

ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА И L-NAME НА АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ И ПРОНИЦАЕМОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ В АОРТЕ КРЫС

Анастасия Ивановна Арапова*, Мария Алексеевна Фомина

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

Поступила 20.11.2015; принята в печать 22.12.2015.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2016-250

Цель. Изучить влияние L-аргинина и его аналога N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME) по отдельности и в комбинации на лизосомальный цистеиновый протеолиз и состояние лизосомальных мембран в аорте крыс.

Методы. Исследование было выполнено на крысах-самцах линии Wistar, содержащихся в типовых условиях вивария и разделённых на три контрольные и три экспериментальные группы, по 8 особей в каждой. Экспериментальные выборки включали группы с введением L-аргинина и/или L-NAME. Показатели изучали в осаждаемой и неосаждаемой фракциях гомогената аорты крыс. Активность кислой фосфатазы определяли унифицированным методом по «конечной точке», активность катепсинов B, L и H изучали спектрофлуориметрическим методом.

Результаты. При моделировании изменения уровня синтеза оксида азота с помощью L-аргинина обнаружено нарастание общей активности катепсинов, коэффициент лабильности у кислой фосфатазы снижается, что характеризуется общей стабилизацией лизосомальных мембран. Группа L-NAME, напротив, характеризуется снижением показателей активности катепсинов B и H, отличия от группы аргинина отмечены у катепсина H в лизосомальной и общей фракциях, мембрана лизосом лабильна. Сочетанное введение препаратов снижает общую активность катепсинов, при этом происходит повышение общей активности кислой фосфатазы, все показатели свидетельствуют о стабилизации лизосомальных мембран.

Вывод. L-аргинин в дозе 500 мг/кг вызывает нарастание общей активности катепсинов B, L и H в аорте крыс за счёт лизосомальной фракции; действие L-аргинина приводит к стабилизации лизосомальных мембран; группа L-NAME у катепсина H демонстрирует уменьшение степени секреции катепсинов со снижением общей активности за счёт обеих фракций; группа сочетанного воздействия аргинин + L-NAME у катепсина B характеризуется увеличением секреции за счёт стабилизации мембраны лизосом.

Ключевые слова: L-аргинин, L-NAME, катепсины B, L и H, стабильность лизосомальной мембраны.

EFFECT OF L-ARGININE AND L-NAME ON LYOSOMAL CYSTEINE PROTEASES ACTIVITY AND LYOSOMAL MEMBRANES PERMEABILITY IN RAT AORTA

A.I. Arapova, M.A. Fomina

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

Aim. To study the effect of L-arginine and its analogue N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) alone and in combination on lysosomal cysteine proteolysis and lysosomal membranes state in rat aorta.

Methods. The study was performed on male Wistar rats kept under standard vivarium conditions and divided into three control and three experimental groups of 8 animals each. The experimental samples included groups with L-arginine and/or L-NAME administration. The indicators were studied in the rat aorta homogenate precipitating and non precipitating fractions. Acid phosphatase activity was determined by a standardized method of «end point», the cathepsins B, L and H activity was studied by spectrofluorimetric method.

Results. When simulating the changes of nitric oxide synthesis level using L-arginine, the increase of the total cathepsins activity was detected, acid phosphatase lability coefficient was reduced, what is characterized by general lysosomal membranes stabilization. L-NAME group, in contrast, is characterized by a decrease in the cathepsin B and H activity indicators, differences from arginine group were observed in the cathepsin H in lysosomal and general fractions, lysosomal membrane is labile. Combined drugs administration reduces the total cathepsins activity, while there is an increase of the acid phosphatase total activity, all indicators suggest lysosomal membranes labilization.

Conclusion. L-arginine at a dose of 500 mg/kg causes increase in the total cathepsins B, L and H activity in rat aorta due to lysosomal fraction; L-arginine action leads to lysosomal membranes stabilization; L-NAME group in cathepsin H shows a decrease in the cathepsins secretion level with decreased total activity due to both factions; combined administration of arginine + L-NAME group in cathepsin B is characterized by an increase in secretion due to lysosomes membrane labilization.

Keywords: L-arginine, L-NAME, cathepsins B, L and H, lysosomal membranes stability.

