

было выявлено параллельное усиление процессов свободнорадикального окисления с накоплением продуктов перекисного окисления липидов в исследуемом органе.

2. Активация эндогенной агрессии после острой остановки кровообращения на фоне окислительного стресса в тканях глазного яблока, сопровождающегося нарушением равновесия между прооксидантной и антиоксидантной системами, может обуславливать вовлечение глазного яблока в формирование его в качестве органа мишени для развития офтальмопатологии не только ишемического, но и воспалительно-го характера токсического аутоиммунного генеза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аниховская И.А., Опарина О.Н., Яковлева М.М., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома // Физиол. человека. — 2006. — Т. 32, №2. — С. 87-91. [Anikhovskaya I.A., Oparina O.N., Yakovleva M.M., Yakovlev M.Yu. Intestinal endotoxin as a universal factor of adaptation and pathogenesis of general adaptation syndrome. *Fiziologiya cheloveka*. 2006; 32 (2): 87-91. (In Russ.)]
2. Григорьев Е.Г., Лешманов Ю.Б., Галеев Ю.М. и др. Патологические механизмы бактериального эндотоксикоза при распространённом перитоните // Патол. физиол. и эксперим. терап. — 2009. — №2. — С. 33-36. [Grigoriev E.G., Lishmanov Yu.B., Galeev Yu.M. et al. Pathophysiological mechanisms of bacterial endotoxemia in disseminated peritonitis. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2009; 2: 33-36. (In Russ.)]
3. Гринев М.В., Гринев К.М. Цитокин-ассоциированные нарушения микроциркуляции (ишемически-реперфузионный синдром) в генезе критических состояний // Хирургия. Ж. им. Н.И. Пирогова — 2010. — №12. — С. 70-76. [Grinev M.V., Grinev K.M. The role of ischemic-reperfusion syndrome in critical state pathology. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2010; 12: 70-76. (In Russ.)]

4. Збаражский Ю.В. Значение перекисного окисления липидов в формировании дисфункций нейтрофилов у новорождённых с бактериальным менингитом // Украин. ж. экстремальной медицины им. Г.О. Можаяева. — 2013. — Т. 14, №1. — С. 106-109. [Zbarazhskii Y.V. Value lipid peroxidation in organization dysfunction of neutrophils in newborns with bacterial meningitis. *Ukrayins'kyi zhurnal ekstremal'noyi medytsyny im. H.O. Mozhaeva*. 2013; 14 (1): 106-109. (In Russ.)]

5. Касымова Е.Б., Башкина О.А., Галимзянов Х.М. и др. Оптимизация фармакотерапии у детей с острой Эпштейна-Барр вирусной инфекцией // Эксперим. и клин. фармакол. — 2014. — Т. 77, №1. — С. 26-29. [Kasymova E.B., Bashkina O.A., Galimzyanov H.M. et al. Reamberin optimizes drug therapy in children with acute Epstein-Barr viral infection. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2014; 77 (1): 26-29. (In Russ.)]

6. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферент. терап. — 2000. — Т. 6, №4. — С. 3-14. [Malakhova M.Ya. Endogenous intoxication as the reflection of the compensatory metabolic alterations of human body. *Efferentnaya terapiya*. 2000; 6 (4): 3-14. (In Russ.)]

7. Поддубный И.В., Мешков М.В., Майский И.А. и др. Эндотоксикоз в патогенезе послеоперационных осложнений у детей с болезнью Гиршпрунга // Хирургия. Ж. им. Н.И. Пирогова. — 2013. — №12. — С. 56-60. [Poddubnyi I.V., Meshkov M.V., Maïskii I.A. et al. The endotoxine aggression in the pathogenesis of postoperative complications in children with Hirschsprung disease. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2013; 12: 56-60. (In Russ.)]

8. Юрьева Э.А., Омарова З.М., Османов И.М. и др. Маркёры эндогенной интоксикации у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. — 2013. — Т. 58, №1. — С. 50-57. [Yuryeva E.A., Omarova Z.M., Osmanov I.M. Endogenous intoxication markers in children with gastrointestinal tract diseases. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2013; 58 (1): 50-57. (In Russ.)]

9. Kozhich A.T., Chan C.C., Gery I., Whitcup M. Recurrent intraocular inflammation in endotoxin-induced uveitis // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2000. — Vol. 41, N 7. — P. 1823-1826.

