

Роль и организация фармакокинетических исследований

В. П. Жердев, А. А. Литвин,
Институт фармакологии РАМН, г. Москва

В настоящее время большое внимание уделяется проведению фармакокинетических (ФК) исследований как при создании новых оригинальных лекарственных средств, так и при применении известных, так называемых, генерических препаратов. Связано это, прежде всего, с тем, что только ФК исследования могут ответить на вопрос: какая доля введенной дозы препарата всасывается из места введения и поступает в системный кровоток и, соответственно, к месту биологического действия? Для наиболее распространенного энтерального пути введения важно знать, насколько выражен «эффект первого прохождения» препарата через печень, т.е. какая часть препарата подвергается биотрансформации, а какая — попадает в системный кровоток в неизменном виде. Поэтому необходимо определить основные пути метаболизма исследуемого соединения с идентификацией и дальнейшим изучением фармакологической активности метаболитов. Выявление, так называемых, «активных» метаболитов является другой чрезвычайно важной задачей, т.к. они наряду с исходным веществом могут участвовать в проявлении конечного эффекта (ов). На основе «активного(ых)» метаболита(ов) может быть создан новый лекарственный препарат, обладающий таким же или измененным фармакологическим спектром действия, который может иметь преимущества перед исходным лекарственным веществом по основному и побочному(ым) эффектам. В основном сказанное касается ФК исследований, направленных на создание новых фармакологических веществ. Структура этих исследований описана в «Методических указаниях по проведению доклинических исследований ФК фармакологических веществ и лекарственных средств» [1].

Еще один важный этап на пути продвижения лекарственного препарата в клиническую практику — выбор оптимального способа введения препарата, дающего преимущества по проявлению желаемой фармакологической активности при минимальной дозировке действующего вещества. Эта задача решается на основе

изучения абсолютной и относительной биодоступности новых потенциальных лекарственных средств. Кроме того, изучение относительной биодоступности разрабатываемой лекарственной формы препарата способствует процессу ее оптимизации на этапе технологических разработок.

Относительная биодоступность (скорость и степень всасывания) является основной оценкой качества любого генерического препарата при его сравнении с оригинальным препаратом или с другим аналогичным препаратом (например, выпускаемым другой фармацевтической фирмой-производителем), что лежит в основе проведения исследований биоэквивалентности генерических препаратов, поскольку фармацевтическая эквивалентность не гарантирует эквивалентности фармакокинетической [2]. Структура и регламент проведения подобного рода исследований изложены в соответствующих методических указаниях [3].

Важная роль принадлежит также исследованиям клинической фармакокинетики как новых фармакологических веществ (на этапе I фазы клинических испытаний), так и широко применяемых в медицинской практике лекарственных средств [4]. Что касается ФК исследований в рамках I фазы испытаний нового препарата, основной задачей является проверка и перенос данных, полученных при доклиническом изучении его фармакокинетики и биотрансформации не менее чем на двух видах экспериментальных животных.

При изучении клинической ФК известных лекарственных средств основная цель исследований заключается в поиске ФК детерминант, ответственных за проявление их клинического действия. В отличие от ФК исследований I фазы, включающих ограниченное число пациентов или даже здоровых добровольцев, эти популяционные исследования обычно проводятся на III-IV фазах клинических исследований и включают большое число пациентов, получающих различные режимы дозирования. Популяционные ФК исследования могут также использовать данные рутинного терапевтического лекарственного мониторинга, проводимого для опти-

мизации применения лекарственного препарата путем контроля его концентраций в биоматериале. Таким образом, появляется возможность оценить реальную межиндивидуальную вариабельность ФК параметров, выявить подгруппы пациентов с резко отличающимися значениями ФК параметров, найти ковариаты (пол, возраст, сопутствующие заболевания, курение, факторы окружающей среды, взаимовлияние лекарственных препаратов и т. п.), значимо влияющие на индивидуальные значения ФК параметров. Эта информация может служить отправной точкой для разработки оптимальных схем применения того или иного лекарственного средства в клинической практике и их последующей корректировки по данным терапевтического лекарственного мониторинга. Популяционные исследования важны и для оценки, так называемого, терапевтического диапазона концентраций лекарственного препарата (и/или его «активного» метаболита), в пределах которого наиболее вероятно проявляется желаемый терапевтический эффект с минимальной вероятностью побочного действия [5].

Таким образом, из вышесказанного следует необходимость проведения ФК исследований как на этапе создания нового фармакологического вещества и оптимизации его лекарственной формы, так и при разработке оптимальных, рациональных схем применения известных лекарственных средств, в особенности с низкими значениями терапевтических индексов.

ОРГАНИЗАЦИЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Любое ФК исследование состоит из двух главных этапов: биоаналитического метода и собственно расчетов ФК параметров. В свою очередь биоаналитический метод включает в себя два компонента: а) подготовку образца — экстракция лекарственного вещества и/или его метаболита (ов) из биологической матрицы и б) детектирование соединения обычно после хроматографического отделения от других компонентов, присутствующих в биологическом экстракте.

Подготовка образца к анализу преследует три основные цели: растворение анализируемого вещества в соответствующем растворителе, удаление максимально возможного количества мешающих определению веществ и концентрирование анализируемого соединения. Пробоподготовку проводят с использованием таких процедур, как осаждение белков, экстракция «жидкость-жидкость», твердофазная экстракция.

Вышеперечисленные процедуры определяют перечень требуемого оборудования, квалификацию и компетентность персонала лаборатории.

Прежде всего, фармакокинетическая лаборатория должна размещаться в помещениях, соответствующих санитарным нормам, предъявляемым к аналитическим, биохимическим и токсикологическим лабораториям. Во всяком случае, должны быть отдельные помещения для пробоподготовки, анализа проб, хранения реактивов, проведения расчетов и т. д.

Для выполнения поставленных задач может использоваться любое аналитическое оборудование, позволяющее проводить адекватное детектирование анализируемого соединения, и с помощью которого можно получить достоверные и воспроизводимые данные. С середины 1980-х годов наибольшее распространение в биоанализе лекарственных веществ получила высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). До этого методом выбора была газожидкостная хроматография (ГЖХ). Причиной для быстрого распространения ВЭЖХ послужило то обстоятельство, что детектируется непосредственно анализируемое вещество в его исходном физико-химическом виде. В ГЖХ необходимо чтобы изучаемое соединение находилось в летучем состоянии, так как разделение проходит в газовой фазе и ключевым фактором для разделения служит различие между анализируемыми веществами в их сродстве к газовой подвижной и жидкой стационарной фазам. Часто, для облегчения этого процесса, требуется дериватизация исследуемого соединения с образованием более летучей формы. Например, кислоты часто требуется химически модифицировать до образования летучих эфиров. Это требование часто приводит к созданию трудновыполнимых, многостадийных методик, вызывающих трудности у неопытного аналитика. Кроме того, для ГЖХ требуются высокие температуры, что ограничивает применение метода для термически нестабильных веществ.

С другой стороны, разделение веществ в ВЭЖХ обычно проводится при комнатной или чуть выше температурах в жидкой фазе и, главными требованиями, предъявляемыми к исследуемому соединению, являются растворимость вещества в подвижной фазе и сродство к твердой стационарной фазе. Относительная сила аффинитета анализируемых веществ к каждой из фаз и определяет разделяющую способность.

Другим фактором, определяющим распространение ВЭЖХ в биоанализе, является тип детектора, который мог бы использоваться для широкого круга веществ и был бы совместим с ВЭЖХ. Самым очевидным примером служит детектор, основанный на поглощении ультрафиолетового света веществами, имеющими в своей структуре хромофорные группы. Также большое распространение получили флуоресцентные и электрохимические детекторы. В последние годы большую популярность получили комплексы с масс-спектрометрическим детектором.

Не следует забывать, что в некоторых случаях могут потребоваться специфические методы детектирования исследуемых соединений. Это микробиологические, иммунологические, радиоизотопные методы, полярография, капиллярный электрофорез и др.

Поскольку диапазон концентраций анализируемых веществ в биоматериале колеблется от 10^{-6} до 10^{-12} г и ниже, то к чистоте используемых реактивов и растворителей предъявляются особые требования. Так, растворители должны иметь квалификацию не ниже, чем «для хроматографии».

ФК исследования различаются и по количеству получаемой ФК информации, соответственно различные математические подходы и различные программные средства используются для ее обработ-

ки. Этот вопрос подробно освещается в следующей статье: «Программное обеспечение для анализа данных ФК/ФД исследований (И. Б. Бондарева).»

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под ред. Хабриева Р.У.) Москва, «Издательство «Медицина», 2005; 217-229.
2. Жердев В. П., Кольванов Г. Б., Литвин А. А. Корреляция in vitro-in vivo: может ли тест «Растворение» заменить исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов? Фарматека 2003; 3: 109-111.
3. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания Минздрава и соцразвития РФ. Клинич фармакокинетика 2005; 1: 2: 2-15.
4. Белоусов Ю. Б., Моисеев В. С., Лепахин В. К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. Москва, Универсум, 1993; 297.
5. Сергиенко В. И., Джелифф Р., Бондарева И. Б. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение. Москва, Изд. РАМН, 2003; 208.

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

В связи с растущим интересом к фармакокинетическим исследованиям, к созданию новых лабораторий фармакокинетики и к совершенствованию качества имеющихся, редколлегия журнала планирует открытие новой специальной рубрики, посвященной этим вопросам.

Приглашаем к сотрудничеству всех заинтересованных лиц. Мы также хотели бы видеть на страницах журнала ваши публикации о работе ФК—лабораторий в разных регионах.

Такая информация позволила бы специалистам обмениваться опытом, а пользователям — лучше узнать возможности фармакокинетического сервиса.

Редколлегия

Лаборатория клинической (прикладной) фармакокинетики: стандартизация, аккредитация и лицензирование

И. В. Сарвилина, Д. Г. Матишов, Ю. В. Горшкова

Междисциплинарная аналитическая лаборатория,
Подразделение клинической фармакокинетики Южного научного центра
Российской академии наук, г. Ростов-на-Дону

Современный этап развития фармакологии и, в том числе клинической фармакологии ознаменован новейшими открытиями, связанными с расшифровкой генома человека и появлением мощного научного оборудования, раскрывающего материальную основу и факторы предрасположенности к заболеваниям, механизмы их развития на биомолекулярном уровне, генетическую зависимость кинетики и действия лекарственных средств в организме человека с различными нозологиями. Новые данные научных исследований в области молекулярной биологии и медицины являются мощным толчком для создания оригинальных фармакологических средств. Сегодня наиболее интересные результаты появляются в области фармакогеномики, протеомики, биоинформатики [1]. Многие фармакогенетические феномены, наблюдающиеся при применении лекарственных препаратов, отражаются в фармакокинетических процессах.

Исследования в области клинической (прикладной) фармакокинетики во всем мире проводятся лабораториями прикладной фармакокинетики (*W. Roger Jelliffe, Lewis Sheiner, 1979, W. E. Evans, 1999*). В нашей стране был сделан первый шаг к созданию нормативной базы для формирования и функционирования лабораторий клинической фармакокинетики и фармакогенетики [5,10].

Необходимо отметить, что первые данные об аномальных реакциях ацетилирования и окисления в метаболизме лекарств появились еще в 80-е годы (Кукес В. Г., Фисенко В. П.). На кафедре клинической фармакологии РГМУ г. Москвы (зав. кафедрой клинической фармакологии РГМУ — член-корр. РАМН, профессор, д. м. н. Ю. Б. Белоусов) А. В. Соколовым разработаны методы определения в крови человека основных антиконвульсантов на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), которые являются базой для индивидуального дозирования данной группы лекарственных средств.

Сегодня в России не существует ни одной аккредитованной и лицензированной по данному направлению

лаборатории. Одновременно, в соответствии с Федеральным Законом «О лекарственных средствах» проводятся клинические испытания лекарственных средств по правилам GCP [7,12], результаты которых могут являться мощной базой для оценки индивидуальной чувствительности организма пациентов с различной патологией к лекарственным средствам, включая фармакокинетические основы индивидуальной чувствительности. Эти исследования, проводящиеся по традиционному дизайну, не являются популяционными и не отражают межиндивидуальной и внутрииндивидуальной вариабельности значений фармакокинетических параметров, распределения фармакокинетических параметров в популяции пациентов, влияния на фармакокинетику различных демографических и физиологических показателей (пол, возраст, курение, наличие почечной и печеночной дисфункции), взаимодействия препаратов при их совместном применении, изменения фармакокинетических параметров во времени, а также не выявляют подгруппы пациентов с необычными значениями фармакокинетических параметров. Поэтому освоение и внедрение в клиническую практику оборудования, отвечающего лучшим мировым стандартам, и проведение исследований индивидуальной чувствительности к лекарственным препаратам, применяющимся пациентами как длительное время (антиконвульсанты, гипотензивные, антиаритмические, сахароснижающие лекарственные средства), так и короткими курсами (антибактериальные, противогрибковые, антигистаминные лекарственные средства) с последующей оценкой клинического значения, наличия полиморфизма ферментов, отвечающих за процессы окисления, ацетилирования, метилирования лекарственных средств в организме пациентов, являются крайне актуальными задачами.

Особой проблемой при проведении фармакокинетических исследований представляется отсутствие единых правил для их выполнения, гармонизированных с правилами качественной лабораторной практики (GLP) [8,14], и соответствующего оборудования.

Нерешенным вопросом по-прежнему остается несоответствие лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке России, требованиям государственных стандартов [3,11], что существенно усложняет проведение фармакокинетических исследований.

Важно отметить, что уже сегодня методы «доказательной медицины» должны стать основополагающими при формировании режимов индивидуальной терапии, назначении индивидуальных доз лекарств у особых групп пациентов: новорожденных, детей, пожилых пациентов, беременных женщин, пациентов с судорожными состояниями, пациентов, проходящих процедуру диализа, пациентов, получающих комбинированную терапию. Как показывает ежедневная клиническая практика, данные группы пациентов не могут получать «средние дозы» лекарственных препаратов без снижения эффективности и уровня безопасности проводимой терапии по причине межиндивидуальной вариабельности показателей процессов всасывания, распределения и элиминации лекарственных препаратов.

В Южном научном центре РАН (г. Ростов-на-Дону) в марте 2003 года создана Междисциплинарная аналитическая лаборатория, основным направлением деятельности которой является исследование индивидуальной чувствительности к лекарственным средствам в условиях патологии. Данное направление изначально подразумевало развитие подразделения клинической фармакокинетики. Приобретая опыт в создании лаборатории прикладной фармакокинетики, на настоящий момент считаем, что она предполагает развитие 5 составляющих:

- **научной составляющей** — исследования *in vivo* индивидуальных фармакокинетических процессов, соединение информации о фенотипических проявлениях действия лекарства с генотипом, создание методов визуализации биомолекулярных процессов в биологических жидкостях и тканях организма человека, происходящих на фоне приема лекарственных средств;
- **технологической составляющей** — усовершенствование методов пробоподготовки для проведения фармакокинетических и фармакогенетических исследований; создание единой технологической платформы для проведения исследований по клинической (прикладной) фармакокинетики и фармакогеномике; оптимизация методов клинических исследований лекарственных средств, в частности, I-II фазы, с уменьшением сроков исследований; создание новых пакетов программного обеспечения по биоинформатике, создание баз данных побочных эффектов, генотипов и фенотипов, определяющих индивидуальную чувствительность к лекарственным препаратам в популяциях пациентов; разработка новых лекарственных средств;
- **медицинской составляющей** — создание системы терапевтического лекарственного мониторинга

(ТЛМ), ранняя диагностика побочных эффектов лекарственных средств, развитие идеологии и создание режимов индивидуальной терапии; развитие профилактической фармакологии;

- **социальной и стратегической составляющей** — сокращение расходов на занятость госпитального фонда, расход лекарств, трудопотери по причине болезни в связи с повышением эффективности и безопасности терапии, улучшение качества жизни пациентов; создание новой конкурентноспособной системы оценки эффективности и безопасности терапии заболеваний.

Одним из основных вопросов, который стоял при формировании лаборатории, являлся вопрос о выборе оборудования для выполнения клинко-фармакокинетических исследований. В качестве методов клинко-фармакокинетических исследований рассматривались газожидкостная хроматография, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, газожидкостная хроматография/масс-спектрометрия, иммунные, радиологические методы. На сегодняшний день уникальное оборудование Междисциплинарной аналитической лаборатории включает: ВЭЖХ (Surveyor Autosampler) /масс-спектрометр (MSQ Surveyor, фирма Thermo Finnigan, США), ИК-Фурье-спектрометр (фирма Perkin Elmer, США), спектрофотометр Unico 1201 (США). Вышеперечисленное оборудование соответствует основным требованиям и критериям выбора методов исследования: чувствительность; специфичность; прогностическая ценность; отношение правдоподобия; безопасность метода; степень доступности; стоимость метода исследования с учетом капитальных затрат, текущих прямых и косвенных расходов; соотношение «стоимость/эффективность» [4].

Функционирование лаборатории прикладной фармакокинетики в Южном научном центре РАН связано с проведением калибровочных операций по каждому фармакопейному образцу (применение внутренних стандартов), разработкой методов пробоподготовки для ВЭЖХ/масс-спектрометрии по направлению «Фармакокинетические исследования лекарственных средств в биологических жидкостях организма человека», освоением уникального научного оборудования, отработкой условий и программы проведения эксперимента, включающих методы подачи образца на хроматографическую колонку, определением показаний к применению определенного типа хроматографической колонки, условиями эксперимента на колонке (давление, скорость потока образца), интерпретацией результатов исследования на основе стандартной программы (в нашей лаборатории Xcalibur, США), учетом дополнительной информации о присутствующих спектрах солей в общей хромато-масс-спектрограмме анализируемой пробы, выявлением, идентификацией новых хромато-масс-спектрометрических пиков и созданием на их основе базы данных Междисциплинарной аналитической лаборатории.

В лаборатории развивается программа компьютеризованного внутрилабораторного и внешнего лабораторного контроля качества проводимых исследований в области клинической (прикладной) фармакокинетики, в частности, ТЛМ. Созданы протоколы количественного химического анализа для процедуры ТЛМ для антиконвульсантов, некоторых гипотензивных, сахароснижающих лекарственных средств, антибактериальных и противогрибковых лекарственных средств.

Существующий опыт создания лаборатории прикладной фармакокинетики показал, что ее эффективная работа невозможна без параллельного развития следующих ключевых звеньев: нормативной базы, чувствительного и специфичного аналитического оборудования, стандартизации методов количественного химического анализа и интерпретации результатов для фармакопейных препаратов, документооборота (отчетные формы) при проведении ТЛМ, информационных технологий, стандартного статистического и экономического анализа деятельности лаборатории, процессов аккредитации и лицензирования, подготовки высококвалифицированных сертифицированных специалистов в области лабораторной диагностики по направлению «клиническая фармакокинетика». Практика показала, что для эффективной работы лаборатории необходима согласованная деятельность специалистов самых различных специальностей — врачей-клинических фармакологов, биохимиков, химиков-аналитиков, математиков.

С нашей точки зрения, Приказ № 494 МЗ и СР РФ должен быть интегрирован в систему нормативной документации стандартизации в здравоохранении (1997-2003 гг.) согласно принципам создания этой нормативной документации, а именно, принципам согласия, единообразия, значимости, актуальности, комплексности, проверяемости. Необходимо провести большую работу по определению и соответствию направлений деятельности лабораторий клинической (прикладной) фармакокинетики объектам и группам нормативных документов системы стандартизации в здравоохранении. В качестве объектов стандартизации в случае организации лабораторий клинической (прикладной) фармакокинетики должны рассматриваться организационные технологии, медицинские услуги, технологии выполнения медицинских услуг, техническое обеспечение выполнения медицинских услуг, качество медицинских услуг, квалификация медицинского, фармацевтического, вспомогательного персонала, экономические аспекты здравоохранения, учетно-отчетная документация, информационные технологии, юридические и этические аспекты, качество лекарственных средств. Соответственно в качестве групп нормативных документов для функционирования лаборатории клинической (прикладной) фармакокинетики можно рассматривать следующие группы нормативных документов системы стандартизации в здравоохранении:

- **Группа 01.** Общие положения.
- **Группа 02.** Требования к организационным технологиям в здравоохранении.
- **Группа 03.** Требования к техническому оснащению учреждений здравоохранения.
- **Группа 04.** Требования к персоналу.
- **Группа 06.** Санитарно-гигиенические методы контроля.
- **Группа 07.** Требования к медицинской технике и изделиям медицинского назначения.
- **Группа 09.** Классификация и систематизация медицинских услуг.
- **Группа 11.** Требования к оказанию медицинских услуг.
- **Группа 13.** Требования качеству медицинских услуг.
- **Группа 14.** Требования к экономическим показателям в здравоохранении.
- **Группа 15.** Требования к документации в здравоохранении.
- **Группа 16.** Требования к средствам информатизации в здравоохранении.
- **Группа 19.** Юридические и этические нормы и правила в здравоохранении.
- **Группа 21.** Нормы и правила научных исследований в здравоохранении.

В соответствии с нормативной документацией по стандартизации в здравоохранении, которая разрабатывается в России МЗ и СР РФ и НИИ общественного здоровья и управления здравоохранением ММА им. И. М. Сеченова, МОО «Общество фармакоэкономических исследований», необходимым в ближайшем будущем является определение стандартов и разработка стандартных операционных процедур (СОПов) [2].

Расчет оптимальных режимов дозирования с учетом данных ТЛМ на основе ВЭЖХ/МС-анализа возможен только с помощью подходящего математического и программного обеспечения. На сегодняшний день для унификации процесса клинко-фармакокинетического исследования расчет индивидуальных параметров клинической фармакокинетики может выполняться на основе полученного в ходе ВЭЖХ/МС-анализа цифрового значения концентрации лекарственного препарата в биологической пробе с помощью лицензионной программы по прикладной фармакокинетике USC*PACK (США) в процессе рутинно проводимой процедуры ТЛМ. В программе ADAPT II рассчитываются значения оптимальных моментов последующих измерений концентрации лекарственных средств в биологических жидкостях в популяции пациентов с конкретным заболеванием. В нашей лаборатории разрабатываются новые информационные технологии для выполнения исследований в области прикладной фармакокинетики. Создание базы данных предполагает объединение результатов клинко-фармакокинетических исследований, проводимых в регионе, а также современных методов исследования и данных современной медицинской литературы. Проводится размещение результатов проводимых клинических

и биоаналитических исследований, рекомендаций по выбору и применению оптимальных медицинских технологий в электронных и печатных средствах массовой информации. Важные итоги по разработкам в области новых информационных технологий представлены на сайте Южного научного центра РАН и сайте лаборатории (www.ssc-ras.com, www.rostovlab.com).

Опыт работы показывает, что проблема безопасности применения лекарственных средств тесно связана с выполнением исследований по прикладной фармакокинетике. Индивидуальная переносимость лекарственных средств различных групп у пациентов в нашей лаборатории оценивается в соответствии с разработанной оригинальной компьютерной программой «Регистрация побочных эффектов ПЭ» на основе карт-извещений о побочных реакциях лекарственных средств, в которых регистрировались известные на сегодняшний день побочные эффекты при назначении лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Южного федерального округа [6].

Конечной целью исследований в области прикладной фармакокинетики является индивидуализация режимов дозирования лекарственных средств конкретному пациенту с определенным заболеванием и выявление причин побочных эффектов лекарственных средств при назначении их в отсутствие процедуры ТЛМ.

В нашей лаборатории выполняется клинико-экономический анализ высокотехнологичной процедуры ТЛМ с позиции экономических интересов системы здравоохранения, страховых медицинских организаций и отдельных пациентов с целью внедрения эффективной, безопасной и экономически выгодной технологии в практику здравоохранения. В качестве прямых критериев эффективности предлагаемой технологии применялись прямые экономические результаты, заключающиеся в улучшении состояния пациентов, снижении продолжительности терапии, уменьшении периода нетрудоспособности, снижении общей стоимости терапии, связанной с ПЭ. В качестве прямых затрат рассматривались затраты на измерение концентрации лекарственного средства в биологической жидкости и затраты на программный анализ результатов, включающий рекомендации специалиста в области фармакокинетики и клинической фармакологии по оптимизации схемы измерений, интерпретации резуль-

татов и индивидуализации дозирования. В качестве косвенных затрат были учтены затраты на получение пробы крови и другой необходимой клинической информации о пациенте. Основным методом клинико-экономического анализа являлся анализ по критерию «затраты/эффективность» (cost-effectiveness analysis), который подразумевает соотнесение затрат с полученными результатами и сравнение эффективности внедрения новой технологии ТЛМ на основе ВЭЖХ/масс-спектрометрического анализа с технологией «типичной практики» ведения пациентов. В исследовании учитывались затраты на лекарственные средства с учетом дозировок и длительности курса лечения, на медицинские услуги, коррекцию развивающихся побочных эффектов, дополнительное лечение в случае недостаточной эффективности исходной терапии. В качестве дополнительного метода клинико-экономического анализа применялся анализ общей (полной) стоимости технологии. В результате оказалось, что общая стоимость проведения процедуры ТЛМ не превышает 800 рублей. Однако необходимой является долгосрочная экономическая оценка выполненных исследований по прикладной фармакокинетике.

Важным разделом при проведении исследований работ в области прикладной фармакокинетики является разработка биоэтических норм для этого типа исследований [13].

Таким образом, проводимые исследования по прикладной фармакокинетике содействуют повышению качества оказания лекарственной помощи населению на основе разработки рекомендаций по выбору и применению лекарственных технологий на основе системы ТЛМ. Процедура ТЛМ должна стать неотъемлемой частью Протоколов ведения больных. Экономическая целесообразность исследования индивидуальной чувствительности к лекарственным средствам обусловлена повышением эффективности фармакотерапии с исключением побочных действий, что сокращает обусловленные болезнями трудопотери, занятость госпитального фонда, расхода лекарств. Крайне важной сегодня является паспортизация населения по фенотипам восприимающих и метаболизирующих систем на основе результатов последовательных исследований фармакокинетического и фармакогенетического профиля принимаемых лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А. И., Геномика, протеомика и биоинформатика-науки XXI столетия. Медицинская кафедра. М.: 2002; 3: 7-13.
2. Валков А. И., Воробьев П. А., Сура М. В., Авксентьева М. В. Стандартные операционные процедуры процедуры (СОПы) как один из элементов управления качеством медицинской помощи. Проблемы стандартизации в здравоохранении. М.: 2005; 7: 3-6.
3. Государственный информационный стандарт лекарственного средства. Основные положения. Приказ МЗ РФ от 26.03.2001 № 88.
4. ОСТ «ПВБ. Общие положения» 91500.09.0001-1999. Приказ МЗ РФ от 09.08.1999, №303.
5. О совершенствовании деятельности врачей — клинических фармакологов. Приказ № 494 МЗ РФ от 22 октября 2003 г., Приложение N 2, Положение об организации деятельности лаборатории клинической фармакокинетики и фармакогенетики.
6. Письмо Департамента государственного контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники Минздрава России от 26 июля 2001 г. №291-22/91 «О неблагоприятных побочных реакциях лекарственных средств».
7. Правила клинической практики в Российской Федерации Приказ МЗ и СР Российской Федерации от 19.06.2003, № 266.
8. Правила лабораторной практики в Российской Федерации Приказ МЗ и СР Российской Федерации от 19.06.2003 № 267.
9. Хельсинкская Декларация Всемирной Медицинской Ассоциации: рекомендации для врачей по проведению биомедицинских исследований на людях. Хельсинки. 1964, дополнения 1975, 1983, 1996, 2000.
10. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания. М.: МЗ и СР РФ. 2004 г.
11. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. Приказ МЗ РФ от 29.02.2000, № 28.
12. Федеральный Закон «О лекарственных средствах» №86-ФЗ от 22.06.1998.Собрание законодательства Российской Федерации от 29 июня 1998 г., № 26, ст. 3006; от 13 января 2003 г., № 2 ст. 167; от 10 января 2000 г., № 2, ст. 126; от 7 января 2002 г. (Часть 1), № 1, ст. 2.
13. Этическая экспертиза биомедицинских исследований: практические рекомендации. Под ред. Ю. Б. Белоусова. М. Изд. 1.2005.
14. OECD Principles on Good Laboratory Practice. Документы Организации за экономическую кооперацию и развитие. 1998.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

В рамках XIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 3-7 апреля 2006 г.) планируется проведение семинара **«ФК/ФД исследования: от создания новых лекарственных средств до клинической практики»** с участием ведущих российских специалистов в области фармакокинетики и профессора Роджера Джеллиффа, директора лаборатории прикладной фармакокинетики Университета Южной Калифорнии (США).

Во время этого Конгресса планируется также проведение ежегодного семинара-обучения на тему: **Принципы фармакокинетики и популяционное ФК/ФД моделирование. Приложение к оптимизации терапевтического лекарственного мониторинга и индивидуализации фармакотерапии.**

Председатель: **Роджер Джеллифф (США)**

Семинар может быть интересен как специалистам, занимающимся фармакокинетическими/фармакодинамическими (ФК/ФД) исследованиями, так и врачам, сталкивающимся с процедурой терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) и проблемой индивидуализации дозирования лекарственных препаратов в клинической практике. Особое внимание будет уделено **вопросам практического применения методов популяционного моделирования ФК/ФД для индивидуализации фармакотерапии (антибиотики, противосудорожные препараты, сердечные гликозиды, препараты для химиотерапии и др.)**. Возможны **индивидуальные консультации** по вопросам планирования и анализа данных ФК/ФД исследований.

По окончании работы семинара слушателям будут выдаваться **удостоверения о краткосрочном повышении квалификации**

Справки по телефонам: (495) 5003742 или 1041206

Ирина Борисовна Бондарева

(e-mail: i_bondareva@yahoo.com)

Программное обеспечение для анализа данных ФК/ФД исследований

И. Б. Бондарева,

НИИ физико-химической медицины, г. Москва

Программное обеспечение для анализа данных ФК/ФД исследований можно условно классифицировать в соответствии с решаемыми задачами. При анализе данных ФК/ФД исследований выделяются два основных подхода: модельный или камерный (компаратментный), и некамерный (некомпаратментный). При модельном подходе в общем виде поведение ФК/ФД модели описывается системой дифференциальных уравнений динамики с постоянными коэффициентами или коэффициентами, зависящими, например, от времени (нелинейная зависящая от времени ФК). Таким образом, удается моделировать изменение количества препарата в различных камерах (компаратментах) выбранной модели в любой момент времени после начала введения препарата в организм. Модельный подход также может применяться для объединения ФК и ФД модели путем введения фиктивного компартмента эффекта. Это позволяет генерировать следующую цепочку: введение дозы препарата приводит к созданию ФК профиля в камерах ФК модели, что в свою очередь, приводит к созданию определенного ФД эффекта. Некомпаратментный подход основан на расчетах статистических моментов измеренного ФК профиля, который рассматривается как аналог статистической плотности вероятности. Некомпаратментный подход часто ошибочно называют «немодельным», на самом деле в его основе тоже лежит модель — предполагается, что изучаемая субстанция вводится прямо в и элиминирует прямо из центрального измеряемого пула (ов). На практике такие условия могут часто выполняться лишь приближенно, использование некомпаратментного подхода приводит к той или иной степени ошибки в оценке ФК параметров в зависимости от степени отклонения от данного допущения. Два других общих предположения также ограничивают практическое применение некомпаратментного подхода: система (организм, в который вводится препарат) линейна (принцип суперпозиции) и стационарна, или не зависит от времени (ФК параметры не зависят от момента введения препарата в систему).

С точки зрения математики, в области ФК и ФД можно выделить следующие основные задачи:

- идентификация неизвестных параметров ФК/ФД модели по имеющимся измерениям (parameter identification);
- построение ФК/ФД профилей (изменение концентрации препарата или фармакологического ответа во времени) на основе выбранной модели по имеющимся значениям ФК/ФД параметров (simulation);
- физиологическое моделирование (перфузионные ФК модели, physiologically-based modeling);
- некомпаратментный подход к оценке ФК/ФД параметров на основе метода статистических моментов (noncompartmental analysis based on the theory of statistical moments);
- популяционное моделирование (population modeling);
- расчет индивидуального начального режима дозирования и его корректировка (individualizing dosage regimen);
- обучение (education course).

Некоторые из имеющихся программных продуктов в области ФК/ФД моделирования созданы для решения одной из перечисленных задач, другие представляют собой пакет программ для решения комплекса задач. В каждой категории можно найти несколько программных продуктов, отличающиеся удобством интерфейса, способом задания моделей (задание структуры с последующей генерацией системы модельных дифференциальных уравнений программой автоматически или написание системы уравнений самим пользователем на языке программирования), математическими методами решения и т.п. Кроме того, в настоящее время авторы многих известных пакетов прикладных программ для математического моделирования и статистики включают в их состав новые модули для динамического моделирования, которые могут успешно применяться для ФК/ФД моделирования (например, MATLAB-Simulink, The MathWorks, Inc:

<http://www.mathworks.com/> M LAB, Civilized Software, Inc: <http://www.civilized.com/>). Мы назовем лишь некоторые наиболее известные программы для каждой категории.

Решение задачи идентификации неизвестных параметров ФК/ФД модели по измерениям концентрации зависит от числа имеющихся наблюдений. В области ФК/ФД моделирования большие проблемы возникают из-за этических и физиологических ограничений получения измерительной информации: измерения концентрации препарата, в основном крови, при малом числе проб крови. Традиционные методы идентификации параметров модели применимы ТОЛЬКО, когда число измерений у каждого субъекта не меньше числа имеющихся измерений. Минимальная структура традиционной линейной ФК модели для внутривенного введения предполагает наличие двух ФК параметров: кажущегося объема распределения и константы скорости выведения. Если модель дополняется компартментом абсорбции препарата, добавляется третий параметр — константа скорости всасывания. Значит, для идентификации такой модели потребуется уже три измерения концентрации препарата в разные моменты времени. В случае линейной двухкамерной модели добавятся еще два скоростных параметра обмена между центральной и периферической камерой. Таким образом, традиционные процедуры (например, метод наименьших квадратов) не применимы для крайне ограниченных данных ФК скрининга или данных терапевтического лекарственного мониторинга. В этом случае применимы байесовские методы, позволяющие включать в анализ априорные данные. На применяемые методы идентификации параметров нужно обращать особое внимание при выборе ФК/ФД программы. Так, например, программы *Boomer* и *MultiForte* (для Macintosh и IBM PC, цена приблизительно 40 долларов) в основном используют традиционные методы нелинейной регрессии и наименьших квадратов (обычный и взвешенный). Они позволяют решать как первую, так и вторую задачу. В программе *MultiForte* структура модели (дифференциальные уравнения кинетики препарата) задается с помощью модификации подпрограммы, написанной на языке программирования Fortran, а в программе *Boomer* — с помощью выбора специфических параметров (константы скорости переноса, константы скорости выведения и абсорбции, объем распределения и т. п.), после чего дифференциальные уравнения кинетики генерируются программой автоматически. Для идентификации параметров могут использоваться также программы SAAM30 и CONSAM, позволяющие выполнять нелинейный регрессионный анализ. Модель специфицируется с помощью задания параметров и написания уравнений произвольной формы.

Программы *Pharmacokinetic Simulation* (для Apple II computer), *Maxsim* (IBM PC, 70 фунтов), *Mupharm* — *Human Drug Kinetics* (IBM PC, 100 фунтов), *MacDope* (Mainframe computer) позволяют решать вторую зада-

чу — рассчитывать ФК/ФД профили по выбранной структуре модели, заданному набору значений параметров и режиму дозирования препарата.

Некоторые пакеты программ позволяют решать как первую, так и вторую задачи. К таким программам относятся, например, *PharMod* (IBM PC, 200 фунтов), *PKAnalyst for Windows* (требуется Pentium II или эквивалентный процессор, цена 495 долларов), *ADAPT II* (VAX/VMS, DOS, SUN/UNIX). Так, *PKAnalyst for Windows* (info@micromath.com) включает порядка 12 встроенных ФК моделей, может вычислять микроконстанты компартментных моделей, анализировать кинетику насыщения Михаэлиса-Ментен, позволяет задавать болюсное введение, а также введение как процесс первого или нулевого порядка для конечных и бесконечных периодов времени. Программа дает возможность включать в анализ ФД зависимости, задаваемые сигмоидной функцией (Emax-модель эффекта). Идентификация параметров, статистический анализ данных, построение графиков осуществляются с помощью удобного пользовательского интерфейса. Пакет *ADAPT II* (автор David Z. D'Argenio, <http://bmsr.usc.edu/software/Adapt>) включает программы для нелинейного регрессионного анализа (задача идентификации параметров), программа для решения второй задачи позволяет моделировать ФК/ФД профили как без шума, так и с включением в систему случайной составляющей. Модель задается с помощью подпрограммы на языке Fortran. Пакет позволяет получать оценки параметров модели на основе метода максимального правдоподобия, включены также возможности байесовского подхода для работы с ограниченными ФК/ФД измерениями. Важной особенностью этого пакета является наличие программы для расчета оптимального дизайна ФК/ФД исследований (наиболее информативные моменты времени измерения концентрации препарата для получения максимальной информации о процессе с помощью минимального числа проб).

Известны программные продукты, созданные специально для обучения основам фармакокинетики. Среди них программы *Kinetics Workshops* (цена порядка 50 фунтов), *PK Tutor Pharmacokinetic Teaching Software* *New Pharmacokinetics Tutorial* (IBM PC или Macintosh с версией Excel 5.0 и выше, www.SummitPK.com и www.PKTutor.com). Такие программы с помощью пользовательского интерфейса позволяют знакомиться с основными принципами фармакокинетики, положениями и формулами. Задавая различные значения ФК/ФД параметров, изменяя режим дозирования, пользователь может, например, наблюдать на экране изменение формы моделируемого ФК/ФД профиля. Появляется возможность визуально оценить, к чему приводят корректировки режима дозирования у «пациента» (с заданными значениями пола, возраста, массы тела, роста, почечной и печеночной функции и т. п.), а также как особенности пациента влияют на фармакокинетику препарата. Таким образом, базовым

концепциям фармакокинетики пользователь обучается, экспериментируя с соотношением доз — интервал дозирования, варьируя показатели абсорбции (константа скорости абсорбции, биодоступность), распределения (объем распределения, показатели связывания белками) и элиминации (например, клиренс), выбирая структуру ФК модели из имеющейся базы данных, сравнивая получаемые при этих изменениях профили концентрации препарата. Более подробно выбор программы для обучения фармакокинетики обсуждается в статье *Charles B.G., Duffull S.B.* (Pharmacokinetic Software for the Health Sciences: Choosing the Right Package for Teaching Purposes. *Clinical Pharmacokinetics* 2001; 40: 6: 9: 395-403).

Среди программ для расчета доз на основе традиционных ФК моделей и известных ФК соотношений для стационарного состояния, так называемых «калькуляторов доз», можно назвать PkCalc2 — Pocket PC Pharmacokinetics (цена порядка 40 долларов, www.RegSoft.com), PharmaCalc (www.pharma.elhz.ch/intitute_groups/biopharmacy/teaching/pharma_calc). Такие программы (calculator-simulators) с использованием встроенных ФК моделей, реализуя стратегию «а что, если», позволяют рассчитывать и корректировать дозы с учетом заданных характеристик пациентов (пол, возраст, масса тела, рост, почечная и печеночная функция и т. п.). Расчет доз может вестись на основе эмпирических соображений и для достижения определенного уровня концентрации (терапевтическая цель). Базы данных обычно включают средние значения ФК параметров для большого списка лекарственных препаратов, требующих индивидуализации дозирования.

Несмотря на относительную простоту однокамерной или двухкамерной модели фармакокинетики, они адекватно описывают всасывание, распределение и выведение достаточно большого числа лекарственных препаратов, что позволяет широко использовать их в практических приложениях. Но эти модели оказываются неприменимыми во многих ситуациях, например, если препарат быстро метаболизируется ферментами в желудочно-кишечном тракте, печени и легких (органы первого прохождения), или в ситуации, когда препарат возвращается в желудочно-кишечный тракт в результате обратной диффузии из крови или билиарной экскреции. Кроме того, простейшие модели не могут применяться для адекватного описания фармакокинетики метаболитов, которые быстро выводятся различными органами. С помощью простейших моделей невозможно также описать физиологические системы со значительными различиями в концентрациях в различных органах и тканях. В этих ситуациях необходимо рассматривать перфузионные модели. Перфузионные, или физиологические, модели являются физиологически обоснованными, при этом организм моделируется в виде совокупности анатомических камер, связанных системой кровообращения. Перфузионные модели основаны на представлении о пропорциональности между скоростью обратимого переноса между кровью

и тканями и интенсивностью кровоснабжения последних. Такой подход позволяет придать камерам реальное физиологическое содержание и ввести параметры, характеризующие процессы распределения препарата в крови и органах на основе физиологической и биохимической информации. События, происходящие в каждом органе, ткани или группе связанных тканей, описываются с помощью таких параметров, как соответствующий объем, показатели перфузии, проницаемости мембран, связывания препарата в крови и тканях и любого процесса выведения. Пакет программ для физиологического моделирования должен решать как первую, так и вторую задачи. Для физиологического моделирования можно использовать следующие пакеты программ, созданные для математического моделирования биологических систем ADAPT II, Biomedical Simulations Resource, USC: <http://bmsr.usc.edu/>; ModelMaker, ModelKinetix: <http://www.modelkinetix.com/>; NONMEM, University of California at San Francisco and Globomax Service Group: <http://www.globomaxservice.com/>; Stella, High Performance Systems Inc: <http://www.hps-inc.com/>; WinNonlin, Pharsight Corp: <http://www.pharsight.com>. Степень, в которой каждая из программ может применяться для физиологического моделирования, определяется ограничениями интерфейса, скоростью вычислений, гибкостью языка моделирования.