Аргинин — условно незаменимая аминокислота, впервые была выделена в 1886 г. E. Schulze и E. Steiger, структура установлена E. Schulze и E. Winterstein в 1897 г. Одна из важнейших функций аргинина в организме — служить субстратом для синтеза оксида азота (NO) [13]. Роль NO в поддержании гомеостаза многообразна и сводится

не только к регуляции сосудистого тонуса и ангиопротективным эффектам, но и к воздействию на пролиферацию, апоптоз гладкомышечных клеток сосудов, противовоспалительные эффекты [1]. Кроме того, в настоящее время активно изучается роль NO в свободнорадикальных процессах: так, оказалось, что в различных ситуациях данное вещество может проявлять как проок-

сидантные [10], так и антиоксидантные [9] свойства.

Важным и значимым показателем в диагностике воспалительного процесса, апоптоза и иммунного ответа служит степень активации лизосомальных цистеиновых протеиназ [5]. Экспрессию катепсинов часто связывают с развитием апоптоза, пролиферацией опухолевых клеток, инвазией, метастазированием [8]. Активация лизосомальных протеаз свидетельствует об иммунном ответе организма, их контроль позволит избежать патологических повреждений клеток и тканей. Они участвуют в активации врождённого и приобретённого иммунитета, регулируют аутоиммунные расстройства и хронические воспаления [7].

Аналог L-аргинина — N-нитро-L-аргинин-метиловый эфир (L-NAME) — блокатор синтеза азота, дефицит NO может вызвать повреждение лизосомальных мембран, что является основным путём экспрессии катепсинов. В свете этого актуальным представляется изучение эффектов L-аргинина и L-NAME на активность катепсинов B, L, H и состояние лизосомальной мембраны в ткани аорты.

Работа выполнена на 48 конвенциональных половозрелых крысах-самцах линии Wistar с массой тела 280–320 г.

Животные содержались по 3–4 особи одного пола в металлических клетках площадью 24 дм² при естественном освещении, получали воду и полноценный сухой комбикорм для лабораторных животных «Чара» (производство ЗАО «Ассортимент-Агро», Московская область, Сергиев-Посадский район, д. Тураково). Приготовление кормов для животных, расчёт рациона осуществляли сотрудники вивария в соответствии с установленными нормами. Содержание животных в виварии соответствовало «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» от 06.04.1993. Содержание и выведение животных из эксперимента выполняли в соответствии с правилами, изложенными Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и приказе Министерства здравоохранения РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Для стандартизации условий опытов животных лишали пищи за 12 ч до забоя. Эв-

таназию животных осуществляли методом обескровливания под эфирным рауш-наркозом при сохранённых дыханием и сердцебиением. Немедленно после обескровливания и извлечения сердце крысы помещали в 0,25 М раствор сахарозы. Далее следовали взвешивание левого желудочка сердца, очищенного от соединительной, жировой ткани и сгустков крови, на электронных весах (AJH-220 SE, Япония) и гомогенизация с помощью аппарата «Potter S» (Sartorius, Германия) в охлаждённом 0,25 М растворе сахарозы в соотношении 1:10 в течение 60 с при скорости вращения тефлонового пестика 1500 об./мин и зазоре в пределах 0,16–0,24 мм. Описанные процедуры проводили при температуре не выше 4 °С.

Оценку качества гомогената осуществляли путём морфологического контроля с помощью окраски мазков по Романовскому-Гимзе с подсчётом на предметном стекле числа неразрушенных клеток на 1000 освобождённых ядер [2]. Число неразрушенных клеток в гомогенате не превышало 1–2%.

Гомогенаты центрифугировали в течение 10 мин при 800 g (центрифуга CM-6M ELM1, Латвия) для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Надосадочную жидкость отбирали пипеткой в отдельные пробирки и центрифугировали 15 мин при 14 000 g для удаления митохондрией, а затем полученный супернатант — дополнительно при 20 000 g в течение 30 мин (центрифуга рефрижераторная K24Д, ГДР) для получения чистой цитоплазматической (неседиментируемой) фракции. Осадок, представляющий собой грубую фракцию лизосом (седиментируемая фракция), ресуспендировали в 0,25 М сахарозе с добавлением Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1%.

Моделирование изменения уровня синтеза NO субстратом NO-синтазы в экспериментальной группе (n=6) осуществляли путём внутрижелудочного введения раствора L-аргинина (Sigma, США) на 0,9% растворе натрия хлорида в дозе 500 мг/кг [3] через стеклянный градуированный шприц с внутрижелудочным зондом. Объём вводимого раствора зависел от массы и не превышал 1 мл. Препарат вводили 1 раз в сутки до утреннего кормления ежедневно в течение 10 дней.

