

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

© Коллектив авторов, 2012  
УДК 616.369-008.641-0087

**ВЛИЯНИЕ ЛОВАСТАТИНА НА АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ  
ФЕРМЕНТОВ ПРИ КУРСОВОМ НАЗНАЧЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*А.С. Полупанов, Е.Н. Якушева, Д.Г. Узбекова*

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

**В статье показано, что курсовое применение ловастатина у крыс сопровождается увеличением неседиментируемой активности лизосомальных катепсина Д и ДНК-азы в печени и скелетной мышце. Отмена ловастатина способствует нормализации исследуемых показателей.**

**Ключевые слова:** ловастатин, лизосомальные ферменты.

Статины как средства коррекции дислипидемий находят широкое применение в современной клинической практике. Это обусловлено высокой активностью ингибиторов ГМГ-КоА редуктазы в нормализации липидного спектра, а также наличием у статинов дополнительных плейотропных эффектов [2]. В клинических исследованиях показана способность статинов замедлять прогрессирование атеросклероза, снижать риск развития его осложнений и стабилизировать атеросклеротические бляшки [7]. Установлено, что статины значительно снижают кардиальную и общую смертность, оказывают благоприятное влияние на прогноз больных сахарным диабетом [1].

Статины обладают хорошей переносимостью, однако способны вызывать ряд нежелательных лекарственных реакций. Гепатотоксичность и миопатия, проявляющиеся повышением уровней тканеспецифичных ферментов в крови, развиваются в 0,1-1,5% случаев [10], однако, требуют мониторинга безопасности для предотвращения таких осложнений, как печеночная недостаточность, миозит, рабдомиолиз.

Известно, что лабилизация мембран лизосом характерна для патогенеза многих заболеваний, она также отражает по-

вреждающее действие ряда лекарственных средств на субклеточном уровне.

В связи с вышеизложенным целью работы является изучение влияния статинов на активность лизосомальных ферментов в органах, считающихся основными мишенями повреждающего действия ингибиторов ГМГ-КоА редуктазы, а также в миокарде.

**Материалы и методы**

Исследование проводилось на 28 половозрелых нелинейных белых крысах самцах массой 150-220 г. Ловастатин в дозе 20 мг/кг вводили внутривенно ежедневно в 18 часов в течение 7 и 14 дней, контрольным животным вводили дистиллированную воду. На 7 и 14 день курсового применения ловастатина, а также на 7 день отмены животных этанализировали под эфирным наркозом. У крыс забирали печень, сердце и бедренную мышцу, органы отмывали в физиологическом растворе и гомогенизировали на холоду в гомогенизаторе Heidolph D1AX 900 (Германия) при 24000 об/мин в течение 60 сек в 0,25М растворе сахарозы, содержащем 1мМ ЭДТА. Затем гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин. в течение 10 минут при 4°C, осадок отбрасывали, а надосадочную жидкость повторно центрифугировали при 20000 об/мин в

течение 30 минут при 4°C. Осадок ресуспендировали в 0,25M растворе сахарозы, содержащем 0,1% тритон X100.

Активность β-галактозидазы, катепсина Д и ДНК-азы определяли в надосадке (неседиментируемая активность) и в осадке, содержащем лизосомы (седиментируемая активность), спектрофотометрическим методом по гидролизу β-D-галактопиранозида [6], гемоглобина [9] и ДНК [6] соответственно. Активность β-галактозидазы выражали в нмоль п-нитрофенола/мг белка в минуту, катепсина Д – в нмоль тирозина/мг белка в минуту, ДНК-азы – в нмоль 5 АМФ/мг белка в минуту. Результаты обработаны методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

#### Результаты и их обсуждение

Курсовое 7-дневное введение ловастатина интактным животным сопровождалось снижением в миокарде неседимен-

тируемой активности ДНКазы и β-галактозидазы на 14,6% (p<0,05) и 61,1% (p<0,05) соответственно по отношению к контролю (табл. 1).

На 14 день курсового применения ловастатина отмечалось повышение неседиментируемой активности катепсина Д в печени на 22,5% (p<0,05) и скелетной мышце – на 37,8% (p<0,05). В миокарде неседиментируемая активность катепсина Д понижалась на 34,9% (p<0,05). Седиментируемая активность катепсина Д имела тенденцию к снижению во всех исследуемых органах.

