

## Влияние статинов (зокора) на кислородзависимые процессы в мышечной ткани и эритроцитах животных с гиперхолестеринемией

Микашинович З.И., Виноградова Е.В., Белоусова Е.С.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Виноградова Елена Викторовна, e-mail: mod8792@mail.ru

### Резюме

**Обоснование.** *Терапия статинами может сопровождаться токсическим влиянием на скелетную мускулатуру и клетки печени, молекулярные механизмы которых до сих пор не до конца изучены.*

**Цель исследования:** *выяснить особенности изменения кислородтранспортной функции эритроцитов и антиоксидантных механизмов в эритроцитах и мышцах животных при длительном введении статинов (симвастатина).*

**Методы.** *Исследование проводилось на беспородных крысах-самцах, которые в процессе эксперимента были рандомизированы на группы: контрольная группа – животные, содержащиеся на общем рационе вивария, группа сравнения – животные с индуцированной гиперхолестеринемией, основная группа – животные с индуцированной гиперхолестеринемией, получавшие симвастатин. В эритроцитах и мышечной ткани животных определяли показатели, характеризующие состояние АОЗ и углеводного обмена.*

**Результаты.** *Эксперимент показал, что введение животным симвастатина характеризовалось усугублением гипоксии, обусловленной гиперхолестеринемией, на что указывает резкое увеличение концентрации 2,3-ДФГ и лактата в эритроцитах животных, а также значительное снижение активности Г6ПД. В мышечной ткани животных было отмечено снижение концентрации пировиноградной кислоты и лактата относительно группы сравнения, что указывает на их интенсивное участие в обменных процессах.*

*Выявленные разнонаправленные изменения активности антиоксидантной системы в эритроцитах и мышечной ткани у животных с индуцированной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин, свидетельствуют о дезинтеграции защитных механизмов, что может привести к накоплению свободно-радикальных продуктов и окислительному повреждению клеток.*

**Заключение.** *Исходя из полученных данных, можно предположить, что особенностью действия статинов в эритроцитах является усиление отдачи кислорода тканям, что в мышцах сопровождалось уменьшением уровня недоокисленных продуктов. В то же время на фоне применения статинов, несмотря на позитивную направленность приспособительных реакций, сохраняются признаки окислительного стресса, что документировается разбалансировкой системы «СОД – каталаза» и снижением активности глутатион-зависимых реакций.*

**Ключевые слова:** *статины, дислипидемии, побочные эффекты, эритроциты, мышечная ткань, миопатия, антиоксидантная система*

**Для цитирования:** Микашинович З.И., Виноградова Е.В., Белоусова Е.С. Влияние статинов (зокора) на кислородзависимые процессы в мышечной ткани и эритроцитах животных с гиперхолестеринемией. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 110-116. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.14

## Effect of Statins (Zocor) on Oxygen-Dependent Processes in Muscle Tissue and Erythrocytes in Animals with Hypercholesterolemia

Vinogradova E.V., Mikashinovich Z.I., Belousova E.S.

Rostov State Medical University (per. Nakhichevansky 29, Rostov-on-Don 344022, Russian Federation)

Corresponding author: Elena V. Vinogradova, e-mail: mod8792@mail.ru

### Abstract

**Background.** *Statin therapy may be accompanied by a toxic effect on skeletal muscle and liver cells, the molecular mechanisms of which have not yet been fully understood.*

**Aim.** *To clarify the peculiarities of changes in the oxygen transport function of erythrocytes and antioxidant mechanisms in erythrocytes and muscles of animals with prolonged administration of statins (simvastatin).*

**Materials and methods.** *The study was conducted on outbred male rats, which during the experiment were randomly assigned to following groups: the control group contained animals on a common ration of the vivarium, the group of comparison – animals with induced hypercholesterolemia, the main group – animals with induced hypercholesterolemia treated with simvastatin. In erythrocytes and muscle tissue of animals, indicators characterizing the state of antioxidant defense and carbohydrate metabolism were determined.*

**The results.** *The experiment showed that the administration of simvastatin to animals was characterized by aggravation of hypoxia due to hypercholesterolemia, as indicated by a sharp increase in the concentration of 2,3-BPG and lactate in erythrocytes of animals, as well as a significant decrease in the activity of G6PD. In the muscle tissue of animals, there was a decrease in the concentration of pyruvic acid and lactate relative to the comparison group, which indicates their intensive participation in metabolic processes.*

**Conclusion.** *Based on the data obtained, it can be assumed that the peculiarity of the action of statins in erythrocytes is the increased oxygen delivery to the tissues, which in muscles was accompanied by a decrease in the level of oxidized*

*products. At the same time, against the background of the use of statins, despite the positive direction of adaptive reactions, signs of oxidative stress remain, which is documented by the imbalance of the SOD-catalase system and a decrease in the activity of glutathione-dependent reactions.*

**Key words:** *statins, dyslipidemia, side effects, erythrocytes, muscle tissue, myopathy, antioxidant system*

**For citation:** Vinogradova E.V., Mikashinovich Z.I., Belousova E.S. Effect of statins (zocor) on oxygen-dependent processes in muscle tissue and erythrocytes in animals with hypercholesterolemia. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 110-116. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.14

Дислипидемии играют важную роль в патогенезе многих серьёзных заболеваний. На сегодняшний день основными препаратами для лечения патологических состояний, напрямую ассоциированных с нарушениями обмена липидов и холестерина, являются статины.

