

УДК 616.127-001.8:616-008.9-085.22

©Романов

## **КАЛЬЦИЕВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ МИОКАРДА**

***Б.К. Романов***

Кафедра фармакологии фармацевтического факультета Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова, Москва, Никитский бульвар, д.13;  
факс: 434-44-31

Показана способность блокаторов кальциевых каналов верапамила и дилтиазема уменьшать кальциевую перегрузку кардиомиоцитов и ограничивать процесс активации лизосомального аппарата миокарда в условиях острой гипоксической гипоксии, острой тотальной ишемии миокарда и экспериментальной гиперлипидемии.

**Ключевые слова:** лизосомы, кальций, верапамил, дилтиазем, дигоксин, нонахлазин.

**ВВЕДЕНИЕ.** В терапии сердечно-сосудистых заболеваний широко используются кальцийрегулирующие кардиотропные средства - антагонисты кальция и кардиостимулирующие средства (гликозидные и негликозидные). Фармакодинамические проявления их использования разнообразны, в том числе включают изменения метаболизма и внешней работы миокарда. Их общий клинический эффект основан, прежде всего, на изменении содержания ионов кальция в саркоплазме кардиомиоцитов [1, 2]. Влияние блокаторов кальциевых каналов, сердечных гликозидов и  $\beta$ -адреностимуляторов на кардиомиоциты в целом известно. Менее освещены вопросы влияния кардиотропных средств на вакуолярно-лизосомальный аппарат миокарда [3]. Различными исследователями указывалось на возможность изменения активности кислых гидролаз при назначении различных лекарственных средств, но до последнего времени не существовало единых представлений о механизмах регуляции лизосомальной активности [4]. Представление о широком участии лизосомальной системы в клеточном метаболизме [5], а, следовательно, в развитии очень многих, если не всех, физиологических и патологических процессов в клетке [6], побуждает к изучению молекулярных основ регуляции, в том числе посредством вторичных мессенджеров, функциональной активности лизосомального аппарата. С целью изучения влияния антагонистов кальция верапамила и дилтиазема и кардиостимулирующих средств дигоксина и азаклорзина на лизосомы миокарда (активность лизосомальных ферментов и стабильность лизосомальных мембран) в условиях нормоксии, обратимой и необратимой гипоксии и дислипидемии был проведен поиск связи между функциональной активностью лизосом и уровнем ионизированного кальция в миокарде млекопитающих.

**МЕТОДИКА.** В качестве объектов исследования были использованы миокард и кровь 896 белых беспородных половозрелых крыс-самцов (по 8 животных в группе), масса тела которых составляла 130-150 г.

Крыс содержали в стандартных условиях вивария, на полном рационе, соответственно суточным нормативам питания для данного вида животных.

*Модель острой гипоксической гипоксии.* Острую гипоксию вызывали у животных путем экспозиции в барокамере объемом 0,125 м<sup>3</sup>, в которой в течение 6 часов создавалось разрежение воздуха (в среднем 22,7 кПа), адекватное высоте 7500-8000 метров над уровнем моря [7].

*Модель острой тотальной ишемии миокарда.* Миокард отмывали от крови в теплом (37°C) изотоническом растворе хлорида натрия и отсекали предсердия. Ткань желудочков быстро рассекали ножницами на мелкие части. Седьмую часть перемешанных кусочков немедленно гомогенизировали (60 секунд при 1500 об/мин) в гомогенизаторе Dіах 900 (США) с насадкой 06G в 10 объемах 0,15 М ледяного (0-4°C) раствора хлорида натрия для получения исходного гомогената. Оставшиеся шесть частей помещали в нагретые до 37°C стомиллилитровые стеклянные бюксы, внутри выложенные смоченной в изотоническом растворе хлорида натрия фильтровальной бумагой. Бюксы плотно закрывали притёртыми крышками и помещали в термостат при 37°C. Через пятнадцатиминутные промежутки времени (в первый час) и на 90 и 120 минутах ишемии один из бюксов по очереди вскрывали и немедленно готовили гомогенат.

*Модель экспериментальной гиперлипидемии.* Крыс-самцов в течение 10 дней содержали на атерогенном рационе, содержащем в масляной эмульсии 10% холестерина и 1% холевой кислоты. Эмульсию вводили один раз в день через зонд в желудок из расчета 1 мл эмульсии на 100 г массы тела [8].

*Схемы введения лекарственных средств.* В качестве лекарственных средств, уменьшающих содержание кальция в миокарде, использовали два блокатора потенциалзависимых кальциевых каналов: верапамила гидрохлорид, который вводили внутрь и парентерально и дилтиазем, который вводили внутрь.

