

УДК 577.112.3:547.495.9]:612.617

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ108589>

## Гипоксия-подобный эффект L-аргинина в семенных пузырьках и эпидидимисе крыс

Ю. А. Марсянова✉, В. И. Звягина

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Рязань, Российская Федерация

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Влияние L-аргинина на обменные процессы опосредуется оксидом азота (II), пул которого регулируется несколькими ферментами. В литературе отмечается взаимное влияние дефицита кислорода и продукции NO. Кроме того, оба процесса можно регулировать с помощью экзогенного L-аргинина.

**Цель.** Оценить участие L-аргинина в развитии адаптационного ответа на хроническую нормобарическую гипоксию тканей мужской репродуктивной системы крыс и изучить его влияние на изменение метаболизма в условиях нормоксии.

**Материалы и методы.** Эксперимент проведен на крысах сток Wistar (самцы,  $n = 8$ ), которые были разделены на следующие группы: (1) животные, получавшие в течение 10 дней инъекции L-аргинина 500 мг/кг массы тела; (2) животные контрольной группы, получавшие 0,9% раствор NaCl; (3) животные, подвергшиеся хронической нормобарической гипоксии, ежедневно наблюдались в гермокамере до снижения концентрации кислорода 10% в воздухе один раз в день в течение 14 дней; (4) животные контрольной группы, наблюдались в вентилируемой камере; (5) животные, подвергшиеся гипоксии и инъекциям L-аргинина. Материалом для анализа послужили митохондрии и безмитохондриальная фракция цитоплазмы семенных пузырьков, головки и хвоста эпидидимиса. Оценка показателей проводилась фотометрически с помощью диагностических наборов и наборов иммуноферментного анализа.

**Результаты.** При получении животными L-аргинина относительно группы контроля наблюдалось повышение в цитоплазме количества  $\alpha$ -субъединицы гипоксией индуцируемого фактора в семенных пузырьках на 132% ( $p = 0,01$ ), в хвосте эпидидимиса на 32% ( $p = 0,02$ ) и снижение в митохондриях на 45% ( $p = 0,01$ ) и 60% ( $p = 0,002$ ) соответственно, снижение уровня сукцината на 40% ( $p = 0,005$ ) и 51% ( $p = 0,0009$ ), повышение концентрации молочной кислоты в цитоплазме на 194% ( $p = 0,03$ ) и 253% ( $p = 0,018$ ), снижение активности цитохромоксидазы с 0,96 [0,66; 1,69] у.е./мг белка до 0,27 [0,23; 0,32] ( $p = 0,0009$ ) и с 1,04 [0,84; 1,33] до 0,26 [0,14; 0,37] ( $p = 0,003$ ). Наблюдаемые изменения характерны для состояния гипоксии и объясняются переключением клетки на получение энергии гликолитическим путем, в отличие от митохондриального при нормоксии. Совместное влияние гипоксии и аргинина частично усиливали эффекты друг друга.

**Заключение.** L-аргинин вызывает в клетках гипоксия-подобное состояние посредством активации  $\alpha$ -субъединицы гипоксией индуцируемого фактора, снижения активности цитохромоксидазы и увеличения функции гликолиза, а также частично усиливает эффекты хронической нормобарической гипоксии.

**Ключевые слова:** L-аргинин; гипоксия; митохондрии; семенные пузырьки; эпидидимис; оксид азота

### Для цитирования:

Марсянова Ю.А., Звягина В.И. Гипоксия-подобный эффект L-аргинина в семенных пузырьках и эпидидимисе крыс // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2023. Т. 31, № 3. С. 345–356. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ108589>

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ108589>

# Hypoxia-Like Effect of L-Arginine in Seminal Vesicle and Epididymis of Rats

Yuliya A. Marsyanova✉, Valentina I. Zvyagina

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The effect of L-arginine on metabolic processes is mediated by nitric oxide (NO), whose pool is regulated by several enzymes. In the literature, the mutual influence of oxygen deficit and NO production is described. Besides, both processes can be regulated by exogenous L-arginine.

**AIM:** To evaluate participation of L-arginine in the development of adaptive response to chronic normobaric hypoxia of tissues of reproductive system of male rats and to study its influence on metabolic changes in normoxia.

**MATERIALS AND METHODS:** The experiment was conducted on Wistar stock rats (males,  $n = 8$ ) which were divided to the following groups: (1) animals receiving L-arginine injections of 500 mg/kg of body weight for 10 days; (2) animals of control group receiving 0.9% NaCl solution; (3) animals subjected to chronic normobaric hypoxia in a hermetic chamber, observed once a day for 14 days until the oxygen concentration in the air decreased by 10%; (4) animals of the control group observed in a ventilated chamber; (5) animals subjected to hypoxia and injections of L-arginine. The material for analysis was the mitochondria and mitochondria-free fraction of the cytoplasm of the seminal vesicles, of the head and tail of the epididymis. The parameters were evaluated photometrically using diagnostic and enzyme immunoassay kits.

**RESULTS:** The animals receiving L-arginine showed increase in the amount of  $\alpha$ -subunit of hypoxia-induced factor in the cytoplasm of seminal vesicles by 132% ( $p = 0.01$ ), in the tail of epididymis by 32% ( $p = 0.02$ ) and reduction in mitochondria by 45% ( $p = 0.01$ ) and 60% ( $p = 0.002$ ), respectively, a decrease in succinate levels by 40% ( $p = 0.005$ ) and 51% ( $p = 0.0009$ ), an increase in the concentration of lactic acid in the cytoplasm by 194% ( $p = 0.03$ ) and 253% ( $p = 0.018$ ), a decrease in cytochrome oxidase activity from 0.96 [0.66; 1.69] RU/mg of protein to 0.27 [0.23; 0.32] ( $p = 0.0009$ ) and from 1.04 [0.84; 1.33] to 0.26 [0.14; 0.37] ( $p = 0.003$ ), relative to the control group. The observed changes are characteristic of the state of hypoxia and are explained by the cell switching over to glycolytic pathway of energy production, in contrast to mitochondrial pathway in normoxia. The combined effect of hypoxia and arginine partially enhanced each other's effects.

**CONCLUSION:** L-arginine causes hypoxia-like state in cells through activating  $\alpha$ -subunit by hypoxia-induced factor, reducing cytochrome oxidase activity, increasing glycolysis, and also partially enhances the effects of chronic normobaric hypoxia.

**Keywords:** *L-arginine; hypoxia; mitochondria; seminal vesicles; epididymis; nitric oxide*

## For citation:

Marsyanova YuA, Zvyagina VI. Hypoxia-Like Effect of L-Arginine in Seminal Vesicle and Epididymis of Rats. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2023;31(3):345–356. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ108589>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

L-Арг — L-аргинин  
АТФ — аденозинтрифосфат  
АФК — активные формы кислорода  
ЛДГ — лактатдегидрогеназа  
МФ — митохондриальная фракция  
НАД — никотинамидадениндинуклеотид  
НАДН — никотинамидадениндинуклеотид восстановленный  
СДГ — сукцинатдегидрогеназа  
ХНГ — хроническая нормобарическая гипоксия  
ЦО — цитохромоксидаза  
ЦФ — цитоплазматическая фракция

ЭТЦ — электрон-транспортная цепь  
ASS — argininosuccinate synthetase (аргининосукцинатсинтетаза)  
COX — cytochrome c oxidase (цитохромоксидаза)  
eNOS — endothelial NO-synthase (эндотелиальная синтаза оксида азота (II))  
HIF — hypoxia-inducible factor (гипоксией индуцируемый фактор)  
iNOS — inducible NO-synthase (индуцибельная синтаза оксида азота (II))  
nNOS — neuronal NO-synthase (нейрональная синтаза оксида азота (II))  
NOS — nitric oxide synthase (синтаза оксида азота (II))  
PHD — prolyl hydroxylase domain (пролилгидроксилаза)  
VEGF — vascular endothelial growth factors (факторы роста эндотелия сосудов)

## ВВЕДЕНИЕ

Протеиногенная аминокислота L-аргинин (L-Арг) имеет большое значение для организма не только в качестве структурного компонента белков, но и как донор атомов азота в синтезе полиаминов, мочевины и при образовании аммонийных солей, а также для синтеза NO. Сигнальная роль оксида азота (II) уже не вызывает сомнений и не ограничивается регуляцией вазодилатации, что делает L-Арг привлекательным объектом исследований.

