

ОЦІНКА ПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ТРИМЕТАЗИДИНУ, ТІОТРИАЗОЛІНУ, ТАУРИНУ ТА УБІХІНОНУ НА ІНДУКОВАНУ СИМВАСТАТИНОМ МІО- ТА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ У ЩУРІВ З ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЄЮ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Статини складають основу фармакотерапії захворювань серця та судин, оскільки мають не лише гіпохолестеринемічну дію, але й протизапальні, протитромбогенні, антипроліферативні та інші фармакологічні властивості [16]. Симвастатин належить до відносно нетоксичних лікарських засобів, і важкі ускладнення можуть розвинути переважно у осіб похилого віку, хворих з нирковою недостатністю, цукровим діабетом, гіпотиреоїзмом та іншою патологією [3, 24, 28]. Міотоксичні та гепатотоксичні ефекти симвастатину значною мірою є дозозалежними, а їх частота та важкість суттєво підвищуються по мірі збільшення дози. Ще одним джерелом побічних ефектів є фармакокінетична взаємодія. Симвастатин метаболізується за участю ферментів під родини цитохрому Р4503А, тому прийом інших лікарських засобів, що є субстратами чи інгібіторами цих ферментів, викликає різке зростання концентрації статинів і індукує токсичні реакції, часто з фатальним наслідком. В фармакокінетичну інтерференцію зі статинами вступають фібрати, аміодарон, ділтіазем, верапаміл, циклоспорин, протигрибкові препарати (кетоканазол, ітраконазол, флуконазол), антибіотики-макроліди (кларитроміцин, еритроміцин та інші) [3, 12, 24, 28].

Токсична дія симвастатину тісно пов'язана з головним його фармакологічним ефектом — гальмуванням синтезу холестерину на рівні утво-

рення мевалонової кислоти. Остання є джерелом ізопреноїдних еквівалентів, які необхідні не лише для синтезу холестерину, але й для утворення убіхінону (компонента електронотранспортного ланцюга мітохондрій) та регуляції активності численних білків через їх посттрансляційне ізопренілювання [16]. Тому застосування статинів, особливо в високих дозах, призводить до дефіциту убіхінону, гальмування процесів ізопренілювання білків і порушення клітинних функцій [6, 22]. Імовірність такого механізму токсичності підтверджується здатністю мевалонової кислоти попереджувати міо- та гепатотоксичні ефекти статинів [26]. Одним з шляхів підвищення безпечності статинів могло б стати призначення речовин-коректорів, до яких слід віднести препарати з метаболічною дією — таурин, убіхінон, триметазидин, тіотриазолін. Наявність у цих препаратів протекторної активності щодо негативних ефектів симвастатину ще не вивчалась.

Метою роботи було оцінити вплив триметазидину, тіотриазоліну, таурину та убіхінону на міо- та гепатотоксичні ефекти симвастатину у щурів з гіперхолестеринемією та у щурів з викликаним тролеандоміцином гальмуванням активності цитохрому Р4503А. В якості маркерів гепато- та міотоксичності симвастатину в сироватці крові визначали активність аланін- та аспаратамінотрансфераз (АЛТ та АСТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), креатинфосфокінази (КФК), лужної

фосфатази (ЛФ), гама-глутамілтрансферази (ГГТФ) та вміст жовчних кислот. Монооксигеназні активності ферментів під родини цитохрому Р4503А визначали за специфічним субстратом — еритроміцином та неселективним субстратом амідопірином.

Матеріали і методи дослідження
Досліди проведені на 132 білих щурах-самцях з початковою масою 180–230г, яких утримували на стандартному сухому раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами виробництва НВП Ф.У.Д. (м.Київ).

В першому досліді (85 тварин) щурі були розподілені на 7 груп. Перша група тварин (інтактні щурі) утримувалась на сухому кормі, до якого додавали соняшникову олію в кількості 5% від маси корму. Тварини всіх інших груп знаходились протягом 4 тижнів на гіперхолестеринемічній дієті, яка складалась із сухого корму, що містив 3% холестерину, 0,12% метилтіоурацилу. Холестерин та метилтіоурацил попередньо розчиняли в соняшниковій олії, додавали до сухого корму і ретельно перемішували (вміст олії складав 5% від маси сухого корму). Тварини 2 групи отримували з кормом лише гіперхолестеринемічну дієту (нелікований контроль). Тварини наступних груп на фоні гіперхолестеринемічної дієти перорально отримували симвастатин в дозі 60 мг/кг (3 група) або симвастатин разом із препаратами — коректорами (4, 5, 6 та 7 групи). Триметазидин застосовували в дозі 10 мг/кг (4 група), тіотриазолін — в дозі 50 мг/кг (5 група), таурин — в дозі 200 мг/кг (6 група), препарат убіхінону кудесан — в дозі 10 мг/кг (7 група). Препарати вводили протягом 28 днів перорально у вигляді водних суспензій за допомогою зонда.

