

**Влияние триметазида на метаболизм
L-аргина в лейкоцитах и панкреасе в АС- режиме
химиотерапии**

**Н.Х.Алчуджян¹, М.Р.Оганнисян¹, Н.О. Мовсесян¹,
Г.Г. Минасян², А.А. Авагимян³**

¹Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА
0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/1,

²Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА
0014, Ереван, пр. Азатутян, 26,

³Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци
0025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: аргиназа, доксорубин, лейкоциты, оксидативный стресс, панкреас, синтаза оксида азота, триметазидин, циклофосфамид

На сегодняшний день для лечения многих распространенных видов рака применяется химиотерапия антрациклиновым антибиотиком доксорубином (DOX) в комбинации с иммуносупрессором циклофосфамидом (CY), оказывающими антимитотическое и антипролиферативное действие [2, 25]. Однако ферментативное восстановление DOX идет с образованием свободных радикалов и развитием оксидативного стресса, что оказывает кардиотоксическое действие, которое еще более усиливается в комбинации с CY [8, 13]. Развивается «артериальная жесткость», приводящая к атеросклерозу и эндотелиальной дисфункции, которые коррелируют с повышенной сердечно-сосудистой патологией и смертностью [20, 26]. На фоне оксидативного стресса возрастают активность и экспрессия изоферментов аргиназы, которые продуцируют полиамины и пролин, ведущие к утолщению и ригидности кровеносных сосудов, фиброзу и, как следствие, к сердечно-сосудистым осложнениям и нарушениям метаболизма [7]. Синтаза оксида азота (NOS) делит общий субстрат с аргиназой и реципрокно связана с ней, и также участвует в механизмах эндотелиальной дисфункции [22].

Триметазидин (TMZ) улучшает функционирование кардиомиоцитов благодаря сохранению энергетического метаболизма клеток в состоянии гипоксии, стимулированию окисления глюкозы, ингибированию окисли-

тельного стресса и воспаления [9, 17]. Плейотропные эффекты TMZ могут оказывать системное воздействие, с которыми связывают его клиническую эффективность при хронической сердечной недостаточности [28].

В механизмы влияния DOX-CY могут вносить свой вклад лейкоциты, которые инфильтруя эндотелий, усугубляют его патологическое состояние, вследствие повышенной продукции свободных радикалов, в которой могут участвовать изоформы NOS и аргиназы, представленные в лейкоцитах [19]. Ранее нами было выявлено стимулирующее влияние CY на активность NOS в субпопуляциях лейкоцитов и костном мозге крыс [14]. Сердечная недостаточность может вызывать значительное нарушение внешнесекреторной функции поджелудочной железы, что в свою очередь ухудшает течение сердечно-сосудистых заболеваний [11]. Однако влияние АС-режима химиотерапии на метаболизм L-аргинина в лейкоцитах и поджелудочной железе практически не изучено. В представленной работе показано влияние TMZ на сдвиги в метаболизме аргинина в лейкоцитах и поджелудочной железе крыс, вызванные комбинированным режимом DOX-CY химиотерапии.

Материал и методы

В работе использовали триметазидин (1-[(2,3,4-триметоксифенил) метил] пиперазин дигидрохлорид) (PreductalMR) (“ServierIndustrie”, Франция), доксорубицин гидрохлорид (“Actavis”, Island), L-аргинин·HCl, L-валин, HEPES, реактивы (“Sigma-Aldrich” Co. LLC), декстран (100000) (“Pharmacocosmos”, Дания), (“Serva”, Германия) диацетилмоноксим (“Roth”, Ireland), циклофосфан (циклофосфамид) (РУП “Белмедпрепараты”) и прочие реактивы производства “Reanal” (Венгрия) и “Реахим” (Россия).

Опыты проводили с соблюдением правил содержания и обращения с животными, изложенных в Директивах Европейского Сообщества и Советом от 22.09. 2010 (2010/63/EC) и одобренных комитетом по биомедицинской этике при Институте биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА. Эксперименты проводили на половозрелых 3-месячных белых крысах-самцах линии Вистар массой 170-220 г, которые содержались в виварии в условиях естественного освещения и свободного доступа воды и пищи.