Ключевым ферментом синтеза L-Арг является аргининосукцинатсинтетаза (англ.: *argininosuccinate synthetase*, ASS) [1], в то время как сама аминокислота может использоваться в качестве субстрата при синтезе NO с помощью NO-синтаз (англ.: *nitric oxide synthase*, NOS), а также подвергаться распаду до мочевины при участии аргиназы, причем оба фермента конкурируют друг с другом [2]. NOS представлена тремя изоформами: двумя Са-зависимыми конститутивными, названными по тем тканям, где впервые были обнаружены — эндотелиальной (англ.: *endothelial NO-synthase*, eNOS) и нейрональной (англ.: *neuronal NO-synthase*, nNOS), а также Са-независимой индуцибельной (англ.: *inducible NO-synthase*, iNOS).

В литературе отмечается взаимное влияние друг на друга аргиназы и всех трех изоформ NOS. Большое количество исследований в этой области посвящено вопросу участия этих ферментов в развитии эндотелиальной дисфункции [3]. Повышение синтеза NO способствует S-нитрозилированию аргиназы, что приводит к ее активации, и уменьшению уровня субстрата — L-Арг [4]. Получение экзогенного L-Арг вызывает дозозависимое повышение количества оксида азота (II) в крови и увеличивает экспрессию eNOS [5] и iNOS [6]. Нарушение связывания кальция вследствие снижения фосфорилирования eNOS по остатку серина в 1177 положении и увеличения фосфорилирования треонина в 495 приводит к уменьшению активности этого фермента, что наблюдается при гипоксии. При этом отмечается

усиление экспрессии аргиназы [7]. Таким образом, участие L-Арг в насыщении тканей кислородом может оказаться решающим из-за прямого влияния на синтез оксида азота (II) при гипоксии. Применение этому эффекту находят в лечении почечной недостаточности, в т.ч. благодаря активации сигнальных путей оксида азота (II) [8], нарушений костной ткани [9], хронической обструктивной болезни легких [10], при хронической маточно-плацентарной ишемии [11], а также половой дисфункции [12]. Оценка уровня NO в крови является важным диагностическим критерием развития патологических процессов, а также имеет прогностический характер [13]. Повышение продукции NO при гипоксии может быть успешным механизмом адаптации не только с позиции усиления вазодилатации, но и с позиции сигналинга, так как, активируя гуанилатциклазу, оксид азота (II) индуцирует синтез фетального гемоглобина, который имеет более высокое сродство к кислороду по сравнению с гемоглобином взрослого.

Ожидаемый эффект повышения синтеза NO в ответ на введение L-Арг опровергается в исследованиях на линии клеток нейробластомы человека NB9, экспрессирующих nNOS [14]. В эксперименте показано переключение работы синтазы оксида азота с продукции NO на генерацию активных форм кислорода (АФК) в присутствии высокого количества аргинина, что возможно объясняется ускорением перехода в этих условиях оксида азота (II) в пероксинитрит — сильный окислитель, относящийся к активным формам азота. Этот феномен рассматривается как один из механизмов косвенного токсического действия аминокислоты. Имеются свидетельства нейротоксичности оксида азота (II), синтезируемого nNOS и iNOS, при гипоксии [15–16].

Кроме перечисленных путей метаболизма L-Арг, в поддержании пула этой аминокислоты важное место занимает один из ферментов орнитинового цикла ASS, экспрессия которого регулируется гипоксией индуцируемым фактором (англ.: *hypoxia-inducible factor*, HIF): замедление транскрипции обусловлено связыванием HIF с энхансером в промоторе гена энзима ASS1 [1].

У млекопитающих HIF представлен тремя формами: HIF1, HIF2, HIF3. Все три варианта активны в виде гетеродимера, состоящего из  $\alpha$  и  $\beta$  субъединиц. HIF1 $\alpha$  — кислородчувствительный мономер HIF — в условиях нормоксии подвергается гидроксилированию и полиубиквитинированию с помощью пролилгидроксилазы (англ.: *prolyl hydroxylase domain*, PHD) и белка фон Гиппеля–Линдау соответственно, что приводит к его протеасомной деградации. В случаях, когда этому белку удается избежать протеолиза, HIF1 $\alpha$  ассоциируется с HIF1 $\beta$ , проникает в ядро и выполняет функцию транскрипционного фактора. Среди неканонических, т. е. негипоксических, путей сохранения высокой концентрации HIF1 $\alpha$  называют повышение его нитрозилирования [17] и одновременное ингибирование PHD оксидом азота (II) [18]. Эти механизмы позволяют предположить, что получение экзогенного L-Арг животными в условиях нормоксии может способствовать переключению метаболизма клетки на получение энергии анаэробным путем, вызывая псевдогипоксию. Еще один неканонический путь активации HIF связан с дефицитом сукцинатдегидрогеназы (СДГ), что приводит к повышению содержания сукцината, который аллостерически ингибирует PHD [19].

В целом, нарушение работы митохондрий может спровоцировать аномальный ответ на гипоксию. Так, накопление пирувата способствует активации HIF, однако нарастание восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАД) [20] так же, как и дефицит лактата, активирует PHD, что ведет к деградации HIF и развитию псевдонормоксии — состояния, при котором в условиях кислорододефицита не развивается адаптационный ответ, типичный для гипоксии. Стабилизированный транскрипционный фактор активирует экспрессию генов, кодирующих ферменты гликолиза, в том числе лактатдегидрогеназу (ЛДГ). Можно предположить, что активность этого фермента, в этом случае будет решающей в формировании адаптации, а лактату отводится сигнальная роль триггера этих изменений.

Кроме того, HIF участвует в регуляции метаболизма митохондрий, активируя экспрессию второго типа IV субъединицы цитохром с оксидазы (англ.: *cytochrome c oxidase*, COX), которая заменяет COX4I1, экспрессирующуюся в условиях нормоксии. Такая замена сопровождается уменьшением продукции АФК. Кроме того, снижению АФК способствует реверсия работы комплекса II электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) — сукцинатдегидрогеназы, что также контролируется NO [21].

Транскрипционный ответ на гипоксию, опосредованный HIF, реализуется лишь через несколько часов. Однако, для клеток важно быстрое реагирование на снижение уровня кислорода и перестраивание метаболизма в первые минуты гипоксического воздействия. Одним из механизмов раннего реагирования считается связывание HIF1 $\alpha$  с белками на внешней мембране митохондрий, благодаря чему контролируется

мембранный потенциал, синтез АТФ, выход цитохрома из межмембранного пространства, и в итоге снижается риск апоптоза [22].

Вторая стратегия адаптации к гипоксии направлена не на внутриклеточную перестройку, а на улучшение снабжения тканей кислородом путем усиленной вазодилатации и ангиогенеза, чему способствует HIF через активацию экспрессии iNOS и факторов роста эндотелия сосудов (англ.: *vascular endothelial growth factors*, VEGF).

