

interviewed person. The advantage of the tests for enterobiosis by Ryabinovich method and its availability is important since the method is safe and non-invasive. Reliability is important for the timely detection and prevention of the spread of the disease. According to studies by Mare Remm and Kalle Remm efficiency was noted to change with a single testing of groups of people by 20.4%, with a two-fold testing by 27.4% and with a three-time by 29.1% [4]. Cho and Kang calculated an increase of 11.6-20.8% with a three-time testing as compared to a single examination [5].

CONCLUSIONS

In this paper, the requirements of sanitary rules and norms SanPiN 3.3686-21 are considered. «Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases». These norms operate in the Russian Federation. Based on the survey result received, as well as on research in this area the following conclusion can be made. The effectiveness of Rabinovich method increases with each additional testing. Taking into account the requirements of SanPin. - a single test for the purpose of prevention for visiting children's institutions, swimming pools, sanatoriums is not sufficient for a categorical conclusion about the absence of invasions in the person examined. Therefore, we offer either to state the need in a three-time test for preventive purposes or to abolish this kind of test for preventive purposes at all.

LIST OF SOURSES

1. Decree of January 28, 2021, №. 4. On the approval of sanitary rules and norms SanPiN 3.3686-21 Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases.
2. Examination of scrapings for enterobiasis (according to Rabinovich).
3. Wendt S., Trawinski H., Schubert S., Rodloff A.C., Mössner J., Lübbert C. The Diagnosis and Treatment of Pinworm Infection // Dtsch Arztebl Int. – 2019; 116(13): 213-219.
4. Remm M., Remm K. Effectiveness of Repeated Examination to Diagnose Enterobiasis in Nursery School Groups Korean J Parasitol. 2009; 47(3): 235-241.
5. Cho S.Y., Kang S.Y. Significance of Scotch-tape anal swab technique in diagnosis of Enterobius vermicularis infection // Korean J Parasitol. 2009; 47(3): 235–241.

Information about the authors

A.V. Makarova - student

E.S. Tryasunova - assistant of the Department of Medical Biology and Genetics

E.V. Kolotnina - Associate Professor of the Department of Foreign Languages

УДК: 577.151.042

ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТЕПСИНА D В ТКАНЯХ ЭПИДИДИМИСА КРЫС

Денис Олегович Мельников¹, Владислав Сергеевич Крамской², Юлия Александровна Марсянова³, Валентина Ивановна Звягина⁴

¹⁻⁴ФГБОУ ВО РязГМУ И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Российская Федерация

¹melnikovdenis200219@gmail.com

Аннотация

Введение. Гиперпродукция NO из L-аргинина может привести к изменению активности белков путём избыточного S-нитрозилирования. Таким образом, создаются условия для взаимного влияния количества L-аргинина на количество транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией. Мишени фактора транскрипции весьма разнообразны и среди них есть ферменты участвующие в метаболизме L-аргинина – аргининосукцинатсинтетаза, и протеолизе белков – катепсин D. **Цель исследования** - установить влияние L-аргинина на активность катепсина D в тканях эпидидимиса крыс. **Материалы и методы.** Эксперимент проведён на самцах крыс сток Wistar: животные, получавшие в течение 10 дней инъекции L-аргинина 500 мг/кг массы тела животного (n=8), и животные контрольной группы, получавшие 0,9% раствор NaCl (n=8). Лабораторные исследования включали определение активности катепсина D и количества HIF1 α . Статистический анализ проводили с помощью критериев Манна-Уитни и Спирмена, рассчитанные программным пакетом StatSoft STATISTICA 12. **Результаты.** Применение L-аргинина приводит к достоверному повышению в хвосте эпидидимиса активности катепсина D (экспериментальная группа – 824,9 и 764,3 – группа контроля) и количества HIF1 α (4,1 и 3,1 соответственно). **Обсуждение.** Как и было предсказано, применение L-аргинина приводит к повышению HIF1 α . Высокая степень корреляции количества HIF1 α и активности катепсина D в хвосте эпидидимиса объясняет повышение последнего в нашей экспериментальной модели. **Выводы.** L-аргинин достоверно способен увеличивать активность катепсина D в клетках эпидидимиса опосредовано с количеством HIF1 α .

