

УДК 577.169:616.682-008.9

*В.И. Звягина, Э.С. Бельских, Д.В. Медведев***БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВОЗНИКАЮЩИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПРИДАТКА ЯИЧКА КРЫС НА ФОНЕ НАЗНАЧЕНИЯ КАРНИТИНА ХЛОРИДА, ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ**

Целью исследования явилось изучение изменений биохимических показателей в митохондриях головки и хвоста эпидидимиса крыс в условиях развития тяжелой экспериментальной гипергомоцистеинемии. Моделирование проводилось путем внутрижелудочного введения суспензии метионина в дозе 3 г/кг в сутки и добавления метионина в питьевую воду в течение 21 дня. Также исследовалась аналогичная модель на фоне назначения карнитина хлорида. Митохондрии головки и хвоста эпидидимиса выделялись методом дифференциального центрифугирования, с последующим измерением активности ферментов: лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы, концентрации лактата и карнитина. Обнаружено, что экспериментальная модель тяжелой формы гипергомоцистеинемии способствует развитию митохондриальной дисфункции, что отражается в виде резкого снижения концентрации карнитина и уменьшения активности сукцинатдегидрогеназы, накопления лактата и повышения потребности митохондрий в антиоксидантной защите вследствие развития окислительного стресса. Назначение карнитина хлорида на фоне моделирования гипергомоцистеинемии снижает выраженность гипергомоцистеинемии, а также способствует уменьшению проявлений митохондриальной дисфункции тканей эпидидимиса.

Ключевые слова: гомоцистеин, гипергомоцистеинемия, митохондриальная дисфункция, карнитин, окислительный стресс, эпидидимис, придаток яичка.

Мужское бесплодие является гетерогенным заболеванием, при этом часто истинная причина имеющихся нарушений остается неизвестной. Среди возможных причин бесплодия в настоящее время рассматриваются нарушения процессов метилирования ДНК, связанные с гипергомоцистеинемией [1]. Гипергомоцистеинемия является метаболическим системным нарушением, приводящим к накоплению непротеиногенной аминокислоты гомоцистеина (ГЦ). Причиной этого могут служить генетические факторы, питание, гормональная этиология, а также возраст и пол опосредованные различия в накоплении гомоцистеина. Нормальные уровни ГЦ в крови составляют от 10 до 12 мкМ, а в очень тяжелых случаях концентрация может быть выше 100 мкМ, что приводит к гомоцистинурии.

Поступающий с пищей метионин метаболизируется в организме млекопитающих с образованием S-аденозилметионина (SAM), который служит донором метильных групп практически во всех реакциях метилирования. В результате деметилирования SAM формируется S-аденозилгомоцистеин (SAH) с дальнейшим переходом его в гомоцистеин, который может превращаться по двум метаболическим путям: 1) обратное реметилирование в метионин, возможны два варианта этого процесса. В первом случае в качестве донора метильной группы выступает N^5 -метилтетрагидрофолиевая кислота, метионинсинтаза катализирует данную реакцию. У человека и животных коферментом в этой реакции служит производное витамина B_{12} метилкобаламин. N^5 -метил-ТГФК образуется из N^5, N^{10} -метилтен-ТГФК под действием метилентетрагидрофолатредуктазы, донором водорода в этой реакции может служить НАДН₂ или НАДФН₂. Во втором случае донором $-CH_3$ группы является бетаин, катализирует реакцию фермент бетаин гомоцистеинметилтрансфераза.

Небольшие количества гомоцистеина могут превращаться в его тиолактон под действием метионил-тРНК-синтетазы.

Нарушения обмена метионина, которые во многом связаны с накоплением в организме гомоцистеина, могут приводить к полиорганной недостаточности, в том числе головного мозга, почек, сердца, сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата, однако до настоящего времени отсутствуют данные о влиянии гипергомоцистеинемии на добавочные половые железы, в частности придаток яичка, который выполняет важную роль в созревании сперматозоидов и кумулирует наибольшие концентрации L-карнитина по сравнению с другими тканями организма. Доказано, что гипергомоцистеинемия провоцирует развитие окислительного стресса (ОС) в различных тканях за счет образования активных форм кислорода [2]. В настоящее время известно, что от 30 до 40 % бесплодных мужчин имеют повышенный уровень АФК в семенной плазме. Развитие ОС всегда тесно взаимосвязано с развитием митохондриальной дисфункции, инициирующей проапоптотические процессы [3]. Наряду с этим установ-

лено, что L-карнитин стимулирует антиоксидантную систему клетки как напрямую через нейтрализацию АФК, так и опосредованно через регуляцию экспрессии генов различных антиоксидантных факторов, что обуславливает интерес к изучению L-карнитина как модулятора антиоксидантной защиты при заболеваниях мужской половой системы, ассоциированных с гипергомоцистеинемией [4; 5].