Нарушение обеспечения клетки энергией вследствие гипоксии и реоксигенации лежат в основе патогенеза различных состояний, в частности, мужского бесплодия. L-Арг входит в состав препаратов, применяемых для решения проблемы половой дисфункции [23]. Эффекты этой аминокислоты опосредованы как участием в синтезе белков, так и действием продуцируемого NO: усиление притока крови к мужским половым органам и активация сперматогенеза, нормализация эрекции, антиоксидантная защита. Необходимо учитывать, что не все ткани нуждаются в усилении снабжения кислородом для правильной работы. Так, эпидидимис, где осуществляется накопление, созревание и хранение сперматозоидов, относится к тканям малочувствительным к гипоксии [24], что препятствует ранней активации половых клеток.

Таким образом, L-Арг способен оказывать влияние на изменение метаболизма клеток, способствуя развитию гипоксия-подобного ответа. В совокупности фактов о влиянии L-Арг представляется интересным исследовать его эффекты на клеточный метаболизм и работу митохондрий в условиях кислородного голодания *in vivo*.

**Цель** — оценить участие L-аргинина в развитии адаптационного ответа на хроническую нормобарическую гипоксию тканей мужской репродуктивной системы крыс и изучить его влияние на изменение метаболизма в условиях нормоксии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Работа с животными.** Исследование с участием животных одобрено на заседании Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных (Протокол № 16, 2018 г.), работа осуществлялась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), Приказом МЗ РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и Приказом МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Животные содержались в стандартных условиях.

Эксперимент выполнен на 40 половозрелых крысах-самцах сток *Wistar* массой тела 200–280 г, которые были разделены на 5 групп ( $n = 8$ ):



- **группа 1 (нормоксия)** — контроль к группе 2;
- **группа 2 (хроническая нормобарическая гипоксия, ХНГ)** — моделирование ХНГ;
- **группа 3 (NaCl)** — контроль к группе 4;
- **группа 4 (L-Arg)** — введение экзогенного L-аргинина;
- **группа 5 (ХНГ + L-Arg)** — введение экзогенного L-аргинина при ХНГ; сравнением служили группы 2 и 4.

**Моделирование ХНГ.** Для моделирования ХНГ использовали герметичную камеру объемом 1,2 л (длина × ширина × высота: 10,5 × 10,5 × 11,0 см), которая была подключена к многоканальному газоанализатору МАГ-6-П-К (O<sub>2</sub>: интервал измерения 0%–100%; CO<sub>2</sub>: интервал измерения 0%–12%) так, что камера и газоанализатор составляли замкнутое пространство. Длительность нахождения животного в гермокамере определялась не временными рамками, а индивидуально для каждого животного по показателю газоанализатора, эксперимент длился до тех пор, пока уровень кислорода в камере не снижался до 10%. Манипуляции повторяли ежедневно один раз в день в утренние часы на протяжении 14 дней. Контрольная группа животных во время эксперимента помещалась в вентилируемую камеру [25].

**Введение препарата L-аргинина.** Животные в течение 10 дней получали экзогенный L-Арг (98,5%; Диазм, Россия) из расчета 500 мг L-Арг на кг массы тела животного в виде 20% раствора в 0,9% NaCl, инъекции выполняли внутривентриально одноразовым инсулиновым шприцем один раз в день в утренние часы. Контрольной группе животных вводили 0,9% раствор NaCl.

Животные, подвергшиеся ХНГ, которым назначили инъекции экзогенного L-Арг, получали препарат с 5 по 14 день эксперимента по моделированию гипоксии за 30 мин до сеанса.

**Получение биоматериала.** На 14 день эксперимента сразу после окончания процедур крысам вводили наркоз (смесь «Золетил® 100» и «Ксиланит®» в дозировке 6 мг/кг массы тела одноразовым инсулиновым шприцем внутримышечно). Далее отбирали семенные пузырьки, головку и хвост придатка яичка, из которых получали гомогенаты с помощью гомогенизатора Potter S (Sartorius AG, Германия) в Трис-HCl буфере pH = 7,4, содержащем 0,25 М раствор сахарозы, в соотношении 1 часть ткани (мг) к 9 частям буфера (мл). Все процедуры проводили при температуре не выше 4°C. Полученные гомогенаты центрифугировали дважды: по 15 мин при 3000 g — для осаждения ядер и неразрушенных клеток и при 14000 g — для осаждения митохондрий. В качестве материала для исследования использовали безмитохондриальную цитоплазматическую фракцию (ЦФ) и ресуспендированный в среде выделения осадок митохондрий — митохондриальную фракцию (МФ) — с добавлением детергента Тритон-X100.

**Лабораторные методы анализа.** Концентрацию метаболитов NO определяли по интенсивности розовой

окраски, образующейся в реакции азосочетания нафтилэтилендиамина с диазотированным сульфаниламидом (реактив Грисса; НеваРеактив, Россия), который образуется в присутствии нитритов, интенсивность окраски зависит от количества нитритов и нитратов, которые восстанавливаются в нитриты с помощью VCl<sub>3</sub> (Acros Organics, США), выражали в нмоль/мг белка.

Концентрацию сукцината определяли с помощью набора «Succinate Colorimetric Assay Kit» (Sigma-AldrichCo, США) по интенсивности окраски, образующейся в сопряженной реакции сукцинатоксидаза/пероксидаза, выражали в мкмоль/мг белка.

Количество HIF1α определяли с помощью набора для иммуноферментного анализа «Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha» (Cloud-Clone Corp., США), выражали в нг/мг белка.

Измерения вышеперечисленных показателей проводили в 96-луночном микропланшете на фотометре планшетного типа Stat Fax 3200 (Awareness Technology Inc., США).

Концентрацию молочной кислоты определяли с помощью набора «Молочная кислота-Ольвекс» (Ольвекс Диагностикум, Россия) по интенсивности окраски, образующейся в сопряженной реакции лактатоксидаза/пероксидаза, выражали в мкмоль/мг белка.

Активность лактатдегидрогеназы определяли с помощью набора «ЛДГ» (Ольвекс Диагностикум, Россия) кинетическим методом по реакции восстановления пировата в лактат и окисления НАДН в НАД+. Скорость окисления НАДН в НАД+ пропорциональна активности ЛДГ. Активность фермента выражали в у.е./мг белка.

Активность цитохромоксидазы (ЦО) определяли кинетическим методом по убыли оптической плотности раствора восстановленного цитохрома С в результате реакции окисления цитохрома кислородом в присутствии фермента, скорость реакции, пропорциональную активности фермента, выражали в у.е./мг белка.

Определяли вышеперечисленные показатели фотометрически с помощью биохимического анализатора Stat Fax 1904+ (Awareness Technology Inc., США).

Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) определяли по убыли оптической плотности раствора феррицианида калия в результате реакции восстановления в присутствии фермента, скорость реакции, пропорциональную активности фермента, определяли фотометрически с помощью спектрофотометра СФ-2000 (ОКБ Спектр, Россия), выражали в нмоль сукцината/мг белка.

Содержание общего белка определяли фотометрически (фотоколориметр КФК-3-01-30МЗ, Россия) по методу Лоури с помощью набора «КлиниТест-БЛ» (ЭКО Сервис, Россия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Excel 2013 (Microsoft, США) и Statistica 12.0 (Stat Soft Inc., США). Характер распределения определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для оценки уровня значимости в группах

использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Результаты представлены в виде Медианы [Квартиль 1; Квартиль 3] — Ме [Q1; Q3]. Уровень различий при сравнении двух независимых выборок считали статистически значимым при вероятности ошибки  $p < 0,05$ , при сравнении трех независимых выборок применяли поправку Бонферрони и считали статистически значимым уровень различий при вероятности ошибки  $p < 0,0167$ . При значении  $0,05 \leq p < 0,10$  считали вероятной тенденцию к изменению показателей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При моделировании ХНГ в тканях семенных пузырьков, головке и хвосте эпидидимиса снижалась активность ЦО, ЛДГ МФ и содержание лактата МФ — в семенных пузырьках и головке эпидидимиса, концентрация метаболитов NO и активность ЛДГ ЦФ — в хвосте эпидидимиса, наблюдалось уменьшение содержания метаболитов NO и повышение молочной кислоты ЦФ в семенных пузырьках (табл. 1).