Статины – эффективные гиполлипидемические препараты, с обширной доказательной базой в виде крупных клинических исследований [1]. Но несмотря на это, основной причиной неназначения или отмены препаратов данной группы является риск развития серьёзных побочных эффектов, таких как токсическое влияние на скелетную мускулатуру и клетки печени, молекулярные аспекты которых до сих пор не до конца понятны [2–7].

Важнейшей особенностью функционирования мышц является то, что в процессе мышечного сокращения происходит превращение химической энергии АТФ в механическую энергию, что требует постоянной регенерации аденозинтрифосфата. Энергетический обмен, в свою очередь, напрямую зависит от обеспечения клеток кислородом, недостатком которого чреват накоплением активных форм кислорода в электрон-транспортной системе и, следовательно, является чувствительным индикатором нарушения кислородного гомеостаза.

Эритроциты, являясь одним из важнейших элементов микроциркуляции, в значительной мере определяют гемодинамический и метаболический гомеостаз тканей, влияют на реализацию многих адаптивных реакций организма и являются важным неспецифическим интегральным показателем кислородного обеспечения организма [8].

Исходя из этого, можно предположить, что анализ метаболических изменений, характеризующих кислородтранспортную функцию и антиоксидантные процессы в эритроцитах и мышечной ткани, позволит оценить вклад гипоксии в формирование метаболических и морфофункциональных изменений в мышечной ткани при длительном введении симвастатина [2].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выяснить особенности изменения кислородтранспортной функции эритроцитов и антиоксидантных механизмов в эритроцитах и мышцах животных при длительном введении статинов (симвастатина).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовались беспородные крысы-самцы в возрасте 12–14 месяцев. Содержание животных осуществлялось в соответствии с Приказом Минздрава РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и санитарными правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 29.08.2014 г.».

В процессе эксперимента животные были рандомизированы на группы. Контрольная группа – 35 животных,

содержавшихся на общем рационе вивария, и в течение 3 месяцев получавших через пищеводный зонд 0,5 мл дистиллированной воды один раз в сутки.

У остальных животных индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемия путём содержания в течение 3 месяцев на рационе, обогащённом животными жирами (топлённое сливочное масло) и легко усваиваемыми углеводами (тростниковый сахар, манная крупа). Полное описание рациона не приводится, поскольку ведётся работа по оформлению заявки на изобретение по способу моделирования гиперхолестеринемии.

По истечении 3 месяцев у животных определяли уровень общего холестерина (ХС) на анализаторе «Вауег» (Германия). После подтверждения гиперхолестеринемии животные были вновь рандомизированы на две группы:

- группа 1 (сравнения) – 35 животных с экспериментальной гиперхолестеринемией, в течение 2 месяцев получавших рацион без добавления лекарственных веществ и 0,5 мл дистиллированной воды один раз в сутки через пищеводный зонд;
- группа 2 (основная) – 35 животных с экспериментальной гиперхолестеринемией, получавших в течение 2 месяцев симвастатин (Zocor, 20 мг) по 0,0012 г на 100 г массы, один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд.

Животных выводили из эксперимента декапитацией. Все манипуляции соответствовали общепринятым этическим нормам (протокол ЛНЭК ГБОУ ВПО «Ростовского государственного медицинского университета» МЗ РФ № 21/15 от 10.12.2015 г.).

Для исследования использовали фрагменты скелетных мышц с задней лапы животного. Гомогенат мышечной ткани готовили в соотношении 1 г ткани : 9 мл охлаждённого 0,9% водного раствора хлорида натрия (NaCl), центрифугировали при 3000 об./мин, для определения уровня субстратов и активности ферментов использовали надосадочную жидкость.

Эритроциты получали из крови, стабилизированной гепарином (10 ед./мл), отделяли от лейкоцитов и тромбоцитов в 3% желатиновом растворе с последующим центрифугированием. После отделения плазмы и верхнего слоя клеток эритроциты отмывали охлаждённым физиологическим раствором (2–3 раза). Для получения плотного осадка отмытые эритроциты центрифугировали при 3000 об./мин в течение 30 минут.