Среди пакетов программ для популяционно-го моделирования наиболее известны NONMEM (любой компьютер, на котором может работать программа на языке Fortran77, цена порядка 150 долларов, <http://c255.ucsf.edu>) и USC*PACK (IBM PC, цена 395 долларов, <http://www.lapk.org>). Эти комплексы программ позволяют объединять ФК/ФД данные различных субъектов, имеющих различные характеристики, получавших различные режимы дозирования, с разным числом измерений концентрации (даже с 1-2 измерениями), полученных в разные моменты времени. При выборе программы необходимо обратить внимание на алгоритм расчета популяционной модели. В зависимости от того, задается ли в определении фармакокинетической модели конкретный закон распределения системного шума и параметров модели, подходы к моделированию делятся на параметрический и непараметрический. Так, полный параметрический подход предполагает нормальный закон распределения этих случайных переменных для анализа популяционных ФК данных. В качестве альтернативных распределений также могут рассматриваться t-распределение или линейные комбинации известных (например, нормальных) законов распределения (mixing distribution). Последний тип распределений позволяет описать мультимодальность распределения случайных эффектов. Тем не менее, форма распределения задается до начала анализа данных, о наличии или отсутствии мультимодальности должно быть известно из дополнительных исследований. Непараметрический подход позволяет рассчитывать совместную плотность рас-

пределения параметров модели произвольной формы, зависящей только от имеющихся измерений и максимально правдоподобно их приближающей. Таким образом, появляется возможность более точно оценивать величину межиндивидуальной вариабельности и выявлять подпопуляции пациентов отличающимися значениями ФК/ФД параметров.

NONMEM — нелинейная модель смешанных эффектов (авторы *L. B. Beal, S. L. Sheiner*) — один из наиболее распространенных в настоящее время пакетов программ для популяционного моделирования. Он предоставляет оценки максимального правдоподобия фиксированных эффектов (средние значения популяционных параметров) и случайных эффектов (интраиндивидуальная и межиндивидуальная вариабельность). Кроме того, этот метод позволяет учитывать корреляцию и ковариацию между параметрами, оценивать коэффициенты регрессионных соотношений между популяционными ФК/ФД параметрами и индивидуальными характеристиками пациентов (ковариатами). Достоинством метода смешанных эффектов является возможность анализировать данные рутинного ТЛМ: не требуются стандартизованные схемы дозирования и взятия проб крови, у различных субъектов может быть различное число измерений концентрации, можно обрабатывать данные, содержащие даже одно измерение концентрации препарата у субъекта. Однако этот метод также является параметрическим — предполагает нормальное распределение кинетических параметров в популяции. Программа NONMEM (как и программа USC*PACK) может использоваться, кроме того, для оценки биодоступности препарата по данным ТЛМ у пациентов популяции, получающих препарат внутривенно и/или перорально, для расчета стандартных доз и средних режимов дозирования, для оценки индивидуальных ФК параметров пациента по установленным регрессионным соотношениям. На практике программа NONMEM в основном используется для выявления регрессионных зависимостей ФК параметров от различных ковариат: пол, возраст, почечная функция, масса тела, доза препарата, получаемого вместе с изучаемым, и т. д., и использования в дальнейшем их для оптимизации терапии. Однако обычно с помощью таких соотношений не удается объяснить более 50–60 % наблюдаемой вариации данных.

Непараметрический метод максимизации вероятности — NPEM реализован в программном обеспечении USC*PACK (авторы *R. W. Jelliffe, A. Schumitzky*). Этот метод свободен от предположений о конкретной форме распределения параметров и строит непрерывную совместную плотность распределения параметров, которая становится дискретной после достаточно большого числа итераций. В пределе также стремится к N поддерживающим точкам, представляющим собой наборы индивидуальных значений параметров для N пациентов популяции, с соответствующими значениями их вероятности. Данный алгоритм позволяет анализировать однородность рассматриваемой популяции

и выделять подгруппы пациентов, например, отличающиеся быстрым и медленным метаболизмом препарата, и также может работать с данными, содержащими по одному измерению концентрации препарата у пациента. Основная идея применяемого в данном случае байесовского подхода основывается на модификации теоремы Байеса для непрерывного случая. Начав с априорной плотности распределения параметров модели (обычно равномерное распределение, если нет дополнительной информации), после последовательности шагов алгоритм сходится к оптимальной плотности распределения параметров, наилучшим образом соответствующей имеющимся наблюдениям. Программа предоставляет пользователю все параметрические и непараметрические статистические характеристики результирующего распределения: среднее значение, асимметрия, эксцесс, медиана, мода, квантили, среднее квадратичное отклонение, вариация, корреляционная и ковариационная матрицы и т. д.. Кроме того, на каждом шаге итераций пользователю предоставляется информация о сходимости алгоритма (% расстояния до точки оптимума), об энтропии рассчитанного распределения (как меры неопределенности) и количестве получаемой информации. Считается, что максимальная неопределенность содержится в обычно выбираемом в качестве априорного равномерном распределении. На каждом последующем шаге неопределенность уменьшается. Вычислительные трудности растут с возрастанием сложности модели, в случае нелинейных моделей, а также с ростом размерности модели или данных необходимо применять специальные методы. Кроме того, точность построения искомым плотностей распределения зависит от выбранного числа узлов в сетке, разбивающей пространство параметров модели, а чем более частая сетка выбрана для расчета, тем точнее получаемое распределение. Понятно, что с ростом размерности самой модели и с ростом размерности сетки, на которой строится плотность распределения параметров, значительно растет объем необходимых вычислений. Разработанный в Суперкомпьютерном центре Сан Диего алгоритм адаптивного выбора размерности сетки пространства параметров модели (NPAG) позволил существенно сократить требуемые вычисления без каких-либо потерь в точности оцениваемого распределения (значении функции максимального правдоподобия). Это позволило рассчитать плотности распределения фармакокинетических параметров достаточно сложных и нелинейных моделей на персональном компьютере. Для получения аналитической формы записи таких кинетических моделей может использоваться программа BOXES, которая автоматически генерирует нужную систему дифференциальных уравнений по заданной с помощью пользовательского интерфейса структуре ФК/ФД модели. После компиляции полученной модельной системы уравнений с программным обеспечением можно рассчитать распределения параметров выбранной популяционной модели. Программа BOXES позволяет не только задавать систему уравне-

ний модели, ее можно также использовать для последующего моделирования ФК/ФД профилей. Проблема идентификации параметров модели решается в пакете USC*PASC как с помощью традиционного метода наименьших квадратов для достаточного числа измерений, так и на основе байесовского подхода для данных ТЛМ. В пакет включена также программа MB для назначения начального режима дозирования и его корректировки по данным ТЛМ. При этом измерения концентрации могут проводиться в произвольный момент времени независимо от достижения стационарного распределения. Моменты времени измерений вместе с соответствующими значениями концентрации, вся «история» получения препарата пациентом (способ введения, величина, время получения каждой дозы) и информация о пациенте (пол, возраст, рост, масса тела, показатели почечной функции и т. п.) используются программой в качестве исходных данных для проведения моделирования, идентификации индивидуальных значений ФК параметров и реконструкции на их основе полного ФК профиля. Программа позволяет учесть возможные изменения массы тела пациента, клиренса креатинина или других показателей в ходе моделируемого периода терапии. Кроме того, программа дает возможность врачу задать терапевтическую цель (желаемую максимальную и/или минимальную концентрацию в крови или периферической камере) индивидуально для каждого пациента. После чего программа рассчитывает значения доз, необходимые для достижения и поддержания выбранного коридора концентрации препарата, и прогнозирует ФК профиль концентраций, создаваемых в случае, если рассчитанный программой или скорректированный врачом режим дозирования будет «дан» этому пациенту. При этом появляется возможность не только рассчитывать различные режимы дозирования для достижения различных терапевтических целей, но и на основе ФК/ФД моделирования сравнивать прогноз возможных результатов назначаемой терапии с фармакокинетической и фармакодинамической точек зрения. Популяционная модель используется в этом процессе как априорная информация. Пакет программ включает набор популяционных моделей для большого числа препаратов с узким терапевтическим диапазоном. Основанный на компартментном подходе, USC*PASC позволяет рассчитывать и обычно используемые некомпартментные показатели.

Многофункциональные программы, например KINETICA (Thermo Electron Corporation) и комплекс программ, разрабатываемых фирмой PHARSIGHT CORPORATION, могут использоваться для решения большинства из перечисленных задач. Так, пакет программ KINETICA (www.thermo.com) позволяет работать в широком диапазоне — от традиционной линейной однокамерной модели до популяционного ФК/ФД анализа высокой сложности. Программы позволяют работать с линейными и нелинейными ФК/ФД моделями, учитывать изменения почечной

функции, показателей абсорбции, степени связывания белками, ферментативной кинетики. Можно использовать данные *in vivo* и *in vitro* исследований, тестов на растворимость. Пакет включает программы для оценки параметров модели по имеющимся измерениям, генерации ФК/ФД профилей, созданию баз ФК/ФД данных, некомпартментного анализа, расчета популяционных моделей, идентификации соотношений между ФК/ФД параметрами и ковариатами, исследований биоэквивалентности. Предусмотрены процедуры для выявления резко отличающихся и восстановления пропущенных измерений. KINETICA — одна из первых программ своего класса, включившая в свой состав модуль для тестирования внутренней и внешней валидности популяционной модели. Программы допускают обмен данными с Microsoft Excel и ASCII файлами, данные также могут извлекаться из Oracle-баз данных. Однако модуль для популяционного моделирования включает параметрический алгоритм для расчетов популяционной модели (the EM algorithm), хотя он и обладает наилучшими характеристиками среди параметрических методов.

Комплекс программ, разрабатываемый фирмой PHARSIGHT CORPORATION (<http://www.pharsight.com>), включает программу для ФК/ФД моделирования WinNonLin (компартментный и некомпартментный подход к анализу данных, регрессионный анализ, моделирование ФК/ФД профилей, анализ данных исследований биоэквивалентности), программу WinNonMix для популяционного моделирования. WinNonMix — программа для реализации нелинейной модели смешанных эффектов (параметрический подход) с удобным Windows-интерфейсом (похожий на интерфейс программы WinNonLin). Пользователь может выбрать ФК/ФД модель из имеющейся библиотеки или задать ее самостоятельно. WinNonMix позволяет работать с данными, состоящими из минимального набора измерений для каждого субъекта. Программа оценивает как фиксированные, так и случайные эффекты, пользователь может также проанализировать влияние фиксированных эффектов, таких как демографические характеристики, факторы среды на распределение модельных параметров. WinNonMix дает возможность проводить полный анализ ФК/ФД данных, включая статистические процедуры и методы визуализации. Pharsight предоставляет пользователю интегрированное решение проблемы анализа, хранения ФК/ФД данных, представления получаемых результатов в области клинической фармакологии.

Здесь представлены лишь некоторые программные продукты, применяемые для анализа данных ФК/ФД исследований. Спектр существующих в этой области программ значительно шире, а мы лишь попытались в общем виде наметить стратегию выбора такой программы пользователем в зависимости от совокупности задач, возникающих в ходе деятельности.

Модификация фармакокинетики наночастиц сурфактантом

А. Б. Еслямханов, И. Н. Скидан, С. Э. Гельперина,
Т. Н. Скидан, А. Е. Гуляев

Казахстанский медицинский институт, Алматы, Казахстан

*Наночастицы являются перспективной транспортной формой для ряда лекарственных препаратов, в том числе и фотосенсибилизаторов, предназначенных для фотодинамической терапии рака. В статье приводятся результаты попытки изменения типичной фармакокинетики фотосенсибилизатора (Фотосенс), ассоциированного с наночастицами поли-*n*-бутилцианоакрилата при обработке наночастиц сурфактантом плуроник F68. Эксперименты проведены на 52 белых неинbredных крысах. Препараты вводили однократно в хвостовую вену крыс в дозе 15 мг/кг. Под влиянием сурфактанта существенно меняется фармакокинетика фотосенсибилизатора. Продлевается время циркуляции препарата в крови крыс, существенно снижается накопление фотосенсибилизатора в органах, содержащих большое количество макрофагальных элементов, главным образом в печени и селезенке — основных органах-мишенях наночастиц. Можно констатировать существенное перераспределение фотосенсибилизатора, вводимого в составе модифицированных наночастиц, в организме крыс.*

ВВЕДЕНИЕ

Доказательства преимущественного накопления наночастиц (НЧ) в тканях, содержащих большое количество макрофагальных элементов — системе мононуклеарных фагоцитов (СМФ), можно найти в многочисленных работах. Так, например, классическое распределение НЧ в организме у крыс выглядит по *J. Kreuter* [1] следующим образом: в печени находится 60 — 90 %, в селезенке 2 — 10 %, в легких 3 — 20 %, в костном мозге — менее 1 % от введенной дозы частиц.

Поскольку прогностическая ценность экспериментальных исследований во многом совпадает с той картиной, которая наблюдается в клинике, то можно предположить, что высокое депонирование НЧ в печени или других органах СМФ может существенно ограничить возможность их клинического применения и приводить к усилению токсичности ассоциированных с НЧ лекарственных соединений. С другой стороны, показано, что захвату НЧ клетками предшествует процесс опсонизации, т.е. адсорбции белков крови на поверхности частиц. Одним из способов снижения адсорбции белков является покрытие (модификация) поверхности НЧ поверхностно-активными веществами (ПАВ), в результате чего достигается, так называемая, «стерическая» стабилизация частиц [2]. Стерическая стабилизация способствует повышению стабильности и времени циркуляции, а также регулированию распределения НЧ в организме.

В этой связи представилась возможность целенаправленно изменить фармакокинетику НЧ в организме крыс путем модификации их поверхности биосовместимым ПАВ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Фотосенс (ФС) представляет собой смесь определенного состава натриевых солей ди-, три- и тетрасульфопроизводных фталоцианина алюминия. (препарат синтезирован и любезно предоставлен д. х. н. Е.А. Лукьянцом и к. х. н. В.М. Дергачевой, ГНЦ РФ «НИОПИК», Москва). Для включения ФС в наночастицы использовали модифицированный метод *P. Couvreur* [3]. Средний размер частиц, определенный методом лазерного светорассеяния (Nano-sizer N4MD, Coulter Electronics, U.K.), составлял 300 нм. Степень включения ФС в частицы рассчитывали как отношение разности между исходной концентрацией в реакционной смеси и концентрацией свободного вещества в супернатанте к исходной концентрации. Концентрацию свободного ФС определяли спектрофлуориметрическим методом (Spectrofluorimeter FP-550 Jasco, Japan) в супернатанте после осаждения НЧ центрифугированием при скорости 40000 об/мин в течение 40 мин (Ultracentrifuge L8-60M Beckman, U.S.A.). Степень включения ФС составляла 70 %.

Для модификации поверхности НЧ использовали плуроник F-68 (П-68). Модификацию поверхности

НЧ плуроником F-68 осуществляли следующим образом: к водной суспензии НЧ, содержащих препарат добавляли П-68 до конечной концентрации 1%. Смесь выдерживали в термостате при 37°C 30 минут, после чего НЧ вводили экспериментальным животным.

Опыты проведены на 52 белых неинбредных крысах самцах массой 180-230 г (питомник Казахского медицинского института (Алматы) и РАМН «Крюково»). Препараты вводили однократно в хвостовую вену крыс в дозе 15 мг/кг. В опыт были включены 2 группы животных по 5 особей в каждой. Крысы первой группы получали Фотосенс, ассоциированный с наночастицами (ФЦ-НЧ). Животные второй группы получали Фотосенс, ассоциированный с наночастицами в присутствии 1% плуроника F-68 (ФЦ-НЧ+П68). Через 10 мин; 0,5; 1; 3; 6; 9; 15; 24 и 48 ч опытных животных умерщвляли путем декапитации. В опыте изучали кинетику распределения ФЦ-НЧ и ФЦ-НЧ+П68 в крови, печени, легких, селезенке, почках, мышечной ткани, коже, сердце и головном мозге. Образцы печени для исследования брали во всех случаях из края левой латеральной доли. Также для исследования брали правое полушарие головного мозга. Лоскут кожи вырезали со спины, а мышечную ткань из задней конечности — четырехглавую мышцу бедра. Остальные органы для гомогенизации — правую почку, легкие, сердце, селезенку в опыте использовали полностью. Органы отделяли, промывали фосфатно-солевым буфером (рН 7,2), взвешивали, прибавляли 3 мл 1% раствора додецилсульфата натрия (Serva) и гомогенизировали. В гомогенат ткани добавляли 7 мл того же раствора, инкубировали 60 мин при 37°C и центрифугировали 30 мин при скорости 5000 об/мин. Из супернатанта отбирали 250 мкл гомогената ткани или 50 мкл плазмы крови и доводили объем пробы до 3 мл смесью диметилформамид — ацетон (1:1) для растворения частиц. Концентрацию ФС определяли спектрофлуориметрическим методом (Spectrofluorimeter FP-550 Jasco, Япония) при длине волны возбуждения 680 нм и длине волны испускания 685 нм.

Для характеристики фармакокинетики препаратов в крови и органах крыс рассчитывали интегральный показатель — площадь под фармакокинетической кривой (AUC). Для характеристики эффективности про-

никновения препаратов из крови в ткань рассчитывали коэффициент тканевой доступности f как отношение AUC данной ткани к AUC крови [4]. Расчеты проводили по программе FARM (Л. Е. Холодов, В. В. Дорохов, 1989). Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В начальной фазе распределения (α -фазе) уровень ФЦ-НЧ+П68 в крови был в 1,2-1,7 раза выше уровня препарата сравнения (ФЦ-НЧ). В промежутке между 9 и 15 часами не установлено достоверной разницы между исследуемыми вариантами Фотосенса. Через сутки после введения концентрация ФЦ-НЧ+П68 была выше концентрации ФЦ-НЧ более чем в 2 раза ($p < 0,05$). К исходу вторых суток уровень ФЦ-НЧ+П68 превышал уровень ФЦ-НЧ примерно в 5 раз ($p < 0,05$). В таблице 1 представлены значения площади под фармакокинетической кривой.

Как видно, интегральный показатель (AUC) в сыворотке крови у ФЦ-НЧ+П68 возрос в среднем на 23,3% по сравнению с аналогичным показателем ФЦ-НЧ.

При изучении топографической фармакокинетики ФЦ-НЧ+П68 нами целенаправленно выбраны органы с хорошим кровоснабжением или высоким содержанием макрофагальных элементов — печень, легкие, селезенка и почки. Другую группу представляли органы со слабым кровоснабжением или для которых в норме нетипично большое скопление макрофагальных элементов — сердце, мышечная ткань, кожа или головной мозг.

Для печени установлено резкое снижение уровня ФЦ-НЧ+П68 на всем отрезке фармакокинетической кривой. В первый час после введения разница составляла в среднем 1,9-2,6 раза ($p < 0,05$). Через сутки после введения установлено среднее снижение уровня ФЦ-НЧ+П68 примерно на 45% по сравнению с ФЦ-НЧ. В конечной точке измерения, т.е. через 48 часов уровень ФЦ-НЧ+П68 в печени был ниже уровня ФЦ-НЧ в 2,6 раза ($p < 0,05$). Площадь под фармакокинетической кривой уменьшилась с 735,0±34,00 до 620,0±41,0.

Таблица 1.

Площадь под фармакокинетической кривой фармакологического соединения фотосенс, ассоциированного с наночастицами (ФЦ-НЧ) и модифицированного плуроником F-68 (ФЦ-НЧ+П68)

| Орган / ткань | Численное значение параметра AUC, конц. *час | |
|-----------------|--|-------------|
| | ФЦ-НЧ | ФЦ-НЧ+П68 |
| Сыворотка крови | 202,0±5,0 | 249,0±2,0* |
| Печень | 735,0±34,00 | 620,0±41,0 |
| Легкие | 155,0±7,00 | 162,0±15,0 |
| Селезенка | 446,0±55,0 | 221,0±38,0* |
| Почки | 406,0±80,0 | 535,0±43,0* |
| Сердце | 19,6±0,3 | 18,7±0,2 |
| Скелетные мышцы | 6,05±0,11 | 2,55±0,44* |
| Кожа | 42,7±1,3 | 101,4±4,0* |
| Головной мозг | 9,06±3,77 | 5,1±4,0 |

Примечание: * — $p < 0,05$

В селезенке в течение 15 часов уровень ФЦ-НЧ+П68 был ниже в среднем в 1,6-4,3 раза уровня препарата сравнения ($p < 0,05$). Через 48 ч после введения установить достоверную разницу между значениями концентраций препаратов в селезенке крыс не удалось. Интегральный параметр (AUC) у ФЦ-НЧ+П68 оказался примерно в 2 раза ниже, чем у варианта сравнения.

В ткани легких уровень концентрации ФЦ-НЧ+П68 в первый час после введения был достоверно выше уровня ФЦ-НЧ в среднем в 1,4-1,9 раза ($p < 0,05$). Со временем картина распределения модифицированных наночастиц в легких менялась в сторону снижения уровня концентрации. На терминальном отрезке фармакокинетической кривой между 15 и 48 часами не удалось установить достоверной разницы между ФЦ-НЧ+П68 и ФЦ-НЧ. Не наблюдалась достоверная разница и между AUC.

В течение первого часа после введения уровень ФЦ-НЧ+П68 в гомогенате ткани почек был в среднем в 1,5-2,3 раза выше уровня варианта сравнения ($p < 0,05$). Через 3 часа после введения концентрации препаратов выравнивались и достоверно не отличались друг от друга. В промежутке между 9 и 15 часами включительно не было выявлено достоверной разницы между числовыми значениями концентраций вариантов фотосенсибилизатора. На терминальном участке фармакокинетической кривой (24 часа) уровень ФЦ-НЧ+П68 был в 2,4 раза выше уровня варианта сравнения ($p < 0,05$). В последней точке измерения (48 часов) разница между исследуемыми вариантами фотосенсибилизатора нивелировалась, а числовые значения концентраций достоверно не отличались друг от друга. Интегральный параметр (AUC) у ФЦ-НЧ+П68 был более чем на 30% выше (AUC) варианта сравнения.

В ткани сердца в течение 9 часов средние уровни используемых в работе вариантов фотосенсибилизатора достоверно не отличались друг от друга. На терминальном отрезке фармакокинетической кривой в промежутке между 15 и 24 часами уровень ФЦ-НЧ+П68 был в среднем в 2,1-4,2 раза выше уровня ФЦ-НЧ ($p < 0,05$). Через двое суток после введения условия опыта позволяли измерить лишь минимально определяемые уровни ФЦ-НЧ+П68. Значения AUC модифицированных и обычных наночастиц существенно не различались.

В скелетных мышцах оба варианта фотосенсибилизатора накапливаются в минимальных количествах. В течение первых 30 минут уровень ФЦ-НЧ+П68 был ниже в среднем в 2,9-4,4 раза уровня варианта сравнения ($p < 0,05$). В интервале между 3 и 6 часами наблюдалось также достоверное снижение в среднем в 2,1-5,9 раза ФЦ-НЧ+П68. После 9 часов установить достоверность различий между числовыми значениями концентраций не удалось. Среднее значение AUC

у ФЦ-НЧ+П68 было более чем в 2 раза ниже аналогичного показателя ФЦ-НЧ.

Уровень концентрации ФЦ-НЧ+П68 в коже был в среднем в 1,2-2,6 раза выше уровня ФЦ-НЧ. Через двое суток удалось определить лишь ФЦ-НЧ+П68. Среднее значение показателя AUC ФЦ-НЧ+П68 было в 2,4 раза выше аналогичного значения для варианта сравнения ($42,7 \pm 1,3 - 101,4 \pm 4,0$ $p < 0,05$).

Уровни ФЦ-НЧ+П68 определялись в головном мозге крыс в течение 6 часов от момента введения. При этом на максимуме концентрация фотосенсибилизатора не превышала 0,5 мкг/г. Столь низкие концентрации Фотосенса, определяемого нами в гомогенате головного мозга, не позволяют с полной уверенностью утверждать, что препарат доставлялся в мозг с помощью наночастиц. Следует подчеркнуть, что исследуемый вариант фотосенсибилизатора находился как в связанном с наночастицами состоянии, так и содержалось небольшое количество соединения в свободном состоянии. Не исключено, что те минимальные количества фотосенсибилизатора, определенные в мозге крыс, могли обнаруживаться за счет несвязанного с наночастицами соединения.

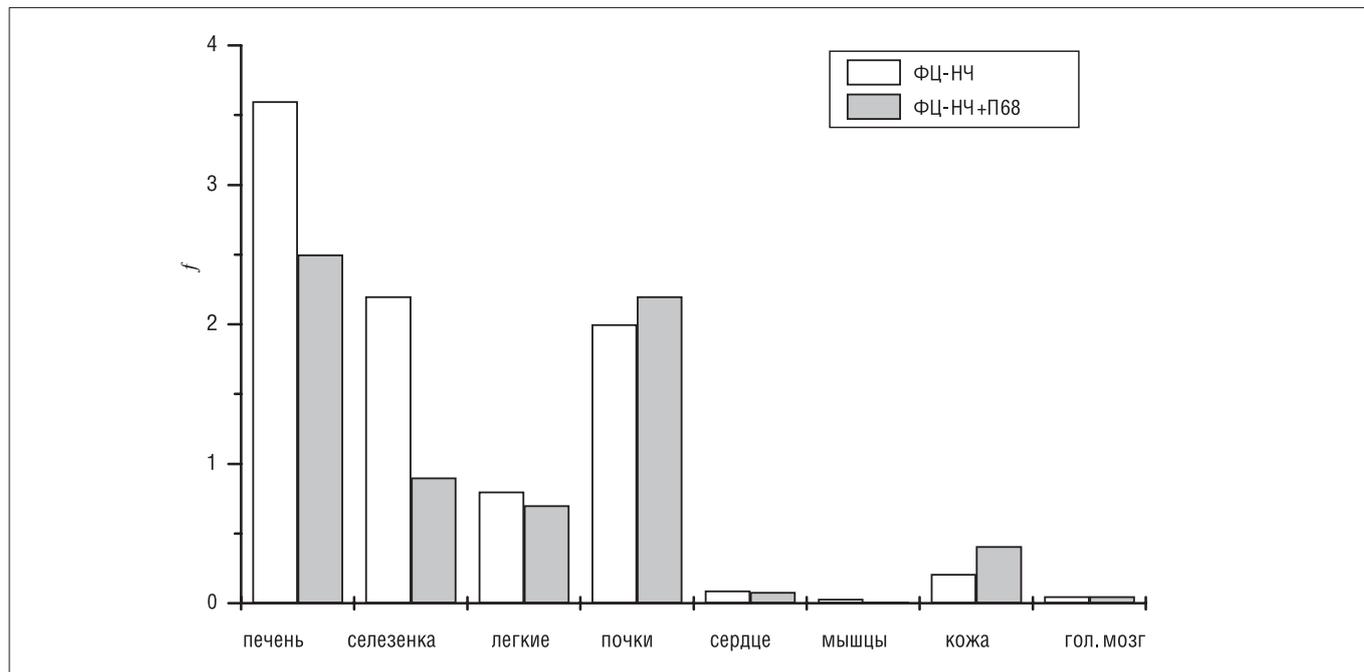
Рассчитывался коэффициент перехода (f) ФЦ-НЧ или ФЦ-НЧ+П68 из крови в органы (рис. 1).

Как видно, наблюдается снижение показателя f в среднем в 1,4 раза для печени, в 2,5 раза — для селезенки, в 1,2 раза — для легких, в 3 раза — для мышечной ткани, в 1,3 раза — для сердца и в 2,5 раза — для головного мозга. Повышение показателя f определено в среднем на 7,5% для почек и на 95% для кожи.

Таким образом, изменение свойств поверхности наночастиц из поли-*n*-бутилцианоакрилата существенно отразилось на кинетике распределения фотосенсибилизатора в организме крыс. Было установлено, что ПАВ продлевает время циркуляции препарата в крови крыс. Особенно хорошо это заметно на начальном отрезке фармакокинетической кривой (α -фазе). Другим результатом модификации наночастиц было существенное снижение фотосенсибилизатора в органах, содержащих большое количество макрофагальных элементов, главным образом в печени и селезенке — основных органах мишенях наночастиц.

Резюмируя вышеизложенное, можно констатировать существенное перераспределение фотосенсибилизатора, вводимого в составе модифицированных наночастиц, в организме крыс что, разумеется, не является исключительной особенностью наших экспериментов. В подтверждении этому можно привести многочисленные примеры соответствующих исследований [5, 6]. Однако в целом, нами впервые установлен данный феномен для препарата, предназначенного для фотодинамической терапии рака.

Коэффициент f перехода фотосенсибилизатора, введенного в составе модифицированных наночастиц, из крови в органы



ЛИТЕРАТУРА

1. Kreuter J. Colloidal drug delivery systems. N.Y.: Marcel Dekker Inc 1994; 352.
2. Торчилин В. П., Трубецкой В. С. Полимеры на поверхности наночастиц: регулирование свойств носителей и их биораспределения. Высокомолекулярные соединения 1994; 36: 11: 1880-1893.
3. Couvreur P., Kante B., Roland M. et al. Polycyanoacrylate nanocapsules as potential lysosomotropic carriers: preparation, morphological and sorptive properties. J Pharm Pharmacol 1979; 31: 331-332.
4. Мануйлов К. К., Кашина Л. Б. Новый метод расчета коэффициента распределения ткань-кровь для физиологических моделей фармакокинетики. Антибиотики и химиотерапия 1990; 5: 35-36.
5. Allemann E., Brasseur N., Benrezzak G., Rousseau J., Kudrevich SV., Boyle RW., Leroux JC., Gurny R., Van — Lier J.E. PEG-coated poly (lactic acid) nanoparticles for the delivery of hexadecafluor zinc phthalocyanine to EMT-6 mouse mammary tumours. J Pharm Pharmacol 1995; 5: 47: 382-387.
6. Moghimi M. S., Hunter C. A., Murray C. J. Long-Circulating and Target-Specific Nanoparticles. Theory to Practice 2001; 53: Issue 2: 283-318.

Оценка функциональной активности Р-гликопротеина путем измерения фармакокинетических параметров его субстрата фексофенадина

Г. В. Раменская, Е. А. Скуридина, Д. А. Сычев, В. Г. Кукес
ММА им. И. М. Сеченова, г. Москва

Изучена динамика концентрации фексофенадина у человека и животных после приема верапамила и негрустина (действующее вещество — экстракт зверобоя). Установлено, что прием верапамила приводит к повышению биодоступности субстрата Р-гликопротеина — фексофенадина, а прием негрустина — к ее снижению. На основании полученных результатов сделан вывод о том, что верапамил ингибирует, а экстракт зверобоя индуцирует активность Р-гликопротеина.

Для современной медицины характерен комплексный подход к фармакотерапии большинства заболеваний. В целях повышения эффективности проводимой фармакотерапии пациенту назначается сразу несколько лекарственных препаратов. Невозможно избежать назначения целого комплекса препаратов и при наличии у пациента нескольких заболеваний. Одновременный прием пациентом нескольких лекарственных средств очень часто приводит к нежелательным лекарственным реакциям, в основе которых лежат различные виды взаимодействия. Различают фармацевтическое, фармакодинамическое и фармакокинетическое взаимодействие лекарственных средств. Данное исследование посвящено изучению взаимодействия препаратов на фармакокинетическом уровне. В последние годы этому виду взаимодействия посвящено большое количество работ.

Индивидуальная чувствительность и переносимость лекарственных средств в значительной степени зависит от состояния системы биотрансформации ксенобиотиков. К важнейшим системам защиты клетки от токсического действия ксенобиотиков принадлежит цитохром Р-450, локализованный в мембранах эндоплазматического ретикулума, разрушающий ксенобиотики путем окисления, а также трансмембранный Р-гликопротеин, локализованный в плазматической мембране и выполняющий функции насоса, удаляющего из клетки потенциально токсические липофильные соединения [1].

Важным фактором, определяющим эффективность обезвреживания токсических веществ, является способность цитохрома Р-450 и Р-гликопротеина

к индукции и ингибированию под действием различных лекарственных препаратов, приводящая к недостаточности или, напротив, чрезмерности назначаемой пациенту фармакотерапии.

Целью нашего исследования было изучение влияния верапамила и негрустина (действующее вещество — сухой экстракт зверобоя) на функциональную активность Р-гликопротеина. В качестве маркера активности данного белка использовался препарат Телфаст (фексофенадин), являющийся субстратом гликопротеина Р, не оказывающий влияния на его активность и не подвергающийся метаболизму с помощью системы цитохрома Р-450 [2, 3].

СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА

Роли транспортных белков в распределении и достижении клинического эффекта препаратов в последние годы уделяется большое внимание. Лучше всего изучены свойства гликопротеина Р, который транспортирует множество структурно различных препаратов. Он расположен на поверхности эпителиальных клеток тонкой кишки, мембране желчных канальцев печени, проксимальных канальцах почек и эпителиальных клетках, входящих в состав гематоэнцефалического и гематотестикулярного барьеров. Р-гликопротеин влияет на распределение препаратов за счет ограничения их абсорбции в кишечнике, облегчая их выделение путем секреции с желчью и мочой, уменьшая их проникновение в головной мозг и яички [4-7].

В настоящее время установлено, что Р-гликопротеин, фосфорилированный и гликозилированный полипептид, содержащий 1280 аминокислот, и имеющий

молекулярную массу 179 кДа, является интегральным белком плазматической мембраны клетки. Р-гликопротеин принадлежит к семейству белков ABC. В это семейство входит более 100 белков, использующих для своей работы энергию АТФ [2, 5, 8].

Р-гликопротеин (Р — начальная буква в слове «permeability» — проницаемость) был открыт в 1976 году Juliano и Ling, он принадлежит к большому семейству белков, которые называют семейством ABC (от англ. ATP Binding Cassette — группа белков, связывающих АТФ). В это семейство входит более 100 белков различных организмов — от бактерий до человека, для своей работы они используют энергию АТФ. Эти весьма разнообразные белки построены по сходному принципу и представляют собой tandemно дуплицированные молекулы, состоящие из двух гомологичных половин, состоящих из 610 аминокислот, содержащих 6 трансмембранных (ТМ) α -спиральных доменов каждая (см. домены 1, рис. 1, а) и цитоплазматического домена, связывающего АТФ, состоящего из 60 аминокислот (домен 2, рис. 1, а). Обе половины белка соединены между собой с помощью подвижного линкерного полипептида, обеспечивающего точное пространственное взаимодействие двух половин Р-гликопротеина. Домены ABC или АТФ-связывающие домены разных белков этого семейства имеют высокую степень сходства (гомологии) по аминокислотным последовательностям.

В настоящее время известно, что все 12 ТМ доменов белка формируют лиганд-связывающий «карман», 2 цитоплазматических домена образуют 2 каталитических центра Р-гликопротеина, обеспечивающих гидролиз АТФ [2].

Результаты проводимых исследований Р-гликопротеина позволяют выделить следующие функции данного белка.

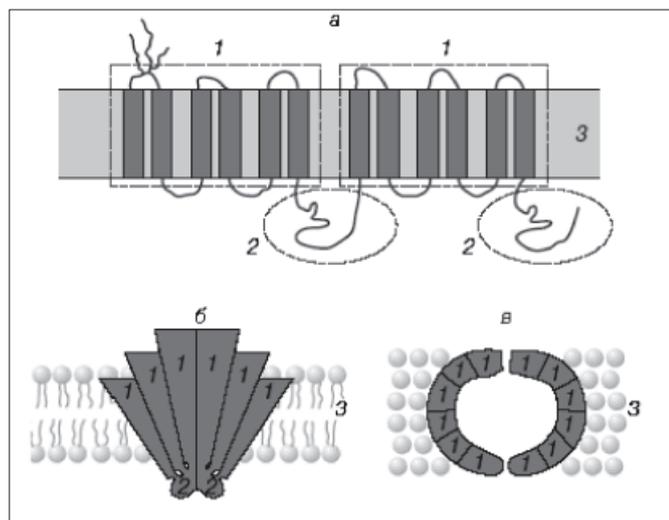
- 1. Барьерная функция** (защита организма от ксенобиотиков). Препятствие всасыванию препаратов в кишечнике и экскреция эндогенных и экзогенных токсинов с желчью, мочой, а также защита от ксенобиотиков тканей мозга, гонад и организма плода [7, 12-15].
- 2. Участие в стероидном обмене.** Присутствие Р-гликопротеина в клетках надпочечников и эндометрия, вырабатывающих стероиды, возможно, необходимо для защиты цитоплазматической мембраны клеток. Обнаружено, что Р-гликопротеин, вырабатываемый эпителиальным монослоем, способен транспортировать стероиды [16].
- 3. Влияние на обмен холестерина.** Этерификация холестерина, являющаяся одним из механизмов обезвреживания этого токсичного для клеток вещества, происходит в эндоплазматическом ретикулуме. Интенсивность этого процесса лимитируется количеством холестерина в этой части клетки. Р-гликопротеин облегчает транспорт холестерина из цитоплазматической мембраны в эндоплазматический ретикулум.
- 4. Участие в работе иммунной системы.** Роль Р-гликопротеина в работе кроветворной и иммунной системы еще недостаточно изучена. Существуют предположения, что этот белок вовлечен в транспорт некоторых цитокинов, например, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4 и γ -ИФ, но не ИЛ-6 из активированных лимфоцитов [17].
- 5. Участие в гибели клеток и в клеточной дифференциации.** Обнаружено, что высокий уровень экспрессии Р-гликопротеина естественными киллерами и Т-лимфоцитами CD8⁺ является причиной снижения цитотоксической активности этих клеток. Р-гликопротеин обуславливает резистентность опухолевых клеток к апоптозу [18].

Разнообразные субстраты Р-гликопротеина объединяет следующее: все эти вещества липофильны, имеют небольшие размеры, ароматические кольца в химической структуре и несут положительный заряд [5].

При исследованиях разных препаратов Р-гликопротеина в отсутствие субстратов обнаружена существенная базальная АТФ-азная активность белка. Установлено, что эта активность является внутренним свойством белка, поскольку она присутствует только в препаратах, выделенных из клеток, экспрессирующих Р-гликопротеин, и отсутствует в таких же препаратах, выделенных из клеток, не экспрессирующих данный белок. К тому же эта активность может увеличиваться в присутствии

Строение и функции Р-гликопротеина

Рис. 1.



Примечание:

- а — схема линейной структуры белка:
 1 — домены,
 2 — участок белка, связывающий АТФ;
- б — схема расположения белка в мембране клетки:
 1 — домены белка, пересекающие мембрану,
 2 — домены, связывающие АТФ,
 3 — мембрана клетки;
- в — схема расположения Р-гликопротеина в мембране клетки:
 1 — домены белка, пересекающие мембрану,
 3 — мембрана клетки.

одних специфических для Р-гликопротеина субстратов и снижаться ниже базального уровня в присутствии других. Практически все субстраты, связывающиеся с транспортным доменом белка, влияют на активность Р-гликопротеина, стимулируя или угнетая ее. Необходимо отметить, что некоторые лекарственные вещества являются одновременно и субстратами и ингибиторами гликопротеина Р.

Совместное применение ингибиторов Р-гликопротеина с его субстратами может приводить к увеличению в крови концентрации последних, в результате чего повышается риск развития нежелательных лекарственных реакций.

Известно, что хинидин, являясь мощным ингибитором Р-гликопротеина, способствует повышению концентрации его субстрата дигоксина. Это является причиной повышения риска развития нежелательных реакций дигоксина, вплоть до дигиталисной интоксикации, при его совместном применении с хинидином. С другой стороны, терапия стандартными дозами дигоксина может оказаться недостаточно эффективной при его совместном приеме с рифампином, который, являясь индуктором Р-гликопротеина, способствует усилению обратного выброса дигоксина [1, 3].

Способность рифампина повышать активность Р-гликопротеина кишечника, тем самым, уменьшая биодоступность лекарственных препаратов, была обнаружена и в другом исследовании: биодоступность фексофенадина после шестидневного приема рифампина снизилась на 47% [19].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашем исследовании фармакокинетики препарата Телфаст (фексофенадин) принимали участие 14 пациентов без патологии печени, почек и ЖКТ. Образцы крови отбирались непосредственно перед приемом Телфаста в дозе 180 мг и через каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24 часа после приема. Затем пациенты принимали верапамил в дозе 80 мг×3 раза в день в течение 10 дней (группа 1) или капсулы негрустина (действующее вещество — сухой экстракт зверобоя) ×3 раза в день в течение 14 дней (группа 2). После этого вновь получали таблетку Телфаста 180 мг и через вышеуказанные промежутки времени производился отбор образцов крови. Аналогичным образом исследование препарата проводилось у 12 кроликов (группы 3 и 4).

Образцы крови объемом 5–7 мл отбирали в пластиковые пробирки с гепарином, центрифугировали для отделения плазмы при 3000 мин⁻¹ в течение 10 минут. На анализ отбирали 1 мл плазмы и хранили до анализа при температуре –37°С.

Количественное определение фексофенадина в плазме крови человека и животных осуществлялось при помощи ВЭЖХ. Анализ проводился с помощью хроматографической системы «Shimadzu» при длине волны спектрофотометрического детектора 220 нм, разделение компонентов плазмы осуществлялось на колонке «μ-Bondapak Phenyl» 3,9×300 мм (зернением 10 мкм).

Экспериментально полученные фармакокинетические кривые были обработаны с помощью программы «Kinetica 2000». Данный метод позволяет дать обобщенную характеристику фармакокинетических процессов без применения структурных моделей путем оценки интегральных параметров, относящихся ко всему организму в целом.

