говорит о благоприятном воздействии на стабильность лизосомальной мембраны. Для гладкой мускулатуры введение аргинина приводит к снижению активности катепсина L при отсутствии стабилизирующего эффекта на мембраны лизосом.

3. Введение карнитина сопровождается снижением активности катепсина L за счет цитоплазматической фракции фермента скелетной и гладкой мышц. Стабилизирующее действие карнитина на лизосомальную мембрану выражается в снижении активности кислой фосфатазы за счет цитоплазматической фракции и уменьшении коэффициента лабильности.

Библиографический список

1. Арапова А.И., Фомина М.А. Секреторная активность лизосомальных цистеиновых протеиназ мышечных тканей под действием L-аргинина. Наука молодых (Eruditio Juvenium) 2014; 4: 30–35.
2. Доброхотова Ю.Э., Сухих Г.Т., Жубава Э.М., Аминтаева Л.А., Алиева Д.Н., Дзейгова Э.А., Артизанова Д.П., Чапельнико-

ва Т.А. Гипергомоцистеинемия и фолиевая кислота при невынашивании беременности. Российский вестник акушера-гинеколога 2007; 5: 8–11.

3. *Копелевич В.М.* Витаминоподобные соединения L-карнитин и ацетил-L-карнитин: от биохимических исследований к медицинскому применению. Украинский биохимический журнал 2005; 77 (4): 25–45.

4. *Медведев Д.В., Звягина В.И., Фомина М.А.* Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова 2014; 4: 42–46.

5. *Панин Л.Е., Маянская Н.Н.* Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении. Новосибирск: Наука СО 1987; 198.

6. *Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И., Артюшкова Е.Б.* Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота. Экспериментальная и клиническая фармакология 2008; 71 (2): 29–31.

7. *Трещинская М.А.* Теоретические и практические аспекты применения L-аргинина с целью профилактики цереброваскулярной патологии. Укр. мед. часопис 2011; 85 (5): IX/X, available at: www.umj.com.ua.

8. *Шмелева В.М., Рыбакова Л.П.* Состояние окислительной и антиокислительной систем у больных с атеросклерозом при наличии и отсутствии гипергомоцистеинемии. Казанский медицинский журнал 2008; 89 (3): 281–285.

9. *Barret A.J., Kirshke H.* Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L. *Methods in Enzymol* 1981; 80: 535–561.

10. *Ciaccio M., Bivona G., Bellia C.* Therapeutic approach to plasma homocysteine and

cardiovascular risk reduction. *Therap and Clin Risk Manag* 2008; 4: 219–224.

11. *Jin M., Klionsky D.J.* Regulation of autophagy: Modulation of the size and number of autophagosome. *FEBS Letters* 2014; 588: 2457–2463.

12. *Rajasekar P., Palanisamy N., Anuradha C.V.* Increase in nitric oxide and reduction in blood pressure, protein kinase C beta II and oxidative stress by L-carnitine: a study in the fructose-fed hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens* 2007; 29 (8): 517–530.

13. *Repnik U., Turk B.* Lysosomal-mitochondrial cross-talk during cell death. *Mitochondrion* 2010; 10 (6): 662–669. DOI: 10.1016/j.mito.2010.07.008. Epub 2010 Aug 7.

14. *Terman A., Kurz T., Gustafsson B., Brunk U.* Lysosomal Labilization. *IUBMB Life* 2006; 58 (9): 531–539.

15. *Turk V., Stoka V., Vasiljeva O., Renko M., Sun T., Turk B., Turk D.* Cysteine cathepsins: from structure, function and regulation to new frontiers. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1824 (1): 68–88. DOI: 10.1016/j.bbapap.2011.10.002. Epub 2011 Oct 12.

16. *West S.G., Likos-Krick A., Brown P., Mariotti F.* Oral L-arginine improves hemodynamic responses to stress and reduces plasma homocysteine in hypercholesterolemic men. *J Nutr* 2005; 135 (2): 212–217.

17. *Yap Y.W., Whiteman M., Bay B.H., Li Y., Sheu F.S., Qi R.Z., Tan C.H., Cheung N.S.* Hypochlorous acid induces apoptosis of cultured cortical neurons through activation of calpains and rupture of lysosomes. *J Neurochem* 2006; 98: 1597–1609.

Материал поступил в редакцию 12.01.2016