Концентрацию пировиноградной кислоты (ПВК) определяли по образованию окрашенного соединения при взаимодействии с 2,4-динитрофенилгидразином [9]. Концентрацию лактата определяли по реакции окрашивания параоксидифенила с уксусным альдегидом, образующимся из лактата в присутствии серной, фосфорной кислот и ионов меди [10]. Концентрацию 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) определяли методом, основанном на колориметрическом измерении содержания фосфатов в хлорнокислом экстракте после удаления кислотора-

створимых нуклеотидов абсорбцией на активированном угле [11]. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) определяли путём регистрации уровня НАДФН<sub>2</sub>, образующегося при окислении глюкозо-6-фосфата [10]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли методом, основанном на способности фермента тормозить автоокисление адреналина в щелочной среде при рН = 10,2 [12]. Активность каталазы определяли по убыли субстрата – пероксида водорода в единицу времени по реакции с молибденовокислым аммонием [13]. Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по скорости окисления НАДФН<sub>2</sub> [10]. Активность глутатионпероксидазы (ГПО) определяли по изменению содержания восстановленного глутатиона в пробах до и после инкубации с модельным субстратом с помощью цветной реакции с 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной) кислотой (5,5-ДТНБК) [10]. Концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) определяли методом, в основе которого лежит реакция 5,5-ДТНБК с восстановленным глутатионом [13].

Статистическую обработку полученного материала проводили с использованием программы STATISTICA 10.0 и Excel Microsoft.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Содержание животных на рационе с повышенным содержанием жира и углеводов (группа 1) в течение 3 месяцев привело к увеличению уровня ХС (2,785 ± 0,342 ммоль/л) на 75,37 % по сравнению с жи-

вотными контрольной группы (1,588 ± 0,154 ммоль/л) (табл. 1).

Как известно, уровень пирувата и лактата, конечных продуктов гликолиза, является косвенным показателем эффективности утилизации молекулярного кислорода при внутриклеточном метаболизме.

В эритроцитах животных этой группы было отмечено увеличение концентрации лактата на 42,77 % (p < 0,001) по сравнению с контрольной группой, в то время как концентрация ПВК снизилась на 15,84 % (p < 0,05) (табл. 2).

Увеличение концентрации лактата на фоне снижения ПВК свидетельствует о развитии метаболического ацидоза, что способствует нарушению работы ферментных систем клетки и формированию «метаболических блоков» на уровне ключевых метаболитов.

В эритроцитах крыс этой группы (группа 1) выявлено статистически значимое увеличение на 385,28 % (p < 0,001) концентрации 2,3-ДФГ – аллостерического регулятора сродства гемоглобина к кислороду, по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Такое значительное увеличение концентрации 2,3-ДФГ на фоне увеличения концентрации лактата, свидетельствуют об усилении отдачи кислорода тканям и формировании тканевой гипоксии. Таким образом, выявленная метаболическая реакция эритроцитов свидетельствует о нарушении кислородного режима при гиперхолестеринемии.

При определении в эритроцитах активности Г6ФДГ-фермента окислительной ветви пентозофосфатного

Липидограмма животных исследуемых групп

Таблица 1

Lipid profile of animals in the study groups

Table 1

| Показатели       | Группы | Контрольная группа, n = 35 | Группа 1 (сравнения), n = 35 | Группа 2 (основная), n = 35                          |
|------------------|--------|----------------------------|------------------------------|--|
| ХС, ммоль/л      |        | 1,588 ± 0,154              | 2,785 ± 0,342<br>p < 0,001   | 1,637 ± 0,136<br>p <sub>1</sub> < 0,001<br>p > 0,05  |
| ХС ЛПВП, ммоль/л |        | 0,680 ± 0,031              | 1,059 ± 0,038<br>p < 0,001   | 0,779 ± 0,030<br>p <sub>1</sub> < 0,001<br>p < 0,05  |
| ХС ЛПНП, ммоль/л |        | 0,576 ± 0,050              | 1,561 ± 0,046<br>p < 0,001   | 1,199 ± 0,032<br>p <sub>1</sub> < 0,001<br>p < 0,001 |
| ТАГ, ммоль/л     |        | 0,646 ± 0,036              | 1,182 ± 0,027<br>p < 0,001   | 0,751 ± 0,030<br>p <sub>1</sub> < 0,001<br>p > 0,05  |

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы; p<sub>1</sub> – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.