Верапамила гидрохлорид ("ICN-Октябрь"; в таблетках, покрытых оболочкой по 80 мг, и в ампулах с 0,25% раствором по 2 мл) – вводили однократно за 8 часов до забоя внутрь (таблетки) в дозе 10 мг/кг в виде суспензии по зонду в 1 мл воды на 100 г веса и внутримышечно (раствор) в дозе 1 мг/кг. Дилтиазем ("Pliva" – Хорватия; в таблетках по 60 мг) – вводили внутрь однократно в дозе 4 мг/кг в виде суспензии по зонду в 1 мл воды на 100 г веса за 8 часов до забоя.

В качестве лекарственных средств, увеличивающих содержание кальция в миокарде, использовали: дигоксин – сердечный гликозид, кардиотонический эффект которого связан с угнетением активности Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазы и усилением входа в клетку ионов Ca<sup>2+</sup> – вводили внутрь и парентерально, и нонахлазин (азаклорзин) – β-адреномиметический антиангинальный препарат, увеличивающий уровень кальция в клетке, который вводили внутрь.

Дигоксин ("Lilly" – Швейцария; в таблетках по 0,2 мг бета-ацетилдигоксина, и в ампулах по 1 мл 0,02% раствора бета-ацетилдигоксина) вводили однократно за 8 часов до забоя внутрь в виде суспензии по зонду в дозе 5 мг/кг (таблетки) в 1 мл воды на 100 г веса, и внутримышечно (раствор) в дозе 2,5 мг/кг. Нонахлазин (таблетки по 30 мг) – вводили однократно за 8 часов до забоя внутрь в виде суспензии по зонду в дозе 2 мг/кг в 1 мл воды на 100 г веса.

*Биохимические методы исследования.* Крыс забивали под эфирным рауш-наркозом, при сохраненном дыхании и сердцебиении. При наступлении стадии хирургического наркоза прекращались произвольные движения животного, отмечалось прекращение движения волос усов.

Кровь забирали из брюшного отдела аорты в 2 пробирки: в пробирку типа "Erpendorf" (с герметичной пластиковой крышкой) забирали 1 мл крови для немедленной загрузки в анализатор газов крови. Остаток крови (2–3 мл) забирали в стеклянную центрифужную градуированную пробирку для получения сыворотки, которую использовали для биохимических исследований. Сыворотку получали при 20-22°C, после отделения сгустка от стенок пробирки стеклянной палочкой и центрифугирования в настольной центрифуге ОПН-8 (Россия) при 3000 об./мин в течение 3 минут.

После забора крови и рассечения диафрагмы, извлекали сердце, отсекали предсердия, а полученный миокард желудочков быстро промывали от крови в теплом (37°C) изотоническом растворе хлорида натрия, высушивали на беззольной фильтровальной бумаге и взвешивали на электронных весах "ОНАУС" (США).

После быстрого измельчения ножницами миокард гомогенизировали в течение 60 секунд при 1500 об/мин в гомогенизаторе "Diah 900" (США) с насадкой "06G" (США) в 50 объемах 0,15 М ледяного (0-4°C) раствора хлорида натрия.

Для получения безъядерного гомогената миокарда гомогенат (500 мкл) центрифугировали в микроцентрифуге "Eppendorf 5403" (Германия) при 1500 g в течение 10 минут. Выход безъядерного надосадка составлял 100 мкл.

Для получения лизосомально-митохондриальной фракции 500 мкл исходного гомогената центрифугировали при 4°C в центрифуге "J-6M" (США) при 20000 g в течение 30 минут. Надосадочную жидкость немедленно фильтровали на тефлоновом мембранном элюационном фильтре "Hamilton" (США) с диаметром отверстий 0,45 мкм.

Для пробоподготовки гомогената миокарда к хроматографии 500 мкл исходного гомогената помещали в пробирку типа "Eppendorf" (с герметичной пластиковой крышкой). Содержимое пробирок быстро замораживали до -70°C в морозильной установке "Sanyo" (Япония), затем пробирки загружали в ультразвуковую ванну "Сонар" (Россия) на 5 минут. После ультразвуковой обработки гомогенат центрифугировали при 4°C в центрифуге "J-6M" (США) при 20000 g в течение 30 минут, надосадок отфильтровывали на тефлоновом мембранном элюационном фильтре "Hamilton" (США) с диаметром отверстий 0,45 мкм. Выход гомогената для ВЭЖХ составлял 100 мкл.

