

УДК 615.272.4:616.74-02

ПРИЗНАКИ РИСКА РАЗВИТИЯ МИОПАТИИ, ВЫЗВАННОЙ ДЛИТЕЛЬНЫМ ПРИЁМОМ СИМВАСТАТИНА (ЗОКОРА)

Белуsoва Е.С., Микашинович З.И., Коваленко Т.Д.

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Ростов-на-Дону, e-mail: belousovalena@mail.ru

Для выявления особенностей метаболических изменений в скелетной мускулатуре крыс после длительного приёма симвастатина (Zocor, 20 мг по 1,5 мг один раз в сутки в течение 3-х месяцев) определяли концентрацию метаболитов гликолиза, активность ферментов углеводно-энергетического обмена и антиоксидантной защиты. Установлено, что в основе изменения структурно-функционального состояния мышечного волокна при длительном приёме статинов лежит цепь биохимических изменений, приводящая к развитию тканевой гипоксии. Накопление продуктов гликолиза и динамика активности ферментов дыхательной цепи в мышечной ткани животных экспериментальной группы свидетельствуют о нарушении интеграции основных путей энергообеспечения. Изменение активности ферментов антиоксидантной защиты отражает напряжение адаптивных механизмов клетки. Принимая во внимание полученные данные, можно полагать, что для повышения эффективности профилактических мероприятий при длительной терапии статинами необходима разработка схем нутритивной поддержки с использованием естественных метаболитов, обладающих антигипоксическим и антиоксидантным действием и оказывающих регуляторное влияние на сигнальные механизмы изменения активности генов, ответственных за формирование адаптивных реакций.

Ключевые слова: статины, статиновая миопатия, симвастатин

THE SIGNS OF MYOPATHIA DEVELOPMENT CAUSED BY PROLONGED SYMVASTATIN (ZOCOR) INTAKE

Belousova E.S., Mikashinovich Z.I., Kovalenko T.D.

SBEI HPO «Rostov state medical university» Ministry of Health protection of Russia,
Rostov-on-Don, e-mail: belousovalena@mail.ru

Concentration of glycolysis metabolites, activity of enzymes of carbohydrate and energetic metabolism and antioxidant enzymes were investigated in the purpose of estimation the metabolic changes in skeletal muscles of rats after prolonged intake of simvastatin (Zocor 20 mg, on 0,5 mg once per day during 3 months). It was established that the main cause of changes in structural and functional state of the muscle fiber at prolonged intake of statins belongs to the series of biochemical changes that lead to tissue hypoxia formation. The accumulation of glycolytic products and the dynamics of electron transport chain enzymes activity in the muscle tissue of animals from experimental group testify about affection in integration of main pathways of energy providing. Antioxidant defense enzymes activity changes reflects the tense of adaptive mechanisms of the cell. Taking to account such data we can suppose that in the purpose of increase the efficacy of prophylactic methods at prolonged statins intake it is necessary to make the schemes of nutritive sustains in combination with natural metabolites that have antihypoxia and antioxidant action and also have regulatory action on signal mechanisms of genes activity changes that responsible for adaptive reactions formation.

Keywords: statins, statin myopathy, simvastatin

В 90-х годах XX столетия фармацевтической промышленностью был осуществлён прорыв в комплексной терапии атеросклероза, который ознаменовался появлением на рынке лекарственных средств статинов. Многочисленные исследования показали их высокую эффективность в снижении уровня холестерина. Однако широкое внедрение статинов на фармацевтический рынок выявило ряд побочных эффектов, среди которых наиболее серьёзной проблемой является развитие миопатии. Статиновая миопатия возникает резко и характеризуется поражением мускулатуры нижних конечностей разной степени тяжести вплоть до рабдомиолиза. В современной литературе накоплен огромный фактический и теоретический материал, посвящённый изучению патогенеза статиновой миопатии. В то же время не существует однозначного мнения о молекулярных механизмах, лежащих

в основе структурно-функциональных нарушений мышечной ткани [12, 15]. В связи с вышеизложенным необходимо углубленное исследование процессов, обеспечивающих целостность сократительного аппарата, что позволит не только расширить представление о молекулярных механизмах повреждения мышечного волокна при длительном приёме статинов, но и разработать мероприятия по оптимизации обменных процессов.

Целью работы явилось выявление особенностей метаболических изменений в скелетной мускулатуре крыс после длительного приёма симвастатина (зокора).