В іншому досліді (47 щурів) була оцінена здатність триметазидину, тіотриазоліну, таурину та убіхінону протидіяти міо- та гепатотоксичним ефектам симвастатину у тварин з пригніченою активністю ферментів цитохрому Р4503А. Симвастатин щурам вводили перорально протягом 7 днів в дозі 150 мг/кг, яка розцінюється як міо-, гепато- та нефротоксична [32]. Специфічний інгібітор ферментів цитохрому Р4503А тролеандоміцин вводили інтраперітонеально в дозі 100 мг/кг за 2 год перед кожним введенням

симвастатину, що забезпечує потужне гальмування цитохрому P4503A [25]. Препарати — коректори вводили перорально протягом 7 днів одночасно із симвастатином: триметазидин застосовували в дозі 10 мг/кг, тіотриазолін — 50 мг/кг, таурин — 200 мг/кг, препарат убіхінону кудесан — 10 мг/кг.

В сироватці крові щурів визначали активність аланінамінотрансферази (КФ 2.6.1.2), аспартатамінотрансферази (КФ 2.6.1.1) гама-глутамілтрансферази (КФ 2.3.2.2), креатинфосфокінази (КФ 2.7.3.2), лужної фосфатази (КФ 3.1.3.1), гама-глутамілтрансферази (КФ 2.3.2.2), лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27), використовуючи стандартні методи і набори реактивів [4]. Вміст жовчних кислот в сироватці крові визначали за реакцією Петенкофера в модифікації Карбача, яка дає можливість відрізнити триоксихоланові кислоти від диоксихоланових жовчних кислот [1]. Рівень загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів, холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ), низької та дуже низької щільності (ХС ЛПНЩ та ЛПДНЩ) в сироватці крові визначали уніфікованими методами [4].

Тварин знеживлювали передозуванням ефірного наркозу. Печінку перфузували холодним 1,15% розчином калію хлориду і гомогенізували в гомогенізаторі тефлон-скло. Отриманий гомогенат використовували для виділення мікосомної фракції [2]. Активність амідопірин-N-деметилази та еритроміцин-N-деметилази визначали за утворенням формальдегіду, кількість якого визначали з реактивом Наша [2]. Ці ензими відображають активність ферментів підроддини цитохрому P4503A [27, 33]. Білок в мікосомній фракції визначали біуретовим методом [4].

В роботі використані холестерин фірми AppliChem (Німеччина), симвастатин (вазиліп) фірми "KRKA" (Словенія), препарат убіхінону кудесан виробництва ЗАО АКВИОН (Росія), таурин та тролеандоміцин фірми Sigma (США), триметазидин (предуктал) фірми "Servier" (Франція), тіотриазолін фірми "Галичфарм" (Україна). Інші реактиви були виробництва країн СНД.

Результати та їх обговорення

Встановлено, що згодовування щурам впродовж 1 міс холестеринової дієти викликає підвищення в 2,6

рази (від $2,03 \pm 0,08$ до $5,34 \pm 0,15$ ммоль/л) рівня загального холестерину в сироватці крові, зростання в 4,25 разів ХС ЛПНЩ і ЛПДНЩ (від $1,07 \pm 0,07$ до $4,55 \pm 0,15$ ммоль/л) при одночасному зниженні на 16,7% ХС ЛПВЩ (від $0,96 \pm 0,05$ до $0,80 \pm 0,03$ ммоль/л). Відмічається також значне зростання вмісту холестерину і тригліцеридів в печінці в 5,4 і 2,1 рази (з $7,67 \pm 0,28$ до $41,3 \pm 2,05$ мкмоль/г та з $19,6 \pm 1,02$ до $41,1 \pm 1,66$ мкмоль/г, відповідно).

Застосування симвастатину зменшувало виразність порушень обміну ліпідів у щурів з гіперхолестеринемією. Зокрема, вміст загального холестерину та ХС ЛПНЩ і ЛПДНЩ зростає лише до $3,77 \pm 0,16$ ммоль/л та до $2,59 \pm 0,13$ ммоль/л, відповідно, а рівень холестерину в ЛПВЩ зріс до $1,17 \pm 0,04$ ммоль/л. Вміст холестерину та тригліцеридів в печінці щурів, відповідно, склав $19,2 \pm 0,85$ та $34,4 \pm 1,01$ мкмоль/г. Триметазидин та препарат убіхінону слабо (лише на рівні тенденції) впливали на гіполіпемічний ефект симвастатину, тоді як тіотриазолін, а особливо таурин, значно його підсилювали. Зокрема, у тварин, що отримували разом з симвастатином тіотриазолін, вміст в сироватці крові загального холестерину та холестерину в ЛПНЩ+ЛПДНЩ склав лише $2,95 \pm 0,20$ та $1,76 \pm 0,22$ ммоль/л, а рівень холестерину в ЛПВЩ — $1,19 \pm 0,05$ ммоль/л. Меншим виявився і вміст холестерину та тригліцеридів в печінці (відповідно, $14,8 \pm 0,57$ та $29,7 \pm 1,33$ мкмоль/г). Ще нижчими були рівні ліпідів у щурів, що отримували комбінацію симвастатину з таурином, зокрема вміст в сироватці крові загального холестерину склав $2,47 \pm 0,12$ ммоль/л, рівень холестерину в ЛПНЩ+ЛПДНЩ — $1,16 \pm 0,12$ ммоль/л, а рівень холестерину та тригліцеридів в печінці — $11,1 \pm 0,69$ та $24,8 \pm 1,52$ мкмоль/л, відповідно.

