

УДК 615.213 : 615.015.4 : 615.015.5

ФАРМАКОКІНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДЕПАКІНУ ТА КАРБАМАЗЕПІНУ

О.Д.Мовчан

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

Ключові слова: толерантність; депакін; карбамазепін; індуктивний вплив; кров; мозок; P_{450}

PHARMACOKINETIC MECHANISMS FOR DEVELOPMENT OF TOLERANCE TO DEPAKIN AND CARBAMAZEPINE

O.D.Movchan

«Institute of Pharmacology and Toxicology at National Academy of Medical Sciences of Ukraine» State Institution

Key words: tolerance; depakin; carbamazepine; induction effect; blood; brain; P_{450}

It has been shown that intraperitoneal injection of depakin (155 mg/kg) and carbamazepine (125 mg/kg) causes development of tolerance to their anticonvulsant effect in the model of corazol convulsions during 14 days. It has been found by high performance liquid chromatography that the content of depakin and carbamazepine is not determined in the blood and the brain tissue of white rats that are tolerant to the anticonvulsant action of these drugs. It may be related with increase of inductive influence on P_{450} activity. It is observed in the animals that are tolerant to depakin and carbamazepine. A marked reduction of depakin and carbamazepine in the brain of tolerant animals explains the cause of formation of the treatment resistance to their anticonvulsant effect. Due to the fact that, in these circumstances, depakin and carbamazepine exhibit the properties of P_{450} inducers it is hardly expedient to increase the dose of these drugs to overcome the therapeutic resistance.

Однією з проблем фармакотерапії епілепсії є розвиток толерантності до антиконвульсантів при їх тривалому застосуванні [7, 9, 11]. Раніше в експериментальних дослідженнях нами було показано, що при щоденному введенні депакіну або карбамазепіну протягом 14 днів спостерігалось формування резистентності до їх протисудомної дії [3, 4, 6].

Вивчення механізмів розвитку толерантності до дії антиконвульсантів цікаве не тільки з теоретичної точки зору, але і важливе для розробки шляхів подолання терапевтичної резистентності [5].

Серед причин формування толерантності можливим є зниження або припинення надходження молекул лікарського препарату до мішеней їхньої дії. В свою чергу, це може бути пов'язано зі змінами активності ферментативної системи P_{450} , яка бере участь у метаболізмі лікарських засобів [1, 2, 12].

У зв'язку з цим мета дослідження полягала у визначенні вмісту депакіну і карбамазепі-

ну в крові і головному мозку при їх одноразовому введенні і у тварин, толерантних до дії цих препаратів. Крім того, в таких же умовах вивчався функціональний стан ферментативної системи P_{450} .

Матеріали та методи

Досліди проведені на білих нелінійних щурах масою 180-210 г. Догляд і утримання лабораторних тварин здійснювали відповідно до вимог [8] у стандартних умовах віварію ІФТ при вільному доступі до води та їжі. Роботу з тваринами проводили згідно з вимогами «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших цілях» (Страсбург, 1986).

Антиконвульсанти вводилися внутрішньоочередово в ефективних протисудомних дозах: депакін – 155 мг/кг, карбамазепін – 125 мг/кг. Кількісна оцінка препаратів у крові і мозку визначалася методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на приладі Agilent 1200 LC/MS (США) з ультра-

фіолетовим і мас-спектрометричним детектором. Детектування здійснювали одноквадрупольним мас-спектрометром з електроспрей-іонізацією [14, 15].

Забір матеріалу (крові і мозку) проводився через 1 год після введення антиконвульсантів у тварин, які знаходилися під ефірним наркозом. Експозиція в 1 годину була вибрана у зв'язку з тим, що у цей строк після введення депакіну (155 мг/кг) та карбамазепіну (125 мг/кг) спостерігається пік протисудомної активності вказаних препаратів в експерименті на щурах при моделюванні хемоконвульсантних судом (коразол, 100 мг/кг, в/о).

Тому можна припустити, що саме у цей строк формується оптимальний розподіл кількості антиконвульсантів (кров/мозок) для прояву їх протисудомної активності.