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на 70 беспородных крысах-самцах в возрасте 12–14 месяцев (300–350 г). Содержание животных соответствовало санитарным правилам, утверждённым МЗ СССР от 06.07.73 по устройству, оборудованию и содержанию

экспериментально-биологических клиник (вивариев). Животных кормили натуральными и брикетированными кормами в соответствии с нормами, утвержденными приказом № 755 от 12.08.77 (Приказ Минздравоохранения РФ от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»). Все работы проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). В процессе эксперимента животные были разделены на две группы: контрольная группа – 35 интактных животных; экспериментальная группа – 35 животных, получавших в течение 3-х месяцев симвастатин (Zoscor, 20 мг) по 1,5 мг один раз в сутки. По истечении срока эксперимента животных декапитировали.

Для исследования отбирали фрагменты скелетных мышц с задней лапы животного. Гомогенат мышечной ткани готовили в соотношении 1 г ткани:9 мл охлажденного физ. раствора, центрифугировали при 3000 об/мин. В гомогенатах определяли концентрацию пировиноградной (ПВК) кислоты [8], лактата [9] и восстановленного глутатиона (GSH) [1], а также активность ферментов: супероксиддисмутазы (СОД) [2], каталазы [1], глутатионредуктазы (ГР) [9], глутатионпероксидазы (ГПО) [9]. Митохондрии выделяли дифференциальным центрифугированием после гомогенизации в солевом растворе (0,15 М КСl и 10 мМ трис-НСl). Для удаления ядерной фракции гомогенаты центрифугировали 15 мин при 640 g. Фракцию митохондрий выделяли в течение 25 мин при 20 000 g с двукратным промыванием средой выделения. Суспензию митохондрий использовали для определения активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) [14] и цитохромоксидазы (ЦХО) [3].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования представлены в таблице. В мышцах животных экспериментальной группы выявлено статистически значимое увеличение концентрации ПВК на 49,86% ($p < 0,001$) и лактата на 130% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Накопление недоокисленных продуктов гликолиза свидетельствует о формировании тканевой гипоксии.

Содержание метаболитов гликолиза и активность ферментов углеводно-энергетического обмена и антиоксидантной защиты в мышцах животных экспериментальной группы

Показатели	Группы	Контрольная группа, $n = 35$	Экспериментальная группа, $n = 35$
ПВК [мкмоль/мг белка]		0,369 ± 0,089	0,553 ± 0,093 ($p < 0,001$)
Лактат [мкмоль/мг белка]		3,957 ± 0,937	9,119 ± 0,930 ($p < 0,001$)
СДГ [нмоль/мг белка]		25,494 ± 5,60	30,493 ± 6,38 ($p > 0,05$)
ЦХО [нмоль/мг белка]		0,068 ± 0,0079	0,056 ± 0,0099 ($p < 0,05$)
СОД [усл. ед./мг белка]		15,706 ± 0,674	9,311 ± 0,866 ($p < 0,001$)
Каталаза [мКат/мг белка]		4,34 ± 0,900	2,163 ± 0,992 ($p < 0,001$)
GSH [мкмоль/мг белка]		426 ± 68,491	690 ± 84,933 ($p < 0,05$)
ГПО [мкмоль/мг белка]		176,00 ± 28,517	239,00 ± 41,042 ($p < 0,02$)
ГР [мкмоль/мг белка]		0,361 ± 0,074	0,722 ± 0,097 ($p < 0,001$)

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы.

В динамике формирования адаптивных реакций к гипоксии важнейшую регуляторную роль играет изменение активности митохондриальных ферментов. В мышцах животных экспериментальной группы выявлено повышение активности СДГ на 19,61% ($p < 0,05$) на фоне снижения активности ЦХО на 17,65% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Динамика активности СДГ и ЦХО нередко формируется по типу своеобразных «метаболических ножниц», в которых повышение активности сукцинатзависимого окисления сопровождается снижением акцептирования кислорода [6].

Изменение активности ферментов антиоксидантной защиты характеризуется статисти-

чески значимым снижением активности СОД на 32,07% ($p < 0,001$) и каталазы на 50,16% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Динамика активности ферментов обмена глутатиона имеет противоположно направленный характер: активность ГПО была увеличена на 35,80% ($p < 0,02$), ГР на 100% ($p < 0,001$), концентрация GSH повышена на 61,97% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы.

