

# Atorvastatinin Sıçan İskelet Kasında Oluşturduğu Yapısal Değişikliklerin Elektron Mikroskobu ile Değerlendirilmesi

## Evaluation of the Atorvastatin-Induced Structural Changes in Skeletal Muscles of Rats by Electron Microscope

Dr. M. Serhan TAŞDEMİR,<sup>a</sup>  
Dr. Murat AKKUŞ,<sup>a</sup>  
Dr. Yusuf NERGİZ,<sup>a</sup>  
Dr. Selçuk TUNİK,<sup>a</sup>  
Dr. İskender KAPLANOĞLU<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD,  
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
DİYARBAKIR

Geliş Tarihi/Received: 03.07.2008  
Kabul Tarihi/Accepted: 12.10.2008

*Bu çalışma DÜBAP tarafından destek-  
lenmiştir. Proje no: (06-TF-059).*

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Dr. M. Serhan TAŞDEMİR  
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Histoloji ve Embriyoloji AD,  
DİYARBAKIR  
ser.tasdemir@hotmail.com

**ÖZET Amaç:** Çalışmamızda, bir statin türevi olan atorvastatinin sıçan iskelet kasında oluşturduğu yapısal değişikliklerin transmisyon elektron mikroskobu (TEM) düzeyinde incelenmesi ve değerlendirilmesi amaçlandı. **Gereç ve Yöntemler:** Kırk adet erişkin erkek Wistar albino rat; biri kontrol ve dokuz deneysel grubu olmak üzere 10 eşit gruba bölündü. Deneysel grubun başlangıcından sonra 5., 10. ve 15. günlerde sakrifiye edilen ratların kuadriseps femoris kasları elektron mikroskobunda incelendi. **Bulgular:** Kontrol grubundan elde edilen kasların histopatolojik incelemelerinde herhangi bir yapısal değişikliğe rastlanmazken, diğer dokuz deneysel grubundan elde edilen kas örneklerinde değişen derecelerde histopatolojik bulgular elde edildi. Ultrastrüktürel düzeyde; miyoflaman ve miyofibril kaybı, mitokondrionlarda kristalizis, sayıca ve hacimce artış, nükleus etrafında ya da miyoflaman kaybının olduğu bölgelerde kümelenmiş durumdaydılar. Özellikle Z bandındaki deformasyon ve silinme bariz bulgularandı. Bu bulguların derecesi, atorvastatinin verilme dozu ve verilme zamanı arttıkça buna paralel olarak artış gösterdi. **Sonuç:** Atorvastatinin etkisinin iskelet kası üzerinde düşük dozdan başlayarak yüksek doza doğru, histopatolojik etkinin doğru orantılı olarak arttığı, özellikle ultrastrüktürel düzeyde miyoflaman kaybının Z bandına doğru olduğu, kas dejenerasyonunun en belirgin özelliklerinden biri olarak tespit edilmiştir. Mitokondrial değişikliklerin özellikle anormal şekiller kazanarak kristalize uğraması ve vakuoler görünüm kazanması, bununla birlikte lameller cisimciklere rastlanması, mitokondrial hasarın atorvastatin etkisine bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Bunun yanında, bozulan oksidatif enerji metabolizmasını düzeltmek amacıyla mitokondrionların boylarının uzadığı, füzyona uğradıkları ve sayıca çoğaldıkları tespit edilmiştir. Atorvastatinin iskelet kaslarında göstermiş olduğu toksik etkiden dolayı, klinikte doz ve zaman baz alınarak, hasta tedavilerinde daha dikkatli olunması gerektiği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Atorvastatin; histopatoloji; ultrastrüktürel