Нами встановлено (табл. 1), що тривале згодовування щурам високохолестеринової дієти викликає помірне зростання (в межах 31-46%) в сироватці крові активності ферментів — маркерів целюлярних ушкоджень печінки та м'язів (КФК, ЛДГ, АЛТ та АСТ) і досить значне зростання активності ЛФ (в 1,8 рази) та ГГТФ (в 9,8 рази) — маркерів холестатичного ураження печінки. Введення симвастатину тваринам з

гіперхолестеринемією приводило до ще більшого зростання активності цих ферментів (збільшення активності КФК, ЛДГ, АЛТ та АСТ в порівнянні з інтактними тваринами склало 2,90; 2,89; 2,41 та 1,99 рази, відповідно). Однак, симвастатин слабо підвищував (лише на рівні тенденції) активність ЛФ та ГГТФ в сироватці крові у порівнянні з тваринами з гіперхолестеринемією. Застосовані нами метаболічні засоби, особливо тіотриазолін та препарат убіхінону, суттєво зменшували токсичні ефекти симвастатину. Якщо у порівнянні з інтактними тваринами активність КФК та АЛТ зростала в 2,90 та 2,41 рази, то у тварин, що отримували тіотриазолін — лише в 1,86 та 1,41 рази, а у щурів, що отримували убіхінон — лише в 1,87 та 1,34 рази. Протекторна дія таурину була дещо меншою, а триметазидину — ще меншою. Зазначені препарати зменшували і прояви холестази, про що свідчать більш низькі значення активності ЛФ та ГГТФ порівняно з тваринами, що отримували сим-вастатин. Найбільшу здатність до корекції холестатичних змін виявляли тіотриазолін та убіхінон.

Згодовування щурам високохолестеринової дієти викликає значне зростання в сироватці крові загальної кількості жовчних кислот (на 98%) при зменшенні співвідношення між триоксихолановими та диоксихолановими кислотами (табл. 2). Застосування симвастатину хоча і зменшує загальний вміст жовчних кислот в сироватці крові, однак ще в більшій мірі знижує співвідношення між триоксихолановими та диоксихолановими кислотами, тоді як застосування препаратів-коректорів нормалізувало не лише загальний вміст жовчних кислот, але й сприяло частковій (триметазидин та препарат убіхінону) чи повній (таурин та тіотриазолін) нормалізації співвідношення між триоксихолановими та диоксихолановими жовчними кислотами.

Високохолестеринова дієта викликає пригнічення активності цитохрому P4503A, про що свідчить зменшення еритроміцин-N- та амідопірин-N-деметилазних активностей в мікосомах печінки на 43% і 41,5%, відповідно, а застосування симвастатину призводило до ще більшого їх пригнічення (падіння склало 53 та 55%, відповідно). Пре-

Таблиця 1

Активність ферментів в сироватці крові щурів з гіперхолестеринемією, що отримували протягом 1 міс симвастатин в дозі 60 мг/кг та триметазидин, тіотриазолін, таурин чи препарат убіхінону ($M \pm m$)

Групи тварин	Сироватка крові, мкмоль/хв на 1 л					
	КФК	ЛДГ	АЛТ	АСТ	ЛФ	ГГТФ
Інтактні, n= 17	215±14	1200±71	39,8±2,3	88,4±5,4	1235±76	1,25±0,22
Гіперхолестеринемія						
Неліковані, n= 17	281±16	1621±97	58,2±5,3	123±8,1	2281±109	12,3±1,70
Симвастатин, n= 17	624±31	3467±231	96,1±4,5	176±4,5	2415±101	12,2±1,65
Симвастатин + триметазидин, n=9	521±32*	2840±226*	80,3±5,1*	157±5,4*	1938±186*	7,71±1,12*
Симвастатин + тіотриазолін, n= 9	399±33*	2097±184*	56,1±3,4*	131±5,9*	1573±131*	3,86±0,63*
Симвастатин + таурин, n=8	457±31*	2208±140*	73,1±3,8*	151±4,4*	1526±101*	4,00±0,69*
Симвастатин + убіхінон, n= 8	402±36*	1998±136*	53,2±4,3*	126±5,6*	1577±123*	4,17±0,70*

Примітка: в цій та табл. 2 * — $P < 0,05$ відносно тварин, що отримували симвастатин

Таблиця 2

Вміст жовчних кислот в сироватці крові та активність цитохрому P4503A в мікросомах печінки щурів з гіперхолестеринемією, що отримували симвастатин (60 мг/кг) та триметазидин, тіотриазолін, таурин чи препарат убіхінону ($M \pm m$)