**Таблица 1.** Изменение биохимических показателей семенных пузырьков, головки и хвоста эпидидимиса крыс при хронической нормобарической гипоксии ( $n = 8$ ; Ме [Q1; Q3])

Показатель	Группа 1 (нормоксия)	Группа 2 (ХНГ)	p
СЕМЕННЫЕ ПУЗЫРЬКИ			
Метаболиты оксида азота (II), нмоль/мг белка	974 [906; 1064]	717 [628; 784]	<b>0,003</b>
HIF1 $\alpha$ МФ, нг/мг белка	25,2 [20,6; 35,2]	14,8 [11,6; 20]	<b>0,024</b>
HIF1 $\alpha$ ЦФ, нг/мг белка	4,4 [3,9; 5]	3 [2,9; 4,3]	0,16
Сукцинат, мкмоль/мг белка	1123 [989; 1453]	828 [617; 957]	<b>0,007</b>
СДГ, нмоль сукцината/мг белка	0,32 [0,02; 0,41]	0,32 [0,24; 0,46]	0,71
Молочная кислота МФ, мкмоль/мг белка	5,87 [4,62; 6,92]	1,76 [1,41; 1,95]	<b>0,01</b>
Молочная кислота ЦФ, мкмоль/мг белка	0,75 [0,62; 0,85]	1,66 [1,2; 1,99]	<b>0,008</b>
ЛДГ МФ, у.е./мг белка	798 [602; 1146]	1125 [1003; 1379]	0,21
ЛДГ ЦФ, у.е./мг белка	3061 [2211; 3907]	1272 [1224; 2550]	0,13
ЦО, у.е./мг белка	1,34 [1,14; 1,72]	0,31 [0,25; 0,41]	<b>0,0005</b>
ГОЛОВКА ЭПИДИДИМИСА			
Метаболиты оксида азота (II), нмоль/мг белка	1023 [900; 1544]	897 [667; 1046]	0,13
HIF1 $\alpha$ МФ, нг/мг белка	14 [12; 20,5]	12,2 [10; 16,8]	0,27
HIF1 $\alpha$ ЦФ, нг/мг белка	4 [3,9; 4,4]	3,9 [2,8; 4,1]	0,43
Сукцинат, мкмоль/мг белка	1202 [1092; 1868]	838 [660; 928]	<b>0,0039</b>
СДГ, нмоль сукцината/мг белка	0,35 [0,1; 0,52]	0,4 [0,28; 0,67]	0,49
Молочная кислота МФ, мкмоль/мг белка	5,65 [4,38; 7,47]	2,65 [2,23; 3,03]	<b>0,0009</b>
Молочная кислота ЦФ, мкмоль/мг белка	1,71 [1,19; 1,93]	1,94 [1,66; 2,2]	0,24
ЛДГ МФ, у.е./мг белка	3383 [1659; 4088]	804 [709; 977]	<b>0,001</b>
ЛДГ ЦФ, у.е./мг белка	5799 [5431; 6590]	3088 [2247; 3724]	<b>0,00009</b>
ЦО, у.е./мг белка	0,89 [0,64; 1,05]	0,35 [0,26; 0,49]	<b>0,007</b>
ХВОСТ ЭПИДИДИМИСА			
Метаболиты оксида азота (II), нмоль/мг белка	1055 [902; 1207]	825 [766; 868]	<b>0,01</b>
HIF1 $\alpha$ МФ, нг/мг белка	20,5 [19; 23]	12,8 [11,1; 13,7]	<b>0,01</b>
HIF1 $\alpha$ ЦФ, нг/мг белка	2,5 [2,3; 3]	4,3 [3,9; 4,6]	<b>0,014</b>
Сукцинат, мкмоль/мг белка	1355 [1240; 1608]	958 [760; 1078]	<b>0,03</b>
СДГ, нмоль сукцината/мг белка	0,22 [0,18; 0,67]	0,26 [0,19; 0,63]	0,96
Молочная кислота МФ, мкмоль/мг белка	6,25 [4,84; 8,12]	4,38 [2,75; 6,55]	0,48
Молочная кислота ЦФ, мкмоль/мг белка	1,18 [0,82; 1,6]	1,6 [1,58; 1,65]	0,16
ЛДГ МФ, у.е./мг белка	2732 [1592; 3140]	2882 [2394; 3529]	0,37
ЛДГ ЦФ, у.е./мг белка	7158 [5684; 7359]	3532 [2810; 4327]	<b>0,018</b>
ЦО, у.е./мг белка	1,23 [0,91; 2,21]	0,54 [0,36; 0,64]	<b>0,03</b>

Примечания: L-Арг — L-аргинин; ХНГ — хроническая нормобарическая гипоксия; ЦФ — цитоплазматическая фракция; МФ — митохондриальная фракция; СДГ — сукцинатдегидрогеназа; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ЦО — цитохромоксидаза, HIF — hypoxia-inducible factor (гипоксией индуцируемый фактор)

В эксперименте с введением животным экзогенного L-Арг в митохондриях всех исследуемых тканей наблюдалось снижение количества HIF1 $\alpha$ , содержания метаболитов оксида азота (II) и сукцината, активности ЦО; в митохондриях семенных пузырьков — снижение уровня молочной кислоты и активности ЛДГ, в митохондриях хвоста эпидидимиса — снижение

лактата при одновременном увеличении активности ЛДГ (табл. 2). В цитоплазме исследуемых тканей наблюдалось повышение следующих показателей: в семенных пузырьках, головке и хвосте эпидидимиса — молочной кислоты, в семенных пузырьках и хвосте придатка яичка — HIF1 $\alpha$ , активность ЛДГ только в хвосте эпидидимиса.

**Таблица 2.** Влияние аргинина на изменение биохимических показателей семенных пузырьков, головки и хвоста эпидидимиса крыс при хронической нормобарической гипоксии (n = 8; Me [Q1; Q3])