Таким образом, целью нашего исследования стало изучение влияния карнитина хлорида на функциональное состояние митохондрий эпидидимиса в условиях экспериментальной гипергомоцистеинемии у крыс.

Материалы и методы исследований

Исследование выполнено на 24 крысах-самцах линии Вистар массой 230–270 г. в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. N 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» и приказом Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Крыс содержали в стандартных условиях вивария, в качестве пищи они получали корм «Чара» («Ассортимент-Агро», РФ), содержащий 0,7 % метионина-цистина в пересчете на сухое вещество, все витамины группы В, в том числе В6 – 28 мг/кг, В9 – 64 мг/кг, В12 – 0,13 мг/кг. Крысы были разделены на 3 группы, каждая из которых включала по 8 животных.

В 1-й группе моделировали тяжелую гипергомоцистеинемию (уровень ГЦ >100 мкмоль/л). Для этого применяли метод, предложенный С.Г. Емельяновым в модификации: ежедневно в течение 21 дня внутрижелудочно вводили 25 %-ю суспензию метионина (L-метионин, производство «Sigma», США) в дозе 1,5 г/кг дважды в день с добавлением 1 % метионина в питьевую воду. 2-ая группа служила контрольной, этим животным вводили суспензионную основу, не содержащую метионин (состав по массе: 25 % твина-80, 1 % крахмала, 74 % воды) [6]. 3-я группа животных на фоне введения метионина по обозначенной выше схеме получала карнитина хлорид (производство ФГУ «РКНПК» Минздрава России) в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно в течение 21 дня. Умерщвление животных проводилось под эфирным наркозом путём вскрытия брюшной полости и диссекции брюшной аорты. Исследования проводились в сыворотке крови, головке и хвосте эпидидимиса. Гомогенизирование тканей осуществлялось с помощью гомогенизатора «Potter S». Среда выделения имела следующий состав: 0,25 М сахаразы, 0,001 М ЭДТА и 0,02 М трис-буфер, pH 7,4. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования при 11000 g. Осадок, содержащий митохондрии, ресуспендировали в среде выделения без ЭДТА и далее использовали для определения активности митохондриальных ферментов: лактатдегидрогеназы (ЛДГ), Mn-зависимой супероксиддисмутазы (СОД), а также для измерения концентрации лактата и карнитина. Содержание белка в пробах определяли по методу Лоури с помощью набора реагентов (НПЦ «Эко-сервис», РФ), уровень лактата и активность ЛДГ измеряли с помощью стандартизированных диагностикумов (DiaSyS Diagnostic Systems, ФРГ). Активность СОД исследовали при помощи метода В.А. Костюка, основанном на торможении реакции аутоокисления кверцетина [7]. Концентрацию карнитина в митохондриях сердца крыс определяли по методу Wan L. и Hubbard R.W. (1998), основанному на образовании свободного KoASH, реагирующего неэнзиматически с 5,5-дитиобис-2-нитробензоатом (DTNB) с образованием окрашенного 5-тио-2-нитробензоата, интенсивность окраски которого измеряли спектрофотометрически при $\lambda = 410$ нм [8]. В сыворотке крови определяли концентрацию гомоцистеина набором для иммуноферментного анализа производства «Axis Shield». Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ MS Excel и StatSoft Statistica 8.0. Соответствие выборок нормальному распределению проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Распределение отличалось от нормального, в связи с чем для выявления различий между независимыми группами использовали критерий Краскела-Уоллиса, а для попарного сравнения – критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Уровень отличий рассматривался как статистически значимый при вероятности нулевой гипотезы об отсутствии различий (p) <0,05.

