

**Assessment of statin-induced myopathy in experimental  
animals: role of coenzyme Q 10**

**Thesis submitted to Faculty of Pharmacy  
Cairo University**

**In fulfillment for the degree of Ph.D.**

**In**

**Pharmaceutical Sciences  
(Pharmacology and Toxicology)**

**By**

**Samar Osama Elganainy**

M.Sc., Alexandria University, 2013

Teaching assistant, Pharmacology & Toxicology department,  
Faculty of Pharmacy, Pharos University.

**Under the supervision of**

**Prof. Dr. Aiman S. El-Khatib**

Professor of Pharmacology & Toxicology,  
Dean of Faculty of Pharmacy,  
Cairo University.

**Prof. Dr. Mahmoud M. Khattab**

Professor of Pharmacology & Toxicology,  
Faculty of Pharmacy,  
Cairo University.

**Prof. Dr. Ahmed I. ElMallah**

Professor of Pharmacology & Toxicology,  
Faculty of Pharmacy,  
Alexandria University,  
Vice dean of faculty of pharmacy,  
Pharos University.

**Prof. Dr. Mahmoud M. Mohy El-Din**

Professor of Pharmacology & Toxicology,  
Faculty of Pharmacy,  
Alexandria University,  
President of Pharos University.

**Faculty of Pharmacy  
Cairo University  
2016**

## الملخص العربي

تمثل عقاقير الستاتين حجر الأساس في علاج ارتفاع الكوليسترول في الدم و الأمراض القلبية المصاحبة له. تعمل هذه العقاقير من خلال تثبيط أنزيم الهيدروكسي ميثيل جلوتريل ريديكتاز و بذلك تمنع تصنيع الكوليسترول في خلايا الكبد. و برغم اختلاف الصفات الفيزيوكيميائية للستاتين، إلا أن لديهم جميعاً القدرة على تخفيض مستوى الكوليسترول منخفض الكثافة في الدم بفاعلية متباينة. و يعد عقار الاتورفستاتين و الرسيوفستاتين الأكثر تداولاً بين مرضى ارتفاع الكوليسترول و ذلك لانهما الأكثر فاعلية في تخفيض الكوليسترول منخفض الكثافة مقارنة بعقاقير الستاتين الأخرى.

تعتبر الأعراض المرتبطة بخلل العضلات و ارتفاع انزيمات الكبد من أكثر الأعراض الجانبية انتشاراً بين مستخدمي عقاقير الستاتين. وتشمل أعراض الاعتلال العضلي الآم العضلات و التهاب العضلات و قد تكون مصحوباً بارتفاع الكرياتين كيناز في الدم. و يعد اعتلال الربيدات المصحوب بارتفاع الميوجلوبين في الدم من أخطر امراض الاعتلال العضلي المرتبطة بالستاتين. و تقدر الاحصائيات الحديثة أن ٢٩% من المرضى الذين يتناولون الستاتين يعانون من أحد أعراض الاعتلال العضلي. و تزيد نسبة الإصابة بهذه الأعراض نتيجة تعارض الستاتين مع العقاقير الأخرى و خاصة الفيبيرات.

و لم تتوصل الدراسات بعد إلى آليات حدوث الاعتلال العضلي المصاحب للستاتين . و قد تم استنباط عدداً من الفرضيات لتفسير أعراض الخلل العضلي و هي تعتمد في الأساس على تثبيط إنتاج المغالونات و المركبات المعتمدة عليه كبروتينات الجيتيباز , الكوليسترول و اليوبيكينون. و يعد خلل الميتوكوندريا من النظريات العلمية الأكثر ترجيحاً لتفسير أعراض الاعتلال العضلي. و قد يرجع الخلل في وظائف الميتوكوندريا إلى نقص الأنزيم المساعد يوبيكينون ١٠. و مع ذلك فإن الدراسات لم تحسم بعد مدى الاستفادة من وصف الأنزيم المساعد يوبيكينون ١٠ للمرضى الذين يعانون من أعراض الاعتلال العضلي المصاحب للستاتين.

وتهدف هذه الدراسة إلى تقييم الاعتلال العضلي الناتج عن عقار الاتورفستاتين في الجرذان البيضاء و الوقوف على الأسباب المؤدية لهذا الخلل عن طريق فحص وظائف الميتوكوندريا. كما تم تقييم الدور الوقائي للأنزيم المساعد يوبيكينون ١٠ على خلل العضلات المصاحب للاتورفستاتين. و قد قامت الدراسة أيضاً بمقارنة الاعتلال العضلي لعقار الاتورفستاتين و عقار الرسيوفستاتين. كما تم تقييم تأثير دمج عقارى الاتورفستاتين و الجمفيبروزيل على شدة الاعتلال العضلي في الجرذان.

و لتحقيق هذه الاهداف فقد تم حقن الجرذان البيضاء بالعلاجات الآتية:

المجموعة الأولى: تم حقن الجرذان بالكربوكسى ميثيل سليولوز ( المادة المذاب بها الدواء) بتركيز ٠.٥%.