*Определение концентрации лекарственных средств.* Концентрацию верапамила, дилтиазема, дигоксина и нонахлазина определяли в ткани миокарда методом обращенно-фазового высокоэффективного жидкостного хроматографического анализа в градиентной системе "Stayer" фирмы "Аквилон" (Россия) [9]. Объем петли инжектора, в которую вводили пробу – 50 мкл. Градиент подвижной фазы образовывали на линии высокого давления, в колонке Phenomenex (модель LUNA C-18, размеры- 150×4,6 мм, диаметр пор - 5 мкм) с октадецилом, в подвижной фазе - 1% водный раствор ортофосфорной кислоты (неорганический растворитель) и ацетонитрил (органический растворитель), объем потока 1 мл в минуту, градиент давления 300-100 атмосфер, температура колонки 15-25 градусов, длительность программы - 20 минут. Калибровку проводили методом внутреннего стандарта водными растворами анализируемых лекарственных средств. Анализ хроматограмм проводили в среде "Мультихром" (версия 2.0).

*Определение содержания кальция в крови и миокарде.* Содержание общего (ионизированного и неионизированного) кальция в сыворотке крови определялось о-крезолфталеиновым методом на биохимическом анализаторе – фотометре "Humalyzer 2000" с использованием стандартного набора жидких реактивов на кальций (200 мл на 400 тестов) фирмы "HUMAN" (Германия), по рекомендациям Международной Федерации по Клинической Химии (IFCC) [1].

Содержание общего (ионизированного и неионизированного) кальция в исходном гомогенате миокарда определяли флуоресцентным методом на сканирующем флуориметре "Shimadzu-150" (Япония) при помощи хелататора кальция Quin-2 ("Sigma", США) [1].

Содержание ионизированного кальция в сыворотке крови, в исходном гомогенате миокарда, а также в безъядерной и лизосомально-митохондриальной фракциях гомогената миокарда определяли методом прямой потенциометрии на анализаторе "Экотест-120" (Россия) с применением ионселективных (на кальций) микроэлектродов модели "EasyLyte-2150" и референтных микроэлектродов модели "EasyLyte-2152" на мембране "2258" по калибраторам Auto-CAL-33-140 (внутреннему) и CAL-Set-33-120 (внешнему) фирмы "Medica" (США) [1].

*Определение активности лизосомальных ферментов.* В качестве объекта изучения мы использовали три маркерных лизосомальных фермента, имеющих различную локализацию (в лизосомальном матриксе и на мембране лизосом): кислая фосфатаза (КФ 3.1.3.2) – мембранно-матриксный фермент (смешанной локализации),  $\beta$ -галактозидаза (КФ 3.2.1.23) – матриксный фермент, катепсин D (КФ 3.4.23.5) – мембранно-матриксный фермент (смешанной локализации).

Активность лизосомальных ферментов определяли в гомогенате миокарда (оценка состояния лизосомально-вакуолярного аппарата), и в сыворотке крови (показатель степени завершенности патологического процесса) на фотометре “HUMALYZER 2000” (Германия).

Активность кислой фосфатазы определяли по скорости расщепления субстрата – глицерол-2-фосфата (“Sigma”) [10]. Спустя 60 минут после начала инкубации при 37°C раствора гомогената (или сыворотки крови) в ацетатном буфере с pH 5,0 реакцию гидролиза останавливали добавлением охлажденной до 0°C 10% трихлоруксусной кислоты и помещали пробу на 15 минут в холодильник при 4°C. Количественное определение конечного продукта ферментативного гидролиза  $\beta$ -глицерофосфата определяли в надосадочной жидкости (2 мл) после центрифугирования в настольной центрифуге ОПН-8 (Россия) при 3000 об./мин в течение 15 минут в кварцевой кювете (10 мм) на фотометре “HUMALYZER 2000” при длине волны 660 нм.

Активность  $\beta$ -галактозидазы определялась полумикрометодом по скорости расщепления субстрата – 4-нитрофенил- $\beta$ -D-галактопиранозида (“Sigma”) [10] в течение 30 минут при 37°C в цитрат-фосфатном буфере с pH 4,0. После остановки реакции раствором глицина-щелочного pH 10,8, пробирки центрифугировали в центрифуге ОПН-8 (Россия) при 3000 об./мин в течение 10 минут. Надосадок (500 мкл), содержащий продукт реакции – 4-нитрофенол, фотометрировали в проточной кювете фотометра “HUMALYZER 2000” при длине волны 420 нм.