Note. p – the degree of reliability relative to the indicators of the control group; p<sub>1</sub> – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

Концентрация метаболитов гликолиза и активность Г6ФДГ в эритроцитах животных исследуемых групп

Таблица 2

The concentration of glycolysis metabolites and G6PD activity in the erythrocytes of animals in the study groups

Table 2

| Показатели   | Группы | Контрольная группа n = 35 | Группа 1 (сравнения) n = 35 | Группа 2 (основная) n = 35               |
|--|--------|---------------------------|-----------------------------|--|
| пировиноградная кислота, мкмоль/мл плотного осадка |        | 2,203 ± 0,734             | 1,854 ± 0,112<br>p < 0,05   | 1,211 ± 0,116<br>p <sub>1</sub> < 0,001  |
| лактат, мкмоль/мл плотного осадка                  |        | 4,879 ± 0,396             | 6,966 ± 0,898<br>p < 0,001  | 18,243 ± 0,785<br>p <sub>1</sub> < 0,001 |
| 2,3-дифосфоглицерат, мкмоль/мл плотного осадка     |        | 8,14 ± 0,900              | 39,502 ± 5,038<br>p < 0,001 | 46,419 ± 2,981<br>p <sub>1</sub> < 0,001 |
| глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, мкмоль/г Нв         |        | 3,026 ± 0,507             | 3,336 ± 0,241<br>p > 0,05   | 1,759 ± 0,178<br>p <sub>1</sub> < 0,001  |

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы; p<sub>1</sub> – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.

Note. p – the degree of reliability relative to the indicators of the control group; p<sub>1</sub> – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

пути в группе сравнения была выявлена тенденция к повышению на 10,24 %, относительно контрольной группы ( $p < 0,05$ ) (табл. 2), что указывает на напряжение адаптивных механизмов, направленных на усиление продукции НАДФН<sup>+</sup>, необходимых для защиты эритроцитов от окислительной деструкции.

Параллельно в мышечной ткани животных группы сравнения на фоне гиперхолестеринемии было выявлено резкое увеличение концентрации лактата на 73,23 % ( $p < 0,001$ ), ПВК на 247,11 % ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы (табл. 3). Эти данные могут свидетельствовать о нарушении интеграции метаболизма на уровне регуляторных ферментов и блокированию вступления ПВК в энергетические циклы, а постепенное истощение энергетического потенциала клетки, на фоне резкого ацидоза, провоцирует накопление веществ радикальной природы.

В настоящее время имеются доказательства, что состояние системы «ПОЛ – антиоксидантная защита» представляет собой одно из значимых составляющих адаптации организма, подвергающегося воздействию условий внешней среды [14].

В эритроцитах животных с гиперхолестеринемией (группа 1) было выявлено статистически значимое снижение активности СОД на 60,46 % ( $p < 0,001$ ), в то время как активность каталазы значительно повысилась на 143,32 % ( $p < 0,001$ ). Активность ГПО и концентрация GSH снизились на 28,05 % ( $p < 0,001$ ) и 37,80 % ( $p < 0,001$ ) соответственно, а активность ГР достоверно не изменились относительно контрольной группы ( $p > 0,05$ ) (табл. 4).

Выявленные нами разнонаправленные изменения активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) могут рассматриваться как чувствительный индикатор

напряжения защитных механизмов эритроцитов, что может привести к их постепенному истощению, активации процессов перекисного гемолиза и несостоятельности процессов кислородного обеспечения органов и тканей при гиперхолестеринемии.

Полученные данные указывают на угрозу перекисного гемолиза в условиях моделирования гиперхолестеринемии. Эти данные согласуются с результатами исследований В.Г. Банзаракшеева, Е.Г. Седуновой (2016 г.). По мнению этих авторов, атерогенная дислипидемия усиливает процессы перекисидации и снижает активность эндогенной антиоксидантной защиты [15].

В мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией (группа 1) были получены иные результаты: выявлена тенденция к повышению активности СОД на 12,10 % ( $p > 0,05$ ), на фоне значительного увеличения активности каталазы на 82,60 % ( $p < 0,001$ ). Обращает внимание выраженное повышение концентрации GSH на 235,36 % ( $p < 0,001$ ), при этом активность ГПО снизились на 49,46 % ( $p < 0,001$ ), а активность ГР статистически значимо повысилась на 108,69 % ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы (табл. 5).

Резкое повышение активности восстановленного GSH в мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией можно рассматривать как важный адаптационный механизм, направленный на сохранение устойчивости к окислительному стрессу, который формируется в условиях резкого снижения ГПО, что приводит к накоплению окисленных дериватов.