المجموعة الثانية: تم حقن الأنزيم المساعد يوبيكينون ١٠ (١٠٠ مجم/كجم).

المجموعة الثالثة: تم حقن عقار الاتورفستاتين بجرعة ١٠٠ مجم/كجم.

المجموعة الرابعة: تم حقن كل من الاتورفستاتين (١٠٠ مجم/كجم) و الأنزيم المساعد يوبيكينون ١٠ (١٠٠ مجم/كجم).

المجموعة الخامسة: تم حقن عقار الرسيوفستاتين بجرعة ٨٠ مجم/كجم كجرعة مكافئة لجرعة الاتورفستاتين (١٠٠ مجم/كجم).

المجموعة السادسة: تم حقن الجرذان بعقار الجمفيبروزيل بجرعة ١٠٠مجم/كجم.

المجموعة السابعة: تم حقن كل من الاتورفستاتين (١٠٠ مجم/كجم) و الجمفيبروزيل (١٠٠مجم/كجم).

المجموعة الثامنة: تم حقن كل من الاتورفستاتين (١٠٠ مجم/كجم) , الجمفيبروزيل (١٠٠مجم/كجم) و الأنزيم المساعد يوبيكينون ١٠ (١٠٠ مجم/كجم).

و قد تم حقن جميع العقاقير عن طريق الفم مرة واحدة يومياً لمدة ٢١ يوماً.

و قد تم تقييم الاعتلال العضلي عن طريق تعيين وزن الجردان , وزن العضلات الهيكلية و نسبة البروتين بها بالإضافة إلى قياس مستوى الكرياتين كيناز و الميوجلوبين في الدم. كما تم قياس مستوى أنزيم اللكتات ديهيدروجينيز في عضلات الجردان كدلالة على تلف الخلايا . اما النشاط العضلي للجردان فقد تم تقييمه عن طريق اختبارى العمود الدوار (الروتارود) و قوة القبضة (الجريب سترنس). و قد تم عمل فحص باثولوجى لتحديد مستوى النخر بالعضلات.

تم تقييم وظائف الميتوكوندريا عن طريق قياس نسبة اللكتات للبيروفيت في العضلات و كذلك المحتوى العضلي للادينوسين ثلاثى فوسفات و البى-أكت. كما تم فحص التركيب الدقيق للميتوكوندريا باستخدام الميكروسكوب الالىكترونى. بالإضافة إلى ذلك فقد تم دراسة تأثير عقار الاتورفستاتين على الحجاب الحاجز للجردان تحت الظروف المعملية. و قد تم تعريض الحجاب الحاجز للجردان المعالجة بالاتورفستاتين إلى نقص الاكسجين ثم أعادته. كذلك تم فحص تأثير إضافة عقار الدتايوبوكيرارين على الحجاب الحاجز للجردان المعالجة تحت الظروف المعملية.

نتج من معالجة الجردان بعقار الاتورفستاتين نقص في وزن الجسم و في وزن العضلات الهيكلية و كذلك مستوى البروتين بها. كما ارتفع مستوى الكرياتين كيناز و الميوجلوبين في الدم. و أظهر أنزيم اللكتات ديهيدروجينيز ارتفاعاً يقدر بخمسة أضعاف قيمته في عضلات الجردان المعالجة بالاتورفستاتين . كذلك لوحظ وجود نخر في بعض العضلات و خاصة تلك التى تحتوى على الياف من نوع IIB. و قد تم ملاحظة ضعف الاداء العضلي للجردان المعالجة بالاتورفستاتين في اختبارى العمود الدوار (الروتارود) و قوة القبضة (الجريب سترنس).

و من الجدير بالذكر أن النشاط العضلي للحجاب الحاجز في الجردان المعالجة بعقار الاتورفستاتين كان مشابهاً للنشاط العضلي للفئران الغير معالجه. لكن مع قطع امداد الاكسجين, لوحظ انخفاض النشاط العضلي للحجاب الحاجز للفئران المعالجة بالاتورفستاتين تحت تأثير تردد كهربائى عالى لتحفيز الانقباض . ومع اعادة امداد الاكسجين فان الحجاب الحاجز للفئران المعالجة و الغير معالجة أظهر قدرة متساوية على استعادة القدرة على الانقباض. بالإضافة الى ذلك فان عقار الاتورفستاتين لم يعزز من تأثير عقار الدتايوبوكيرارين على عضلة الحجاب الحاجز.

أظهرت النتائج خللاً في دلالات وظائف الميتوكوندريا بعد العلاج بالاتورفستاتين. فقد انخفض مستوى الادينوسين ثلاثى فوسفات (٨٣%) و مستوى البى-أكت (٦٧%) كما ارتفعت نسبة اللكتات للبيروفيت مرتان و نصف قيمتها في الجردان الغير معالجة. و قد أوضح الفحص بالميكروسكوب الالىكترونى وجود خلل في التركيب الدقيق للميتوكوندريا في العضلات الهيكلية للجردان المعالجة بالاتورفستاتين.

