



Сравнительная оценка токсического действия лекарственных средств на интактных животных и в условиях моделирования патологических состояний

Т.Н. Саватеева-Любимова, К.В. Сивак

ФГБУ науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Контактная информация: drugs_safety@mail.ru, kv_sivak@toxicology.ru

Проведена сравнительная оценка миотоксичности ловастатина (как пример) в условиях его введения в рамках изучения безопасности на интактных крысах и в условиях экспериментальной гиперлипидемии. Были сформированы 6 экспериментальных групп животных, получавших внутривенно ловастатин 36 и 180 мг/кг/сут в течение 2 недель, гиперлипидемию индуцировали неиногенным детергентом. Установлены дозозависимые патологические изменения маркеров миотоксичности (увеличение активности креатинфосфокиназы в 1,6-2 раза, лактатдегидрогеназы – в 1,5-2 раза, миоглобина), качественно усиливающиеся в условиях испытания на модели гиперлипидемии. Выявленные закономерности обуславливают пересмотр параметров оценки безопасности данной группы лекарственных препаратов в связи с кумуляцией биологических и токсических эффектов.

Ключевые слова: статины, безопасность, миотоксичность.

В настоящий момент доклинические токсикологические исследования как воспроизведенных, так и новых лекарственных препаратов проводят в соответствии с методическими рекомендациями, на здоровых животных [1]. В то же время, известно, что на токсические свойства препарата могут оказывать существенное влияние и патологические процессы, для лечения которых он предназначен [2]. Нельзя оставить без внимания и тот факт, что по мере накопления клинического опыта применения тех или иных лекарственных средств, достаточно часто идет пересмотр их нежелательных лекарственных реакций, что далеко не всегда можно объяснить передозировкой или

длительностью применения. Одним из примеров такого пересмотра является снятый с рынка в 2011 г. препарат церивастатин, когда, несмотря на хорошую переносимость и доказанную в ходе фаз клинических испытаний безопасность статинов, она внезапно была подвержена сомнению после серии смертельных исходов вследствие рабдомиолиза и почечной недостаточности, вызванных церивастатином.

Целью настоящего исследования являлось сопоставление фармакодинамических и токсических свойств статинов (на примере ловастатина) на интактных животных и в условиях экспериментальной гиперлипидемии.

Материалы и методы

Формировали 6 экспериментальных групп: интактные крысы; крысы, получавшие ловастатин в дозах 36 и 180 мг/кг/сут внутривенно на протяжении 14 дней (дозы отобраны по результатам анализа современной литературы); крысы с гиперлипидемией (индуцированной неиногенным ПАВ тритоном WR-1339); крысы с гиперлипидемией, получавшие ловастатин в дозах 36 и 180 мг/кг/сут внутривенно на протяжении 14 дней. Каждая группа включала не менее 10 особей самцов нелинейных белых крыс.