Групи тварин	Жовчні кислоти в сироватці крові, мг/л				Мікросоми печінки, нмоль/хв на 1 мг білка	
	Диокси-холанові кислоти	Триокси-холанові кислоти	Загальні-жовчні кислоти	Триокси-холанові/диокси-холанові	Еритроміцин-N-деметилаза	Амідопірин-N-деметилаза
Інтактні, n= 17	0,54±0,03	0,51±0,03	1,05±0,06	0,95±0,03	1,26±0,035	4,89±0,19
Гіперхолестеринемія						
Неліковані, n= 17	1,20±0,05	0,88±0,03	2,08±0,07	0,74±0,02	0,72±0,028	2,86±0,13
Симвастатин, n= 17	0,85±0,07	0,55±0,04	1,40±0,10	0,65±0,02	0,59±0,025	2,20±0,11*
Симвастатин + триметазидин, n=9	0,64±0,08	0,48±0,06	1,12±0,14	0,75±0,02	0,87±0,032	3,47±0,18*
Симвастатин + тіотриазолін, n= 9	0,50±0,08	0,44±0,06	0,94±0,14	0,89±0,02	1,05±0,043	3,90±0,16*
Симвастатин + таурин, n= 8	0,54±0,04	0,53±0,05	1,07±0,09	0,99±0,03	0,91±0,045	3,66±0,16*
Симвастатин + убіхінон, n= 8	0,65±0,05	0,52±0,03	1,16±0,08	0,80±0,03	1,05±0,057	4,04±0,16*

парати-протектори протидіяли індукованому гіперхолестеринемією та симвастатином пригніченню цих активностей, причому найбільше убіхінон та тіотриазолін.

В окремому досліді ми змоделювали фармакокінетичну взаємодію між симвастатином та антибіотиками-макролідами, коли тваринам разом із симвастатином вводили потужний інгібітор цитохрому P4503A — тролеандоміцин (табл. 3). Виявилось, що застосування тролеандоміцину викликало різке зростання токсичності симвастатину, хоча, згідно [29], власної гепатотоксичної дії сам тролеандоміцин не виявляє. Якщо введення одного симвастатину викликало зростання активності КФК, ЛДГ, АЛТ, АСТ в 3,2; 3,0; 2,8

та 2,5 рази, то на тлі тролеандоміцину підвищення активності ферментів склало 7,9; 6,1; 4,9 та 4,6 рази. Препарати-протектори суттєво зменшували токсичний вплив симвастатину. Зокрема, у щурів, що отримували триметазидин, зростання активності КФК, ЛДГ, АЛТ, АСТ складало лише 4,8; 4,1; 3,8 та 3,5 рази, а у тварин, що отримували таурин — 3,8; 3,4; 3,3 та 2,8 рази. Ще більш ефективним були тіотриазолін та убіхінон. У випадку тіотриазоліну зростання активності ферментів склало лише, відповідно, 2,1; 1,7; 2,0 та 1,8 рази, а у випадку убіхінону — відповідно, 2,5; 2,0; 2,3 та 2,0 рази.

Нами підтверджена здатність симвастатину у високій дозі гальму-

вати активність ферментних систем, що каталізують його власний метаболізм, про що свідчить зниження на 19% та 15% амідопірин-N- та еритроміцин-N-деметилазних активностей. Найбільше пригнічення (на 70% та 82%) активності цих ферментів відбулось під впливом тролеандоміцину. Застосування триметазидину та таурину вірогідно зменшувало інгібуючу дію комбінації тролеандоміцину та симвастатину на активність цитохрому P4503A, але в найбільшій мірі цьому протидіяли тіотриазолін та убіхінон. Пригнічення амідопірин-N- та еритроміцин-N-деметилазних активностей склало, відповідно, 39% та 49% для тіотриазоліну та 37% і 45% для убіхінону.

Активність ферментів в сироватці крові та цитохрому P4503A в мікросомах печінки щурів, що отримували протягом 7 днів симвастатин в дозі 150 мг/кг, тролеандоміцин (Тро) та триметазидин, тіотриазолін, таурин чи препарат убіхінону ($M \pm m$)

Групи тварин	Сироватка крові, мкмоль/хв на 1 л				Мікросоми печінки, нмоль/хв на 1 мг білка	
	КФК	ЛДГ	АЛТ	АСТ	амідопірин-N-деметилаза	еритроміцин-N-деметилаза
Інтактні, n= 17	205±12	1217±101	34,9±2,9	77,1±3,7	4,61±0,32	1,12±0,05
Симвастатин, n= 7	666±43	3619±191	97,9±5,9	190±10,3	3,74±0,19	0,95±0,04
Симвастатин в поєднанні з тролеандоміцином (Тро) та коректорами						
Тро, n=7	1629±115	7469±269	171±9,3	356±18,2	1,39±0,12	0,20±0,02
Тро + триметазидин, n= 7	979±88*	5026±213*	132±6,8*	269±10,8*	2,23±0,13*	0,42±0,02*
Тро + тіотриазолін, n=7	438±36*	2094±112*	71,6±6,1*	137±7,4*	2,83±0,13*	0,57±0,02*
Тро + таурин, n= 6	777±42*	4148±137*	116±5,2*	215±10,2*	2,49±0,16*	0,52±0,03*
Тро + убіхінон, n= 6	505±40*	2495±182*	81,3±4,4*	152±6,5*	2,91±0,17*	0,62±0,04*

Примітка: * — $P < 0,05$ відносно групи симвастатин + тролеандоміцин.

