

Снижение уровня восстановленного глутатиона в условиях интоксикации элементами медно-цинковой колчеданной руды может быть следствием нарушения ферментных систем его регенерации.

Костная ткань активно реагирует на изменения минерального состава и поступление токсичных элементов [5,9], и истощение ее антиоксидантных резервов при действии компонентов руды цветных металлов может быть одним из ведущих патогенетических механизмов снижения костной прочности и разви-

тия остеопенического синдрома в результате активации свободнорадикальных процессов и нарушения процессов метаболизма.

**Выводы.** При хронической интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды в костной ткани экспериментальных животных наблюдается истощение содержания компонентов неферментативного звена антиоксидантной защиты, что приводит к уменьшению общей антиокислительной активности и отражается на метаболизме ткани со снижением костной прочности.

*Сведения об авторах статьи:*

**Давлетгареева Гульназ Ришатовна** – заочный аспирант кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 227-66-07. E-mail: Tabletkadg@yandex.ru.

**Фаршатовна Екатерина Рафаэлевна** – к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 273-85-71. E-mail: farshatova-ekaterina@mail.ru.

**Камилов Феликс Хусанович** – д.м.н., профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 227-66-07.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние полиметаллической пыли медно-цинковых колчеданных руд на состояние минерального обмена и костной ткани / Э.Ф. Аглетдинов [и др.] // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. – №15. – С.15-18.
2. Аскарлова, З.Ф. Профессиональный риск у работников горнодобывающих предприятий / З.Ф. Аскарлова, В.П. Чащин, Э.И. Денисов. – СПб.: Норд-медиздат, 2010. – 216 с.
3. Оценка общей и профессиональной заболеваемости на предприятиях горной промышленности Казахстана / Ж.Е. Баттакова [и др.] // Медицина труда и пром. экология. – 2008. – № 2. – С.1-5.
4. Дубинина, Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение) // Физиологические и клинико-биохимические аспекты. – СПб.: Изд-во Медицинская пресса, 2006. – 400 с.
5. Остеопороз: влияние химических факторов производственной среды на метаболизм костной ткани / Ф.Х. Камилов [и др.]. – Уфа: Изд-во «ГУП РБ Уфимский полиграфкомбинат», 2015. – 311 с.
6. Карпищенко А.И., Глушков С.И. Влияние острой интоксикации дихлорэтаном на показатели системы глутатиона / А.И. Карпищенко, С.И. Глушков // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – № 6. – С. 52-56.
7. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов / Г.И. Клебанов [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1988. – Т.34, вып. 6. – С.59-62.
8. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова [и др.]. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
9. Токсикологическая химия: метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие / Е.Ю. Афанасьева [и др.] / под ред. Н.И. Калетиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1015 с.
10. Турпаев, К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов // Биохимия. – 2002. – Т. 61. – С. 339-359.
11. Фаршатовна, Е.Р. Влияние металлов, содержащихся в медно-цинковых колчеданных рудах, на метаболизм костной ткани / Е.Р. Фаршатовна, И.А. Меньшикова, Ф.Х. Камилов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 4. – С.56-58.
12. Bellomo G., Thor H., Orrenius S. Modulation of cellular glutathione and protein thiol status during quinine metabolism / G. Bellomo, H.Thor, S. Orrenius // Method. Enzymol. – 1990. – Vol.186. – P. 627-635.
13. Cullinan S.B. Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK /Nrf2 signaling pathway / S.B. Cullinan, I.A. Diehe // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2006. – Vol. 38, № 3. – P.317-332.
14. Desai I.D. Vitamin E analysis methods for animal tissues // Method. Enzymol. – 1984. – Vol.105. – P.138-147.
15. Meister A. Glutathione – ascorbic acid antioxidant system in animals // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269, №13. – P.9397-9400.
16. Omaye S.T. Selectod methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids / S.T. Omaye, J.W. Turnball, H.E. Sauberlich // Method. Enzymol. – 1971. – Vol. 62. – P.1-11.
17. Sies H. Glutathione and its role in cellular function // Free Radic. Biol. Med. – 1999. – Vol. 27, № 9/10. – P.916-921.

УДК 615.272/.273-092.4

© Коллектив авторов, 2017

З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, Е.В. Виноградова, И.А. Семенец  
**ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА  
 В МЫШЦАХ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ СИМВАСТАТИНА**  
*ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»  
 Минздрава России, г. Ростов-на-Дону*

На сегодняшний день ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-коферментА-редуктазы (статины) являются препаратами выбора для снижения уровня холестерина. В то же время применение статинов ассоциируется с развитием специфического побочного эффекта – статиновой миопатии, характеризующейся внезапным появлением мышечной боли. Цель исследования – анализ активности ферментов антиоксидантной защиты в мышцах крыс после длительного введения симва- статина. В мышечной ткани крыс определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР) и концентрацию восстановленного глутатиона (GSH). Установлено, что в основе развития миотоксичности при длительном введении симва- статина лежит дезинтеграция ферментативных антиоксидантных процессов, что лежит в основе окислительного повреждения миоцитов. Полученные данные могут быть использованы для разра-

ботки схем метаболической коррекции и профилактики поражения мышечного волокна при применении терапии высокими дозами статинов.