Ключевые слова: L-аргинин, катепсин D, HIF1 α , эпидидимис.

INFLUENCE OF L-ARGININE ON CHANGES IN CATHEPSIN D ACTIVITY IN RAT EPIDIDIMIS TISSUES

Denis O. Melnikov¹, Vladislav S. Kramskoy², Yuliya A. Marsyanova³, Valentina I. Zvyagina⁴

¹⁻⁴Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

¹melnikovdenis200219@gmail.com

Abstract

Introduction. Hyperproduction of NO from L-arginine can lead to a change in the activity of proteins through excessive S-nitrosylation. Thus, conditions are created for the mutual influence of the amount of L-arginine on the amount of the transcription factor induced by hypoxia. Transcription factor targets are very diverse and among them there are enzymes involved in the metabolism of L-arginine - argininosuccinate synthetase, and protein proteolysis – cathepsin D. **The aim of the study** – to establish the effect of L-arginine on the activity of cathepsin D in rat epididymis tissues. **Materials and methods.** The experiment was carried out on male Wistar rats: animals that received injections of L-arginine 500 mg/kg body weight of the animal for 10 days (n=8), and animals of the control group that received 0.9% NaCl solution (n=8). Laboratory studies included determining the activity of cathepsin D and the

amount of HIF1 α . Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney and Spearman tests calculated using the StatSoft STATISTICA 12 software package. **Results.** The use of L-arginine leads to a significant increase in the activity of cathepsin D in the tail of the epididymis (experimental group - 824.9 and 764.3 - control group) and the amount of HIF1 α (4.1 and 3.1, respectively). **Discussion.** As predicted, the use of L-arginine leads to an increase in HIF1 α . The high degree of correlation between the amount of HIF1 α and the activity of cathepsin D in the tail of the epididymis explains the increase in the latter in our experimental model. **Conclusions.** L-arginine is significantly able to increase the activity of cathepsin D in epididymis cells mediated with the amount of HIF1 α . **Keywords:** L-arginine, cathepsin D, HIF1 α , epididymis.

ВВЕДЕНИЕ

L-аргинин – протеиногенная аминокислота, широко распространённая в природе и применяющаяся в качестве биологически активных добавок. В клетке аргинин выполняет множество функций: кроме участия в синтезе белков и мочевины, L-аргинин является донором оксида азота в реакции, катализируемой синтазой оксида азота (NOS).

Количество аргинина в клетках поддерживается ферментами орнитинового цикла, в частности аргининосукцинатсинтетазой и аргининосукцинатлиазой. Синтез первого фермента регулируется гипоксией индуцируемым фактором (HIF) – связывание HIF с энхансером в промоторной области ДНК гена, кодирующего фермент, приводит к замедлению транскрипции и как следствие снижению экспрессии фермента [1].

Мономер HIF – HIF1 α – чувствителен к содержанию кислорода. В условиях нормоксии благодаря гидроксигированию пролилгидроксилазой и убиквитинированию с помощью опухолевого белка супрессора фон Гиппеля-Линдау HIF1 α быстро деградирует в протеасоме. Когда этому белку удаётся избежать протеолиза, HIF1 α ассоциируется с HIF1 β , проникает в ядро и способствует изменению экспрессии генов.

Вероятными сценариями сохранения высокой концентрации HIF1 α являются: повышение его S-нитрозилирования с помощью оксида азота (NO) [2], и ингибирование оксидом азота (NO) пролилгидроксилазы, способствующей деградации данного фактора [3]. В связи с этим применение L-аргинина, как естественного донора NO может оказать сильное влияние на метаболизм клетки, переключая метаболизм на анаэробный тип даже в условиях нормоксии.