10. Mulholland B., Marks M., Lightman S.L. Anterior uveitis and its relation to stress // Br. J. Ophthalmol. — 2000. — Vol. 84, N 10. — P. 1121-1124.

УДК 612.084: 616.697: 616.682-008.9: 615.225

## ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПРИДАТКА ЯИЧКА КРЫС В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА (II)

Валентина Ивановна Звягина\*, Эдуард Сергеевич Бельских, Дмитрий Валерьевич Медведев, Наталья Александровна Головач

Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия

#### Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-814

**Цель.** Изучить содержание метаболитов оксида азота (II), лактата, эндогенного карнитина и активности митохондриальных оксидоредуктаз ткани придатка яичка (эпидидимиса) в условиях дефицита синтеза оксида азота и, исходя из полученных данных, дать оценку функционального состояния митохондрий эпидидимиса крыс.

**Методы.** 16 крыс линии Вистар были разделены на две равные группы. Первой группе в течение 7 дней вводили неселективный ингибитор NO-синтазы L-<sup>N</sup>-нитроаргина метилэфир (L-NAME) в дозе 25 мг/кг. Второй группе (контрольной) в течение 7 дней внутривентрикулярно вводили 0,9% раствор натрия хлорида. Из ткани

придатка яичка (головки и хвоста) получали гомогенат и выделяли из него митохондрии методом дифференциального центрифугирования, где определяли активность митохондриальных ферментов (лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы и супероксиддисмутазы), а также измеряли концентрацию метаболитов NO, лактата, общего белка и эндогенного карнитина.

**Результаты.** В группе, получавшей L-NAME 25 мг/кг, по сравнению с контрольной группой статистически значимо ( $p < 0,05$ ) снижалась (в митохондриях тканей головки и хвоста эпидидимиса соответственно) активность сукцинатдегидрогеназы на 55 и 68%, лактатдегидрогеназы – на 78 и 92%, супероксиддисмутазы – на 16 и 43%, количество метаболитов NO сокращалось на 18 и 30%, количество лактата увеличивалось на 43 и 35%, при этом в хвосте придатка яичка на 25% уменьшалась доля связанного карнитина. Изменение концентрации карнитина в ткани головки эпидидимиса не носило статистически значимого характера.

**Вывод.** При L-NAME-индуцированном дефиците NO в митохондриях тканей придатка яичка происходило статистически значимое снижение активности митохондриальных оксидоредуктаз и накопление лактата, что указывало на развитие вторичной митохондриальной дисфункции.

**Ключевые слова:** L-карнитин, NO, митохондриальная дисфункция, придаток яичка, эпидидимис, L-NAME.

## STUDYING THE FUNCTIONAL CONDITION OF RAT EPIDIDYMISS MITOCHONDRIA AT NITRIC OXIDE (II) SYNTHESIS CHANGE

Zvyagina V.I., Bel'skikh E.S., Medvedev D.V., Golovach N.A.

Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russia

**Aim.** To study the levels of nitric oxide (II) metabolites, lactate, endogenous carnitine and mitochondrial oxidoreductase activity in epididymis tissue at nitric oxide low synthesis and, based on the obtained data, to assess the functional condition of rat epididymis mitochondria.

**Methods.** 16 Wistar rats were allocated to two equal groups: The first group was administered L-N<sup>G</sup>-nitroarginine methyl ester (L-NAME), which is non-selective NO-synthase inhibitor, at a dose of 25 mg/kg for 7 days. The second group (the control group) got 0.9% sodium chloride solution administered as intraperitoneal injection for 7 days. Homogenate was obtained from epididymis tissue (head and tail), and mitochondria were isolated from it by differential centrifugation. Activities of mitochondrial enzymes (lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase and superoxide dismutase) were measured, as well as concentrations of NO metabolites, lactate, total protein and endogenous carnitine.

**Results.** Activity of succinate dehydrogenase was significantly decreased by 55 and 68%, lactate dehydrogenase activity – by 78 and 92%, superoxide dismutase – by 16 and 43% in the mitochondria of epididymis head and tail tissue, respectively in the group receiving 25 mg/kg of L-NAME, compared to the control group. The concentrations of NO metabolites decreased by 18 and 30%, lactate levels increased by 43 and 35%, the share of bounded carnitine decreased by 25% in epididymis tail. Changes of carnitine concentrations in epididymis head were non-significant.

