

# Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2017

А. В. Щулькин, Е. Н. Якушева, И. В. Черных,  
А. А. Никифоров, Н. М. Попова

## ВЛИЯНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р

ГБОУ ВПО "Рязанский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 390026, Рязань, ул. Высоковольная, 9; e-mail: p34-66@yandex.ru

На кроликах-самцах породы Шиншилла изучено влияние тестостерона ундеcanoата на функциональную активность гликопротеина-Р (АВСВ1-белок). Тестостерон вводили однократно внутримышечно в дозах 12 и 24 мг/кг массы. Функциональную активность гликопротеина-Р определяли по фармакокинетике его маркерного субстрата — фексофенадина на 7, 14 и 21 дни после введения гормона. Введение тестостерона в дозе 12 мг/кг массы ( $n = 7$ ) вызывало повышение  $C_{\max}$  фексофенадина на 7 и 14 сут,  $AUC_{0-t}$  — на 14 сут, снижение общего клиренса — на 14 сут. Применение тестостерона в дозе 24 мг/кг массы ( $n = 7$ ) приводило к повышению  $C_{\max}$  фексофенадина на 7 сут,  $AUC_{0-t}$  — на 7, 14 и 21 сут и снижению общего клиренса на 7 и 14 сут. Установленные изменения фармакокинетики фексофенадина свидетельствуют о снижении функциональной активности гликопротеина-Р на фоне введения тестостерона. Выявлены корреляционные зависимости между параметрами фармакокинетики фексофенадина и уровнем тестостерона в сыворотке крови.

**Ключевые слова:** гликопротеин-Р; АВСВ1-белок; фексофенадин; функциональная активность; тестостерон.

Гликопротеин-Р (АВСВ1-белок, Pgp) — это белок-транспортер, локализованный на поверхности гепатоцитов, обращенной к желчным протокам, на апикальной мембране энтероцитов, на апикальной поверхности эпителиоцитов проксимальных почечных канальцев, в эндотелиоцитах гистогематических барьеров и других тканях [1, 2].

Pgp имеет широкую субстратную специфичность. При этом установлено, что для субстратов данного белка-транспортера характерны некоторые структурные особенности. Например, в большинстве случаев они являются ароматическими или гетероциклическими соединениями, аминами, содержат эфирную связь и имеют молекулярную массу от 330 до 4000 Да [3].

Установлено, что активность Pgp может изменяться (повышаться или снижаться) под влиянием различных факторов и веществ, в том числе лекарственных препаратов [1, 2].

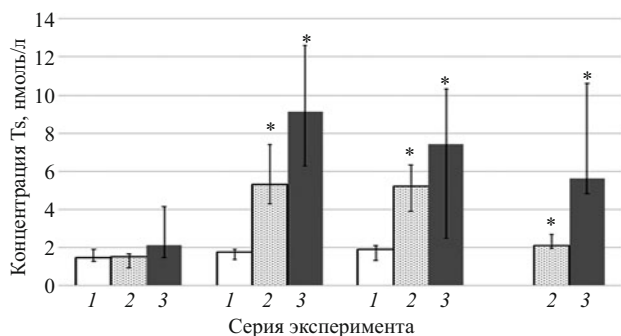
Например, классическим ингибитором данного белка-транспортера является верапамил. Ингибиторы Pgp снижают его функциональную активность, что в ряде случаев ассоциировано с развитием нежелательных лекарственных реакций. Индукторы, напротив, повышают активность белка-транспортера, что меняет фармакокинетику вводимых субстратов и способствует снижению эффективности проводимой фармакотерапии [2].

Учитывая данные обстоятельства, ведущие организации США (U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration и Center for Drug Evaluation and Research) рекомендуют тестировать на принадлежность к субстратам и ингибиторам Pgp все вновь регистрируемые лекарственные средства. Согласно данным рекомендациям, сначала проводят исследования *in vitro*, а затем, если устанавливают, что новый лекарственный препарат является субстратом или ингибитором белка-транспортера, проводят опыты *in vivo* [2].

Одним из гипотетических ингибиторов Pgp, исходя из его структуры, может являться тестостерон (Ts). В ряде экспериментов *in vitro* показано, что Ts способен связываться с белком-транспортером и ингибировать его активность [4, 5], однако исследования *in vivo* на данный момент не проводили. Поэтому целью настоящей работы являлось изучение влияния Ts на функционирование Pgp на уровне целостного организма.