Схема опыта. Животные были разделены на группы (n=6/группу): I – контрольные крысы, получавшие одноразовые внутрибрюшинные инъекции физраствора; II – модель АС-режима (DOX - CY) химиотерапии – крысы, получавшие одноразовые внутрибрюшинные инъекции 0,2 мл DOX (2,5 мг/кг массы) и CY (25 мг/кг массы) 3 раза в неделю в течение двух недель; III – крысы, внутривенно получавшие TMZ (3 мг/кг массы) за час до инъекций (DOX/CY).

Выделение лейкоцитов и плазмы крови. Кровь, полученную после декапитации животных, стабилизировали антикоагулянтом, 3,8% цитрата натрия в соотношении 5:1 (по объему) и смешивали в соотношении 2:1 (по

объему) с 6% декстраном (мол. вес= 100 000), приготовленным на 0,9 % NaCl, и инкубировали в течение 1 ч при 37°C (при наклоне под углом 45 градусов). После седиментации эритроцитов декантировали верхний слой плазмы, содержащий лейкоциты и тромбоциты, и лейкоциты осаждали центрифугированием (1000 об/мин 5 мин при 4°C). Плазму отделяли от тромбоцитов их осаждением центрифугированием полученного супернатанта (6000 об/мин 10 мин при 4°C).

Активность NO синтазы определяли по аккумуляции стабильных метаболитов NO после долговременной инкубации биоматериала (20 ч, 37°C) в 20 mM HEPES буфере pH 7,4, с субстратом, 5,3 mM L-аргинина и кофакторами NOS: 0,2 mM NADPH, 20 мкМ (6R)-5,6,7,8-тетрагидро-биоптерина, 6 мкМ FAD, 5,5 мкМ FMN и 1,7 mM CaCl₂. В контрольных экспериментах пробы инкубировали с 5 mM N^G-монометил-L-аргинина, природным конкурентным неселективным ингибитором NOS. Активность NOS выражали в нмоль (NO₂⁻) · мг⁻¹ белка · 20 ч⁻¹.

Определение содержания стабильных метаболитов NO. Пробы депротеинизировали 0,5 N NaOH и 10% ZnSO₄ и центрифугировали при 15000 об/мин 3 мин при комнатной температуре на настольной микроцентрифуге фирмы Eppendorf (США). В супернатантах определяли уровень NO и его стабильных метаболитов реакцией диазотирования с использованием реактива Грисса-Илосвая, который добавляли к пробам в соотношении 1:1 (по объему), перемешивали и спустя 15 мин спектрофотометрировали при длине волны 546 нм [24]. Содержание АФА выражали в нмоль (NO₂⁻) · мг⁻¹ белка. Концентрацию нитритов рассчитывали по калибровочной кривой для NaNO₂.

Активность аргиназы определяли по аргининзависимому образованию мочевины в реакционной смеси. Пробы инкубировали в течение 1 ч при 37°C в 0,05 M NaOH-глициновом буфере pH 9,5 и/или 20 mM HEPES буфере pH 7,4 с добавлением 0,05 M MnCl₂ · 4H₂O и 0,1 M L-аргинина. В контрольных экспериментах пробы инкубировали в присутствии 60 mM L-валина, неконкурентного ингибитора аргиназы. Реакцию останавливали 10% трихлоруксусной кислотой (ТХУ) и центрифугировали при 15000 об/мин 3 мин при комнатной температуре на настольной микроцентрифуге фирмы Eppendorf (США). Активность аргиназы выражали в мкмоль мочевины · мг⁻¹ белка · ч⁻¹.

Определение содержания мочевины. Супернатанты, полученные после депротеинизирования проб ТХУ, смешивали с кислотным реагентом (H₃PO₄, H₂SO₄, 0,05 % MnCl₂ · 4H₂O, содержащий 2 мл 0,1 M FeCl₃ · 6H₂O; в пропорции 3:1:4) и 3% диацетилмоноксимом, инкубировали 15 мин в кипящей водяной бане и после охлаждения спектрофотометрировали при длине волны 478 нм [16]. Концентрацию мочевины рассчитывали по калибровочной кривой.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию продуктов ПОЛ с использованием тиобарбитуровой кислоты (ТБК) [1]. Пробы депротеинизировали 10% ТХУ и после центрифугирования при 15000 об/мин 5 мин к супернатантам добавляли 0,6N HCl и 0,72% ТБК, смесь инкубировали 15 мин в кипящей водяной бане и после охлаждения в пробах определяли содержание ТБК-активных продуктов, спектрофотометрически при длине волны 535 нм по концентрации основного конечного продукта ПОЛ, малонового диальдегида (МДА) и рассчитывали с использованием коэффициента молярной экстинкции МДА-ТБК комплекса - $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Содержание белка определяли методом Лоури с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта [18].