В досліді брали участь тварини двох груп. Перша – інтактні, яким препарат вводили одноразово. Тваринам другої групи препарат також вводили одноразово, але на фоні попередньо сформованої до цього антиконвульсанта толерантності.

Формування толерантності до протисудомної дії депакіну

Таблиця 1

Співвідношення вмісту депакіну та карбамазепіну в крові та мозку білих щурів при їх введенні нетолерантним і толерантним тваринам ($M \pm m$; $n = 6$)

| Досліджувані препарати | Вміст антиконвульсантів | | | | | |
|------------------------|-------------------------|--------------|--------------|------------|---------------|------------|
| | кров, мкг/мл | | мозок, мкг/г | | | |
| | нетолерантні | толерантні | ліва півкуля | | права півкуля | |
| | | | нетолерантні | толерантні | нетолерантні | толерантні |
| Депакін | 220,78±10,57 | 0 | 31,04±2,78 | 0 | 33,63±2,47 | 0 |
| Карбамазепін | 51,63±1,51 | 0,026±0,001* | 56,61±3,70 | 0,13±0,03* | 59,38±3,88 | 0,18±0,04* |

Примітка: * – достовірна різниця по відношенню до нетолерантних тварин

та карбамазепіну відтворювалося наступним чином. Спочатку були встановлені ефективні протисудомні дози депакіну та карбамазепіну на моделі корозолових судом, які становили відповідно 155 мг/кг та 125 мг/кг. Після цього трьом групам тварин вводили антиконвульсанти один раз на добу. Першій групі тварин на 5-у добу через 1 год після останнього введення антиконвульсанта вводилася тестова судомна доза коразолу. Друга група тварин тестувалася таким же чином через 10 діб щоденного введення антиконвульсантів, а третя група – на 14 добу. В результаті було встановлено, що через 14 діб щоденного введення антиконвульсантів спостерігалася редукція їх антикорозолової дії, тобто формувалася толерантність до протисудомного впливу депакіну та карбамазепіну.

Функціональний стан активності ферментів P_{450} оцінювався за впливом досліджуваних антиконвульсантів на латентний період і тривалість гексеналового сну при його внутрішньоочеревинному введенні білим мишам у дозі 100 мг/кг [13].

Ідеологія цього підходу полягає в тому, що барбітурати (зокрема, гексенал) метаболізуються за участю ферментів системи P_{450} . Тому зниження або підвищення активності цих ферментів відображається на тривалості гексеналового сну, що

дає можливість говорити про індукцію або інгібування P_{450} при дії досліджуваного препарату.

Статистичний аналіз отриманих даних проводився за допомогою програмного пакету «StatSoft Statistica 6.0» із використанням t-критерію Стьюдента. Достовірними відмінності вважались при $P \leq 0,05$ [10].

Результати та їх обговорення

Отримані результати показали, що при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні депакіну препарат визначався в тканинах головного мозку з помірною біодоступністю. Співвідношення кров/мозок складає 7:1. При цьому не спостерігалися відмінності в розподілі депакіну в лівій і правій півкулях мозку (табл. 1).

Депакін, введений тваринам, толерантним до протисудомної дії цього препарату, не визначався в крові і тканинах лівої і правої півкулі головного мозку (табл. 1).

Отже, толерантність до дії депакіну пов'язана з тим, що при цьому феномені препарат не потрапляє в тканини мозку і тому, природньо, не може впливати на свою біологічну (фармакологічну) мішень, що клінічно реєструється як терапевтична резистентність.

Припинення надходження депакіну в мозок у толерантних тварин не можна пояснити змі-

нами проникності гематоенцефалічного бар'єру або транспортних систем крові, оскільки у толерантних тварин препарат не виявляється в крові навіть у вигляді слідів. Можна припустити, що депакін є індуктором ферментів системи P_{450} і тому при його тривалому введенні препарат повністю метаболізується, в зв'язку з чим не виявляється ні в крові, ні в мозку толерантних тварин.