**Ключевые слова:** статины, симвастатин, миотоксичность.

Z.I. Mikashinovitch, E.S. Belousova, E.V. Vinogradova, I.A. Semenets  
**ENZYMATIC ANTIOXIDANT PROTECTION IN MUSCLES OF RATS UNDER  
 LONG-TERM ADMINISTRATION OF SIMVASTATIN**

Today 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statins) are drugs of choice to decrease cholesterol level. At the same time, application of statins is associated with the development of a specific side-effect – statin-associated myopathy, characterized by muscular pain appearance. The purpose of the research is to analyze activity of enzymes of antioxidant protection in the muscles of rats under long-term simvastatin administration. The activity of superoxidedismutase, catalase, glutathioneperoxidase, glutathionereductase and the concentration of reduced glutathione were determined in muscle tissue of outbred rats. It was found, that myotoxicity under long-term administration of simvastatin is developed due to disintegration of the antioxidant enzymatic processes that underlies the oxidative damage of myocytes. This information can be used to develop schemes of metabolic correction and prevention of destruction of muscle fibers during high-dose statin therapy.

**Key words:** statins, simvastatin, myotoxicity.

На сегодняшний день ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-коферментА редуктазы (статины) являются препаратами выбора для снижения уровня холестерина. В то же время применение статинов ассоциируется с развитием специфического побочного эффекта – статиновой миопатии, характеризующейся внезапным появлением мышечной боли [9, 10, 12]. Несмотря на многочисленные экспериментальные и клинические исследования, не существует полноценного представления о молекулярных механизмах повреждения мышечного волокна при длительном приеме статинов, что существенно затрудняет разработку эффективных схем профилактики и коррекции побочных эффектов статинов.

Согласно данным литературы, статины ингибируют не только синтез холестерина, но убихинона и селенопротеидов, в том числе и глутатионпероксидазы [2, 11].

В ранее проведенных исследованиях нами установлено, что длительное введение высоких доз симвастатина сопровождается развитием гипоксии, характеризующейся нарушением кислородтранспортной функции эритроцитов и биоэнергетических процессов в мышцах экспериментальных животных [5, 6]. Поскольку гипоксическое повреждение клетки реализуется путем активации сложного комплекса молекулярных механизмов, одним из которых является интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ), то выявление динамики антиоксидантных ферментативных реакций позволит оценить вклад свободнорадикальных процессов в развитие миотоксичности статинов.

В связи с этим целью исследования явился анализ активности основных ферментативных антиоксидантов после длительного приема симвастатина.

**Материал и методы**

Исследование проводилось на беспородных крысах-самцах в возрасте 12-14 месяцев.

Содержание животных соответствовало санитарным правилам СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)” от 29.08.2014. Животные были разделены на две группы. В 1-ю группу входили интактные животные, которые были разделены на две равные подгруппы: подгруппа 1 (контрольная) – 35 животных, которых содержали на общем рационе вивария; подгруппа 2 (группа сравнения) – 35 животных, получавших в течение 2-х месяцев симвастатин (Zocor, 20 мг) по 0,001 г/ 100 г массы один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд. У крыс 2-й группы (экспериментальная группа) индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемию путем содержания крыс в течение 3-х месяцев на рационе, обогащенном животными жирами (топленое сливочное масло) и легко усваиваемыми углеводами (тростниковый сахар, манная крупа). По истечении этого срока животные экспериментальной группы были разделены на две подгруппы: подгруппа 3 – 35 животных, получавших рацион без добавления лекарственных веществ; подгруппа 4 – 35 животных, получавших в течение 2-х месяцев симвастатин (Zocor, 20 мг) по 0,001 г/ 100 г массы один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд. Животные 1- и 3-й подгрупп ежедневно получали через пищеводный зонд 0,5 мл воды.

Животных умерщвляли в соответствии с принципами Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.

Для оценки динамики холестерина обмена определяли уровень общего холестерина (ХС) в сыворотке крови на анализаторе Bayer.