Анализ изменения фармакокинетических параметров фексофенадина проводился с помощью однофакторного дисперсионного анализа и t-теста Стьюдента при доверительной вероятности 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования для каждой группы испытуемых были получены данные динамики содержания фексофенадина в плазме крови. Анализ данных выявил как у пациентов, так и у кроликов значительный разброс концентраций препарата между испытуемыми, что может быть связано с вариабельностью исходной активности гликопротеина Р вследствие различного уровня экспрессии гена MDR1, кодирующего активность гликопротеина Р [9].

Коэффициент вариации при анализе индивидуальных значений концентрации фексофенадина составил около 30% у пациентов и 40% у кроликов. Проведенный дисперсионный анализ данных, относящихся к первоначальному приему Телфаста, не выявил достоверного различия средних концентраций фексофенадина в группах 1, 2, а также 3, 4.

По усредненным концентрациям препарата для каждой группы испытуемых были построены графики зависимости концентрации фексофенадина от времени, прошедшего с момента его приема (рис. 2 и 3).

Помимо представленного на графике статистически достоверного увеличения максимальной концентрации фексофенадина в плазме крови до и после курсового приема пациентами верапамила с 310,2±26 нг/мл до 571,8±53 нг/мл (p<0,01) наблюдается значительное сокращение времени, необходимого для ее наступления, с 2,3±0,67 часа до 1,4±0,44 часа.

В случае негрустина, напротив, максимальная концентрация препарата у пациентов статистически достоверно снизилась с 393,7±42 нг/мл до 161,4±38 нг/мл (p<0,01), а время ее наступления статистически достоверно (p<0,05) увеличилось с 1,6±0,43 до 3,2±1,19 часов.

На рис. 3 показана динамика концентрации фексофенадина у кроликов. Максимум концентрации после 10-дневного приема верапамила в среднем увеличился с 240,4±15 нг/мл до 483,7±168 нг/мл (p<0,05), а время, необходимое для его наступления статистически достоверно сократилось почти вдвое — с 4,0 до 2,0±1,34 часа (p<0,05). После курсового приема негрустина на среднее значение максимальной концентрации фексофенадина у кроликов снизилось с 385,3±132 нг/мл до 158,9±42,6 нг/мл (p<0,05), а наблюдавшееся увеличение времени, необходимого для ее наступления, не было статистически достоверным — с 2,3±0,5 до 3,0±1,4 часа.

В табл. 1 представлены фармакокинетические параметры фексофенадина у пациентов и кроликов до и после курсового приема верапамила или негрустина. Различия, являющиеся статистически достоверными, отмечены в таблице звездочками.

На рис. 4 изображены диаграммы, отражающие количественное изменение фармакокинетических параметров после приема верапамила пациентами и кроликами. Можно отметить увеличение площади под фармакокинетической кривой в среднем в 2,7 раза (CV=50,2%)

Рис. 2.

Динамика изменения концентрации фексофенадина в плазме крови пациентов до и после курсового приема верапамила (группа 1) или негрустина (группа 2)

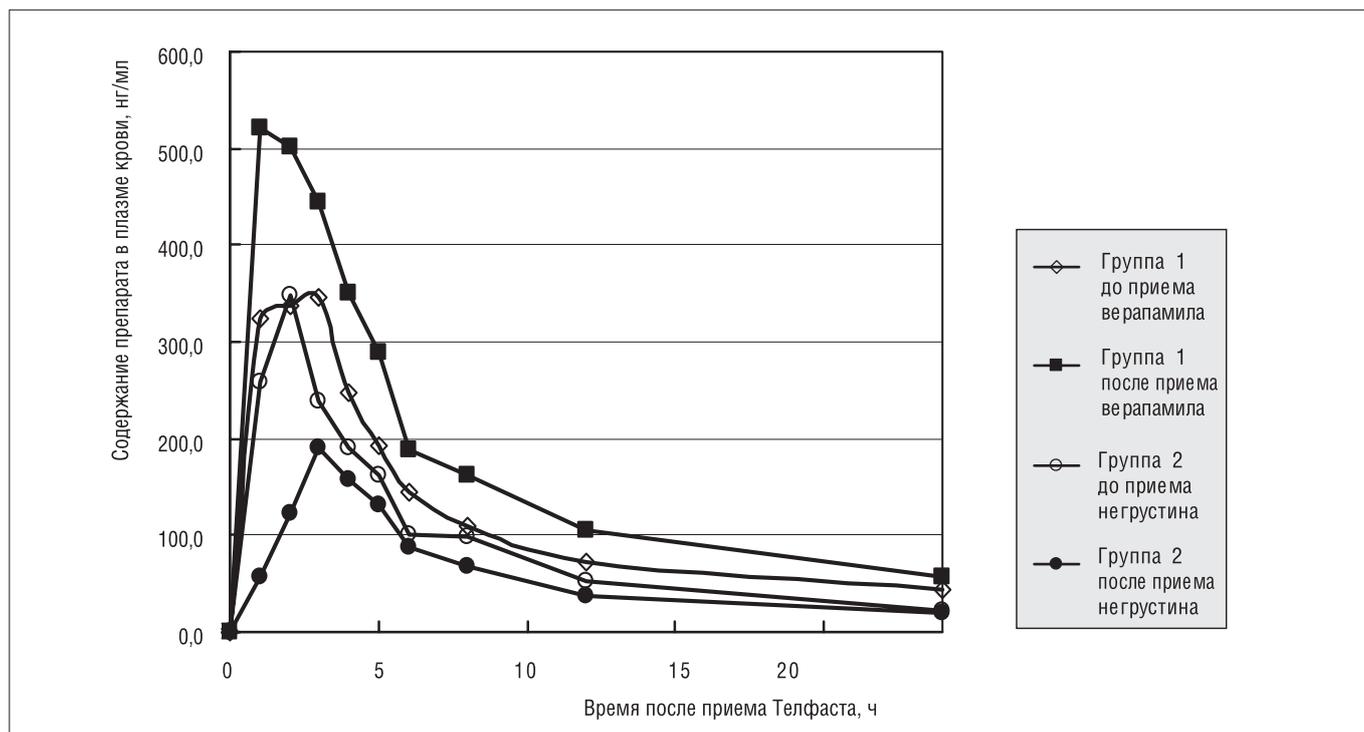
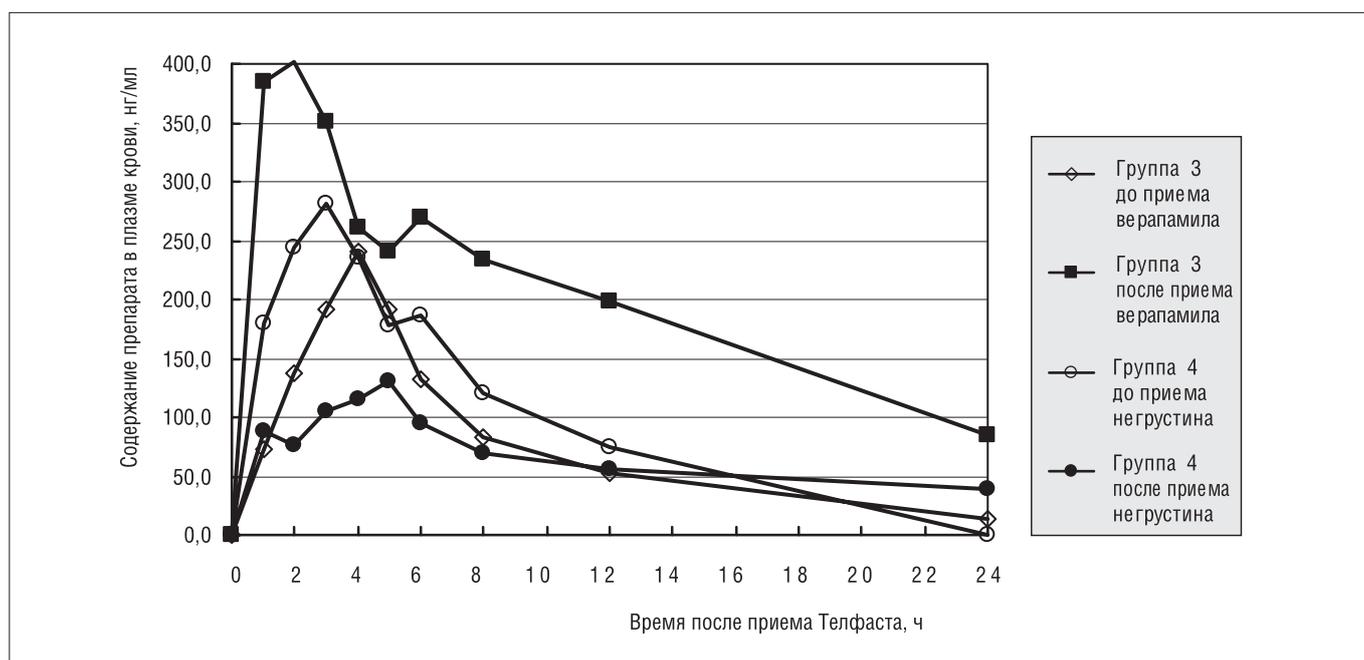


Рис. 3.

Динамика изменения концентрации фексофенадина в плазме крови кроликов до и после курсового приема верапамила (группа 1) или негрустина (группа 2)



у пациентов и в среднем в 2,4 раза ($CV=38,0\%$) у кроликов, а также увеличение максимальной концентрации фексофенадина в среднем в 2,1 раза как у пациентов ($CV=28,3\%$), так и у кроликов ($CV=45,5\%$). В отличие от кроликов ($p=0,03$) у пациентов не наблюдается статистически достоверного сокращения времени

достижения максимальной концентрации фексофенадина ($p=0,07$).

На рис. 4 показано изменение тех же фармакокинетических параметров фексофенадина после приема негрустина. У людей отмечается статистически достоверное уменьшение площади под фармакоки-

Рис. 4.

Относительные изменения фармакокинетических параметров фексофенадина до (светлые столбики) и после (темные столбики) приема верапамила и негрустина у пациентов и кроликов (группы 3 и 4)

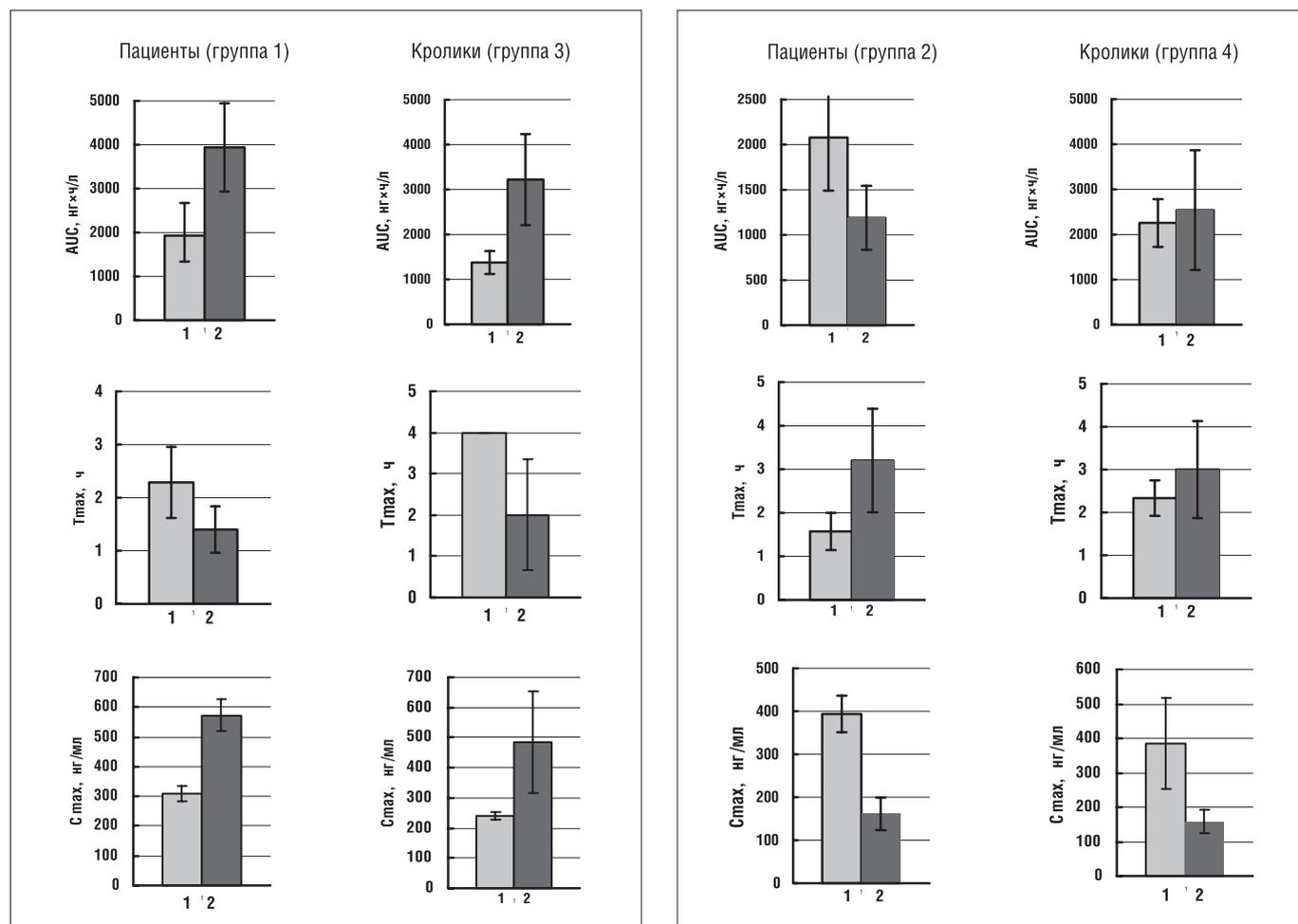


Таблица 1.

Фармакокинетические параметры фексофенадина у испытуемых до и после курсового приема верапамила или негрустина

| Фармако- кинетический параметр | Верапамил | | | | Негрустин | | | |
|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| | Кролики | | Пациенты | | Кролики | | Пациенты | |
| | до | после | до | после | до | после | до | после |
| AUC_{0-t} , нг·ч/л | 1375 ±255 | 3222* ±1014 | 1929 ±594 | 3940* ±1005 | 2257 ±530 | 2538 ±1326 | 2079 ±589 | 1190* ±354 |
| $AUC_{0-\infty}$, нг·ч/л | 2449 ±1288 | 3800 ±1014 | 4284 ±2940 | 5633 ±2807 | 3110 ±1153 | 4175 ±2134 | 2511 ±897 | 1387 ±508 |
| T_{max} , ч | 4,00 | 2,00* ±1,34 | 2,29 ±0,67 | 1,40 ±0,44 | 2,33 ±0,52 | 3,00 ±1,4 | 1,57 ±0,43 | 3,20* ±1,19 |
| C_{max} , нг/мл | 240 ±15 | 484* ±168 | 310 ±26 | 572** ±53 | 385 ±132 | 159* ±34 | 394 ±42 | 161** ±38 |
| MRT, ч | 14,35 ±7,64 | 10,04 ±3,53 | 15,39 ±5,90 | 14,10 ±4,27 | 6,3 ±1,2 | 25,7* ±10,0 | 13,2 ±3,5 | 10,5 ±2,7 |

Примечание: * – достоверность различий фармакокинетических параметров фексофенадина до и после курсового приема верапамила или негрустина испытуемыми (* – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$).

нетической кривой ($p=0,014$), а также увеличение времени, необходимого для ее достижения ($p=0,035$). И у кроликов, и у людей наблюдается статистически достоверное уменьшение максимальной концентрации препарата в плазме ($p=0,005$ и $p=0,02$ соответственно).

Таким образом, наше исследование показало значительное увеличение биодоступности фексофенадина на фоне приема верапамила и ее уменьшение на фоне приема экстракта зверобоя. Данные явления, возможно, связаны с ингибированием верапамилом и индуцированием экстрактом зверобоя Р-гликопротеина энтероцитов кишечника. Маловероятно, что изменение фармакокинетических параметров связано

с влиянием препаратов на Р-гликопротеин гепатоцитов, так как фексофенадин практически не подвергается метаболизму в печени.

Полученные в ходе эксперимента результаты необходимо учитывать при назначении препаратов-индукторов или ингибиторов Р-гликопротеина одновременно с препаратами, которые, подобно фексофенадину, являются субстратами данного белка.

Правильно подобрав дозу, а также кратность приема препаратов, которые являются субстратами Р-гликопротеина, можно в значительной степени снизить риск развития нежелательных лекарственных реакций, а также повысить эффективность и безопасность лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пальцев М.А., Кукес В.Г., Фисенко В.П. (ред.). Молекулярные механизмы взаимодействия лекарственных средств. М.: АстраФармаСервис. 2004;. 224.
2. Новиков А.Г., Логунова З.В., Потеева Н.Н. Фексофенадин в терапии хронической идиопатической крапивницы. Клиническая дерматология и венерология 2003; 2: 53 – 54.
3. Федосеев Г.Б., Зинакова М.К., Ровкина Е.И. Клинические испытания препарата Фексадин (фексофенадин). Иммунология 2004; 4: 19 – 21.
4. Остроумова О.Д., Батурина А.М., Зыкова А.А. Лекарственное взаимодействие: существуют ли «идеальные» лекарственные препараты для использования в условиях полипрагмазии. Русский медицинский журнал 2003; 11: 21: 43 – 50.
5. Eichelbaum M., Greiner B., Fritz P. et al. The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. Journal of Clinical Investigations 1999; 104: 147 – 153.
6. Miyama T., Takanaga H., Matsuo H. et al. Glycoprotein-Mediated Transport of Itraconazole across the Blood-Brain Barrier. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1998; 42: 7: 1738-1744.
7. Сидорова Т.А., Солнцева Т.И. Р-гликопротеин – АТФ-аза с конститутивной активностью. Биологические мембраны 2003; 20: 3: 225 – 235.
8. Fardel O., Lecœur V. et al. The P-glycoprotein multidrug transporter. General Pharmacology 1996; 27: 8: 1283 - 1291.
9. Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю. Множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток, обусловленная Р-гликопротеином, и их дифференцировка. Биологические мембраны 2003; 20: 3: 244 – 255.
10. Smit J., Schinkel A., Van O. et al. Homozygous disruption of the murine mdr2 P-glycoprotein gene leads to a complete absence of phospholipids from bile and to liver disease. Cell 1993; 75: 3: 451 - 462.
11. Smit J., Shinkel A., Mol C. et al. Tissue distribution of the human MDR3 P-glycoprotein. Laboratory Investigations 1994; 71: 5: 638 - 649.
12. Jonker J.W., Wagenaar E.L. van Deemter et al. Role of blood-brain barrier P-glycoprotein in limiting brain accumulation and sedative side-effects of asimadoline, a peripherally acting analgesic drug. British Journal of Pharmacology 1999; 127: 43 – 50.
13. Richard B.K., Fromm M.F., Wandel C. et al. The Drug Transporter P-glycoprotein Limits Oral Absorption and Brain Entry of HIV-1 Protease Inhibitors. Journal of Clinical Investigation 1998; 101: 2: 289 – 294.
14. Thiebaut F., Tsuruo T., Hamada H. et al. Cellular localization of the multidrug resistance gene product in normal human tissues. Proceedings of the National Academy of Sciences 1987; 84: 7735 - 7738.
15. Bleasby K., Chauhan S. and Brown C.D.A. Characterization of MPP⁺secretion across human intestinal Caco-2 cell monolayers: role of P-glycoprotein and a novel Na⁺-dependent organic cation transport mechanism. British Journal of Pharmacology 1999; 129: 619 – 625.
16. Gottesman M.M., Pastan I., Ambudkar S.V. P-glycoprotein and multidrug resistance. Current Opinion Genetics and Development 1996; 6: 610 - 617.
17. Johnstone R.W., Cretney E., and Smyth M.J. P-Glycoprotein Protects Leukemia Cells Against Caspase-Dependent, but not Caspase-Independent, Cell Death. Blood 1999; 93: 3: 1075 – 1085.
18. Pavek P., Staud F., Fendrich Z. et al. Examination of the Functional Activity of P-glycoprotein in the Rat Placental Barrier Using Rhodamine 123. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 2003; 305: 1239 - 1250.
19. Molimard M., Diquet B., Benedetti M.S. Comparison of pharmacokinetics and metabolism of desloratadine, fexofenadine, levocetirizine and mizolastine in humans. Fundamental and Clinical Pharmacology 2004; 18: 4: 399 – 403.
20. Potschka H., Löscher W. In Vivo Evidence for P-Glycoprotein-Mediated Transport of Phenytoin at the Blood-Brain Barrier of Rats. Epilepsia 2001; 42: 10: 1231.
21. Li Y.C., Fung K.P., Kwok T.T. et al. Mitochondria-Targeting Drug Oligomycin Blocked P-glycoprotein Activity and Triggered Apoptosis in Doxorubicin-Resistant HepG2 Cells. Chemotherapy 2004; 50: 2: 55 – 62.

Сравнительная фармакокинетика двух лекарственных форм карведилола — Таллитон[®] (Эгис, Венгрия) и Дилатренд[®] (Хофманн Ля Рош, Швейцария)

Ю. Б. Белоусов, А. В. Соколов

Кафедра клинической фармакологии РГМУ, г. Москва

ВВЕДЕНИЕ

Практическая значимость исследований биоэквивалентности воспроизводимых лекарственных препаратов (дженериков) общеизвестна. В мировой печати опубликовано большое число статей на эту тему. Огромное число публикаций посвящено методологическим подходам проведения подобных исследований. Разработаны основные принципы, касающиеся как проблем физико-химического характера (аналитические процедуры) — точность и воспроизводимость методов анализа лекарств в биологических жидкостях, так и методов фармакокинетических и, что особенно важно, статистических подтверждений биоэквивалентности исследуемых фармацевтических аналогов. В частности, в методических рекомендациях по проведению исследований биоэквивалентности дженериков, опубликованных в нашей стране, приводятся рекомендации по проведению статистических расчетов и дана таблица по определению необходимого числа добровольцев для проведения подобных исследований. На сегодняшний день в России при проведении таких исследований необходимы, как минимум, 18 здоровых добровольцев. Однако, в случае большого межиндивидуального разброса разностей (отношений) получаемых фармакокинетических параметров, число добровольцев может быть значительно увеличено [1].

Интраиндивидуальный разброс получаемых данных может объясняться различными причинами: различиями в скорости и/или степени абсорбции сравниваемых препаратов, неадекватным методом определения концентраций лекарства в крови добровольца (отсутствие валидации метода), неправильным содержанием добровольцев во время проведения исследования, нестандартным питанием и т.д. [3,4]. Интериндивидуальный разброс значений получаемых фармакокинетических параметров может объясняться плохой схемой рандомизации (пол, возраст, масса тела, рост) участвующих в исследовании добровольцев, различными индивидуальными факторами (курение, алкоголь, наркомания и т.п.) и т.д. [3,4]. Для препаратов, под-

вергающихся интенсивному метаболизму в организме человека, также характерен большой межиндивидуальный разброс получаемых фармакокинетических параметров [2,4]. Для таких препаратов индивидуальная вариабельность скорости метаболизма будет вносить значительный вклад в межиндивидуальные различия скоростей элиминации препарата, а, следовательно, и в различия эффективности и безопасности терапии у разных пациентов [4,5]. Изучению индивидуальной вариабельности скоростей метаболизма лекарств во всем мире уделяется большое внимание. Эта задача решается практически на всех направлениях современной фармакокинетики — при оптимизации фармакотерапии, при проведении терапевтического лекарственного мониторинга [2,4,6,7]. Исследования биоэквивалентности проводят в основном по перекрестному дизайну (каждый субъект получает оба сравниваемых препарата в случайной последовательности), что позволяет практически исключить влияние межиндивидуальных различий. Основную роль при этом играет интраиндивидуальная вариабельность, она же лежит в основе оценки необходимого числа субъектов для достижения статистической мощности теста.

В качестве примера можно привести исследование биоэквивалентности двух лекарственных форм карведилола — Таллитон[®] таблетки 12,5 мг производства фармацевтического завода ЭГИС А. О. (Венгрия) в сравнении с таблетками Дилатренд[®] производства компании Хофманн Ля Рош (Швейцария) у здоровых мужчин в условиях ограничения пищи (*E. Masson u B. Girard Sainte-Foy, Quebec, Canada*). Исследование было проведено в соответствии с международными принятыми стандартами Качественной Клинической Практики (GCP), Качественной Лабораторной Практики (GLP) и согласно локальным требованиям и принципам, сформулированным в Хельсинкской Декларации. Протокол клинического исследования был утвержден Этической ревизионной комиссией. Все испытуемые подписали информационное согласие до начала исследования. В исследование были включе-

ны 24 здоровых взрослых некурящих мужчин-добровольцев в возрасте от 18 до 54 лет. Все они отвечали критериям включения в исследование и исключения из него. В условиях ограничения пищи они получали орально одну таблетку Таллитона® или Дилатренда®, каждая из которых содержала 12,5 мг карведилола. Между периодами I и II в течение 7 дней добровольцы не принимали никаких препаратов. Плазменные концентрации карведилола и его основного метаболита (4'-гидроксифенил-карведилола) анализировались с помощью валидированного метода ВЭЖХ/МС/МС.

Карведилол оказывает выраженный сосудорасширяющий эффект. Блокирует β и α_1 -адренорецепторы. Не оказывает выраженного влияния на липидный обмен и содержание K^+ , Na^+ и Mg^{2+} в плазме. Препарат представляет собой рацемическую смесь двух энантиомеров. Оба энантиомера обладают одинаковой α_1 -блокирующей активностью, но только энантиомер-S(-) оказывает β -адренэргическое блокирующее действие (рис. 1). При введении препарата внутрь всасывается быстро и достаточно полно. C_{max} достигается через 1 час, причем плазменные концентрации обычно пропорциональны принятым орально дозам. Биодоступность составляет примерно 25-35% (эффект первого прохождения через печень). Препарат связывается белками плазмы на 99%. Объем распределения составляет 2 л/кг, $T_{1/2}$ — около 6 ч. Начальная оральная доза карведилола при лечении повышенного давления составляет 6,25 мг два раза в день или 12,5 мг один раз в день. Эта доза может быть увеличена до 50 мг в день [5-8].

Главным образом, карведилол метаболизируется в результате окисления ароматического кольца, глюкуронизации и сульфирования. Деметилизация и гидроксильная фенольного кольца приводит к появлению трех активных метаболитов с β -блокирующим действием. Метаболит 4'-гидроксифенил является примерно в 13 раз более сильнодействующим β -блокатором, чем карведилол. Плазменные концентрации активных метаболитов составляют примерно 1/10 от плазменной концентрации, наблюдаемой для карведилола. Фармакокинетика метаболитов сходна с фармакокинетикой карведилола. При оральном применении

у здоровых добровольцев явное значение $T_{1/2}$ обычно находится в интервале от 5 до 9 часов. Однако оно может быть изменено индукцией или ингибированием энзима цитохром P450. Основными энзимами, ответственными за метаболизм обоих типов карведилола в микросомах печени у человека, являются CYP 2D6 и CYP 2C9, и в меньшей степени — CYP 3A4, 2C19, 1A2 и 2E1. Представляется, что CYP 2D6 является главным энзимом в 4'-и 5'-гидроксильной карведилола с возможным воздействием со стороны 3A4. CYP 2C9 представляется первоначально важным в процессе O-метилирования S(-)-карведилола. Пациенты, слабо метаболизирующие дебризохин — маркер изоэнзима CYP 2D6, могут показывать двух-трехкратное возрастание плазменной концентрации карведилола, увеличивая тем самым риск неблагоприятных событий, а также межличностный разброс в получаемых фармакокинетических параметрах [7,8].

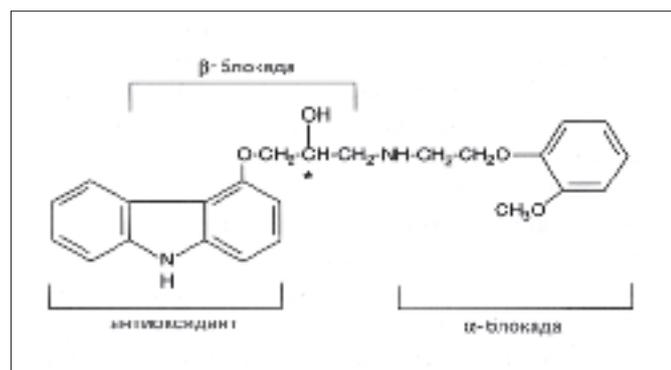
КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

В связи с вышеизложенным, в данном исследовании все добровольцы были подвергнуты фенотипированию в соответствии с их печеночным метаболизмом с использованием декстрометорфана в качестве субстрата (CYP 2D6 изоэнзим), и для включения в исследование были отобраны только быстрометаболизирующие испытуемые. Кроме того, основанием для включения были: медицинский анамнез, демографические данные, физикальное обследование, жизненные показатели (давление крови, число дыханий в минуту, ЧСС и т.д.), 12-канальная ЭКГ и клинические лабораторные тесты (гематология, биохимия, анализ мочи, HIV — и гепатит С, гепатит В), отрицательный скрининг на наличие наркотиков в моче. Так, один из участников из-за положительного теста на содержание наркотиков в моче до начала периода II из исследования был исключен. Таким образом, полностью закончили исследование 23 добровольца. Процедуры скринирования проводились в течение 28 дней перед периодом I. Лабораторные тесты, биохимические анализы, физикальное обследование и жизненные показатели в конце исследования повторялись. Все конечные результаты оставались в пределах нормы. Демографические данные добровольцев были следующими: возраст— 36 ± 11 лет, рост— $175,7 \pm 4,6$ см, масса тела— $72,3 \pm 4,8$ кг. Вес добровольцев не отклонялся более, чем на 15% от идеальной массы тела.

Все испытуемые были проинструктированы о воздержании в приеме пищи или жидкости, содержащих ксантин, грейпфрут и алкоголь за 48 часов до каждого приема препарата и до окончания каждого периода взятия крови. Все участники исследования были помещены в Клинический отдел Исследовательского центра АНАФАРМ А. О. (Sainte-Foy, Quebec, Canada), как минимум за 10 часов до начала дозирования и оставались там спустя 24 часа после взятия крови. Добровольцы получали карведилол в однократной дозе 12,5 мг по утрам между 8:00 и 8:46 после ограничения в пище

Строение молекулы Карведилола

Рис. 1.



накануне вечером в течение 10 часов. Таблетки сравнимых препаратов давались каждому добровольцу с 240 мл воды, в соответствии со схемой рандомизации. После чего испытуемые были ограничены в пище 4 часа и затем получали стандартную госпитальную еду. Полный отдых избегался, как и усиленная физическая активность. Потребление жидкости запрещалось за 2 часа до приема препарата и еще в течение 2-х часов после приема, в остальное время прием жидкости разрешался по усмотрению. Образцы крови брались из локтевой вены через внутривенный катетер (при наличии гепарина) (7,0 мл крови) в пробирки, содержащие ЭДТА. Забор крови осуществлялся до приема препаратов и через 0,167; 0,333; 0,500; 0,667; 0,833; 1,00; 1,25; 1,50; 2,00; 3,00; 4,00; 5,00; 6,00; 8,00; 10,00; 12,00; 16,00; 20,00; 24,00 и через 32,00 часа после приема в каждый период (всего 21 образец). Измерения давления крови в положении сидя и ЧСС выполнялись перед приемом и в пределах 10 минут перед очередным временем взятия образца крови после дозирования через 1,00; 2,00; 4,00; 16,00 и 32,00 часа.

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Анализ карведилола и 4¹-гидроксифенил-карведилола был проведен в интервале концентрации от 0,5 до 100 нг/мл и от 100 до 20000 пг/мл методом ВЭЖХ с детектированием тандем масс-спектрометрии. В качестве внутреннего стандарта был использован флеканид-ацетат. Документально зафиксированная стабильность карведилола и его метаболита в плазме крови с добавлением ЭДТА составляла 52-58 дней при температуре -20°C.

Для определения концентрации карведилола и его метаболита был разработан полностью валидированный метод ВЭЖХ/МС/МС. Экстракция карведилола и

его метаболита из плазмы крови выполнялась с помощью жидко/жидкостной экстракции. Времена удерживания карведилола, его метаболита и стандарта составляли 10,09; 4,01 и 6,23 минут соответственно. Интервал калибровочной кривой был от 0,5 до 100,19 нг/мл для карведилола и от 97,55 до 19510 пг/мл для метаболита. Коэффициенты корреляции составляли 0,9964 для карведилола, — 0,9967 для его метаболита.

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ И СТАТИСТИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ

Фармакокинетический и статистический анализы были выполнены с использованием программы Биоэкви (версия 3.30).

Были рассчитаны следующие фармакокинетические параметры карведилола: C_{max} (нг/мл), T_{max} (ч), K_{el} (час⁻¹), $T_{1/2}$ (ч), AUC_{0-t} (нг×ч/мл), AUC_{0-inf} (нг×ч/мл), $AUCt/inf$ (остаточная площадь). В ходе взятия образцов было отмечено отклонение во времени. Если отклонение во времени между запланированным по схеме и действительным не превышало 3-х минут, то оно рассматривалось как приемлемое. Если же оно превышало указанный предел, то для расчета фармакокинетических параметров использовалось действительное время взятия образца. Индивидуальный анализ вариаций был выполнен на основе логарифмической трансформации данных AUC_{0-t} , AUC_{0-inf} и C_{max} . ANOVA выполнялся на основе нетрансформированных данных $T_{1/2}$ и K_{el} . Для всех анализов результаты рассматривались как статистически достоверные, если уровень значимости по критерию Фишера F был ниже 0,05. Тест на нормальность распределения выполнялся на основе логарифмической трансформации данных AUC_{0-t} , AUC_{0-inf} и C_{max} . В случае, если они не имели нормального распределения, для определения различия в средних параметрах биодоступ-

Средние значения фармакокинетических параметров карведилола (n=22)

Таблица 1.

| ФК параметры | ТАЛЛИТОН® (ср. значения ±SD) | CV, % | ДИЛАТРЕНД® (ср. значения ±SD) | CV, % |
|-------------------------------|---------------------------------|-------|----------------------------------|-------|
| AUC_{0-t} (нг×ч/мл) | 120,72±50,52 | 41,85 | 120,14±63,40 | 52,77 |
| AUC_{0-inf} (нг×ч/мл) | 129,36±56,04 | 43,32 | 129,54±67,32 | 51,97 |
| $AUC_{t/inf}$ (%) | 6,16±3,31 | 53,68 | 7,42±3,96 | 53,39 |
| C_{max} (нг/мл) | 34,23±12,44 | 36,33 | 34,24±19,92 | 58,18 |
| T_{max} (час) | 0,667±0,333 | — | 0,833±0,333 | — |
| K_{el} (час ⁻¹) | 0,1079±0,0471 | 43,65 | 0,0976±0,0376 | 38,52 |
| $T_{1/2}$ (час) | 7,64±3,47 | 45,41 | 8,16±3,07 | 37,58 |

Таблица 2.

Таллитон® по сравнению с Дилатрендом®

| Показатели | AUC_{0-t} | AUC_{0-inf} | C_{max} |
|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Отношение | 103,14% | 101,75% | 110,06% |
| 90% геометр.С.1. | 95,28% – 111,65% | 94,69% – 109,33% | 93,12% – 130,08% |
| CV, % | 15,27% | 13,83% | 32,85% |

Примечание: С.1. – доверительный интервал.

ности и для установления 90% интервалов достоверности применялась непараметрическая версия двух односторонних критериев для проверки индивидуальной гипотезы (тест Уилкоксона).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фармакокинетические кривые добровольцев, получавших Таллитон® (тест) и Дилатренд® (стандарт) представлены на рис. 2 и рис. 3. Данные графики убедительно показывают, что оба препарата биоэквивалентны. Основные фармакокинетические параметры карведилола сравниваемых препаратов представлены в таблицах 1 и 2.

Приведенные данные фармакокинетических параметров свидетельствуют о незначительном интраиндивидуальном разбросе, то есть различия между препаратами оказались статистически незначимыми. Так, данные о площади под кривой «концентрация-время», средние величины C_{max} , K_{el} и $T_{1/2}$ практически не отличались.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование двух лекарственных форм карведилола показало относительную биоэквивалентность изучаемых лекарств. *E. Masson* и *B. Girard* добились достаточно низкой межиндивидуальной вариабельности фармакокинетических параметров (CV не превышает 58%) в результате тщательного подбора испытуемых с помощью проведения фенотипирования добровольцев. Однако использование в качестве здоровых добровольцев только определенной однородной подгруппы пациентов (в данном случае «быстрых метаболизаторов») отнюдь не является необходимым условием при проведении исследований биоэквивалентности, т.к. желательно проводить подобные исследования на ограниченной выборке как можно лучше представляющей реальную популяцию пациентов, принимающую изучаемый препарат.

Рис. 2.

Средняя концентрация карведилола – временной профиль (n=23)

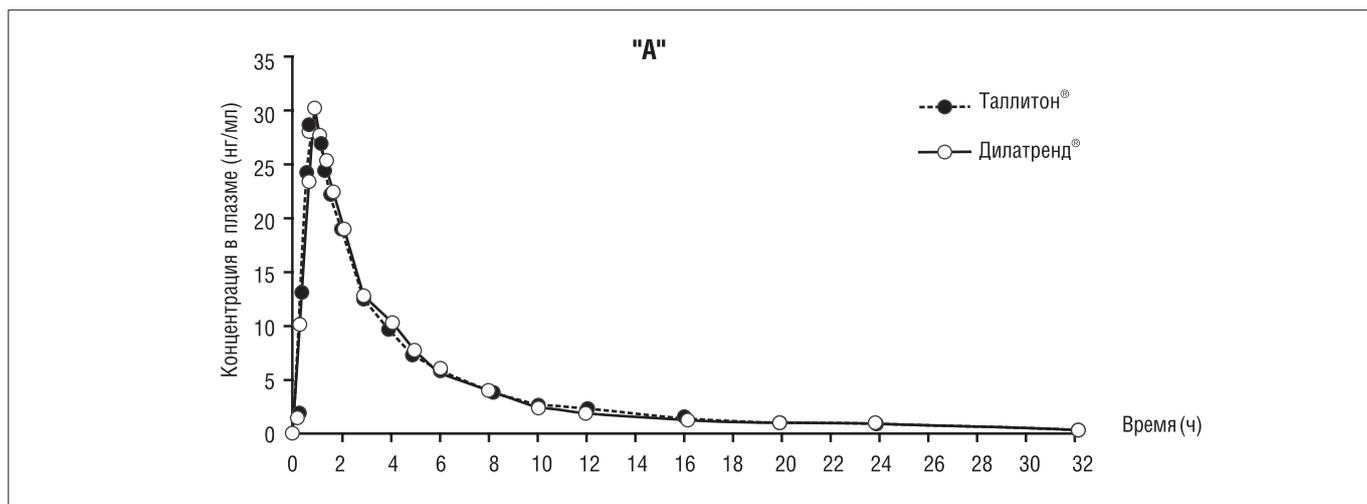
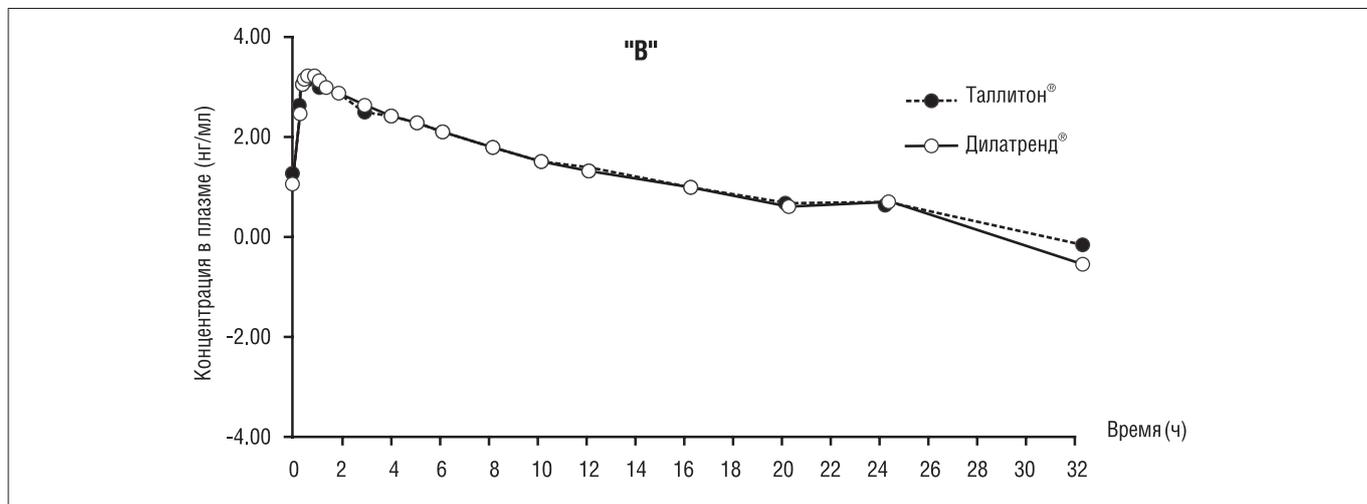


Рис. 3.