Можно отметить, что в условиях гиперхолестеринемии у животных группы сравнения сохраняется исходная активность СОД, на фоне увеличения активности катала-

Концентрация метаболитов гликолиза в мышцах животных исследуемых групп ( $M \pm m$ )

Таблица 3

Concentration of glycolysis metabolites in the muscles of animals in the study groups ( $M \pm m$ )

Table 3

| Показатели                               | Группы | Контрольная группа<br>$n = 35$ | Группа 1 (сравнения)<br>$n = 35$ | Группа 2 (основная)<br>$n = 35$              |
|--|--------|--------------------------------|----------------------------------|--|
| пировиноградная кислота, мкмоль/мг белка |        | 2,25 ± 0,024                   | 7,81 ± 0,570<br>$p < 0,001$      | 3,28 ± 0,269<br>$p_1 < 0,001$<br>$p < 0,001$ |
| лактат, мкмоль/мг белка                  |        | 3,96 ± 0,447                   | 6,86 ± 0,657<br>$p < 0,001$      | 4,64 ± 0,491<br>$p_1 < 0,01$<br>$p > 0,05$   |

Примечание.  $p$  – степень достоверности относительно показателей контрольной группы;  $p_1$  – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.  
Note.  $p$  – the degree of reliability relative to the indicators of the control group;  $p_1$  – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

Активность ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах животных исследуемых групп

Таблица 4

The activity of antioxidant protection enzymes in the erythrocytes of animals in the study groups

Table 4

| Показатели                             | Группы | Контрольная группа<br>$n = 35$ | Группа 1 (сравнения)<br>$n = 35$ | Группа 2 (основная)<br>$n = 35$   |
|--|--------|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| супероксиддисмутаза, усл. ед./г Hb     |        | 817,088 ± 85,239               | 323,043 ± 90,856<br>$p < 0,001$  | 245,583 ± 98,229<br>$p_1 < 0,001$ |
| каталаза, мкмоль/г Hb                  |        | 2,615 ± 0,731                  | 6,363 ± 0,359<br>$p < 0,001$     | 3,833 ± 0,243<br>$p_1 < 0,001$    |
| восстановленный глутатион, мкмоль/г Hb |        | 17,185 ± 2,783                 | 10,689 ± 1,787<br>$p < 0,001$    | 9,702 ± 0,878<br>$p_1 > 0,05$     |
| глутатионпероксидаза, мкмоль/г Hb      |        | 14,856 ± 2,676                 | 2,507 ± 0,381<br>$p < 0,001$     | 2,685 ± 0,351<br>$p_1 > 0,05$     |
| глутатионредуктаза, мкмоль/г Hb        |        | 3,92 ± 0,550                   | 3,988 ± 0,734<br>$p > 0,05$      | 5,863 ± 0,803<br>$p_1 < 0,001$    |

Примечание.  $p$  – степень достоверности относительно показателей контрольной группы;  $p_1$  – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.  
Note.  $p$  – the degree of reliability relative to the indicators of the control group;  $p_1$  – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.



Активность ферментов антиоксидантной защиты в мышцах животных исследуемых групп

Table 5

The activity of enzymes of antioxidant protection in the muscles of animals in the studied groups

| Показатели                                 | Группы | Контрольная группа<br>n = 35 | Группа 1 (сравнения),<br>n = 35 | Группа 2 (основная),<br>n = 35                |
|--|--------|------------------------------|---------------------------------|---|
| супероксиддисмутаза, усл. ед./мг белка     |        | 0,446 ± 0,049                | 0,500 ± 0,046<br>$p > 0,05$     | 0,219 ± 0,024<br>$p_1 < 0,001$<br>$p < 0,001$ |
| каталаза, мКат/мг белка                    |        | 1,494 ± 0,211                | 2,729 ± 0,162<br>$p < 0,001$    | 2,786 ± 0,438<br>$p_1 > 0,05$<br>$p < 0,001$  |
| восстановленный глутатион, мкмоль/мг белка |        | 28,79 ± 4,187                | 96,55 ± 7,894<br>$p < 0,001$    | 48,44 ± 3,213<br>$p_1 < 0,001$<br>$p < 0,001$ |
| глутатионпероксидаза, мкмоль/мг белка      |        | 13,04 ± 0,892                | 6,59 ± 0,554<br>$p < 0,001$     | 2,43 ± 0,191<br>$p_1 < 0,001$<br>$p < 0,001$  |
| глутатионредуктаза, мкмоль/мг белка        |        | 0,023 ± 0,0042               | 0,048 ± 0,0030<br>$p < 0,001$   | 0,030 ± 0,0029<br>$p_1 < 0,001$<br>$p > 0,05$ |

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

Note.  $p$  – the degree of reliability relative to the indicators of the control group;  $p_1$  – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

зы и ГР практически в два раза, тогда как активность ГПО снизилась практически вдвое, что указывает на разобщение основных антиоксидантов клетки.

В то же время можно полагать, что такие изменения параметров антиоксидантной системы в мышцах в условиях гиперхолестеринемии носят приспособительный характер, направленный на сохранение антиокислительного потенциала миоцитов.

При этом активация каталазы и накопление восстановленного глутатиона на фоне резкого уменьшения активности ГПО отражает несостоятельность защитных реакций. При сохранении физиологической активности СОД основную нагрузку по устранению потенциально опасных окислителей берёт на себя каталаза и восстановленный глутатион.

Разработки последнего времени свидетельствуют об обладании прооксидантными свойствами значительного числа ксенобиотиков, в том числе лекарственных препаратов [14].

