

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Якушева Е.Н., Черных И.В., 2012
УДК 615.277.015.43/44

**ВЛИЯНИЕ ФИНАСТЕРИДА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ
ГЛИКОПРОТЕИНА-P В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Е.Н. Якушева, И.В. Черных

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

В исследовании на кроликах изучено влияние финастерида на функциональную активность эффлюксного белка-транспортера гликопротеина-P (Pgp). Активность Pgp оценивали по фармакокинетике его маркерного субстрата фексофенадина. Установлено, что 14 дневное введение финастерида приводит к тканеспецифической индукции активности Pgp в печени и почках.

Ключевые слова: гликопротеин-P, финастерид, фексофенадин, фармакокинетика, транспортеры, фармакокинетическое взаимодействие лекарственных веществ.

Фармакотерапия большинства заболеваний предполагает одновременное назначение нескольких лекарственных средств, что существенно повышает риск взаимодействия между ними. Основные виды взаимодействий лекарственных препаратов включают – фармацевтическое, фармакокинетическое и фармакодинамическое, из которых фармакокинетический вид часто играет решающую роль в формировании побочного действия лекарственных веществ или неэффективности комбинированной фармакотерапии. Актуальным и малоизученным в настоящее время является лекарственное взаимодействие, связанное с влиянием на системы транспорта лекарственных веществ в организме.

Pgp – это полиспецифичный АТФ-зависимый эффлюксный транспортер, контролирующий фармакокинетику различных соединений как в физиологических условиях, так и в условиях патологии, он также препятствует проникновению эндогенных липофильных веществ через цитоплазматические мембраны различных клеток [1, 4, 6].

Установлен целый ряд лекарственных препаратов, которые оказывают индуцирующее или ингибирующее влияние на функциональную активность Pgp, что, в

связи с широкой субстратной специфичностью белка-транспортера, может приводить к значительным изменениям фармакокинетики лекарственных средств, назначаемых в комплексной фармакотерапии [1].

В научной литературе нами не было обнаружено информации о характере влияния финастерида – ингибитора 5 α -редуктазы, применяемого для терапии доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ), на функциональную активность белка-транспортера. Пожилой возраст пациентов, страдающих ДГПЖ, повышает вероятность того, что основному заболеванию будет сопутствовать дополнительная патология, требующая фармакологической коррекции. Исходя из химической структуры молекулы финастерида, можно прогнозировать принадлежность вещества к субстратам Pgp, а, значит, и возможность изменять эффлюксную активность белка-транспортера [7]. Логично предположить, что финастерид является потенциальным индуктором Pgp, т.к. по имеющимся данным, он взаимодействует с PXR-рецептором (Pregnane X receptor), транскрипционным фактором, активирующим экспрессию ферментов метаболизма ксенобиотиков, а также транспортеров ксено- и эндобиоти-

ков [8]. В связи с вышеизложенным, представляется актуальным изучить характер влияния финастериды на функциональную активность Pgr.

Цель настоящего исследования – изучить влияние финастериды на функциональную активность Pgr в эксперименте.

Материалы и методы

Работа выполнена на 6 половозрелых кроликах-самцах породы Шиншилла, массой 3500 – 4300 г. Исследование влияния финастериды на функциональную активность Pgr проводили по фармакокинетике фексофенадина – маркерного субстрата белка-транспортера. Финастерид вводили внутривенно через зонд в течение 14 дней в дозе 0,225 мг/кг [5, 9] в форме суспензии в оливковом масле. Фексофенадин (Телфаст 180 мг; Aventis Pharma, Италия) вводили внутривенно в дозе 67,5 мг/кг массы тела животного до и после 14-дневного введения изучаемого препарата, а также на 5-й день его отмены.

Пробы крови отбирали из краевой вены уха кролика в объеме 5 – 7 мл в гепаринизированные пробирки через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 и 24 часа после однократного введения фексофенадина, центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин, плазму хранили при -29°C до анализа [2].

Содержание фексофенадина в плазме крови определяли методом ВЭЖХ на хроматографе «Стайер» (Россия) с ультрафиолетовым детектором и обращенно-фазовой колонкой «Beckman Coulter» 4,6*250 мм, зернением 5 мкм. Экстракцию и хроматографирование маркерного субстрата осуществляли по собственной методике, за основу которой был взят метод Раменской Г.В. с соавт. [3]. Анализ выполняли при длине волны 220 нм и скорости подвижной фазы 1 мл/мин.

Элюирование выполняли подвижной фазой следующего состава (на 200 мл): 133,7 мл бидистиллированной воды, содержащей 2,33 мл ледяной уксусной кислоты и 0,936 мл триэтиламина, доведенной триэтиламином до pH=4,3 и 64 мл ацетонитрила. Время удерживания пика фексофенадина составило 12,31 мин.