Логарифмическая трансформация средней концентрации карведилола – временной профиль (n=23)



ЛИТЕРАТУРА

1. Методические указания по проведению качественных исследований по биоэквивалентности. Москва 2005.
2. Кукес В.Г. «Метаболизм лекарственных средств. Клинико-фармакологические аспекты». Москва, «Реофарм», 2004.
3. Гусев Е.И., Белоусов Ю.Б., Гехт А.Б., Бондарева И.Б., Соколов А.В., Тищенко И.Ф. «Лечение эпилепсии: Рациональное дозирование антиконвульсантов.» Спб., 2000.
4. Холодов Л.Е., Яковлев В.П. Клиническая фармакокинетика, Москва, «Медицина», 1985.
5. Tavish D.Me., Campoli-Richards D. and Sorkin E.M. Carvedilol. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs* 1993; 45:2:232-258.
6. Morgan T., Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of carvedilol. *Clin. Pharmacokinet.* 1994; 26:5:335-346.
7. Drug evaluations: carvedilol, Micromedex, Inc. Volume 95: 1998; 339:24: 1759-1765.
8. H.William and M.D.Frushman. Carvedilol. *Drug Therapy* 1998: 339: 24: 1759-1765.

Сравнительное фармакокинетическое изучение препаратов тилорона с помощью разработанной методики ВЭЖХ

Л. М. Красных, А. Ю. Савченко, Г. В. Раменская
ИКФ НЦ ЭСМП, ММА им. Сеченова, г. Москва

При изыскании химиотерапевтических средств для профилактики и лечения вирусных заболеваний большое внимание уделяется веществам, стимулирующим выработку в организме человека эндогенных интерферонов (ИФ). Сравнительно недавно в доступной литературе стали появляться сообщения о клиническом применении нового поколения индукторов интерфероногенеза — низкомолекулярные синтетические соединения на основе флуоренона и акридина. Проведенные клинические испытания препаратов показали, что их противовирусная активность, в целом не только совпадает с ранее известными антивирусными эффектами экзогенных ИФ, но они обладают рядом преимуществ — индуцируют продукцию собственного, эндогенного интерферона, причем всех трех видов [1].

К числу таких препаратов следует отнести Лавомакс® и Амиксин (МНН-тилорон), успешно прошедшего клинические исследования в России и на Украине, подтвердившие его интерферониндуцирующие свойства, высокую антивирусную активность и хорошую переносимость [2].

Тилорон — 2,7-Бис-[2-(диэтиламино) этокси]-9Н-флуорен-9-он — новый отечественный препарат, обладающий противовирусным, иммуномодулирующим действием. Результаты химических и фармакологических исследований приведены в ряде публикаций.

Первые экспериментальные исследования интерферон-индуцирующей активности тилорона относятся к 80-м годам. В опытах на здоровых добровольцах была показана хорошая переносимость [3] и способность тилорона к индукции высоких уровней интерферона у основной массы лиц, а у имеющих исходно низкие уровни сывороточного ИФ отмечалась нормализация этих показателей [4].

С 1994 года тилорон стал использоваться в практике лечения массовых острых и хронических вирусных инфекций (вирусные гепатиты, грипп и другие). Он эффективен против широкого круга вирусных инфекций. К действию тилорона чувствительны гепатно-, герпес-, микровирусы [1]. Тилорон

применяется в комплексной терапии герпеса, инфекционно-аллергических и вирусных энцефаломиелитов (рассеянный склероз, лейкоэнцефалиты, увеэнцефалиты и другие), по лечебной схеме при гепатитах и энтеровирусных инфекциях, а также для профилактики гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций [6]. Хорошо совместим с антибиотиками и средствами традиционного лечения вирусных и бактериальных заболеваний [1].

Тилорон обладает иммуностимулирующим эффектом. Он стимулирует стволовые клетки костного мозга, усиливает антителообразование, уменьшает степень иммунодепрессии, вызванной введением канцерогена, осуществляет коррекцию соотношения Т-супрессоров и Т-хелперов, повышает активность ЕК-клеток [7].

Повышение эффективности и безопасности лекарственной терапии возможно благодаря подробному изучению фармакокинетических и фармакологических показателей. В доступной литературе практически отсутствуют данные по фармакокинетике и количественному определению тилорона в биологических жидкостях [8].

Поэтому целью настоящего исследования явились разработка метода экстракции и количественного определения тилорона в сыворотке крови и сравнительное фармакокинетическое изучение препаратов тилорона после однократного перорального приема.

Основной целью фармакокинетических исследований лекарственных препаратов является повышение эффективности и безопасности их использования в клинической практике. Проблемы фармакокинетики: анализ скорости и интенсивности процессов всасывания, распределения по органам и тканям, направленности и количественной оценки процессов биотрансформации, путей и скорости выведения — в последние годы приобретают решающее значение при создании, испытании и разработке оптимального режима фармакотерапии лекарственными препаратами.

Изучение судьбы лекарственного препарата в живом организме предполагает в первую очередь определение

его содержания в крови. Поэтому, прежде чем приступить к изучению любых фармакокинетических процессов, необходимо выбрать метод количественного определения изучаемого лекарственного вещества в биологических средах. В первую очередь нами была разработана методика количественного определения тилорона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В последние годы метод ВЭЖХ становится одним из самых распространенных методов анализа лекарственных средств в биологическом материале, в том числе при изучении фармакокинетики. Это объясняется тем, что метод ВЭЖХ имеет ряд преимуществ по сравнению с другими: отсутствие ограничений по термостойкости и летучести анализируемого препарата, возможность работать с водными растворами, возможность собирать разделенные фракции для их последующей идентификации, высокая селективность, точность и чувствительность.

Разработка методики количественного определения любого лекарственного препарата из биологического материала методом ВЭЖХ включает в себя: подбор условий хроматографирования, извлечение лекарственного вещества из биологической жидкости, количественный анализ.

Для подбора условий хроматографического разделения важное значение имеет выбор сорбента, типа детектора и условий детектирования, оптимального состава подвижной фазы и скорости ее подачи. Отрабатывая методику хроматографического разделения, следует добиваться выполнения условия, что разделение должно быть достаточно хорошим при минимально допустимых затратах времени.

При выборе типа колонки мы учитывали физико-химические свойства тилорона, а также тот факт, что анализ фармацевтических препаратов методом ВЭЖХ чаще проводится с применением обращеннофазных сорбентов. В нашем исследовании была выбрана обращеннофазная колонка Диасорб 130-С16Т (150×4 мм, 7 мкм), Россия.

При подборе состава элюента мы исходили из соображений наилучшего разделения хроматографических пиков, а также доступности растворителей для анализа, простоты и быстроты приготовления подвижной фазы. Следует отметить, что выбор элюента и оптимизация условий разделения — задача достаточно сложная. Нами исследовались подвижные фазы ацетонитрил/вода с различным соотношением компонентов. Подвижные фазы модифицировались введением фосфатных буферов. При небольшом изменении состава подвижной фазы за счет уменьшения ацетонитрила оптимизировалось по хроматографическим показателям определение тилорона.

Полученный элюент перед анализом фильтровали через фильтр Millipore (0,45) и дегазировали под вакуумом. Разделение проводили при комнатной температуре. Скорость потока подвижной фазы выбирали исходя из времени анализа и давления на хроматографиче-

ской колонке. Оптимальной по указанным параметрам была скорость потока элюента 1 мл/мин.

Детектирование образцов осуществляли на аналитической длине волны 270 нм. Детектирование на этой волне позволяет достичь необходимого предела обнаружения тилорона с хорошей воспроизводимостью результатов.

Для разработки методики количественного определения тилорона методом ВЭЖХ использовалась субстанция предоставленная ОАО «НИЖФАРМ» (Россия), представляющая собой порошок хорошо растворимый в слабых кислотах.

При разработке аналитической методики важная роль отводится процессу пробоподготовки. Для подготовки образцов сыворотки крови более оптимальным является способ с применением жидкостной экстракции с последующим концентрированием пробы. Метод с использованием осаждения белков крови с последующим анализом надосадочной жидкости с помощью ВЭЖХ в нашем случае не применим из-за низкой чувствительности метода и большого количества эндогенных веществ, мешающих определению. Как известно, на полноту извлечения веществ из биологического материала органическими растворителями оказывает влияние ряд факторов: природа исследуемого вещества и экстрагента, кратность экстракции, объем экстрагента, pH среды.

Детальное изучение экстракции тилорона мы провели такими органическими растворителями как хлороформ, гексан, диэтиловый эфир, изопропиловый спирт с различными значениями pH среды. В наших исследованиях влияние на степень экстракции тилорона оказывали pH среды и природа экстрагента. Наилучшая степень экстракции была достигнута хлороформом в нейтральной среде, коэффициент экстракции составил 90 %.

Таким образом, экстракцию проводили следующим образом: к образцу сыворотки крови объемом 1 мл добавляли 5 мл хлороформа, смесь подвергалась энергичному встряхиванию на вибромиксере, центрифугированию в течение 10 мин при 4500 об/мин, затем органический слой переносили в колбы и экстракт упаривали на ротаторном испарителе при 37°C. Сухой остаток растворяли в 150 мкл подвижной фазы и 50 мкл полученного раствора вводили в хроматограф. Анализ проводили на хроматографе «Shimadzu» (Япония).

На рисунке 1 представлены типичные ВЭЖХ-хроматограммы тилорона в сыворотке крови в описанных условиях.

Как видно из рисунка 1 хроматографический пик тилорона хорошо отделяется от пиков эндогенных веществ сыворотки крови.

Основой для количественного определения (метод абсолютной калибровки) тилорона в сыворотке крови служили калибровочные зависимости, для построения которых были проанализированы образцы сыворотки крови с различной концентрацией определяемого вещества. При регрессионном анализе выявлена

линейная зависимость между концентрацией тилорона в интервале 10-250 нг/мл. Коэффициент корреляции составил $r^2=0,98$.

Воспроизводимость метода шести повторов каждой исследованной концентрации находилась в пределах 90-110 %, а коэффициент вариации при не превышал 10 %.

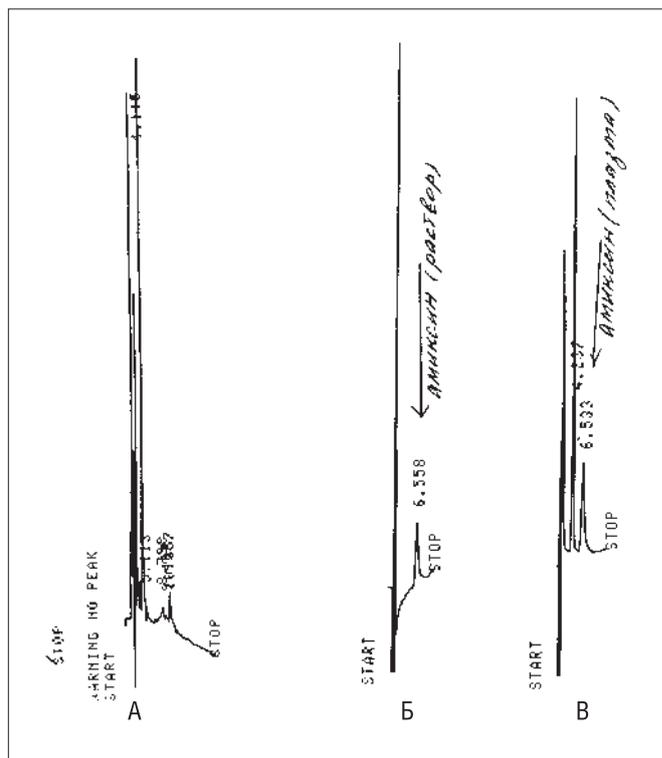
Разработанная методика была применена для изучения сравнительной фармакокинетики препаратов тилорона — Лавомакс® (ОАО «НИЖФАРМ», Россия) и Амиксин® (ОАО «Дальхимфарм», Россия), представляющие собой таблетки, покрытые оболочкой, содержащие 125 мг тилорона.

В фармакокинетическое исследование было включено 18 здоровых добровольцев (7 мужчин и 11 женщин) в возрасте 18-44 лет, массой тела 50-81 кг, ростом 160-182 см, без патологий желудочно-кишечного тракта, печени, почек, сердечно-сосудистой системы (предварительно проведённые клинико-лабораторные и инструментальные исследования не выявили наличия каких-либо заболеваний). В течение 14 дней до начала проведения испытания добровольцы не принимали никаких лекарственных препаратов. В целом дизайн исследования соответствовал требованиям «Методических указаний...» [9], а само исследование было одобрено Комитетом по этике при федеральном органе контроля качества лекарственных средств. Препараты давали натощак однократно внутрь по две таблетки (250 мг). Отбор проб крови проводили через катетер до приёма препарата и через 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10 и 24 часа после приёма препарата. После образования кровяного сгустка, образцы крови центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин и отделённую сыворотку хранили до анализа замороженной при температуре -35°C .

Анализ проб проводили по разработанной нами методике. Значения усреднённых концентраций тилорона в сыворотке крови добровольцев после однократного приёма изучаемых препаратов представлены на рисунке 2.

Рис. 1.

Образцы хроматограмм проб сыворотки крови добровольцев



Примечание:

- А – проба «чистой» сыворотки крови до введения препарата
- Б – стандартный образец тилорона
- В – проба сыворотки крови спустя 1 ч после приема препарата.

Как видно из представленных данных значения концентрации тилорона статистически достоверно не различались для каждого момента времени.

Следует отметить, что после приёма препаратов имеет место значительная межиндивидуальная вариация кинетических кривых во всех точках отбора крови (коэффициент вариации от 26 до 70 %).

Таблица 1.

Фармакокинетические параметры тилорона после приема 250 мг

| Параметры | C_{\max} , нг/мл | T_{\max} , час | AUC_{0-t} , нг×ч/мл | C_{\max}/AUC_{0-t} |
|------------------|--------------------|------------------|-----------------------|----------------------|
| Лавомакс® | | | | |
| Mean | 95,4 | 2,8 | 777,2 | 0,129 |
| GMean | 90,8 | 2,7 | 723,5 | 0,126 |
| SD | 30,5 | 0,7 | 311,6 | 0,032 |
| Median | 91,7 | 3,0 | 731,4 | 0,124 |
| L-95% | 80,2 | 2,4 | 622,3 | 0,113 |
| Uр-95% | 162,8 | 3,1 | 932,2 | 0,145 |
| Амиксин® | | | | |
| Mean | 94,9 | 2,6 | 765,9 | 0,130 |
| GMean | 91,5 | 2,5 | 721,1 | 0,127 |
| SD | 26,1 | 0,5 | 268,5 | 0,033 |
| Median | 92,9 | 3,0 | 764,6 | 0,119 |
| L-95% | 81,9 | 2,3 | 632,4 | 0,114 |
| Uр-95% | 107,9 | 2,8 | 899,4 | 0,147 |

Примечание: GMean – среднее геометрическое значение

ЛАВОМАКС®

ВРЕМЯ
БОЛЕЗНИ
ИСТЕКЛО!



- ▶ Индуктор синтеза
эндогенного интерферона
- ▶ Иммуномодулятор
широкого спектра действия
- ▶ Высокая эффективность
лечения
- ▶ Простая
схема назначения
- ▶ Отпуск из аптек
без рецепта



Фармакокинетические параметры тилорона после приема изучаемых препаратов, необходимые для оценки их биоэквивалентности (C_{max} , T_{max} , AUC_{0-t} , C_{max}/AUC_{0-t}) приведены в таблице 1.

Исследование фармакокинетики Лавомакса® показало, что максимальная концентрация тилорона в крови достигается в среднем через $2,8 \pm 0,7$ часа и составляет $95,4 \pm 30,5$ нг/мл. Препарат достаточно долго удерживается в организме, среднее время удерживания MRT составляет $12,5 \pm 1,7$ часа.

Значения всех фармакокинетических параметров после приема изучаемых препаратов статистически достоверно не различались. При расчете параметров биоэквивалентности двух препаратов было получено, что среднее значение относительной биодоступности (f) препарата Лавомакс® по отношению к препарату Амиксин® составляет $1,01 \pm 0,13$. Среднее значение отношений максимальных концентраций (f') составляет $1,00 \pm 0,14$.

Дисперсионный анализ значений AUC_{0-t} , C_{max} , C_{max}/AUC_{0-t} , проведенный после их логарифмического преобразования не выявил статистически значимых различий между препаратами.

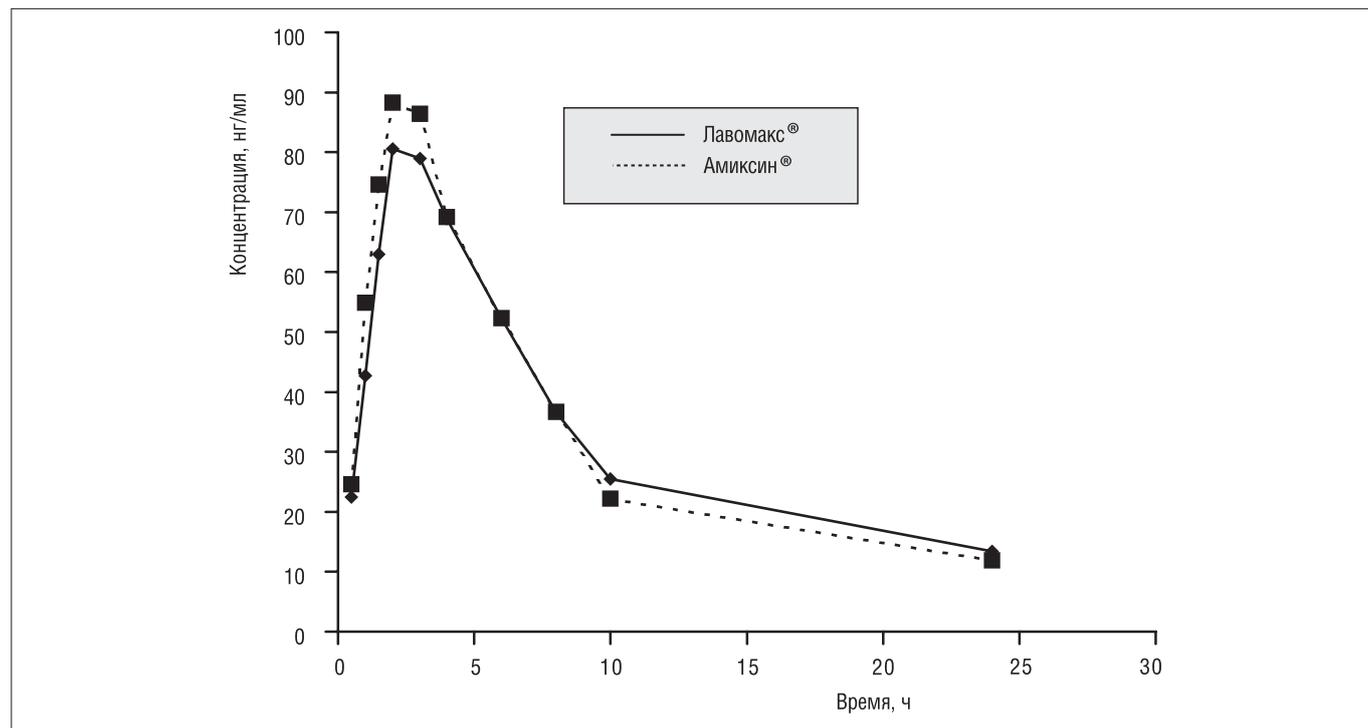
Таким образом, не выявлено статистически достоверных различий в процессе всасывания (как по полноте, так и по скорости) тилорона после приема препаратов Лавомакс® и Амиксин®.

Из результатов настоящего исследования сравнительной фармакокинетики двух препаратов очевидно, что препарат ЛАВОМАКС® производства ОАО «НИЖФАРМ», Россия является биоэквивалентным препарату АМИКСИН® производства ОАО «Дальхимфарм», Россия по полноте и скорости всасывания.

Таким образом, нами разработана эффективная методика количественного определения тилорона. Методика характеризуется воспроизводимостью и низким пределом обнаружения (10 нг/м). С помощью разработанной ВЭЖХ методики доказана биоэквивалентность препаратов Лавомакс® и Амиксин®.

Рис. 2.

Динамика усредненных концентраций тилорона в сыворотке крови добровольцев после однократного приема в дозе 250 мг



ЛИТЕРАТУРА

1. Еришов Ф.И. Антивирусные препараты. М: Медицина 1998; 205.
2. Литвинова Л.А., Ляхов С.А., Андронати С.А. и др. Биологическая активность липосомальной формы амиксина. Хим фарм журнал 2000; 34: 12: 35-37.
3. Чижов Н.П., Смоленская Т.Т., Бойченко П.И. и др. Клинические исследования переносимости и интерферониндуцирующей активности амиксина. Вопр Вирусологии 1990; 5: 411-414.
4. Karpov A.V., Zholobak N.H. Production of type I interferons in the body exposed to yeast RNA-tilorone molecular complexes. Voпр Virusol 1996; 41: 1: 13-16.
5. Турьянов Н.Х., Алленов М.Н., Селькова Е.П. и др. Применение Амиксина для лечения острого вирусного гепатита В. Московский мед журн 1998; 1: 38-39.
6. Селькова Е.П., Турьянов М.Х., Мягких И.В. и др. Неспецифическая профилактика гриппа и ОРЗ амиксином. Московский мед журн 1999; 3: 56-58.
7. Algarra I. Effect of *in vivo* activation of NK cells by a tilorone analogue On the survival of mice injected in with different experimental murine tumours. Clin Exp Immunol 1996; 103: 499-505.
8. Карпинчик В.А., Мальцев Г.В., Сумрий С.К. Синтез амиксина - 3H_2 и разработка методов его извлечения из биологических субстратов. Хим фарм журнал 2002; 36: 8: 47-49.
9. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания МЗ и СР РФ. М.: 2004.

Генетический полиморфизм и фармакокинетика лекарственных средств

И. И. Мирошниченко¹, С. Н. Птицина²

¹ — НЦПЗ РАМН, г. Москва

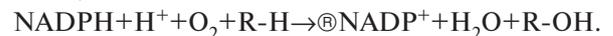
² — ВНЦБАВ, Купавна, Московская область

Взаимосвязь фармакологии и генетики носит двусторонний характер. С одной стороны, в рамках медицинской генетики изучается влияние лекарственных веществ на генетический аппарат. В настоящий момент необходимым этапом при создании новых лекарственных средств является изучение их мутагенности, что значительно повышает безопасность применения лекарств, исключая на доклиническом этапе вероятность нежелательных отдаленных последствий индуцированных мутаций.

С другой стороны, воздействие лекарственных веществ на организм человека зависит от фенотипа эндогенных систем, опосредующих их фармакодинамику и фармакокинетику [2]. Это направление получило название фармакогенетики. В настоящее время у человека установлены генетические различия практически по всем ферментам, метаболизирующим лекарства. Одной из задач фармакогенетики, имеющей как общеприкладное, так и клиническое значение, является выяснение генетических и внешних причин различной реакции индивидуумов на лекарственные препараты (значения ряда фармакокинетических параметров могут отличаться в 4-40 раз, в зависимости от вида препарата и характера популяционных исследований).

В настоящее время наблюдается устойчивый интерес к генетически обусловленным факторам риска и вариабельности терапевтического эффекта. В перспективе генотипирование пациентов приведет к снижению количества наследственных заболеваний и оптимизации терапии путем выявления генетического полиморфизма изоферментов цитохрома P450 (CYP) и N-ацетилтрансферазы [1, 5]. При наличии полиморфизма в популяции выделяют группы с нормальным метаболизмом, замедленным метаболизмом (при наличии двух инактивных аллелей) и сверхинтенсивным метаболизмом (повышенная ферментативная экспрессия). Соответственно, возникает опасность неэффективности терапии при сверхинтенсивном метаболизме и, наоборот, возникновения токсических проявлений при замедленном метаболизме.

Большинство реакций I фазы метаболизма лекарственных средств катализируется цитохромом P450, гемосодержащим белком, связанным с мембранами эндоплазматического ретикулума. Ферменты семейства цитохром P450 локализованы, преимущественно, в гепатоцитах, хотя известны и другие места их локализации (стенка кишечника, почки, легкие, кожа и кровь). Реакция протекает в несколько этапов, но в конечном результате приводит к переносу атома кислорода субстрату (R-H) с участием кофермента NADPH:



У человека обнаружено, по меньшей мере, 12 классов цитохрома P450, различающихся по аминокислотной последовательности. Три из них (CYP1, CYP2, CYP3) ответственны за большинство процессов биотрансформации. Эти классы, в свою очередь, подразделяются на подклассы: CYP1A, CYP2B и т.д. Индивидуальные изоферменты подклассов отличаются по арабской цифре в конце аббревиатуры, означающей порядок открытия этой изоформы (CYP1A2). Среди около 30 встречающихся у человека изоферментов, наибольший вклад в метаболизм ксенобиотиков вносят CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4/5 и, в некоторой мере, CYP2A6 и CYP2B6 (табл. 1).

Таблица 1.

Процент от общего числа зарегистрированных препаратов, подвергающихся метаболизму посредством определенной изоформы цитохрома P450

| Фермент | Процент от общего числа |
|----------|-------------------------|
| CYP2A6 | 3 |
| CYP2B6 | 3 |
| CYP2E1 | 4 |
| CYP2C19 | 8 |
| CYP1A1/2 | 11 |
| CYP2C8/9 | 16 |
| CYP2D6 | 19 |
| CYP3A4/5 | 36 |

Подкласс CYP2B широко распространен и достаточно хорошо изучен у экспериментальных животных, однако его роль в лекарственной биотрансформации у человека ограничена. Наибольшее значение в метаболизме препаратов у человека играет CYP3A4. Эта изоформа, большей частью, локализована в печени, но присутствует также и в ЖКТ. Среди лекарственных средств, подвергающихся биотрансформации, как в печени, так и в ЖКТ, следует упомянуть циклоспорин, верапамил и применяющиеся для лечения ВИЧ ингибиторы протеазы. Все они обладают высокими значениями клиренса и являются субстратом CYP3A4. В одной и той же клетке могут присутствовать разные изоформы цитохрома P450, но, как правило, метаболизм конкретного препарата катализирует определенный изофермент, хотя наблюдаются и примеры иного рода, например амитриптилин (табл. 2).

Подобный мультисубстратный метаболизм вносит определенный вклад в межлекарственное взаимодействие.

Среди факторов, влияющих на ферментативную активность семейства цитохромов P450, следует выде-

лить генетический полиморфизм (экспрессия признака выражена несколькими генами), лекарственное взаимодействие при совместном применении, заболевания и возраст человека [14]. Различные аллели генов этого семейства приводят к значительной вариабельности экспрессии и, как следствие, к «фармакогенетическому полиморфизму» популяции. Показано, что имеются значительные отличия в исследованных выборках между CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A5, ответственных за метаболизм большинства лекарственных веществ, элиминируемых через печень.

В качестве примера можно привести работу *Y. Hashimoto и соавт.* [8] по изучению индивидуальной чувствительности к факторам, вызывающим коронарные заболевания сердца в зависимости от потребления алкоголя. Исследовали взаимосвязь между клиническими характеристиками (кровяное давление, содержание триглицеридов и мочевой кислоты) и генетическим полиморфизмом алкогольдегидрогеназы (ADH)2 и альдегиддегидрогеназы (ALDH)2. Генотип ADH2 определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей обработкой рестрик-

Таблица 2.

Характеристики основных изоферментов цитохрома P450 печени человека [4, 7, 18]

| Изофермент | Субстраты | Индукторы | Ингибиторы |
|------------|--|---|---|
| CYP1A2 | Амитриптилин, ацетаминофен, кофеин, клозапин, имипрамин, оланзапин, ондасетрон, пропранолол, теофиллин, такрин, (R)-варфарин | Сигаретный дым, древесный уголь, жареная пища, инсулин, омепразол | Амиодарон, мибефрадил, норфлоксацин, тиклопидин, ципрофлоксацин, эноксацин, |
| CYP2A6 | Бетадеин, кумарин, никотин | Барбитураты | |
| CYP2B6 | Бупропион, изофосфамид, метадон, эфавиренц | Рифампин, фенобарбитал | Тиклопидин |
| CYP2C9 | Амитриптилин, диклофенак, ибупрофен, пироксикам, фенитоин, (S)-варфарин. | Рифампин | Амиодарон, ритонавир |
| CYP2C19 | Амитриптилин, дапсон, диазепам, омепразол, циталопрам | Дексаметазон, фенобарбитал | Ритонавир |
| CYP2D6 | β-адреноблокаторы, дебризоквин, декстрометорфан, омепразол, трициклические антидепрессанты | Беременность, дексаметазон, рифампин | Дезипрамин, кломипрамин, пароксетин, сертралин, тиоридазин, флуоксетин, хинидин |
| CYP2E1 | Ацетаминофен, венлафаксин, галотан, этанол | Этанол, изониазид | Дисульфирам, циметидин |

тазой МаеIII; генотип ALDH2 определяли на основе анализа полиморфизма длин амплифицированных продуктов с использованием трех олигонуклеотидных праймеров. Полученные результаты позволили разделить исследуемую популяцию из 133 человек, потребляющих >300 г алкоголя в неделю, на три группы с генотипами ADH 2¹/2¹, ADH 2¹/2² и ADH 2²/2². С помощью регрессионного анализа выявили корреляцию между частотой коронарных заболеваний сердца и генотипом ADH 2²/2² и пришли к заключению, что индивидуумы с генотипом ADH 2¹/2¹ могут легче переносить отрицательные последствия алкоголя.

Популяция в США насчитывает около 50% лиц со сниженной активностью N-ацетилтрансферазы — фермента, ацетилирующего ряд препаратов (изониазида, гидралазина, сульфалазина) [22].

Примерно у 1 из 1500 человек выявлен дефицит псевдохолинэстеразы, фермента ответственного за гидролиз эфирных связей [17].

Снижение дебризохин гидроксилазной активности обусловлено изменением активности CYP2D6. Индоевропейская популяция насчитывает от 5 до 10% лиц с дефицитом данного фермента (табл. 3). Большое количество препаратов (β-адреноблокаторы, антиаритмики, трициклические антидепрессанты, нейролептики) являются субстратами CYP2D6 и наблюдаемое 10–20-кратное различие в метаболизме этих веществ у человека также объясняется полиморфизмом. Обнаружен также полиморфизм стереоселективного гидроксилирования S-мефенитоина. Медленный метаболизм, опосредованный CYP2C19, наблюдается у 3% европейцев и 15% жителей Азиатско-Тихоокеанского региона (табл. 3). Дефицит изоферментов группы CYP2C наблюдается у 2–5% европейцев, 18–23% японцев и у 5–17% китайцев [18].

У примерно 50% японцев и китайцев, и практически поголовно у малых северных народов наблюдается дефицит альдегиддегидрогеназы-2, фермента, ответственного за утилизацию алкоголя в организме человека. Дефицит другого фермента, вовлеченного в метаболизм алкоголя, алкогольдегидрогеназы, обнаружен у 85% азиатской популяции, 5–10% англичан, 9–14% жителей Германии и 20% швейцарцев. Низкая ферментативная активность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы выявлена у африканцев и жителей Среди-

земноморья. Данное обстоятельство приводит к риску возникновения гемолитической анемии при приеме препаратов с антиоксидантными свойствами [22].

Широкий диапазон ответной реакции на лекарственные препараты может быть связан с генетическим полиморфизмом транспортных белков, например, Р-гликопротеинов [13], полипептидов-транспортёров анионов, действующих в I фазу абсорбции, цитохромов P450 или ферментов II фазы метаболизма — N-ацетилтрансфераз и тиопуринов S-метилтрансфераз.

Генетический полиморфизм CYP2C9 обуславливает разницу в метаболизме глипизид (резко выраженная гипогликемия) и фенитоина (табл. 4). Генотипирование пациента, не способного эффективно метаболизировать глипизид, выявило, что данный субъект был гомозиготен по CYP2C9*3 аллели, то есть показана очевидная связь между генотипом CYP2C9*3*3 и вызываемой данным препаратом гипогликемией. Необходимость в генотипировании, и, как следствие, в корректировке лечащим врачом терапевтической дозы, показана и для препаратов с узкими границами терапевтической дозы, например, противоэпилептического препарата фенитоина и варфарина, при введении стандартной дозы которого у пациентов с медленным метаболизмом возрастал риск геморрагических осложнений. Установили [20], что у данных пациентов наблюдается гомозиготность CYP2C9*3 аллеля цитохрома P450.

Показано, что у лиц с медленным метаболизмом омепразола (субстрат CYP2C19) наблюдается значительно лучший терапевтический эффект по отношению к *Helicobacter pylori*, чем у субъектов с интенсивным (нормальным) метаболизмом [21]. Кодеин является пролекарством, которое подвергается метаболизму посредством изофермента CYP2D6, с образованием активной формы морфина. Вследствие этого у пациентов с медленным метаболизмом, обусловленным CYP2D6, кодеин в качестве анальгетика неэффективен [21].

В связи с вышесказанным встает вопрос о возможности лабораторной и, особенно клинической генодиагностики с целью оптимизации терапевтической эффективности лекарств. Генотипирование включает идентификацию определенных генетических мутаций, приводящих к специфическому фенотипу метаболиз-

Таблица 3.

Количество лиц с замедленным метаболизмом (PM) и сверхинтенсивным метаболизмом (UEM) в процентах от всей популяции у различных расовых и этнических групп

| Фермент | Индоевропейцы | | Монголоиды | | Негроиды | | Арабы | |
|---------|---------------|------|------------|-----|----------|-----|-------|-------|
| | PM | UEM | PM | UEM | PM | UEM | PM | UEM |
| CYP2D6 | 5–10 | 1–10 | 1 | 0–2 | 0–20 | 2 | 1,8–2 | 10–29 |
| CYP2C9 | 0,2–1 | НД | 2–3 | НД | НД | НД | НД | НД |
| CYP2C19 | 2–4 | НД | 10–25 | НД | 1–5 | НД | 2* | НД |

Примечание: НД – нет данных, * – данные по Саудовской Аравии.

ма препаратов. К мутациям относятся генетические изменения, вызывающие повышенную экспрессию фермента (генные дубликации), отсутствие активного генного продукта (нуль аллели) или продукция мутантного белка с ослабленной каталитической способностью (инактивированные аллели).

Прогресс в этом направлении стал возможен с разработкой метода, позволяющего проводить успешный скрининг генетических мутаций, связанных с изменением метаболизма лекарств и чувствительности к канцерогенам, и заключающийся в амплификации специфического района гена с помощью ПЦР с последующей обработкой амплифицированного генного продукта рестрикционными эндонуклеазами, разрезающими ДНК с высокой специфичностью. По характеру возникающих рестрикционных фрагментов и их полиморфизму можно судить о возникающих внутри определенной последовательности ДНК точковых мутациях. Различия в размере фрагментов в сравнении с контрольными образцами ДНК определяются с помощью электрофореза в агарозном геле с последующим окрашиванием фрагментов ДНК бромистым этидием. Данный метод RFLP (ПДРФ — полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) часто упоминается в публикациях [9, 11, 19].

Второй метод, применяемый для определения мутаций внутри гена, заключается в аллель-специфичной ПЦР-амплификации, когда в параллельных реакциях амплификации используются олигонуклеотиды, специфичные для гибридизации с основными или вариантными аллелями. При этом амплифицированный продукт дают только последовательности-мишени, гибридизующиеся с зондами, анализ осуществляется также методом электрофореза в агарозном геле. Примером применения этого метода является идентификация аллельных вариантов А и Б CYP2D6. [15]. Этот метод генотипирования хорош тем, что требует малых количеств крови или ткани и обеспечивает результаты через 48-72 ч, позволяя провести быструю коррекцию дозы и введение препарата. Для уточнения генотипа используют метод гибридизации по Саузерну, но для клинических целей это не является необходимым.

Следует отметить постоянное усовершенствование и разнообразие методов ПЦР-детекции, разработку новых специфичных праймеров и микрочипов ДНК,

позволяющих как усилить возможности идентификации генов, так и ускорить проведение генотипирования в клинических условиях на сравнительно недорогом и удобном оборудовании.

Примером может служить выявление нового аллеля *14В CYP2D6, а также шести дублицированных аллелей CYP2D6 при анализе китайской популяции [10]. Полиморфизм по данному гену имеет большое клиническое значение для ряда антидепрессантов, нейролептиков и антиаритмиков [3]. В обзоре [16] схематично представлена структурная организация хромосомы 22, включающей локусы CYP2D6, CYP2D7 и CYP 2D8P, и картированной с помощью рестриктазы XbaI. Идентифицированы мутации, связанные с наличием двух псевдогенов CYP2D7P и CYP2D8P, делеций и дубликаций генов. Первым доказательством генетического полиморфизма гена CYP2D6 было выявление гомозиготной генной делеции CYP2D6, связанной с ослабленным лекарственным метаболизмом [3].

При интерпретации данных генотипирования следует уточнить, что гомозиготность по генным делециям встречается очень редко и составляет <4% РМ (0,4% от всей популяции).

В заключение хотелось бы подчеркнуть важное значение сочетания генотипирования с терапевтическим лекарственным мониторингом, позволяющим предсказывать РМ и УЕМ фенотипы и индивидуализировать терапевтический подход к человеку. Интенсивные разработки технологии микрочипов ДНК в совокупности с успешной реализацией Международной программы «Геном человека» позволят в будущем снизить расходы на проведение скрининга и поднять медицинское обслуживание на качественно новую ступень.

Таким образом, имеющийся в настоящее время объем информации трансформирует фармакогенетику из теоретической науки в практическую дисциплину, вписывающуюся в рамки клинической фармакологии, поскольку появилась возможность типировать пациентов по признакам, прогнозирующим индивидуальные эффекты лекарств, что, безусловно, открывает новые возможности рационализации фармакотерапии.

Расшифровка генома человека ведет к дальнейшему продвижению фармакогенетики и решению задач, описываемых вновь введенным термином «фармакогеномика» [6].

Таблица 4.

Различия в показателях фармакокинетики глипизид и фенитоина у 24 здоровых добровольцев с замедленным метаболизмом (РМ) и интенсивным (нормальным) метаболизмом (ЕМ) после однократного приема в терапевтических дозах [12]

| Параметр | Глипизид | | Фенитоин | |
|---------------------------|-----------|----------|-----------|----------|
| | ЕМ (n=23) | РМ (n=1) | ЕМ (n=23) | РМ (n=1) |
| T _{1/2} , ч | 5±2 | 11 | 14±4 | 47 |
| C _{max} , мкг/мл | 252±81 | 1270 | 2±1 | 2 |
| AUC, мкг·ч/мл | 4712±707 | 25686 | 47±14 | 200 |

ЛИТЕРАТУРА

1. *Евгеньев М. И., Гармонов С. Ю., Погорельцев В. И. и др.* Определение фенотипа ацелирования для терапевтического мониторинга лекарственных средств. *Клин лаб диагностика* 1996; 5: 24-27.
2. *Середенин С. Б., Вальдман Е. А.* Фармакология и генетика. Новые перспективы и возможности. *Вестник РГМУ* 2003; 4: 30: 75-77.
3. *Brose K., Gram L. F.* Clinical significance of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol* 1989; 36: 537-547.
4. *Buck M. L.* The cytochrome P450 enzyme system and its effect on drug metabolism. *Pediatr Pharmacother* 1997; 3: 5: 211-216.
5. *Dahl M. L.* Cytochrome P450 phenotyping in patients receiving antipsychotics. Useful aid to prescribing? *Clin Pharmacokin* 2002; 41: 453-470.
6. *Flexner C. W.* Advances in HIV pharmacology: protein binding, pharmacogenomics, and therapeutic drug monitoring. *Top HIV Med* 2003; 11: 2: 40-44.
7. *Gunaratna C.* Drug metabolism and pharmacokinetics in drug discovery: a primer for bioanalytical chemists, part I. *Current Separations BAS* 2000; 19: 1: 17-23.
8. *Hashimoto Y, Nakayama T, Futamura A. et al.* Relationship between genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes and changes in risk factors for coronary heart disease associated with alcohol consumption. *Clin Chem* 2002; 48: 7: 1043-1048.
9. *Harris C. C.* Interindividual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair. *Carcinogenesis* 1989; 10: 1563-1566.
10. *Ji L., Pan S., Marti-Jaun J. et al.* Single-step assays to analyze CYP2D6 gene polymorphisms in Asians: allele frequencies and a novel *14B allele in mainland Chinese. *Clin Chem* 2002; 48: 7: 983-988.
11. *Kawajiri K., Nakachi K., Imai K. et al.* Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450IA1 gene. *FEBS Lett* 1990; 263: 131-133.
12. *Kidd R. S., Straughn A. B., Meyer M. C. et al.* Pharmacokinetics of chlorpheniramine, phenytoin, glipizide and nifedipine in an individual homozygous for the CYP2C9*3 allele. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 1: 71-80.
13. *Kurata Y., Ieiri I., Kimura M. et al.* Role of human MDR1 gene polymorphism in bioavailability and interaction of digoxin, a substrate of P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 209-219.
14. *Kwan K. C.* Oral bioavailability and first-pass effects. *Drug Metab Dispos* 1997; 25: 12: 1329-1336.
15. *Linder M. W., Prough R. A., Valdes R. Jr.* Pharmacogenetics: a laboratory tool for optimizing therapeutic efficiency. *Clin Chem* 1997; 43: 2: 254-266.
16. *Linder M. W., Valdes R. Jr.* Genetic mechanisms for variability in drug response and toxicity. *J Anal Toxicol* 2001; 25: 5: 405-413.
17. *Maiorana A., Roach R. B. Jr.* Heterozygous pseudocholinesterase deficiency: a case report and review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003; 61: 7: 845-847.
18. *Meyer J. M., Rodvold K. A.* Drug biotransformation by the cytochrome P-450 enzyme system. *Infect Med* 1996; 13: 6: 452, 459, 463-464, 523.
19. *Nakachi K., Imai K., Hayashi S., Watanabe J.* Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res* 1991; 51: 5177-5180.
20. *Rettie A. E., Wienkers L. C., Gonzalez F. J. et al.* Impaired (S) -warfarin metabolism catalysed by the R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 39-42.
21. *Rogers J. F., Nafziger A. N., Bertino J. S. Jr.* Pharmacogenetics affects dosing, efficacy, and toxicity of cytochrome P450-metabolized drugs. *Am J Med* 2002; 113: 9: 746-750.
22. *Weber W. W.* Populations and genetic polymorphisms. *Mol Diagn* - 1999; 4: 4: 299-307.