Показатель	Группа 3 (NaCl)	Группа 4 (L-Арг)	Группа 5 (ХНГ + L-Арг)
СЕМЕННЫЕ ПУЗЫРЬКИ			
Метаболиты NO (II), нмоль/мг белка	792 [703; 911]	650 [578; 713] $p_{3-4} = 0,03$	734 [601; 1007] $p_{2-5} = 0,71$ $p_{4-5} = 0,43$
HIF1 $\alpha$ МФ, нг/мг белка	23,6 [20,4; 30,4]	13 [9,6; 17,7] $p_{3-4} = 0,01$	10,5 [8,9; 13] $p_{2-5} = 0,16$ $p_{4-5} = 0,16$
HIF1 $\alpha$ ЦФ, нг/мг белка	3,1 [2,9; 4,5]	7,2 [5; 8,2] $p_{3-4} = 0,01$	5,3 [4,7; 6,2] $p_{2-5} = 0,007$ $p_{4-5} = 0,43$
Сукцинат, мкмоль/мг белка	985 [847; 1376]	594 [533; 655] $p_{3-4} = 0,005$	644 [624; 690] $p_{2-5} = 0,49$ $p_{4-5} = 0,23$
СДГ, нмоль сукцината/мг белка	0,25 [0,12; 0,36]	0,26 [0,15; 0,36] $p_{3-4} = 0,96$	0,52 [0,33; 0,64] $p_{2-5} = 0,13$ $p_{4-5} = 0,04$
Молочная кислота МФ, мкмоль/мг белка	4,76 [3,96; 7,76]	2,59 [2,27; 2,99] $p_{3-4} = 0,007$	4,8 [4,38; 5,69] $p_{2-5} = 0,007$ $p_{4-5} = 0,005$
Молочная кислота ЦФ, мкмоль/мг белка	0,94 [0,61; 1,86]	2,76 [1,6; 3,66] $p_{3-4} = 0,03$	2,49 [1,99; 3,07] $p_{2-5} = 0,052$ $p_{4-5} = 0,56$
ЛДГ МФ, у.е./мг белка	1440 [741; 2373]	565 [384; 783] $p_{3-4} = 0,04$	625 [426; 1040] $p_{2-5} = 0,19$ $p_{4-5} = 1,0$
ЛДГ ЦФ, у.е./мг белка	4071 [2823; 5028]	3542 [1909; 5909] $p_{3-4} = 0,75$	3448 [2935; 3970] $p_{2-5} = 0,014$ $p_{4-5} = 0,96$
ЦО, у.е./мг белка	0,96 [0,66; 1,69]	0,27 [0,23; 0,32] $p_{3-4} = 0,0009$	0,46 [0,35; 0,66] $p_{2-5} = 0,23$ $p_{4-5} = 0,07$
ГОЛОВКА ЭПИДИДИМИСА			
Метаболиты NO (II), нмоль/мг белка	999 [876; 1225]	651 [609; 701] $p_{3-4} = 0,001$	1043 [910; 1576] $p_{2-5} = 0,13$ $p_{4-5} = 0,0009$
HIF1 $\alpha$ МФ, нг/мг белка	12,4 [10,6; 15,5]	5,9 [5,6; 7,4] $p_{3-4} = 0,002$	16,2 [15,5; 17,1] $p_{2-5} = 0,16$ $p_{4-5} = 0,0009$
HIF1 $\alpha$ ЦФ, нг/мг белка	3,2 [2,4; 3,3]	2,7 [2,3; 3,1] $p_{3-4} = 0,32$	3,8 [3,5; 4,8] $p_{2-5} = 0,71$ $p_{4-5} = 0,007$
Сукцинат, мкмоль/мг белка	1140 [928; 1456]	539 [448; 599] $p_{3-4} = 0,0009$	1295 [1276; 1459] $p_{2-5} = 0,0009$ $p_{4-5} = 0,0009$
СДГ, нмоль сукцината/мг белка	0,43 [0,23; 0,55]	0,48 [0,38; 0,58] $p_{3-4} = 0,43$	0,36 [0,33; 0,40] $p_{2-5} = 0,1$ $p_{4-5} = 0,56$
Молочная кислота МФ, мкмоль/мг белка	4,47 [3,84; 5,92]	2,72 [1,71; 5,36] $p_{3-4} = 0,16$	12,1 [10,86; 13,4] $p_{2-5} = 0,0009$ $p_{4-5} = 0,003$
Молочная кислота ЦФ, мкмоль/мг белка	1,4 [0,96; 1,83]	2,61 [2,41; 2,79] $p_{3-4} = 0,001$	2,75 [2,42; 3,86] $p_{2-5} = 0,43$ $p_{4-5} = 0,03$

## Продолжение таблицы 2

ЛДГ МФ, у.е./мг белка	1175 [720; 1839]	1741 [1438; 2627] $p_{3-4} = 0,27$	2466 [1328; 3284] $p_{2-5} = 0,004$ $p_{4-5} = 0,71$
ЛДГ ЦФ, у.е./мг белка	3765 [3294; 4511]	4607 [4010; 5515] $p_{3-4} = 0,23$	4088 [3247; 4775] $p_{2-5} = 0,16$ $p_{4-5} = 0,27$
ЦО, у.е./мг белка	0,9 [0,81; 1,05]	0,29 [0,21; 0,34] $p_{3-4} = 0,00002$	0,70 [0,47; 1,19] $p_{2-5} = 0,04$ $p_{4-5} = 0,005$
ХВОСТ ЭПИДИДИМИСА			
Метаболиты NO (II), нмоль/мг белка	1239 [881; 1568]	520 [476; 568] $p_{3-4} = 0,002$	712 [665; 846] $p_{2-5} = 0,23$ $p_{4-5} = 0,01$
HIF1 $\alpha$ МФ, нг/мг белка	22 [17; 24,3]	8,8 [7,8; 10,5] $p_{3-4} = 0,002$	12,3 [9,8; 14,3] $p_{2-5} = 0,31$ $p_{4-5} = 0,08$
HIF1 $\alpha$ ЦФ, нг/мг белка	3,1 [2,7; 3,9]	4,1 [3,9; 4,7] $p_{3-4} = 0,02$	6,2 [4,7; 6,4] $p_{2-5} = 0,13$ $p_{4-5} = 0,1$
Сукцинат, мкмоль/мг белка	1606 [1211; 2006]	794 [682; 867] $p_{3-4} = 0,0009$	1161 [895; 1491] $p_{2-5} = 0,23$ $p_{4-5} = 0,007$
СДГ, нмоль сукцината/мг белка	0,24 [0,15; 0,5]	0,19 [0,11; 0,22] $p_{3-4} = 0,31$	0,3 [0,26; 0,35] $p_{2-5} = 0,71$ $p_{4-5} = 0,013$
Молочная кислота МФ, мкмоль/мг белка	6,76 [4,96; 8,77]	3,07 [2,69; 5,1] $p_{3-4} = 0,03$	7,63 [5,42; 10,09] $p_{2-5} = 0,16$ $p_{4-5} = 0,03$
Молочная кислота ЦФ, мкмоль/мг белка	1,12 [0,77; 1,49]	3,95 [1,95; 4,63] $p_{3-4} = 0,018$	2,35 [1,85; 2,99] $p_{2-5} = 0,014$ $p_{4-5} = 0,43$
ЛДГ МФ, у.е./мг белка	1685 [902; 2556]	3456 [2993; 3895] $p_{3-4} = 0,046$	3475 [2331; 5748] $p_{2-5} = 0,79$ $p_{4-5} = 0,79$
ЛДГ ЦФ, у.е./мг белка	5289 [4088; 5845]	8375 [7407; 10510] $p_{3-4} = 0,005$	6507 [4636; 8196] $p_{2-5} = 0,08$ $p_{4-5} = 0,16$
ЦО, у.е./мг белка	1,04 [0,84; 1,33]	0,26 [0,14; 0,37] $p_{3-4} = 0,003$	0,16 [0,1; 0,22] $p_{2-5} = 0,001$ $p_{4-5} = 0,27$

Примечания: L-Арг — L-аргинин; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; МФ — митохондриальная фракция; СДГ — сукцинатдегидрогеназа; ХНГ — хроническая нормобарическая гипоксия; ЦО — цитохромоксидаза; ЦФ — цитоплазматическая фракция

При коррекции гипоксии с помощью экзогенного L-арг наблюдалось нарастание концентрации лактата в митохондриях семенных пузырьков по сравнению с ХНГ, а в цитоплазме — количества HIF1 $\alpha$  и активности ЛДГ; в митохондриях головки эпидидимиса — увеличение уровня сукцината, молочной кислоты и активности ЛДГ; в митохондриях хвоста эпидидимиса — снижение активности ЦО, а в цитоплазме — возрастание содержания лактата и активности ЛДГ (табл. 1, 2). Сочетанное воздействие факторов (ХНГ + L-Арг) по сравнению с действием только L-Арг привело к повышению содер-

жания лактата в митохондриях семенных пузырьков; метаболитов NO и сукцината — в обеих частях придатка яичка; количества HIF1 $\alpha$  (МФ и ЦФ), молочной кислоты и активности ЦО — в головке эпидидимиса; активности СДГ — в митохондриях хвоста эпидидимиса.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Некоторые изменения, наблюдаемые в условиях получения экзогенного L-Арг, имеют сходную тенденцию с моделью ХНГ. В частности, это прослеживается



в накоплении молочной кислоты [26], HIF1 $\alpha$  [27] и в активности ЦО [25]. Повышение количества HIF1 $\alpha$ , вызванное влиянием различных веществ даже в условиях нормального напряжения кислорода, характеризуют как состояние *псевдогипоксии*. Транскрипционная активность HIF1 $\alpha$  способствует дальнейшим преобразованиям метаболизма, что объясняет характер изменений в концентрации лактата и активности ЦО. Другими словами, можно сказать, что L-Арг проявляет гипоксия-подобный (англ.: *hypoxia-like*) эффект.