**Conclusion.** In L-NAME-induced deficiency of NO in epididymis tissues mitochondria, statistically significant decrease in the activity of mitochondrial oxidoreductases and lactate accumulation was noticed, indicating the development of secondary mitochondrial dysfunction.

**Keywords:** L-carnitine, NO, mitochondrial dysfunction, epididymis, L-NAME.

Митохондриальная дисфункция может приводить к разнообразным метаболическим нарушениям (в том числе окислительного фосфорилирования и метаболизма жирных кислот), способствующим развитию оксидативного стресса, связанному с избыточным образованием активных форм кислорода [9].

В связи с накоплением информации о роли активных форм кислорода идёт интенсивное обсуждение проблемы оксидативного стресса и митохондриальной дисфункции в развитии нарушений репродуктивной функции у мужчин [13]. Среди причин, способствующих развитию митохондриальной дисфункции, особую роль отводят сосудистым заболеваниям, неотъемлемый атрибут которых – снижение синтеза оксида азота (II) (NO) и развитие эндотелиальной дисфункции [11, 13].

Необходимо отметить, что ряд исследователей [8, 13] отмечают важный вклад ткани придатка яичка (эпидидимиса) в реализацию репродуктивной функции, а также специфичную для него самую высокую концентрацию среди других органов и тканей

L-карнитина, снижающуюся при состояниях, связанных с бесплодием у мужчин.

В связи с этим целью настоящего исследования стала оценка функционального состояния митохондрий эпидидимиса крыс на основе изучения содержания метаболитов NO (II), лактата, эндогенного карнитина и активности митохондриальных оксидоредуктаз тканей придатка яичка (головки и хвоста) в модели дефицита синтеза оксида азота.

Исследование проведено на 16 крысах-самцах линии Вистар с массой тела 230–270 г. Крысы были разделены на две группы по 8 животных. Животным первой (основной) группы ежедневно в течение 7 дней 1 раз в сутки внутривентриально вводили L-N<sup>G</sup>-нитроаргинина метиловый эфир (L-NAME, производство «Sigma») – неспецифичный ингибитор NO-синтазы в дозе 25 мг/кг. Вторая группа служила контролем, животным этой группы вводили 0,9% раствор натрия хлорида в соответствии со схемой введения основной группы. Выбор доз осуществляли на основе литературных данных [6].

Определение показателей функционального состояния митохондрий эпидидимиса крыс в условиях моделирования L-NAME-индуцированного дефицита синтеза NO (II)

Исследуемые показатели/группы	Головка эпидидимиса		Хвост эпидидимиса	
	NaCl 0,9% в/б	L-NAME 25 мг/кг в/б	NaCl 0,9% в/б	L-NAME 25 мг/кг в/б
Общий белок митохондриальной фракции, мг/мл	1 [0,8; 1,5]	2 [1,9; 2,3]*	1,7 [1,5; 2,0]	1,9 [1,5; 2,0]
Концентрация метаболитов NO (мкмоль/мг белка в пробе)	176 [163; 191]	144 [131; 148]*	165 [153; 183]	115 [97; 140]*
Концентрация лактата (мкмоль/мг белка)	14 [13; 16]	20 [17; 22]*	17 [14; 21]	23 [22; 26]*
Активность ЛДГ (ЕД/мг белка)	9 [9; 13]	2 [2; 3]*	12 [11; 20]	1 [1; 3]*
Активность СДГ (нмоль сукцината/мин на 1 г белка)	31 [29; 31]	14 [11; 15]*	38 [29; 52]	12 [8; 19]*
Активность СОД (оптическая плотность, у.е./мг белка)	6 [6; 7]	5 [4; 5]*	14 [13; 14]	8 [7; 10]*
Карнитин общий, мкмоль/мг белка ткани	83 [67; 95]	85 [67; 102]	50 [43; 52]	6 [5; 6]*
Карнитин свободный, мкмоль/мг белка ткани	60 [46; 70]	69 [54; 82]	29 [25; 31]	5 [5; 5]*
Карнитин связанный, мкмоль/мг белка ткани	23 [20; 26]	20 [17; 21]	19 [18; 21]	1 [1; 1]*
Соотношение карнитин свободный / карнитин общий	0,29 [0,28; 0,3]	0,21 [0,2; 0,24]	0,42 [0,38; 0,43]	0,17 [0,15; 0,18]*

Примечание: в/б – внутривенно; NO – оксид азота (II); ЛДГ – митохондриальная лактатдегидрогеназа; СДГ – сукцинатдегидрогеназа; СОД – митохондриальная супероксиддисмутаза; \*p < 0,05; результаты представлены в виде медианы [квартиль 1; квартиль 3].

