

Клиническая фармакология и лекарственные средства

© ТИТОВ Д.С., ПРАВКИН С.К., 2016

УДК 615.295.349.036.8

Титов Д.С., Правкин С.К.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ФАРМАКОТЕРАПИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГЛИКВИДОНА

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, 390026, г. Рязань, Россия

♦ В исследовании *in vivo* на кроликах изучено влияние гликвидона на функциональную активность белка-транспортера гликопротеина-P (P-гp, ABCB1-белок). Активность P-гp оценивали по фармакокинетике его маркерного субстрата — фексофенадина после однократного внутривидеочного введения. Применение гликвидона в дозе 10 мг на 1 кг массы тела в течение 14 сут не приводило к изменению концентрации фексофенадина, периода его полувыведения, площади под фармакокинетической кривой концентрация—время от нуля до последней точки забора крови, площади под фармакокинетической кривой концентрация—время от нуля до бесконечности, а также времени удерживания маркерного субстрата, общего клиренса и коэффициента абсорбции. Это свидетельствует об отсутствии влияния гликвидона на функциональную активность белка-транспортера на уровне целостного организма. Изменений фармакокинетических параметров фексофенадина на 5-е сутки отмены гликвидона также не наблюдали.

Ключевые слова: гликвидон; гликопротеин-P; ABCB1-белок.

Для цитирования: Титов Д.С., Правкин С.К. Эффективность и безопасность фармакотерапии на фоне применения гликвидона. *Российский медицинский журнал*, 2016; 22(4): 203—206. DOI 10.18821/0869-2106-2016-22-4-203-206.

Для корреспонденции: Титов Дмитрий Сергеевич, аспирант кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», 390026, г. Рязань. E-mail: i3762@yandex.ru

Titov D.S., Pravkin S.K.

THE EFFECTIVENESS AND SAFETY OF PHARMACOTHERAPY AGAINST THE BACKGROUND OF APPLICATION OF GLIQUIDONE

The academician I.P. Pavlov Ryazanskiy state medical university, 390026, Ryazan, Russia

♦ The study was carried out to investigate using rabbits *in vivo* effect of Gliquidone on functional activity of protein-carrier of glycoprotein-P (P-gp, ABCB1-protein). The activity of P-gp was evaluated according pharmacokinetics of its marker substrate — Fexofenadine after single endogastric introduction. The application of Gliquidone in dosage of 10 mg per 1 kg of body mass during 14 days resulted in no alteration of concentration of Fexofenadine, period of its partial ejection, area under pharmacokinetic curve “concentration-time” from zero to last point of blood sampling, area under pharmacokinetic curve “concentration-time” from zero to infinity and also time of holding of marker substrate, total clearance and absorption coefficient. All this testifies absence of effect of Gliquidone on functional activity of protein-carrier at the level of integral organism. No alterations of pharmacokinetic parameters of Fexofenadine at the 5th day of cessation of Gliquidone were observed.

Keywords: Gliquidone; glycoprotein-P; ABCB1-protein.

For citation: Titov D.S., Pravkin S.K. The effectiveness and safety of pharmacotherapy against the background of application of Gliquidone. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal* (Medical Journal of the Russian Federation, Russian journal). 2016; 22(4): 203—206 (In Russ.) DOI 10.18821/0869-2106-2016-22-4-203-206.

For correspondence: Dmitriy S. Titov, post-graduate student of chair of pharmacology with course of pharmacy.

E-mail: i3762@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received 21.01.16

Accepted 22.03.16

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и Международной Диабетической Федерации (IDF), 387 млн человек во всем мире больны сахарным диабетом (СД), из них 90% — СД 2-го типа. В большинстве стран это заболевание стало одним из самых распространенных, а также одной из причин преждевременной смертности. По прогнозам ВОЗ, к 2030 г. СД 2-го типа станет седьмой по частоте причиной смертности. По мнению IDF, он стал настоящей эпидемией. Статистика IDF показывает, что глобальная распространенность диабета в 2011 г. составила 8,3%; кроме того, у 6,4% мирового населения нарушена толерантность к глюкозе («преддиабетическое состояние»). Если учесть, что, по данным Международной Диабетической Федерации, 175 млн слу-

чаев СД на данный момент не диагностированы, становится ясно: огромное количество людей не подозревают, что заболевание у них прогрессирует в сторону развития поздних осложнений. Считается, что к 2030 г. 17% людей в мире будут больны клинически выраженным СД или находиться в состоянии преддиабета, и это станет одной из самых важных и сложных проблем здоровья населения планеты в будущем. Кроме того, следует учитывать, что СД 2-го типа с присущим ему патологическим комплексом и рядом осложнений, включающим не только гипергликемию, но и ожирение, гипертензию, диабетическую ретинопатию, нефропатию и другие нарушения, часто приводит к полипрагмазии, в условиях которой возрастает риск лекарственных взаимодействий.