Результаты и их обсуждение

Из полученных результатов (табл.) следует, что моделирование тяжелой формы гипергомоцистеинемии сопровождалось резким увеличением концентрации гомоцистеина сыворотки крови и ста-

статистически значимым снижением активности СДГ, уменьшением содержания общего, свободного и связанного карнитина, падением активности ЛДГ и приростом активности СОД, при статистически недостоверном увеличении концентрации лактата в тканях придатка яичка.

**Изменение биохимических показателей в тканях эпидидимиса
(результаты представлены в виде медиана [квартиль 1; квартиль3])**

Исследуемые показатели/группы		Митохондрии добавочных половых желез крыс		
		Контроль (1) Twin80	Гипергомоцистеинемия (2)	Карнитина хлорид на фоне гипергомоцистеинемии (3)
Концентрация гомоцистеина в сыворотке крови, мкмоль/л		5,8 [5,6;5,8]	291,65 [277,38;334,43]*	72,0 [57,0;94,0]**
Концентрация лактата (мкмоль / мг белка)	Головка	120,96 [41,21;199,32]	189,32 [168,50;212,21] +56,5 %	62,53 [46,72;81,22]** -67 %
	Хвост	115,73 [62,45;220,0]	152,75 [112,85;169,0] +37 %	33,45[22,66;36,06]** -78,1 %
Активность ЛДГ (Ед/г белка)	Головка	298 [242;358]	129[107;154]* -56 %	235 [183;247]** +21 %
	Хвост	212 [196;246]	157,11 [139,88;180,13]* -25,9 %	279,6[238;318]** +76 %
Активность СОД (оптическая плотность, у.е./мг белка)	Головка	1,6 [1,32;1,75]	5,65 [3,82;7,12]* +253 %	5,51[5,08;6,17] -2,47 %
	Хвост	4,6 [1,64;6,47]	8,35 [6,97;9,56]* +81,5 %	7,99 [3,37;10,83] -4,3 %
Активность СДГ (нмоль сукцината/мг белка в минуту)	Головка	44,15 [37,48;47,66]	20,84 [11,33;24,24]* -52,3 %	33,0 [24,49;44,20]**
	Хвост	66,90[59,0;74,63]	13,92 [10,10;16,33]* -79,2 %	23,02 [15,86;29,81]**
Карнитин общий, мкмоль/ мг белка ткани	Головка	407,8[389,3;430]	120,1 [115,7;128,9]* -71 %	224,5 [147,5;230,4]** +86,9 %
	Хвост	444,5 [388,9;470,6]	104,5 [104,1;106,7]* -76,5 %	99,6 [96,0;159,1] -4,68 %
Карнитин свободный, мкмоль/ мг белка ткани	Головка	298,8 [293,5;303,3]	58,6[55,0;56,74]* -80,3 %	156,1 [127,2;177,6]** +166 %
	Хвост	260,3 [258,1;273,5]	46,8 [44,9;49,7]* +82 %	36,1 [34,7;66,7] -23 %
Карнитин связанный, мкмоль/ мг белка ткани	Головка	108,9 [91,2,0;131,2]	61,2 [58,4;61,5]* -44 %	38,3 [15,9;58,8] -37 %
	Хвост	184,2 [130,8;197,1]	58,6 [57,2;59,9]* -68 %	69,7 [60,1;92,4] +19 %
Соотношение свободный /связанный карнитин	Головка	2,7 [2,3;3,4]	1,1 [0,95;1,11]* -59 %	4,3 [2,8;5,7]** +290 %
	Хвост	1,4 [1,38;2,3]	0,8 [0,76;0,86]* -43 %	0,62 [0,59;0,69]** -22,5 %

Примечание. Статистически достоверные результаты ($p < 0,05$) группы ГГЦ относительно контрольной группы отмечены *, достоверные результаты группы карнитина хлорид 300 мг/кг +ГГЦ относительно группы ГГЦ отмечены **

Прирост активности СОД отражал, вероятно, повышение потребности митохондрий эпидидимиса в антиоксидантной защите в условиях развития тяжелой гипергомоцистеинемии. Это предположение сопровождалось падением активности СДГ, что указывает на изменения метаболизма, ха-

ракторного для анаэробного гликолиза, типичного для гипоксических состояний: при снижении активности пируватдегидрогеназного комплекса повышается соотношение NADH/NAD^+ и уменьшается активность ферментов цикла трикарбоновых кислот [9]. В этих условиях снижение активности митохондриальной ЛДГ митохондрий, вероятно, отражает адаптивный сдвиг митохондрий клеток эпидидимиса, направленный на поддержание адекватного соотношения NADH/NAD^+ [10; 11]. Сопутствующее этому снижение соотношения свободный/связанный карнитин, более выраженное в головке придатка, возможно, объясняется компенсаторным выведением избытка короткоцепочечных ацилов, для поддержания оптимального соотношения свободного/ацил-SКоА [12; 13].