Из ткани придатка яичка с помощью гомогенизатора «Potter S» получали гомогенат, затем выделяли из него митохондрии методом дифференциального центрифугирования [7]. Осадок, содержащий митохондрии, ресуспендировали в субстрате выделения и далее использовали для определения активности митохондриальных ферментов (лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, митохондриальной Mn-зависимой супероксиддисмутаза), а также для измерения концентрации метаболитов NO, лактата и карнитина.

Общее содержание белка по методу Лоури, лактата и лактатдегидрогеназы в пробах измеряли с помощью стандартизированных диагностических систем «DiaSys Diagnostic Systems». Активность сукцинатдегидрогеназы определяли с помощью метода, основанного на определении восстановленного гексацианоферрата [7]. Активность супероксиддисмутаза исследовали при помощи метода, основанного на торможении реакции аутоокисления кверцетина [3]. Определение метаболитов NO проводили с помощью метода в модификации В.А. Метельской на иммуноферментном анализаторе «StatFax 3200» [5].

Концентрацию карнитина в митохондриях головки и хвоста эпидидимиса

крыс определяли по методу L. Wan и R.W. Hubbard, основанному на образовании свободного КоASH, реагирующего неэнзиматически с 5,5-дифенил-2-нитробензоатом (DTNB) с образованием окрашенного 5-тио-2-нитробензоата, интенсивность которого измеряли спектрофотометрически при  $\lambda=410$  нм [14]. Динамику концентрации карнитина исследовали, измеряя количество общего и свободного карнитина, вычисляя количество связанного карнитина по разнице между ними и определяя соотношение «связанный карнитин / общий карнитин».

Для выявления различий между независимыми группами применяли U-критерий Манна-Уитни с использованием программы «StatPlus 2009». Уровень различий рассматривали как статистически значимый при вероятности ошибки p < 0,05.

Исходя из полученных результатов, следовало, что L-NAME в дозе 25 мг/кг статистически значимо приводил к снижению концентрации метаболитов NO и вместе с тем повышал содержание лактата в митохондриях тканей эпидидимиса по сравнению с показателями животных контрольной группы. Под действием L-NAME в тканях придатка яичка происходило снижение активности всех трёх изучаемых оксидоредуктаз (табл. 1).

Снижение концентрации метаболитов NO в митохондриях тканей эпидидимиса (на 18% в головке и 30% в хвосте эпидидимиса,  $p < 0,05$ ), вероятно, было связано с ингибированием митохондриальной синтазы оксида азота за счёт непосредственного воздействия L-NAME [1].

Как следует из табл. 1, более выраженное снижение активности оксидоредуктаз происходило в митохондриях тканей хвоста: активность лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы в митохондриях головки снижалась соответственно на 78, 55 и 16% ( $p < 0,05$ ), а в митохондриях хвоста придатка — на 92, 68 и 43% ( $p < 0,05$ ).

Митохондриальная лактатдегидрогеназа — составная часть митохондриального лактат-окисляющего комплекса, обеспечивающего дегидрирование лактата и одновременно транспорт образующегося пирувата в митохондрию [4].

В тканях придатка яичка обнаружен прирост концентрации внутримитохондриального лактата (на 43% в головке и на 35% в ткани хвоста эпидидимиса,  $p < 0,05$ ), что на фоне снижения активности лактатдегидрогеназы в митохондриях указывало на уменьшение потребления лактата митохондриями в качестве источника энергии.