Статистика. Достоверность различий оценивали на основе параметрического однофакторного дисперсионного анализа и постдисперсионного теста Холм-Сидака (one-way Anova) SigmaStat 3,5 for Windows. Корреляции оценивали по коэффициенту линейной корреляции Пирсона (r). В качестве критерия достоверности принимался $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

После двухнедельного АС-режима химиотерапии (см. Материал и методы) животные теряли в среднем до 8,5 % от массы тела (до 33 г) одновременно наблюдалось выраженное увеличение сердца с утолщением ствола пучка Гисса. Предобработка TMZ практически предотвращала патологические изменения сердца и препятствовала снижению массы тела – у большинства крыс она возрастала (до 36 г). Протекторное действие TMZ на состояние сердца, соотношение массы сердца к массе тела, от которых зависят функциональные показатели работы сердечно-сосудистой системы, позволяют рассматривать его как действенный фармакологический агент, способный предохранять миокард от патологических отклонений [3].

АС-режим химиотерапии вызывал в лейкоцитах и панкреасе возрастание более чем на порядок уровня МДА, конечного продукта ПОЛ, и маркера окислительного стресса. Это согласуется с данными о том, что химиотерапия при онкологии индуцирует окислительный стресс как у людей, так и у животных, вызывая патологические сдвиги в органах и тканях, включая сердце и мозг [8]. Отметим, что антиоксиданты уменьшают и даже предотвращают СУ-индуцированную кардиотоксичность [4].

Обработка TMZ снижала уровень МДА, приближая его к норме – в лейкоцитах от 0,81 до 0,08 нмоль / мг белка, а в панкреасе – от 0,23 до 0,028 нмоль / мг белка. При этом наблюдалась связь между изменениями массы тела крыс и уровнем МДА (рис. 1). В АС-режиме химиотерапии в лейкоцитах определялась отрицательная корреляция ($r = - 0,95$). Таким

образом, более высокие показатели ПОЛ в лейкоцитах коррелировали с наибольшей потерей массы, как и патологические изменения сердца. В то же время в панкреасе между этими параметрами наблюдалась положительная корреляция ($r = 0.88$), что, вероятно, связано с различиями, в том числе и временными, в протекании (DOX-CY)-индуцированных изменений и ассоциированных процессов ПОЛ в разных органах и тканях и требует дальнейшего изучения. Обработка TMZ нарушала корреляцию, хотя в лейкоцитах и панкреасе наблюдалась слабая тенденция к снижению повышенного уровня МДА с возрастанием массы тела животных.

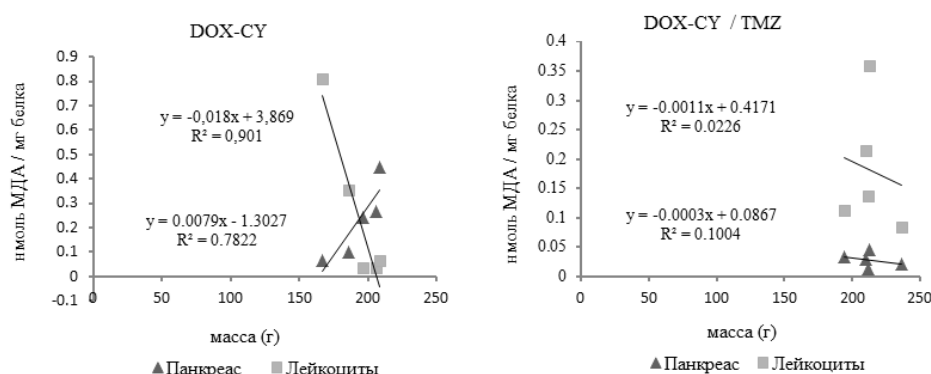


Рис. 1. Взаимосвязь между массой тела крыс и уровнем МДА в лейкоцитах и панкреасе в АС-режиме химиотерапии и после обработки триметазидином. Здесь и далее DOX-CY – АС-режим химиотерапии; DOX-CY / TMZ – обработка триметазидином