**ABSTRACT Objective:** In this study, toxic effects of atorvastatin was investigated on skeletal muscle cell of rats using transmission electron microscopy (TEM). **Material and Method:** Forty adult male Wistar albino rat used in this study. Rats divided into 10 groups as one control and nine experimentals. All rats were sacrificed after 5., 10., and 15. day of intervals. In this study quadriceps femoris muscle was examined using with electron microscopy. **Results:** In control group no histopathologic changes were determined in muscle tissue samples. However, experimental groups displayed various histopathological changes. These changes were increased due to dose and duration of atorvastatin used in this study. Electron microscopic findings; Destruction of myoflamans and myofibrils, cristalizis, increased of volumes and numbers of mitochondria were seen in atorvastatin treated groups, especially 0.5 mg/kg and 1 mg/kg dose. Mitochondria accumulated in perinuclear zone and between the destructive muscle fibers. One of the major finding was the destruction of the Z bands. **Conclusion:** Our results showed that, toxic effect of atorvastatin was increased at high dose and after long term treatment. Myofibrils destruction or necrosis were seen especially at the Z band areas. In atorvastatin treatment group the most striking finding was increased of mitochondrial size, cristalizis and abnormal shaped vacuoles. Lameller bodies were also seen in the same group muscle cells. Mitochondria goes on fusion to straighten up the oxidative energy metabolism. Our findings suggest that, special care should be taken about the dose and duration of atorvastatin when used in medical treatment.

**Key Words:** Atorvastatin; histopathology; ultrastructure

3-hydroxy-3-methylglutharyl-coenzyme A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörleri (statinler), kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkları önlemede yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Miyopatinin gelişmesi, tahminen statin monoterapisi sonucu %0.1 veya %0.5 oranında değişmekteyken, rabdomyoliz gelişme insidansı da her yıl hastanede tedavi altına alınan 10 bin hastadan 0.44'ünde atorvastatin, simvastatin ve pravastatin kullanımına bağlı gelişebilmektedir.<sup>1,2</sup> Bazı araştırmacılar, bu olayın hastanın vücut ölçüleri, yaşı, cinsiyeti, renal ve hepatik fonksiyonları, hipotiroidizm ve diyabet ile ilişkili olduğunu gözlemişlerdir.<sup>3,4</sup> Statine bağlı miyotoksisitenin biyokimyasal indikatörü de kreatin kinaz seviyesinin artmasıdır. Buna rağmen, statine bağlı miyotoksisite normal kreatin kinaz düzeylerinde de gösterilmiştir.<sup>5,6</sup> Statinler hücre bazda kolesterol sentezini inhibe etmekte, endotel fonksiyonlarını düzenlemekte ve plak oluşumunu engellemektedir.<sup>7,8</sup> Ancak, insan vücudunda kolesterol sentezini baskılayan statin türevlerinin iskelet kasında ve karaciğer hücrelerinde olumsuz etkilerinin olduğu ortaya çıkmıştır. Karaciğer kökenli serum transaminaz seviyelerinin yükselmesi hastaların %1'inde, miyotoksisite ise %0.1'inde görülmektedir.<sup>9</sup> Miyopatilerin insidansı düşük olabilir, fakat statin kullanımı arttıkça bu belirtilerin veya hastalıkların artacağından kaygı duyulmaktadır. Ağustos 2001 tarihinde bir hastanın statin türevi olan serivastatin kullanımına bağlı olarak rabdomyoliz gelişmesi sonucu öldüğü bildirilmiştir.<sup>9</sup> Çalışmamızda, bir statin türevi olan atorvastatinin doza ve kullanım süresine bağlı iskelet kasında oluşuracağı olası yapısal değişikliklerin ultrastrüktürel olarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra başlandı ve çalışmanın başından sonuna kadar Hayvan Hakları Bildirgesi'ne bağlı kalındı. Bu çalışmada, ağırlıkları 230-250 gr. arasında değişen altı haftalık 40 adet erişkin erkek Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Hayvanlar her bir grupta dört adet olacak şekilde bir kontrol ve dokuz deney grubuna ayrıldı (Tablo 1). Deney süresince hayvanlar standart rat yemi ve musluk suyu ile  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda paslanmaz çelik kafeslerde beslendi.