В качестве экстрагентов для жидкостной экстракции фексофенадина применяли дихлорметан (ACROS ORGANICS), этилацетат (ACROS ORGANICS) и диэтиловый эфир (ХИММЕД). Коэффициент экстракции фексофенадина из плазмы крови составлял 64 %.

Определяли следующие фармакокинетические параметры: максимальная концентрация – C_{max} (нг/мл), время достижения максимальной концентрации – T_{max} (ч), период полувыведения $T_{1/2}$ (ч), площадь под фармакокинетической кривой "концентрация-время" от нуля до бесконечности и от нуля до последнего забора крови $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} (нг/мл)×ч, общий клиренс – Cl (л/ч), объем распределения – V_d (л), коэффициент абсорбции – C_{max}/AUC_{0-t} (1/ч) среднее время удерживания – MRT (ч), константа элиминации – K_{el} (1/ч).

Фармакокинетические параметры рассчитывали модельно-независимым методом с использованием программы Kinetica 5.0. Отношение C_{max}/AUC_{0-t} вычисляли самостоятельно. Фармакокинетические кривые фексофенадина строили с помощью офисного пакета «Microsoft Office XP».

Все первичные экспериментальные данные были подвергнуты математико-статистической обработке с использованием офисного пакета «Microsoft Office XP» и программы Statistica 8.0. Характер распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Наличие статистически достоверных межгрупповых различий определяли по критерию Ньюмена-Кейлса после проведения дисперсионного анализа повторных измерений (тест ANOVA – для показателей, имеющих нормальное распределение, критерий Фридмана – для показателей, распределение которых отличалось от нормального).

Полученные данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего результата ($M \pm m$) в случае нормального распределения данных или в виде медианы, верхнего и нижнего квартиля – если распределение данных отличалось от нормального.

Результаты и их обсуждение

14-дневное пероральное введение финастерида кролика-самцам в дозе 0,255 мг/кг массы тела приводило к статистиче-

ски значимым изменениям фармакокинетики маркерного субстрата Pgr – фексофенадина. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Основные фармакокинетические параметры фексофенадина на фоне введения и отмены финастерида ($M \pm t$ – при нормальном распределении данных; медиана, нижний и верхний квартиль – при распределении данных, отличном от нормального)

Изучаемые параметры	Исходные значения n=6	Финастерид 14 дней n=6	5 день отмены финастерида n=6
C_{max} , нг/мл	264.89 (250.76; 370.79)	228.78 (188.11; 269.89) *	301.28 (292.01; 464.14)
T_{max} , ч	4,0(3,0; 4,0)	3,5 (3,0; 4,0)	3,5 (2,0; 6,0)
$T_{1/2}$, ч	12.027±2.15	4.19±0.11*	14.74±2.46
AUC_{0-t} , (нг/мл)×ч	2984.075 (2699.34; 3069.45)	2077.7 (1480.92; 2342.26) *	4016.23 (3713.44; 4281.21)
$AUC_{0-\infty}$, (нг/мл)×ч	4071.11 (3342.96; 5215.09)	2139.53 (1512.77; 2402.32) *	5574,00 (5217.89; 6823.07)
Cl, л/ч	86.35±20.27	176.54±32.66*	53.16±5.97
V_d , л	1386.50±130.12	1326.68±210.98	1134.00±65.73
C_{max}/AUC_{0-t} , 1/ч	0.093 (0.083; 0.12)	0.11 (0.09; 0.16)	0.08 (0.073; 0.091)
MRT, ч	19.15±2.86	7.77±0.49*	23.04±3.15
K_{el} , 1/ч	0.069±0.015	0.16±0.0043*	0.052±0.0069

* – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных ($p < 0,05$)

14-дневное введение финастерида кроликам вызывало достоверное снижение медиан значений C_{max} на 13,63% ($p < 0,05$), AUC_{0-t} на 30,37% ($p < 0,05$), $AUC_{0-\infty}$ на 47,45% ($p < 0,05$), средних значений $T_{1/2}$ на 65,16% ($p < 0,05$), MRT на 59,43% ($p < 0,05$) и повышение средних значений K_{el} на 131,88% ($p < 0,05$) и Cl фексофенадина на 104,45% ($p < 0,05$) по сравнению с исходными данными. Достоверных различий между медианами значений T_{max} и C_{max}/AUC_{0-t} , а также между средними значениями V_d фексофенадина у кроликов до и после введения препарата обнаружено не было.

На пятый день отмены финастерида изучаемые фармакокинетические параметры существенно не отличались от аналогичных до введения препарата ($p > 0,05$).

Достоверное снижение медиан значений C_{max} , $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} , средних зна-

чений MRT и $T_{1/2}$, а также повышение средних значений Cl и K_{el} фексофенадина на фоне назначения финастерида в течение 14 дней является доказательством его индуцирующего влияния на функциональную активность Pgr в печени и почках, органах, ответственных за выведение препарата. Отсутствие достоверных различий между медианами значений C_{max}/AUC_{0-t} , показателя, характеризующего абсорбцию веществ, до и после введения финастерида свидетельствует о тканеспецифичной индукции Pgr в органах выведения без влияния на функциональную активность белка-транспортера слизистой оболочки кишечника.