Взаимосвязь между концентрацией циклоспорина в крови и тяжестью острой реакции «трансплантат-против хозяина» у детей после трансплантации стволовых клеток от подходящих родственных или неродственных доноров

*П. Мартин¹, Н. Блейзак^{1,3}, Г. Сулле², К. Галамбрун², И. Бертран², П. Майер³,
Р. Джеллифф⁴, Г. Оланье¹*

¹ — Департамент фармации госпиталя Дебрусс, Лион, Франция;

² — Отделение детской иммуногематологии и пересадки костного мозга госпиталя Дебрусс, Лион, Франция;

³ — Госпиталь Франшевилля, Франция;

⁴ — Лаборатория прикладной фармакокинетики Университета Южной Калифорнии, Лос-Анжелес, США

Опубликовано в журнале Bone Marrow Transplantation 32:777-784, 2003.

Печатается в переводе с разрешения редакции журнала.

Relationship between CsA trough blood concentration and severity of acute graft-versus-host disease after paediatric stem cell transplantation from matched-sibling or unrelated donor

*Authors: P. Martin¹, N. Bleyzac^{1,3}, G. Souillet², C. Galambrun², Y. Bertrand²,
P. H. Maire³, R. W. Jelliffe⁴, G. Aulagner¹*

¹ — Department of Pharmacy, Debrousse Hospital, Lyon, France;

² — Department of Paediatric Immuno-haematology and Bone Marrow Transplantation, Debrousse Hospital, Lyon, France;

³ — ADCAPT, A. Charial Hospital, Francheville, France;

⁴ — Laboratory of Applied Pharmacokinetics, University of Southern California, School of Medicine, Los Angeles, CA USA

Для того, чтобы определить оптимальные концентрации циклоспорина (CsA) перед следующим введением (trough blood concentrations, TBC), необходимые пациенту в ранний посттрансплантационный период, были проанализированы соотношения между значениями TBC и острой реакцией «трансплантат-против хозяина» (РТПХ) у детей после операции по трансплантации стволовых клеток (SCT). 94 пациентам стволовые клетки были пересажены от подходящих родственных доноров (сиссы) (MSD) (n=36), неподходящих родственных доноров (MMRD) (n=3) или от неродственных доноров (UD) (n=55). Профилактика РТПХ обычно включала CsA или его комбинацию с метотрексатом (MTX). Антитимоцитарный глобулин добавлялся к терапии в случае UD-SCT. Концентрация циклоспорина в крови измерялась иммуно-ферментным методом (EMIT assay), а мониторинг и корректировка режима дозирования осуществлялись на основе байесовского подхода. Значения TBC, относящиеся к первым неделям после трансплантации, были оценены ретроспективно для каждого пациента на основе байесовского фармакокинетического моделирования, а затем статистически соотнесены с РТПХ. В случае MSD-SCT средние значения TBC во время первых двух недель после трансплантации были 42 ± 10 нг/мл у пациентов со II-IV степенью РТПХ против 90 ± 7 нг/мл у пациентов с 0-I степенью РТПХ ($p=0,001$). В случае UD или MMRD значения TBC были 73 ± 4 нг/мл против 95 ± 8 нг/мл, хотя этот тренд не был статистически значимым ($p=0,284$). Среди пациентов со значениями TBC > 85 нг/мл не было случаев РТПХ II-IV степени, в 10 случаях была незначительная РТПХ, а в 30 ее не было вообще. Среди пациентов со значениями TBC < 65 нг/мл у 7/11 пациентов после MSD-SCT и у 4/18 после UD — или MMRD-SCT развилась РТПХ II-IV степени. Средние значения TBC, соответствующие каждой степени РТПХ, были: без РТПХ 101 ± 10 нг/мл, незначительная 77 ± 11 нг/мл, средняя 61 ± 13 нг/мл и тяжелая 56 ± 15 нг/мл ($p < 0,001$). Эти результаты выявили выраженное соотношение между значениями TBC в ранний посттрансплантационный период и тяжестью РТПХ у детей, перенесших MSD- и UD-трансплантацию стволовых клеток.

ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация стволовых клеток (SCT) применяется при лечении различных злокачественных гематологических заболеваний, апластической анемии, врожденных иммунодефицитных и метаболических синдромов. К сожалению, успех аллогенной трансплантации часто сводится на нет из-за рецидивов лейкемии и посттрансплантационной смертности (TRM) в результате реакции «трансплантант-против хозяина» (РТПХ), токсичности послеоперационной терапии и инфекций. Было идентифицировано большое число факторов риска, которые могут привести к развитию РТПХ [1-4]. Хотя в последнее время есть огромные достижения в профилактике, РТПХ продолжает оставаться значительной причиной смертности после операции по пересадки костного мозга [3, 4]. Считается, что РТПХ проявляется реже [1] и легче [5] у молодых пациентов, тем не менее, РТПХ II-IV степени возникает у 35% детей после пересадки костного мозга от подходящих родственных доноров (сисбсы) (MSD-BMT) при использовании стандартного режима дозирования циклоспорина А (CsA) [5]. Риск возникновения РТПХ значительно возрастает у детей в случае пересадки от неродственных доноров (UD-BMT), требующей интенсивной иммуносупрессорной терапии [6]. *Г. Сулле и соавт.* [7] только у 26% пациентов наблюдали РТПХ II-IV степени при использовании *in vivo* снижения числа Т-клеток и терапии CsA в комбинации с метотрексаном, несмотря на то, что в изучаемой ими когорте большинство трансплантаций было от HLA-неподходящих доноров.

Хотя РТПХ может явиться причиной смерти пациента, большинство смертных случаев у детей после операции SCT по поводу злокачественных заболеваний связано с рецидивами лейкемии: частота рецидивов (RR) достигает 41% в случае MSD-BMT при использовании стандартного режима дозирования CsA (3 мг/кг/сутки внутривенно, затем 6 мг/кг/сутки перорально) [8] и 37% — в случае UD-BMT [9]. Тем не менее, многие исследования продемонстрировали, что как острая [10-13], так и хроническая РТПХ [11, 12, 14-16] ассоциировались со снижением RR при аллогенной трансплантации костного мозга. Из-за позитивного влияния на клинические результаты эффекта трансплантант-против лейкемии» (GVL), связанного с РТПХ, последняя является желательной у пациентов со злокачественными заболеваниями. РТПХ III-IV степени ассоциируется с неприемлемыми значениями TRM [15]. Дополнительные исследования необходимы, чтобы найти наилучший режим дозирования циклоспорина, дающий возможность избежать тяжелых РТПХ, но, в то же время, не мешать появлению GVL эффекта [17]. Два рандомизированных клинических исследования у взрослых [18] и детей [8], подвергшихся трансплантации по поводу острой лейкемии, показали значительное влияние CsA на РТПХ и результаты лечения. Исследования продемонстрировали снижение RR и увеличение периодов до возникновения события (смерть или

рецидив) при анализе выживаемости методом Каплана—Мейера (EFS) в группах, получавших низкие дозы CsA, но, при этом, рост тяжести РТПХ.

Из-за фармакокинетической вариабельности [19], уровни циклоспорина в крови перед следующим введением (TBC) значительно различались у пациентов, получавших одинаковые режимы дозирования препарата. Было выявлено четкое соотношение между уровнями CsA в сыворотке [20] или крови [21] и случаями РТПХ. Значит, различия в клинических ответах, наблюдаемые у различных пациентов, получавших одинаковые режимы дозирования циклоспорина [8, 18], могут быть частично объяснены различиями в его концентрациях. А, значит, байесовский подход и корректировка режима дозирования циклоспорина по данным мониторинга могут быть более эффективными, чем фиксированный режим дозирования. Кроме того, это может помочь в профилактике РТПХ и сохранении, так называемого, противолейкемического эффекта. К сожалению, терапевтические рамки, используемые различными группами, мониторирующими терапию циклоспорином, остаются эмпирическими [22] и разнородными [17]. Только два исследования, включавшие в основном взрослых пациентов, показали положительное влияние мониторинга концентрации циклоспорина на инциденты РТПХ и клинические результаты [23, 24], но выводы этих исследований не могут быть прямо перенесены в педиатрическую практику. Индивидуализация режимов дозирования циклоспорина требует знаний о значениях эффективных концентраций препарата в крови. Целью этого исследования было прояснить соотношение между значениями TBC и РТПХ в популяции, включающей только детей, подвергшихся аллогенной MSD — или UD-SCT.

ПАЦИЕНТЫ и МЕТОДЫ

Пациенты и доноры. С октября 1997 г. до октября 2001 г. 94 пациентам (58 мальчикам и 36 девочкам) в возрасте от 3 месяцев до 18 лет была проведена аллогенная трансплантация в госпитале Лиона (Франция). Показаниями для трансплантации были: злокачественные гемопатии (n=54), незлокачественные гемопатии (n=17), врожденные дефекты метаболизма (n=14), иммунодефициты (n=6) и другие (n=3). В 39 случаях пересадка была проведена от родственных доноров: 36 были HLA-идентичными и 3 неподходящими. В 55 случаях доноры были неродственные: 20 были HLA-подходящими для локусов A, B и DR, а 35 были HLA-неподходящими для 1-3 локусов. Стволовые клетки для пересадки были: неизмененный костный мозг от родственного донора (n=39); стволовые клетки периферической крови (n=2), стволовые клетки пуповинной крови (n=2) и неизмененный костный мозг (n=51) неродственных доноров. Методы HLA типирования для пациентов и доноров были детально описаны *G. Souillet и соавт.* [7] Характеристики пациентов и доноров представлены в таблице 1.

Подготовка к трансплантации. Перед трансплантацией 20 пациентов получали ТВ1 в комбинации с этопосидом или другие препараты в 12 случаях. Другие пациенты получали цитотоксические препараты: бусульфан в комбинации с циклофосфамидом (CY) в 41 случае или другой препарат (ы) в 12 случаях. Только CY получали 9 пациентов.

Профилактика РТПХ. В случае MSD-BMT профилактика обычно включала CsA (n=9) или его комбинацию с коротким курсом MTX (n=16). Пациенты с талассемией получали CsA в комбинации с антитимоцитарным глобулином (ATG) (Thymoglobuline®, Imtix Sangstat, Лион, Франция) (n=6). ATG назначался до трансплантации (10–20 мг/кг) для частичного *in vivo* снижения числа Т-клеток. Профилактика РТПХ не проводилась 3 пациентам перед второй трансплантацией MSD-BMT. Два пациента получали CsA, MTX и ATG. В случае UD-BMT профилактика включала ATG в комбинации с MTX и CsA (n=34). С октября 2000 г. MTX больше не использовался, и профилактика включала CsA + ATG (n=21). Три пациента, пересадка которым была сделана от MMRD, получали комбинацию CsA + MTX + ATG. У большинства пациентов CsA сначала вводился внутривенно (8-часовые инфузии с начальной дозой 5 мг/кг/сутки со дня, предшествующего трансплантации, у пациентов с ALL начальная доза была 3 мг/кг/сутки). Когда появлялась возможность, пациенты переводились на пероральный прием CsA каждые 12 часов, а доза рассчитывалась индивидуально для каждого пациента. Обычно такой перевод осуществлялся на 14 день (медианное значение). Продолжительность терапии циклоспорином была 3 месяца в случае ALL, 6 месяцев — в случае других злокачественных и 9 месяцев — в случае незлокачественных заболеваний. Если диагностировалась РТПХ, терапия продлевалась еще на 3 месяца. MTX вводился внутривенно в дозе 15 мг/м² поверхности тела пациента в первый день, а затем в дозе 10 мг/м² в 3, 6 и 11 дни, (кроме анемии Фанкони — только 3 дозы). Если наблюдались побочные эффекты со стороны ЖКТ, вводились только три дозы MTX.

Измерение концентрации CsA в крови. Концентрация циклоспоринона в крови измерялась иммуно-ферментным методом (EMIT on Cobas MIRA analyser, Behring Diagnostic, Франция). Предел чувствительности метода был 30 нг/мл. Ошибка анализа может быть описана следующим выражением: $SD = 0,001460 + 0,034560 \times C$ (где SD — стандартное отклонение ошибки измерения концентрации, C — измеренная концентрация). Во время внутривенной терапии концентрация CsA в крови измерялась дважды в неделю от дня +1 после трансплантации, при этом использовались пробы периферической венозной крови. При переходе на пероральное введение концентрация CsA в крови измерялась дважды в неделю в течение первого месяца после операции, при этом использовались пробы из центральных вен (кроме первых трех дней после перехода, когда использовались пробы периферической венозной крови).

Индивидуализация режима дозирования CsA. Файл с данными о проводимой терапии был создан для каждого пациента, получавшего CsA с помощью программы PASTRX из пакета п/п USC*PACK [25]. Каждый такой файл содержал антропометрические данные и информацию о терапии: возраст, масса тела пациента, введенные дозы CsA, моменты времени введения, длительность инфузии, моменты времени взятия проб крови, значения измеренных концентраций препарата в крови. Индивидуальные значения фармакокинетических (ФК) параметров были оценены на основе двухкамерной модели байесовским методом MAP (Максимум Апостериорной Вероятности), также входящим в пакет программ USC*PACK [26]. Этот метод позволяет смоделировать профиль изменения концентрации препарата во времени даже по 1–3 измеренным пробам в комбинации с данными о пациенте и априорной информации о поведении этого препарата в популяции (распределения значений ФК параметров, полученные на основе данных о прошлом опыте лечения «похожих» пациентов). Кроме того, принимается во внимание ошибка аналитического метода, поскольку при идентификации значений ФК параметров каждое измеренное значение концентрации «взвешивается» в соответствии с обратным значением дисперсии ошибки измерения этого уровня концентрации (см. выше полином, описывающий стандартную ошибку измерения концентрации). Такой подход позволяет принять во внимание степень доверия каждому отдельному измерению концентрации препарата в крови, увеличивая тем самым точность оценок идентифицируемых ФК параметров [27]. Индивидуальные значения ФК параметров используются затем для расчета будущих значений концентрации CsA в крови, а также участвуют в расчете значений доз, необходимых для достижения желаемой концентрации CsA в крови в нужный момент времени (терапевтическая цель). Поскольку не было точных данных об эффективных концентрациях циклоспоринона в крови в изучаемой популяции пациентов, выбор терапевтической цели в этом исследовании основывался на опыте участвующих в нем врачей. При этом основным принципом при установлении терапевтической цели для пациента был выбор значения ТВС циклоспоринона ниже 100 нг/мл (порядка 60–100 нг/мл) в случае, если противолейкемический эффект желателен, и выше 100 нг/мл (порядка 100–150 нг/мл), если противолейкемический эффект не нужен.

Соотношение между концентрацией CsA и РТПХ. Средние значения ТВС были оценены ретроспективно для каждого пациента с помощью MAP байесовского метода моделирования для различных периодов терапии циклоспорином после трансплантации: 1) первая неделя, 2) вторая неделя, 3) среднее по первым двум неделям и 4) неделя из двух с минимальными значениями ТВС. Для пациентов, у которых наблюдалась РТПХ, были выделены два периода: 5) неделя до появления РТПХ и 6) все время приема препарата после трансплантации до появления РТПХ.

Статистический анализ выполнялся с применением пакета SPSS для Windows (версия 9.0, SPSS, Чикаго, США).

Степени тяжести острой РТПХ. Степень тяжести острой РТПХ была установлена на основе работы [28] и подтверждена подходящими гистологическими исследованиями. Все случаи РТПХ относились к раннему послетрансплантационному периоду.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В случае MSD-SCT ($n=36$) частота появления РТПХ была оценена как 44,4%: степень I — 19,4% ($n=7$); степень II — 11,1% ($n=4$), степень III — 2,8% ($n=1$), степень IV — 11,1% ($n=4$). В табл. 2 представлено распределение РТПХ в случае злокачественных и незлокачественных заболеваний. Инциденты РТПХ II-IV степени возникали чаще у пациентов со злокачественными заболеваниями (31,6%) по сравнению с незлокачественными (17,7%). У пяти пациентов была тяжелая РТПХ. Частота незначительной РТПХ была 31,6% ($n=6$) у пациентов со злокачественными заболеваниями, но только 5,6% ($n=1$) при других заболеваниях. Частота РТПХ была 47,5% в случае HLA-неидентичной SCT (MMSD- и UD-SCT): степень I: 28,8% ($n=17$); степень II: 11,9% ($n=7$); степень III: 5,1% ($n=3$), степень IV: 1,7% ($n=1$). Как было опубликовано ранее, в случае MSD-SCT РТПХ возникает чаще у пациентов со злокачественными заболеваниями (22,5%), чем с незлокачественными (12,5%). Незначительная РТПХ возникала в обеих подгруппах соответственно 28,6% ($n=10$) и 29,2% ($n=7$). Наблюдалось только 4 случая тяжелой РТПХ.

Значения ТВС циклоспорина в определенные периоды после трансплантации у пациентов с РТПХ разной степени представлены в табл. 3. В случае MSD-SCT для всех рассматриваемых периодов ТВС были ниже у пациентов с РТПХ II-IV степени по сравнению с пациентами без РТПХ или с РТПХ I степени. Как показано в табл. 4, тренд был незначимым в случае HLA-неидентичной SCT. Значения ТВС циклоспорина были значительно ниже у пациентов с РТПХ I-IV степени против пациентов без РТПХ. Соотношения между значениями ТВС и степенью РТПХ для всех пациентов ($n=95$) представлены в табл. 5 и на рис. 1. Средние значения ТВС за первые две недели терапии были 101 ± 8 нг/мл у пациентов без РТПХ, 77 ± 8 нг/мл — у пациентов с незначительной РТПХ, 61 ± 8 нг/мл — у пациентов с РТПХ средней тяжести и 56 ± 10 нг/мл — у пациентов с тяжелой РТПХ. В течение второй недели значения ТВС были значительно выше, чем на первой неделе (кроме пациентов без РТПХ), возможно из-за того, что пациенты, у которых РТПХ появилась на второй неделе, получали более высокие дозы циклоспорина. Полученные результаты свидетельствуют, что обсуждаемая зависимость проявляется во все периоды терапии. Несмотря на межиндивидуальную вариабельность значений ТВС циклоспорина у пациентов с одинаковой степенью РТПХ, среднее различие было порядка 20-

25 нг/мл между пациентами без РТПХ и пациентами с незначительной РТПХ. Между незначительной и средней РТПХ различия в значениях ТВС были порядка 15-20 нг/мл. С другой стороны, различия между значениями ТВС оказались незначительными у пациентов со средней и тяжелой степенью РТПХ. Результаты по изучаемым периодам терапии: неделя до проявления РТПХ и период терапии от дня трансплантации до проявления РТПХ — значения ТВС были практически теми же, что и в течение первой недели после трансплантации. Для различных диапазонов значений ТВС (<65; 65 — 85, и >85 нг/мл), соответствующих первым двум неделям после трансплантации, было вычислено число пациентов с РТПХ. В диапазоне порядка 85 нг/мл не было средних и тяжелых РТПХ. При значениях выше этого порога у пациентов не было РТПХ (14 подходящие сибсы и 16 неродственные доноры или неподходящие родственные доноры) или же РТПХ была незначительной (3 и 7 пациентов соответственно). При значениях между 65 и 85 нг/мл РТПХ II-IV степени была как в случае MSD-SCT ($n=2$), так и в случае неродственных или неподходящих родственных доноров ($n=5$). Значения ТВС в диапазоне 65-85 нг/мл остаются эффективными для большинства случаев MSD-SCT: 5 пациентов без РТПХ, 1 — с незначительной и 2 — от средней до тяжелой РТПХ, но не в случае HLA-неидентичных SCT: 6 пациентов без РТПХ против 4 с незначительной и 7 — от средней до тяжелой РТПХ. При ТВС ниже 65 нг/мл у большинства пациентов наблюдалась РТПХ в случае MSD-SCT: 3 незначительных и 7 от средней до тяжелой РТПХ против одного пациента без РТПХ. Циклоспорин оставался эффективным у 8 пациентов без РТПХ и 6 пациентов с незначительной РТПХ в случае HLA-неидентичной SCT, но его активность была неодинаковой: у 4 пациентов была РТПХ от средней до тяжелой степени.

ДИСКУССИЯ

В представленном исследовании проводимая профилактика РТПХ была неодинаковой. Тем не менее, исследование показало (это является содержанием следующей статьи), что среди многих клинических и фармакологических факторов риска появления РТПХ, значения ТВС CsA были одними из основных. В проведенном анализе учитываемыми факторами риска были: фармакологические качественные факторы (иммуносупрессия, вызванная только CsA, против комбинации CsA + MTX), количественные факторы, сфокусированные на количестве CsA, получаемое пациентом (минимальная и максимальная концентрации в крови, площадь под ФК кривой), клинические факторы (возраст реципиента, пол реципиента, возраст донора, пол донора, донор женского пола — реципиент мужского против других комбинаций, подходящий пол против неподходящего). Тем же методом было выявлено незначительное влияние HLA-неидентичности в случае неродственных доноров, если пациент получал высокие дозы ATG (20 мг/кг). Эти неожиданные

результаты были впоследствии подтверждены клинической практикой, появление РТПХ удавалось предотвратить только «управляя» значениями ТВС CsA (мониторинг два-три раза в неделю в ранний после-трансплантационный период).

Проведенные более двадцатилет назад исследования не выявили корреляцию между концентрациями циклоспорина в крови и случаями РТПХ [29-31]. Тем не менее, качество аналитических методов до 1987 г. было недостаточно высоким, а исследования включали слишком мало пациентов. Впервые корреляция между ТВС и РТПХ была выявлена E. Gluckman и соавт. [32], в общем виде было показано, что только у пациентов с РТПХ значения ТВС циклоспорина были ниже. Другие исследования демонстрировали более низкий риск появления РТПХ, если ТВС CsA были выше 200-350 нг/мл (измерения в сыворотке, RIA [20, 33]) или выше 400 нг/мл (измерения в крови, RIA [34, 35]) при подходящих родственниках донорах (сисбах). В работах [21, 36] был продемонстрирован более низкий риск РТПХ при значениях ТВС выше 250 нг/мл и 200 нг/мл соответственно в первые недели после трансплантации. В качестве профилактики РТПХ циклоспорин назначался в комбинации с коротким курсом МТХ, и ТВС циклоспорина измерялись хроматографически (HPLC). В сравнении с опубликованными ранее представленными здесь результаты показали, что даже низкие значения ТВС во время периода внутривенной терапии оказались достаточными для предотвращения средних и тяжелых РТПХ как в случае MSD-, так и в случае UD-BMT. При значениях ТВС выше 85 нг/мл во время первых двух недель после трансплантации у некоторых пациентов наблюдалась незначительная РТПХ, но не было ее более тяжелых проявлений. Это можно объяснить более низким значением среднего возраста реципиентов в изучаемой популяции по сравнению с другими, включающими как взрослых, так и детей, поскольку возраст реципиента известен как важный фактор риска РТПХ [1, 3]. Следовательно, детям, подвергшимся аллогенной SCT, могут потребоваться более низкие дозы циклоспорина по сравнению со взрослыми пациентами. С другой стороны, режим дозирования циклоспорина, рассчитанный на основе байесовского ФК мониторинга, позволяет поддерживать выбранный уровень ТВС более точно, чем обычный эмпирический мониторинг. Это также может привести к тому, что пациентам оказались достаточны уровни циклоспорина в крови не выше 85 нг/мл, которых старались достичь как можно скорее в течение первых дней после трансплантации и поддерживать так регулярно, как только возможно в течение первых недель. Тем не менее, выбор таких низких значений в качестве терапевтической цели должен быть сбалансирован возрастом реципиента и назначением подходящего числа высоких доз АТГ.

В случае MSD-BMT наблюдалось выраженное соотношение между значениями ТВС и РТПХ, несмотря на значительные различия в профилактике. Это под-

черкивает важную роль CsA в профилактике РТПХ. Впервые похожее соотношение было найдено в случае трансплантации от неродственных доноров, несмотря на интенсивную иммуносупрессию, включая *in vivo* снижение числа Т-клеток, которое обычно назначается в комбинации с CsA и МТХ. Тренд, наблюдаемый в отношении более низких значений ТВС у детей с РТПХ II-IV степени по сравнению со случаями без РТПХ или незначительной РТПХ, не был статистически значимым. Тем не менее, значения ТВС были значимо ниже у детей с РТПХ I-IV степени по сравнению с пациентами без РТПХ. Корреляция между значениями ТВС и РТПХ была установлена для случаев MSD-BMT, но для UD-BMT данных оказалось недостаточно.

Два предыдущих исследования, включавшие в основном взрослых пациентов, показали более высокую частоту случаев РТПХ II-IV степени, чем наблюдалось в представленной здесь когорте, несмотря на более высокие уровни ТВС в течение первых двух недель после трансплантации: 34% при значениях ТВС выше 200 нг/мл [21] и 21% — выше 250 нг/мл [36] соответственно. Кроме того, в данном исследовании РТПХ всех II-IV степеней происходили при уровнях ТВС ниже 85 нг/мл, в то время как РТПХ не наблюдалась при значениях ТВС порядка 110 нг/мл во время первых двух недель после операции. Это предполагает лучшую чувствительность и специфичность найденных в этом исследовании пороговых значений при условии применения точного байесовского метода для коррекции доз циклоспорина по данным его ТЛМ.

Было установлено, что значения RR ниже у пациентов с острой [10-13] или хронической РТПХ [11, 12, 14-16]. Тем не менее, РТПХ средней и, особенно тяжелой степени, ассоциируются с более высокими показателями смертности у взрослых [13, 37]. В случае трансплантации по поводу хронической миелогенной лейкемии (СМЛ) или острой лейкемии, так называемая оптимальная, «выживаемость без лейкемии» (leukemia-free-survival, LFS) была получена при незначительной РТПХ как в случае родственных [13, 15, 37], так и неродственных доноров [38]. С другой стороны, в исследовании [9] предполагалось, что только тяжелая РТПХ у детей должна быть предотвращена, а не незначительная или средней тяжести. К сожалению, не известен метод, который может помочь предотвратить только тяжелую РТПХ, много неопределенностей остается для выбора оптимальных режимов дозирования CsA с этой целью. Некоторые рандомизированные проспективные исследования выявили эффект низких доз CsA (1 мг/кг/сут. в/в) у пациентов с лейкемией и показали значительное снижение RR при росте случаев РТПХ II-IV степени [8, 18] и связанной с этим смертности [18]. Наконец, эти исследования продемонстрировали пределы возможностей стандартного режима дозирования циклоспорина для предотвращения рецидивов без роста тяжести инцидентов РТПХ. Эти заключения не выглядят удивительными, если принять во внимание ФК вариабельность цикло-

Таблица 1.

Характеристики пациентов и доноров

| Характеристики | HLA-идентичный донор SCT | | HLA-неидентичный донор SCT | |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------|----------------------------|---------------|
| | Родственный | Неродственный | Родственный | Неродственный |
| Тип донора | | | | |
| Число пациентов | 36 | 55 | 3 | |
| Возраст пациента (лет) | | | | |
| медиана | 9,8 | 6,9 | 2,7 | |
| размах | 0,6–18 | 0,3–18,5 | 2,2–14,3 | |
| Пол пациента (муж/жен) | 21/15 | 36/19 | 1/2 | |
| Диагноз | | | | |
| Злокачественные заболевания | 19 | 33 | 2 | |
| ALL | 10 | 17 | 0 | |
| AML | 7 | 8 | 0 | |
| СML | 0 | 1 | 1 | |
| MDS | 2 | 6 | 0 | |
| лимфома | 0 | 1 | 1 | |
| Незлокачественные | 17 | 23 | 1 | |
| апластическая анемия | 3 | 2 | 0 | |
| фанкони | 3 | 3 | 0 | |
| талассемия | 4 | 0 | 0 | |
| болезнь серповидных эритроцитов | 2 | 0 | 0 | |
| метаболические заболевания | 3 | 10 | 1 | |
| иммунодефициты | 2 | 4 | 0 | |
| другие | 0 | 3 | 0 | |
| Возраст донора (лет) | | | | |
| медиана | 8 | 40 | 31 | |
| размах | 1–27 | 24–53 | 4–44 | |
| Пол донора (муж/жен) | 18/18 | 29/21 | 1/2 | |
| Подходящий пол | 15 | 28 | 1 | |
| Неподходящий пол (D → R) | | | | |
| M → F | 9 | 8 | 2 | |
| F → M | 12 | 14 | 0 | |
| Пациент CMV-серопозитивный (Да/Нет) | 12/24 | 11/39 | 0/3 | |
| Пациент EBV-серопозитивный (Да/Нет) | 16/19 | 25/18 | 3/0 | |
| Донор CMV-серопозитивный (Да/Нет) | 14/22 | 13/37 | 2/1 | |
| Донор EBV-серопозитивный (Да/Нет) | 18/22 | 47/1 | 2/1 | |
| HLA-идентичный донор-сисб | 36 | 0 | 0 | |
| HLA-подходящий донор | 0 | 20 | 0 | |
| HLA-неподходящий донор | | | | |
| 1 несоответствующий локус (A, B, DR) | 0 | 21 | 3 | |
| 2 несоответствующих локуса (A, B, DR) | 0 | 9 | 0 | |
| 3 несоответствующих локуса (A, B, DR) | 0 | 5 | 0 | |

спорина. До появления этого исследования не было установлено четкого соотношения между иммуносупрессорной терапией и тяжестью РТПХ. Несмотря на участие в процессе других иммуносупрессорных препаратов и индивидуальных факторов риска возникновения РТПХ, в этом исследовании было установлено значимое соотношение между значениями ТВС во время раннего послетрансплантационного периода и тяжестью РТПХ (чем ниже были значения ТВС, тем тяжелее были РТПХ).

Корреляция между периодом времени после трансплантации и риском РТПХ широко обсуждается в

литературе. Авторы [20] нашли соотношение для недели до проявления РТПХ. В соответствие с результатами [33] значения ТВС снижались в течение нескольких дней, предшествующих появлению тяжелой РТПХ. В исследовании [36] значения ТВС во время второй недели после трансплантации были ниже у пациентов с РТПХ II-IV степени, а авторы [39] пришли к выводу, что полученное количество CsA во время первой недели является определяющим. Результаты [21] показали, что риск РТПХ возрастает, если значения ТВС оказываются слишком низкими во время недели, предшествующей приживлению трансплантата. Авто-

ры [18] показали, что риск РТПХ возрастает в группе пациентов, получавшей низкие дозы циклоспорина в течение первых трех недель после трансплантации. Представленные здесь результаты демонстрируют значимое соотношение для некоторых изучаемых периодов: «независимых от времени» — первая и вторая недели после трансплантации, а также «зависимых от времени» периодов — неделя до проявления РТПХ и период после трансплантации, предшествующий диагностированию РТПХ. Эти результаты предполагают, что хорошо организованный мониторинг циклоспорина является важной процедурой в первые недели после трансплантации и, особенно, в течение второй недели, что обычно соответствует периоду, предшествующему приживлению.

Несмотря на важную роль ТВС в ранний послетрансплантационный период, процедуры ТЛМ циклоспорина в этот период, используемые в различных лечебных учреждениях, значительно различаются [17, 40]. Только в двух исследованиях было продемонстрировано положительное влияние мониторинга и корректировки режима дозирования циклоспорина на случаи РТПХ и клинические результаты [23, 24]. Тем не менее, обычно применяемые терапевтические цели (желаемые значения ТВС) кажутся слишком высокими с учетом возможной избыточной иммуносупрессии и риска инфекций (порядка 150–180 нг/мл) или их диапазоны слишком широкими (95–205 нг/мл). Выраженное соотношение, установленное в этом исследовании, между значениями ТВС

и тяжестью РТПХ позволяет предложить значения концентраций CsA в крови скорее в качестве терапевтических целей, чем терапевтических диапазонов: ТВС порядка 110 нг/мл — при незлокачественных заболеваниях и ТВС порядка 80 нг/мл — при злокачественных. Эти терапевтические цели могут применяться только в педиатрической практике и должны быть сбалансированы применением АТГ, кроме того, аналитический метод измерения концентраций CsA должен быть соответствующим. Эти достаточно низкие значения терапевтических целей могут быть интересны, с точки зрения, возможности избежать проблем с инфекциями, но это положение нуждается в более детальном изучении.

В заключение можно сказать, что в послетрансплантационный период получаемый режим дозирования циклоспорина связан с риском РТПХ, и этот режим может быть скорректирован по данным ТВС. Вместо того, чтобы просто сделать вывод, что значения ТВС пациента неадекватны, и изменить режим дозирования после этого, возможно более эффективной стратегией будет прогноз будущих концентраций CsA с тем, чтобы выбрать наилучший режим дозирования для достижения выбранной терапевтической цели. Последнее может быть сделано на основе байесовской МАР процедуры по данным ТЛМ, которые могут состоять даже из одного измерения концентрации препарата в крови. Этот метод ФК моделирования не требует проводить измерения концентрации препарата только после установления стационарного состояния.

Таблица 2.

Случаи РТПХ при различных донорах

| Донор | Подходящие сибсы | | Неродственные и неподходящие родственные | |
|-------------|------------------------|--------------------------|--|--------------------------|
| | злокачественное (n=19) | незлокачественное (n=17) | злокачественное (n=35) | незлокачественное (n=23) |
| Острая РТПХ | | | | |
| Нет | 7 (36,8%) | 13 (76,5%) | 17 (48,6%) | 13 (56,5%) |
| Степень I | 6 (31,6%) | 1 (5,9%) | 10 (28,6%) | 7 (30,4%) |
| Степень II | 3 (15,8%) | 1 (5,9%) | 5 (14,3%) | 2 (8,7%) |
| Степень III | 0 | 1 (5,9%) | 2 (5,7%) | 1 (4,3%) |
| Степень IV | 3 (15,8%) | 1 (5,9%) | 1 (2,9%) | 0 |

Таблица 3.

ТВС CsA в крови перед следующим введением у пациентов с РТПХ II–IV степени против РТПХ 0–I степени в различные периоды после трансплантации (среднее значение ± стандартное отклонение, нг/мл)

| Донор | Подходящие сибсы (n=36) | | | Неподходящие родственные и неродственные (n=58) | | |
|-----------------------|-------------------------|------------------|-------|---|-------------------|-------|
| | РТПХ 0/I (n=27) | РТПХ II/IV (n=9) | p (*) | РТПХ 0/I (n=47) | РТПХ II/IV (n=11) | p (*) |
| Неделя 1 | 89±9 | 38±10 | 0,002 | 93±10 | 65±6 | 0,165 |
| Неделя 2 | 94±8 | 45±11 | 0,001 | 98±8 | 80±5 | 0,466 |
| Недели 1+2 | 90±7 | 42±10 | 0,001 | 95±8 | 73±4 | 0,284 |
| Неделя с min (1, 2) | 75±7 | 38±10 | 0,005 | 82±7 | 64±5 | 0,330 |
| 7 дней перед РТПХ | | 36±11 | | | 65±10 | |
| Трансплантация → РТПХ | | 38±11 | | | 68±7 | |

Примечание: *) p – значения при использовании теста Манни–Уитни

Таблица 4.

Значения ТВС CsA в крови в различные периоды после трансплантации у пациентов с РТПХ I–IV степени против отсутствия РТПХ (среднее значение ± стандартное отклонение, нг/мл)

| Донор | Подходящие сибсы (n=36) | | | Неподходящие родственные и неродственные (n=58) | | |
|-----------------------------|-------------------------|------------------|-------|---|------------------|-------|
| | Без РТПХ (n=20) | РТПХ I/IV (n=16) | p (*) | Без РТПХ (n=30) | РТПХ I/IV (n=28) | p (*) |
| Период после трансплантации | | | | | | |
| Неделя 1 | 96±10 | 51±11 | 0,004 | 104±14 | 70±6 | 0,027 |
| Неделя 2 | 98±9 | 59±11 | 0,002 | 106±11 | 84±6 | 0,078 |
| Недели 1+2 | 97±7 | 54±10 | 0,001 | 104±12 | 77±6 | 0,041 |
| Неделя с min (1, 2) | 79±7 | 49±10 | 0,007 | 89±9 | 68±6 | 0,048 |
| 7 дней перед РТПХ | | 55±10 | | | 67±6 | |
| Трансплантация → РТПХ | | 56±11 | | | 70±5 | |

Примечание: *) p – значения при использовании критерия Стьюдента t

Таблица 5.

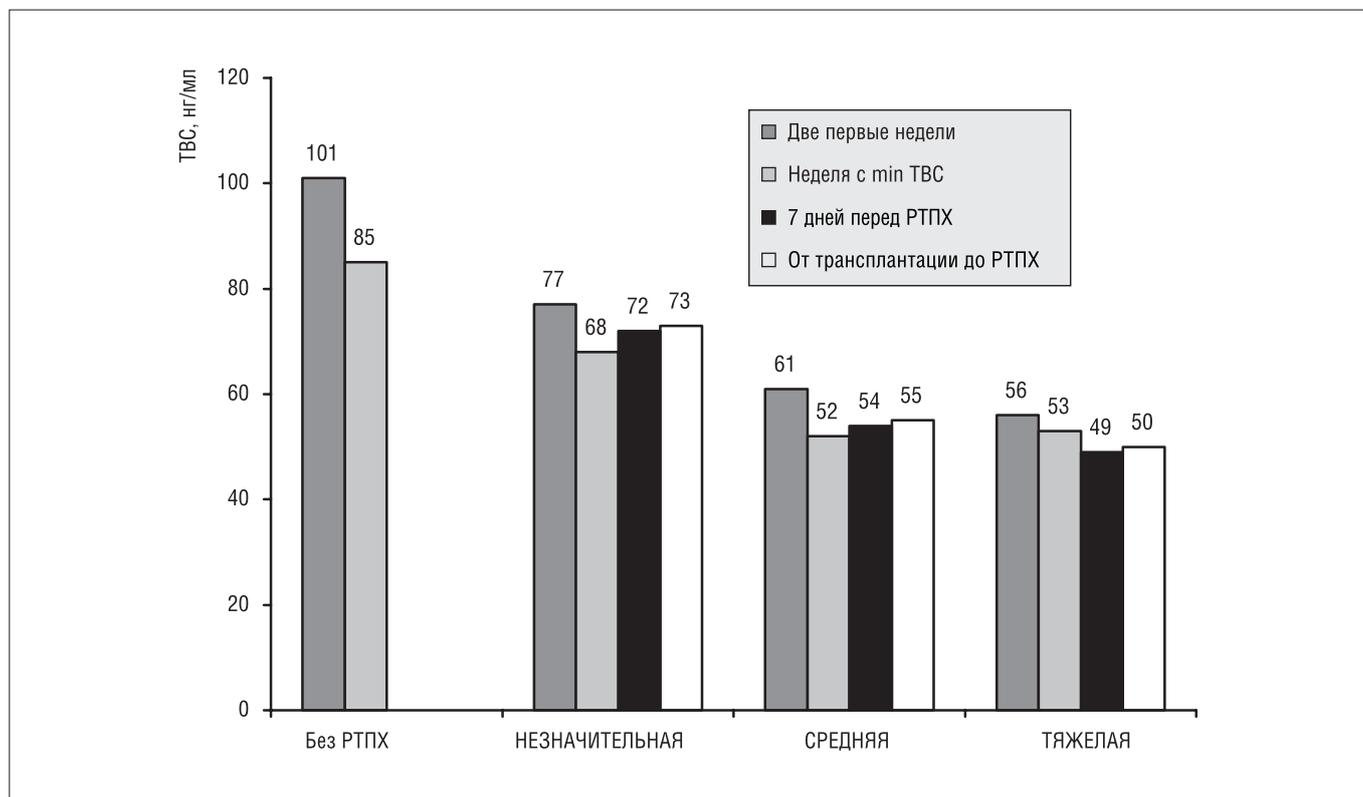
Значения ТВС CsA (нг/мл) и степени РТПХ для всех пациентов (n=94) в различные периоды после трансплантации

| Период после трансплантации | Без РТПХ | I степень | II степень | II–IV степени | p (*) |
|-----------------------------|----------|-----------|------------|---------------|--------|
| Неделя 1 | 101±9 | 72±9 | 52±8 | 53±11 | 0,001 |
| Неделя 2 | 103±8 | 85±8 | 70±10 | 57±10 | 0,001 |
| Недели 1+2 | 101±8 | 77±8 | 61±8 | 56±10 | <0,001 |
| Неделя с min (1, 2) | 85±6 | 68±8 | 52±8 | 53±10 | 0,002 |
| 7 дней перед РТПХ | | 72±7 | 54±11 | 49±11 | 0,052 |
| Трансплантация → РТПХ | | 73±7 | 55±10 | 50±13 | 0,067 |

Примечание: *) p – значения при использовании теста для линейного тренда

Рис. 1.