Для моделирования дефицита синтеза NO осуществляли внутрибрюшинное введение неселективного ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME; Sigma, США) в дозе

Влияние L-аргинина на активность и распределение лизосомальных ферментов, Me [min; max], нмоль/схг белка

	HCA		CA		OA		К лаб, %		W _{secr}	
	Контроль	L-аргинин	Контроль	L-аргинин	Контроль	L-аргинин	Контроль	L-аргинин	Контроль	L-аргинин
KB	4,25 [3,43; 10,23]	4,65 [1,74; 7,46]	4,54 [2,80; 8,70]	35,74 [17,26; 69,32]*	10,94 [7,36; 13,53]	38,95 [21,26; 76,37]*	44,4 [35,7; 78,5]	9,99 [5,95; 24,7] *	0,15 [-0,17; 0,19]	-0,22 [-0,86; 0,16]
KL	8,25 [6,22; 15,49]	11,41 [1,76; 17,80]	20,43 [11,06; 33,62]	48,93 [24,90; 70,10]*	29,83 [24,24; 39,83]	58,71 [33,83; 84,53]*	28,8 [15,6; 58,3]	17,8 [3,9; 26,4]	-0,5 [-1,03; -0,09]	0,11 [-1,84; 0,47]
KN	5 [3,24; 7,39]	4,55 [3,01; 7,34]	6,83 [4,91; 10,99]	34,42 [17,90; 46,50]*	12,02 [8,87; 17,30]	38,17 [21,65; 52,19]*	36,5 [31,5; 60,1]	11,5 [8,2; 22,8]*	-0,14 [-0,33; 0,13]	0,04 [-0,35; 0,09]

Примечание: HCA – активность кислых гидролаз в неседиментируемой фракции; CA – активность кислых гидролаз в седиментируемой фракции; OA – общая активность кислых гидролаз; К лаб – коэффициент лабильности; KB, KL и KN – катепсины B, L и H соответственно; *статистически значимые отличия от группы контроля (p < 0,05).

25 мг/кг [3] в виде водного раствора через переднюю брюшную стенку одноразовым пластиковым шприцем с тонкой короткой иглой. Объем вводимого препарата зависел от массы животного: 0,5 мл на 200 г животной массы. Препарат вводили 1 раз в сутки в утренние часы ежедневно в течение 7 дней. Выведение из эксперимента осуществляли на 8-е сутки.

Для изучения корректирующего действия L-аргинина внутрибрюшинно вводили L-NAME в указанных дозах с 3-х по 10-е сутки на фоне перорального введения L-аргинина. Животных выводили из эксперимента на 11-е сутки.

Контрольные группы формировали для каждой серии эксперимента из животных, сопоставимых по возрасту, массе тела и условиям содержания с экспериментальными особями. Животным контрольной группы осуществляли введение изотонического раствора натрия хлорида, при этом вариант введения, объемы раствора и продолжительность воздействия совпадали с таковыми для экспериментальной группы

Активность катепсинов B, L и H изучали спектрофлуориметрическим методом [6].

Активность кислых гидролаз в осаждаемой (седиментируемой, CA) и неосаждаемой (неседиментируемой, HCA) фракциях определяли раздельно. Общую активность рассчитывали как сумму CA и HCA. Коэффициент лабильности представляет собой процентное отношение HCA к общей активности и характеризует проницаемость лизосомальной мембраны для данного фермента.

Активность кислой фосфатазы определяли в CA и HCA фракциях гомогената унифицированным методом по «конечной точке», используя коммерческий набор «Витал Диагностикс СПб» (Санкт-Петербург).

Оценку степени секреции лизосомальных цистеиновых протеаз производили путём анализа коэффициента W_{secr}.

Статистический анализ результатов исследования проведён с использованием программы Statistica 10.0. Поскольку отмечалось отсутствие согласия большинства данных с нормальным распределением, вычисляли медиану (Me), минимальное (min) и максимальное (max) значения, результаты представлены в формате Me [min; max]. Для оценки статистической значимости различий независимых выборок использовали ранговый критерий Манна-Уитни (U-тест).

При сопоставлении показателей активности катепсинов различных субклеточных фракций ткани аорты обнаружено выраженное, статистически значимое нарастание общей активности катепсинов в аорте животных, получавших L-аргинин, относительно контрольной группы (табл. 1), причём во всех случаях изменения происходили за счёт увеличения активности в лизосомальной фракции (CA), различия статистически значимы. Наиболее вероятной причиной выявленных изменений представляется комплексное разблокирование системы лизосомального цистеинового протеолиза, например за счёт уменьшения ингибиторного влияния [12], для предотвращения отрицательных последствий избыточного синтеза NO [4].