Одним из механизмов индукции экспрессии Pgr ксенобиотиками является их взаимодействие с ядерным прегнан X рецептором (pregnane X receptor PXR) и с

конститутивным андростановым рецептором (constitutive androstane receptor CAR), представляющими собой белковые транскрипционные факторы, распознающие специфические последовательности в промоторах или энхансерах генов-мишеней и модулирующие их экспрессию [10]. Имеются данные о том, что финастерид является активатором PXR [8].

Клиническая значимость фармакокинетического взаимодействия финастерида и фексофенадина должна учитываться, несмотря на относительно высокое значение терапевтического индекса гистаминолитика. Нежелательные взаимодействия, связанные с влиянием на системы транспорта лекарственных веществ в организме, следует профилактировать, при назначении препаратов-субстратов Pgr, характеризующихся малым терапевтическим индексом и низкой биодоступностью при энтеральном введении, если они применяются на фоне индукторов или ингибиторов Pgr.

Выводы

Внутрижелудочное введение кроликам финастерида в дозе 0,255 мг/кг массы в течение 14 дней приводит к повышению функциональной активности Pgr, определяемой по фармакокинетике его маркерного субстрата – фексофенадина, что подтверждается достоверным снижением C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, $T_{1/2}$ и MRT и повышением Cl и K_{el} без изменения коэффициента абсорбции и свидетельствует о тканеспецифичной индукции Pgr в печени и почках – органах, ответственных за выведение препарата.

Литература

1. Метаболизм лекарственных средств / В.Г. Кукес [и др.] // Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – С. 170-194.
2. Колхир С.В. Клиническое значение изучения активности транспортера лекарственных средств гликопротеина-P для оптимизации фармакотерапии: дис. канд. мед. наук / С.В. Колхир; ГОУ ВПО ММА им. И.М. Сеченова. – М., 2007. – 21 с.
3. Раменская Г.В. Разработка методики количественного определения маркера активности Р-гликопротеина фексофенадина в плазме крови / Г.В. Раменская, Е.А. Скуридина, Л.М. Красных // Хим.-фармац. журн. – 2006. – Т. 40, №12. – С. 47-50.
4. Якушева Е.Н. Характеристика гликопротеина-Р как белка транспортера лекарственных средств / Е.Н. Якушева, И.В. Черных, А.С. Бирюкова // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – №3. – С. 142-148.
5. Заявка 2012121971 Рос. Федерация, МПК А 61 К 31/58; С 12 N 9/00. Способ моделирования состояния индукции функциональной активности гликопротеина-Р финастеридом в эксперименте / И.В. Черных, Е.Н. Якушева; РязГМУ им. акад. И.П. Павлова. – Заявл. 28.05.2012. Приоритетная справка (Входящий №033306).
6. The structure and functions of P-glycoprotein / Y. Li [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 17, №8. – P. 786-800.
7. The importance of a nitrogen atom in modulators of multidrug resistance / G. Ecker [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 56, №4. – P. 791-796.
8. Identification and validation of novel human pregnane X receptor activators among prescribed drugs via ligand-based virtual screening / Y. Pan [et al.] // *Drug. Metab. Dispos.* – 2011. – Vol. 39, №2. – P. 337-344.
9. Anti-nociceptive and anti-inflammatory properties of 5alpha-reductase inhibitor finasteride in experimental animals / N. Duborija-Kovacevic [et al.] // *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* – 2008. – Vol. 33, №3. – P. 181-186.
10. Regulation of P-glycoprotein by orphan nuclear receptors in human brain microvessel endothelial cells / G.N. Chan [et al.] // *J. Neurochem.* – 2011. – Vol. 118, №2. – P. 163-175.

**FINASTERIDE INFLUENCE ON P-GLYCOPROTEIN
FUNCTIONAL ACTIVITY**

E.N. Yakusheva, I.V. Chernykh

In the research on rabbits influence of finasteride on the functional activity of the protein efflux transporter P-glycoprotein (Pgp) was studied. Pgp activity was assessed by pharmacokinetic analysis of it's marker substrate fexofenadine. It was found that the 14-days course of finasteride administration leads to tissue-specific induction of Pgp functional activity in liver and kidney.

Key words: *P-glycoprotein, finasteride, fexofenadine, pharmacokinetics, transporters, pharmacokinetic drug interaction.*

Якушева Елена Николаевна – д.м.н., доц., зав. кафедрой фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО.

Тел.: 8 (4912) 46-08-60 (раб.).

E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru.

Черных Иван Владимирович – очный аспирант кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО.

Тел.: 8-953-740-33-06.

E-mail: ivchernykh88@mail.ru.