По данным ряда исследователей, перемещение лактата в митохондрии с его последующим окислением там является предпочтительным и определяет скорость выделения лактата из клетки [4]. В связи с этим допустимо предположение, что снижение процессов митохондриального окисления лактата при увеличении его внутримитохондриальной концентрации в сравнении с показателями контрольной группы указывало на изменение метаболизма митондрий тканей эпидидимиса под действием L-NAME. Данные изменения характерны для активизации процессов анаэробного гликолиза, когда образуется избыточное количество лактата, который не может быть утилизирован митохондриями в клетки.

Снижение активности сукцинатдегидрогеназы в показателях животных опытной группы также указывало на изменения метаболизма, характерные для анаэробного гликолиза, типичного для гипоксических состояний, — когда снижается активность пируватдегидрогеназного комплекса, повышается соотношение восстановленной и окисленной форм никотинамиддинуклеотида (NADH/NAD<sup>+</sup>) и уменьшается активность ферментов цикла трикарбоновых кислот.

Выраженность изменений концентрации карнитина и активности супероксиддисмутаза в условиях воздействия L-NAME в головке и хвосте придатка яичка различалась, что позволяет говорить о различной способности митондрий тканей эпидидимиса адаптировать свой метаболизм. Это проявлялось как более значительным снижением концентрации метаболитов NO и снижением активности супероксиддисмутаза, так и более выраженными изменениями содержания карнитина в митохондриях тканей хвоста эпидидимиса (общее его количество статистически значимо снижалось на 88%, а соотношение «связанный / свободный карнитин» уменьшалось с 0,42 до 0,17,  $p < 0,05$ ).

Изменение концентрации эндогенного карнитина, возможно, свидетельствовало об адаптивном сдвиге в митохондриях ткани хвоста придатка, направленном на поддержание уровня процессов синтеза аденозинтрифосфата (АТФ). Исходя из результатов, представленных в табл. 1, следовало, что в условиях анаэробного гликолиза в ткани хвоста изменения показателей карнитина, вероятно, указывали на ограничение возможностей митондрий к  $\beta$ -окислению жирных кислот и выведение избытка токсичных ацильных интермедиатов из клетки в виде ацил-карнитинов [8, 15]. В то же время статистически значимое снижение концентрации общего карнитина в митохондриях ткани хвоста служило маркёром развития репродуктивных нарушений [8].

Супероксиддисмутаза служит частью антиоксидантной защиты митондрии, снижение её активности могло быть обусловлено уменьшением синтеза активных форм кислорода на комплексах I, II и III [12]. По данным ряда исследователей, уменьшение образования активных форм кислорода, следовательно, и активности супероксиддисмутаза возможно в случае накопления аденозиндифосфата (АДФ) [2, 12]. Таким образом, если рассматривать активность этого фермента как косвенный показатель интенсивности клеточного дыхания, то можно сделать вывод о более выраженном увеличении концентрации АДФ и соответствующем снижении содержания АТФ в митохондриях тканей хвоста эпидидимиса по сравнению с головкой под действием L-NAME [2].

Таким образом, моделирование L-NAME-индуцированной системной эндотелиальной дисфункции, вероятно, было связано с развитием гипоксических изменений в



тканях придатка яичка и, исходя из полученных данных, способствовало формированию условий, предрасполагающих к развитию митохондриальной дисфункции тканей хвоста эпидидимиса.

## ВЫВОДЫ

1. При L-NAME-индуцированном снижении концентрации метаболитов NO в митохондриях тканей придатка яичка происходит статистически значимое уменьшение активности митохондриальных оксидоредуктаз и накопление лактата, что указывает на развитие вторичной митохондриальной дисфункции.

2. Уменьшение концентрации метаболитов NO способно вызывать нарушение репродуктивной функции, на что указывает статистически значимое снижение содержания общего карнитина в митохондриях ткани хвоста придатка.

3. Изменения в условиях L-NAME-индуцированного дефицита NO в митохондриях более выражены в тканях хвоста эпидидимиса, что, возможно, указывает на их меньший адаптивный потенциал по сравнению с митохондриями тканей головки при состояниях, связанных с развитием митохондриальной дисфункции.