Таблица 2

Влияние L-NAME на активность и распределение лизосомальных ферментов, Me [min; max], нмоль/схг белка

	HCA		CA		OA		К лаб, %		W _{secc}	
	Контроль	L-NAME	Контроль	L-NAME	Контроль	L-NAME	Контроль	L-NAME	Контроль	L-NAME
KB	16,38 [9,96; 33,72]	5,06 [3,70; 8,06]*	52,07 [31,47; 64,09]	20,87 [10,16; 28,94]*	71,46 [41,80; 92,63]	24,75 [17,03; 33,96]	24,7 [13,9; 39,3]	17,4 [14; 44,2]	-0,19 [-0,36; 0,02]	-1,49 [-2,17; 0,04]▲
KL	14,11 [8,98; 41,16]	11,68 [9,00; 20,69]	53,78 [32,78; 64,54]	34,11 [15,22; 63,97]	71,66 [46,89; 99,20]	46,58 [26,31; 75,75]	24,9 [12,2; 42,9]	27 [14,0; 47,6]	-0,03 [-0,60; 0,10]	-0,7 [-1,96; 0,07]
KN	13,32 [11,19; 51,67]	4,47 [2,96; 5,43]*	50,39 [26,40; 72,49]	15,21 [6,32; 20,46]*▲	68,04 [39,71; 109,81]	20,3 [10,50; 23,46]*▲	33,5 [14,1; 47,1]	24,2 [12,8; 39,8]▲	-0,02 [-0,37; 0,12]	-0,9 [-2,24; -0,12]*▲

Примечание: HCA – активность кислых гидролаз в неседиментируемой фракции; CA – активность кислых гидролаз в седиментируемой фракции; OA – общая активность кислых гидролаз; К лаб – коэффициент лабильности; KB, KL и KN – катепсины В, L и Н соответственно; *статистически значимые отличия от группы контроля (p < 0,05); ▲ статистически значимые отличия от группы аргинина (p < 0,05).

Таблица 3

Влияние сочетанного применения L-аргинина и L-NAME на активность и распределение лизосомальных ферментов, Me [min; max], нмоль/схг белка

	HCA		CA		OA		К лаб, %		W _{secc}	
	Контроль	L-аргинин и L-NAME	Контроль	L-аргинин и L-NAME	Контроль	L-аргинин и L-NAME	Контроль	L-аргинин и L-NAME	Контроль	L-аргинин и L-NAME
KB	10,23 [3,43; 33,72]	12,55 [5,01; 14,75]*	47,21 [2,80; 64,09]	14,4 [6,37; 28,64]*▲	61,6 [7,36; 92,63]	27,95 [11,63; 40,59]*	30,8 [13,9; 78,5]	40,1 [27,95; 56,2]*▲●	-0,15 [-0,36; 0,19]	-0,02 [-0,33; 0,39]*●
KL	13,02 [6,22; 41,16]	18,61 [6,17; 54,37]	43,03 [11,06; 64,54]	27,64 [10,32; 68,60]*	56,04 [24,24; 99,20]	45,39 [22,27; 111,26]*	28,6 [12,2; 58,3]	40,9 [18,5; 53,6]▲	-0,09 [-1,03; 0,10]	0,03 [-0,51; 0,31]
KN	11,87 [3,24; 51,67]	8,16 [2,02; 19,59]*	39,59 [4,91; 72,49]	12,65 [5,81; 39,49]*	59,99 [8,87; 109,81]	23,46 [11,15; 52,76]*	34 [14,1; 60,1]	29,8 [12,8; 62,9]▲	-0,06 [-0,37; 0,13]	-0,19 [-1,17; 0,09]

Примечание: HCA – активность кислых гидролаз в неседиментируемой фракции; CA – активность кислых гидролаз в седиментируемой фракции; OA – общая активность кислых гидролаз; К лаб – коэффициент лабильности; KB, KL и KN – катепсины В, L и Н соответственно; *статистически значимые отличия от группы контроля (p < 0,05); ▲ статистически значимые отличия от группы аргинина (p < 0,05); ● статистически значимые отличия от группы L-NAME (p < 0,05).

Введение L-NAME по сравнению с контрольной группой характеризуется снижением показателей (табл. 2). Статистически значимое отличие было выявлено в отношении HCA, CA и общей активности катепсинов В и Н. Статистически значимые отличия от группы животных, подвергнутых введению аргинина, отмечены у катепсина Н в лизосомальной фракции и общей активности.