**TABLO 1: Çalışma grupları.**

Gruplar	Doz	Süre
Kontrol	%0.5 lik metil selüloz	5., 10., 15. gün
D1	0.1 mg/kg atorvastatin	5 gün
D2	0.1 mg/kg atorvastatin	10 gün
D3	0.1 mg/kg atorvastatin	15 gün
D4	0.5 mg/kg atorvastatin	5 gün
D5	0.5 mg/kg atorvastatin	10 gün
D6	0.5 mg/kg atorvastatin	15 gün
D7	1 mg/kg atorvastatin	5 gün
D8	1 mg/kg atorvastatin	10 gün
D9	1 mg/kg atorvastatin	15 gün

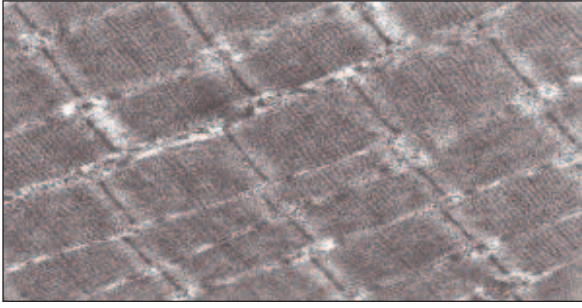
Atorvastatin %0.5'lik metilselüloz içinde çözüldü ve dozajlar her bir ratın vücut ağırlığının kg başına 5 ml olacak şekilde ayarlanarak oral yoldan verildi. Atorvastatin uygulamaları bittikten 24 saat sonra sıçanlar hafif eter anestezisi ile uyutuldu, arka bacağı ön yüzü femur hizasında traş edildi, asepsi ve antisepsisi yapıldı. Daha sonra kuadriseps femoris kasları ultrastrüktürel inceleme için %2.5'lik fosfat tamponlu gluteraldehit içinde tespit edildi. Yirmi dört saat sonra fosfat tamponlu solüsyonda yıkandıktan sonra %1'lik osmium tetroksit içine alındı ve tampon solüsyonu içinde yıkandıktan sonra osmiumu uzaklaştırmak için %30, %50 ve %75 dereceli alkollerden 15'er dakikalık süreyle geçirildi. %70'lik alkolde 24 saat bekletildi. Dokular araldit ve propilenoksit (1,1) karışımında bir gece süreyle bekletildi.

Blok yapmak için yeniden taze hazırlanmış araldit karışımında oda ısısında iki saat süreyle bekletildikten sonra kas dokuları bloklandı. Daha sonra ultramikrotom ile yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı. Işık mikroskopunda bakılarak değerlendirme yapıldı. İnce kesitler alınarak bakır gridlere alındı. Kurşun asetat ve uranil sitrat ile kontrast boyanıp transmission elektron mikroskopunda (zeiss-em-900, TEM) kas dokusu değerlendirildi.

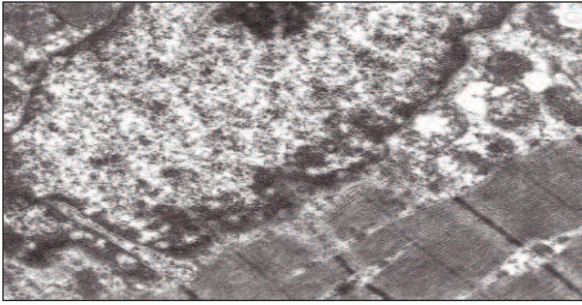
## BULGULAR

### KONTROL GRUBU

Kontrol gruplarından elde edilen kuadriseps femoris kas kesitlerinin incelenmesinde normal histolojik yapılar izlendi (Resim 1, 2).