Неседиментируемая активность β-галактозидазы на 14 сутки назначения ловастатина в миокарде снизилась на 66,7% (p<0,05), в печени и скелетной мышце имела тенденцию к повышению. Седиментируемая активность β-галактозидазы в печени понижалась на 66,3% (p<0,01) по сравнению с контролем.

Таблица 1

#### Активность лизосомальных ферментов в тканях при курсовом 7 и 14 дневном применении ловастатина и на 7 день отмены препарата

Фермент		Печень n=7	Миокард n=7	Скелетная мышца n=7
Применение ловастатина (7 день)				
Катепсин Д	СА	1,33±0,14	0,29±0,03	0,84±0,09
	НСА	2,31±0,17	0,86±0,08	1,03±0,07
β-галактозидаза	СА	0,70±0,10	0,021±0,004	0,019±0,006
	НСА	1,47±0,07	0,07±0,02*	0,67±0,07
ДНКаза	СА	0,97±0,07	1,81±0,03	0,90±0,05
	НСА	0,64±0,04	0,70±0,03*	0,66±0,04
Применение ловастатина (14 день)				
Катепсин Д	СА	1,24±0,08	0,27±0,03	0,81±0,07
	НСА	2,50±0,15*	0,71±0,09*	1,24±0,10*
β-галактозидаза	СА	0,29±0,08*	0,028±0,006	0,017±0,004
	НСА	1,58±0,09	0,06±0,02*	0,89±0,09
ДНКаза	СА	0,94±0,05	1,83±0,07	0,88±0,07
	НСА	0,72±0,05*	0,64±0,04*	0,75±0,05*
Последствие (7 день отмены ловастатина)				
Катепсин Д	СА	1,36±0,09	0,34±0,04	0,85±0,06
	НСА	2,33±0,08*	0,92±0,07	1,07±0,06*
β-галактозидаза	СА	0,85±0,20	0,024±0,007	0,021±0,003
	НСА	1,58±0,09	0,10±0,01*	0,78±0,06
ДНКаза	СА	0,99±0,10	1,84±0,11	0,92±0,06
	НСА	0,67±0,06	0,74±0,04	0,63±0,04

Примечание: СА – седиментируемая активность, НСА – неседиментируемая активность. \* – отмечена достоверность изменений по отношению к контролю (интактные животные).

Неседиментируемая активность ДНКазы на 14 сутки курсового применения ловастатина возросла в печени и скелетной мышце на 26,3% ( $p < 0,05$ ) и 23,0% ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с контролем. В миокарде неседиментируемая активность фермента понизилась на 22,0% ( $p < 0,01$ ). Седиментируемая активность ДНКазы незначительно уменьшилась относительно контроля во всех исследуемых органах.

На 7 день отмены ловастатина наблюдалась следующая динамика активности лизосомальных ферментов: неседиментируемая активность катепсина Д в печени и скелетной мышце оставалась повышенной по сравнению с уровнем контроля на 14,2% ( $p < 0,05$ ) и 18,9% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Неседиментируемая активность  $\beta$ -галактозидазы в миокарде сохранялась пониженной на 44,4% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Остальные показатели активности лизосомальных ферментов от показателей контроля (интактные животные) достоверно не отличались.

Таким образом, при курсовом применении ловастатина отмечается повышение неседиментируемой активности исследуемых лизосомальных ферментов в печени и скелетной мышце, что может являться признаком лабилизации мембран лизосом. Результаты, полученные при изучении влияния статинов на активность лизосомальных ферментов в печеночной и мышечной тканях в условиях нормы могут объясняться их органотропностью и, видимо, потенциальным органотоксическим действием препаратов. Ловастатин – липофильное вещество, поэтому хорошо проникает в ткани и накапливается в печени и скелетной мышце [8]. Причинами влияния статинов на мембраны могут быть блокада синтеза убихинона, которая инициирует активацию ПОЛ [5], повреждение мембран, ДНК и белков [4]; нарушение синтеза холестерина и производных мевалоновой кислоты (фарнезол, геранилгераноил и др.), являющихся структурными компонентами мембран.