Таким образом, в условиях экспериментальной модели тяжелой гипергомоцистеинемии формировались предпосылки для развития нарушения функций митохондрий эпидидимиса в виде резкого снижения концентрации карнитина, падения активности дегидрогеназных ферментов, а также возросшей потребности митохондрий в антиоксидантной защите вследствие развития ОС.

При назначении карнитина хлорида на фоне моделирования гипергомоцистеинемии соотношение свободный/связанный карнитин имело разнонаправленный характер в различных отделах эпидидимиса: в головке отмечался значительный прирост содержания свободного карнитина, в то время как в хвосте его уровень достоверно снижался. Данный характер изменений, вероятно, был связан с непосредственной функцией придатка яичка, которая направлена на создание высоких концентраций карнитина для созревания сперматозоидов, что обеспечивается специфичным транспортером карнитина/органических катионов (ОСТН) [14].

Моделирование тяжелой формы гипергомоцистеинемии на фоне введения карнитина хлорида способствовало значительному снижению количества лактата и увеличению активности ЛДГ в митохондриях относительно группы, получавшей только метионин, что, вероятно, было обусловлено возросшей потребностью в NADH^+ [12; 13]. Сопутствующий этому достоверно более высокий уровень активности СДГ, вероятно, демонстрировал способность карнитина хлорида предотвращать снижение активности ферментов ЦТК и тем самым уменьшать выраженность митохондриальной дисфункции.

Важно отметить, что введение карнитина хлорида на фоне моделирования гипергомоцистеинемии значительно уменьшало уровень гомоцистеина сыворотки крови, в настоящее время данных, посвященных изучению механизмов непосредственного влияния карнитина на уровень гомоцистеина плазмы, остается крайне мало, при этом сам механизм снижения содержания гомоцистеина остается пока неизученным. Можно предположить, что в условиях избыточного поступления аминокислоты метионина в течение длительного времени (21 день) индуцируется активность трансаминаз, что приводит к образованию соответствующих кетокилот, в данном случае - 4-метилтио-2-оксобутирата [15], который является субстратом дегидрогеназного комплекса 2-оксо разветвленных аминокислот [16]. Образующийся в результате окислительного декарбоксилирования 3-метилтиопропионил-SКоА под действием карнитинацилтрансферазы-II способен превращаться в эфир карнитина с высвобождением HСКоА. В дальнейшем 3-метилтиопропионилкарнитин, как и другие короткоцепочечные ацильные эфиры карнитина, будучи способным к диффузии через клеточные мембраны, может элиминироваться почками, что в итоге способствует уменьшению выраженности гипергомоцистеинемии и согласуется с детоксикационным эффектом карнитина [12].

Заключение

Экспериментально установлено, что моделирование гипергомоцистеинемии формирует предпосылки для митохондриальной дисфункции тканей эпидидимиса. Применение карнитина хлорида приводит к снижению концентрации гомоцистеина в крови и уменьшает выраженность проявлений митохондриальной дисфункции тканей придатка яичка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Stability of DNA methylation patterns in mouse spermatogonia under conditions of MTHFR deficiency and methionine supplementation / J.L. Garner et al. // *Biol Reprod.* 2013. Vol.89(5). P. 125.
2. Ильичева А.С., Фомина М.А., Медведев Д.В. Характеристика продуктов окислительного повреждения белков миокарда на фоне гипергомоцистеинемии // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2014. № 4. С. 37-43.
3. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Изд-во «Медицинская пресса», 2006. 400 с.