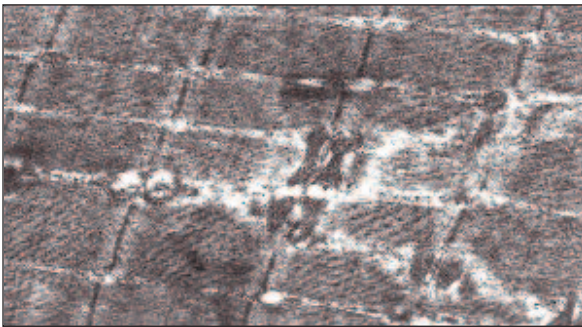
**RESİM 1:** Kontrol grubunun kas kesitlerinin ultrastrüktürel görünümünde bantlaşmanın normal olduğu, miyofibrillerde herhangi bir değişikliğin olmadığı normal yapıda olduğu belirlendi (kurşun asetat uranil sitrat X 12.000).



**RESİM 2:** Kontrol grubunun kas kesitlerinde ultrastrüktürel görünümünde mitokondrionların ve nükleusun normal yapıda olduğu belirlendi (kurşun asetat uranil sitrat X 12.000).

### D1 Grubunun TEM Bulguları

Beş gün boyunca 0.1 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; sitoplazmada yer alan mitokondrionların bazıları normal görünümdeyken, bazı mitokondrionlarda kristalizis, Z bandında yer yer dejenerasyon ve mitokondrion göçü yaşanırken, mitokondrionlar uzamış görünümdeydi, miyoflaman kaybı gözlemlendi (Resim 3).



**RESİM 3:** Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.

### D2 Grubunun TEM Bulguları

On gün boyunca 0.1 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; nükleus etrafında yer alan mitokondrilerde sayıca artış gözlemlendi (Resim 4). Bazı alanlardaki mitokondrilerde kristalizis şekillenirken, lameller cisimciklere rastlandı (Resim 5).

### D3 Grubunun TEM Bulguları

0.1 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; nükleus etrafında kümelenmiş mitokondrionlar bulunurken, bunların bazılarında kristalizis, Z bandında bozulmalar tespit edildi (Resim 6).

### D4 Grubunun TEM Bulguları

Beş gün boyunca 0.5 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus lokalizasyonu sarkoplazmanın altında yerleşik, sitoplazmada mitokondrion sayısında artış, Z bandında bozulmalar gözlemlendi (Resim 7).

### D5 Grubunun TEM Bulguları

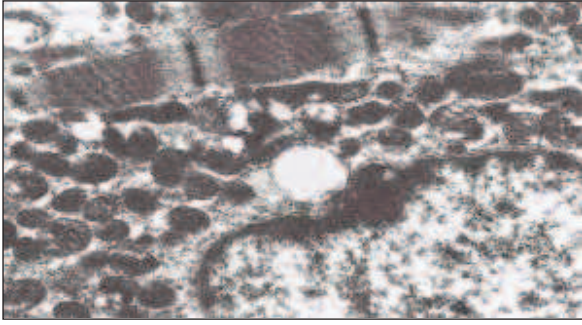
On gün boyunca 0.5 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus etrafındaki mitokondrionlarda şişme ve yer yer kristalizis tespit edildi (Resim 8).

### D6 Grubunun TEM Bulguları

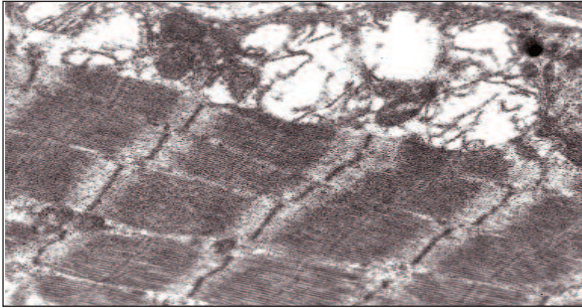
On beş gün boyunca 0.5 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus kromatin dağılımında düzensizlik, perinükleer alanlarda yer yer ödem tespit edildi (Resim 9).