По окончании введения ловастатина (ЛСТ) всех крыс подвергали эвтаназии под лёгким наркозом путем мгновенной декапитации с забором крови. В сыворотке крови, полученной при центрифугировании при 3000 об./мин в течение 15 мин, определяли маркеры специфического действия препарата (общий холестерин (ХЛН), триглицериды (ТГ), холестерин липопротеиды низкой плотности (Х-ЛПНП)), холестерин липопротеиды высокой плотности (Х-ЛПВП), а также побочного действия (рабдомиолиза): активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), общей креатинфосфокиназы (КФК), уровень миоглобина (Мг) и молочной кислоты (МК) с использованием унифицированных методов лабораторной диагностики и наборов фирмы «Ольвекс Диагностикум» (Россия), набора для иммуноферментного анализа уровня миоглобина фирмы «Kamiya Biomedical» (США). Результаты обрабатывали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни в программе Statistica 6.0, отличия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты представлены в табл. На этапе доклинических исследований наиболее доступными показателями функции мышечной системы являются биохимические показатели, т.к. в условиях общего клинического и биохимического анализа в забранных образцах крови возможно дополнительное специфическое исследование, подтверждающее риск развития миопатии или миотоксичность. Наряду с клиническими данными оценки мышечной силы, некоторых параметров электрокардиограммы, биохимические маркеры позволяют установить степень повреждения скелетной мускулатуры. Однако, в большинстве случаев, показано, что биохимические изменения активности миокардиального изофермента креатинкиназы, лактатдегидрогеназы и уровня миоглобина опережают во времени развитие функциональных нарушений, выявляемых при клиническом обследовании и выполнении физических нагрузок – в частности, при инфаркте миокарда и краш-синдроме. Объективность получаемых результатов лабораторных тестов позволяет как качественно, так и количественно оценить характер и степень повреждения мускулатуры. В противоположность этому, оценка мышечной силы является более вариabельным тестом, зависящим от индивидуального состояния пациента, его конституции, заложенных в генах, т.е. генетически детерминированных показателей. Выполнение функциональных тестов мышечной силы, к тому же, несет определенный риск в отношении усугубления состояния пациента в момент поступления, что имеет уже негативное этическое значение.

Показано, что ловастатин, наряду с дозозависимым влиянием на показатели липидного обмена, вызвал дозозависимое же увеличение активности креатинфосфокиназы (КФК) в 1,6-2 раза, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в 1,5-2 раза и уровня молочной кислоты (МК), а также появление в крови миоглобина (при введении в дозе 180 мг/кг), что является характерным для рабдомиолиза, наиболее показательно в условиях гиперлипидемии. Кроме этого, у 40% модельных животных, в отличие от интактных, из группы, получавшей ловастатин в максимальной дозе, развились качественно иные побочные эффекты, выразившиеся в острой

почечной недостаточности с олигурией и гиперозотемией (миоглобинурический нефрит).

При анализе результатов обращает на себя внимание и тот факт, что у животных с моделью гиперлипидемии наблюдалась выраженная тенденция к повышению активности тех же биомаркеров – КФК, ЛДГ и МК. Последнее может быть связано с рядом факторов. Так, например, гиперлипидемию часто сопровождает не менее опасная патология – миокардиодистрофия, развивающаяся на фоне нарушения жирового баланса в кардиомиоцитах, при которой происходит закупорка капилляров мелкого калибра в сердечной

Таблица

Некоторые показатели эффективности и токсичности ловастатина в опытах на интактных животных и в условиях гиперлипидемии

Исследуемые показатели (М±m)	Экспериментальные группы, доза, мг/кг		
	Контроль 1	Ловастатин, 36	Ловастатин, 180
Интактные животные			
ХЛН, моль/л	1,57±0,09	1,37±0,08*	1,08±0,02**
Х-ЛПВП, ммоль/л	1,25±0,04	1,09±0,11	0,75±0,13*
Х-ЛПНП, ммоль/л	0,35±0,02	0,44±0,06	0,29±0,04
ТГ, ммоль/л	0,39±0,10	0,26±0,08	0,31±0,09
ЛДГ, МЕ/л	601±41	577±92	1041±60**
МК, ммоль/л	3,07±0,12	3,06±0,11	4,33±0,25**
КФК, МЕ/л	345±55	441±53	754±102**
Мг, нг/мл	0	0	13,2±5,9**
В условиях экспериментальной гиперлипидемии			
	Контроль 2	Ловастатин, 36	Ловастатин, 180
ХЛН, моль/л	3,29±0,28**	2,54±0,21**^	1,81±0,12**^
Х-ЛПВП, ммоль/л	0,98±0,03	1,01±0,10	1,05±0,09*
Х-ЛПНП, ммоль/л	2,04±0,35**#	1,89±0,21**#	1,62±0,18**^#
ТГ, ммоль/л	2,13±0,08*	1,65±0,15**^#	1,27±0,19**^#
ЛДГ, МЕ/л	760±90	806±94	1409±115**^#
МК, ммоль/л	4,05±0,46	4,09±0,38	5,93±0,39**^#
КФК, МЕ/л	461±29	464±39	831±67**^#
Мг, нг/мл	0	0	37,2±8,8**
Качественные отличия	-	-	олигурия, гиперозотемия