Примечательно, что в АС-режиме химиотерапии подобная картина взаимосвязи наблюдалась между массой крыс и активностью аргиназы, а именно: в лейкоцитах – отрицательная корреляция ($r = -0,72$), а в панкреасе – положительная ($r = 0,8$) (рис. 2). Это согласуется с данными о том, что окислительный стресс стимулирует активность и экспрессию изоферментов аргиназы, которые к тому же вносят свой вклад в продукцию свободных радикалов, задействуя NOS-независимые и NOS-зависимые пути, вовлекаясь в механизмы воспаления и заболеваний сердечно-сосудистой системы [7, 27]. Повышенная активность изоформ аргиназы играет критическую роль в «разобщении» NOS и ее субстрата, аргинина, так как, расщепляя последний, «принуждает» NOS к синтезу супероксид-радикала, способствуя развитию оксидативного стресса и воспалительной реакции, ведущих к атерогенезу [15]. В эти процессы включается пероксинитрит ($\text{ONOO}^\cdot$), высокореактивный при физиологических pH, окисляющий и нитрующий агент, который образуется при взаимодействии NO и супероксида [23]. Различия в протекании этих процессов в лейко-

цитах и панкреасе могут отражаться на картине патологии в АС-режиме химиотерапии.

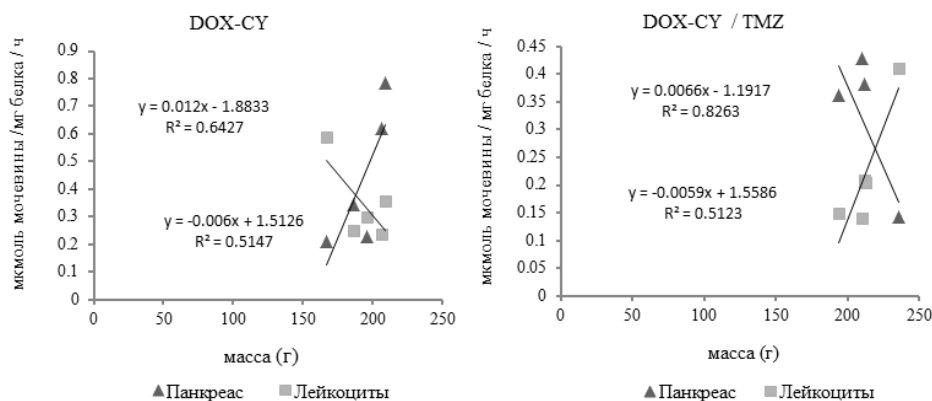


Рис. 2. Взаимосвязь между массой тела крыс и активностью аргиназы в лейкоцитах и панкреасе в АС-режиме химиотерапии и после обработки триметазидином

Интересно, что после обработки TMZ между массой крыс и аргиназной активностью в лейкоцитах определялась положительная корреляция ($r = 0,91$), а в панкреасе – отрицательная ($r = -0,72$). В то же время TMZ снижал (DOX-CY)-индуцированное повышение активности аргиназы в лейкоцитах с 0,39 до 0,14 мкмоль мочевины / мг белка / ч, а уровень продуцируемой ею мочевины, которая пролонгирует оксидативный стресс [10], от 0,88 до 0,24 мкмоль / мг белка. В панкреасе обработка TMZ также снижала аргиназную активность от 0,62 до 0,3 мкмоль мочевины / мг белка / ч, а уровень мочевины – от 0,35 до 0,13 мкмоль / мг белка.

Одновременно определяли активность NOS по аккумуляции нитрита в реакционной смеси. Отметим, что большая доля генерируемого NO быстро окисляется до нитрита, который служит основным резервуаром NO и, подобно NO, регулирует работу клеток, влияя на синтез циклического GMP, цитохрома P450, активность и экспрессию белка теплового шока HSP 70 и гемоксигеназы-1 [5].

В АС-режиме химиотерапии между массой крыс и продукцией NO в лейкоцитах и панкреасе связь не прослеживалась, в то время как после обработки TMZ наблюдалась положительная корреляция в лейкоцитах ($r = 0,93$) и панкреасе ($r = 0,89$) (рис. 3). При этом у животных, получивших (DOX-CY), продукция биодоступного NO (в отличие от пероксинитрита) в лейкоцитах падала с 9,97 до 2,04 нмоль NO_2^- / мг белка / 20 ч, а также уровень нитрита с 17,75 до 9,8 нмоль NO_2^- / мг белка. В частности это может быть обусловлено активированием аргиназы и повышенной продукцией ею мочевины, которая ингибирует димеризацию мономеров NOS

в ее активную форму [21], а также орнитина, который, превращаясь в спермин, подавляет трансляцию NOS [6]. Это отражается на функциях лейкоцитарной NOS, которая подавляет воспалительную реакцию за счет снижения проницаемости сосудистой стенки и предотвращения адгезии лейкоцитов на поверхности эндотелия и последующего рекрутирования в зону воспаления [12].