### D7 Grubunun TEM Bulguları

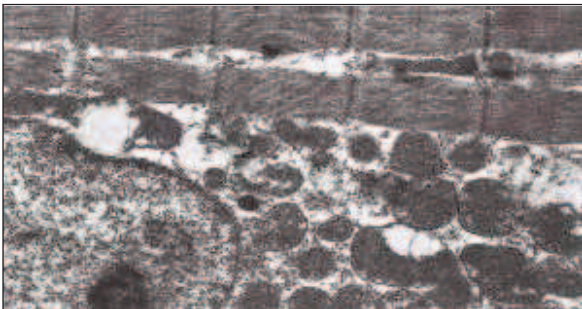
Beş gün boyunca 1mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; nükleus çevresine dağılmış kromatin içeriği sentrale doğru dağılıma, sitoplazmada bazı mitokondrionlar normal görünürken bazılarında dejenerasyon gözlemlendi, sitoplazmada vakuoler yapılar izlendi (Resim 10).



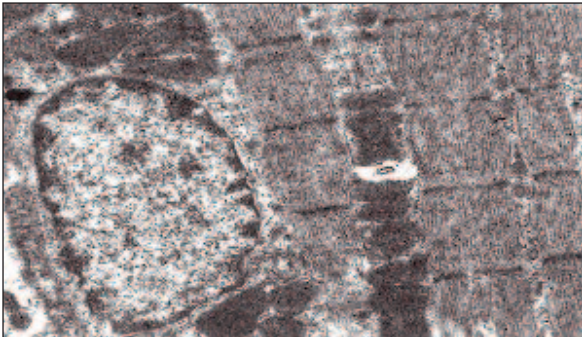
RESİM 4: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.



RESİM 5: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.



RESİM 6: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.



RESİM 7: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.

### D8 Grubunun TEM Bulguları

10 gün boyunca 1 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; nükleusta kromatin artışı, çevre sitoplazmadaki mitokondrionlarda şişme ve kristalizis gözlemlendi. Miyofibriller arasında miyoid figürler içeren vakuoller belirgindi (Resim 11).

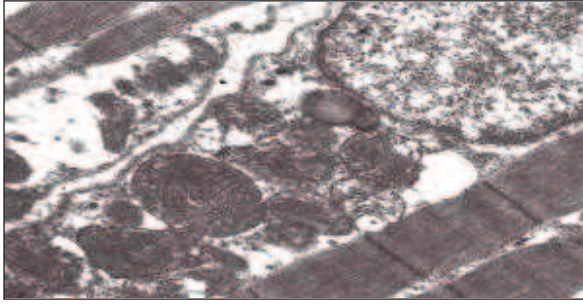
### D9 Grubunun TEM Bulguları

1 mg/kg atorvastatin verilen ratların kuadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; vakuol tarzındaki mitokondrionlarda aşırı genişleme (Resim 12), kristalizis ve ayrıca lameller cisimcikler gözlemlendi (Resim 13).

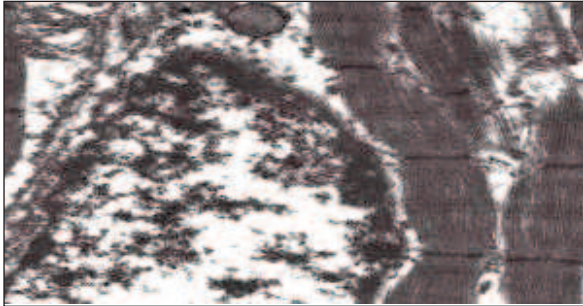
## TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsanlarda ve bazı deney hayvanlarında statin kullanımına bağlı olarak gelişen kas miyopatisi ile ilgili histopatolojik değişiklikler pek çok araştırmacı tarafından tanımlanmıştır.<sup>10-13</sup> Sıçanlarda statinlerle ilgili yapılan çalışmalarda genel anlamda iskelet kaslarında inflamasyon ve nekroz önemli sayılan bulgular içinde yer almıştır.<sup>13-15</sup>