Вказане припущення підтверджується результатами дослідів по оцінці впливу депакіну на функціональний стан ферментативної системи P_{450} . При цьому встановлено, що при одноразовому введенні депакіну тривалість гексеналового сну знижується з $51,1 \pm 0,8$ до $44,8 \pm 2,0$ хв ($P < 0,05$), тобто на 14% (табл. 2). Ще в більшій мірі тривалість гексеналового сну при дії депакіну знижується у толерантних тварин (з $51,1 \pm 0,8$ до $29,0 \pm 5,0$ хв), а саме на 43% (табл. 2). Ці дані є підставою для твердження про те, що депакін при тривалому введенні проявляє властивості сильного індуктора P_{450} , перевищуючи цю активність в 3 рази по відношенню до однократного введення препарату нетолерантним тваринам.

Отримані дані показують задовільне співпадання відсутності надходження депакіну в мозок у толерантних тварин з підвищенням функціональної ак-

Таблиця 2

Вплив депакіну та карбамазепіну на гексеналовий сон у нетолерантних і толерантних тварин ($M \pm m; n = 6$)

| Досліджувані препарати | Латентний період сну, с | | Тривалість сну, хв | |
|------------------------|-------------------------|--------------|--------------------|---------------|
| | нетолерантні | толерантні | нетолерантні | толерантні |
| Контроль | 109,8±18,6 | | 51,1±0,87 | |
| Депакін | 100,2±12,6 | 156,0±24,0 | 44,83±1,76* | 29,0±5,06*/** |
| Карбамазепін | 60,0±0,0 | 132,2±12,0** | 60,17±7,38 | 46,6±2,66 |

Примітки:

1) * – достовірна різниця по відношенню до контролю;

2) ** – $P < 0,05$ між нетолерантними та толерантними тваринами.

тивності ферментів системи P_{450} , що призводить до підсилення метаболізму даного препарату.

Ось чому збільшення дози депакіну для подолання толерантності недоцільне, оскільки може призвести до підсилення побічних ефектів, характерних для депакіну, при відсутності підвищення протисудомної ефективності.

При дослідженні карбамазепіну виявлена його висока біодоступність в тканини мозку. Співвідношення кров/мозок складало 1:1. Міжпівкульних відмінностей надходження карбамазепіну в мозок не виявлено (табл. 1).

При введенні карбамазепіну толерантним тваринам його вміст у крові був у 2000 разів меншим, ніж у нетолерантних, що супроводжується зниженням рівня препарату в тканинах лівої та правої півкуль мозку в 400 разів (табл. 1).

Карбамазепін у крові і мозку толерантних тварин по відношенню до нетолерантних визначається у вигляді слідів, тобто спостерігається така ж картина, як і у випадку депакіну.

Це також може бути пов'язано з тим, що карбамазепін проявляє властивості індуктора P_{450} , особливо при порівнянні його впливу на тривалість гексеналового сну у толерантних тварин по відношенню до нетолерантних. Хоча цей ефект був виражений менш рельєфно, ніж у депакіну, але при цьому спостерігалось достовірне підвищення латентного періоду і тенденція до зниження тривалості гексеналового сну у тварин, толерантних до дії карбамазепіну (табл. 2).

На підставі отриманих даних можна прогнозувати, що збільшення дози карбамазепіну з метою подолання толерантності не буде сприяти підвищенню

його протисудомної ефективності.

ВИСНОВКИ

1. У тварин, толерантних до протисудомної дії депакіну, цей препарат у крові і мозку, з урахуванням чутливості методу, не виявляється. Депакін знижує тривалість гексеналового сну, що свідчить про його властивості індуктора P_{450} . У толерантних тварин цей ефект у 3 рази вищий, ніж у нетолерантних.

2. У тварин, толерантних до дії карбамазепіну, вміст його в мозку в 400 разів, а в крові в 2000 разів нижчий, ніж у нетолерантних. При цьому проявляються властивості індуктора P_{450} .

3. Отримані результати дозволяють прогнозувати, що збільшення дози депакіну чи карбамазепіну з метою подолання терапевтичної резистентності не приведе до підвищення протисудомної ефективності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И., Лисица А.В., Петушкова Н.А., Карузина И.И. // *Клиническая медицина*. – 2008. – №2. – С. 4-7.
2. Арчаков А.И., Лисица А.В., Петушкова Н.А., Карузина И.И. // *Клиническая медицина*. – 2008. – №3. – С. 4-6.
3. Громов Л.А. // *Рациональная фармакотерапия*. – 2011. – №2. – С. 13-17.
4. Громов Л.О., Черноштан К.О., Євтушенко О.О. // *Фармакол. та лікарська токсикол.* – 2008. – №1-3. – С. 31-35.
5. Громов Л.О., Черноштан К.О., Євтушенко О.О. // *Фармакол. та лікарська токсикол.* – 2009. – №1 (8). – С. 3-8.
6. Громов Л.О., Черноштан К.О., Євтушенко О.О. // *Фармакол. та лікарська токсикол.* – 2008. – №1. – С. 8-12.