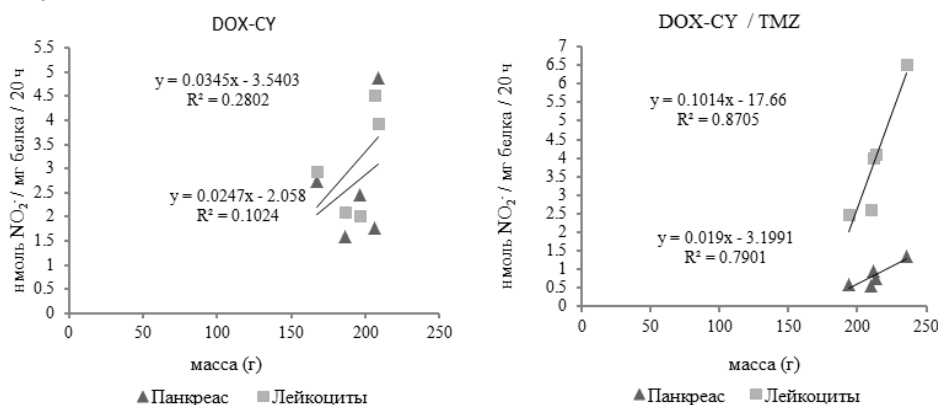


Рис. 3. Взаимосвязь между массой тела крыс и продукцией биоактивного NO в лейкоцитах и панкреасе в АС-режиме химиотерапии и после обработки триметазидином

Примечательно, что TMZ повышал продукцию биодоступного NO до 6,52 нмоль NO₂⁻ / мг белка / 20 ч, а уровень нитритов до 12,76 нмоль NO₂⁻ / мг белка. С одной стороны, за счет TMZ-опосредованного подавления оксидативного стресса, что снижает образование пероксинитрита и повышает содержание эндогенно синтезируемого NO, чему, с другой стороны, способствует ингибирование препаратом аргиназной активности. Не исключено, что благодаря именно такому эффекту TMZ снижает уровень миграции и инфильтрации полинуклеарных нейтрофилов [9].

Таким образом, АС-режим химиотерапии оказывал кардиотоксическое действие на здоровых крыс, сопровождающееся снижением массы тела, и вызывал в лейкоцитах и панкреасе возрастание процессов ПОЛ и активности аргиназы и подавление продукции биодоступного оксида азота (NO), которые были взаимосвязаны с изменениями массы животных и могут быть вовлечены в (DOX-CY)-индуцированные сердечно-сосудистые осложнения. Триметазидин оказывал кардиопротекторное действие, коррелирующее с возрастанием массы тела животных, сдвиги которой были взаимосвязаны с процессами ПОЛ, активностью аргиназы и эндогенной продукцией биодоступного NO. Выявлено регуляторное влияние на них препарата, что может вносить свой вклад в его плеiotропные и системные эффекты и клиническую эффективность.

Поступила 29.05.23

**Տրիմետազիդինի ազդեցությունը L-արգինինի
նյութափոխանակության վրա լեյկոցիտներում և
էնթաստամոքսային գեղձում
AC- քիմիաթերապիայի ռեժիմում**