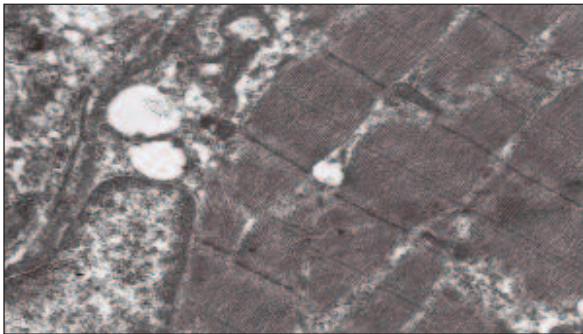
William<sup>16</sup> ve ark. 10 ve 15 günlük yüksek dozda sıçanlara uyguladıkları serivastatinin etkisine bağlı olarak kuadriseps kasında ultrastrüktürel düzeyde 10. günde etki gözlemezken, 15. günde sarkomerlerde organizasyon bozukluğu, miyofibrillerde dejeneratif değişiklikler, mitokondrionlarda yassılaşma ve mitokondrial kristalizis saptamışlardır. William ve ark.nın 10 ve 15 günlük yüksek dozda sıçanlara uyguladıkları serivastatinin etkisine bağlı olarak kuadriseps femoris kasında ultrastrüktürel düzeyde 10. günde etki gözlemezken, çalışmamızda 10 gün boyunca atorvastatin verdiğimiz ratların kuadriseps femoris kaslarının ultrastrüktürel yapısında mitokondrionlarda artış ve mitokondrial kristalizis tespit edildi. Bu bulgularımız William ve ark.nın gösterdikleri bulgularla bizim bulgularımız paralellik göstermemektedir. Ancak William ve ark.nın 15 gün süre ile serivastatin uygulanan ratların ultrastrüktürel bulguları ile bulgularımız büyük oranda paralellik gösterirken; mitokondrionlarda vakuoller



RESİM 8: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.



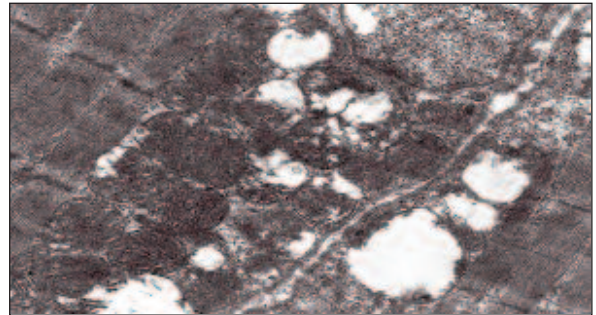
RESİM 9: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.



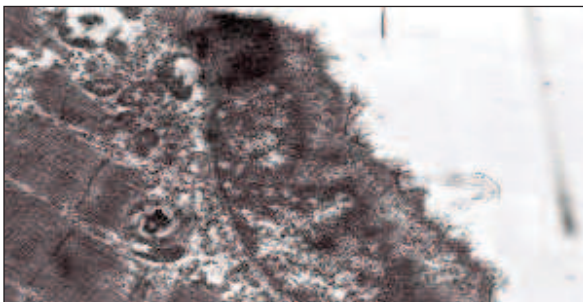
RESİM 10: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.

görünüm ve yer yer lameller cisimciklerin varlığı, kas liflerinde miyoflaman kaybı, William ve ark.nın yapmış olduğu çalışmalarda ortaya koymadıkları bulgular olarak saptandı.