В последнее время все большее значение в фармакокинетике лекарственных препаратов, а следовательно, их эффективности и безопасности, придается лекарственным транспортерам, поскольку для многих лекарственных препаратов существует вероятность фармакокинетических, лекарственно-опосредованных взаимодействий. Иногда они достаточно выражены, и возникает необходимость коррекции доз, а в ряде случаев — введения запрета на совместное использование лекарственных препаратов [1]. Наиболее клинически значимый лекарственный транспортер — гликопротеин-P (P-gr, ABCB1-белок, MDR1), что определяется его широкой субстратной специфичностью и локализацией в организме. P-gr относится к суперсемейству АТФ-связывающих кассетных (ATP binding cassette (ABC)) транспортеров, состоящему более чем из 100 мембранных белков, и осуществляет транспортировку липофильных соединений против градиента концентрации за счет энергии гидролиза АТФ. ABCB1-белок участвует в процессах всасывания, распределения и выделения широкого спектра лекарственных веществ [2, 3]. Многие лекарственные препараты способны изменять функциональную активность этого транспортера, что может привести к клинически значимым лекарственным взаимодействиям, поскольку около 50% существующих лекарственных средств являются субстратами или ингибиторами гликопротеина-P [1], причем этот список постоянно пополняется [4, 5]. Кроме того, фармакотерапия СД 2-го типа часто носит комбинированный характер; а ряд гипогликемических препаратов — субстраты P-gr: росиглитазон [6], метформин [6, 7] и др., при этом они могут быть использованы совместно с производными сульфонилмочевины [8], представителем которых является гликвидон — производное сульфонилмочевины II поколения, обладающий панкреатическим и внепанкреатическим эффектом. Важная особенность гликвидона — он выводится преимущественно через желудочно-кишечный тракт, что позволяет применять его у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) при СКФ > 15 мл/мин/1,73 м² (IV стадия ХБП, тяжелое снижение СКФ) [8]. Гликвидон метаболизируется в печени в реакциях гидроксилирования и деметилирования с образованием неактивных метаболитов. Он не оказывает ингибирующего или индуцирующего действия на изоферменты системы цитохрома P450, при этом ему присущи качества, свойственные ингибиторам гликопротеина-P [5].

Учитывая высокую заболеваемость и полипрагмазию, характерные для СД 2-го типа, и роль гликопротеина-P в фармакокинетике средств его фармакотерапии, представляется актуальным изучить характер действия гликвидона на функциональную активность данного лекарственного транспортера. Полученные результаты исследования позволят оптимизировать фармакотерапию СД, повысив ее эффективность и безопасность путем предотвращения нежелательных лекарственных взаимодействий.

Материал и методы

В качестве тест-системы использовали кроликов, которые считаются адекватной трансляционной моделью для изучения активности гликопротеина-P [9]. Эксперимент выполнен на 8 половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла, средней массой 3500—4500 г. Животные имели необходимые ветеринарные свидетельства и содержались в стандартных условиях вивария ГБОУ

ВПО РязГМУ Минздрава России. Работу с животными осуществляли в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (приложение к приказу Минздрава России от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики»).

Функциональная активность гликопротеина-P изучалась на уровне целостного организма после 14 сут введения гликвидона и на 5-е сутки его отмены. Гликвидон (Глюренорм 30 мг) вводили животным внутривенно в дозе 10 мг на 1 кг массы тела [10]. Функциональную активность P-gr определяли по показателям динамики плазменной концентрации фексофенадина, маркерного субстрата данного белка-транспортера. Фексофенадин выбран в качестве специфического субстрата P-gr с низкой биодоступностью при пероральном введении, более чувствительного к снижению функциональной активности P-gr в кишечнике, чем пероральный дигоксин [11], который также является одним из маркерных субстратов ABCB1-белка. Фексофенадин (Телфаст 180 мг) вводили однократно внутривенно через зонд в дозе 67,5 мг на 1 кг массы тела животного до и после 14-суточного введения гликвидона [13]. Пробы крови проводили в объеме 3—5 мл из краевой вены уха кролика в гепаринизированные пробирки через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 и 24 ч после однократного внутривенного введения фексофенадина, центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин, плазму хранили при –28 °С до анализа [9].