Введение животным с эссенциальной гиперхолестеринемией (основная группа) в течение двух месяцев симвастина способствовало снижению уровня ХС в сыворотке крови на 41,22 % ( $1,637 \pm 0,136$ ,  $p_1 < 0,001$ ) по сравнению животными группы 1, что не отличалось от показателей контрольной группы ( $1,588 \pm 0,154$ ).

В эритроцитах крыс, которым вводили симвастин (основная группа) на фоне эссенциальной гиперхолестеринемии, было выявлено дальнейшее увеличение концентрации лактата на 161,89 % ( $p_1 < 0,001$ ) относительно группы сравнения, а концентрация ПВК снизилась на 34,68 % ( $p_1 < 0,001$ ) (табл. 2). Также в эритроцитах животных основной группы было выявлено статистически значимое увеличение концентрации 2,3-ДФГ – на 17,51 % ( $p_1 < 0,001$ ) относительно группы сравнения (табл. 2). В эритроцитах животных также выявлено достоверное снижение активности ГбФДГ – на 47,27 % ( $p_1 < 0,001$ ) и увеличение активности ГР относительно группы сравнения, что свидетельствует о формирующемся дефиците восстановленных коферментов, обеспечивающих работу глутатионредуктазы, которая утилизирует НАДФН<sup>+</sup>, восстанавливая глутатион (табл. 4).

Полученные данные указывают на приспособительные изменения в эритроцитах, направленные на усиление отдачи кислорода тканям, в большей мере, чем в предыдущей группе животных с гиперхолестеринемией.

В мышечной ткани введение в течение двух месяцев симвастина животным с гиперхолестеринемией привело к снижению концентрации ПВК на 58 % ( $p_1 < 0,001$ ) и лактата на 32,36 % ( $p_1 < 0,001$ ) относительно группы 1 (сравнения), что указывает на их интенсивное участие в обменных процессах (табл. 3).

В эритроцитах животных группы 2 выявлено синхронное снижение активности каталазы на 39,76 % ( $p_1 < 0,001$ ) и активности СОД на 23,98 % ( $p_1 < 0,001$ ). Активность ГПО и концентрация GSH достоверно не изменились, а активность ГР увеличилась на 47 % ( $p_1 < 0,001$ ) относительно группы сравнения (табл. 4). Известно, что увеличение активности ГР играет важную роль в развитии адаптивного антиоксидантного ответа, направленного на поддержание уровня GSH [16].

В мышечной ткани крыс основной группы было выявлено снижение активности СОД на 56,2 % ( $p_1 < 0,001$ ), тогда как активность каталазы осталась без изменений относительно показателей животных группы сравнения (группа 1). Обращают на себя внимание значительные изменения активности глутатионзависимых ферментов: дальнейшее резкое снижение активности ГПО на 63,13 % ( $p_1 < 0,001$ ), ГР на 37,5 % ( $p_1 < 0,001$ ) и концентрации GSH на 49,83 % ( $p_1 < 0,001$ ) относительно показателей группы сравнения, что указывает на снижение адаптивного потенциала глутатионовой системы миоцитов (табл. 5). Полученные данные согласуются с результатами В.З. Ланкина и соавторов, согласно которым, некоторые статины обладают прооксидантным действием, что приводит к снижению сократительной активности миокарда в эксперименте при моделировании окислительного стресса путём введения пероксида водорода [17]. GSH, являясь одним из основных компонентов антиоксидантной системы, препятствует развитию перекисного окисления липидов, снижает выход цитохрома С и предотвращает развитие апоптоза при действии факторов, индуцирующих окислительный стресс [16]. Поэтому можно полагать,

что выявленная высокая концентрация GSH в мышцах отражает недостаточное вовлечение GSH в окислительно-восстановительные процессы.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований было установлено, что индуцированная гиперхолестеринемия сопровождалась общими метаболическими изменениями в эритроцитах и мышечной ткани, выявлено статистически значимое увеличение концентрации лактата, что свидетельствует о формировании смешанной гипоксии. В то же время обнаружено, что в эритроцитах концентрация ПВК резко снизилась, а в мышцах её концентрация, наоборот, достоверно увеличилась, что свидетельствует о нарушении окислительно-восстановительных процессов, обусловленных метаболическим ацидозом.

Введение животным симвастатина характеризовалось резким увеличением концентрации 2,3-ДФГ и лактата в эритроцитах и значительным снижением активности Г6ФДГ, что свидетельствует об угрозе нарушения структурно-функциональной целостности эритроцитов.

При этом в мышечной ткани концентрация лактата уменьшается по сравнению с группой 1 (сравнения), но остаётся выше исходных величин.