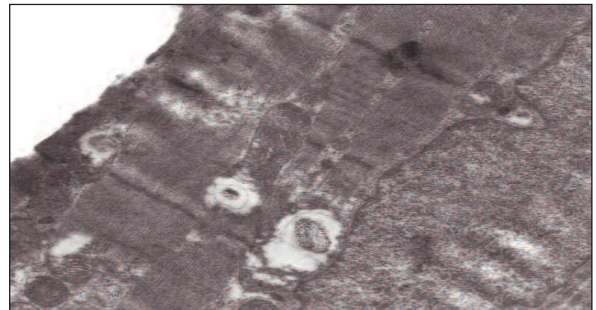
Waclawic<sup>17</sup> ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada 10 gün süre ile bir statin türevi olan lovastatin uyguladıkları ratlarda gastroknemius kasında lovastatinin etkisi, bizim çalışmamızdaki 10 gün süre ile atorvastatinin hem ilaç dozu uygulaması, hem de süre bakımından değerlendirildiğinde, ultrastrüktürel bulguları ile lovastatinin etkisini atorvastatin desteklemektedir. Waclawic ve ark.nın yaptığı ultrastrüktürel çalışmalarında ise gastroknemius kasında sarkoplazmik retikulum ve mitokondrilerde ultrastrüktürel düzeyde değişikliklere rastlamışlardır. Ortaya koydukları bu bulgular bizim bulgularımızla büyük oranda paralellik göstermesine rağmen, ultrastrüktürel düzeyde kas liflerinde görülen dejenerasyon, bizim çalışmamızda ekstra bulgu olarak saptandı. Ayrıca, Waclawic ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada lovastatin uygulamasında 10.-12. günlerde gastroknemius ve soleus kaslarında



RESİM 12: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.



RESİM 11: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.



RESİM 13: Kurşun asetat uranil sitrat X 12.000.

ultrastrüktürel etkide anormal şekilli mitokondriler, sarkoplazmik retikülümde dilatasyon, mitokondrilerde lameller cisimciklerin olduğu gözlenmiştir. Waclawic ve ark.nın yapmış olduğu çalışmalarda, 10. ve 12. günlerde gastroknemius ve soleus kaslarında ultrastrüktürel etkide ortaya koymuş oldukları bulgularla, bizim bulgularımız büyük oranda paralellik göstermektedir.

Jennifer ve ark.nın 14 gün süre ile 0.5 mg/kg oral gavaj yoluyla serivastatin uyguladıkları dişi ratlarda soleus ve kuadriseps femoris kaslarında ultrastrüktürel etkide mitokondrionlarda kristalizis ve şekilsel deformasyonlar tespit etmişlerdir.<sup>18</sup> Doz ve zaman olarak bizim bulgularımız da buna paralellik göstermektedir. Bizim çalışmamızdaki farklılık, kas fibrillerinde dejenerasyon tespit etmiş olmamızdır.<sup>18</sup> Jennifer ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada ise kas fibrillerinde dejenerasyon tespit edilmemiştir. Jennifer ve ark.nın aynı çalışmada, 14 gün süre ile 1 mg/kg oral gavaj yoluyla serivastatin uyguladıkları dişi ratların soleus ve kuadriseps femoris kaslarında ultrastrüktürel etkide mitokondrionlarda kristalizis, vakuoler görünüm ve sayıca artış tespit etmişlerdir. Biz de kendi çalışmamızda aynı bulguları tespit ettik. Bundan farklı olarak, kristalizise uğramış mitokondrionlarda lameller cisimcikler gözlemledik. Jennifer ve ark.nın kendi çalışmalarında tespit ettikleri kas fibrillerindeki miyofibril ve miyofibril kaybı bizim bulgularımızla

paralellik göstermektedir. Jennifer ve ark.nın çalışmalarında kullandıkları ratlar dişi, bizim çalışmamızda kullandığımız ratlar ise erkektir. Dişi ratların, erkek ratlara oranla statin türevlerinin miyotoksik etkilerine daha duyarlı oldukları bilinmektedir.

#### SONUÇ OLARAK:

a. Atorvastatin etkisinin iskelet kası üzerinde düşük dozdan başlayarak yüksek doza doğru, histopatolojik değişikliklerin doğru orantılı olarak artması,

b. Özellikle ultrastrüktürel düzeyde miyofibril kaybının Z bandına doğru olduğu, kas dejenerasyonunun en belirgin özelliklerinden biri olması,

c. Mitokondrial değişikliklerin, özellikle anormal şekiller kazanarak kristalizise uğraması, vakuoler görünüm kazanması ile birlikte lameller cisimciklere rastlanması,

d. Ayrıca bozulan enerji metabolizmasını kompanse etmek amaçlı; mitokondrilerin boylarının uzadığı, füzyona uğradıkları ve sayıca çoğaldıkları, ve

e. Atorvastatinin iskelet kaslarında göstermiş olduğu toksik etkiden dolayı, klinikte doz ve zaman baz alınarak, hasta tedavilerinde daha dikkatli olunması gerektiği kanaatine varıldı.