Содержание фексофенадина в плазме крови определяли методом ВЭЖХ на хроматографе «Стайер» (Россия) с ультрафиолетовым детектором и обращенно-фазовой колонкой BeckmanCoulter 4,6-250 мм зернением 5 мкм.

Экстракцию и хроматографирование маркерного субстрата осуществляли по модифицированному методу Г.В. Раменской. Анализ выполняли при длине волны 220 нм и скорости подвижной фазы 1 мл/мин [13].

Элюирование проводили подвижной фазой следующего состава (из расчета 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 использовали дихлорметан, этилацетат и диэтиловый эфир. Коэффициент экстракции фексофенадина из плазмы крови составил 64%.

Полученные экспериментальные данные статистически обрабатывали с использованием офисного пакета Microsoft Office XP и программ Statistica 8.0 и IBM SPSS Statistics 20. Характер распределения данных оценивали по критерию Шапиро—Уилка. Для исследования статистической значимости показателей, имеющих нормальное распределение, использовали тест ANOVA повторных измерений. Для оценки статистической значимости показателей, распределение которых отличалось от нормального, использовали критерий Фридмана. Наличие достоверных различий определяли по параметрическому и непараметрическому критерию Ньюмена—Кейлса соответственно. Для данных, распределенных нормально, рассчитывали среднее арифметическое значение (Mean) и стандартное отклонение (SD). Для данных, имеющих распределение, отличное от нормального, рассчитывали медиану (Median), верхний и нижний квартили (uq и lq соответственно).

Таблица 1

Фармакокинетические параметры фексофенадина

Исследуемые параметры	Исходные значения (n = 8)	Значения после 14 сут введения гликвидона (n = 8)	Значения на 5-е сутки отмены гликвидона (n = 8)
Максимальная концентрация (C _{max} , нг/мл)	166,96 ± 58,48	124,66 ± 48,85	149,94 ± 39,85
Время достижения максимальной концентрации (T _{max} , ч)	3 (2,5; 3)	2 (1; 4)	3 (1,5; 4)
Период полувыведения (T _{1/2} , ч)	16,58 (10,69; 22,89)	15,74 (12,88; 28,8)	12,57 (7,7; 20,34)
Площадь под фармакокинетической кривой (0-t) (AUC _{0-t} , (нг/мл) × ч)	1517,77 ± 747,75	1121,03 ± 390,43	1093,08 ± 390,7
Площадь под фармакокинетической кривой (0-t) (AUC _{0-t} , (нг/мл) × ч)	2402,97 (1226,98; 4197,93)	1892,29 (1554,81; 2663,18)	1672,36 (991,72; 2521,8)
Общий клиренс (Cl, л/ч)	111,98 (64,73; 216,37)	145,95 (97,54; 162,23)	166,13 (109,13; 258,47)
Коэффициент абсорбции (C _{max} /AUC _{0-t} , 1/ч)	0,12 ± 0,04	0,11 ± 0,03	0,15 ± 0,049
Коэффициент абсорбции (C _{max} /AUC _{0-t} , 1/ч)	0,081 (0,049; 0,096)	0,058 (0,044; 0,077)	0,093 (0,062; 0,113)
Время удерживания (MRT, ч)	22,4 (17,04; 33,58)	24,28 (18,72; 40,31)	17,61 (11,91; 27,08)

Фармакокинетические параметры фексофенадина рассчитывали при помощи программы Kinetica 5.0 (табл. 1).

Уровень инсулина (мкЕД/мл) определяли радиоиммунным методом, концентрацию глюкозы (ммоль/л) — глюкоксидазным методом в центральной научно-исследовательской лаборатории РязГМУ. Рассчитывали гликемический и инсулиногенный индексы (табл. 2).

Результаты и обсуждение

При введении гликвидона в дозе 10 мг/кг массы курсом 14 сут по сравнению с исходными значениями не выявлены изменения фармакокинетики маркерного субстрата Р-гр — фексофенадина (см. табл. 1): после 14 сут введения наблюдалось статистически недостоверное снижение средних значений C_{max} на 25,33% (p > 0,05), медиан значений T_{1/2} на 5,07%^{max} (p > 0,05), средних значений AUC_{0-t} на 26,14% (p > 0,05), медиан значений AUC_{0-t} на 21,25% (p > 0,05), средних значений C_{max}/AUC_{0-t} на 8,33 (p > 0,05) и медиан значений C_{max}/AUC_{0-t} на 28,39% (p > 0,05), увеличение медиан значений MRT на 8,39% (p > 0,05) и медиан значений Cl на 30,33% (p > 0,05).