Таблиця 4

Коефіцієнти кореляції між ступенем пригнічення активності цитохрому P4503A в мікросомах печінки та маркерами гепато- і мієтоксичності у щурів, що отримували симвастатин, тролеандоміцин та препарати-коректори (n=40)

Показники	КФК	ЛДГ	АЛТ	АСТ
Амідопірин-N-деметилаза	-0,44*	-0,41*	-0,41*	-0,37*
Еритроміцин-N-деметилаза	-0,51*	-0,49*	-0,49*	-0,48*

Примітка: * — вірогідні коефіцієнти кореляції

Додатковий доказ того, що гепато- та мієтоксичність симвастатину може бути наслідком сповільнення його метаболічної інактивації ферментами цитохрому P4503A, дає кореляційний аналіз (табл. 4). Виявилось, що рівень маркерів цитолізу — КФК, ЛДГ, АЛТ та АСТ в сироватці крові щурів вірогідно і зворотно корелював з амідопірин-N- та еритроміцин-N-деметилазними активностями в мікросомах печінки. Тобто, чим нижчою була активність цитохрому P4503A, тим сильнішими були пошкодження печінки і м'язів тварин. Пригнічення метаболізму симвастатину призводить до його накопичення в організмі щурів і, відповідно, до зростання його несприятливої дії на організм щурів.

Отримані нами дані свідчать про можливість негативного впливу як гіперхолестеринемії, так і високих доз симвастатину на печінку та м'язи щурів. Гіперхолестеринемія

викликає помірне зростання в сироватці крові тварин активності КФК, ЛДГ, АЛТ та АСТ — ферментів, які відображають пошкодження печінки та м'язів. Причиною цих змін, на нашу думку, є так званий синдром ліпотоксичності, оскільки перевантаження клітин ліпідами порушує їх функції і здатне призводити до розвитку структурних змін та функціональної недостатності органів [31]. Тому підвищення в сироватці крові рівня маркерів цитолізу при одночасному різкому зростанні вмісту холестерину та тригліцеридів в печінці можна розглядати як ілюстрацію феномену ліпотоксичності. Одним із молекулярних механізмів ліпотоксичності, очевидно, є ініціювання оксидативного стресу, адже ліпіди є головним субстратом вільнорадикального окислення. Однак, не слід виключати і прямий пошкоджуючий вплив надлишку холестерину на мембранний апарат

клітин. Існує чимало доказів того, що зростання частки холестерину в ліпідному бішарі мембран викликає зміни співвідношення між окремими типами фосфоліпідів, зменшення частки поліненасичених жирних кислот і падіння активності транспортних АТФаз [7, 20], що в кінцевому результаті призводить до зменшення стабільності мембран та підвищення їх проникливості.

Зафіксоване нами у тварин з гіперхолестеринемією значне зростання в сироватці крові активності ГГТФ та ЛФ свідчить про ураження біліарної системи печінки. В печінці ГГТФ і ЛФ переважно експресуються в клітинах жовчних протоків, а холестаза посилює як синтез, так і вивільнення ферментів в кров [13]. До певної міри і збільшення рівня жовчних кислот в сироватці крові можна розглядати як ознаку холестазу. З одного боку, збільшення вмісту жовчних кислот є наслідком посилення перетворення в печінці холестерину в жовчні кислоти (основний шлях метаболічної елімінації надлишку холестерину), а з іншого боку, — пошкодження мембран гепатоцитів сприяє переходу в кров більшої, ніж звичайно, частки жовчних кислот.

Нами отримані докази несприятливої дії симвастатину на печінку та м'язи щурів, оскільки при введенні препарату різко зростає активність ферментів — маркерів цитолізу. Відомо, що зростання актив-

ності КФК в сироватці крові є маркером пошкодження скелетних м'язів та міокарду. АЛТ слугує переважно маркером ураження печінки, а АСТ та ЛДГ маркером ураження серця, печінки та скелетних м'язів. Чи слід розцінювати наведені дані як ознаку небезпечної для життя токсичної дії симвастатину? Вважається, що невелике зростання активності сироваткових трансаміназ та КФК у пацієнтів при відсутності інших симптомів ураження печінки та м'язів не потребує відміни статинів чи корекції їх дози [3]. На нашу думку, є більше підстав вважати статини міо- та гепатотоксичними. В досліджах *in vitro* доведено, що симвастатин викликає дозозалежне зниження життєздатності гепатоцитів, падіння вмісту відновленого глутатіону, вихід в середовище ЛДГ [18]. Дозозалежними є і міотоксичні реакції симвастатину, які проявляються некрозом міофібрил, інтерстиціальним набряком, запальною інфільтрацією м'язової тканини, виходом в кров КФК, ЛДГ, АСТ [11, 30]. Тому з огляду на тенденцію останніх років до агресивної терапії статинами, можливість фармакокінетичної взаємодії з іншими лікарськими засобами ймовірність виникнення в клінічних умовах рабдоміолізу чи токсичного гепатиту є цілком реальною.