Активность катепсина D определяли по скорости расщепления субстрата – гемоглобина, 8% раствор которого на 8 М карбамиде предварительно инкубировали 2 часа в водяной бане при 60°C, а затем разводили в 4 раза ацетатным буфером pH 3,6. После внесения гомогената (или сыворотки крови) смесь инкубировали при 37°C в течение 60 минут. Реакцию останавливали внесением охлажденной до 4°C 5% трихлоруксусной кислоты, затем для осаждения остатков гемоглобина и крупных белковых частиц пробы центрифугировали в настольной центрифуге ОПН-8 (Россия) при 3000 об./мин в течение 15 минут. Надосадок (2 мл) фотометрировали в кварцевой кювете (10 мм) фотометра “HUMALYZER 2000” при длине волны 280 нм.

В гомогенате миокарда исследовали:

Свободную активность ферментов - в исходном гомогенате миокарда.

Общую активность ферментов - в безъядерном гомогенате с добавлением детергента (тритона X-100, в конечной концентрации 0,1%), полностью высвобождающего ферменты из связи с мембранами.

Неседиментируемую активность ферментов - в лизосомально-митохондриальной фракции безъядерного гомогената.

Связанную активность ферментов рассчитывали, как разность общей активности и свободной активности.

Седиментируемую активность ферментов рассчитывали, как разность общей активности и неседиментируемой активности.

Для оценки функционального состояния лизосом и степени повреждения лизосомальных мембран рассчитывали “коэффициент лабильности” (показатель целостности лизосомальных мембран), отражающий степень перехода тканевой активности ферментов в неседиментируемую фракцию, который рассчитывали как процентное отношение неседиментируемой активности к общей активности.

“Коэффициент латентности” (степень изолированности ферментов в лизосомальном компартменте) рассчитывали как процентное отношение разности общей и свободной активности к общей активности.

Для оценки уровня активности лизосомальных ферментов в крови, которая может увеличиваться при повреждении лизосом в тканях (с задержкой по времени, обусловленной транспортом в кровь), и может служить диагностическим и прогностическим критерием степени тяжести патологического процесса, определялась общая активность ферментов в сыворотке крови.

Активность ферментов рассчитывали в единицах СИ (катал).

Удельную активность ферментов рассчитывали с учетом содержания белка в сыворотке крови или в соответствующей фракции гомогената (определяли на фотометре "HUMALYZER 2000" с набором на белок фирмы "HUMAN" (Германия) микробиуретовым методом) и выражалась в нанокатал на грамм белка [11]:

*Определение показателей газового состава крови.* Газовый состав крови крыс – скорректированное на температуру и атмосферное давление парциальное давление кислорода и углекислого газа  $pO_2$ ,  $pCO_2$  и pH определяли на автоматическом анализаторе газов крови "EasyBloodGas" (США).

*Определение концентрации малонового диальдегида.* Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови и в исходном гомогенате ткани миокарда желудочков крыс определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Измерение светопоглощения окрашенного раствора проводилось на фотометре "HUMALYZER 2000" (Германия) при длине волны 532 нм.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Введение кальций-регулирующих веществ и моделирование экспериментальной патологии сопровождалось достижением терапевтических дозировок в тканях (см. табл. 1 и 2) и выраженными изменениями содержания ионизированного кальция в миокарде (см. рис. 1).

Таблица 1. Содержание верапамила в миокарде крыс через 6 часов после однократного внутримышечного введения в дозе 1 мг/кг.