أدى العلاج بالانزيم المساعد يوبيكينون ١٠ إلى تحسين مؤشرات الاعتلال العضلي في الجردان كاتخفاض الوزن , نقص البروتين و ارتفاع الكرياتين كيناز و الميوجلوبين في الدم. كما ادى العلاج بالانزيم المساعد يوبيكينون ١٠ الى انخفاض كل من انزيم اللكتات ديهيدروجينيز و معدل النخر في العضلات. كما أظهرت الجردان المعالجة بالانزيم المساعد يوبيكينون ١٠ و الاتورفستاتين تحسناً في الأداء في اختبارات قياس النشاط العضلي مقارنة بالجردان المعالجة بالاتورفستاتين فقط . كما أظهرت معاملات قياس خلل الميتوكوندريا تحسناً ملحوظاً مع العلاج , فقد ارتفع المحتوى العضلي للادينوسين ثلاثى فوسفات و كذلك مستوى البى-أكت . بالإضافة إلى ذلك فقد ادى العلاج بالانزيم المساعد يوبيكينون ١٠ إلى تحسين النشاط العضلي للحجاب الحاجز في ظروف نقص الاكسجين.

وتظهر نتائج الجزء الثانى من البحث أن أعراض الاعتلال العضلي كانت أقل حدة في الفئران المعالجة بالرسيفوستاتين مقارنة بتلك المعالجة بالاتورفستاتين. كما أظهر عقار الرسيفوستاتين تأثيراً ضعيفاً على دلالات خلل وظائف الميتوكوندريا. و قد يرجع هذا التباين في تأثير العقارين إلى اختلاف قدرتهما على الذوبان في الدهون و هى الصفة المتحكمة في تراكم العقارين في العضلات الهيكلية للجردان.

أما عن دراسة التعارض بين الفيبرات و الستاتين. فقد نتج عن الدمج بين عقارى الاتورفستاتين و الجمفيبروزيل نتائج مختلفة عن تلك التى حصلت عليها التجارب السريرية السابقة. فقد أظهرت النتائج انخفاض فى مؤشرات الاعتلال العضلى للجرذان و كذلك فى دلالات قياس خلل وظائف الميتوكوندريا مقارنة بالعلاج بكل عقار على حده. و يمكن ارجاع هذه النتائج المتباينة إلى اختلاف مسارات الايض بين الجرذان و البشر.

نتخلص من ذلك أن هذه الدراسة قد قدمت نموذج للاعتلال العضلى المصاحب لعقار الاتورفستاتين فى الجرذان موضحاً بعدة مؤشرات لوجود خلل فى العضلات الهيكلية. و قد أوضحت الدراسة أن آلية حدوث الاعتلال العضلى للستاتين يكمن فى إحداث خلل فى وظائف الميتوكوندريا. و قد يرجع ذلك إلى نقص الانزيم المساعد يوبيكينون ١٠. و يمكن تأكيد هذا التفسير بناءً على الدور الوقائى للانزيم المساعد يوبيكينون ١٠ و تأثيره على مؤشرات الاعتلال العضلى و تحسين وظائف الميتوكوندريا. كما تبين أيضاً أن الاتورفستاتين قد يؤثر على العضلات المسؤولة عن التنفس و خاصة مع نقص الاكسجين. و من الملاحظ أن الانزيم المساعد يوبيكينون ١٠ قد اظهر حماية للحجاب الحاجز من تأثير عقار الاتورفستاتين. و تشير هذه النتائج إلى الخطورة المحتملة لوصف الستاتين لمرضى الجهاز التنفسى كمرضى الربو وداء الانسداد الرئوى المزمن. و توصى الدراسة بمزيد من الابحاث السريرية فى هذا المجال لتحديد مدى خطورة الستاتين من عدمها.

بالإضافة إلى ذلك، فقد أوضحت النتائج التأثير الضعيف للرسيفوستاتين على عضلات الجرذان مما يفسر قدرة المرضى على تحمل الاعراض العضلية لهذا العقار مقارنة بباقي عقاقير الستاتين. يمكن تفسير ذلك بخاصية الذوبان فى الماء التى يتميز بها الرسيفوستاتين مقارنة بخاصية الذوبان فى الدهون الخاصة بالاتورفستاتين و التى تسمح له بالوصول إلى العضلات بنسب أعلى من الرسيفوستاتين. و توصى الدراسة بمزيد من الابحاث المفصلة للوقوف على مزيداً من الاسباب للتأثير المتباين للعقارين.

وعلى عكس الاختبارات السريرية، فقد نتج عن دمج عقارى الاتورفستاتين و الجمفيبروزيل أعراض أقل على العضلات مقارنة بالعلاج بكل عقار على حده. و يمكن ارجاع ذلك إلى احتمالية أن الجمفيبروزيل قد يقلل من تراكم الاتورفستاتين بعضلات الجرذان. و على ذلك، يلزم مزيداً من الابحاث لتفسير الاختلاف بين نتائج الابحاث المعملية و الابحاث السريرية.