Статистически значимых изменений по сравнению с исходными данными и данными на 5-е сутки отмены также не наблюдали.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии изменений концентрации фексофенадина в крови.

В соответствии с рекомендациями FDA (регулятор-

ного органа США) ингибитором Р-гр признаются вещества, увеличивающие AUC фексофенадина более чем на 25% [14], что может служить основанием для вывода об отсутствии изменений функциональной активности Р-гр при применении гликвидона. При этом на 5-е сутки отмены изучаемого препарата также наблюдалась исходная активность транспортной функции ABCB1-белка.

Таким образом, можно сделать вывод об отсутствии изменения функциональной активности ABCB1-белка как после 14 сут введения гликвидона, так и в периоде последствия — до 5 сут отмены.

Ряд эндогенных соединений, в том числе уровень которых связан с фармакологическим эффектом противодиабетических препаратов, в частности гликвидона (например, инсулин и глюкоза), способны выступать в роли регуляторов Р-гр [9, 13].

В связи с этим у интактных животных после 14 сут введения гликвидона и на 5-е сутки его отмены изучали уровни инсулина натощак и на 45-ю минуту после глюкозной нагрузки (3 г/кг), а также уровень глюкозы до и через 90 мин после глюкозной нагрузки. Рассчитывали гликемический и инсулиногенный индексы (см. табл. 2).

При введении гликвидона в дозе 10 мг/кг массы курсом 14 сут выявлено только статистически достоверное снижение средних значений глюкозы натощак после 14 сут введения на 17,4% (p < 0,05) и на 20,74% (p < 0,05) на 5-е сутки отмены препарата.

Согласно имеющимся на сегодняшний день научным данным, глюкоза способна выступать в качестве

Таблица 2

Изменения уровня инсулина и глюкозы

Исследуемые параметры	Исходные значения (n = 8)	Значения после 14 сут введения гликвидона (n = 8)	Значения на 5-е сутки отмены гликвидона (n = 8)
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,69 ± 0,95	4,7 ± 1,36*	4,51 ± 1,15*
Инсулин натощак, мкЕД/мл	2,83 (1,92; 4,77)	4,68 (3,7; 5,06)	4,28 (3,63; 6,51)
Гликемический индекс (отношение содержания глюкозы в крови натощак к инсулину в крови натощак)	2,07 ± 1,09	1,03 ± 0,21	1 ± 0,47
Инсулиногенный индекс (отношение прироста инсулина в крови к приросту глюкозы в крови на 10 мин после глюкозной нагрузки)	0,85 (0,55; 1,05)	2,14 (1,04; 4,15)	1,15 (0,68; 1,48)
Инсулин 45 мин, мкЕД/мл	14,54 (10,1; 19,19)	5,51 (3,05; 17,56)	9,71 (7,56; 11,56)
Глюкоза 90 мин, ммоль/л	9,11 ± 4,16	8,88 ± 4,43	6,78 ± 1,83

Примечание. * — уровень значимости < 0,05 (p < 0,05) по сравнению с исходными значениями.

ингибитора гликопротеина-Р [15]. Инсулин же является одним из основных регуляторов уровня глюкозы в крови и, очевидно, оказывает индуцирующее влияние на АВСВ1-белок [16].

Таким образом, в условиях снижения уровня эндогенного ингибитора Р-гр — глюкозы, предполагалось, что будет наблюдаться индукция гликопротеина-Р. Однако указанного явления не происходило.

Выводы

Внутрижелудочное введение кроликам гликвидона в дозе 10 мг на 1 кг массы тела в течение 14 сут не вызывает изменения функциональной активности гликопротеина-Р, определяемой по фармакокинетике маркерного субстрата — фексофенадина; транспортная функция АВСВ1-белка на 5-е сутки отмены препарата также остается без изменений. Установленный факт дает основания предполагать, что на фоне применения гликвидона нет необходимости в коррекции доз и/или запрете на совместное использование с препаратами — субстратами гликопротеина-Р.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

(п. п. 1, 3, 6—7, 10—11, 14—16
см. References)