**Ն.Խ. Ալչույյան, Մ.Ռ. Հովհաննիսյան, Ն.Հ. Մովսիսյան ,
Գ.Հ. Մինասյան, Ա.Ա. Ավագիմյան**

AC-քիմիաթերապիայի ռեժիմն առողջ առնետների մոտ առաջացնում է կարդիոտոքսիկ ազդեցություն, որը փոխկապակցված է քաշի կորստի հետ: Միաժամանակ խթանվում են լիպիդների գերօքսիդացման (LPO) գործընթացները և արգինազի ակտիվությունը, ու նվազում է կենսամատչելի ազոտի օքսիդի (NO) արտադրությունը լեյկոցիտներում և էնթաստամոքսային գեղձում, ինչը կարող է ներգրավվել (DOX-CY) առաջացած սիրտ-անոթային բարդությունների մեջ: Նշված նյութափոխանակության պարամետրերի և մարմնի քաշի միջև նույնպես դիտվում է փոխկապակցվածություն: Տրիմետազիդինն ունեցել է AC քիմիաթերապիայի ռեժիմում կարդիոպաշտպանիչ ազդեցություն, որը փոխկապակցված էր կենդանիների մարմնի քաշի ավելացման հետ: Հայտնաբերվել է դեղամիջոցի կարգավորիչ ազդեցությունը LGO գործընթացների, արգինազի ակտիվության և կենսամատչելի NO-ի արտադրության վրա, որոնք միաժամանակ փոխկապակցված էին քաշի տեղաշարժերի հետ և կարող են մասնակցել դեղամիջոցի պլեյոտրոպ և համակարգային ազդեցություններում և կլինիկական արդյունավետության մեջ:

**Effect of Trimetazidine on the Metabolism of L-arginine in
Leukocytes and Pancreas in AC- Chemotherapy Regimen**

**N. Kh. Alchujyan, M. R. Hovhannisyan, N. H. Movsesyan, G. H. Minasyan,
A. A. Avagimyan**

The AC-chemotherapy regimen had a cardiotoxic effect in healthy rats associated with body weight loss. At the same time, lipid peroxidation (LPO) processes and arginase activity are stimulated, and production of bioavailable nitric oxide (NO) in leukocytes and pancreas decreases which may be involved in (DOX-CY)-induced cardiovascular complications. Correlations were also observed between these metabolic parameters and body weight. Trimetazidine had a cardioprotective effect in the AC-chemotherapy regimen that correlated with the increase in body weight of animals. There was found a regulatory effect of the drug on LPO processes, arginase activity, and bioavailable NO production, which were simultaneously correlated with weight changes and can participate in the drug's pleiotropic and systemic effects and clinical efficacy.

Литература

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Ahlmann M., Hempel G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016, 78(4), 661–671. doi: 10.1007/s00280-016-3152-1.
3. Avagimyan A., Kakturskiy L. The impact of trimetazidine on the anthropometric parameters of doxorubicin-cyclophosphamide mode in chemotherapy-induced heart alteration. *Georgian Med. News*, 2022, 322, 158–161. PMID: 35134779.
4. Ayza M. A., Zewdie K. A., Tesfaye B. A., Wondafrash D. Z., Berhe A. H. The role of antioxidants in ameliorating cyclophosphamide-induced cardiotoxicity. *Oxid Med Cell Longev.* 2020, 2020:4965171. doi: 10.1155/2020/4965171.
5. Bryan N. S., Fernandez B. O., Bauer S. M., Garcia-Saura M. F., Milsom A. B., Rassaf T. Nitrite is a signaling molecule and regulator of gene expression in mammalian tissues. *Nat. Chem. Biol.* 2005, 1, 290–297. doi: 10.1038/nchembio734.
6. Bussiere F. I., Chaturvedi R., Cheng Y., Gobert A. P., Asin M., Blumberg D. R. Spermine causes loss of innate immune response to *Helicobacter pylori* by inhibition of inducible nitric oxide synthase translation. *J Biol Chem.* 2005, 280, 2409–2412. doi: 10.1074/jbc.C400498200.
7. Caldwell R.W., Rodriguez P.C., Toque H.A., Narayanan S.P., Caldwell R.B. Arginase: a multifaceted enzyme important in health and disease. *Physiol. Rev.*, 2018, 98, 641–665. doi: 10.1152/physrev.00037.2016.
8. Cauli O. Oxidative stress and cognitive alterations induced by cancer chemotherapy drugs: a scoping review. *Antioxidants (Basel)*. 2021, 10(7), 1116. doi: 10.3390/antiox10071116.
9. Csaba A. D. Trimetazidine in practice: Review of the clinical and experimental evidence. *Amer. J. Ther.*, 2016-5, 23 (3), e871–e879. doi:10.1097/MJT.0000000000000180.
10. d'Apolito M., Colia A.L., Manca E., Pettoello-Mantovani M., Sacco M., Maffione A.B., Brownlee M., Giardino I. Urea memory: transient cell exposure to urea causes persistent mitochondrial ROS production and endothelial dysfunction. *Toxins (Basel)*, 2018, 10:410. doi: 10.3390/toxins10100410.
11. Dams O. C., Vijver M. A. T., van Veldhuisen C. L., Verdonk R. C., Besselink M. G., van Veldhuisen D. J. Heart failure and pancreas exocrine insufficiency: Pathophysiological mechanisms and clinical point of view. *J Clin Med.*, 2022, 11(14), 4128. doi: 10.3390/jcm11144128.
12. Hickey M. J. Role of inducible nitric oxide synthase in the regulation of leucocyte recruitment. *Clin. Science*, 2001, 100, 1–12.
13. Iqbal A., Iqbal M. K., Sharma S. Molecular mechanism involved in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: old drug with a new vision. *Life Sciences*, 2019, 218, 112–131. doi: 10.1016/j.lfs.2018.12.018.
14. Kevorkian G.A., Alchujyan N.Kh., Movsesyan N.H., Hayrapetyan H.L., Guevorkian A.G., Ohanyan R.M., Dagbashyan S.S. Nitroergic response to cyclophosphamide treatment in blood and bone marrow. *The Open Biochem. J.*, 2008, 2, 81–90. doi: 10.2174/1874091X00802010081.
15. Kietadisorn R., Juni R.P., Moens A.L. Tackling endothelial dysfunction by modulating NOS uncoupling. New insights into its pathogenesis and therapeutic possibilities. *Am J Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2012, 302, E481–E495.
16. Langenfeld N. J., Payne L. E., Bugbee B. Colorimetric determination of urea using diacetyl monoxime with strong acids. *PLoS One*, 2021, 16(11):e0259760. doi: 10.1371/journal.pone.0259760.
17. Li J., Qi Y., Wang J., Dai C., Chen B., Li Y. Trimetazidine alleviates postresuscitation myocardial dysfunction and improves 96-hour survival in a ventricular fibrillation rat model. *J. Am. Heart Assoc.*, 2022, 11(6):e023378. doi: 10.1161/JAHA.121.023378.

18. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193(1), 265–275. PMID: 14907713.
19. Mauersberger C., Hinterdobler J., Schunkert H., Kessler T., Sager H. B., Where the action is-leukocyte recruitment in atherosclerosis. *Front. Cardiovasc. Med.*, 2022, 8, 813–984. doi: 10.3389/fcvm.2021.813984.
20. Mikael L. R., Paiva A. M. G., Gomes M. M., Sousa A. L. L., Jardim P. C. B. V., Vitorino P. V. O., Euzébio M. B., Sousa W. M., Barroso W. K. S. Vascular aging and arterial stiffness. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2017, 109(3):253–258. doi: 10.5935/abc.20170091.
21. Moeslinger T., Friedl R., Volf I., Brunner M., Baran H., Koller E., Spieckermann P. G. Urea induces macrophages proliferation by inhibition of inducible nitric oxide synthesis. *Kidney Int.*, 1999, 56 (2), 581–588.
22. Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. *J. Nutr.* 2007, 137, 1616S–1620S.
23. Radi R. Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *J Biol Chem*, 2013, 28(37), 26464–26472. doi: 10.1074/jbc.R113.472936.
24. Schmidt HHHW. Kelm M. Determination of nitrite and nitrate by the Griess reaction. *Methods in Nitric Oxide Research*. (Eds. Feelisch M, Stamler JS. Wiley, Chichester), 1996, 491.
25. Shulman L. N., Berry D. A., Cirrincione C. T., Becker H. P., Perez E. A. Comparison of doxorubicin and cyclophosphamide versus single-agent paclitaxel as adjuvant therapy for breast cancer in women with 0 to 3 positive axillary nodes: CALGB 40101 (Alliance), *J. Clin. Oncol.*, 2014, 32(22), 2311–2317.
26. Souza C. A., Simões R., Borges K. B. G., Oliveira A. N., Zogeib J. B., Alves B. Arterial stiffness use for early monitoring of cardiovascular adverse events due to anthracycline chemotherapy in breast cancer patients. A pilot study. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2018, 111(5), 721–728. doi: 10.5935/abc.20180168.
27. Yang Z., Ming X. F. Functions of arginase isoforms in macrophage inflammatory responses: impact on cardiovascular diseases and metabolic disorders. *Front Immunol.*, 2014, 5, 533. doi: 10.3389/fimmu.2014.00533.
28. Zhang L., Lu Y., Jiang H. Additional use of trimetazidine in patients with chronic heart failure. A meta-analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2012, 59, 913–922.