Средние значения ТВС (нг/мл) и тяжесть РТПХ в различные периоды после трансплантации



ССЫЛКИ:

1. Gale R. P., Bortin M. M., van Bekkum D. W. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 1987; 67: 397-406.
2. Weisdorf D., Hakke R., Blazar B. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. *Transplantation* 1991; 51: 1197-1203.
3. Nash R. A., Pepe M. S., Storb R. et al. Acute graft-versus-host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. *Blood* 1992; 80: 1838-1845.
4. Hägglund H., Bostrom L., Remberger M. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in 291 consecutive HLA-identical bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 747-753.
5. Locatelli F., Uderzo C., Dini G. et al. Graft-versus-host disease in children: the AIEOP-BMT Group experience with Cyclosporin A. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 627-633.
6. Balduzzi A., Gooley T., Anasetti C. et al. Unrelated donor marrow transplantation in children. *Blood* 1995; 86: 3247-3256.
7. Souillet G., Rey S., Bertrand Y. et al. Outcome of unrelated bone marrow donor searches in 174 children resulting in 45 patients transplanted in the HLA-matched and-mismatched situation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 31-43.
8. Locatelli F., Zecca M., Rondelli R. et al. Graft versus host disease prophylaxis with low-dose cyclosporine-a reduces the risk of relapse in children with acute leukaemia given HLA-identical sibling bone marrow transplantation: results of a randomised trial. *Blood* 2000; 95: 1572-1579.
9. Gustafsson A., Remberger M., Winiarski J. et al. Unrelated bone marrow transplantation in children: outcome and a comparison with sibling donor grafting. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 1059-1065.
10. Weiden P. L., Flournoy N., Thomas E. D. et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of bone marrow grafts. *N Engl J Med* 1979; 300: 1068-1073.
11. Sullivan K. M., Weiden P. L., Storb R. et al. Influence of acute and chronic graft-versus — host-disease on relapse and survival after bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment of acute and chronic leukaemia. *Blood* 1989; 73: 1720-28.
12. Horowitz M. M., Gale R. P., Soudel P. M. et al. Graft-versus-leukaemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 555-562.
13. Gratwohl A., Hermans J., Apperley J. et al. Acute graft-versus-host disease: grade and outcome in patients with chronic myelogenous leukaemia. Working party chronic leukemia of the european group for blood and marrow transplantation. *Blood* 1995; 86: 813-818.
14. Weiden P. L., Sullivan K. M., Flournoy N. et al. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1981; 304: 1529-1533.
15. Ringden O., Labopin M., Gluckman E. et al. Graft-versus-leukemia effect in allogeneic marrow transplant recipients with acute leukemia is maintained using cyclosporin A combined with methotrexate as prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 921 — 929.
16. Ringden O., Labopin M., Gluckman E. et al. Strong antileukemic effect of chronic graft-versus-host-disease in allogeneic marrow transplant recipients having acute leukemia treated with methotrexate and cyclosporine: The Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Transplant Proc* 1997; 29:733-734.
17. Peters C., Minkov M., Gardner H. et al. Statement of current majority practices in graft-versus-host disease prophylaxis and treatment in children. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 405-411.
18. Bacigalupo A., Van Lint M. T., Occhini D. et al. Increased risk of leukaemia relapse with high-dose cyclosporine A after allogeneic marrow transplantation for acute leukaemia. *Blood* 1991; 77: 1423-1428.
19. Tsunoda S. M., Aweeka F. The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 107-140.
20. Yee G. C., Self S. G., Mc Guire T. R. et al. Serum cyclosporine concentration and risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1988; 319: 65-70.
21. Ghalie R., Fitzsimmons W. E., Weinstein A. et al. Cyclosporine monitoring improves graft-versus-host disease prophylaxis after bone marrow transplantation. *Ann Pharmacother* 1994; 28: 379-383.
22. Hunter A. E., Bessell E. M., Russell N. Effective prevention of acute GVHD following allogeneic BMT with low leukaemic relapse using methotrexate and therapeutically monitored levels of cyclosporin A. *Bone Marrow Transplant* 1992; 10: 431-434.
23. Byrne J. L., Stainer C., Hyde H. et al. Low incidence of acute graft-versus-host disease and recurrent leukaemia in patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from sibling donors with methotrexate and dose-monitored cyclosporin A prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 541-545.
24. Carlens S., Aschan J., Remberger M. et al. Low-dose cyclosporine of short duration increases the risk of mild and moderate GVHD and reduces the risk of relapse in HLA-identical sibling marrow transplant recipients with leukaemia. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 629-635.
25. Laboratory of Applied Pharmacokinetics. USC* Pack P. C. Collection Clinical Research Programs, Los Angeles. University of Southern California, School of Medicine, 1995, version 10.7.
26. Jelliffe R. W., Schumitzky A., Van Guilder M. et al. Individualizing drug dosage regimens: roles of population pharmacokinetic and dynamic models, Bayesian fitting, and adaptive control. *Ther Drug Monit* 1993; 15: 380-93.
27. Jelliffe R. W. Effect of assumptions concerning assay error patterns upon pharmacokinetic parameter values and model behavior. *J Vet Pharmacol Ther* 1994; 17:105-109.
28. Glucksberg H., Storb R., Fefer A. et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18: 295-304.
29. Barrett A. J., Kendra J. R., Lucas C. F. et al. Cyclosporine a as prophylaxis against graft-versus-host disease in 36 patients. *Br Med J* 1982; 285: 162-166.
30. Gratwohl A., Speck B., Wenk M. et al. Cyclosporine in human bone marrow transplantation. Serum concentration, graft-versus-host disease, and nephrotoxicity. *Transplantation* 1983; 36: 40-44.
31. Biggs JC, Atkinson K, Britton K et al. The use of cyclosporine in human marrow transplantation: absence of a therapeutic window. *Transplant Proc* 1985; 17: 1239-1241.
32. Gluckman E., Lokiec F., Devergie A. Pharmacokinetic monitoring of cyclosporine in allogeneic bone marrow transplants. *Transplant Proc* 1985; 17: 500-501.
33. Schmidt H., Ehninger G., Dopfer R. et al. Correlation between low CsA plasma concentration and severity of acute GVHD in bone marrow transplantation. *Blut* 1988; 57: 139-142.
34. Bandini G., Strocchi E., Ricci P. et al. Cyclosporine A: correlation of blood levels with acute graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Acta haematol* 1987; 78: 6-12.
35. Bogdanic V., Mrsic M., Plavsic F. et al. Blood cyclosporine concentration and risk of acute GVHD after allogeneic marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1988; 3: Suppl. 2: 67 (abstract).
36. Przepiorka D., Shapiro S., Schwinghammer T. L. et al. Cyclosporine and methylprednisolone after allogeneic marrow transplantation: association between low cyclosporine concentration and risk of acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7: 461-465.
37. Ringden O., Hermans J., Labopin M. et al. The highest leukaemia-free survival after allogeneic bone marrow transplantation is seen in patients with grade I acute graft-versus-host disease. *Leuk. Lymphoma* 1996; 24: 71-79.
38. Shaw B. E., Pay A. L., Potter M. N. et al. The presence of mild acute graft versus host disease in a T cell depleted unrelated donor transplant setting improves overall survival. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: Suppl 2: S39 (abstract).
39. Santos G. W., Tutschka P. J., Brookmeyer R. Cyclosporine plus methylprednisolone versus cyclophosphamide plus methylprednisolone as prophylaxis for graft-versus-host disease in 107 patients with leukemia: a randomized double-blind study in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Transplant* 1987; 1: 21-28.
40. Ruutu T., Niedervieser D., Gratwohl A. et al. A survey of the prophylaxis and treatment of acute aGVHD in Europe: a report of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) . *Bone Marrow Transplant* 1997; 19: 759-764.

Клиническая фармакокинетика ноопепта у больных с интеллектуально-мнестическими расстройствами

*В. П. Жердев, С. С. Бойко, Г. Г. Незнамов, Е. С. Телешова, И. А. Давыдова,
Р. У. Островская, Т. А. Гудашева*

Лаборатория фармакокинетики (руководитель — проф. В. П. Жердев), лаборатория
клинической психофармакологии (руководитель — проф. Г. Г. Незнамов)

Ноопепт — этиловый эфир фенилацетил-L-пролилглицина — пептидный аналог пирацетама разработан в ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, в настоящее время находится на завершающем этапе клинического изучения. Результаты доклинического исследования показали, что помимо ноотропного эффекта ноопепт обладает нейротропным, антигипоксическим, противовоспалительным, иммунокорректирующим действием [3–6]. Неотъемлемым условием внедрения нового лекарственного препарата является изучение его фармакокинетики.

В результате ранее проведенных экспериментальных исследований с использованием метода ВЭЖХ было установлено, что период полувыведения ноопепта в плазме крови крыс независимо от способа введения составлял 25 мин [1]. Кроме того, показаны значительные межвидовые различия у животных и человека [2].

Целью данной работы явилось изучение клинической фармакокинетики ноопепта у больных с интеллектуально-мнестическими нарушениями посттравматического и цереброваскулярного генеза после однократного перорального приема тестовой дозы препарата 10 мг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование клинической фармакокинетики ноопепта было проведено у 12 больных с нарушениями интеллектуально-мнестических функций травматического и цереброваскулярного генеза: у 6 пациентов (3 мужчин и 3 женщины, возраст 33–46 лет) с последствиями черепно-мозговых травм, и у 6 (женщины, возраст 44–68 лет) с сосудистыми заболеваниями. В день испытания больные через полчаса после легкого завтрака, получали препарат в дозе 10 мг (1 таблетка). Отбор образцов крови осуществляли из локтевой вены в объеме 10 мл в гепаринизированные пробирки до и через 15, 30 и 45 мин после приема ноопепта. Плазму получали центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10 мин. Экстракцию ноопепта из плазмы крови проводили 10-кратным объемом хлороформа при встряхивании в течение 15 мин двукратно. Объединенные органические экстракты высушивали досуха под потоком воздуха. Сухие остатки растворяли в элюенте и хроматографировали с использованием элюента — ацетонитрил (206 нм): ортофосфат калия 0,1 М рН 3,2 (20:80). Хроматографический анализ проводили на компьютеризованной системе «Perkin Elmer» (США), оснащенной УФ-детектором с переменной длиной волны LC-290 и изократической помпой LC-250. Хроматографическое разделение

проводили на колонке Luna 5 C18(2) (250×4,6 мм, 5 мкм) с картриджем C18 (4 мм×3 мм) при длине волны 206 нм — максимуме поглощения пептидной связи при комнатной температуре. Объем инъецируемой в хроматографическую колонку анализируемой пробы был увеличен до 200 мкл. Время удержания ноопепта в этих условиях составило 15 мин. Предел чувствительности метода — 40 нг/мл. Количественное определение препарата проводили по данным абсолютной калибровки, построенной по площадям хроматографических пиков. Калибровочный график линейен в диапазоне концентраций 50–1000 нг/мл. Коэффициент корреляции для стандартных растворов ноопепта составил $r=0,99789$.

В связи с большим индивидуальным разбросом концентраций ноопепта в плазме больных и небольшой выборкой усреднение концентраций не проводилось и результаты представлены в виде индивидуальных кривых для каждого больного. Рассчитывались следующие фармакокинетические параметры: константа элиминации (K_{el}), период полувыведения ($T_{1/2}$), среднее время удержания ноопепта в неизменном виде в организме (MRT) и площадь под фармакокинетической кривой (AUC). Статистическую обработку рассчитанных параметров проводили с использованием программы «Statistica V. 6.0».

Нужно предупредить, что ограниченное число измерений позволяет лишь приблизительно оценить значения ФК параметров.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования клинической фармакокинетики ноопепта представлены на 2 рисунках: 1 — кинетика препарата у пациентов с последствиями черепно-мозговых травм и 2 — кинетика препарата у пациентов с цереброваскулярными расстройствами. Из представленных на рисунках данных видно, что ноопепт быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте и поступает в системный кровоток: величина C_{max} ноопепта достигается у 10 пациентов через 15 мин и только у 2 пациенток (по одной в каждой группе) уровень C_{max} достигается медленнее — через 30 мин после приема 1 таблетки препарата. Уровень C_{max} в плазме, в среднем составляющий $21,00 \pm 9,05$ нг/мл в группе пациентов с последствиями черепно-мозговых травм несколько ниже (статистически незначимо) по сравнению с величиной C_{max} в группе с сосудистыми нарушениями ($23,42 \pm 3,34$ нг/мл) и отличается большим индивидуальным разбросом. Различия фармакокинетики ноопепта отмечались и на фазе элиминации: уровень его концентраций в плазме крови в последний исследуемый интервал времени (45 мин после приема препарата) в первой группе больных был ниже предела чувствительности метода, в то время как во второй группе препарат еще обна-

руживался. На основании полученных данных рассчитаны фармакокинетические параметры ноопепта, которые представлены в таблице.

При анализе представленных в таблице данных видно, что в общей группе больных величина K_{el} составила $3,18 \pm 1,33$ ч⁻¹ и период полувыведения $0,27 \pm 0,20$ ч; причем в группе больных с сосудистой патологией K_{el} была меньше и обнаруживалась тенденция к увеличению периода полувыведения ($0,32 \pm 0,12$ ч) по сравнению с этим параметром у пациентов с последствиями черепно-мозговых травм ($0,22 \pm 0,11$ ч). Более медленная элиминация препарата у больных второй группы возможно была связана с тем, что пациенты этой группы были более старшего возраста. Кроме того, первая группа была неоднородна по половому признаку (№15, 19, 21 — женщины и №14, 18, 20 — мужчины), а вторая группа представлена только женщинами.

В величине MRT различия между группами имеют такую же направленность, как и величина $T_{1/2}$. Параметр, свидетельствующий об общем содержании препарата в плазме крови в различные интервалы времени после его введения — величина AUC в группе с сосудистой патологией, был несколько выше ($13,63 \pm 5,45$ нг×ч/мл), чем у больных с последствиями черепно-мозговых травм ($11,92 \pm 7,78$ нг×ч/мл), то есть по фармакокинетическим параметрам обнаруживалась тенденция к накоплению ноопепта у пациентов с сосудистой патологией.

Таблица

Фармакокинетические параметры ноопепта в плазме крови больных после приема препарата в дозе 10 мг

| №/№ | Возраст, лет | Масса, кг | Фармакокинетические параметры | | | | |
|----------------------|-------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | | | C_{max} , нг/мл | K_{el} , ч ⁻¹ | $T_{1/2}$, ч | MRT, ч | AUC, нг×ч/мл |
| Общая выборка | | | | | | | |
| | 50,50±10,11 | 69,08±15,30 | 22,21±6,20 | 3,18±1,33 | 0,27±0,20 | 0,57±0,14 | 12,78±6,62 |
| Группа I | | | | | | | |
| 15 | 45 | 55 | 22,5 | 4,58 | 0,15 | 0,50 | 11,65 |
| 19 | 31 | 70 | 36,0 | 1,89 | 0,37 | 0,71 | 24,68 |
| 18 | 34 | 100 | 26,5 | 1,91 | 0,36 | 0,66 | 17,03 |
| 21 | 33 | 67 | 15,0 | 5,42 | 0,13 | 0,37 | 5,98 |
| 20 | 45 | 62 | 12,5 | 5,05 | 0,14 | 0,38 | 5,38 |
| 14 | 46 | 55 | 14,0 | 3,89 | 0,18 | 0,42 | 6,34 |
| M±m | 41,83±1,75 | 65,33±19,25 | 21,00±9,05 | 3,76±1,26 | 0,22±0,11 | 0,51±0,15 | 11,92±7,78 |
| Группа II | | | | | | | |
| 7 | 56 | 76 | 22,5 | 5,29 | 0,13 | 0,52 | 9,39 |
| 8 | 55 | 57 | 24,2 | 1,39 | 0,50 | 0,86 | 19,56 |
| 22 | 44 | 64 | 25,0 | 2,41 | 0,29 | 0,55 | 13,33 |
| 9 | 65 | 85 | 27,5 | 2,70 | 0,26 | 0,51 | 13,26 |
| 11 | 68 | 70 | 24,0 | 1,96 | 0,35 | 0,64 | 14,78 |
| 16 | 68 | 85 | 17,5 | 1,83 | 0,38 | 0,68 | 11,44 |
| M±m | 59,33±9,46 | 72,83±11,34 | 23,42± 3,34 | 2,60±1,04 | 0,32±0,12 | 0,63±0,13 | 13,63±5,45 |

Рис. 1.

Фармакокинетика ноопепта у больных с посттравматическими нарушениями после однократного приема препарата в дозе 10 мг

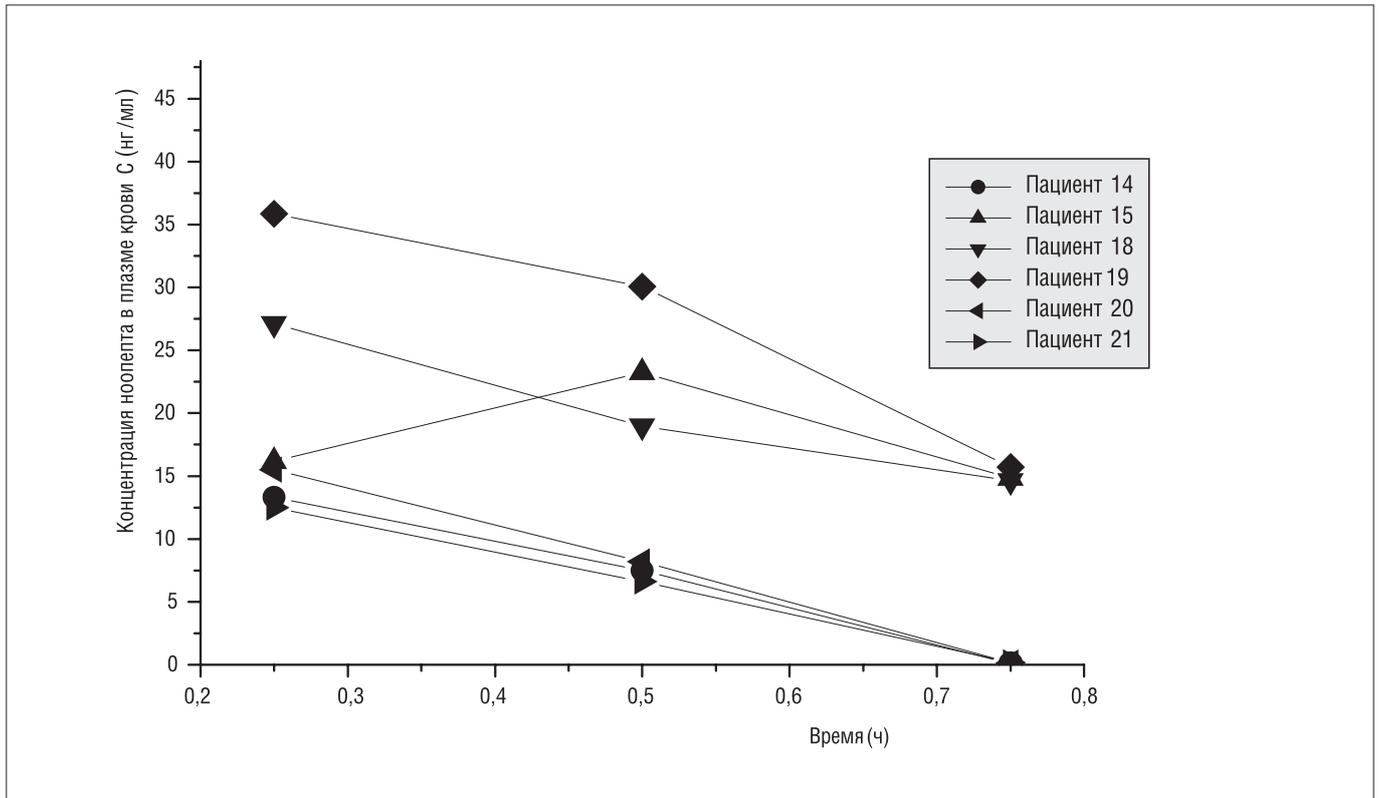
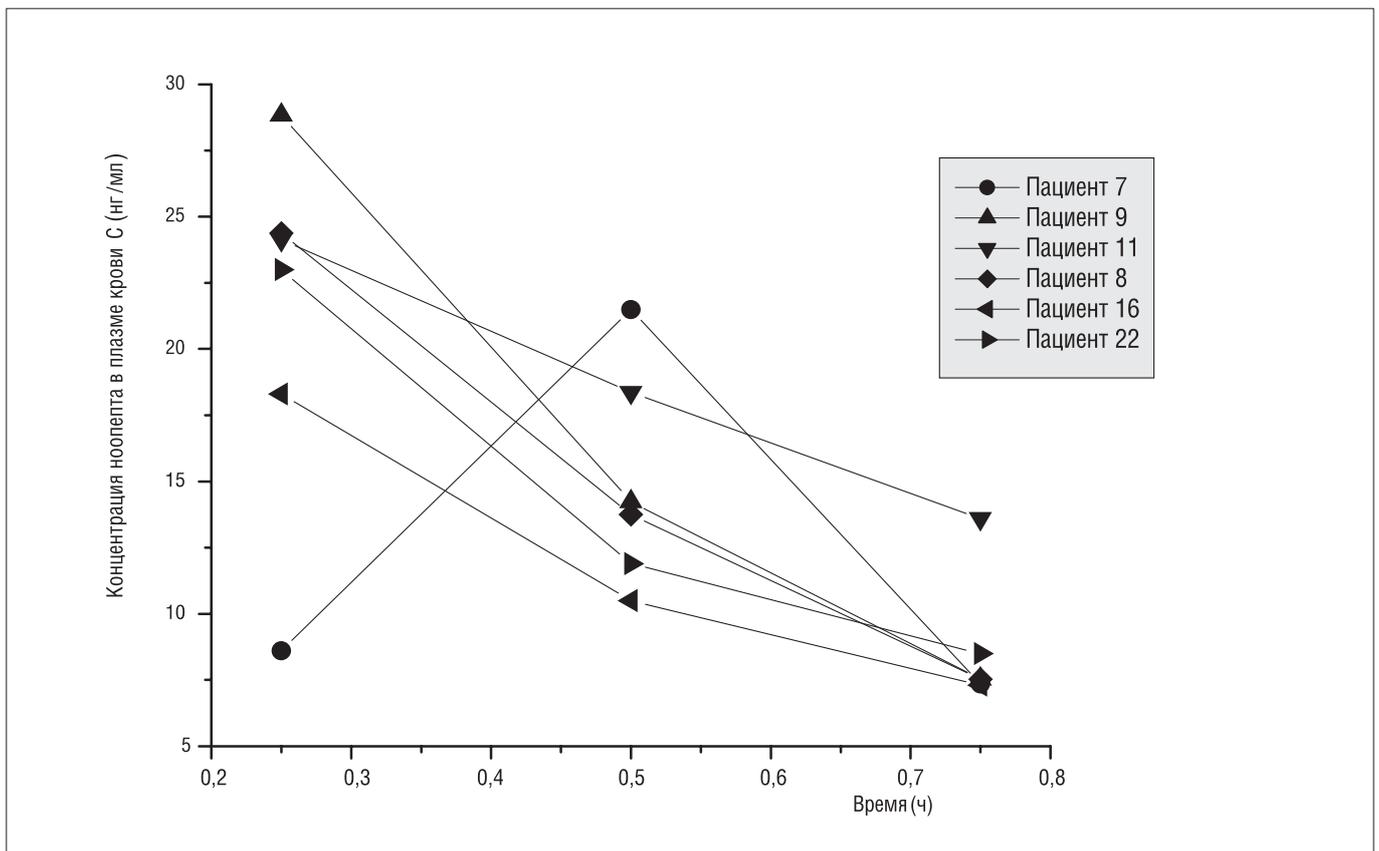


Рис. 2.

Фармакокинетика ноопепта у больных с цереброваскулярными расстройствами после однократного приема препарата в дозе 10 мг



Далее у всех этих больных после тестовой дозы ноопепт назначался в курсовой дозе 15 мг (5 мг×3 раза в сутки) в течение 28 дней и было установлено, что эта доза является терапевтически эффективной. При изучении терапевтического действия ноопепта было установлено, что у больных с посттравматическими и сосудистыми поражениями головного мозга ноопепт уменьшал проявления церебральных и когнитивных нарушений (память, внимание, интеллектуальную продуктивность), вегетативных дисфункций, расстройства сна, то есть клинический эффект ноопепта проявлялся в сочетании ноотропного, анксиолитического, стимулирующего действия и вегетостабилизирующего действия [7]. Таким образом, на основании полученных результатов был определен диапазон прогностических эффективных концентраций ноопепта (по C_{max}) в плазме крови пациентов с когнитивными нарушениями после однократного приема тестовой дозы препарата (10 мг), который составил 12,5–36,0 нг/мл для последующей курсовой терапии с дозированием препарата 15 мг/сут. Установленное «терапевтическое окно» по максимальной концентрации ноопепта может быть в дальнейшем скорректировано и использовано для проведения лекарственного мониторинга ноопептом.

Полученные ранее на доклиническом этапе исследований результаты по изучению фармакокинетики ноопепта в эксперименте у крыс после его однократного перорального введения [2] с учетом средней эффективной дозы на разных моделях обучения [4] позволили рассчитать среднюю эффективную концентрацию препарата (по C_{max}) у животных, которая составила $12,20 \pm 0,8$ нг/мл. Сопоставляя экспериментальные и клинические данные, можно утверждать, что, несмотря на существенные различия в величинах эффективных доз ноопепта у животных и человека (более чем в 5 раз), его средние максимальные концентрации при этом в плазме крови отличаются незначительно, что указывает на принципиальную возможность

сопоставления данных экспериментальной и клинической фармакокинетики не только для ноопепта, но и, по-видимому, для других фармакологически активных соединений пептидной природы, что представляется крайне важным для клинических исследований с учетом данных экспериментальной фармакокинетики.

ВЫВОДЫ

1. Ноопепт быстро всасывается после приема тестовой дозы препарата у больных с нарушениями интеллектуально-мнестических функций травматического и сосудистого генеза и определяется в плазме крови пациентов в течение 45 мин после приема.
2. Фармакокинетические параметры ноопепта отличаются значительной индивидуальной вариабельностью и при сравнении по группам: величины $T_{1/2}$, MRT в группе пациентов с сосудистой патологией свидетельствуют о более медленной элиминации препарата у этих больных, чем в группе с последствиями черепно-мозговых травм, что может иметь значение при курсовом применении препарата, особенно у пациентов старшего возраста.
3. Результаты комплексного исследования фармакокинетики и психофармакологического эффекта ноопепта позволили установить эффективную дозу, режим курсового применения и диапазон эффективных концентраций препарата по C_{max} .
4. Сопоставление клинических и ранее полученных экспериментальных данных фармакокинетики и фармакодинамики ноопепта показало, что несмотря на значительные различия в эффективных дозах у животных и человека, не наблюдается существенных различий в их эффективных концентрациях, что играет важную роль при проведении клинических исследований препаратов пептидной природы с учетом данных их доклинической фармакокинетики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко С. С., Коротков С. А., Мирзоев Т. Х., Гудашева, Островская Р. У., Жердев В. П., Воронина Т. А. Фармакокинетика и ноотропный эффект дипептида ГВС-111 при разных путях введения. Тез. докл. VII Российского национального конгресса «Человек и лекарство», М.: 2000; 46
2. Бойко С. С., Коротков С. А., Жердев В. П., Гудашева Т. А., Островская Р. У., Воронина Т. А. Межвидовые различия фармакокинетики ноопепта. Эксп и клин фарм 2004; 67:1, 40-43
3. Коваленко Л. П. Особенности оценки иммунотоксических и иммунофармакологических свойств различных групп фармакотерапевтических веществ. Дисс. докт. биол. наук, М.: 2003.
4. Островская Р. У., Гудашева Т. А., Воронина Т. А., Трофимов С. С., Бойко С. С., Жердев В. П., Середенин С. Б. ГВС-111-новый замещенный ацилпролил-дипептид с ноотропными свойствами. Международный сборник научных трудов IV научно-практ. конф. по созданию и апробированию новых лекарственных средств. Лекарства-человеку, т. VI, М.: 1997; 295-304.
5. Середенин С. Б., Гудашева Т. А., Островская Р. У., Воронина Т. А. Патент РФ № 2119496, US Patent № 5439930.
6. Ostrovskaya R. U., Romanova G. A., Barskov I. V. et al. Memory restoring and neuroprotective effects of prolylcontaining dipeptide GVS-111 in photochemical stroke model Behav. Pharmacol 1999;10: 5: 549-553.
7. Teleshova E. S., Davydova I. A., Clinical pharmacological study of the novel peptide nootropic drug noopept. European Neuropsychopharmacology 2005; 15: Supp 2: 222. Abstracts of the 8 ECNP Regional Meeting, Moscow.

Клинико-фармакокинетическое изучение мифепристона при медикаментозном аборте

В. И. Кулаков¹, Д. В. Жердев¹, А. К. Сариев², Г. Б. Колыванов², Н. И. Волков¹, В. П. Жердев²

¹ — ГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, г. Москва

² — ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, г. Москва

Изучена клиническая фармакокинетика и фармакодинамика мифепристона у пациенток при медикаментозном прерывании ранней беременности. При этом установлена зависимость между такими фармакокинетическими параметрами препарата, как максимальная концентрация (C_{max}) и площадь под фармакокинетической кривой, с одной стороны, и временем наступления медикаментозного аборта — с другой. Установленная зависимость позволяет прогнозировать эффективность действия мифепристона: если C_{max} ниже 400 нг/мл через 2 часа после приема препарата, а AUC меньше 5000 нг·ч/мл — велика вероятность отсутствия эффекта.

ВВЕДЕНИЕ

В ранних исследованиях нами была установлена статистически значимая корреляционная связь между фармакокинетическими параметрами мифепристона, ответственными за скорость снижения концентраций препарата в плазме крови, и уровнями гормонов β -ХГ, и прогестерона, отражающих состояния гестации у женщин. Выявленные закономерности указывают на то, что период полувыведения и среднее время удержания препарата могут рассматриваться в качестве предикторов его клинической эффективности при прерывании ранней беременности [1]. Настоящая работа является продолжением цикла исследований по изучению корреляционных закономерностей между фармакокинетическими характеристиками мифепристона и показателями его клинической эффективности при медикаментозном прерывании беременности в ранние сроки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено комплексное обследование медикаментозного прерывания беременности препаратом мифепристон и изучение фармакокинетики препарата у 10 пациенток с нежелательной беременностью на ранних сроках (до 49 дней аменореи с первого дня последней менструации), обратившихся в Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН в период с 2001 по 2004 гг.

Обследование впервые обратившихся беременных женщин начиналось со сбора анамнеза, подтверждающих возможность участия пациентки в исследовании. При этом особое внимание уделялось данным

анамнеза: возрасту женщины, характеристике детородной функции, а также числу абортотворений, регулярности менструального цикла, наличию гинекологических заболеваний и дате последней менструации. Клиническое обследование включало в себя влагалищное исследование (оценивались размеры матки, состояние шейки матки, придатков и характер выделений).

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза (наличие плодного яйца в полости матки, отсутствие внематочной беременности) производилось влагалищным датчиком с частотой 7,5 мГц с помощью прибора «Siemens Sonoline sienna» (Германия).

Для оценки срока беременности у всех женщин проводилось определение уровня β -ХГ, прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови. Гормоны измерялись с использованием твердофазного иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе «Cobas Core», применяя комплект реактивов ЗАО «Рош-Москва». Полученные данные сопоставлялись с нормативными сроками беременности.

Для оценки состояния беременной проводили общий осмотр женщины, а также измерение артериального давления и пульса.

Клинико-лабораторное обследование включало в себя: анализ крови на ВИЧ, RW, гепатиты, определение группы крови и резус-фактора, гемостазиограмму, общий анализ крови, исследование влагалищного мазка на степень чистоты.

Далее проводили подробную беседу с пациенткой, в которой ей излагали основные цели и задачи исследования, имеющиеся в распоряжении данные

о результатах применения препарата или его аналога ранее, ожидаемый клинический и возможные побочные эффекты, действия в случае, если положительный эффект использования препарата не будет достигнут. Согласие пациентки участвовать в клиническом исследовании препарата закреплялось ее подписью на документе, называемом «Информированное согласие».

Контроль состояния пациентки осуществляли на 8-10-й день после приема мифепристона (1-й визит), 14-16-й день (2 недели) после приема препарата (2-й визит), 35-37-й день (5 недель) после приема препарата (3-й визит) и 63-65 день (9 недель) после приема препарата (4-й визит). В первые 2 визита состояние пациентки оценивали с точки зрения эффективности действия препарата, а также и по схеме оценки побочных эффектов, вызванных применением мифепристона. Проведение УЗ-исследования, а также определение уровней β -ХГ, прогестерона и эстрадиола в крови при первом (на 8–10-й день) контроле состояния пациентки проводилось (или не проводилось) по усмотрению врача.

В случае отсутствия эффекта от применения мифепристона на 14-й день (неполный аборт или продолжающаяся беременность), пациентке была произведена вакуум-аспирация с последующим гистологическим исследованием аспирата.

Таким образом, основным параметром эффективности действия мифепристона являлся положительный исход прерывания нежелательной беременности, который подтверждали клиническим обследованием (размер матки и ее консистенция, характер выделений, болезненные ощущения, температура, пульс, давление), УЗИ (М-ЭХО, наличие плодного яйца или его элементов в полости матки, состояние эндометрия) и уровнем β -ХГ в крови.

При возникновении любых побочных эффектов наблюдение за пациенткой продолжали пока ее состояние не стабилизировалось или не улучшилось. 3- и 4-й визиты (через 5 и 9 недель после приема мифепристона соответственно) наносили только пациентки, перенесшие медикаментозный аборт. В этот период контролировали восстановление нормального менструального цикла. Контроль осуществляли на основании интервью пациентки о ее состоянии в период между осмотрами (характер выделений), клинического осмотра (размер матки и ее консистенция, шейка матки, придатки, характер выделений, болезненные ощущения), измерения температуры, артериального давления и пульса, определения уровня гемоглобина в крови, в некоторых случаях УЗ-исследования и определения уровня гормонов.

Оценку безопасности применения мифепристона производили по частоте побочных эффектов, динамике клинического состояния и лабораторных показателей, таких как маточное кровотечение, абдоминальные боли, слабость, головокружение, тошнота, диарея, отсутствие аппетита, нарушение менструального цикла, а также на основании отклонения значи-

мых лабораторных показателей клинического анализа крови от нормы (гемоглобин, лейкоциты, скорость оседания эритроцитов).

Методика количественного определения мифепристона в плазме крови пациенток проводилась согласно ранее разработанному нами методу [1].

Различия между анализируемыми параметрами рассчитывали с использованием регрессионного анализа («Statgraph»). Фармакокинетические параметры мифепристона рассчитывали по линейной однокамерной фармакокинетической модели с учетом всасывания препарата из ЖКТ, а также на основе некомпартментного подхода с использованием пакета компьютерных программ («Comstat», «Excel»).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические характеристики женщин, участвовавших в исследовании фармакокинетики мифепристона, представлены в табл. 1, из которой следует, что средний возраст составил $23,2 \pm 4,9$ лет, средний срок беременности – $4,2 \pm 0,6$ недели, средняя масса тела – $57,9 \pm 9,6$ кг. У 6 из 10 пациенток беременность была первая. У 4-х оставшихся ранее были 1, 2, 4 или 6 беременностей.

Кинетические кривые содержания неизменного мифепристона в плазме крови женщин после перорального приема 600 мг препарата представлены на рис. 1. Как видно из рисунка, наблюдается существенный разброс в концентрациях препарата в плазме крови женщин, несмотря на одну и ту же принятую ими дозу мифепристона. В отдельных временных точках этот разброс становится практически десятикратным, что находится в соответствии с данными некоторых других исследователей [3, 4]. Из усредненной кривой (рис. 2) концентрации мифепристона видно, что основная часть неизменного препарата выводится в течение первых 24 часов, затем наблюдается медленное монофазное снижение концентрации на протяжении 72 часов. Через неделю после приема препарата у некоторых женщин в плазме регистрировались следовые количества мифепристона.

В табл. 2 представлены индивидуальные и усредненные значения фармакокинетических параметров мифепристона. Как видно из таблицы, препарат быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, поступает в системный кровоток (период полувсасывания, $T_{1/2 \text{ abs}}$ в среднем составляет $1,14 \pm 0,33$ часа) и достигает максимальной концентрации (C_{max}) через $2,1 \pm 0,3$ часа (T_{max}). Мифепристон длительное время циркулирует в крови и выводится с периодом полувыведения ($T_{1/2 \text{ el}}$) $17,43 \pm 7,47$ часа, что позволяет отнести этот препарат к, так называемым, «долгоживущим» препаратам, на что указывает также среднее время удержания MRT ($33,88 \pm 11,62$ часа). Наблюдается существенный разброс таких фармакокинетических параметров как C_{max} , площадь под фармакокинетической кривой ($AUC_{0 \rightarrow t}$), так как и измеренных значений концентраций мифепристона.

Существенные индивидуальные различия в концентрациях мифепристона и его фармакокинетических параметрах могут быть обусловлены различными факторами. В ряде работ показано, что мифепристон в организме подвергается выраженной биотрансформации с образованием 3 основных метаболитов препарата – дезметильного, дездиметильного и гидроксильного продуктов превращения [4]. Полиморфизм ферментов, участвующих в инактивации мифепристона, может быть одним из существенных факторов, объясняющих полученные различия. В соответствии с данными литературы препарат в крови интенсивно (на 95% и более) связывается с гликопротеинами и альбуминами крови [2] и, по-видимому, существует предел насыщения этого связывания, что может быть также причиной существенных межиндивидуальных различий в кинетике мифепристона.

Эти основные причины (пресистемный метаболизм и интенсивное связывание) могут играть важную роль в обнаруженных межиндивидуальных колебаниях концентраций неизменного препарата.

С целью исследования взаимосвязей между фармакокинетикой мифепристона и его эффективностью при прерывании ранней беременности у исследуемых пациенток параллельно регистрировались желаемый эффект препарата (время до наступления медикаментозного аборта) и его побочные эффекты (слабость, тошнота, абдоминальные боли, отсутствие аппетита). Кроме того, фиксировали продолжительность и выраженность маточного кровотечения.

При проведении корреляционного анализа между различными фармакокинетическими параметрами мифепристона и его эффективностью была обнаружена отрицательная корреляционная связь

Таблица 1.

Клиническая характеристика пациенток

| №№ наблюдения | Возраст, лет | Рост, см | Масса тела, кг | Сроки беременности, нед. | Количество предыдущих беременностей |
|------------------------------|--------------|--------------|----------------|--------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 32 | 169 | 70 | 5 | 1 |
| 2 | 29 | 163 | 57 | 4 | 4 |
| 3 | 19 | 165 | 54 | 4 | 0 |
| 4 | 23 | 158 | 55 | 4 | 0 |
| 5 | 19 | 172 | 54 | 4 | 0 |
| 6 | 16 | 168 | 63 | 4 | 0 |
| 7 | 21 | 155 | 45 | 3 | 2 |
| 8 | 21 | 170 | 52 | 4 | 0 |
| 9 | 29 | 170 | 79 | 5 | 6 |
| 10 | 23 | 168 | 50 | 5 | 0 |
| \bar{x} | 23,2 | 165,8 | 57,9 | 4,2 | |
| SD | 4,9 | 5,3 | 9,6 | 0,6 | |
| S\bar{x} | 1,6 | 1,7 | 3,0 | 0,2 | |
| CV% | 21,2 | 3,2 | 16,6 | 14,3 | |

Таблица 2.

Фармакокинетические параметры мифепристона в плазме крови беременных женщин в ранние сроки беременности после его однократного приема внутрь в дозе 600 мг

| №№ | Фармакокинетические параметры и их размерность | | | | | | | |
|------------------------------|--|-------------------|-----------------------------|------------------|--------------|------------------|----------------------|--|
| | K_{abs} ч ⁻¹ | $T_{1/2abs}$ ч | K_{el} ч ⁻¹ | $T_{1/2el}$ ч | MRT* ч | T_{max} * ч | C_{max} * нг/мл | $AUC_{0 \rightarrow t}$ * час × нг/мл |
| 1 | 0,65 | 1,07 | 0,250 | 2,75 | 3,11 | 2,0 | 134,0 | 369,8 |
| 2 | 1,76 | 0,39 | 0,030 | 23,21 | 36,53 | 2,0 | 660,0 | 14830,0 |
| 3 | 0,52 | 1,33 | 0,099 | 7,04 | 32,61 | 2,0 | 1567,0 | 23901,8 |
| 4 | 0,81 | 0,86 | 0,067 | 10,30 | 26,32 | 3,0 | 379,0 | 4473,5 |
| 5 | 1,33 | 0,52 | 0,028 | 24,61 | 38,41 | 2,0 | 520,0 | 11176,0 |
| 6 | 0,82 | 0,85 | 0,039 | 17,80 | 35,83 | 2,0 | 2150,0 | 56917,5 |
| 7 | 0,44 | 1,58 | 0,029 | 24,02 | 49,27 | 2,0 | 998,0 | 31301,8 |
| 8 | 0,72 | 0,96 | 0,033 | 20,96 | 37,86 | 2,0 | 1100,0 | 30400,0 |
| 9 | 0,63 | 1,10 | 0,030 | 23,35 | 39,70 | 2,0 | 2400,0 | 68900,0 |
| 10 | 0,61 | 1,14 | 0,034 | 20,24 | 39,13 | 2,0 | 2550,0 | 68077,5 |
| \bar{x} | 0,83 | 0,98 | 0,064 | 17,43 | 33,88 | 2,10 | 1245,8 | 31034,8 |
| SD | 0,39 | 0,33 | 0,066 | 7,47 | 11,62 | 0,30 | 830,3 | 24145,4 |
| S\bar{x} | 0,12 | 0,11 | 0,021 | 2,36 | 3,68 | 0,09 | 262,8 | 7641,0 |
| CV% | 46,7 | 34,2 | 102,8 | 42,9 | 34,3 | 14,3 | 66,7 | 77,8 |

Примечание: * – параметры, рассчитанные некомпартментным методом

между максимальной концентрацией (C_{max}) и площадью под фармакокинетической кривой препарата, с одной стороны, и временем до наступления медикаментозного аборта, с другой ($r=-0,86$ ($p<0,006$) для C_{max} и $r=-0,85$ ($p<0,008$) для AUC). Эти зависимости графически представлены на рис. 3 и 4. Выявленная корреляция указывает на то, что с увеличением C_{max} и AUC мифепристона период времени до наступления медикаментозного аборта сокращается. Хотя значения отрицательных коэффициентов корреляции достаточно высокие и статистически значимые, учитывая малый объем выборки, можно говорить лишь о выявленной тенденции установленных связей. Следует отметить, что подобной зависимости между вышеуказанными фармакокинетическими параметрами и временем до наступления медикаментозного аборта после приема мифепристона ранее обнаружено не было.