1. Якушева Е.Н., Черных И.В., Бiryukova А.С. Характеристика гликопротеина-Р как белка-транспортера лекарственных веществ. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2011; (3): 142—8.
4. Якушева Е.Н., Черных И.В., Шулькин А.В., Котлярова А.А., Никифоров А.А. Половые различия функциональной активности и экспрессии гликопротеина-Р у кроликов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2014; 100(8): 944—52.
5. Якушева Е.Н., Шулькин А.В., Черных И.В. Оценка принадлежности мексидола к субстратам, ингибиторам или индукторам гликопротеина-Р. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015; (3): 79—83.
8. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., ред. *Алгоритм специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом*. 6-й выпуск. М.; 2013.
9. Якушева Е.Н., Бiryukova А.С., Шулькин А.В., Никифорова Л.В. Влияние тироксина на функциональную активность гликопротеина-Р в эксперименте. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2011; (4): 49—53.
12. Якушева Е.Н., Черных И.В. Влияние экспериментальной подострой гипобарической гипоксической гипоксии на функциональную активность гликопротеина-Р. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2013; (1): 60—4.
13. Якушева Е.Н., Шулькин А.В., Бiryukova А.С. Дозозависимое влияние тироксина на функциональную активность гликопротеина-Р в эксперименте. *Биомедицина*. 2012; (2): 53-60.

REFERENCES

1. Ayrton A., Morgan P. Role of transport proteins in drug discovery and development: a pharmaceutical perspective. *Xenobiotica*. 2008; 38(7—8): 676—708.
2. Yakusheva E.N., Chernykh I.V., Biryukova A.S. Characteristic of P-glycoprotein as a drug peptide transporter. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akademika I.P. Pavlova*. 2011; (3): 142—8. (in Russian)
3. Zhou S.F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica*. 2008; 38(7—8): 802—32.
4. Yakusheva E.N., Chernykh I.V., Shchul'kin A.V., Kotlyarova A.A., Nikiforov A.A. Sex differences of P-glycoprotein functional activity and expression in rabbits. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2014; 100(8): 944—52. (in Russian)
5. Yakusheva E.N., Shchul'kin A.V., Chernykh I.V. Assessment of the attribution of mexidol to P-glycoprotein substrates, inhibitors, or inducers. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2015; (3): 79—83. (in Russian)
6. Hemauer S.J., Patrikeeva S.L., Nanovskaya T.N., Hankins G.D., Ahmed M.S. Role of human placental apical membrane transporters in the efflux of glyburide, rosiglitazone, and metformin. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010; 202(4): 383.e1—7.
7. Choi Y.H., Lee D.C., Lee I., Lee M.G. Changes in metformin pharmacokinetics after intravenous and oral administration to rats with short-term and long-term diabetes induced by streptozotocin. *J. Pharm. Sci.* 2008; 97(12): 5363—75.
8. Dedov I.I., Mel'nichenko G.A., eds. Algorithms of Specialized Medical Care for Diabetic Patients [Algoritm spetsializirovannoy meditsinskoy pomoshchi bol'nym sakharnym diabetom]. 6th ed. Moscow; 2013. (in Russian)
9. Yakusheva E.N., Biryukova A.S., Shchul'kin A.V., Nikiforova L.V. Influence of the thyroxine on the functional activity of the P-glycoprotein in the experiment. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akademika I.P. Pavlova*. 2011; (4): 49—53. (in Russian)
10. De Gasparo M., Hostetter G., Desaulles P.A. Effect of glipidone on insulin binding to rabbit erythrocytes. *J. Endocrinol.* 1983; 97(1): 97—103.
11. *Guideline on the investigation of bioequivalence*. European Medicines Agency. London; 2010.
12. Yakusheva E.N., Chernykh I.V. The influence of experimental subacute hypobaric hypoxia on p-glycoprotein functional activity. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akademika I.P. Pavlova*. 2013; (1): 60—4. (in Russian)
13. Yakusheva E.N., Shchul'kin A.V., Biryukova A.S. Dose-dependent thyroxine influence of P-glycoprotein functional activity in the experiment. *Biomeditsina*. 2012; (2): 53—60. (in Russian)
14. *Guidance for Industry Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations*. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2012.
15. Shen J., Hughes C., Chao C., Cai J., Bartels C., Gessner T. et al. Coinduction of glucose-regulated proteins and doxorubicin resistance in Chinese hamster cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 1987; 84(10): 3278—782.
16. Liu H., Liu X., Jia L., Liu Y., Yang H., Wang G. et al. Insulin therapy restores impaired function and expression of P-glycoprotein in blood-brain barrier of experimental diabetes. *Biochem. Pharmacol.* 2008; 75(8): 1649—58.