Катепсин D – аспартатная протеаза (КФ 3.4.23.5), активность которой определяется практически во всех тканях и клетках. Однако его количество в норме в различных органах не одинаково. В мужской половой системе катепсин D преимущественно локализован и синтезируется в соматических клетках яичек и эпидидимиса, причем его количество увеличивается на пути от хвоста к головке придатка яичка. Фермент присутствует на поверхности сперматозоидов, однако не синтезируется ими, и скорее поступает в составе микровезикул (эпидидимосом). Синтезируются эпителиальными клетками

эпидидимидиса и адсорбируясь на мембране сперматозоида, катепсин D принимает участие в созревании половой клетки, регулируя белковый состав плазматической мембраны. Связываясь с просапозином, участвует в формировании сапозина B, который активирует арилсульфатазу A, выполняющую функцию модификатора основного сульфогликолипида мембраны сперматозоида – сульфогалактозилглицеролипида. Последний участвует в адгезии половых клеток, что повышает их оплодотворяющую способность. Катепсин D повышает активность белков VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), что способствует разжижению семенной жидкости после эякуляции и, тем самым, улучшает подвижность сперматозоидов [4].

Цель исследования – установить влияние L-аргинина на активность катепсина D в тканях эпидидимиса крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование имеет фундаментальный характер. В эксперименте участвовали 16 половозрелых самцов крыс сток Wistar массой 200-280 г, которые содержались в стандартных условиях вивария на базе РязГМУ им. И.П. Павлова. Работа с животными осуществлялась в соответствии с этическими нормами. Животные были разделены на две группы по 8 особей в каждой. Животным первой группы вводили раствор L-аргинина один раз в день ежедневно в течение 10 дней из расчёта 500 мг L-аргинина на кг массы тела животного. Животные второй группы (группа контроля) по той же схеме получали 0,9% раствор хлорида натрия. В последний день эксперимента крыс наркотизировали и забирали головки и хвосты обоих эпидидимисов. Далее все манипуляции проводили при температуре 4°C. Из гомогенатов тканей выделяли безмитохондриальную фракцию цитоплазмы методом дифференциального центрифугирования. Активность катепсина D, в мкмоль тирозина/ч*г белка ткани, определяли с помощью спектрофотометра СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия) по поглощению света при длине волны 280 нм кислоторастворимыми продуктами ферментативного гидролиза гемоглобина. Содержание HIF1 α , в нг/мл белка, измеряли с помощью набора ИФА для определения гипоксией индуцируемого фактора у крыс (Cloud-Clone Corp., США) на ИФ-анализаторе StatFax 3200 (Awareness Technology Inc., США). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы StatSoft STATISTICA 12, используя непараметрический U-критерий Манна-Уитни для оценки статистической значимости и t-критерий Спирмена для установления корреляционной взаимосвязи между показателями. Уровень различий считали статистически достоверным при вероятности ошибки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В каудальном отделе эпидидимиса наблюдается статистически значимое повышение как активности катепсина D, так и количества HIF1 α (таблица 1).

Таблица 1

Результаты лабораторного исследования тканей эпидидимиса крыс

Ткань	Показатель	Значение L-аргинина	Группа контроля
--------------	-------------------	----------------------------	------------------------

Головка эпидидимиса	Активность катепсина D	742,4 [699,2;965,2]	783,2 [717,6;887,5]
	Количество HIF1 α	2,7 [2,3; 3,1]	3,2 [2,4; 3,3]
Хвост эпидидимиса	Активность катепсина D	824,9 [492,0;975,6]* \uparrow	764,3 [547,6;857,2]
	Количество HIF1 α	4,1 [3,9; 4,7]* \uparrow	3,1 [2,7; 3,9]

*Примечание: данные представлены в виде Me [Q1; Q3]; * – уровень значимости $p < 0,05$ при сравнении экспериментальной группы с соответствующей группой контроля; \uparrow – направление изменения показателя (повышение)*