Вместе с тем, нами не было обнаружено ни какой зависимости между фармакокинетическими параметрами, характеризующими скорость всасывания и скорость элиминации мифепристона, и временем до наступления аборта. При проведении анализа также

не было обнаружено ни какой взаимосвязи между различными фармакокинетическими параметрами и побочными эффектами мифепристона, а также между фармакокинетическими характеристиками препарата и продолжительностью или выраженностью маточного кровотечения, вызванного препаратом.

При визуальном анализе концентрации мифепристона у беременных женщин, а также параметров C_{max} и AUC можно отметить, что искусственные аборты, произведенные у пациенток №1 и 4, сопровождается самыми низкими показателями вышеперечисленных фармакокинетических характеристик. Причем, в одном случае, искусственный аборт был произведен по причине обнаружения остатков хориальной ткани, а в другом – по причине ненаступления медикаментозного аборта, что подтверждалось данными УЗИ и содержания β -ХГ.

Таким образом, на основании имеющихся ограниченных данных можно предположить, что низкие значения концентраций мифепристона в различные интервалы времени после приема препарата (значения $C_{max}<400$ нг/мл и $AUC<5000$ час·нг/мл) не обеспечивают медикаментозного аборта.

Рис. 1.

Уровни концентраций мифепристона в плазме крови беременных женщин после его однократного приема внутрь в дозе 600 мг (n=10)

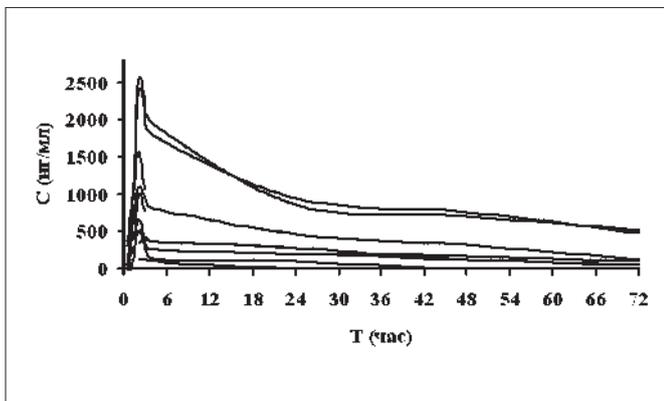


Рис. 2.

Усредненная кривая концентрации мифепристона в плазме крови беременных женщин ($\bar{x}\pm SD$) после его однократного приема внутрь в дозе 600 мг

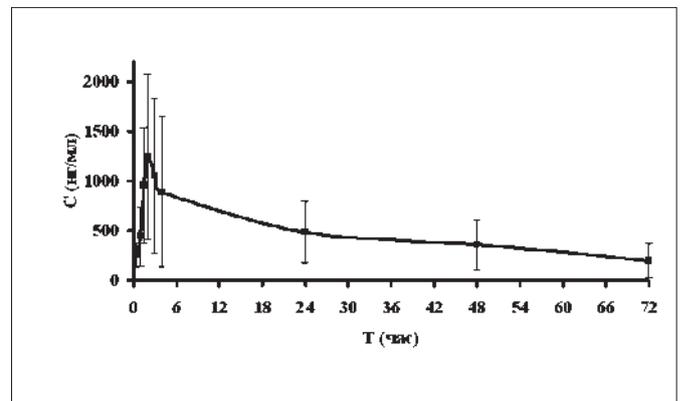


Рис. 3.

Соотношения между максимальной концентрацией (C_{max}) мифепристона и временем до наступления медикаментозного аборта.

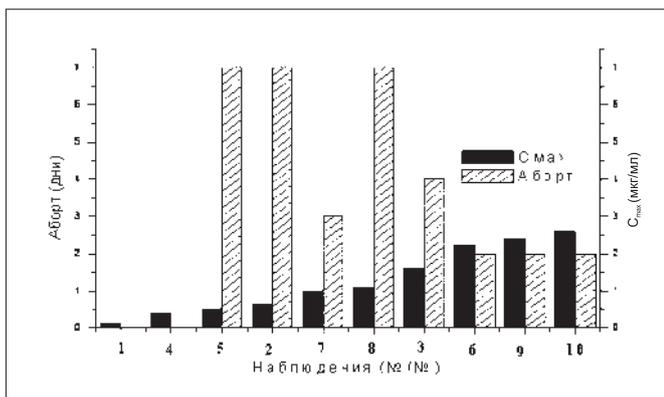
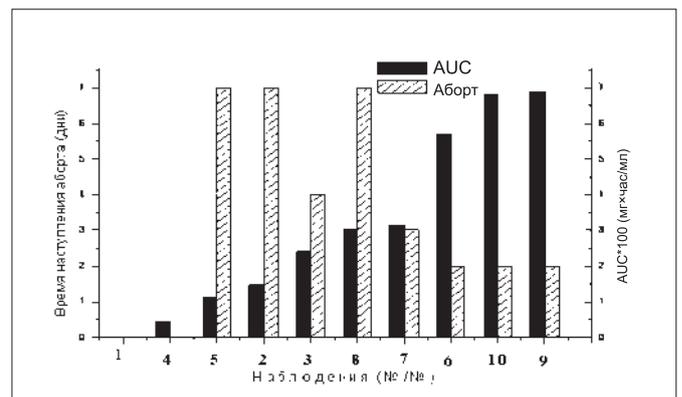


Рис. 4.

Соотношения между значениями AUC мифепристона и временем до наступления медикаментозного аборта.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана высокочувствительная и селективная методика экстракции и количественного определения мифепристона в биологическом материале с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. Период времени до наступления медикаментозного аборта после приема мифепристона зависит от таких параметров, как максимальная концентрация и площадь под фармакокинетической кривой. Для прерывания раннего срока беременности необходимо, чтобы уровень макси-

мальной концентрации мифепристона был не ниже 400 нг/мл, а значение площади под фармакокинетической кривой — не менее 5000 нг·ч/мл. В процессе прерывания беременности ранних сроков эти показатели находятся в статистически значимой отрицательной корреляционной связи с периодом времени до наступления аборта, что указывает на возможность использования этих фармакокинетических параметров в качестве предиктора клинической эффективности мифепристона при прерывании беременности ранних сроков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кулаков В. И., Жердев Д. В., Сариев А. К. и др. Эксперим клин фармакол 2004; 2: 55-58.
2. Heikinheimo O., Lahteenmaki P., Koivunen E. et al. Hum Reprod. 1987; 2: 379-385.
3. Honkanen H., Ranta S., Ylikorkala O. et al. Hum Reprod 2002; 9: 2315-2319.
4. Shi Y. -E., Ye Zhi-hou, He Chang-hai et al. Contraception 1993; 48: 133-149.

Фармакокинетика левофлоксацина как основа режима дозирования и оптимизации схем лечения

Е. Н. Падейская

Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов, г. Москва

ВВЕДЕНИЕ

Три основные характеристики каждого нового **антимикробного** препарата необходимы одновременно для решения вопроса о возможности его применения в клинике для лечения инфекционных заболеваний.

Антимикробный спектр и степень активности, включая механизм действия, определяют этиотропную терапию, т.е. показания к применению при определенных инфекциях. Для решения этого вопроса значение имеют бактерицидный или бактериостатический тип антимикробного действия и механизмы развития резистентности клинических штаммов бактерий к новому препарату.

Фармакокинетика определяет пути введения лекарства и, в соответствии с особенностями распределения в организме, применение в зависимости от характера и локализации инфекции. Особое значение имеет фармакокинетика препарата в условиях инфицированного организма, при недостаточности функции почек и печени и при ряде других патологических состояний.

Токсикологические свойства на основе экспериментальных данных, включая хроническую токсичность на половозрелых и неполовозрелых животных, определяют возможность назначения нового лекарства различным возрастным группам (взрослые, подростки, дети раннего возраста, гериатрическая практика) и при беременности.

Каждая из перечисленных характеристик продолжает подробно изучаться в процессе широкого клинического применения препарата. Полученные результаты требуют пристального внимания врача и позволяют в дальнейшем решать ряд вопросов оптимизации схем лечения и расширения или ограничения применения препарата. Вопросы дозирования и режимов дозирования антимикробного препарата решаются на основе всех этих характеристик. Вместе с тем, **учитывая необходимость достижения в крови, органах, тканях и внутриклеточно концентраций, обеспечивающих максимально возможный антимикробный**

эффект, изучение фармакокинетики антибактериального препарата приобретает особое значение.

В 1993 г. в клиническую практику был введен фторхинолон левофлоксацин, синтезированный и впервые изученный японскими исследователями фирмы Daichii в конце 80-х годов [1-3]. С 1997 г. левофлоксацин разрешен для применения в США. В настоящее время препарат выпускается в лекарственных формах для перорального и парентерального (внутривенного) введения. Разработана также лекарственная форма для местного применения в виде глазных капель. В России левофлоксацин в двух лекарственных формах (инъекционная и пероральная) зарегистрирован под торговым названием Таваник® (фирма «Hoechst—Merion—Russel» и в настоящее время выпускается фирмой «sanofi—aventis») [4]. Препарат привлекает значительное внимание клиницистов как высокоэффективный фторхинолон с оптимизированными свойствами. Ряд исследователей считают, что левофлоксацин занимает одно из лидирующих мест среди фторхинолонов по клинической эффективности и безопасности.

Общая характеристика антимикробной активности и результаты клинического применения левофлоксацина подробно освещались на страницах периодических изданий (в том числе данного журнала) и в ряде монографий [5-13].

Задача данной работы на основании опубликованных материалов дать характеристику фармакокинетических свойств левофлоксацина. В инструкции по применению препарата Таваник указано, что левофлоксацин рекомендуется применять один или два раза в сутки в зависимости от тяжести заболевания по 250-500 мг внутрь или внутривенно. Особый интерес представляют фармакокинетические свойства препарата, которые подкреплены клиническими данными, дают основания для применения суточной дозы левофлоксацина только в один прием, в том числе и при тяжелых генерализованных инфекциях. Две лекарственные формы, исходя из особенностей

фармакокинетики препарата, позволяют успешно применять ступенчатую схему терапии (внутривенно/перорально) в равных дозах [11-14]. Крайне интересные наблюдения, в которых курс лечения с высоким клиническим эффектом проведен с применением левофлоксацина в суточной дозе 750 мг (в один прием) внутривенно или перорально [15-18]. В материалах фирмы Janssen-Ortho Inc. (Торонто, Канада) по левофлоксацину даются уже конкретные рекомендации по применению препарата в зависимости от локализации и тяжести инфекции в однократной суточной дозе 500 или 750 мг [18].

ФАРМАКОКИНЕТИКА ЛЕВОФЛОКСАЦИНА У ЧЕЛОВЕКА С НОРМАЛЬНОЙ ФУНКЦИЕЙ ПОЧЕК

Химическое строение левофлоксацина важно для оценки его биологических свойств, в том числе и фармакокинетики. Препарат является оптически активным левовращающим изомером рацемата фторхинолона офлоксацина и антибактериальную активность офлоксацина определяет именно левофлоксацин (*L*-изомер, *L*-офлоксацин, *S*-офлоксацин) [1-5, 12, 18]. Антимикробная активность левофлоксацина, также как и других фторхинолонов, связана с избирательным и быстрым ингибированием (связывание с образованием стабильных комплексов) жизненно-важных бактериальных ферментов группы топоизомераз — ДНК-гиразы и топоизомеразы IV. При этом левофлоксацин образует более стабильные комплексы с ДНК-гиразой, чем правовращающий изомер (*D*-изомер, *D*-офлоксацин, *R*-офлоксацин). *D*-изомер слабо активен или неактивен как антибактериальный препарат и, по существу, является балластом в лекарственной форме в виде рацемата (1:1).

Успех применения офлоксацина (один из первых фторхинолонов) в клинике, начиная с 1983—1985 гг., при бактериальных инфекциях по очень широким показаниям был основанием для выделения его левовращающего изомера в самостоятельный препарат. Это — одно из важных направлений в разработке новых препаратов в ряду фторхинолонов, одновременно с работами по модификации молекулы хинолона [19]. Следует отметить, что при применении офлоксацина в клинике, в том числе при тяжелых инфекциях, уже в 1991-1995 гг. была показана эффективность и, таким образом, возможность назначения офлоксацина не два раза в сутки (400 мг каждые 12 часов), а введение суточной дозы (800 мг) в один прием [20-22].

По фармакокинетическим свойствам левофлоксацин имеет ряд особенностей в сравнении с другими фторхинолонами как с первыми препаратами этой группы (например, ципрофлоксацин, пефлоксацин, норфлоксацин), так и с более поздними фторхинолонами (спарфлоксацин, моксифлоксацин, гатифлоксацин, гемифлоксацин).

Необходимо отметить устойчивость молекулы левофлоксацина к трансформации (метаболизму) в

организме, в том числе и в инфицированном организме. Левофлоксацин (*L*-изомер) устойчив к стереохимической трансформации и не превращается в организме в неактивный *D*-изомер [1,4,18,23]. Низкая степень ионизации, низкое связывание с белками плазмы, достаточная растворимость в воде обеспечивают в организме хорошее проникновение препарата в экстраваскулярные пространства.

После введения внутрь или парентерально левофлоксацин метаболизируется в организме в пределах только 5%. Идентифицированы два метаболита левофлоксацина, которые также содержат фтор по положению 6 в хинолоновом фрагменте. Однако, образование *N*-оксида или деметилирование в пиперазинильном заместителе по положению 7 практически снимает антимикробную активность этих двух метаболитов.

Левофлоксацин быстро и почти полностью всасывается после приема перорально. Максимальная концентрация в плазме крови после приема препарата внутрь достигается, в зависимости от дозы, через 1-2 часа. Абсолютная биодоступность левофлоксацина после приема внутрь в дозах 500 или 750 мг составляет 85—95% [24-26], 99% [18], а по данным некоторых авторов достигает 100% [27]. Таким образом, концентрационные показатели препарата при введении перорально и внутривенно сопоставимы.

Фармакокинетика левофлоксацина носит линейный характер как при однократном, так и при повторных введениях [4, 10, 11, 24-28].

Устойчивая концентрация препарата в крови после приема внутрь достигается через 48 часов после суточной дозы 500 или 750 мг при условии введения левофлоксацина один раз в сутки. Максимальная и конечная концентрации левофлоксацина в плазме крови после однократного или повторных введений внутрь один раз в сутки составляли при дозе 500 мг 5,7 и 0,5 мкг/мл и при дозе 750 мг — 8,6 и 1,1 мкг/мл соответственно [18].

Значимых изменений всасывания и, соответственно, клинической эффективности, не отмечается при приеме левофлоксацина одновременно с пищей. Применение одновременно с пищей несколько удлиняет время достижения пиковой концентрации левофлоксацина и может снижать до 14% уровень его максимальной концентрации. Тем не менее, если препарат назначается внутрь в монотерапии его «можно принимать перед едой или в любое время между приемами пищи» (*Инструкция по применению препарата Таваник. Информация для специалистов; одобрены Фармакологическим комитетом Минздрава России, 1998 г.*).

Так как фармакокинетический профиль препарата после введения перорально или внутривенно сопоставим по показателям C_{max} , C_{min} и по величине АUC, то эти два пути введения левофлоксацина взаимозаменяемы [8, 18, 24-33].

Сравнение концентраций левофлоксацина в крови после введения перорально или внутривенно представлено в табл. 1 и 2. В табл. 3 сопоставлены фармакокинетические параметры левофлоксацина с офлок-

сацином, а также с ципрофлоксацином, как одним из стандартов фторхинолонов, так и с наиболее новым препаратом этой группы — моксифлоксацином. После введения левофлоксацина в дозе 750 мг перорально максимальная концентрация и величина площади под фармакокинетической кривой превышают эти показатели по сравнению с дозой 500 мг [8,18,24-33]. Наблюдается также пропорциональное повышение концентрации в плазме при повышении доз от 250 до 1000 мг (см. табл. 2). Для фармакодинамики фторхинолонов уровень максимальных концентраций очень важен для проявления активности препарата в инфицированном организме. Высокие значения максимальной концентрации левофлоксацина при дозе 750 мг обеспечивают наиболее быстрый бактерицидный эффект и в наибольшей степени предотвращают возникновение резистентных мутантов.

Отмечены высокие концентрации левофлоксацина при повторном введении внутривенно больным с бак-

териальными инфекциями. Изучали концентрацию у 272 больных с инфекциями дыхательных путей и кожи, в том числе у 8 больных с недостаточностью функции почек. Препарат применяли однократно в сутки каждые 24 часа, при почечной недостаточности каждые 48 часов; суточные дозы 500 или 250 мг. Максимальная концентрация в плазме крови при дозе

Таблица 1.
Концентрация (мкг/мл) левофлоксацина в плазме крови после однократного введения перорально в дозах 500 мг и 750 мг [18]

| Доза, мг | Введение перорально | | Введение внутривенно C _{max} |
|----------|---------------------|------------------|--|
| | C _{max} | C _{min} | |
| 500 мг | 5,7 | 0,5 | 6,2 (через 60 мин) |
| 750 мг | 8,6 | 1,1 | 7,99 (через 90 мин) |

Таблица 2.

Фармакокинетические параметры левофлоксацина после введения перорально или внутривенно, однократно в сутки или повторно (по данным [8, 18, 24 –33] в модификации)

| Частота введения | Доза, мг, путь введения | C _{max} , мкг/мл | t _{max} , мин | Vd, л/кг | T _{1/2} , ч | AUC ₀₋₂₄ , мг×ч/л |
|---|-------------------------|---------------------------|------------------------|----------|----------------------|------------------------------|
| Один раз в сутки, однократно | 250, р/о | 2,8±0,4 | 48±2,3 78±30 | 1,3 | 7,3±0,9 | 27,2±3,9 |
| | 500, р/о | 5,1±0,8 | | | 6,3±0,6 | 47,9±6,8 |
| | 500, р/о | 6,2±1,3 | | | 6,9±0,8 | 45±4,4 |
| | 500, р/о | 5,2 | | | 6,5 | 47,7 |
| | 500, р/о | 5,2 | | | 7,4 | 61,1 |
| | 750, р/о | 7,1±1,4 | | | 7,7±1,3 | 82,2±14,3 |
| | 1000, р/о | 8,9±1,9 | | | | 111±20,3 |
| | 500, i/v | 8,3 | | 1,2 | 6,6 | 55,3 |
| | 500, i/v | 7,1±1,4 | | | 6,4±0,7 | 48,3±5,4 |
| Один раз в сутки, повторно (два и более дней) | 500, р/о | 5,7 | 66 | 1,37 | 6,8 | 47,5 |
| | 750, р/о | 8,6 | 84 | 1,29 | 8,8 | 91 |
| | 500, i/v | 6,4 | | 1,22 | 6,8 | 64,6 |
| | 750, i/v | 7,92 | | | | |

Примечание: р/о – перорально, i/v – внутривенно.

Таблица 3.

Фармакокинетические параметры (диапазон) левофлоксацина в сравнении с другими фторхинолонами (по данным обзоров [9, 12], в модификации, анализ более 50 публикаций)

| Препарат, дозы, мг | Биодоступность, % | C _{max} , мкг/мл | AUC ₀₋₂₄ , мг×ч/л | T _{1/2} , ч | Выведение с мочой неизмененного препарата, % | Коррекция доз ¹⁾ |
|-------------------------------|-------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------|--|-----------------------------|
| Левофлоксацин: от 500 до 750 | 85–99–100 | 5,0–8,6 | 44–82 | 6–8 | 75–90 | + |
| Офлоксацин: от 200 до 500 | 85–95 | 2,2–5,3 | 14,6–55,3 | 3–8 | 70–90 | + |
| Ципрофлоксацин: от 500 до 750 | 70–85 | 1,2–2,9 | 10–35 | 3,5–7 | 27–60 | ± |
| Моксифлоксацин: от 200 до 400 | 86 | 1,7 | 15,4–33,8 | 12 | 9,2–19 | – |

Примечание: ¹⁾ Коррекция доз при недостаточности функции почек.

500 мг составляла в среднем $8,7 \pm 4,0$ мкг/мл; величина площади под фармакокинетической кривой — $72,5 \pm 51,2$ мкг×ч/мл [18].

Левифлоксацин, также как и другие фторхинолоны, благодаря большому объему распределения хорошо проникает в органы, ткани, внутриклеточно и в биологические жидкости, обеспечивая высокий уровень препарата, значительно превышающий значения МПК для чувствительных к препарату видов бактерий. Тканевые и внутриклеточные концентрации, как правило, сопоставимы или превышают сывороточные. В обзорной работе *J. A. Paladino* подчеркивается повышение проникновения фторхинолонов в органы и ткани в инфицированном организме [8].

При дозе 750 мг в тканях кожи через 3–4 часа после введения пиковые концентрации левифлоксацина находились на уровне 11–12 мкг/г, превышая концентрацию в крови в два раза. В жидкости воспалительного пузыря при дозе 500 мг концентрация препарата достигала 4,33 мкг/кг, что соответствовало уровню сывороточных концентраций при указанной дозе [18]. Степень проникновения левифлоксацина в различные органы и ткани представлена в табл. 4 и 5. Отмечается высокая степень проникновения препарата в ткань легкого, бронхоальвеолярную жидкость,

в мокроту, в ткань простаты, в кожные структуры, в воспалительный экссудат даже при низких дозах (100 мг р/о) [27, 29, 34–41].

Интересные данные получены *H. von Baum* [42]. Изучено проникновение левифлоксацина в кожные структуры и кость после внутривенного введения 500 мг препарата однократно с целью профилактики развития инфекции у 21 больного при операциях по поводу декубитальной язвы стопы или операции на кости. Проанализирована концентрация в 83 биосубстратах. Средняя концентрация левифлоксацина в сыворотке крови через 1,5 часа после введения составляла $8,7 \pm 2,38$ мкг/мл. Соответственно концентрация препарата в ткани раны находилась на уровне $17,3 \pm 6,5$ мкг/г, в коже — $19,9 \pm 9,9$ мкг/г, в грануляционной ткани — $13,9 \pm 2,59$ и в жировой ткани — $3,8 \pm 1,7$ мкг/г. В корковом слое кости препарат определялся в концентрации $2,9 \pm 1,0$ мкг/г [42].

Изучали концентрацию левифлоксацина в различных структурах кости и в ткани синовиальной оболочки сустава у больных, оперированных по поводу тотальной замены тазобедренного сустава. Концентрацию препарата в различных тканях определяли спустя 1,2 ч после введения левифлоксацина внутривенно в дозе 500 мг. Средние концентрации составляли: в плазме —

Таблица 4.

Проникновение левифлоксацина в органы, ткани, внутриклеточно, в жидкости организма в сравнении с другими фторхинолонами; показатель проникновения: индекс биосубстрат/кровь (по данным обзора [9], в модификации, данные 15 публикаций)

| Препарат | АМФ | Слизистая бронхов | БАЖ | Кожа | Ткань простаты | Воспалительный экссудат | Желчь |
|----------------|------|-------------------|------|------|----------------|-------------------------|-------|
| Левифлоксацин | 18,5 | 1,55 | 2,0 | 1,44 | 1,28 | 0,96 | 1,28 |
| Ципрофлоксацин | 10,5 | 1,7 | 1,9 | 1,9 | 1,86 | 1,17 | 5,08 |
| Спарфлоксацин | 65,5 | 3,3 | 63 | 1,2 | 1,4 | 1,17 | 9,6 |
| Моксифлоксацин | 24,5 | 2,07 | 6,95 | 1,0 | нет данных | 0,84 | 12,27 |

Примечание: АМФ – альвеолярные макрофаги; БАЖ – бронхоальвеолярная жидкость.

Таблица 5.

Концентрации (средние) левифлоксацина после введения перорально в тканях и биологических жидкостях (по данным [27, 29, 34–39], в модификации)

| Биосубстрат | Доза, мг | Время забора пробы, ч | $C_{\text{сыв.}}$ мг/л | $C_{\text{ткань}}$ мг/л, мкг/г | Индекс: $C_{\text{ткань}}/C_{\text{сыв}}$ |
|-------------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------|---|
| Ткань легкого | 500 | 2–3 | 4,1 | 7,7 | 1,9 |
| Мокрота | 200 | 4 | 2,7 | 4,4 | 1,6 |
| Жидкость БАЛ | 200 | 1–3 | 2,5 | 0,2 | 0,1 |
| Ткань простаты | 100 | 1–6 | 0,9 | 1,1 | 1,2 |
| Кожа | 200 | 0,8–4 | 1,7 | 1,8 | 1,1 |
| Воспалительный экссудат | 500×24 две дозы | 0,5–24 | 5,0 | 4,7 | 0,9 |

Примечание: БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж.

7,5±1,3 мг/л, в губчатом слое кости — 7,4±2,2 мг/кг, в корковом слое — 3,9±1,2 мг/кг и в синовиальной ткани — 8,9±2,1 мг/кг. Таким образом, концентрации в губчатом слое и в синовиальной оболочке соответствовали или превышали концентрации в плазме (индекс ткань/плазма — 1,0±0,4 и 1,2±0,4 соответственно) и значительно превышали пограничные концентрации чувствительности (breakpoint ≤ 2 мг/л) в отношении возможных возбудителей гнойной инфекции [43].

При изучении концентрации левофлоксацина в желчи после введения внутрь двух доз препарата (500 мг с интервалом 24 часа) показано, что левофлоксацин обеспечивал концентрации в желчи на уровне или превышавшем концентрацию в сыворотке (табл. 6) [42].

Левофлоксацин применяли в дозе 500 мг один раз в сутки внутривенно (не более 5 суток), затем перорально по схеме ступенчатой терапии (не более 5 суток) у 30 больных с различными формами гнойной инфекции кожи и мягких тканей, включая гнойные раны с повреждением и без повреждения костей, раны при «диабетической стопе», хронические гнойные процессы мягких тканей. Концентрации левофлоксацина в крови больных с раневой инфекцией составляли: 1) после внутривенного введения:

4,5-8,9 мг/л — через 15 мин, 1,9-3 мг/л — через 8 часов и 0,54-2,7 мг/л — через 24 часа; 2) после введения перорально 2,2-6,9 мг/л — через 30 мин, 1,8-7,5 мг/л — через 2 часа, 0,85-2,7 мг/л — через 8 часов и 0-0,34 мг/л — через 24 часа. Указанные концентрации, как правило, превышали величины МПК₅₀ для основных возбудителей раневой инфекции, выделенных от больных с инфекциями кожи и мягких тканей в этом стационаре. Превышение величин МПК₉₀ не достигалось для штаммов *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* и некоторых представителей Enterobacteriaceae [44].

Таблица 6.
Концентрация (мкг/мл) левофлоксацина в желчи после введения препарата внутрь в суточной дозе 500 мг два раза с интервалом 24 часа (по данным Н. von Baum [42])

| Параметры | Результаты исследования | | | | | |
|--------------------------|---|------|------|------|------|------|
| | 0 | 3 | 5 | 24 | 27 | 29 |
| Время забора проб, ч | 0 | 3 | 5 | 24 | 27 | 29 |
| Концентрация в сыворотке | 0 | 5,34 | 5,07 | 4,23 | 6,04 | 5,51 |
| Концентрация в желчи | C _{желчь} /C _{сыв.} : 0 10,03 7,18 4,09 8,82 6,56 средн.: 1,38 | | | | | |

Таблица 7.

Чувствительность аэробных бактерий к левофлоксацину (ЛЕФЛ)

| Группы аэробных грамотрицательных* и грамположительных бактерий, включая внутриклеточные патогены | ЛЕФЛ, мг/л МПК ₉₀ , диапазон (МПК – диапазон) | ЛЕФЛ – эффективность в клинике |
|---|--|-------------------------------------|
| Высокочувствительные: <i>Citrobacter diversus</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>E.aerogenes</i> , <i>E.agglomeratus</i> , <i>Haemophilus</i> spp., <i>H.influenzae</i> , <i>H.parainfluenzae</i> , <i>H.parahemolyticus</i> , <i>Neisseria</i> spp., <i>N.gonorrhoeae</i> , <i>N.meningitidis</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>S.typhi</i> , <i>Shigella</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>V.cholerae</i> , <i>Yersinia</i> spp., <i>Y.pestis</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Campylobacter</i> spp., Ряд штаммов <i>Escherichia coli</i> и <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . | 0,03–0,5 (<0,008–8,0) | В монотерапии** |
| Чувствительные: <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P.vulgaris</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Brucella</i> spp., <i>Francisella tularensis</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , некоторые штаммы <i>Mycobacterium tuberculosis</i> и быстрорастущие штаммы нетуберкулезных микобактерий, <i>Streptococcus</i> spp., <i>S.pneumoniae</i> (включая штаммы, устойчивые к пенициллину и макролидам), <i>Staphylococcus</i> spp., MSSA, <i>S.epidermidis</i> MSSE, некоторые штаммы <i>Staphylococcus</i> MRSA, <i>Chlamydia</i> spp., <i>C.trachomatis</i> , <i>M.pneumoniae</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> | 0,25–1,0 (16,0) (0,03–64,0) | В монотерапии** |
| Умеренно чувствительные: <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Providentia</i> spp., <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>S.epidermidis</i> MRSE, некоторые штаммы <i>Staphylococcus</i> MRSA, <i>Mycobacterium avium</i> , <i>M.chelonae</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , некоторые штаммы <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . | 0,5–16,0 (0,5–≥ 64,0) | В моно- или комбинированной терапии |
| Как правило устойчивые: <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA, S. oxacillin-resistant, <i>Enterococcus</i> spp., <i>E.faecalis</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., <i>P.aeruginosa</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> . | 2,0–8,0–≥ 16,0 (0,06–≥ 64,0) | В комбинированной терапии |

Примечание: * – в пределах каждой группы могут выделяться как высокочувствительные, так и высокоустойчивые штаммы.
** – при туберкулезе в комбинированной терапии.

Очень высокие концентрации левофлоксацина достигались у больных с тяжелой формой пневмонии (24 пациента в отделении интенсивной терапии с искусственной вентиляцией легких). Левофлоксацин вводили внутривенно в дозе 500 мг один или два раза в сутки. После применения 500 мг один раз в сутки средние пиковые концентрации в крови составляли 12,6 (12,0-14,1), в бронхоальвеолярной жидкости — 11,9 (8,7–13,7) мг/л. После введения 500 мг два раза в сутки эти показатели возрастали до 19,7 (19,0-22,0) и 17,7(16,2-23,5) мг/л соответственно. Авторы отмечают очень высокие показатели индексов $C_{max}/MПК$ (>10) и $AUC/MПК$ (>125) в сыворотке и в бронхоальвеолярной жидкости, определяющие эффективность препарата в отношении возможных возбудителей инфекций дыхательных путей с $MПК \leq 1$ мг/л и > 1 мг/л [45].

В опытах на кроликах на модели эмпиемы плевры (инфекция вызвана *E. coli*) показано хорошее проникновение левофлоксацина в плевральную жидкость. В параллельном опыте по степени проникновения отмечено преимущество моксифлоксацина при применении в равных дозах (25 мг/кг внутривенно) [46].

Показано хорошее проникновение левофлоксацина в инфицированные ткани диабетической язвы стопы. Препарат применяли 10 больным перорально в суточной дозе 500 мг в один прием в течение $10 \pm 3,8$ дней. После окончания курса лечения концентрация левофлоксацина в некротических тканях раны колебалась от 2,33 до 23,23 мг/кг. $MПК$ бактерий (17 штаммов), выделенных из ран, составляли ≤ 2 мг/л. Концентрации левофлоксацина в сыворотке крови колебались от 0,12 до 6,41 мг/л. Для каждого больного индекс концентраций ткань/сыворотка был >1 . Авторы указывают, что в сочетании с необходимой хирургической обработкой раны левофлоксацин является эффективным препаратом при лечении инфицированных ран диабетической стопы, обеспечивая при пероральном применении терапевтический уровень в очаге инфекции [47].

Оценить значение концентраций левофлоксацина в организме для химиотерапевтического эффекта при инфекционном процессе можно только при сопоставлении концентраций с антибактериальной активностью левофлоксацина *in vitro* (величины $MПК$) в отношении чувствительных к нему бактерий. В серии публикаций представлены и проанализированы данные по чувствительности к левофлоксацину аэробных условно-патогенных бактерий и облигатных патогенов [3-5, 9-13, 18, 44, 48-53]. В табл. 7 на основании этих данных выделены группы бактерий по степени чувствительности к левофлоксацину, исходя из диапазона величин $MПК_{90}$ и диапазона возможных $MПК$. При сопоставлении концентраций препарата в крови, органах и тканях с его активностью *in vitro* видно, что концентрации левофлоксацина при терапевтических дозах, в том числе и при применении один раз в сутки, превышают значения $MПК$ ($MПК_{90}$) в отношении большинства аэробных бактерий, возбудителей гнойной инфекции и облигатных патогенов, возбудителей

моноинфекций. Наиболее высокой чувствительностью к препарату характеризуются микроорганизмы, перечисленные в I и II группах (см. табл. 7); соответственно и прогноз эффективности препарата в зависимости от чувствительности возбудителя. Одновременно возможно выделение штаммов с высокой устойчивостью ($MПК$ до 64-128 мг/л) в группах, чувствительных к препарату микроорганизмов, что следует иметь в виду при неэффективности эмпирической терапии.

Анализ фармакокинетических свойств и фармакодинамики фторхинолонов показывает, что для проявления химиотерапевтического эффекта основное значение имеют два показателя: уровень максимальной концентрации и величина площади под фармакокинетической кривой (AUC — area under curve), которые должны существенно превышать значения $MПК$ для возбудителя инфекции. Конечно, наиболее оптимально превышение минимальных бактерицидных концентраций ($МБК$), определение которых для клинических штаммов в условиях стационара далеко не всегда возможно. Оценка величин индексов $C_{max}/MПК$ и $AUC/MПК$ позволяет прогнозировать эффективность химиотерапевтического действия фторхинолонов. При этом, как показывают последние исследования, оба индекса в равной степени необходимы для прогнозирования и оценки фармакодинамического эффекта. Индекс $AUC/MПК$ определяет в целом химиотерапевтический эффект при данном возбудителе, значение индекса $C_{max}/MПК$ связывают в первую очередь со способностью препарата предотвращать возникновение резистентных штаммов. Высокие максимальные концентрации и соответственно высокие значения индекса $C_{max}/MПК$ (не ниже 10) обеспечивают высокий бактерицидный эффект. Концентрации в крови и органах и величина AUC — достаточно постоянные показатели для каждого препарата при определенной терапевтической дозе. Вместе с тем, величины указанных выше индексов будут варьировать в зависимости от чувствительности штамма—возбудителя инфекции. Эти закономерности полностью относятся к фармакокинетике и фармакодинамике левофлоксацина и детально изучались в серии работ [16, 27, 54-61].

Исследовали эффективность и факторы, влияющие на клинический эффект и элиминацию возбудителя, у пациентов с тяжелой формой пневмонии при применении левофлоксацина в суточной дозе 750 мг в одно введение по схеме ступенчатой терапии внутривенно/перорально (220 пациентов). Эффективность левофлоксацина в контрольной группе (218 пациентов) сравнивали с эффективностью стандартной схемы — имипенем/циластатин по 500—1000 мг внутривенно каждые 6—8 часов, затем перорально ципрофлоксацин по 750 мг каждые 12 часов. Курс лечения 7-15 дней, при этом минимальный курс левофлоксацина внутривенно 1 сутки, имипенем/циластатин — 3 суток. Клинический и микробиологический эффекты при терапии левофлоксацином были сопоставимы с результатами в контрольной группе. Обосновывается,

исходя из величины C_{max} и концентрационно–зависимого бактерицидного эффекта, целесообразность применения суточной дозы левофлоксацина 750 мг в случаях тяжелой формы пневмонии и [54, 56]. Фармакодинамический и демографический анализ эффективности проведен у 47 пациентов. Высокочувствительными к препарату были *Enterobacter* spp., *H. influenzae*, *Klebsiella* spp., *S. marcescens*, *Acinetobacter* spp., *S. maltophilia* (диапазон МПК < 0,015–0,5 мг/л), чувствительными — *S. pneumoniae* (МПК 1,0 мг/л); штаммы *P. aeruginosa* и *S. aureus* были менее чувствительны (МПК 0,125–≥ 16,0 мг/л). Показана зависимость эрадикации возбудителя от величины АУС/МПК и от возраста пациентов. Наиболее оптимальные результаты отмечены у пациентов моложе 67 лет при условии величины индекса от 87 и выше (87–109,8) [54]. При инфекции, вызванной синегнойной палочкой, эффективность монотерапии левофлоксацином в суточной дозе 750 мг может быть недостаточной, и авторы применяли у этой группы пациентов комбинированную терапию левофлоксацином в сочетании с цефтазидимом или пиперациллином/тазобактамом. Это положение авторы обосновывают также данными популяционного фармакодинамического анализа и расчета вероятности эффекта (в %) по критерию «10000–subject Monte Carlo simulation» [54, 62, 63]. Как видно из табл. 8, вероятность клинического эффекта в случае инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*,

при АУС/МПК в интервале 87–110 находится только на уровне 70 %, в то время как при инфекции *Enterobacter cloacae* составляет более 90 % [54].

Применение высоких суточных доз левофлоксацина (750 мг) короткими курсами при лечении пневмонии рассматривают как новый подход к схемам лечения левофлоксацином («новая парадигма терапии»). На основании клинических данных, фармакодинамического анализа (АУС/МПК и C_{max} /МПК) и данных по элиминации возбудителя показана рав-

Таблица 8.

Вероятность клинического эффекта (в %) при применении левофлоксацина внутривенно в дозе 750 мг в зависимости от возбудителя и уровня АУС/МПК ([54] в модификации)

| АУС/МПК ^{х)} | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Enterobacter cloacae</i> |
|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 87,0 | 72,4 % | 91,7 % |
| 98,5 | 70,5 % | 89,4 % |
| 108,8 | 68,7 % | 89,1 % |

Примечание. ^{х)} Данные [54] при изучении фармакокинетики левофлоксацина у 58 пациентов с пневмонией, препарат вводили внутривенно в однократной суточной дозе 750 мг; анализ результатов при изучении концентрации препарата в 327 образцах плазмы больных. Расчет вероятности эффекта проводили с использованием критерия «10000–subject Monte Carlo simulation» [62, 63] по отношению к штаммам *Pseudomonas aeruginosa* (404) и *Enterobacter cloacae* (257).

Таблица 9.

Сравнительная эффективность левофлоксацина (ЛЕФЛ) у больных пневмонией при применении препарата по двум схемам. Результаты микробиологических исследований на 7–14 дни после окончания лечения – частота эрадикации возбудителя к числу выделенных патогенов (%) ([55], в модификации)

| Возбудители инфекции | ЛЕФЛ, 750 мг×5 дней, (103 пациентов в группе) | ЛЕФЛ, 500 мг×10 дней (92 пациентов в группе) |
|---|--|---|
| Аэробные бактерии | | |
| грамположительные | 24/29 (82,8 %) | 29/34 (85,3 %) |
| грамотрицательные | 51/53 (96,2 %) | 39/43 (90,7 %) |
| Типичные бактерии: | | |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 12/13 (92,3 %) | 12/14 (86,7 %) |
| <i>Haemophilus parainfluenzae</i> | 12/12 (100,0 %) | 9/10 (90,0 %) |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 19/22 (86,4 %) | 17/20 (85,0 %) |
| Атипичные бактерии | | |
| <i>Chlamydia pneumoniae</i> | 20/22 (90,9 %) | 16/16 (100,0 %) |
| <i>Legionella pneumophila</i> | 11/11 (100,0 %) | 3/3 (100,0 %) |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 41/43 (95,3 %) | 34/36 (94 %) |
| Эрадикация по отношению к общему числу выделенных штаммов | 136/147 (92,5 %) | 118/129 (91,5 %) |
| Эрадикация по отношению к числу больных, у которых были выделены патогены | 96/103 (93,2 %) | 85/92 (92,4 %) |

Примечание: более 99% выделенных патогенов были высоко чувствительны к левофлоксацину; идентификация типичных патогенов проводилась с использованием культурального метода, атипичных – с использованием серологических тестов.

ная эффективность левофлоксацина в суточной дозе 750 мг (внутривенно или перорально) при применении в течение 5 суток (256 пациентов) и левофлоксацина в суточной дозе 500 мг (внутривенно или перорально) при применении в течение 10 суток (272 пациента) [55]. Положительные результаты по данным микробиологических исследований после окончания курса лечения сопоставимы для той и другой групп больных (табл. 9). Клиническая эффективность лечения и переносимость препарата также были сопоставимы при изученных дозах и курсах лечения.