4. Yang S.P., Yang X.Z., Cao G.P. Acetyl-L-carnitine prevents homocysteine-induced suppression of Nrf2/Keap1 mediated antioxidation in human lens epithelial cells // *Mol. Med. Rep.* 2015. Vol.12(1). P. 1145-1150.
5. Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine // *Life Sciences*. 2006. Vol. 78(8). P. 803-811.
6. Медведев Д.В., Звягина В.И., Фомина М.А. Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс // *Российский медико-биологический вестн. им. акад. И.П. Павлова*. 2014. № 4. С. 42-46.
7. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // *Вопр. медицинской химии*. 1990. №2. С. 88-91.
8. Wan L., Hubbard R.W. Determination of free and total carnitine with a random-access chemistry analyzer // *Clin. Chemistry*. 1998. Vol. 44(4). P. 810-816.
9. Mailloux R.J. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species // *Redox Biol. Elsevier*. 2015. Vol. 4. P. 381-398.
10. Bioenergetics of mammalian sperm capacitation / A. Ferramosca et al. // *Biomed Res. Int.* 2014. Vol. 2014. Article ID 902953.
11. Мещерякова О.В., Чурова М.В., Немова Н.Н. Митохондриальный лактат-окисляющий комплекс и его значение для поддержания энергетического гомеостаза клеток // *Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: сб. науч. статей*. Петрозаводск, 2010. Т. 1. С. 163-171.
12. Agarwal A., Said T.M. Carnitines and male infertility // *Reprod. Biomed. Online*. 2004. Vol. 8(4). P. 376-384.
13. Miyata Y., Shimomura I. Metabolic flexibility and carnitine flux: The role of carnitine acyltransferase in glucose homeostasis // *J. Diabetes Investig.* 2013. Vol. 4(3). P. 247-249.
14. The role of carnitine in male infertility / L. Mongioi et al. // *Andrology*. 2016. Vol. 4(5). P. 800-807.
15. Methionine Metabolism by Rat Muscle and Other Tissues – Occurrence of a New Carnitine Intermediate / P.W.D. Scislawski et al. // *Biochem. J.* 1987. Vol. 247(1). P. 35-40.
16. Jones S.M., Yeaman S.J. Oxidative decarboxylation of 4-methylthio-2-oxobutyrate by branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase complex // *Biochem J.* 1987. Vol. 242(3). P. 935.

Поступила в редакцию 07.07.17

V.I. Zvyagina, E.S. Belskikh, D.V. Medvedev

BIOCHEMICAL CHANGES IN THE MITOCHONDRIA OF THE EPIDIDYMIS OF RATS AFTER ASSIGNING A CARNITINE CHLORIDE, IN THE EXPERIMENTAL HYPERHOMOCYSTEINAEMIA

The aim of the study was to investigate the changes in biochemical parameters in the caput and cauda mitochondria of epididymis in rats on the background of experimental hyperhomocysteinemia. Modeling of hyperhomocysteinemia was carried out by intragastric injection of methionine containing suspension at the dose of 3 g/kg per day with adding methionine to the drinking water for 21 days. A similar model was also studied on the background of the appointment of carnitine chloride. Mitochondria of the caput and the cauda of epididymis were isolated, in which the activity of lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, superoxide dismutase, lactate and carnitine concentrations was studied. It has been found that the modeling of severe form of hyperhomocysteinemia contributes to the development of mitochondrial dysfunction, which is reflected as a sharp decrease in carnitine concentration and a decrease in succinate dehydrogenase activity, accumulation of lactate and increasing in the mitochondria requirement for antioxidant protection due to oxidative stress development. The appointment of carnitine chloride against the background of modeling of hyperhomocysteinemia reduces the severity of hyperhomocysteinemia, and also helps to reduce the manifestations of mitochondrial dysfunction of epididymis tissues.

Keywords: homocysteine, hyperhomocysteinemia, mitochondrial dysfunction, carnitine, oxidative stress, epididymis.

REFERENCE

1. Stability of DNA methylation patterns in mouse spermatogonia under conditions of MTHFR deficiency and methionine supplementation / J.L. Garner et al., in *Biol. Reprod.*, 2013, vol.89(5), p. 125.
2. Il'icheva A.S., Fomina M.A. and Medvedev D.V. [Characteristics of the products of oxidative damage of myocardium proteins against the background of hyperhomocysteinemia], in *Nauka molodyh (Eruditio Juvenium)*, 2014, no 4, pp. 37-43 (in Russ).
3. Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v funkcional'noj aktivnosti kletok (zhiznj i smertj, sozidanie i razrushenie). Fiziologicheskie i kliniko-biohimicheskie aspekty* [Products of oxygen metabolism in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction). Physiological and clinical-biochemical aspects], SPb.: Izd-vo Medicinskaja pressa, 2006, 400 p. (in Russ).
4. Yang S.P., Yang X.Z. and Cao G.P. Acetyl-L-carnitine prevents homocysteine-induced suppression of Nrf2/Keap1 mediated antioxidation in human lens epithelial cells, in *Mol. Med. Rep.*, 2015, vol.12(1), pp. 1145-1150.
5. Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine, in *Life Sciences*, 2006, vol. 78(8), pp. 803-811.