7. Карлов В.А. // Журн. неврол. и психиатрии. – 2008. – №10. – С. 75-81.
8. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайретдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. – К., 2002. – 155 с.
9. Козловський В.Л. // Журн. неврол. и психиатрии. – 2009. – №1. – С. 85-89.
10. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистика в науке и бизнесе. – К.: Морион, 2002. – 640 с.
11. Проблемы лечения фармакорезистентной эпилепсии // Здоров'я України. – 2008. – №12/1. – С. 41.
12. Савельева М.И., Сычев Д.А., Казаков Р.Е. и др. // Клиническая медицина. – 2008. – №11. – С. 22-28.
13. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. – М., 2000. – 352 с.
14. Gaviraghi G., Barnaby R.J., Pellegatti M. Pharmacokinetic Challenges in Lead Optimization. – Verona, 2002. – 324 p.
15. Testa B., Waterbeemd H., Folkers G., Guy R. Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. – Zuerich: Verlag Helvetica Chimica Acta, 2001. – 655 p.

ФАРМАКОКІНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДЕПАКІНУ ТА КАРБАМАЗЕПІНУ

О.Д.Мовчан

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

Ключові слова: толерантність; депакін; карбамазепін; індуктивний вплив; кров; мозок; P_{450}

Показано, що внутрішньоочеревинне введення депакіну (155 мг/кг) і карбамазепіну (125 мг/кг) впродовж 14 днів призводить до розвитку толерантності до їх протисудомної дії на моделі коразолових судомних станів. Методом високоєфективної рідинної хроматографії встановлено, що в крові і тканинах головного мозку білих щурів, толерантних до протисудомної дії депакіну та карбамазепіну, вміст цих препаратів не визначається. Це може бути пов'язано з підвищенням індуктивного впливу на активність P_{450} , що спостерігається у тварин, толерантних до депакіну та карбамазепіну. Виражене зниження рівня депакіну і карбамазепіну в мозку толерантних тварин пояснює причину формування терапевтичної резистентності до їх протисудомної дії. У зв'язку з тим, що в цих умовах депакін і карбамазепін проявляють властивості індукторів P_{450} навряд чи доцільно підвищувати дозу цих препаратів для подолання терапевтичної резистентності.

ФАРМАКОКІНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ДЕПАКИНУ И КАРБАМАЗЕПИНУ

Е.Д.Мовчан

ГУ «Інститут фармакологии и токсикологии НАМН Украины»

Ключевые слова: толерантность; депакин; карбамазепин; индуктивное влияние; кровь; мозг; P_{450}

Показано, что внутрибрюшинное введение депакина (155 мг/кг) и карбамазепина (125 мг/кг) в течение 14 дней приводит к развитию толерантности к их противосудорожному действию на модели коразоловых судорожных состояний. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлено, что в крови и тканях головного мозга белых крыс, толерантных к противосудорожному действию депакина и карбамазепина, содержание этих препаратов не определяется. Это может быть связано с повышением индуктивного влияния на активность P_{450} , что наблюдается у животных, толерантных к депакину и карбамазепину. Выраженное снижение уровня депакина и карбамазепина в мозге толерантных животных объясняет причину формирования терапевтической резистентности к их противосудорожному действию. В связи с тем, что в этих условиях депакин и карбамазепин проявляют свойства индукторов P_{450} вряд ли целесообразно повышать дозу этих препаратов для преодоления терапевтической резистентности.

Адреса для листування: 03057, м. Київ,
вул. Ежена Потье, 14. Тел. (44) 456-92-27.
E-mail: elenapharm2012@mail.ru.

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

Надійшла до редакції 26.11.2012 р.