Введение комбинации L-аргинина и L-NAME (табл. 3) снижает общую активность за счёт лизосомальной фракции исследуемых катепсинов (все данные имеют ста-

статически значимые отличия от группы контроля), таким образом, можно говорить о преобладании влияния неселективного ингибитора NO-синтазы над его субстратом. Нарастание цитозольной фракции у катепсина В характеризует «утечку» фермента через мембрану лизосомы. Снижение внелизосомальной фракции катепсина Н в сумме со снижением СА дополнительно подтверждает ингибиторное влияние L-NAME.

При оценке изменений проницаемости лизосомальной мембраны на основе показателей коэффициента лабильности обнаружено разнонаправленное действие ука-

Влияние L-аргинина и L-NAME на активность и распределение кислой фосфатазы, Me [min; max], нмоль/схг белка

Показатель	Контроль	L-аргинин	Контроль	L-NAME	Контроль	L-NAME + L-аргинин
HCA	570,19 [499,52; 1218,05]	320,15 [217,51; 477,39]*	577,26 [423,57; 1808,48]	736,87 [725,79; 771,12]▲	577,26 [423,57; 1808,48]	223,26 [152,16; 448,98]●
CA	700,57 [620,95; 1360,00]	1828,24 [1542,86; 3840,00]*	1940 [1017,14; 2509,09]	955,74 [898,72; 1080,00]*▲	1611,43 [620,95; 2509,09]	412,61 [166,81; 596,57]*▲●
OA	1563,46 [1120,48; 1992,65]	2106,51 [1947,51; 4317,39]*	2557,26 [1440,72; 4317,57]	1699,83 [1633,42; 1819,04]*▲	2376,73 [1120,48; 4317,57]	726,06 [380,38; 895,43]*▲●
К лаб, %	43,2 [31,7; 63,6]	12,1 [11,0; 20,8]*	29,4 [17,6; 45,3]	43,4 [40,6; 46,2]▲	32,2 [17,6; 63,6]	35,2 [27,8; 57,1]▲

Примечание: HCA – активность кислых гидролаз в неседиментируемой фракции; CA – активность кислых гидролаз в седиментируемой фракции; OA – общая активность кислых гидролаз; К лаб – коэффициент лабильности; *статистически значимые отличия от группы контроля (p <0,05); ▲ статистически значимые отличия от группы аргинина (p <0,05); ●статистически значимые отличия от группы L-NAME (p <0,05).

занного показателя для всех исследуемых катепсинов во всех опытных группах, а также для маркёрного фермента лабильности лизосомальных мембран – кислой фосфатазы (табл. 4). Самое выраженное снижение у показателей кислой фосфатазы зарегистрировано в группе животных, получавших аргинин, изменения статистически значимы.

При введении L-NAME статистически достоверных отличий от группы контроля не наблюдается. Статистически значимые отличия от экспериментальной группы с использованием аргинина продемонстрированы для показателей катепсина Н и кислой фосфатазы (см. табл. 2, 4).

Все показатели группы животных, получавших аргинин + L-NAME, статистически значимо отличаются от группы аргинина (см. табл. 3). Выявленные изменения свидетельствуют о понижении устойчивости (лабильности) лизосомальной мембраны [11], что может объяснять обнаруженное нами статистически значимое повышение активности кислой фосфатазы в общей активности указанного фермента.

Следует отметить, что если нарастание значений коэффициента лабильности для части маркёрных ферментов лизосом, в частности кислой фосфатазы, может быть однозначно трактовано как нарушение целостности лизосомальной мембраны, то для лизосомальных цистеиновых протеиназ существует дополнительный механизм перемещения во внелизосомальную фракцию: секреция сквозь неповреждённую лизосомальную мембрану. Таким образом,

доля внелизосомальной активности и коэффициент лабильности лизосомальной мембраны для каждого из катепсинов может изменяться по двум причинам: изменение общей проницаемости лизосомальной мембраны и изменение степени секреции индивидуального фермента.

Одним из путей выявления указанных изменений может стать совместная трактовка показателей коэффициента лабильности и W_{secc} . Так, при экспериментальной модели с L-аргинином обнаружено, что на фоне снижения значений коэффициента лабильности для всех изучаемых катепсинов показатели W_{secc} не демонстрируют статистически значимых отличий от группы контроля (см. табл. 1). Такое сочетание позволяет предположить, что данная модель характеризуется общей стабилизацией лизосомальных мембран с отсутствием существенного вклада секреторного механизма для изучаемых ферментов.