### Экспериментальная часть

Исследование выполнено на 22 половозрелых кроликах-самцах массой 4300 – 4700 г породы Шиншилла. Животные получены из питомника ОАО "Касимов-Миакро", имели необходимые ветеринарные свидетельства и содержались в стандартных условиях вивария ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. Рабо-



Концентрация Ts в сыворотке крови кроликов (медиана, верхний и нижний квартили) до и после введения тестостерона ундеcanoата ( $T_{s_{undec}}$ ); \*  $p < 0,05$  — достоверные различия по сравнению с данными интактных кроликов (исходные показатели); 1 — контроль; 2 —  $T_s$  12 мг/кг; 3 —  $T_s$  24 мг/кг.

та с животными проводилась в соответствии с правилами лабораторной практики (Приложение к приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. 708н).

Все кролики разделены на 3 группы. Первая группа — контроль ( $n = 8$ ). Животным данной группы однократно внутримышечно вводили физиологический раствор в объеме 1 мл/кролик. Вторая группа ( $n = 7$ ) представлена животными, которым однократно внутримышечно вводили тестостерона ундеcanoат ( $T_{s_{undec}}$ ) (“Небидо”, Bayer Pharma AG) в дозе 12 мг/кг массы. Третья группа ( $n = 7$ ) включала кроликов, которым однократно внутримышечно вводили  $T_{s_{undec}}$  в дозе 24 мг/кг массы. Согласно данным литературы, однократное внутримышечное введение  $T_{s_{undec}}$  в дозе 6 мг/кг массы обеспечивает поддержание физиологического уровня Ts в сыворотке крови у новозеландских кроликов в течение 6 недель [6], поэтому для получения повышенного уровня Ts у кроликов породы Шиншилла мы вводили Ts однократно в дозах 12 и 24 мг/кг массы.

За 1 сут до начала эксперимента в группе (интактных кроликов), а также после введения гормонального препарата (через 7, 14 и 21 день) или физиологического раствора (на 7, 14 сут) у животных определяли функциональную активность Pgr и уровни Ts, эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови. Орхиэктомии не выполняли, так как предполагалось, что хи-

ругическая кастрация может повлиять на функциональную активность Pgr.

Исследование концентраций половых гормонов проводили в ЦНИЛ РязГМУ радиоиммунным методом с применением стандартной тест-системы производства IMMUNOTECH (Чехия), с дальнейшей обработкой полученных результатов на анализаторе “Иммуно-тест” (Москва).

Функциональную активность Pgr оценивали по анализу фармакокинетики его маркерного субстрата фексофенадина (Ff, “Sanofy Aventis”, Франция) после однократного перорального введения в дозе 67,5 мг/кг массы в виде суспензии на воде очищенной в объеме вводимого раствора 15 мл/кролик [7]. Кровь для определения концентрации Ff забирали из краевой вены уха кролика через 1; 2; 3; 4; 5; 6; 12 и 24 ч после введения препарата в гепаринизированные пробирки в объеме 5 мл. Образцы крови центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученную плазму хранили при  $-29\text{ }^{\circ}\text{C}$  до анализа.

Концентрацию Ff в плазме крови кроликов определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе “Стайер” с УФ-спектрофотометрическим детектором UVV 104 при длине волны 220 нм с применением обращенно-фазовой хроматографической колонки Ultrasphere  $4,6 \times 250$  мм (зернение 5 мкм) фирмы “Beckman Coulter”. Ff из плазмы крови экстрагировали с помощью дихлорметана (“ACROS ORGANICS”), этилацетата (“ACROS ORGANICS”) и диэтилового эфира (“ХИММЕД”). Элюирование выполняли подвижной фазой следующего состава (на 200 мл): 64 мл ацетонитрила, 133,7 мл бидистиллированной воды, содержащей 2,33 мл ледяной уксусной кислоты (“ХИММЕД”) и 0,936 мл триэтиламина (“ACROS ORGANICS”). pH подвижной фазы доводили до 5,0 триэтиламинол. Время удерживания пика Ff составило 12,6 мин.