6. Medvedev D.V., Zvyagina V.I. and Fomina M.A. [A method for modeling the severe form of hyperhomocysteinemia in rats], in *Rossiiskij mediko-biologicheskij vestn. im. akad. I. P. Pavlova*, 2014, no 4, pp. 42-46 (in Russ).
7. Kostjuk V.A., Potapovich A.I. and Kovaleva Zh.V. [A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation reaction of quercetin], in *Voprosy medicinskoj himii*, 1990, no 2, pp. 88-91 (in Russ).
8. Wan L. and Hubbard R.W. Determination of free and total carnitine with a random-access chemistry analyzer, in *Clin. Chemistry*, 1998, vol. 44(4), pp. 810-816.
9. Mailloux R.J. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species, in *Redox Biol. Elsevier.*, 2015, vol. 4, pp. 381-398.
10. Bioenergetics of mammalian sperm capacitation / A. Ferramosca et al., in *Biomed Res. Int.*, 2014, vol. 2014, Article ID 902953.
11. Mescherjakova O.V., Churova M.V. and Nemova N.N. [Mitochondrial lactate-oxidizing complex and its importance for maintaining the energy homeostasis of cells], in *Sb. nauch. statej «Sovremennye problemy fiziologii i biohimii vodnyh organizmov»*, Petrozavodsk, 2010, vol. 1, pp. 163-171 (in Russ.).
12. Agarwal A. and Said T.M. Carnitines and male infertility, in *Reprod. Biomed. Online*, 2004, vol. 8(4), pp. 376-384.
13. Miyata Y. and Shimomura I. Metabolic flexibility and carnitine flux: The role of carnitine acyltransferase in glucose homeostasis, in *J. Diabetes Investig.*, 2013, vol. 4(3), pp. 247-249.
14. The role of carnitine in male infertility / L. Mongioi et al., in *Andrology*, 2016, vol. 4(5), pp. 800-807.
15. Methionine Metabolism by Rat Muscle and Other Tissues – Occurrence of a New Carnitine Intermediate / P.W.D. Scislawski et al., in *Biochem. J.*, 1987, vol. 247(1), pp. 35-40.
16. Jones S.M. and Yeaman S.J. Oxidative decarboxylation of 4-methylthio-2-oxobutyrate by branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase complex, in *Biochem J.*, 1987, vol. 242(3), p. 935.

Звягина Валентина Ивановна,
кандидат биологических наук, доцент кафедры
биологической химии с курсом клинической
лабораторной диагностики
E-mail: vizvyagina@yandex.ru

Бельских Эдуард Сергеевич,
ассистент кафедры факультетской терапии
с курсами эндокринологии, клинической
фармакологии, профессиональных болезней
E-mail: ed.bels@yandex.ru

Медведев Дмитрий Валериевич,
ассистент кафедры биологической химии с курсом
клинической лабораторной диагностики факультета
дополнительного последиипломного образования
E-mail: meddmit@mail.ru

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный
медицинский университет»
390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9

Zvyagina V.I.,
Candidate of Biological Sciences, associate professor
of the Department of Biological Chemistry with a Course
of Clinical Laboratory Diagnostics
E-mail: vizvyagina@yandex.ru

Belskikh E.S.,
Assistant of the Department of Faculty Therapy
with courses of Endocrinology, Clinical Pharmacology,
Occupational Professional Diseases
E-mail: ed.bels@yandex.ru

Medvedev D.V.,
Assistant of the Department of Biological Chemistry
with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics
of the Faculty of additional postgraduate education
E-mail: meddmit@mail.ru

Ryazan State Medical University
Vysokovolnaya st., 9, Ryazan, Russia, 390026