Влияние L-арг на стабилизацию HIF1 $\alpha$  объясняет схожесть метаболического ответа в этой экспериментальной модели с ответом при ХНГ. Однако при этом наблюдается тканеспецифичность реакции. Так, в семенных пузырьках L-Арг способствовал почти полному соответствию изменений, характерных для гипоксии (увеличение концентрации лактата, количества HIF1 $\alpha$  и активности ЛДГ в цитоплазме, снижение активности ЦО), при этом в эксперименте с экзогенным получением животными L-Арг на фоне ХНГ накопление HIF1 $\alpha$  в цитоплазме происходило эффективнее, чем в условиях только гипоксии. Возможно, сочетанное влияние этих факторов произвело некоторый кумулятивный эффект, что и послужило причиной повышения активности ЛДГ в цитоплазме клеток семенных пузырьков относительно состояния гипоксии и накопления лактата относительно как ХНГ, так и L-Арг в митохондриях. Предположительно в основе этих изменений лежит опосредованная HIF активация экспрессии ЛДГ. Наблюдаемое снижение содержания HIF1 $\alpha$  в МФ в условиях гипоксии или при получении L-Арг можно связать с повышением его транскрипционной активности, вызванной систематическим воздействием этих факторов. Мы предполагаем, что за время эксперимента удалось добиться стабильного транскрипционного ответа, благодаря чему необходимость острого реагирования путем непосредственного связывания HIF1 $\alpha$  с белками внешней мембраны митохондрий становится менее значимой.

Отсутствие статистически значимых изменений в активности СДГ, но при этом истощение пула сукцината, как и накопление лактата, говорит о переключении работы ЭТЦ с основного поставщика протонов в условиях нормоксии комплекса I на работу комплекса II. Таким образом, клетка пытается компенсировать неэффективное в обсуждаемых условиях окисление кофермента НАДН, восстанавливая пируват в лактат, для поддержания работы гликолиза и цитратного цикла, а работа ЭТЦ поддерживается за счет окисления в основном сукцината. При этом получение L-Арг не повлияло на активность АТФ-синтазы.

В эпидидимисе эффект назначения экзогенного L-Арг оказался схожим с таковым в семенных пузырьках. Отличительной особенностью явилось накопление лактата в цитоплазме тканей и повышение активности ЛДГ в хвосте эпидидимиса. Ранее в наших

исследованиях мы описывали различия между функциональными участками придатка яичка в накоплении лактата и HIF1 $\alpha$  [25–27] в условиях ХНГ. Назначение экзогенного L-Арг демонстрирует противоположные эффекты: повышение активности ЛДГ в хвосте при отсутствии изменений в головке придатка яичка. Интересно, что у животных в группе ХНГ + L-Арг наблюдалось повышение активности ЦО в головке эпидидимиса, но в хвосте отмечалось самое низкое значение активности фермента. Повышение активности СДГ и накопление сукцината при этом могут свидетельствовать о перестройке работы ЭТЦ: в отсутствии эффективного транспорта электронов через цитохромоксидазу конечным акцептором может являться фумарат, что и приводит к увеличению концентрации сукцината, а также усилению его сигнальной функции и снижению образования АФК. Известно, что даже в условиях нормоксии ткани по-разному насыщены кислородом и хвост эпидидимиса отличается пониженным его содержанием, а также более активной экспрессией HIF1 $\alpha$  [24], в связи с чем можно сделать предположение о влиянии экзогенного аргинина при гипоксии на клетки хвоста эпидидимиса, как мощного стимула для сигналинга и переключения метаболизма на получение энергии путем гликолиза.

Понижение концентрации метаболитов оксида азота (II) при гипоксии можно объяснить возможным замедлением под влиянием HIF1 экспрессии ASS, отвечающей за биосинтез аргинина в большинстве тканей организма [2], следствием чего становится снижение биодоступности этой аминокислоты как субстрата для синтеза NO. Курсовое назначение экзогенного L-Арг в дозе 500 мг/кг массы тела не привело к ожидаемому повышению NO в тканях на момент завершения эксперимента. Объяснить данный феномен можно, с одной стороны, гипоксия-подобным эффектом L-Арг, а с другой стороны, активацией аргиназы с помощью нитрозилирования [4], что в совокупности способствовало снижению уровня метаболитов NO. Возможно, такой механизм лежит в основе адаптации тканей и защите их от избытка оксида азота (II).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Парентеральное получение животными L-Аргинина вызывает в клетках семенных пузырьков и хвоста эпидидимиса развитие псевдогипоксии, что частично усиливает эффекты, наблюдаемые при хронической нормобарической гипоксии. В головке эпидидимиса эта закономерность выражена меньше. Являясь предшественником оксида азота (II) L-Аргинин способствует понижению активности цитохромоксидазы во всех изучаемых тканях, увеличению роли гликолиза в эпидидимисе, о чем свидетельствует повышение активности лактатдегидрогеназы и накопление лактата.

Особенно выражены изменения в каудальном отделе придатка яичка, где также наблюдается реверсия работы сукцинатдегидрогеназы, что обеспечивает клетку лучшей защитой в условиях хронической нормобарической гипоксии. Таким образом, L-Аргинин проявляет гипоксия-подобный эффект посредством регуляции активности гипоксией индуцируемого фактора и ферментов, участвующих в энергетическом обмене, благодаря чему экзогенное назначение этой аминокислоты позволяет контролировать процессы при адаптации к дефициту кислорода.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНО

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Вклад авторов:** Марсянова Ю. А. — проведение основных этапов

исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи; Звягина В. И. — разработка концепции и дизайна исследования, оценка интерпретации данных, проверка и редактирование статьи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