Примечания: * – отличия значимы по сравнению с интактными (контроль 1) крысами при $p \leq 0,05$;

** – отличия значимы по сравнению с крысами, получавшими ловастатин в дозе 36 мг/кг при $p \leq 0,05$;

^ – отличия значимы по сравнению с крысами с гиперлипидемией (контроль 2) при $p \leq 0,05$;

– отличия значимы по сравнению с крысами, получавшими ловастатин в дозе 180 мг/кг в условиях интактных животных при $p \leq 0,05$.

мышце (увеличение активности КФК и ЛДГ), а также нарастание аммиака, усиливающего анаэробный гликолиз и блокирующего выход молочной кислоты, что лежит в основе метаболических нарушений в мышцах.

Выводы

Выявленные нами дозозависимые патологические изменения уровней биомаркеров миотоксичности при применении статинов (на примере ловастатина), качественно усиливающиеся в условиях гиперлипидемии, свидетельствуют о необходимости более тщательного обследования препаратов из данной группы в рамках изучения его безопасности в связи с кумуляцией биологических и токсических эффектов.

В связи с отсутствием клинических данных о контроле за нежелательными лекарственными реакциями на фоне лечения гиперлипидемии препаратами из класса гиполипидемических средств, угнетающих синтез холестерина в организме за счет ингибирования ферментов на уровне сквалана-холестерина, а также выявлением в доклинических исследованиях качественных и количественных изменений биохимических параметров миотоксичности (активности креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы, уровня миоглобина, миоглобину-

рия), необходимо наряду с оценкой эффективности (снижение атерогенности липидов крови, снижение уровней холестерина, триацилглицеридов, фракций липопротеидов), дополнительно в рамках специального дообследования включить тесты, характеризующие состояние мышечной и скелетной систем. По совокупности клинических (оценка физиологических параметров кардиомио- и миоцитов) и лабораторных (динамика изменения показателей по сравнению с фоновыми значениями у индивидуального пациента – активности ферментов креатинфосфокиназы, изоферментов лактатдегидрогеназы; уровень белков цитолиза, в том числе миоглобина в крови и моче) тестов оценивать безопасность лекарственных препаратов, назначаемых с целью снижения уровня липидов и атерогенности крови для профилактики риска развития патологии сердечно-сосудистой системы.

Список литературы

1. Березовская И.В., Гуськова Т.А., Дурнев А.Д. Методические рекомендации по изучению безопасности лекарственных препаратов // Биомедицина. 2011. № 3. С. 78-80.

2. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. Изд. второе дополненное. – М: МДВ. 2008. 196 с.

Comparative evaluation of toxic effects drugs in intact animals (preclinical trials) and in modeling of disease

T.N. Savateeva-Lyubimova, K.V. Sivak

In this report was carried out a comparative evaluation of lovastatin (example of miotoxic drug) under the conditions of its administration in the study of safety in intact rats and in conditions of experimental hyperlipidemia. Have been concluded 6 experimental groups of animals receiving 36 and 180 mg/kg b.w. lovastatin administration within 2 weeks. Hyperlipidemia was made by neonogenic detergent administration of triton WR-1339. It was established dose-dependent pathological changes of miotoxic markers (elevated activity of creatinekinase in 1.6-2 times, lactatdehydrogenase activity in 1.5-2 times, serum myoglobin concentration) is qualitatively worse in tests of hyperlipidemia model. Identified some changes that require a revision of the parameters of safety assessment of drugs in this group due to accumulation of biological and toxic effects.

Key words: statins, safety, miotoxicity.