*Источник финансирования: ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава РФ.*

*Конфликт интересов: отсутствует.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. Монография. — М.: Вузовская книга, 2004. — 360 с. [Granic V.G., Grigor'ev N.B. *Oksid azota (NO). Novyy put' k poisku lekarstv. Monografiya.* (Nitrogen oxide (NO). New way of drug development. Monograph.) Moscow: Vuzovskaya kniga. 2004; 360 p. (In Russ.)]
2. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. Генерация активных форм кислорода митохондриями // Успехи биол. химии. — 2013. — №53. — С. 245-296. [Grivennikova V.G., Vinogradov A.D. Generation of active oxygen forms by mitochondria. *Uspekhi biologicheskoy khimii.* 2013; 53: 245-296. (In Russ.)]
3. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалёва Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. — 1990. — №2. — С. 88-91. [Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V. Easy and sensitive way of determining superoxide dismutase activity, based on quercetin oxidation. *Voprosy meditsinskoj khimii.* 1990; 2: 88-91. (In Russ.)]
4. Мецеракова О.В., Чурова М.В., Немова Н.Н. Митохондриальный лактат-окисляющий комплекс и его

значение для поддержания энергетического гомеостаза клеток. В кн.: Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Т. 1. Экологическая физиология и биохимия водных организмов. Сборник научных статей. — Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. — С. 163-172. [Meshcheryakova O.V., Churova M.V., Nemova N.N. Mitochondrial lactate-oxidative complex and its influence on maintaining cell energy homeostasis, in *Sovremennyye problemy fiziologii i biokhimii vodnykh organizmov. T. 1. Ekologicheskaya fiziologiya i biokhimiya vodnykh organizmov. Sbornik nauchnykh statey.* (Current problems of physiology and biochemistry of aquatic organisms. Vol. 1. Ecological physiology and biochemistry of aquatic organisms. Collection of scientific articles.) Petrozavodsk: Karelian scientific center of Russian Academy of Sciences. 2010; 163-172. (In Russ.)]

5. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке // Клин. лаб. диагностика. — 2005. — №6. — С. 15-18. [Metelskaya V.A., Gumanova N.G. Screening as a method for determining the serum level of nitric oxide metabolites. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2005; 6: 15-18. (In Russ.)]

6. Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И., Артюшкова Е.Б. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита оксида азота // Эксперим. и клин. фармакол. — 2008. — Т. 71, №2. — С. 29-31. [Pokrovskii M.V., Pokrovskaya T.G., Kochkarov V.I., Artyushkova E.B. Endothelioprotective properties of L-arginine on a nitric oxide deficiency model. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2008; 71 (2): 29-31. (In Russ.)]

7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. — 327 с. [Metody biokhimiicheskikh issledovaniy (lipidnyy i energeticheskyy obmen). (Methods of biochemical examinations (lipid and energy metabolism).) Ed. by M.I. Prokhorova. Leningrad: Publishing House of Leningrad University. 1982; 327 p. (In Russ.)]

8. Agarwal A. Carnitines and male infertility // *Reprod. BioMed. Online.* — 2004. — Vol. 8, N 4. — P. 376-384.

9. Marcovina S.M., Sirtori C., Peracino A. Translating the basic knowledge of mitochondrial functions to metabolic therapy: role of L-carnitine // *J. Lab. Clin. Med.* — 2013. — Vol. 161, N 2. — P. 73-84.

10. Ryan J.M. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species // *Redox Biol.* — 2015. — Vol. 4. — P. 381-398.

11. Sharma S., Wiseman D.A., Carter A.L. et al. Altered carnitine homeostasis is associated with decreased mitochondrial function and altered nitric oxide signaling in lambs with pulmonary hypertension // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* — 2008. — Vol. 294. — P. 46-56.

12. Stefan D. Differential effects of complex II on mitochondrial ROS production and their relation to cardioprotective pre- and postconditioning // *Biochim. Biophys. Acta (BBA) — Bioenergetics.* — 2013. — Vol. 1827, N 5. — P. 578-587.

13. Visioli F., Hagen T.M. Antioxidants to enhance fertility: role of eNOS and potential benefits // *Pharmacol. Res.* — 2011. — Vol. 64, N 5. — P. 431-437.

14. Wan L., Hubbard R.W. Rapid assay for free carnitine measurement in plasma // *Clin. Chem.* — 1995. — Vol. 41, N 6. — P. 159.

15. Yugo M., Ichihiro S. Metabolic flexibility and carnitine flux: The role of carnitine acyltransferase in glucose homeostasis // *J. Diabetes Invest.* — 2013. — Vol. 4, N 3. — P. 247-249.