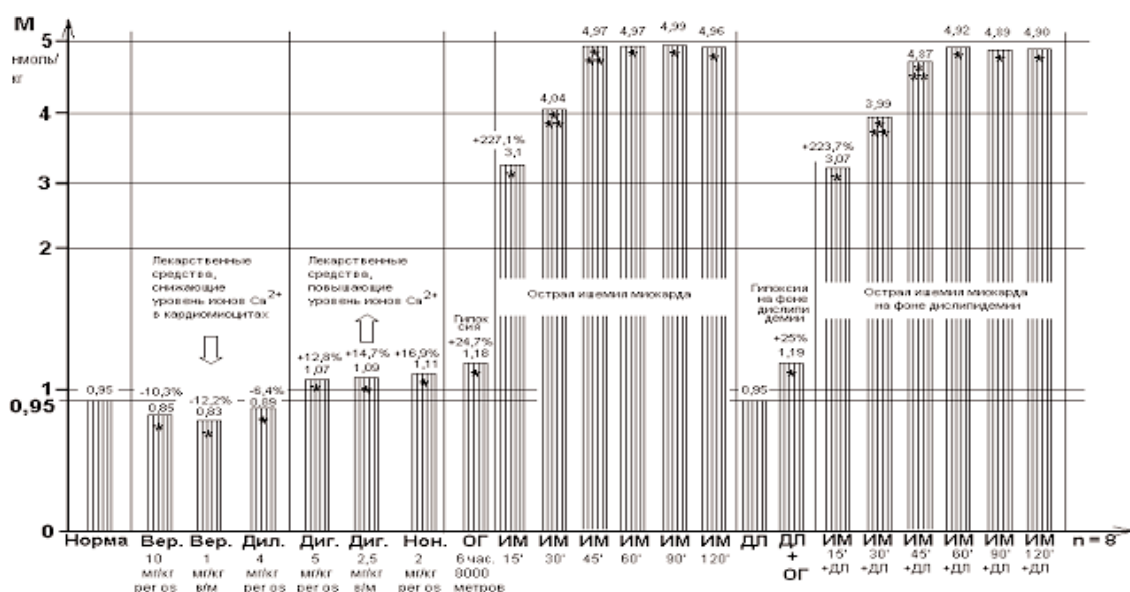
Экспериментальные серии	мг/кг ткани
Верапамил	0,87±0,02
Верапамил + острая гипоксия - 6 часов	0,87±0,04
Диглицидэмиа + верапамил	0,87±0,04
Верапамил + острая ишемия -15 минут	0,87±0,05
Верапамил + острая ишемия -30 минут	0,87±0,03
Верапамил + острая ишемия -45 минут	0,90±0,02
Верапамил + острая ишемия -60 минут	0,87±0,04
Верапамил + острая ишемия -90 минут	0,89±0,06
Верапамил + острая ишемия -120 минут	0,86±0,08

Примечание. Здесь и в последующих таблицах: результаты представлены как среднее арифметическое ± стандартное отклонение. В каждой серии было по 8 животных.

Таблица 2. Содержание дигоксина в миокарде крыс через 6 часов после однократного внутримышечного введения в дозе 2,5 мг/кг.

Экспериментальные серии	мкг/кг ткани
Дигоксин	27,96±0,77
Дигоксин + острая гипоксия - 6 часов	28,07±1,27
Диглицидэмиа + дигоксин	27,92±1,32
Дигоксин + острая ишемия -15 минут	27,98±1,75
Дигоксин + острая ишемия -30 минут	27,66±1,07
Дигоксин + острая ишемия -45 минут	27,99±1,48
Дигоксин + острая ишемия -60 минут	28,31±1,48
Дигоксин + острая ишемия -90 минут	28,06±2,00
Дигоксин + острая ишемия -120 минут	28,00±2,68

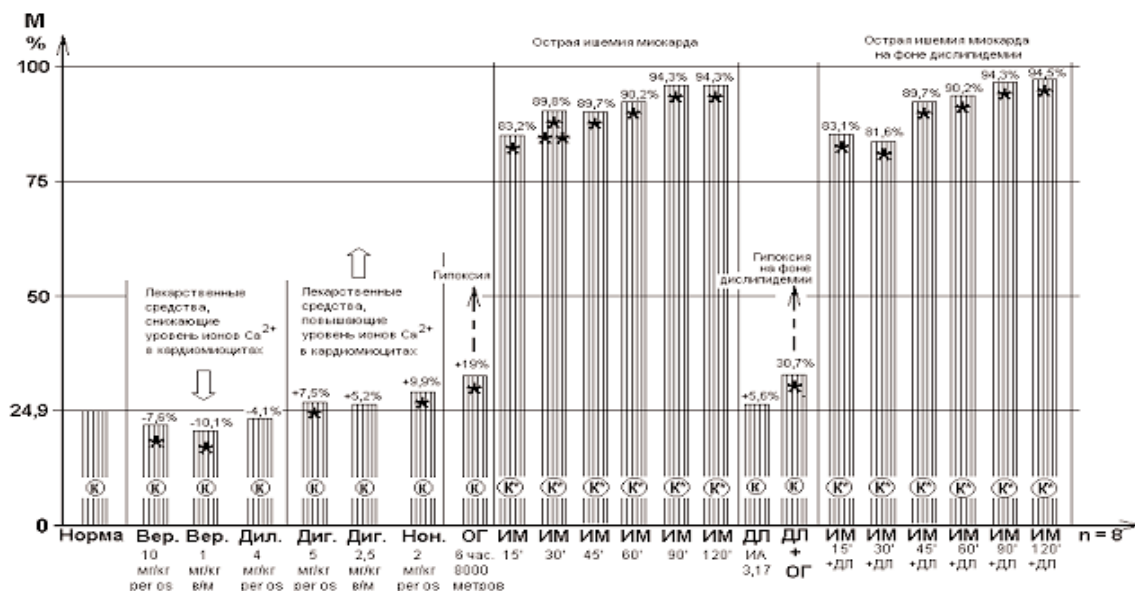
## КАЛЬЦИЕВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ



**Рисунок 1.**

Содержание ионизированного кальция в саркоплазме кардиомиоцитов белых крыс-самцов (нмоль/кг сырой ткани).