Для исследования отбирали фрагменты скелетных мышц с задней лапы животного. Гомогенат мышечной ткани готовили в соотношении 1 г ткани: 9 мл охлажденного

физраствора, центрифугировали при 3000 об/мин. В надосадочной жидкости определяли концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) [1], активность супероксиддисмутазы (СОД) [1], каталазы [1], глутатионредуктазы (ГР) [8], глутатионпероксидазы (ГПО) [8].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.0. Статистически достоверными считали отличия при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

После введения симвастатина интактным животным (группа сравнения) было выявлено снижение активности СОД на 63,52 % ( $p < 0,001$ ) и ГПО на 49,5 % ( $p < 0,001$ ), активность каталазы и уровень GSH достоверно не отличались, активность ГР была повышена на 43,5 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 1).

Содержание животных на рационе, обогащенном животными жирами и углеводами (подгруппа 3), способствовало статистически значимому повышению уровня холестерина относительно контрольной группы. У живот-

ных, получавших симвастатин (подгруппа 4), уровень холестерина плазмы крови соответствовал показателям контрольной группы (табл. 2).

Таблица 1  
Активность ферментов антиоксидантной защиты в мышцах интактных животных до и после введения симвастатина

Показатели	1-я группа	
	подгруппа 1 (контрольная), n=35	подгруппа 2 (сравнения), n=35
СО, усл. ед./мг	0,446±0,049	0,170±0,026 $p < 0,001$
Каталаза, мКат/мг	1,494±0,211	1,134±0,194 $p > 0,05$
GSH, мкмоль/мг	28,79±4,187	31,22±4,716 $p > 0,05$
ГПО, мкмоль/мг	13,04±0,892	7,48±0,464 $p < 0,001$
ГР, мкмоль/мг белка	0,023±0,0042	0,033±0,0031 $p < 0,05$

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы.

В мышцах животных с экспериментальной гиперхолестеринемией (подгруппа 3) также выявлены разнонаправленные изменения активности ферментов антиоксидантной защиты (табл. 3).

Таблица 2

Уровень холестерина в сыворотке крови животных исследуемых групп (M±m)

Показатель	Контрольная группа, n=35	2-я группа	
		подгруппа 3 (экспериментальная гиперхолестеринемия), n=35	подгруппа 4 (экспериментальная гиперхолестеринемия + симвастатин), n=35
Холестерин, ммоль/л	1,588±0,154	2,785±0,342; $p < 0,001$	1,637±0,136; $p_1 < 0,001$ ; $p_2 > 0,05$

Примечание: p – достоверно относительно контрольной группы;  $p_1$  – достоверно относительно подгруппы 3.

Так, активность СОД достоверно не отличалась, активность каталазы была увеличена на 82,66 % ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы. Активность ГПО была снижена на 49,47 % ( $p < 0,001$ ), на фоне значительного увеличения активности ГР – на 109 % ( $p < 0,001$ ) и концентрации GSH – на 235,36 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой.

Разнонаправленные изменения активности антиоксидантных ферментов свидетельствуют о формировании дисбаланса в организации ферментативной антиоксидантной за-

щиты. Имеются данные литературы, согласно которым длительное содержание животных на высокожировом рационе способствует появлению признаков окислительного стресса (многократное накопление малонового диальдегида и продуктов окислительной деградации белков, снижение активности антиоксидантных ферментов), что обусловлено усилением продукции активных форм кислорода в процессе митохондриального и пероксисомального окисления жирных кислот, активацией НАДФ-оксидазы и усилением ПОЛ [3].

Таблица 3

Активность ферментов антиоксидантной защиты в мышцах животных с экспериментальной гиперхолестеринемией до и после введения симвастатина

Показатели	Контрольная группа, n=35	2-я группа	
		подгруппа 3 (экспериментальная гиперхолестеринемия), n=35	подгруппа 4 (экспериментальная гиперхолестеринемия + симвастатин), n=35
СОД, усл. ед./мг	0,446±0,049	0,500±0,046; $p > 0,05$	0,219±0,024; $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Каталаза, мКат/мг	1,494±0,211	2,729±0,162; $p < 0,001$	2,786±0,438; $p_1 > 0,05$ ; $p_2 < 0,001$
GSH, мкмоль/мг	28,79±4,187	96,55±7,894; $p < 0,001$	48,44±3,213; $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
ГПО, мкмоль/мг	13,04±0,892	6,59±0,554; $p < 0,001$	2,43±0,191; $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
ГР, мкмоль/мг	0,023±0,0042	0,048±0,0030; $p < 0,001$	0,030±0,0029; $p_1 < 0,001$ ; $p_2 > 0,05$

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы;  $p_1$  – степень достоверности относительно показателей подгруппы 3.