Слід також звернути увагу і на співвідношення між триоксихолановими та диоксихолановими жовчними кислотами. Холева кислота (основна триоксихоланова кислота) синтезується безпосередньо з холестерину, тобто є первинною, а переважна більшість диоксихоланових кислот утворюється при повторному метаболізмі триоксихоланових кислот [9]. Тому співвідношення триоксихоланові/диоксихоланові кислоти є свого роду індикатором здатності печінки до перетворення холестерину в жовчні кислоти. Виявилось, що симвастатин, хоча і зменшує загальний вміст жовчних кислот в сироватці крові, однак не тільки не сприяє перетворенню холестерину в жовчні кислоти, а навіть і гальмує цей процес, оскільки співвідношення триоксихоланові/диоксихоланові кислоти при його застосуванні стає ще нижчим.

Ще одним негативним наслідком перевантаження організму холестерином є пригнічення

активності цитохрому P4503A (еритроміцин-N- та амідопірин-N-деметилазні активності) в печінці. Причиною цього, очевидно, є зміни мембран ендоплазматичного ретикулу, у складі яких функціонує цитохром P450. Відомо, що збільшення вмісту холестерину у складі мембран призводить до зниження текучості ліпідного бішару, його стабільності і погіршує умови функціонування мембранозв'язаних ферментів [21]. Виявилось, що застосування симвастатину викликає подальше пригнічення активності цитохрому P4503A, основного метаболізатора симвастатину. Очевидно, має місце інгібування надлишком субстрату чи суїцидальне інгібування цитохрому P4503A реакційноздатними метаболітами симвастатину. Важлива роль цитохрому P4503A в реалізації токсичної дії симвастатину підтверджується і значним посиленням його токсичності під впливом тролеандоміцину. Цим нами була змодельована клінічна ситуація, коли симвастатин комбінується з лікарськими засобами — субстратами чи інгібіторами цитохрому P4503A.

Наші результати та дані літератури дають підстави вважати, що застосування симвастатину супражене з достатньо серйозним ризиком розвитку міо- та гепатотоксичних ефектів. Тому проблема пошуку підходів до підвищення безпечності такої фармакотерапії є актуальною.

В цьому плані заслуговує на увагу здатність препаратів-коректорів зменшувати токсичні ефекти симвастатину, в тому числі в умовах гальмування цитохрому P4503A, індукованого тролеандоміцином. Найбільшу захисну дію виявляють тіотриазолін та убіхінон, меншу — таурин та триметазидин.

Виникає питання, які властивості препаратів-коректорів забезпечують їх захисну дію? Дія убіхінону це зрозуміло, — оскільки статини гальмують синтез убіхінону і тому поповнення його пулу зменшує негативні наслідки застосування симвастатину. Існує думка, що саме блокування синтезу убіхінону, можливо, і є головною причиною міо- та гепатотоксичних ефектів статинів [8, 16, 22]. Як наслідок гальмування синтезу убіхінону порушується функція мітохондрій, зменшується продукція АТФ і ослаблюються енергозалежні функції клітин [19].

Захисна дія убіхінону може пояснюватись не лише поповненням мітохондріального пулу убіхінону, а й наявністю у нього антиоксидантних властивостей, мембранопротекторної та антиапоптоїчної дії [19].

До речовин з антиоксидантним ефектом належать й інші застосовані нами протектори. Зокрема, тіотриазолін здатен не лише знижувати рівень пероксинітриду і супероксидного радикалу та посилювати активність антиоксидантних ферментів, але і стимулювати продукцію АТФ [5]. Антиоксидантну дію має і триметазидин [15], до того ж він сприяє посиленню синтезу АТФ за рахунок переключення енергетичного метаболізму з окислення жирних кислот на окислення глюкози [17]. Таурин діє як перехоплювач вільних радикалів кисню та блокатор апоптозу, крім того він є ще й активатором експресії ферментів цитохрому P450 та стабілізатором клітинних мембран [14, 23]. Підсумовуючи ці дані, можна стверджувати, що таурин, убіхінон та тіотриазолін, в меншій мірі триметазидин, здатні суттєво зменшувати міо- та гепатотоксичні ефекти симвастатину.