Корреляционная связь между активностью фермента и количеством фактора транскрипции в головке эпидидимиса $r=0,55$ ($p=0,03$), а в хвосте эпидидимиса $r=0,74$ ($p=0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Объяснить полученные результаты можно тем, что повышенная концентрация L-аргинина стабилизирует HIF1 α , стимулируя образование большего количества оксида азота (II), участвующего в S-нитрозилировании HIF1 α и ингибировании пролилгидроксилазы. Данный фактор регулирует транскрипцию ряда белков, одним из которых является катепсин D. Корреляционная связь между активностью катепсина D и количеством HIF1 α является заметной в головках и высокой в хвосте. Это подтверждает идею о опосредовании повышения активности фермента путём изменения экспрессии его гена фактором транскрипции. Именно поэтому в группе, получавшей аргинин, активность катепсина D и HIF1 α увеличены.

Повышение активности катепсина D в хвосте эпидидимиса может положительно отразиться на работе мужской половой системы. Известны литературные данные о том, что более высокая активность катепсина D связана с повышенной плодовитостью у быков [5]. Увеличение активности также может способствовать избавлению тканей эпидидимиса от повреждённых сперматозоидов [6]. Определённо, вопрос о конкретных изменениях работы тканей эпидидимиса при увеличении или уменьшении активности катепсина D остаётся не до конца изученным.

Также остаётся открытым вопрос о тканеспецифичности ответа на получение животными L-аргинина. Можно предположить, что регуляция стабильности HIF1 α в головке эпидидимиса идёт более сложным путём и достаточное кислородное снабжение этой части придатка яичка по сравнению с хвостом эпидидимиса вносит существенный вклад в сохранение метаболического равновесия. Чувствительный к уровню кислорода каудальный отдел в этих условиях оказался неспособным контролировать уровень HIF1 α путём гидроксирования, что и послужило причиной описываемых изменений.

ВЫВОДЫ

Назначение животным L-аргинина приводит к достоверному повышению HIF1 α и увеличению активности катепсина D в клетках каудального отдела эпидидимиса. Тканеспецифичный ответ изменения активности катепсина D на получение L-аргинина может быть обусловлен различными механизмами регуляции активности HIF1 α в головке и хвосте эпидидимиса.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kuo M. T., Savaraj N., Feun L. G. Targeted cellular metabolism for cancer chemotherapy with recombinant arginine-degrading enzymes. *Oncotarget.* – 2010; 1(4):246-251.
2. Regulation of HIF-1 α stability through S-nitrosylation / Li F., Sonveaux P., Rabbani Z. N. et al. // *Molecular Cell.* – 2007; 26(1):63-74.
3. Fong G. H., Takeda K. Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins. *Cell Death Differ.* – 2008; 15(4): 635-641
4. Bovine Fertility as Regulated by Sperm Binding Proteins: A Review / Dar M.R., Chhokar M.S., Sharma R., et al. // *Asia Journal of Animal and Veterinary Advances.* – 2017; 13(1): 6-13.
5. Proteins of the cauda epididymal fluid associated with fertility of mature dairy bulls / Moura A. A., Chapman D.A., Кос Н. et al. // *Journal of Andrology.* – 2006; 27(4): 534-541
6. Castration causes an increase in lysosomal size and upregulation of cathepsin D expression in principal cells along with increased secretion of procathepsin D and prosaposin oligomers in adult rat epididymis / Carvelli L., Aguilera A. C., Zyla L. et al. // *PLoSOne.* – 2021; 16(4): e0250454.

Сведения об авторах

Д.О. Мельников, студент

В.С. Крамской, студент

Ю.А. Марсянова, ассистент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО

В.И. Звягина, к.б.н., доцент, доцент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Information about the authors

D.O. Melnikov, student

V.S. Kramskoy, student

Yu.A. Marsyanova, assistant of the Department of Biological Chemistry with the course of CLD FAPE

V.I. Zvyagina, Ph.D., associate professor of the Department of Biological Chemistry with the course of CLD FAPE

УДК: 663.9

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМАТИЧЕСКОГО УПОТРЕБЛЕНИЯ КОФЕИНА НА ВЫРАБОТКУ ТОРМОЗНЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