В сравнительном клиническом исследовании у двух возрастных групп (моложе и старше 65 лет) изучали фармакокинетику и фармакодинамику левофлоксацина при применении препарата в дозах 500, 750 и 1000 мг один раз в сутки у госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией. Оценивали концентрацию свободного (несвязанного с белками плазмы) левофлоксацина в плазме крови и в бронхо-

альвеолярной жидкости; расчет индексов AUC/МПК и C_{max} /МПК проводили в отношении *Streptococcus pneumoniae*. Показаны особенности фармакокинетики препарата в зависимости от возраста и величины лечебной дозы. Объем распределения левофлоксацина был одинаков у той и другой групп пациентов; клиренс — ниже у пожилых пациентов; $T_{1/2}$ — длиннее у пожилых ($9,8 \pm 2,5$ ч), чем у более молодых ($7,4 \pm 2,5$ ч); значения AUC и AUC₀₋₂₄/МПК для стрептококка были выше у пациентов старше 65 лет. Левофлоксацин в суточной дозе 750 мг в один прием по всем рассчитанным фармакокинетическим показателям (включая и прогнозирование с использованием критерия по методу «Monte Carlo simulation») обеспечивает необходимый терапевтический уровень препарата в крови и в бронхоальвеолярном секрете. Авторы полагают, что при лечении пневмонии доза 750 мг у пожилых пациентов также более предпочтительна, чем суточная доза 500 мг [16]. Расширение применения суточной дозы 750 мг позво-

Таблица 10.

Бактерицидная активность сыворотки крови волонтеров после приема левофлоксацина перорально в дозе 500 мг [58]

| Микроорганизм, (число штаммов) | МБК, мг/л | Бактерицидный титр сыворотки через: | | |
|-----------------------------------|--|-------------------------------------|----------|---------|
| | | 1 час | 12 часов | 24 часа |
| <i>Escherichia coli</i> (10) | 0,008 (10 штаммов) | 1:108 | 1:29 | 1:7 |
| <i>Citrobacter freundii</i> (10) | 0,008 (8 штаммов) 0,016 (1 штамм) 0,063 (1 штамм) | 1:74 | 1:25 | 1:7 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (10) | 0,016 (5 штаммов) 0,25 (4 штамма) 1,0 (1 штамм) | 1:25 | 1:7 | |
| <i>Serratia marcescens</i> (10) | 0,063 (10 штаммов) | 1:28 | 1:9 | |
| <i>Enterobacter cloacae</i> (10) | 0,008 (5 штаммов) 0,5 (3 штамма) 1,0 (4 штамма) 4,0 (1 штамм) | 1:24 | 1:10 | |

Примечание: Минимальные бактерицидные концентрации (МБК) для референс штаммов: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – 2,0 мг/л, *Escherichia coli* ATCC 25922 – 0,01 мг/л. Фармакокинетические параметры (средние для 12 добровольцев): C_{max} – $6,36 \pm 0,57$ мг/л; AUC/МПК – $43,6 \pm 6,23$; $T_{1/2}$ – $4,23 \pm 0,86$ ч.

Таблица 11.

Результаты изучения степени проникновения левофлоксацина через гематоэнцефалический барьер

| Дизайн исследования [источник] | Доза, в/в, мг/кг | C_{max} , мг/л (кровь) | C_{max} , мг/л (ликвор) | AUC, мг×ч/л (кровь) | AUC, мг×ч/л (ликвор) | $T_{1/2}$, ч (ликвор) |
|---|--|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| Модель пневмококкового менингита кроликов [69] | 7 | 3,9 | 3,8 | AUC ₀₋₈ 29,7 ± 6,3 | AUC ₀₋₈ 15,8 ± 6,6 | 3,1 ± 0,7 |
| | 10,5 | 6,4 | 5,7 | 49,1 ± 19,1 | 37,8 ± 7,8 | 5,6 ± 0,6 |
| | 14,0 | 10,3 | 8,6 | 67,6 ± 8,9 | 46,4 ± 20,9 | 6,0 ± 3,4 |
| Изучение концентрации у пациентов с наружной вентрикулостомой, интактные оболочки 10 пациентов [72] | 500 мг × 12 ч (в связи с экстрацеребральной инфекцией) | 10,45 | 4,06 | AUC ₀₋₁₂ 47,69 | AUC ₀₋₁₂ 33,42 | 7,02 ± 1,57 |

лит сократить длительность терапии и снизить риск и частоту возникновения резистентных штаммов [17].

В связи с изучением фармакокинетики левофлоксацина значительный интерес представляет оценка бактерицидных свойств сыворотки при применении различных суточных доз препарата. В наблюдениях на добровольцах (12 человек) после применения левофлоксацина 500 мг перорально однократно изучали бактерицидные свойства сыворотки крови в отношении 10 клинических штаммов у пяти различных представителей Enterobacteriaceae. Определяли минимальные бактерицидные концентрации левофлоксацина и бактерицидную активность сыворотки (титр) в отношении штаммов *Escherichia coli* и *Citrobacter freundii* через 1, 12 и 24 часа после приема препарата; в отношении штаммов *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* и *Enterobacter cloacae* через 1 и 12 часов. Оценивали параметры C_{max} /МПК и AUC/МПК и их соотношение с данными по бактерицидной активности сыворотки. Величины титров представлены в табл. 10. Установлены высокие бактерицидные титры сыворотки и корреляция между бактерицидной активностью сыворотки и величинами параметров фармакодинамики при дозе 500 мг [58]. В наблюдениях на добровольцах левофлоксацин в суточной дозе 750 мг в течение двух дней обеспечивал высокую бактерицидную активность крови в отношении клинического лекарственно-чувствительного штамма *M. tuberculosis*, уступая по степени бактерицидной активности рифампицину (600 мг/сутки), при равной активности с изониазидом (300 мг/сутки) и превышая по активности моксифлоксацин (400 мг/сутки). В параллельных наблюдениях пипразинамид и этамбутол оказывали только бактериостатическое действие, а после приема амоксициллина/клавуланата кровь не проявляла противотуберкулезной активности. Все препараты применяли в дозах, рекомендованных для комбинированной терапии туберкулеза. В случае комбинированного действия сочетание левофлоксацина с пипразинамидом обеспечивало наиболее высокую бактерицидную активность сыворотки крови в отношении 12 лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза, превышая активность сочетания рифампицин+изониазид+пипразинамид [64].

ПРОНИКНОВЕНИЕ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА ЧЕРЕЗ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР

Для оценки высокоактивного антибактериального препарата с широким спектром действия значительный интерес представляет его способность проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Для фторхинолонов этот вопрос заслуживает обсуждения в специальной публикации, так как к настоящему времени получены убедительные данные по клинической эффективности пефлоксацина, ципрофлоксацина и trovафлоксацина при гнойных бактериальных менингитах (в моно- или комбинированной терапии), в том числе у детей [6, 7, 10]. Особый интерес представляют данные по проникновению в ликвор офлоксацина,

в том числе при отсутствии воспаления в оболочках мозга [10, 65-68]. Количество исследований по изучению проникновения левофлоксацина через ГЭБ невелико. Вместе с тем, уже получены данные, которые обосновывают дальнейшее подробное изучение этого вопроса [34, 69-72]. В опытах на кроликах на модели менингита, вызванного *Streptococcus pneumoniae*, показано хорошее проникновение левофлоксацина в ликвор. Кроликам вводили внутривенно левофлоксацин в дозах 7, 10 и 14 мг/кг, адекватных терапевтическим дозам для человека. Концентрацию в крови и в эти же сроки в ликворе изучали в течение первого часа после введения через каждые 15 минут, а затем до восьми часов через каждые 2 часа. Показано повышение C_{max} и увеличение площади под фармакокинетической кривой для крови и ликвора при повышении дозы от 7 до 14 мг/кг (табл. 11). Степень проникновения препарата в ликвор составила 53% при дозе 7 мг/кг, 76% — при дозе 10,5 мг/кг и 68% — при дозе 14 мг/кг. Авторы отмечают, что полученные результаты согласуются с данными по проникновению других фторхинолонов через ГЭБ [69]. Первые наблюдения по оценке проникновения левофлоксацина в ликвор у человека касались определения концентрации после приема препарата в дозе 200 мг перорально, в ликворе определялось до 20% от концентрации в крови [34]. Значительный интерес представляют наблюдения, в которых проникновение препарата через ГЭБ изучали у 10 пациентов с наружной ветрикулостомой (по поводу гидроцефалии и субарахноидальной окклюзии). Больные получали левофлоксацин по 500 мг внутривенно два раза в сутки в связи с экстрацеребральной инфекцией. Воспалительный процесс в оболочках мозга отсутствовал. Концентрацию в крови и в ликворе изучали в динамике на протяжении 11 часов после внутривенного введения препарата утром. Показатель AUC для крови и ликвора определяли в интервале 12 часов. Полученные результаты представлены в табл. 11. Показано, что $T_{1/2}$ левофлоксацина из ликвора был несколько длиннее, чем в крови, показатель проникновения левофлоксацина через ГЭБ нарастал от момента введения до окончания интервала между дозами (от 0,33 до 0,99). Оценивают хорошее проникновение левофлоксацина через ГЭБ при интактных мозговых оболочках, подчеркивают, что в соответствии с физико-химическими свойствами (малая величина молекулы, умеренная липофильность, низкий процент связывания с белками плазмы) препарат проникает в ликвор путем пассивной диффузии. Концентрации в ликворе превышали значения МПК₅₀ и МПК₉₀ для ряда возможных возбудителей бактериальных менингитов. Авторы подчеркивают высокие концентрации ряда фторхинолонов в ликворе при неизмененных мозговых оболочках, считают важным изучение проникновения фторхинолонов через ГЭБ именно при отсутствии воспалительного процесса в оболочках и обсуждают различия в процессе проникновения в ликвор фторхинолонов и бета-лакта-

мов. Бета-лактамы являются препаратами выбора при лечении бактериальных менингитов, однако, в процессе лечения по мере выздоровления (в том числе при одновременном применении глюкокортикоидов) и нормализации состояния оболочек мозга проникновение препаратов этой группы через ГЭБ снижается. Достаточно хорошее проникновение левофлоксацина и некоторых других фторхинолонов в ликвор при интактных оболочках показывает, что в клинике в процессе терапии менингитов степень проникновения фторхинолонов в ликвор может практически не изменяться. Отмеченное свойство фторхинолонов может быть важным фактором для применения этих препаратов в комбинированной терапии менингитов при лечении осложненных форм заболевания. Необходи-

мо изучение степени проникновения фторхинолонов и левофлоксацина, в частности, через ГЭБ при совместном применении с глюкокортикоидами [72].

ВОПРОСЫ ДОЗИРОВАНИЯ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА

В инструкции по применению левофлоксацина (Таваник®) в соответствии с показаниями к применению, препарат рекомендуется взрослым больным в суточных дозах: при синусите — 500 мг 1 раз в сутки; при тяжелом обострении хронического бронхита — 500 мг 1 раз в сутки, при внебольничной пневмонии — 500 мг 1 или 2 раза в день; при инфекции мочевыводящих путей (без учета тяжести процесса) — 250 мг 1 раз в день; при инфекциях кожи и мягких тканей — 500 мг 1 или 2 раза в день. Длительность курса лечения 7-10-14 дней.

Таблица 12.

Рекомендуемые дозы левофлоксацина для лечения бактериальных инфекций дыхательных путей, кожи и мягких тканей и мочевыводящих путей (рекомендации специалистов Канады [18])

| Заболевание, инфекции | Разовая доза | Частота введения/приемов | Длительность курса |
|--|--------------------------------|----------------------------------|--|
| Острый бронхит и обострение хронического бронхита | 500 мг 750 мг | каждые 24 часа | 7 дней 5 дней |
| Внебольничная пневмония | 750 мг ^{*)} 500 мг | каждые 24 часа каждые 24 часа | 5 дней 7-14 дней (10-14 – тяжелая форма) |
| Синусит | 500 мг | каждые 24 часа | 10-14 дней |
| Госпитальная пневмония | 750 мг | каждые 24 часа | 7-14 дней |
| Неосложненные инфекции кожи и мягких тканей (ИКМТ) | 500 мг | каждые 24 часа | 7-10 дней |
| Осложненные ИКМТ | 750 мг | каждые 24 часа | 7-14 дней |
| Неосложненные инфекции мочевыводящих путей (ИМП) | 250 мг | каждые 24 часа | 3 дня |
| Осложненные ИМП | 250 мг | каждые 24 часа | 10 дней |
| Острый пиелонефрит | 250 мг | каждые 24 часа | 10 дней |
| Хронический бактериальный простатит | 500 мг | каждые 24 часа | 28 дней |

Примечание: *)Режим рекомендован при условии, что инфекция вызвана чувствительными к левофлоксацину бактериями

Таблица 13.

Концентрация (мкг/мл) левофлоксацина (ЛЕФЛ) в моче при недостаточности функции почек в зависимости от дозы препарата (перорально) и клиренса креатинина [18]

| Параметры | Результаты наблюдений | | | | | |
|---|-----------------------|---------------------|----------------|---------------------|----------------|---------------------|
| | 50 – <80 | | 20 – 49 | | <20 | |
| Клиренс креатинина, мл/мин | | | | | | |
| Препарат, схема лечения, доза в сутки | ЛЕФЛ 500 мг | ЛЕФЛ 250 мг×12 ч | ЛЕФЛ 500 мг | ЛЕФЛ 250 мг×24 ч | ЛЕФЛ 500 мг | ЛЕФЛ 250 мг×48 ч |
| Число пациентов | 3 | 12 | 8 | 8 | 6 | 6 |
| ЛЕФЛ, мг/мл. При отборе проб мочи через: | | | | | | |
| 0 – 6 ч | 185 ± 61,7 | 161 | 96,1 ± 48,1 | 103 | 66,5 ± 27,3 | 54 |
| 6 – 12 ч | 91,6 ± 24,4 | 61 | 75,2 ± 22,1 | 76 | 39,0 ± 23,1 | 29 |
| 12 – 24 ч | 156 ± 18,3 | 40 | 58,6 ± 31,1 | 58 | 29,5 ± 20,7 | 24 |
| 24 – 36 ч | 49,7 ± 16,2 | – | 44,1 ± 0,6 | – | <25 | 23 |
| 36 – 48 ч | <25 | – | <25 | – | <25 | 16 |

На основании изучения фармакокинетики левофлоксацина при нормальной функции почек, с учетом хорошей переносимости препарата, разработана схема дозирования левофлоксацина при неосложненных и осложненных инфекциях верхних и нижних дыхательных путей, кожи, мягких тканей, и мочевыводящих путей, в том числе и с применением суточной дозы 750 мг внутривенно или перорально (табл. 12). Следует обратить внимание на то, что при этой схеме исключается применение препарата два раза в сутки, даже при низкой суточной дозе. Курс лечения от 3-х до 14 дней **в зависимости от тяжести инфекции**, длительный курс (28 дней) предусмотрен только для лечения хронического бактериального простатита [18].

Левофлоксацин выводится главным образом почками, в основном клубочковой фильтрацией и частично путем канальцевой секреции. За 48 часов после принятой дозы с мочой выводится до 87% неизменного левофлоксацина. Около 4% выводится за 72 часа с фекалиями. В пределах 5% от принятой дозы в моче обнаруживаются метаболиты левофлоксацина — деметилированный левофлоксацин и N-оксид левофлоксацина. В связи с почечной экскрецией фармакокинетика левофлоксацина существенно изменяется при нарушении выделительной функции почек. Динамика изменений фармакокинетических параметров в зависимости от степени нарушения функции почек наиболее показательна при оценке по величине $T_{1/2}$ [18]. При **клиренсе креатинина** в диапазоне

50 — <80 мл/мин C_{max} — 7,5 ± 1,8 мг/л, $T_{1/2}$ — 9,1 ± 0,9 ч; в диапазоне **20-49 мл/мин C_{max} — 7,1 ± 3,1 мг/л, $T_{1/2}$ — 27 ± 10 ч;** при клиренсе креатинина <20 мл/мин **C_{max} — 8,2 ± 2,6 мг/л, $T_{1/2}$ — до 35 ч.** Гемодиализ и постоянный амбулаторный перитонеальный диализ не удаляют препарат.

В других наблюдениях при клиренсе креатинина менее 20 мл/мин $T_{1/2}$ повышался до 76 ± 46 ч, а у пациентов с анурией, находившихся на гемодиализе, был на уровне 51 ± 21 ч [73, 74]. На основании изучения фармакокинетики левофлоксацина у больных с почечной недостаточностью, находившихся на постоянной венозной гемофильтрации (4 пациента) и веновенозной гемодиализации (6 больных) установлено, что дозы левофлоксацина 250 мг каждые 24 часа или 500 мг каждые 48 часов достаточны, чтобы поддерживать эффективную терапевтическую концентрацию в плазме [59]. Возможные концентрации левофлоксацина в моче при нарушении функции почек с учетом коррекции доз представлены в табл. 13. Определяемые концентрации значительно превышают и МПК, и бактерицидные концентрации для возможных возбудителей инфекций мочевыводящих путей.

В табл. 14 приводится рекомендуемая клиницистами Канады схема дозирования препарата при инфекциях дыхательных путей, кожи и мягких тканей и мочевыводящих путей для больных с недостаточностью функции почек с включением в схему суточной дозы 750 мг. Необходимо отметить, что в инструк-

Таблица 14.

Рекомендуемые дозы левофлоксацина при недостаточности функции почек [18]

| Заболевание, инфекции | Клиренс креатинина, мл/мин | Начальная доза, мг | Поддерживающая доза, мг, интервал |
|--|---|---|-----------------------------------|
| Острые инфекции дыхательных путей, внебольничная пневмония, неосложненные инфекции кожи и мягких тканей, хронический бактериальный простатит | 50–<80 | Коррекции доз не требуется ^{xx)} | |
| | 20–49 | 500 | 250×24 часа |
| | 10–19 | 500 | 250×48 часов |
| | гемодиализ ДАПД ^{x)} | 500 | 250×48 часов |
| | | 500 | 250×48 часов |
| Неосложненные инфекции мочевыводящих путей | Коррекции доз не требуется ^{xx)} | | |
| Осложненные инфекции мочевыводящих путей, острый пиелонефрит | 20 | Коррекции доз не требуется ^{xx)} | |
| | 10–19 | 250 | 250×48 часов |
| Госпитальная пневмония, острый и обострение хронического бронхита, осложненные инфекции кожи и мягких тканей | 50–<80 | Коррекции доз не требуется | |
| | 20–49 | 750 | 750×48 часов |
| | 10–19 | 750 | 500×48 часов |
| | гемодиализ ДАПД ^{x)} | 500 | 500×48 часов |
| | | 500 | 500×48 часов |

Примечание: ^{x)} ДАПД — длительный амбулаторный перитонеальный диализ. ^{xx)} Дозы см. табл. 11.

ции по применению левофлоксацина, утвержденной Фармакологическим Комитетом МЗ РФ, поддерживающие дозы препарата при клиренсе креатинина 20–50 мг/мин снижаются до 125 мг, если начальная доза — 250 мг, и до 250 мг, если начальная доза — 500 мг. При клиренсе креатинина 10–19 мл/мин поддерживающая доза во всех случаях — 125 мг, эта же поддерживающая доза предусмотрена для клиренса креатинина менее 10 мл/мин, для случаев гемодиализа и для длительного амбулаторного перитонеального диализа. При этом, если начальная доза 500 мг назначается два раза в сутки (т.е. каждые 12 часов), то в определенном режиме рекомендуется применение поддерживающих доз 250 или 125 мг также каждые 12 часов.

По-видимому, обосновано продолжение дальнейшего изучения фармакокинетики левофлоксацина у пациентов с недостаточностью функции почек для обоснования наиболее оптимальных дозировок с учетом концентрации препарата в крови на протяжении суток и с оценкой возможного кумулятивного эффекта и нежелательных реакций при повторном введении поддерживающих доз. В этих случаях представляется также крайне важным соотношение доз с характером и тяжестью инфекции, что отражено авторами в табл. 12 и 14. К настоящему времени имеется достаточно оснований для расширения показаний к применению левофлоксацина [12, 13, 49, 75, 76], и при применении препарата при тяжелых генерализованных инфекционных процессах значение таких рекомендаций очевидно.

Учитывая необходимость применения фторхинолонов совместно с метронидазолом в случаях смешанной аэробно-анаэробной инфекции, изучали особенности фармакокинетики левофлоксацина в дозе 750 мг внутривенно в сочетании с различными дозами и режимами введения внутривенно метронидазола (1500 мг 1 раз в сутки, 500 мг три раза в сутки, 1000 мг 1 раз в сутки). Показана хорошая переносимость изученных сочетаний препаратов, наиболее оптимальные фармакокинетические параметры отмечены при введении один раз в сутки внутривенно левофлоксацина 750 мг и метронидазола 1500 мг. Обосновывается необходимость дальнейшего изучения фармакокинетики комбинированного применения указанных доз [77].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Левофлоксацин в сравнении с другими фторхинолонами обеспечивает наиболее высокие показатели C_{max} и AUC. Учитывая значение этих характеристик для химиотерапевтического эффекта (включая индексы C_{max}/MPK и AUC/MPK), стабильность молекулы к трансформации в организме, высокие тканевые и внутриклеточные концентрации, наличие лекарственных форм для перорального и парентерального применения, сопоставимость фармакокинетических характеристик при введении препарата внутрь и внутривенно, левофлоксацин может быть применен при любой локализации инфекционного процесса. Дан-

ные по проникновению через ГЭБ говорят о целесообразности оценки эффективности препарата и при гнойных бактериальных менингитах в моно — или комбинированной терапии. Как отмечалось в предыдущей публикации [12] в соответствии со спектром активности и уже имеющимися клиническими данными по переносимости препарата имеются все основания для расширения показаний к его применению. Обобщенные клинические данные, полученные к настоящему времени, показывают, что левофлоксацин был уже успешно применен для лечения бактериемии и сепсиса, остеомиелита, интраабдоминальной инфекции, безусловным показанием является применение при сальмонеллезах и брюшном тифе, при сальмонеллезном бактерионосительстве, рассматривается возможность включения левофлоксацина в комплексную терапию инфекций, связанных с *Helicobacter pylori* [75]. Получены серьезные экспериментальные и клинические данные, обосновывающие целесообразность применения левофлоксацина в комплексной терапии лекарственно-устойчивого туберкулеза [76]. Не менее важным является возможность применения препарата для лечения и профилактики особо опасных инфекций — сибирской язвы, чумы, туляремии [49]. В последнем случае для лечения и профилактики сибирской язвы предлагаются длительные (до 60 дней) курсы применения левофлоксацина в суточной дозе 500 мг (в один прием) по схеме ступенчатой терапии. Длительное применение необходимо и при комбинированной терапии туберкулеза. Очевидно, что большой интерес представят данные по фармакокинетике, полученные в конце этих длительных курсов, одновременно при условии оценки и функции почек. В опубликованных обзорных работах по левофлоксацину подчеркивается хорошая переносимость препарата, что не исключает возможность характерных для фторхинолонов нежелательных реакций. Эти побочные эффекты необходимо обязательно регистрировать, особенно при новых показаниях к применению и новых (оптимизированных или измененных) схемах дозирования.

Данные по фармакокинетике, представленные в настоящей публикации, достаточно убедительно показывают возможность назначения препарата в суточной дозе в один прием, это относится и к дозе 750 мг. При расширении показаний к применению при тяжелых генерализованных процессах предстоит решить вопрос о целесообразности применения дозы 500 мг два раза в сутки и о необходимости/целесообразности повышения суточной дозы более 1000 мг (включая оценку переносимости).

Также как и другие фторхинолоны, левофлоксацин пока ограничен к применению у детей, фармакокинетика препарата у детей и подростков не изучалась. Несмотря на ограничения и противопоказания, к настоящему времени накоплен уже обширный материал по итогам применения фторхинолонов в педиатрии у детей различных возрастных групп и у подростков по жизненным показаниям и при

неэффективности стандартных методов антибактериальной терапии [78]. Установлена эффективность ципрофлоксацина, офлоксацина, пефлоксацина, норфлоксацина и trovафлоксацина у детей при различных формах тяжелых бактериальных инфекций. При этом отмечена эффективность и лучшая переносимость офлоксацина с точки зрения риска возникновения хинолоновых артропатий (основная причина ограничений к применению). Исходя из данных по офлоксацину, левофлоксацин был применен у 35 детей и подростков в возрасте от 11 до 16 лет с хроническими заболеваниями легких по поводу обострения бронхолегочного процесса при условии чувствительности к левофлоксацину возбудителей инфекции. Суточная доза левофлоксацина составляла 250 или 500 мг в один прием, курс 7-10 дней.

Отмечена высокая эффективность препарата и хорошая переносимость; артропатии не наблюдались [79]. Важным этапом изучения возможности применения левофлоксацина в педиатрической практике является оценка фармакокинетических параметров у детей различных возрастных групп. По существу это касается и других фторхинолонов, эффективность которых показана при тяжелых инфекциях у детей.

Одной из непростых задач при дальнейшем изучении клинической ценности фторхинолонов при бактериальных инфекциях является определение выбора препарата для больных с недостаточностью функции почек при той или другой инфекционной патологии. Это касается и определения показаний к назначению левофлоксацина у данной группы больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Haykava I., Atarachi S., Yokohama S. et al. Synthesis and antibacterial activities of optically active ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29: 163-164.
2. Uno T., Fujimoto T., Sato K. et al. In vitro activity of DL-3355, an optically active ofloxacin. *Ibid*; 1988; 1336-1340.
3. Fu K.P., Lafredo S.C., Foleno B. et al. In vitro and in vivo antibacterial activities of levofloxacin (l-ofloxacin), an optically active ofloxacin. *Ibid*; 1992; 36: 860-866.
4. Tavanic (levofloxacin) iv/oral. Scientific Product Monograph. Hoechst-Merion-Russel, 1999.
5. Mollering B.C. Overview of newer quinolones. *Levofloxacin. Symp 19th Intern Congr Chemother, Montreal, 1995*; 45-58.
6. The Quinolones, 2nd ed., Eds. Andriole V.T., Academic Press, London, New York, 1998; 441.
7. Quinolone Antimicrobial Agents. 2nd ed., Eds. Hooper D.C., Wolfson J.S. Washington, 1993; 549.
8. Paladino J.A. Is more than one quinolone needed in clinical practice? *Ann Pharmacother* 2001; 35: 1085-1095.
9. Zhanel G.C., Ennis K., Vercagne L. et al. A critical review of quinolones. Focus on respiratory tract infectious. *Drugs* 2002; 62: 1: 13-59.
10. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике. «Логата», М.: 1998; 351.
11. Яковлев В.П., Литовченко К.В. Левофлоксацин – новый антимикробный препарат группы фторхинолонов. *Инфекции и антимикробная терапия* 2001; 3: 5: 132-140.
12. Падейская Е.Н. Левофлоксацин (Таваник®) – новый препарат группы фторхинолонов для лечения инфекционных заболеваний с широкими показаниями к применению. *Качественная клиническая практика* 2002; 2: 80-94.
13. Яковлев В.П., Яковлев С.В. Изучение левофлоксацина в России. *Инфекции и антимикробная терапия* 2004; 6: 4: 108-114.
14. Hepburn M.J., Dooley D.P., Skidmore P.J. et al. Comparison of short-course (5 days) and standard (10 days) treatment for uncomplicated cellulitis. *Arch Intern Med* 2004; 164: 15: 1669-1674.
15. File T.M., Milkovich G., Tenenbergh A.M. et al. Clinical implications of 750 mg, 5-days levofloxacin for the treatment of community-acquired pneumonia. *Curr Med Res Opin* 2004; 20: 9: 1473-1481.
16. Norredin A.M., Marras T.K., Sanders K. et al. Pharmacodynamic target attainment analysis against *Streptococcus pneumoniae* using levofloxacin 500 mg, 750 mg, and 1000 mg once daily in plasma (P) and epithelial lining fluid (ELF) of hospitalized patients with community acquired pneumonia (CAP). *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24: 5: 479-484.
17. File T.M. New insights in the treatment by levofloxacin. *Chemotherapy* 2004; 50: Suppl.1: 22-28.
18. "Levaquin" levofloxacin. Product Monograph, Janssen-Ortho Inc 2005; 59.
19. Падейская Е.Н. Основные итоги исследований в ряду антимикробных препаратов класса хинолонов к началу XXI века: успехи и неудачи в разработке новых высокоэффективных фторхинолонов. *Антибиотики и химиотерапия* 2001; 46: 8: 32-39.
20. Petermann W., Barth J. Once-a-Day Ofloxacin in pneumonia. *Proc. 17-th Intern Congr Chemother, Berlin, 1991*; 310-311.
21. Giamarellou H. The use of Ofloxacin in the chronic ambulatory patients: the benefits of once-daily therapy. *Penetration, Intern. Update on Ofloxacin. Annual Issue, 1995*; 5-10.
22. Davis B.I. Once-daily Ofloxacin in respiratory tract infections. *Ibid.*; 17- 21.
23. Lehr K.H., Damm P. Quantification of the enantiomers of ofloxacin in biological fluids by HPLC. *J Chromatogr* 1988; 425: 153.
24. Chien S.C., Chow A.T., Natarajan J. et al. Absence of age and gender effects on the pharmacokinetics of a single 500 mg dose of levofloxacin in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1562-1565.
25. Chien S.C., Rogge M.C., Gislou L. et al. Pharmacokinetic profile of levofloxacin following once-daily 500-milligram oral or intravenous doses. *Ibid*; 2256-2260..
26. Chien S.C., Wrong F.A., Flower C.L. et al. Double-blind evaluation of safety and pharmacokinetics of multiple oral once-daily 750-mg and 1-gram doses of levofloxacin in healthy volunteers. *Ibid*, 1998; 42: 885-888..
27. Fish D.N., Chow A.W. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 101-119.
28. Davis B., Bryson H.M. Levofloxacin: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy. *Drugs*; 1994; 47: 677-700.
29. Aminimanzani A., Berlinger P., Jelliffe R. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of newer fluoroquinolone antibacterials. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40: 3: 169-187.
30. Keller I., Lubasch A., Rau M. et al. Comparative pharmacokinetic of ciprofloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and trovafloxacin after a single oral administration in healthy volunteers. 39th Inter.Conf Antimicrob Agents Chemother, San Francisco, 1999; Abstracts: N 30.
31. Holland M., Chien S., Corrado M. et al. The pharmacokinetic profile of intravenous levofloxacin following once- or twice-daily administration. 5th Intern Symp New Quinolones, Singapore, 1994; [poster].
32. Turinge J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic of fluoroquinolones. *Drugs*; 1999; 58: Suppl 20: 29-36.
33. Lubash A., Keller I., Borner K. et al. Comparative pharmacokinetics of ciprofloxacin, gatifloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, trovafloxacin, and moxifloxacin after single oral administration in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 10: 2600-2603.
34. Ohi Y., Goto T., Kawahara K. et al. Penetration of fluoroquinolones into human spinal fluid. *Chemotherapy* 1992; 40: 469-473.
35. Nagai H., Yamasaki T., Masuda M. et al. Penetration of levofloxacin into bronchoalveolar lavage fluid. *Drugs* 1993; 45: Suppl. 3: 259.
36. Nakamori Y., Tsudoi E., Narui K. et al. Sputum penetration of levofloxacin and its clinical efficacy in patients with chronic lower respiratory tract infections. *Jap. J Antibiot* 1992; 45: 539-547.
37. Yamashida M., Sawada K., Chokyu H. et al. Prostatic tissue levels of levofloxacin. *Chemotherapy* 1992; 40: 203-209.
38. Takahashi H., Mogi S., Kobayashi M. et al. Assay of skin level and clinical investigation of levofloxacin in the treatment of skin infections. *Ibid*; 286-305.
39. Child J., Moritoy D., Andrews J.M. et al. Open-label crossover study to determine pharmacokinetics and penetration of two dose regimens of levofloxacin into inflammatory fluid. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 12: 2749-2751.
40. Garcia I., Pascual A., Ballesta S. et al. Uptake and intracellular activity of ofloxacin and its isomers levofloxacin and D-ofloxacin in human phagocytic and non-phagocytic cells. 8th Eur Congr Clin Microbiol Infect Dis, Losanne, 1997; Abstracts: N P376.
41. Honeybourne D., Andrews J. M., Jevons G. et al. Penetration of levofloxacin (HR355) into lung tissues after a single 500 mg oral dose. *Ibid*; N P377.
42. Reports from the 10th European Congress of Clinical Microbiological and Infectious Diseases, Stockholm, Sweden, 2000: Highlights of Symposia 1. Penetration, International Update on Levofloxacin and Ofloxacin, 2001: 48-55.
43. Rimmele T., Boselli E., Breilh D. et al. Diffusion of levofloxacin into bone and synovial tissues. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 3: 533-535.
44. Яковлев В.П., Блатун Л.А., Митиш В.А. и др. Ступенчатое применение левофлоксацина при лечении больных с раневой инфекцией. *Инфекции и антимикробная терапия* 2004; 6: 1: 21-24.

45. Boselli E., Breilh D., Rimmele T et al. Pharmacokinetics and intrapulmonary diffusion of levofloxacin in critically ill patients with severe community-acquired pneumonia. *Crit Care Med* 2005; 33: 1: 104-109.
46. Liapakis I.E., Kottakis I., Tzatzarakis M.N. et al. Penetration of newer quinolones in the empyema fluid. *Eur Respir J* 2004; 24: 3: 466-470.
47. Oberdorfer K., Swoboda S., Hamann A. et al. Tissue and serum levofloxacin concentrations in diabetic foot infection patients. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 4: 836-839.
48. Limaye A.P., Hooper C.J. Treatment of tularemia with fluoroquinolones: two cases and review. *Clin Inf Dis* 1999; 29: 922-924.
49. Cunha B.A. Anthrax, tularemia, plague, ebola or smallpox as agents of bioterrorism: recognition in the emergency room. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 489-503.
50. Frean J.A., Arntzen L., Capper T et al. In vitro activities of 14 antibiotics against 100 human isolates of *Yersinia pestis* from Southern African plague focus. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2646-2647.
51. Ikaheimo I., Syrjala H., Kahakorpi J. et al. In vitro susceptibility of *Francisella tularensis* isolated from humans and animals. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 287-290.
52. Trojillano-Marin I., Garcia-Sanches E., Martinez I.M. et al. In vitro activities of six new fluoroquinolones against *Brucella melitensis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 194-195.
53. Memish Z.A., Mah M.W. Less usual indications: Mycobacteria, Brucella, Yersinia, Francisella and other infections. *Fluoroquinolone Antibiotics*, Eds. Ronald A.R., Low D.E., Birkhauser Verlag Swtzerland, 2003; 239-249.
54. Drusano G.L., Preston S.L., Flower C. et al. Relationship between fluoroquinolone area under the curve. Minimum inhibitory concentration ratio and the probability of eradication of the infecting pathogen, in patients with nosocomial pneumonia. *J Infect Dis* 2004; 189: 9: 1590-1597.
55. Dunbar L.M., Wunderink R.G., Habib M.P. et al. High-dose, short-course levofloxacin for community-acquired pneumonia: a new treatment paradigm. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 752-760.
56. West M., Boulanger B.R., Forgarty C. et al. Levofloxacin compared with imipenem/ cilastatin followed by ciprofloxacin in adult patients with nosocomial pneumonia: a multicenter, prospective, randomized, open-label study. *Clin Ther* 2003; 25: 2: 485-505.
57. Nightingale C.H., Grant E.M., Quintiliani R. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of levofloxacin. *Chemotherapy* 2000; 46: Suppl. 1: 6-14.
58. Geerdes-Fenge H.F., Wiedersish A., Wagner S. et al. Levofloxacin pharmacokinetics and serum bactericidal activities against five Enterobacterial species. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 12: 3478-3480.
59. Malone R.S., Fish D.N., Abraham E., Teitelbaum I. Pharmacokinetics of levofloxacin and ciprofloxacin during continuous renal replacement therapy in critically ill patients. *Ibid*, 2001; 45: 10: 2949-2954.
60. Firsov A.A., Zinner S.H., Vostrov S. et al. AUC/MIC relationships to different endpoint of the antimicrobial effect: multi-dose in vitro simulations with moxifloxacin and levofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: 533-539.
61. Lubenko I.Y., Vostrov S.N., Portnoy Y.A. et al. Bacterial strain-independent AUC/MIC and strain-specific dose-response relationships reflecting comparative fluoroquinolone antipseudomonal pharmacodynamics in an in vitro dynamic model. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20: 44-49.
62. Drusano G.L., Moore K.H., Klim J.P. et al. Rational dose selection for non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor through use of population pharmacokinetic model and Monte Carlo simulation. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 913-916.
63. Forrest A., Ballou C.H., Nix D.E. et al. Development of population pharmacokinetic model and optimum sampling strategies for intravenous ciprofloxacin. *Ibid* 1993; 37: 1065-1072.
64. Wallis R.S., Palaci M., Vinhap S. et al. A whole blood bactericidal assay for tuberculosis. *J Infect Dis* 2001; 183: 1300-1303.
65. Drancourt M., Gallais H., Racult D et al. Ofloxacin penetration into cerebrospinal fluid. *J Antimicrob Chemother* 1988; 22: 263-265.
66. Todd P.A., Faulds D. Ofloxacin. A reappraisal of its antimicrobial activity, pharmacology and therapeutic use. *Drugs* 1991; 42: 825-876.
67. Nau R., Kinzig M., Dreyhaupt T. et al. Kinetics of ofloxacin and its metabolites in cerebrospinal fluid after a single intravenous infusion of 400 milligrams of ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1849-1853.
68. Pioget J., Wolff M., Singlas E. et al. Diffusion of ofloxacin into cerebrospinal fluid of patients with purulent meningitis or ventriculitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 933-936.
69. Debache C.J., Pakiz C.B., Larsen C. et al. Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetics of levofloxacin in experimental rabbit meningitis model. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 611-615.
70. Scotton P.G., Pea F., Giobbia M. et al. Cerebrospinal fluid penetration of levofloxacin in patients with spontaneous acute bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: E109-E111.
71. Pea F., Scotton P.G., Giobbia M. et al. Cerebrospinal fluid penetration of levofloxacin during cotreatment for bacterial meningitis. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: Suppl. 1.
72. Pea F., Pavan F., Nascimben E. et al. Levofloxacin disposition in cerebrospinal fluid in patients with external ventriculostomy. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 10: 3104-3108.
73. Saito A., Oguchi K., Harada Y. Pharmacokinetics of levofloxacin in patients with impaired renal function. *Chemotherapy* 1992; 40: Suppl 3: 188-195.
74. Gisclon L.G., Curtin C.R., Chien S.C. et al. 36th Intersc Conf Antimicrob Agents Chemother 1996; Abstracts: N A13.
75. Яковлев В.П., Яковлев С.В. Возможности профилактического и лечебного применения левофлоксацина. Таваник (левофлоксацин). Научное досье. «Авентис Интерконтиненталь», 4-17.
76. Соколова Г.Б. Левофлоксацин (Таваник) в комплексной терапии туберкулеза. Информационное письмо для врачей-фтизиатров, Москва, 2004; 1-8.
77. Sprandel K.A., Schrever C.A., Pendland S.L. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous levofloxacin at 750 milligrams and various doses of metronidazole in healthy adult subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 12: 4597-4605.
78. Падейская Е.Н. Фторхинолоны в педиатрии. Состояние проблемы к началу XXI века. Антибиотики и химиотерапия, 2004; 49: 7: 34-44.
79. Волков И.К., Катосова Л.К., Давыдова И.В. и др. Эффективность левофлоксацина (Таваник) при хронических заболеваниях легких у детей. Там же, 17-21.

Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации
 ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет

КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИИ
с курсом клинической фармакологии и фармакокинетики ФУВ
(зав. кафедрой – член-корреспондент РАМН, профессор Ю.Б. Белоусов)

117997, Москва, ул. Островитянова, 1

107066, Москва, ул. Ново-Басманная, 26
 тел. 261-23-08, 261-65-10
 факс: 261-23-08

В связи с растущим вниманием специалистов различных уровней в изучении фармакокинетики - дисциплине, позволяющей выбирать не только эффективный и безопасный, но и экономически выгодный путь терапии, на нашей кафедре подготовлен цикл тематического усовершенствования на тему: «**Организация и проведение фармакокинетических исследований**».

Форма обучения очно-заочная.

Учебный план цикла:

- Основные параметры фармакокинетики
- Основные типы фармакокинетических исследований
- Математическое моделирование фармакокинетических процессов
- Фармакокинетические исследования при изучении новых препаратов (I-я фаза клинических исследований)
- Проведение терапевтического лекарственного мониторинга
- Проведение исследований биоэквивалентности воспроизводимых лекарственных препаратов
- Знакомство с компьютерными фармакокинетическими программами
- Оценка минимальной стоимости
- Планирование фармакокинетических исследований
- Представление результатов фармакокинетических исследований и их применение в здравоохранении

К преподаванию будут привлечены сотрудники кафедры, а также ведущие специалисты в этой области. По окончании обучения будет выдано свидетельство Российского государственного медицинского университета.

Занятия проводятся по адресу: 107066, Москва, ул. Ново-Басманная, 26, корпус 4, Кафедра клинической фармакологии. Проезд: ст. метро «Бауманская», троллейбус 25, 45, остановка «Площадь Разгуляй».

Контактный телефон/ факс: (095) 261-23-08, 261-25-90

*Зав. кафедрой
 клинической фармакологии РГМУ,
 член-корр. РАМН*

проф. Ю.Б. Белоусов