Висновки

1. Комбінування симвастатину з таурином чи тіотриазоліном, в меншій мірі при його поєднанні з убіхіноном та триметазидином, приводить у щурів до посилення гіполіпідемічного ефекту. Таурин і тіотриазолін ефективно усувають індуковане симвастатином гальмування перетворення холестерину в жовчні кислоти, про що свідчить нормалізація величини співвідношення триоксихоланові/диоксихоланові жовчні кислоти в сироватці крові.
2. Введення щурам з гіперхолестеринемією протягом 1 міс симвастатину супроводжувалось значним (у 2-3 рази) зростанням активності в сироватці крові маркерів ушкодження печінки та м'язів (КФК, ЛДГ, АЛТ та АСТ) та маркерів холестази (ЛФ і ГГТФ). Препарати-коректори протидіяли міо- та гепатотоксичним ефектам симвастатину, найефективніше — тіотриазолін та убіхінон, в меншій мірі — таурин, ще менше — триметазидин.
3. Комбінування симвастатину з тролеандоміцином різко поси-

лює гепато- і міотоксичні ефекти симвастатину, що проявляється підвищенням в 4,6-7,9 рази активності КФК, ЛДГ, АЛТ та АСТ

в сироватці крові. При цьому токсичність симвастатину тісно корелює зі ступенем пригнічення цитохрому P4503A тролеан-

доміцином. За цих умов найбільшу протекторну дію виявляли тіотриазолін та убіхінон, меншу — таурин та триметазидин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ганиткевич Я.В., Карбач Я.И. Исследование желчи. Биохимические и био-физические методы. — К., 1985. — 210с.
2. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика ее окислительных систем / В кн. "Современные методы в биохимии". — М.: Медицина, 1977. — С. 49-62.
3. Кобалава Ж.Д., Виллевалде С.В., Шаварова Е.К. Безопасность статинов: реальное и надуманное // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2007. Т.6, №2. — С.105-112.
4. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. проф. В.В.Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
5. Тиотриазолін / И.А.Мазур, Н.А.Волошин, И.С.Чекман и др. — Львов: Наути-лус, 2005. — 156с.
6. Baker S.K. Molecular clues into the pathogenesis of statin-mediated muscle toxicity // Muscle Nerve. — 2005. — V.31, № 5. — P.572-580.
7. Bernasconi A.M., Garda H.A., Brenner R.R. Dietary cholesterol induces changes in molecular species of hepatic microsomal phosphatidylcholine // Lipids. — 2000. — V. 35, № 12. — P.1335-1344.
8. Caso G., Kelly P., McNurlan M.A., Lawson W.E. Effect of coenzyme q10 on myopathic symptoms in patients treated with statins // Am. J. Cardiol. — 2007. — V.99, №10. — P.1409-1412.
9. Chen W., Suruga K., Nishimura N. et al. Comparative regulation of major enzymes in the bile acid biosynthesis pathway by cholesterol, cholate and taurine in mice and rats // Life Sci. — 2005. — V.77, №7. — P.746-757.
10. Dale K.M., White C.M., Henyan N.N. et al. Impact of statin dosing intensity on transaminase and creatine kinase // Am. J. Med. — 2007. — V.120, №8. — P.706-712.
11. Farswan M., Rathod S.P., Upaganlawar A.B., Semwal A. Protective effect of coenzyme Q10 in simvastatin and gemfibrozil induced rhabdomyolysis in rats // Indian. J. Exp. Biol. — 2005. — V.43, №10. — P.845-848.
12. Francis L., Bonilla E., Soforo E. et al. Fatal toxic myopathy attributed to propofol, methylprednisolone, and cyclosporine after prior exposure to colchicine and simvastatin // Clin. Rheumatol. — 2008. — V.27, №1. — P.129-131.
13. Giannini E.G., Testa R., Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians // CMAJ. — 2005. — V.172, № 3. — P.367-379.
14. Hanna J., Chahine R., Aftimos G. et al. Protective effect of taurine against free radicals damage in the rat myocardium // Exp. Toxicol. Pathol. — 2004. — V.56, №3. — P.189-194.
15. Iskesen I., Saribulbul O., Cerrahoglu M. et al. Trimetazidine reduces oxidative stress in cardiac surgery // Circ. J. — 2006. — V.70, №9. — P.1169-1173.
16. Jasińska M., Owczarek J., Orszulak-Michalak D. Statins: a new insight into their mechanisms of action and consequent pleiotropic effects // Pharmacol. Rep. — 2007. — V.59, №5. — P.483-499.
17. Kantor P.E., Lucien A., Kozak R., Lopashuk G.D. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial Long Chain 3-Ketoacyl-Coenzyme A Thiolase // Circ. Res. — 2000. — №86. — P.580-588.
18. Krasteva A.Z., Mitcheva M.K., Kondeva-Burdina M.S., Descatoire V.A. In vitro study of lovastatin interactions with amiodarone and with carbon tetrachloride in isolated rat hepatocytes // World. J. Gastroenterol. — 2007. — V.13, №15. — P.2198-21204.
19. Lamperti C., Naini A.B., Lucchini V. et al. Muscle coenzyme Q10 level in statin-related myopathy // Arch. Neurol. — 2005. — V.62, №11. — P.1709-1712.
20. Li Y., Ge M., Ciani L. et al. Enrichment of endoplasmic reticulum with cholesterol inhibits sarcoplasmic-endoplasmic reticulum calcium ATPase-2b activity in parallel with increased order of membrane lipids: implications for depletion of endoplasmic reticulum calcium stores and apoptosis in cholesterol-loaded macrophages // J. Biol. Chem. — 2004. — V.279, №35. — P.37030-37039.
21. Lutz M., Bonilla S., Concha J. et al. Effect of dietary oils, cholesterol and antioxidant vitamin supplementation on liver microsomal fluidity and xenobiotic-metabolizing enzymes in rats // Ann. Nutr. Metab. — 1998. — V.42, №6. — P.350-359.
22. Marcoff L., Thompson P.D. The role of coenzyme Q10 in statin-associated myopathy: a systematic review // J. Am. Coll. Cardiol. — 2007. — V.49, №23. — P.2231-2237.
23. Matsuda H., Kinoshita K., Sumida A. et al. Taurine modulates induction of cytochrome P450 3A4 mRNA by rifampicin in the HepG2 cell line // Biochim. Biophys. Acta. — 2002. — V.1593, №1. — P.93-98.
24. McClure D.L., Valuck R.J., Glanz M. et al. Statin and statin-fibrate use was significantly associated with increased myositis risk in a managed care population // J. Clin. Epidemiol. — 2007. — V.60, №8. — P.812-818.
25. Ndikum-Moffor F.M., Schoeb T.R., Roberts S.M. Liver toxicity from norcocaine nitroxide, an N-oxidative metabolite of cocaine // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1998. — V.284, №1. — P.413-419.
26. Nishimoto T., Ishikawa E., Anayama H. et al. Protective effects of a squalene synthase inhibitor, lapaquistat acetate (TAK-475), on statin-induced myotoxicity in guinea pigs // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 2007. — V.223, №1. — P.39-45.
27. Ramana K.V., Kohli K.K. Purification and characterization of the hepatic CYP2C and 3A isozymes from phenobarbitone pretreated rhesus monkey // Mol. Cell. Biochem. — 1999. — V.198, №1-2. — P.79-88.
28. Schmidt G.A., Hoehns J.D., Purcell J.L. et al. Severe rhabdomyolysis and acute renal failure secondary to concomitant use of simvastatin, amiodarone, and atazanavir // J. Am. Board. Fam. Med. — 2007. — V. 20, №4. — P.411-416.
29. Sinclair J.F., Szakacs J.G., Wood S.G. et al. Acetaminophen hepatotoxicity precipitated by short-term treatment of rats with ethanol and isopentanol: protection by triacetyloleandomycin // Biochem. Pharmacol. — 2000. — V.59, №4. — P.445-454.
30. Smith P.F., Eydeloth R.S., Grossman S.J. et al. HMG-CoA reductase inhibitor-induced myopathy in the rat: cyclosporine A interaction and mechanism studies // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1991. — V.257, №3. — P.1225-1235.
31. Unger R.H. Lipotoxic diseases // Annu. Rev. Med. — 2002. — V.53. — P.319-336.
32. Yamada H., Kotaki H., Sawada Y., Iga T. Simvastatin-tacrolimus and simvastatin-cyclosporin interactions in rats // Biopharm. Drug. Dispos. — 1998. — V.19, №5. — P.279-284.
33. Zhang X.J., Thomas P.E. Erythromycin as a specific substrate for cytochrome P4503A isozymes and identification of a high-affinity erythromycin N-demethylase in adult female rats // Drug. Metab. Dispos. — 1996. — V.24, №1. — P.23-27.