**Funding.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflicts of interests.

**Contribution of the authors:** Yu. A. Marsyanova — carrying out the main stages of the study, collecting and processing material, statistical processing, analysis and interpretation of data, writing the text of the article; V. I. Zvyagina — development of the concept and design of the study, evaluation of data interpretation, review and editing of the article. The authors confirm the correspondence of their authorship to the ICMJE International Criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kuo M.T., Savaraj N., Feun L.G. Targeted cellular metabolism for cancer chemotherapy with recombinant arginine-degrading enzymes // *Oncotarget*. 2010. Vol. 1, No. 4. P. 246–251. doi: [10.18632/oncotarget.135](https://doi.org/10.18632/oncotarget.135)
2. Shin W., Cuong T.D., Lee J.H., et al. Arginase Inhibition by Ethylacetate Extract of *Caesalpinia sappan* Lignum Contributes to Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase // *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 2011. Vol. 15, No. 3. P. 123–128. doi: [10.4196/kjpp.2011.15.3.123](https://doi.org/10.4196/kjpp.2011.15.3.123)
3. Berkowitz D.E., White R., Li D., et al. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels // *Circulation*. 2003. Vol. 108, No. 16. P. 2000–2006. doi: [10.1161/01.CIR.0000092948.04444.C7](https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000092948.04444.C7)
4. Kim J.H., Bugaj L.J., Oh Y.J., et al. Arginase inhibition restores NOS coupling and reverses endothelial dysfunction and vascular stiffness in old rats // *J. Appl. Physiol.* 2009. Vol. 107, No. 4. P. 1249–1257. doi: [10.1152/japplphysiol.91393.2008](https://doi.org/10.1152/japplphysiol.91393.2008)
5. Liu P.-Q., Lu W., Pan J.-Y. Molecular mechanism of nitric oxide in preventing cardiomyocytes from hypertrophic response induced by angiotensin II // *Sheng Li Xue Bao*. 2002. Vol. 54, No. 3. P. 213–218.
6. Agawa H., Ikuta K., Minamiyama Y., et al. Down-regulation of spontaneous Epstein-Barr virus reactivation in the P3HR-1 cell line by L-arginine // *Virology*. 2002. Vol. 304, No. 1. P. 114–124. doi: [10.1006/viro.2002.1709](https://doi.org/10.1006/viro.2002.1709)
7. Prieto C.P., Krause B.J., Quezada C., et al. Hypoxia-reduced nitric oxide synthase activity is partially explained by higher arginase-2 activity and cellular redistribution in human umbilical vein endothelium // *Placenta*. 2011. Vol. 32, No. 12. P. 932–940. doi: [10.1016/j.placenta.2011.09.003](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2011.09.003)
8. Ito K., Chen J., Seshan S.V., et al. Dietary arginine supplementation attenuates renal damage after relief of unilateral ureteral obstruction in rats // *Kidney Int.* 2005. Vol. 68, No. 2. P. 515–528. doi: [10.1111/j.1523-1755.2005.00429.x](https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00429.x)
9. Гудырев О.С., Файтельсон А.В., Соболев М.С., и др. Изучение остеопротективного действия L-аргинина, L-норвалина и розувастатина на модели гипэстроген-индуцированного остеопороза у крыс // *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2019. Т. 27, № 3. С. 325–332. doi: [10.23888/PAVLOVJ2019273325-332](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2019273325-332)
10. Урясьев О.М., Шаханов А.В., Канатбекова Ж.К. Оксид азота и регуляторы его синтеза при хронической обструктивной болезни легких // *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2021. Т. 29, № 3. С. 427–434. doi: [10.17816/PAVLOVJ62681](https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ62681)
11. Bednov A., Espinoza J., Betancourt A., et al. L-arginine prevents hypoxia-induced vasoconstriction in dual-perfused human placental cotyledons // *Placenta*. 2015. Vol. 36, No. 11. P. 1254–1259. doi: [10.1016/j.placenta.2015.08.012](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.08.012)
12. Kim N.N., Christianson D.W., Traish A.M. Role of arginase in the male and female sexual arousal response // *J. Nutr.* 2004. Vol. 134, No. 10. P. 2873S–2879S, 2895S. doi: [10.1093/jn/134.10.2873S](https://doi.org/10.1093/jn/134.10.2873S)
13. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мжаванадзе Н.Д., и др. Метаболиты оксида азота при развитии осложнений после открытых реконструктивных вмешательств у пациентов с периферическим атеросклерозом // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2021. Т. 9, № 3. С. 407–414. doi: [10.23888/HMJ202193407-414](https://doi.org/10.23888/HMJ202193407-414)
14. Todoroki S., Goto S., Urata Y., et al. High concentration of L-arginine suppresses nitric oxide synthase activity and produces reactive oxygen species in NB9 human neuroblastoma cells // *Mol. Med.* 1998. Vol. 4, No. 8. P. 515–524.
15. Huang Z., Huang P.L., Panahian N., et al. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase // *Science*. 1994. Vol. 265, No. 5180. P. 1883–1885. doi: [10.1126/science.7522345](https://doi.org/10.1126/science.7522345)
16. Moro M.A., Cárdenas A., Hurtado O., et al. Role of nitric oxide after brain ischaemia // *Cell Calcium*. 2004. Vol. 36, No. 3–4. P. 265–275. doi: [10.1016/j.ceca.2004.02.011](https://doi.org/10.1016/j.ceca.2004.02.011)
17. Li F., Sonveaux P., Rabbani Z.N., et al. Regulation of HIF-1α stability through S-nitrosylation // *Mol. Cell*. 2007. Vol. 26, No. 1. C. 63–74. doi: [10.1016/j.molcel.2007.02.024](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.02.024)
18. Fong G.-H., Takeda K. Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins // *Cell Death Differ.* 2008. Vol. 15, No. 4. C. 635–641. doi: [10.1038/cdd.2008.10](https://doi.org/10.1038/cdd.2008.10)
19. Selak M.A., Armour S.M., MacKenzie E.D., et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-α prolyl hydroxylase // *Cancer Cell*. 2005. Vol. 7, No. 1. P. 77–85. doi: [10.1016/j.ccr.2004.11.022](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.11.022)

20. Iommarini L., Porcelli A.M., Gasparre G., et al. Non-Canonical Mechanisms Regulating Hypoxia-Inducible Factor 1 Alpha in Cancer // *Front. Oncol.* 2017. Vol. 7. P. 286. doi: [10.3389/fonc.2017.00286](https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00286)

21. Banerjee R., Kumar R. Gas regulation of complex II reversal via electron shunting to fumarate in the mammalian ETC // *Trends Biochem. Sci.* 2022. Vol. 47, No. 8. P. 689–698. doi: [10.1016/j.tibs.2022.03.011](https://doi.org/10.1016/j.tibs.2022.03.011)

22. Pahima H., Reina S., Tadmor N., et al. Hypoxic-induced truncation of voltage-dependent anion channel 1 is mediated by both asparagine endopeptidase and calpain 1 activities // *Oncotarget.* 2018. Vol. 9, No. 16. P. 12825–12841. doi: [10.18632/oncotarget.24377](https://doi.org/10.18632/oncotarget.24377)

23. Al Khayal A.M., Balaraj F.K., Alferayan T.A., et al. Empirical therapy for male factor infertility: Survey of the current practice // *Urol. Ann.* 2021. Vol. 13, No. 4. P. 346–350. doi: [10.4103/UA.UA.22\\_20](https://doi.org/10.4103/UA.UA.22_20)

24. Palladino M.A., Powell J.D., Korah N., et al. Expression and Localization of Hypoxia-Inducible Factor-1 Subunits in the Adult Rat

*Epididymis* // *Biol. Reprod.* 2004. Vol. 70, No. 4. P. 1121–1130. doi: [10.1095/biolreprod.103.023085](https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023085)

25. Марсянова Ю.А., Звягина В.И., Сучкова О.Н. Способ моделирования нормобарической хронической гипоксии у крыс самцов сток WISTAR // *Наука молодых (Eruditio Juvenium).* 2022. Т. 10, № 2. С. 147–156. doi: [10.23888/HMJ2022102147-156](https://doi.org/10.23888/HMJ2022102147-156)

26. Марсянова Ю.А., Звягина В.И. Влияние сукцината на некоторые показатели биоэнергетического обмена в семенных пузырьках и эпидидимисе у самцов крыс в условиях хронической гипоксии // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2021. Т. 24, № 2. С. 49–54. doi: [10.29296/25877313-2021-02-08](https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-08)

27. Марсянова Ю.А., Звягина В.И. Изменение количества HIF1α при хронической нормобарической гипоксии и на фоне получения сукцината // *Известия ГГТУ. Медицина, фармацевтика.* 2021. № 4. С. 72–80.