Уменьшение концентрации лактата может способствовать сдвигу рН в миоцитах, модифицировать регуляторное действие  $O_2$  и снижать дисмутацию супероксидных радикалов. Удлиненный период полужизни супероксидных радикалов позволяет им накапливаться или взаимодействовать с другими молекулами, образуя радикалы в митохондриальной мембране и направляя действие митохондриального генома на восстановление металлов переходной валентности. Нарушение баланса между оксидантами и восстановителями является признаком повреждения.

Нужно отметить, что выявляется взаимосвязь между уровнем 2,3-ДФГ и активностью СОД в мышцах: чем выше уровень 2,3-ДФГ в эритроцитах, тем меньше активность СОД в мышцах, что может быть индикатором угрозы развития окислительного стресса.

Таким образом, особенностью действия статинов в эритроцитах является усиление отдачи кислорода тканям, что в мышцах сопровождалось уменьшением уровня недоокисленных продуктов. В то же время на фоне применения статинов, несмотря на позитивную направленность приспособительных реакций, сохраняются признаки окислительного стресса, что документируется разбалансировкой системы «СОД – каталаза» и снижением активности глутатион-зависимых реакций. По-видимому, наличие выявленных метаболических сдвигов определяет риск побочных эффектов статиновой терапии, клинический эффект которой характеризуется снижением смертности на 30 %.

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Л.А., Силина Е.Г. Статины и «бремя» цивилизации: доказанная выгода при атеросклеротических заболеваниях. *РМЖ*. 2011; 19(4): 186-190.
2. Микашинович З.И., Белоусова Е.С. Биохимические изменения в эритроцитах как молекулярный индикатор клеточного повреждения при длительном введении сим-

вастатина. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2016; (2): 122-125.

3. Agouridis AP, Nair DR, Mikhailidis DP. Strategies to overcome statin intolerance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015; 11(6): 851-855. doi: 10.1517/17425255.2015.1027685

4. Bruckert E, Ferrières J. Evidence supporting primary prevention of cardiovascular diseases with statins: Gaps between updated clinical results and actual practice. *Arch Cardiovasc Dis*. 2014; 107(3): 188-200. doi:10.1016/j.acvd.2014.01.011

5. Pawelczyk M, Chmielewski H, Kaczorowska B, Przybyła M, Baj Z. The influence of statin therapy on platelet activity markers in hyperlipidemic patients after ischemic stroke. *Arch Med Sci*. 2015; 11(1): 115-121. doi: 10.5114/aoms.2015.49216

6. Pirillo A, Catapano AL. Statin intolerance: diagnosis and remedies. *Curr Cardiol Rep*. 2015; 17(5): 582. doi:10.1007/s11886-015-0582-z

7. Russo MW, Hoofnagle JH, Gu J, Fontana RJ, Barnhart H, Kleiner DE, Chalasani N, Bonkovsky HL. Spectrum of statin hepatotoxicity: experience of the drug-induced liver injury network. *Hepatology*. 2014; 60(2): 679-686. doi: 10.1002/hep.27157

8. Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Саркисян О.Г. Гипоксия как патофизиологическая основа изменения метаболических процессов в эритроцитах и гепатоцитах крыс после длительного приема симвастатина (зокора). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015; 59(4): 93-96.

9. Камышиников В.С. (ред.) *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*. М.: МЕДпресс-информ; 2004.

10. Данилова Л.Н. (ред.) *Справочник по лабораторным исследованиям*. СПб.: Питер; 2003.

11. Луганова И.С., Блинов М.Н. Определение 2,3-дифосфоглицерата неэнзиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом. *Лабораторное дело*. 1975; (7): 652-654.

12. Гуревич В.С., Конторщикова К.Н., Шатилина Л.В. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы. *Лаб. дело*. 1990; (4): 44-47.

13. Микашинович З.И., Летуновский А.В., Волжин О.О., Белоусова Е.С. *Биохимические исследования слюны в клинической практике*. Ростов-на-Дону: Изд-во РостГМУ. 2004.

14. Овсянникова О.А. Состояние перекисного окисления липидов в костном мозге, плазме крови и эритроцитах крыс на этапах онтогенеза в норме, после воздействия серосодержащего газа и с использованием протектора. *Успехи современной науки*. 2016; 10(11): 16-21.

15. Банзаракшеев В.Г. Патофизиологическое обоснование результатов моделирования атерогенной дислипидемии у крыс. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1(3): 33-36.

16. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р., Новичкова М.Д., Саприн А.Н., Березов Т.Т. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов. *Вестник Российской АМН*. 2010; (3): 46-54.

17. Ланкин В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г., Тихадзе А.К., Каминный А.И., Кухарчук В.В. Влияние ингибитора  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-коэнзим-А-редуктазы и витаминов-антиоксидантов на свободнорадикальное

окисление липидов печени крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007; 143(4): 390-393.