Примечание. Здесь и в последующих рисунках: Вер – верапамил; Дил – дилтиазем; Диг – дигоксин; Нон – ноналазин; ОГ – острая гипоксия; ИМ – ишемия миокарда; \* - достоверное различие с группой биологического контроля; \*\* - достоверное различие с соответствующей группой экспериментальной патологии ( $p < 0,05$ ).



**Рисунок 2.**

Коэффициент лабильности β-галактозидазы в саркоплазме кардиомиоцитов белых крыс-самцов (нмоль/кг сырой ткани).

Примечание. Здесь и в последующих рисунках: К – корреляция вариант показателя с уровнем ионизированного кальция в миокарде, общей активностью фермента в сыворотке крови и уровнями малонового диальдегида в ткани миокарда и сыворотке крови; К\* – корреляция вариант показателя с уровнем ионизированного кальция в миокарде.

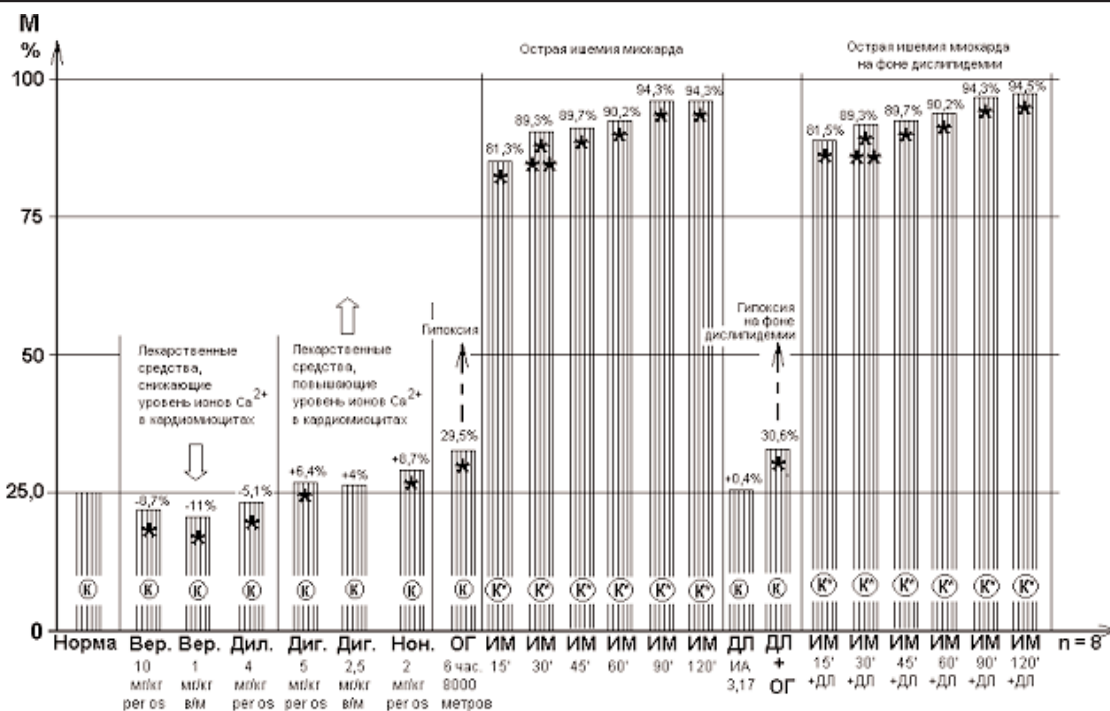


Рисунок 3.

Коэффициент лабильности кислой фосфатазы в саркоплазме кардиомиоцитов белых крыс-самцов (нмоль/кг сырой ткани).