## REFERENCES

1. Kuo MT, Savaraj N, Feun LG. Targeted cellular metabolism for cancer chemotherapy with recombinant arginine-degrading enzymes. *Oncotarget.* 2010;1(4):246–51. doi: [10.18632/oncotarget.135](https://doi.org/10.18632/oncotarget.135)
2. Shin W, Cuong TD, Lee JH, et al. Arginase Inhibition by Ethylacetate Extract of *Caesalpinia sappan* Lignum Contributes to Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2011;15(3):123–8. doi: [10.4196/kjpp.2011.15.3.123](https://doi.org/10.4196/kjpp.2011.15.3.123)
3. Berkowitz DE, White R, Li D, et al. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation.* 2003;108(16):2000–6. doi: [10.1161/01.CIR.0000092948.04444.C7](https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000092948.04444.C7)
4. Kim JH, Bugaj LJ, Oh YJ, et al. Arginase inhibition restores NOS coupling and reverses endothelial dysfunction and vascular stiffness in old rats. *J Appl Physiol.* 2009;107(4):1249–57. doi: [10.1152/jappphysiol.91393.2008](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91393.2008)
5. Liu P-Q, Lu W, Pan J-Y. Molecular mechanism of nitric oxide in preventing cardiomyocytes from hypertrophic response induced by angiotensin II. *Sheng Li Xue Bao.* 2002;54(3):213–8. (In Chin.).
6. Agawa H, Ikuta K, Minamiyama Y, et al. Down-regulation of spontaneous Epstein-Barr virus reactivation in the P3HR-1 cell line by L-arginine. *Virology.* 2002;304(1):114–24. doi: [10.1006/viro.2002.1709](https://doi.org/10.1006/viro.2002.1709)
7. Prieto CP, Krause BJ, Quezada C, San Martin R, Sobrevia L, Casanello P. Hypoxia-reduced nitric oxide synthase activity is partially explained by higher arginase-2 activity and cellular redistribution in human umbilical vein endothelium. *Placenta.* 2011;32(12):932–40. doi: [10.1016/j.placenta.2011.09.003](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2011.09.003)
8. Ito K, Chen J, Seshan SV, et al. Dietary arginine supplementation attenuates renal damage after relief of unilateral ureteral obstruction in rats. *Kidney Int.* 2005;68(2):515–28. doi: [10.1111/j.1523-1755.2005.00429.x](https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00429.x)
9. Gudyrev OS, Faitelson AV, Sobolev MS, et al. A study of osteoprotective effect of L-arginine, L-norvaline and rosuvastatin on a model of hypoestrogen-induced osteoporosis in rats. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2019;27(3):325–32. (In Russ). doi: [10.23888/PAVLOVJ2019273325-332](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2019273325-332)
10. Uryas'yev OM, Shakhnov AV, Kanatbekova ZhK. Nitric oxide and regulators of its synthesis in chronic obstructive pulmonary disease. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2021;29(3):427–34. (In Russ). doi: [10.17816/PAVLOVJ62681](https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ62681)
11. Bednov A, Espinoza J, Betancourt A, et al. L-arginine prevents hypoxia-induced vasoconstriction in dual-perfused human placental cotyledons. *Placenta.* 2015;36(11):1254–9. doi: [10.1016/j.placenta.2015.08.012](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.08.012)
12. Kim NN, Christianson DW, Traish AM. Role of arginase in the male and female sexual arousal response. *J Nutr.* 2004;134(10 Suppl):2873S–9S; discussion 2895S. doi: [10.1093/jn/134.10.2873S](https://doi.org/10.1093/jn/134.10.2873S)
13. Kalinin RE, Suchkov IA, Mzhavanadze ND, et al. Nitric oxide metabolites in complications after open reconstructive procedures in patients with peripheral atherosclerosis. *Nauka Molodykh (Eruditio Juvenium).* 2021;9(3):407–14. (In Russ). doi: [10.23888/HMJ202193407-414](https://doi.org/10.23888/HMJ202193407-414)
14. Todoroki S, Goto S, Urata Y, et al. High concentration of L-arginine suppresses nitric oxide synthase activity and produces reactive oxygen species in NB9 human neuroblastoma cells. *Mol Med.* 1998;4(8):515–24.
15. Huang Z, Huang PL, Panahian N, et al. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science.* 1994;265(5180):1883–5. doi: [10.1126/science.7522345](https://doi.org/10.1126/science.7522345)
16. Moro MA, Cardenas A, Hurtado O, et al. Role of nitric oxide after brain ischaemia. *Cell Calcium.* 2004;36(3–4):265–75. doi: [10.1016/j.ceca.2004.02.011](https://doi.org/10.1016/j.ceca.2004.02.011)
17. Li F, Sonveaux P, Rabbani ZN, et al. Regulation of HIF-1α stability through S-nitrosylation. *Mol Cell.* 2007;26(1):63–74. doi: [10.1016/j.molcel.2007.02.024](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.02.024)
18. Fong G-H, Takeda K. Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins. *Cell Death Differ.* 2008;15(4):635–641. doi: [10.1038/cdd.2008.10](https://doi.org/10.1038/cdd.2008.10)
19. Selak MA, Armour SM, MacKenzie ED, et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-α prolyl hydroxylase. *Cancer Cell.* 2005;7(1):77–85. doi: [10.1016/j.ccr.2004.11.022](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.11.022)
20. Iommarini L, Porcelli AM, Gasparre G, et al. Non-Canonical Mechanisms Regulating Hypoxia-Inducible Factor 1 Alpha in Cancer. *Front Oncol.* 2017;7:286. doi: [10.3389/fonc.2017.00286](https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00286)
21. Banerjee R, Kumar R. Gas regulation of complex II reversal via electron shunting to fumarate in the mammalian ETC. *Trends Biochem Sci.* 2022;47(8):689–98. doi: [10.1016/j.tibs.2022.03.011](https://doi.org/10.1016/j.tibs.2022.03.011)
22. Pahima H, Reina S, Tadmor N, et al. Hypoxic-induced truncation of voltage-dependent anion channel 1 is mediated by both asparagine endopeptidase and calpain 1 activities. *Oncotarget.* 2018;9(16):12825–41. doi: [10.18632/oncotarget.24377](https://doi.org/10.18632/oncotarget.24377)
23. Al Khayal AM, Balaraj FK, Alferayan TA, et al. Empirical therapy for male factor infertility: Survey of the current practice. *Urol Ann.* 2021;13(4):346–50. doi: [10.4103/UA.UA.22\\_20](https://doi.org/10.4103/UA.UA.22_20)
24. Palladino MA, Powell JD, Korah N, et al. Expression and Localization of Hypoxia-Inducible Factor-1 Subunits in the Adult Rat Epididymis. *Biol Reprod.* 2004;70(4):1121–30. doi: [10.1095/biolreprod.103.023085](https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023085)

25. Marsyanova YuA, Zvyagina VI, Suchkova ON. Method of Modeling of Normobaric Chronic Hypoxia in Male Rats of WISTAR Line. *Nauka Molodykh (Eruditio Juvenium)*. 2022;10(2):147–56. (In Russ). doi: [10.23888/HMJ2022102147-156](https://doi.org/10.23888/HMJ2022102147-156)

26. Marsyanova YA, Zvyagina VI. Influence of succinate on some indicators of bioenergy metabolism in seminal vesicles and epididymis

in male rats under conditions of chronic hypoxia. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2021;24(2):49–54. (In Russ). doi: [10.29296/25877313-2021-02-08](https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-08)

27. Marsyanova YA, Zvyagina VI. Change in the amount of HIF1α in chronic normobaric hypoxia and in the background of receiving succinate. *Izvestiya GGTU. Meditsina, Farmatsiya*. 2021;(4):72–80. (In Russ).

## ОБ АВТОРАХ

**\*Марсянова Юлия Александровна;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4948-4504>;

eLibrary SPIN: 4075-3169; e-mail: [yuliyamarsyanova@yahoo.com](mailto:yuliyamarsyanova@yahoo.com)

**Звягина Валентина Ивановна, к.б.н., доцент;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2800-5789>;

eLibrary SPIN: 7553-8641; e-mail: [vizvyagina@yandex.ru](mailto:vizvyagina@yandex.ru)

## AUTHOR'S INFO

**\*Yuliya A. Marsyanova;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4948-4504>;

eLibrary SPIN: 4075-3169; e-mail: [yuliyamarsyanova@yahoo.com](mailto:yuliyamarsyanova@yahoo.com)

**Valentina I. Zvyagina, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2800-5789>;

eLibrary SPIN: 7553-8641; e-mail: [vizvyagina@yandex.ru](mailto:vizvyagina@yandex.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author