#### REFERENCES

1. Aleksanjan LA, Silina EG. Statins and the "burden" of civilization: proven benefit in atherosclerotic disease. *Russkij medicinskij zhurnal*. 2011; 19(4): 186-190. (In Russ.)
2. Mikashinovich ZI, Belousova ES. Biochemical changes in erythrocytes as a molecular indicator of cellular damage during long-term administration of simvastatin. *Kletochnye tehnologii v biologii i medicine*. 2016; (2): 122-125. (In Russ.)
3. Agouridis AP, Nair DR, Mikhailidis DP. Strategies to overcome statin intolerance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015; 11(6): 851-855. doi: 10.1517/17425255.2015.1027685
4. Bruckert E, Ferrières J. Evidence supporting primary prevention of cardiovascular diseases with statins: Gaps between updated clinical results and actual practice. *Arch Cardiovasc Dis*. 2014; 107(3): 188-200. doi:10.1016/j.acvd.2014.01.011
5. Pawelczyk M, Chmielewski H, Kaczorowska B, Przybyła M, Baj Z. The influence of statin therapy on platelet activity markers in hyperlipidemic patients after ischemic stroke. *Arch Med Sci*. 2015; 11(1): 115-121. doi:10.5114/aoms.2015.49216
6. Pirillo A, Catapano AL. Statin intolerance: diagnosis and remedies. *Curr Cardiol Rep*. 2015; 17(5): 582. doi:10.1007/s11886-015-0582-z
7. Russo MW, Hoofnagle JH, Gu J, Fontana RJ, Barnhart H, Kleiner DE, Chalasani N, Bonkovsky HL. Spectrum of statin hepatotoxicity: experience of the drug-induced liver injury network. *Hepatology*. 2014; 60(2): 679-686. doi: 10.1002/hep.27157
8. Belousova ES, Mikashinovich ZI, Sarkisjan OG. Hypoxia as functional base of metabolic processes changes in erythrocytes and hepatocytes of rats after prolonged

Simvastatin (Zokor) intake. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*. 2015; 59(4): 93-96. (In Russ.)

9. Kamyshnikov VS. (ed.) *The handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnosis*. M.: MEDpress-inform; 2004. (In Russ.)
10. Danilova LN. (ed.) *Handbook of laboratory research*. Saint-Petersburg: Piter; 2003. (In Russ.)
11. Luganova IS, Blinov MN. Determination of 2,3-diphosphoglycerate by non-enzyme method and ATP in erythrocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Laboratornoe delo*. 1975; (7): 652-654. (In Russ.)
12. Gurevich VS, Kontorshhikova KN, Shatilina LV. Comparative analysis of two methods for determining the activity of superoxide dismutase. *Laboratornoe delo*. 1990; (4): 44-47. (In Russ.)
13. Mikashinovich ZI, Letunovskij AV, Volzhin OO, Belousova ES. *Biochemical studies of saliva in clinical practice*. Rostov-na-Donu: Izdatelstvo RostGMU. 2004. (In Russ.)
14. Ovsjannikova OA. State of lipid peroxidation in the bone marrow, blood plasma and erythrocytes of rats on the stages of ontogeny in norm, after exposure to sour gas and with the use of protector. *Uspehi sovremennoj nauki*. 2016; 10(11): 16-21. (In Russ.)
15. Banzaraksheev VG. Pathophysiological assessment of the antioxidant system in rats organisms in dyslipidemia. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1(3): 33-36 (In Russ.)
16. Kalinina EV, Chernov NN, Aleid R, Novichkova MD, Saprin AN, Berezov TT. Current views of antioxidative activity of glutathione and glutathione-depending enzymes. *Vestnik Rossijskoj Akademii Nauk*. 2010; (3): 46-54. (In Russ.)
17. Lankin VZ, Ivanova MV, Konovalova GG, Tihadze AK, Kaminyj AI, Kuharchuk VV. Effect of  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors and antioxidant vitamins on free radical lipid oxidation in rat liver. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2007; 143(4): 390-393. (In Russ.)

#### Сведения об авторах

**Микашинович Зоя Ивановна** – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической биохимии № 1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru

**Виноградова Елена Викторовна** – старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: mod8792@mail.ru

**Белуsoва Елена Сергеевна** – кандидат биологических наук, заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: belousovalena@mail.ru

#### Information about the authors

**Zoia I. Mikashinovich** – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department of General and clinical biochemistry N 1 at Rostov State Medical University, e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru

**Elena V. Vinogradova** – Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy at Rostov State Medical University, e-mail: mod8792@mail.ru

**Elena S. Belousova** – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy at Rostov State Medical University, e-mail: belousovalena@mail.ru

Статья получена: 17.01.2019. Статья принята: 21.05.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.  
Received: 17.01.2019. Accepted: 21.05.2019. Published: 26.06.2019.