Животные, получавшие L-NAME, демонстрируют одновременно статистически значимые отличия от группы контроля и от группы крыс с применением аргинина в отношении катепсина Н, однонаправленные изменения могут свидетельствовать об уменьшении степени секреции катепсинов. Показатели W_{secc} указывают на повреждение мембраны (см. табл. 2).

Группа с сочетанным применением препаратов характеризуется увеличением секреции катепсина В за счёт лабильности мембраны лизосом, одновременно наблюдается рост цитозольной фракции со снижением общей активности за счёт СА (см. табл. 3).

ВЫВОДЫ

1. L-аргинин в дозе 500 мг/кг вызывает повышение общей активности лизосомальных цистеиновых катепсинов В, L и Н в аорте крыс за счёт лизосомальной фракции и приводит к стабилизации лизосомальных мембран.

2. Введение L-NAME у катепсина Н демонстрирует уменьшение степени секреции катепсинов со снижением общей активности за счёт обеих фракций.

3. Экспериментальная модель сочетанного воздействия аргинин + L-NAME характеризуется увеличением секреции катепсина В за счёт стабилизации мембраны лизосом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Марков Х.М. L-аргинин – оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов. *Кардиология*. 2005; (6): 87–95. [Markov Kh.M. L-arginin – nitric oxide system in the therapy of diseases of the heart and vessels. *Kardiologiya*. 2005; (6): 87–95. (In Russ.)]

2. Покровский А.А., Тутельян В.А. *Лизосомы*. М.: Наука. 1976; 378 с. [Pokrovskiy A.A., Tutel'yan V.A. *Lizosomy*. (Lysosomes.) Moscow: Nauka. 1976; 378 p. (In Russ.)]

3. Покровский М.В., Покровская Т.Г., Корчаков В.И. и др. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота. *Эксперим. и клин. фармакол.* 2008; 71 (2): 29–31. [Pokrovskii M.V., Pokrovskaya T.G., Kochkarov V.I. et al. Endotheliotective properties of L-arginine on a nitric oxide deficiency model. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2008; 71 (2): 29–31. (In Russ.)]

4. Фомина Н.В., Фомина М.А. Оценка связи активности лизосомальных цистеиновых протеиназ плазмы крови и показателей эндотелиальной дисфункции у пациентов с заболеваниями вен нижних конечностей. *Наука молодых Eruditio Juvenium*. 2014; (1): 60–67. [Fomina N.V., Fomina M.A. Assessment of communication activity of lysosomal cystein proteases in plasma and indicators of endothelial dysfunction in patients with diseases of lower limbs veins. *Nauka molodykh Eruditio Juvenium*. 2014; (1): 60–67. (In Russ.)]

5. Чикин В.Г., Ерохина А.А., Пчелинцев В.В. Активность лизосомальных ферментов при неосложнённом послеродовом периоде и эндометрите. *Рос. мед. биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова*. 2014; (2): 32–36. [Chikin V.G., Erokhina A.A., Pchelintsev V.V. The activity of lysosomal enzymes in uncomplicated postpartum and endometritis. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akademika I.P. Pavlova*. 2014; (2): 32–36. (In Russ.)]

6. Barrett A.J., Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L. *Methods in enzymol.* 1981; 80: 535–561.

7. Conus S., Hans-Uwe S. Cathepsins and their involvement in immune responses. *Swiss medical weekly*. 2010; 1–12.

8. Qi Xing, Lijun Zhang, Travis Redman. Nitric oxide regulates cell behavior on an interactive cell-derived extracellular matrix scaffold. *J. Biomed. Materials Res*. 2015; (12): 3807–3814.

9. Stephen G. Hummel, Anthony J. Fischer, Sean M. Martin et al. Nitric oxide as a cellular antioxidant: A little goes a long way. *Free Radical Biol. Med.* 2006; 40: 501–506.

10. Szabó C., Ischiropoulos H., Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nature Rev. Drug Discovery*. 2006; 6: 662–680.

11. Terman A., Kurz T., Gustafsson B. et al. Lysosomal labilization. *IUBMB Life*. 2006; 58 (9): 531–539.

12. Turk M. Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers. *Biochim. Biophys. Acta*. 2012; 1824 (1): 68–88.

13. Visek W.J. Arginine needs, physiological state and usual diets. A reevaluation. *J. Nutrition*. 1986; 116 (1): 36–46.

Правила для авторов –

на сайте «Казанского медицинского журнала»:

www.kazan-medjournal.ru