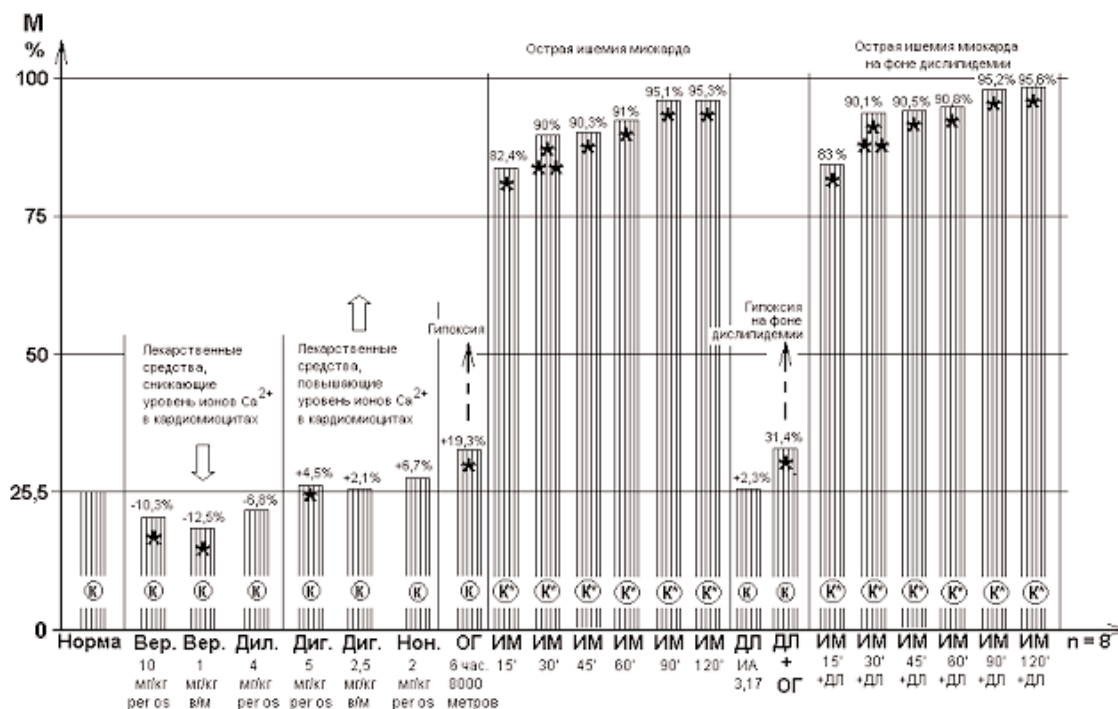


Рисунок 4.

Коэффициент лабильности катепсина D в саркоплазме кардиомиоцитов белых крыс-самцов (нмоль/кг сырой ткани).

При назначении блокаторов кальциевых каналов – верапамила и дилтиазема в эффективных дозах, приводящих к статистически значимому снижению ионов кальция в ткани миокарда (на 10,3-12,2% при назначении верапамила, и на 6,4% при назначении дилтиазема), изменение уровня ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в высокой степени коррелирует с изменением темпов перехода активности лизосомальных ферментов в неседиментируемую фракцию, изменением степени стабильности лизосомальных мембран и общей активностью кислых гидролаз.

Указанные обстоятельства позволяют сделать предположение об активном участии кальциевого механизма в активации лизосомального аппарата. Избыточное накопление кальция вследствие активации фосфолипаз и процессов перекисного окисления липидов может приводить к дестабилизации лизосомальных мембран и выходу в цитозоль кислых гидролаз, в том числе протеиназ и липаз, усугубляющих повреждение клеточных мембран.

Изменение кальцийрегулирующими лекарственными средствами уровня кальция сопровождалось изменением активности лизосомального аппарата в миокарде (рис. 1-4).

Учитывая то, что эффекты кальциевой регуляции активности лизосомальных ферментов миокарда могут являться ключевым фактором, участвующим в обеспечении сохранения жизнеспособности тканей сердца в условиях патологии - дефицита кислорода и т.д., метаболические эффекты лекарственных средств, уменьшающих уровень ионизированного кальция в цитоплазме (антагонистов кальция), могут быть использованы для увеличения продолжительности периода времени, в течение которого жизнеспособность тканей миокарда при инфаркте может быть сохранена без наступления необратимых изменений. Понимание биохимических механизмов перестройки метаболизма при ишемии и реперфузии, в том числе на фоне дислипидемии (что более всего соответствует реальной патологии) позволяет принимать действенные меры, направленные на ослабление патологических последствий таких изменений на ткани сердца. Применяемая терапия должна способствовать снижению энергетического дефицита тканей, исключать случаи кальциевой перегрузки клеток и корректировать уровень активных форм кислорода и аутолитической активности лизосомальных ферментов.