Введение симвастатина животным с экспериментальной гиперхолестеринемией (подгруппа 4) способствовало снижению ак-

тивности СОД на 53,2% ( $p < 0,001$ ), активность каталазы осталась без изменений относительно показателей животных, не получавших

симвастатин (подгруппа 3). Относительно значений контрольной группы активность СОД была снижена на 54 % ( $p < 0,001$ ), активность каталазы, напротив, повышена на 86,48% ( $p < 0,001$ ).

В исследуемой группе выявлены значительные изменения активности глутатионзависимых ферментов: дальнейшее снижение активности ГПО на 63,13 % ( $p < 0,001$ ), ГР на 37,5% ( $p < 0,001$ ) и концентрации GSH на 49,93% ( $p < 0,001$ ) относительно показателей подгруппы 3. При сравнении результатов с показателями контрольной группы активность ГПО была снижена на 81,37% ( $p < 0,001$ ), ГР достоверно не отличалась, уровень GSH был повышен на 68,25% ( $p < 0,001$ ).

### Заключение

Анализируя полученные данные, можно полагать, что характерной особенностью метаболического ответа мышечной ткани на введение высокой дозы симвастатина является нарушение баланса в системе ферментативных антиоксидантов, характеризующееся резким снижением активности СОД и ГПО. Являясь основными антиоксидантными фер-

ментами митохондрий и клеточных мембран, СОД и ГПО эффективно регулируют ПОЛ, препятствуя выходу цитохрома С и предотвращая апоптоз при действии факторов, индуцирующих окислительный стресс [7].

Принимая во внимание сниженную активность СОД и ГПО, можно полагать, что основным механизмом, обеспечивающим антиоксидантную защиту миоцитов, является сохранение высокого уровня GSH [4].

Таким образом, одним из молекулярных механизмов, лежащих в основе миотоксичности статинов при их длительном применении, является дезинтеграция ферментативных антиоксидантных реакций в мышечной ткани. Учитывая представленные данные и ранее полученные результаты, можно полагать, что в комплексную терапию пациентов, принимающих высокие дозы статинов, могут быть включены препараты, имитирующие активность СОД и ГПО, а для нутритивной поддержки целесообразно использовать естественные SH-содержащие метаболиты и минеральные комплексы, обогащенные селеном, марганцем и медью.

### Сведения об авторах статьи:

**Микашинович Зоя Ивановна** – д.б.н., профессор, зав. кафедрой общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Адрес: 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29.

**Белюсова Елена Сергеевна** – к.б.н., зав. кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Адрес: 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: belousovalena@mail.ru.

**Виноградова Елена Викторовна** – ст. преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Адрес: 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29.

**Семенец Инна Александровна** – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Адрес: 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимические исследования слюны в клинической практике / З.И. Микашинович [и др.]. – Ростов-на-Дону: Изд-во РостГМУ, 2004. – 80 с.
2. Влияние ингибитора  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-коэнзим-А-редуктазы аторвастатина на сократимость изолированного сердца крыс в норме и при окислительном стрессе / В.Л. Лакомкин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143, № 4. – С. 383-385.
3. Влияние количества жира в рационе на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков и антиоксидантной защиты у крыс / Л.В. Кравченко и [др.] // Вопросы питания. – 2012. – Т. 81, № 3. – С. 24 – 29.
4. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона I. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, №3. – С. 255-277.
5. Микашинович, З.И. Биохимические изменения в эритроцитах как молекулярный индикатор клеточного повреждения при длительном введении симвастатина / З.И. Микашинович, Е.С. Белюсова // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2016. – № 2. – С. 122 – 126.
6. Микашинович, З.И. Нарушение энергозависимых процессов в мышечной ткани как один из патогенетических механизмов статиновой миопатии / З.И. Микашинович, Е.С. Белюсова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162, № 10. – С. 426-430.
7. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов / Е.В. Калинина и [др.] // Вестник РАМН. – 2010. – № 3. – С. 46-54.
8. Справочник по лабораторным методам исследований / под ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.
9. Aronow, W.S. Lipid-lowering therapy in older persons. // Arch. Med. Sci. – 2015. – Vol. 11(1). – P. 43-56.
10. Coenzyme Q(10) and selenium in statin-associated myopathy treatment. / Fedacko J. et [al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2013 – Vol. 91(2). – P. 165-170.
11. Moosmann, B. Selenoproteins, cholesterol-lowering drugs, and consequences: revisiting of the mevalonate pathway. / B. Moosmann, C. Behl // Trends Cardiovasc. Med. – 2004. – Vol. 14, № 7. – P. 273-281.
12. Risk of hospitalized rhabdomyolysis associated with lipid-lowering drugs in a real-world clinical setting. / M.J. Cziraky et [al.] // J. Clin. Lipidol. – 2013. – Vol. 7(2). – P. 102-108.