Следует отметить, что лабилизация лизосомальных мембран в печени и скелетной мышце при назначении ловастатина интактным животным выражена незначительно, в миокарде она не выявлена. Это может быть связано с тем, что повышение уровня перекисидации липидов при использовании статинов сопровождается одновременной стимуляцией системы антиоксидантной защиты [3, 11].

Снижение лабилизации лизосомальных мембран в ткани миокарда может происходить в результате комплекса специфических плейотропных эффектов статинов [2].

Данные, полученные на 7 день отмены ловастатина позволяют говорить об обратимости процессов, вызванных статинами.

#### Выводы

1. Курсовое 7 и 14 дневное применение ловастатина (20 мг/кг) у крыс вызывает увеличение неседиментируемой активности катепсина Д и ДНКазы в тканях печени и скелетной мышцы, что является показателем мембранолабилизующего и повреждающего действия препарата на данные органы.

2. На 7 день отмены ловастатина отмечается нормализация исследуемых показателей для ДНКазы, что свидетельствует об обратимости изменений вызванных ловастатином.

#### Литература

1. Аронов Д.М. Кардиостабилизация больных ишемической болезнью сердца: рецепт для России / Д.М. Аронов // Лечащий врач. – 2007. – № 3. – С. 22-26.
2. Аронов Д.М. Плеотропные эффекты статинов / Д.М. Аронов // Рус. мед. журн. – 2001. – №13-14. – С. 578-582.
3. Дриницина С.В. Антиоксидантные свойства статинов / С.В. Дриницина, Д.А. Затейщиков // Кардиология. – 2005. – №4. – С. 65-72.
4. Затейщиков Д.А. Проблемы безопасности статинов / Д.А. Затейщиков // Фарматека. – 2005. – № 8. – С. 75-78.
5. Ланкин В.З. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологиче-

- ских состояниях / В.З. Ланкин, А.К. Тизазе, Ю.Н. Беленков. – М., 2001. – 78 с.
6. Покровский А.А. Методы разделения и ферментной идентификации субклеточных фракций / А.А. Покровский, А.И. Арчаков, О.Н. Любимова // Современные методы в биохимии. – М., 1968. – С. 5-59.
7. Сорокин Е.В. Современные подходы к лечению артериальной гипертонии и ишемической болезни сердца / Е.В. Сорокин // Кардиология . – 2006. – № 4. – С. 81-84.
8. Ушкалова Е.А. Миопатии и рабдомиолиз при применении гипохолестеринемических препаратов / Е.А. Ушкалова // Фарматека. – 2002. – №7/8. – С. 74-80.
9. Anson M.L. // J. Gen. Physiol. – 1939. – Vol. 22. – P. 79.
10. Expanded Clinical Evaluation of Lovastatin (EXCEL) study results. I. Efficacy in modifying plasma lipoproteins and adverse event profile in 8245 patients with moderate hypercholesterolemia / R.H. Bradford [et al.] // Arch. Intern. Med. – 1991. –Vol. 151. –P. 43-49.
11. MacNee W. Treatment of stable COPD: antyoxhydant / W. MacNee // Eur. Respir. Rev. – 2005. – Vol. 14, №94. – P. 12-22.

#### ACTION OF COURSE LOVASTATIN APPLICATION ON ACTIVITY OF LYSOSOMAL ENZYMES IN EXPERIMENT

*A.S. Polupanov, E.N. Yakusheva, D.G. Uzbekova*

**Paper shows that course application of lovastatin in rats increase nonsedimenteted activity of lysosomal katepsin D and DNA-aze in liver and skeletal muscle. After cancelation of lovastatin therapy investigated indicators will be going to normal level.**

**Key words:** *lovastatin, lysosomal enzymes.*

Полупанов Александр Сергеевич – к.м.н., ассистент кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО.  
E-mail: alexpol81@yandex.ru.

Якушева Елена Николаевна – д.м.н., доц., зав. кафедрой фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО.  
Тел.: 8-4912 -46-08-60.  
E-mail: e.yakusheva@ryazgmu.ru.

Узбекова Динора Галиевна – д.м.н., профессор кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО.  
E-mail: rzgmu@rzgmu.ru.