#### **ВЫВОДЫ:**

1. Блокаторы кальциевых каналов верапамил и дилтиазем снижают содержание ионизированного кальция в кардиомиоцитах и в сыворотке крови, уменьшают общее содержание кальция в сыворотке крови.
2. Сердечный гликозид дигоксин и  $\beta$ -адреностимулятор азаклорзин повышают содержание ионизированного кальция в кардиомиоцитах, не изменяя его общее содержание в миокарде, и не влияя на содержание общего и ионизированного кальция в сыворотке крови.
3. Острая гипоксическая гипоксия вызывает повышение уровня общего и ионизированного кальция в сыворотке крови и ионизированного кальция в кардиомиоцитах.
4. Обратимая однократная гипоксия и гипоксемия сопровождается повышением коэффициента лабильности лизосомальных кислых гидролаз в миокарде, но не приводит к изменению общей активности этих ферментов.
5. Полное прекращение поступления кислорода в миокард приводит к накоплению ионизированного кальция в саркоплазме кардиомиоцитов вплоть до 45 минуты острой тотальной ишемии миокарда, не сопровождаясь изменениями общего содержания кальция в изолированной ткани миокарда.
6. Острая тотальная ишемия миокарда сопровождается снижением общей активности лизосомальных ферментов в миокарде и переходом их активности в неосаждаемую фракцию в период с 15 по 30 минуту полного кислородного голодания.
7. Увеличение индекса атерогенности сыворотки крови не изменяет кинетику кальциевого метаболизма и лизосомальной активности.

8. Существует положительная корреляция между коэффициентом лабильности кислых гидролаз миокарда и уровнем ионизированного кальция в кардиомиоцитах, уровнем активности лизосомальных ферментов в сыворотке крови, и уровнем малонового диальдегида в крови и ткани миокарда.

#### ЛИТЕРАТУРА.

1. Макарова В.Г., Лиферов Р.А. (2000) Изменения электролитного состава крови у больных ишемической болезнью сердца. Рязань, РязГМУ.- 85 с.
2. Романов Б.К., Макарова В.Г., Лобанова А.И., Пунякин А.К. (2000) В кн.: Биохимия на рубеже XXI века.: Межрегион. сб. науч. тр.-Рязань.-Изд-во РязГМУ. с.55-59
3. Винокурова Е.Н. (1998) Активность лизосомальных ферментов и состояние электролитного баланса миокарда при острой и хронической гипоксической гипоксии в условиях действия целанида и сензита .Дисс.канд. биол.наук.- Рязань.-159 с.
4. Сысолятина Н.А. (1991) Влияние бета-адренергических средств на лизосомы миокарда. Автореферат дисс.доктора медицинских наук. М.
5. Покровский А.А., Тутельян В.А. (1976) Лизосомы: Наука.-М.
6. Тутельян В.А., Васильев А.В. (1990) Вест. АМН СССР, № 2, 14-21.
7. Романов Б.К., Савилов К.В. (1997) Тезисы докл. IV Российского национального конгресса "Человек и лекарство", с. 109.
8. Сернов Л.Н., Смирнов Л.Д., Шапошникова Г.И., Гуранова Н.Н. (2002) Клинико-экспериментальное исследование противоишемической и гиполипидемической активности мексидола. Бюлл. Всеросс. научн. центра по безопасности биологич. активных веществ. Старая Купавна.-1.-с.44-52.
9. Романов Б.К., Макарова В.Г., Кузьмина Т.А. (2001) В кн.: Актуальные вопросы здоровья населения Центра России. - Рязань. с. 50-52.
10. Романов Б.К., Лобанова А.И. (2000) Биохимия на рубеже XXI века.: Межрегион. сб. науч. тр. - Рязань. - Изд-во РязГМУ. - с. 95-97.
11. Дж. Дингл (ред.) (1980) Лизосомы. Методы исследования. Пер. с англ. - М.: Мир.

Поступила: 25. 04. 2003

#### REGULATION OF MYOCARDIAL LYSOSOMAL ENZYME ACTIVITY BY CALCIUM

**B.K. Romanov**

Department of Pharmacology, Sechenov Moscow Medical Academy,  
Nikitskii b-rd 13, Moscow, Russia; fax: 8 (495) 434-44-31

Calcium channel blockers, verapamil and diltiazem, reduce calcium overloading of cardiomyocytes and limit activation of myocardial lysosomal enzymes under conditions of acute hypoxia, acute total ischemia of myocardium and experimental hyperlipidemia.

**Key words:** lysosomal, calcium, verapamil, diltiazem, digoxin, nonahlazin.