Анализируя полученные данные, можно полагать, что метаболический ответ мышечной ткани животных определяется развитием тканевой гипоксии. Длительный приём статинов при физиологическом течении обменных процессов способствует

формированию гипергликолиза, о чём свидетельствует статистически значимое увеличение концентрации ПВК и лактата. Накопление недоокисленных продуктов обуславливает развитие метаболического ацидоза, формирует блоки на уровне ключевых метаболитов и нарушает интеграцию путей, обеспечивающих поддержание энергетического баланса клетки. Существует мнение, что повышение уровня лактата играет ключевую роль в гипоксическом поражении клетки. Лактат, являясь L-энантимером, вступает в реакции межмолекулярной дегидратации, что приводит к образованию комплексов с фосфолипидами мембран и способствует уменьшению поступления кислорода в клетку и развитию тканевой гипоксии [10]. Повреждающее действие гипоксии реализуется путём разобщения окислительного фосфорилирования, активации проокислительных процессов, усиления мембранной проницаемости [7, 11].

Динамика активности ферментов дыхательной цепи отражает тенденцию к нарушению работы терминальных участков передачи e^- на O_2 , о чём свидетельствует снижение активности ЦХО. Снижение активности ЦХО способствует накоплению цитохрома с и выходу его в цитоплазму. Накапливаясь в цитоплазме, цитохром с образует комплекс с белками, инициирующими апоптоз (Araf), что приводит к гибели клетки [13].

Одним из механизмов повреждающего действия гипоксии является активация проокислительных процессов, приводящая к активизации ПОЛ и требующая напряжения защитных систем клетки. Согласно современным представлениям, активные формы кислорода в условиях длительной гипоксии выполняют роль сигнальных индукторов, обеспечивающих активацию генов позднего действия, ответственных за формирование адаптивных механизмов [7]. Транскрипционная активность этих генов контролируется специфическим белковым фактором – HIF-1 α и обеспечивает синтез множества защитных белков (шапероны, ферменты антиоксидантной защиты, гемоксигеназа и др.). Снижение активности СОД и каталазы способствует увеличению внутриклеточного содержания супероксидного анион-радикала, вызывающего деградацию HIF-1 α и снижение защитного потенциала клетки [11].

Динамика активности ферментов обмена глутатиона отражает напряжение адаптивных механизмов, направленное на сохранение структурно-функциональной целостности миоцитов, поскольку увеличение уровня GSH способствует повышению

клеточной резистентности и является индикатором эффективности антиоксидантной защиты. Увеличение активности ГПО способствует сохранению целостности митохондрий, снижая выход цитохрома с и предотвращая развитие апоптоза [4].

Принимая во внимание данные литературы и результаты собственных исследований, можно полагать, что в основе изменения структурно-функционального состояния сократительного аппарата при длительном приёме статинов лежит цепь патобиохимических изменений, связанная с наличием факторов риска и приводящая к активации универсальных патофизиологических механизмов повреждения. Широкие перспективы для оптимизации обменных процессов при длительной терапии статинами открывает разработка схем нутритивной поддержки с использованием естественных метаболитов, оказывающих регуляторное влияние на сигнальные механизмы изменения активности генов, ответственных за формирование адаптивных реакций.

Список литературы

1. Биохимические исследования слюны в клинической практике / З.И. Микашинович, А.В. Летуновский, О.О. Волжин, Е.С. Белоусова. – Ростов н/Д.: Изд-во РостГМУ, 2004. – 80 с.
2. Гуревич В.С., Конторщикова К.Н., Шатилина Л.В. Сравнительный анализ двух методов определения супероксиддисмутазы // Лаб. дело. – 1990. – № 4. – С. 44–47.
3. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 47–49.
4. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона I. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомед. химия. – 2009. – Т.55, № 3. – С. 255–277.
5. Луганова И.С., Блинов М.Н. Определение 2,3-ДФГ неэнзиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом // Лаб. дело. – 1975. – № 7. – С. 652–654.
6. Микашинович З.И., Новодержкина Ю.Г., Белоусова Е.С. Влияние биологически активной добавки «Коэнзим Q10» на обменные процессы в миокарде крыс, содержащихся при различных температурных условиях // Вопросы питания. – 2007. – Т.76, № 3. – С. 19–24.
7. Регуляторная роль митохондриальной дисфункции при гипоксии и её взаимодействие с транскрипционной активностью / Л.Д. Лукьянова, А.М. Дудченко, Т.А. Цыбина, Э.Л. Германова // Вестник РАМН. – 2007. – № 2. – С. 3–13.
8. Справочник по биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / под ред. Камышников В.С. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
9. Справочник по лабораторным методам исследований / под ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.
10. Сторожук П.Г. Биохимическая природа автоматизма сердца, его связь с нервной системой и экстраполяция химических процессов на элементы кардиограммы. – Краснодар: Изд-во ГБОУ ВПО КубГМУ, 2011. – 104 с.
11. Фактор транскрипции HIF-1 α , белки срочного ответа и резистентность мембранных структур в динамике после острой гипоксии / Т.Г. Сазонтова, А.Г. Жукова,

Н.А. Анчишкина, Ю.В. Архипенко // Вестник РАМН. – 2007. – № 2. – С. 17–25.