#### KAYNAKLAR

- Graham DJ, Staffa JA, Shatin D, Andrade SE, Schech SD, La Grenade L, et al. Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. *JAMA*. 2004;292:2585-90.
- Shek A, Ferrill MJ. Statin-fibrate combination therapy. *Ann Pharmacother*. 2001;35:908-17.
- Omar MA, Wilson JP. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *Ann Pharmacother*. 2002;36:288-95.
- Thompson PD, Clarkson P, Karas RH. Statin-associated myopathy. *JAMA*. 2003;289:1681-90.
- Nishimoto T, Tozawa R, Amano Y, Wada T, Imura Y, Sugiyama Y. Comparing myotoxic effects of squalene synthase inhibitor, T-91485, and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors in human myocytes. *Biochem Pharmacol*. 2003;66:2133-9.
- Bennett WE, Drake AJ 3rd, Shakir KM. Reversible myopathy after statin therapy in patients with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med*. 2003;138:436-7.
- Phillips PS, Haas RH, Bannykh S, Hatha-way S, Gray NL, Kimura BJ, et al. Statin-associated myopathy with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med* 2002;137:581-5.
- Kearney AS, Crawford LF, Mehta SC, Radebaugh GW. The interconversion kinetics, equilibrium and solubilities of the lactone and hydroxyacid forms of the HMG-CoA reductase inhibitor, CI-981. *Pharm Res*. 1993;10:1461-5.
- Hebert PR, Gaziano JM, Chan KS, Hennekens CH. Cholesterol lowering with statin drugs, risk of stroke, and total mortality. An overview of randomized trials. *JAMA*. 1997;278:313-21.
- Baker SK, Tarnopolsky MA. Statin myopathies: pathophysiologic and clinical perspectives. *Clin Invest Med*. 2001;24:258-72.
- Rousseau G, Desrosiers C, Varin F. A comparison of the effects of lovastatin and pravastatin on ubiquinone tissue levels in rats. *Curr. Ther. Res.* 1998; 59, 666-79.
- Theilin A, Schedin S, Dallner G. Half-life of ubiquinone-9 in rat tissues. *FEBS Lett*. 1992; 313:118-20.

13. von Keutz E, Schlüter G. Preclinical safety evaluation of cerivastatin, a novel HMG-CoA reductase inhibitor. *Am J Cardiol.* 1998;82: 11J-17J.
14. Manfredi G, Spinazzola A, Checcarelli N, Naini A. Assay of mitochondrial ATP synthesis in animal cells. *Methods Cell Biol.* 2001;65:133-45.
15. Smith PF, Eydeloth RS, Grossman SJ, Stubbs RJ, Schwartz MS, Germershausen JI, et al. HMG-CoA reductase inhibitor-induced myopathy in the rat: cyclosporine A interaction and mechanism studies. *J Pharmacol Exp Ther.* 1991;257: 1225-35.
16. Schaefer WH, Lawrence JW, Loughlin AF, Stofregen DA, Mixson LA, Dean DC, et al. Evaluation of ubiquinone concentration and mitochondrial function relative to cerivastatin-induced skeletal myopathy in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004;194:10-23.
17. Waclawik AJ, Lindal S, Engel AG. Experimental lovastatin myopathy. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1993;52:542-9.
18. Seachrist JL, Loi CM, Evans MG, Criswell KA, Rothwell CE. Roles of exercise and pharmacokinetics in cerivastatin-induced skeletal muscle toxicity. *Toxicol Sci.* 2005;88:551-61.