О. П. Данченко, А. А. Пентюк

**ОЦЕНКА ПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ
ТРИМЕТАЗИДИНА, ТИОТРИАЗОЛИНА,
ТАУРИНА И УБИХИНОНА НА
ИНДУЦИРОВАННУЮ СИМВАСТАТИНОМ
МИО- И ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ У КРЫС С ГИ-
ПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ**

Применение симвастатина у крыс с гиперхолестеринемией связано с риском развития мио- и гепатотоксических эффектов, которые значительно усиливаются при увеличении дозы препарата и на фоне угнетения активности цитохрома P4503A тролеандомицином. Назначение препаратов-корректоров уменьшает токсические эффекты симвастатина, в частности, выраженность цитолитического синдрома и холестаза. Наибольший эффект зарегистрирован у тиотриазолина и убихинона.

O. P. Danchenco, O. O. Pentuk

AN ASSESSMENT OF TRIMETAZIDINE, TIOTRIAZOLIN, TAURINE AND UBIQUINONE PROTECTIVE EFFECT ON SIMVASTATIN-INDUCED MYOTOXICITY AND HEPATOTOXICITY IN CHOLESTEROL-FED RATS

Simvastatin use in cholesterol-fed rats is associated with increased risk of muscle and hepatic toxic adverse effects, significantly enhancing by high-dose statin and inhibition of the activity of CYP3A4 by troleanomycin. Supplementation of agents-correctors reduces the simvastatin-induced toxic effects, in particular, the intensity of cytolytic syndrome and cholestasis. Tiotriazolin and ubiquinone have the most protective effect.