12. Безопасность статинов: за и против. / М.Н. Долженко, А.Я. Базилевич, Т.В. Симагина, Л.И. Конопляник // Мистецтво лікування. – 2010. – № 2(68). – С. 26–34.

13. Brian R., Gastman M.D. Apoptosis and its clinical impact // *Head & Neck*. – 2001. – Vol. 6. – P. 409–425.

14. Nordmann I.N. Gauchery J. Determination the activiti dehydrogenasiqne des mitochondries a 1-acid-dichloride-2,3,5-triphenyl-tetrazolium // *Bull. Sos. Chim. Biol.* – 1957. – Vol. 33. – P. 189–197.

15. Protective effect of HMG CoA reductase inhibitors against running wheel activity induced fatigue, anxiety like behavior, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in mice / A. Kumar, A. Vashist, P. Kumar, H. Kalonia, J. Mishra // *Pharmacol. Rep.* – 2012. – Vol. 64(6). – P. 1326–1336.

References

1. Biokhimicheskie issledovaniya slyuny v klinicheskoy praktike [Biochemistry researches in clinical practices] / Ed. Mikashinovich Z.I. Rostov-na-Donu: Rostov. Gos. Med. Univer. 2004. 80 p.

2. Gurevich V.S., Kontorschikova K.N., Shatilina L.V. // *Lab. delo*. 1994. no. 4, pp. 44–47.

3. Krivchenkova R.S. *Sovremennye metody v biokhimii* [Modern methods in biochemistry]. Moscow: Medicine, 1997. pp. 47–49.

4. Kulinskiy V.I., Kolesnichenko L.S. // *Biomed. khimiya*. 2009. no. 55 (3), pp. 255–277.

5. Lukanova I.S., Blinov M.N. // *Lab. delo*. 1975. no. 7, pp. 652–654.

6. Mikashinovich Z.I., Novoderzhkina Yu. G., Belousova E.S. // *Voprosy pitaniya*. 2009. no. 76 (3), pp. 19–24.

7. Lukanova D.L., Dudchenko A.M., Tsybina T.A., Germanova E.L. // *Vestnik RAMN*. 2007. no. 2, pp. 3–13.

8. *Spravochnik po biokhimicheskim issledovaniyam* [Reference book on biochemical researches] / Ed. Kamyshnikov V.S. Moscow: MEDpress-inform, 2044. 920 p.

9. *Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya* [Reference book on laboratory methods of researches] / Ed. Danilova L.A. Sankt-Piter.: Piter. 2003, 736 p.

10. Storozhuk P.G. *Biokhimicheskaya priroda avtomatizma serdtsa, ego svyaz s nervnoy sistemoy i ekstrapolyatsiya biokhimicheskikh protsessov na element kardiogrammy* [Biochemical nature of heart automatism, its relation with nerve system and extrapolation of biochemical processes on electrocardiogram elements]. Krasnodar: Krasnodar Gos. Med. Univer., 2011. 104 p.

11. Sazontova T.G., Zhukova A.G., Anchishkina N.A., Arkhipenko Yu.V. // *Vestnik RAMN*. 2007. no. 2, pp. 17–25.

12. Dolzhenko M.N., Bazilevich A.Ya., Simagina T.V. Konoplyaynik L.I. // *Mistetstvo likuvannya*. 2010. no. 2 (68), pp. 26–34.

13. Brian R., Gastman M.D. // *Head & Neck*. 2001. Vol. 6. pp. 409–425.

14. Nordmann I.N. Gauchery J. // *Bull. Sos. Chim. Biol.* 1957. Vol. 33. pp. 189–197.

15. Kumar A., Vashist A., Kumar P., Kalonia H., Mishra J. // *Pharmacol. Rep.* 2012. Vol. 64(6). pp. 1326–1336.

Рецензенты:

Колмакова Т.С., д.б.н., доцент, зав. кафедрой медицинской биологии и генетики, ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, г. Ростов-на-Дону;

Горошинская И.А., д.б.н., профессор, зав. биохимической лабораторией, ФГБУ РНИОИ Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 01.04.2014.