Оценивали следующие фармакокинетические параметры Ff:  $C_{max}$  — максимальная концентрация (нг/мл);  $T_{max}$  — время достижения максимальной концентрации (ч);  $AUC_{0-t}$  — площадь под фармакокинетической кривой концентрация — время от 0 до времени последнего забора крови (нг · ч/мл), которую рассчитывали методом трапеций;  $K_{el}$  — константа элиминации, которую рассчитывали как тангенс угла наклона ли-

Таблица 1  
Фармакокинетические параметры Ff (пероральное введение в дозе 67,5 мг/кг массы) после внутримышечного введения  $T_{s_{undec}}$  в дозе 12 мг/кг массы ( $T_{max}$  — медиана, верхний и нижний квартиль, остальные параметры — среднее геометрическое и его 95 % ДИ)

Параметр фармакокинетики	Интактные кролики	7 дней	14 дней	21 день
$C_{max}$ , нг/мл	310,54 (202,46; 476,33)	531,93 (450,06; 628,70)*	634,37 (511,71; 786,44)*	424,45 (336,88; 534,79)*
$T_{max}$ , ч	4,0 (2,0; 4,0)	4,0 (3,0; 4,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 6,0)
$AUC_{0-t}$ , нг · ч/мл	2990,01 (1739,96; 5138,14)	4682,14 (3928,62; 5580,19)*	6737,94 (5099,86; 8902,16)*	4867,18 (4085,99; 5797,73)*
$Cl$ , л/ч	66,30 (34,01; 129,2)	38,99 (29,53; 51,49)*	23,84 (14,90; 38,12)*	34,46 (26,95; 44,08)*
$C_{max}/AUC_{0-t}$	0,104 (0,075; 0,145)	0,114 (0,101; 0,128)	0,094 (0,071; 0,124)	0,087 (0,074; 0,102)

\*  $p < 0,05$  — достоверные различия по сравнению с данными интактных кроликов (исходные показатели).

нейной части полулогарифмического графика концентрации — время к оси абсцисс ( $1/t$ );  $AUC_{0-\infty}$  — площадь под фармакокинетической кривой концентрация — время от 0 до бесконечности (нг · ч/мл), которую рассчитывали по формуле:  $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/K_{el}$ ;  $Cl$  — общий клиренс (л/ч), который рассчитывали по формуле  $Cl = \text{доза (вводимого Ff)}/AUC_{0-\infty}$ ; отношение  $C_{max}/AUC_{0-t}$  — коэффициент абсорбции.

Полученные результаты обрабатывали с помощью программы “StatSoft Statistica 7.0”. Наличие достоверных различий внутри изучаемых групп между показателями гормонального статуса животных, а также между значениями  $T_{max}$  оценивали с помощью критерия Фридмана. При наличии статистической значимости попарные различия внутри групп между показателями интактных животных и кроликов, получавших исследуемые вещества (Ts и физиологический раствор), оценивали по критерию Вилкоксона. Полученные результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Med, Iq, Uq). Статистическую значимость различий между фармакокинетическими параметрами, за исключением  $T_{max}$ , оценивали, исходя из представления о лог-нормальном распределении данных. Сравнение изучаемых фармакокинетических параметров проводили с применением дисперсионного анализа повторных измерений (ANOVA) после их логарифмирования. Различия внутри групп оценивали по критерию Ньюмена — Кейсла. Статистически значимыми принимали различия при значении  $p < 0,05$ . Дополнительно рассчитывали двусторонний 90 % доверительный интервал отношения геометрических средних значений фармакокинетических параметров Ff на фоне введения исследуемых веществ (Ts и физиологического раствора) к параметрам интактных животных. Согласно рекомендациям U. S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, значимыми считаются различия между фармакокинетическими параметрами, если двусторонний 90 % доверительный интервал их отношения находится вне диапазона 0,8 – 1,25 (80 – 125 %) [8]. Полученные результаты представлены в табл. 1, 2 в виде среднего геометрического и его 95 % доверительного интервала. Зависимость между показателями гормонального фона животных второй и третьей групп во все сроки эксперимента от фармакокинетиче-

ских параметров Ff оценивали с помощью коэффициента корреляции Пирсона ( $R_s$ ).

### Результаты и их обсуждение

Исходный уровень Ts в сыворотке крови животных контрольной группы составил 1,46 (1,28; 1,89) нмоль/л, у кроликов, в последующем получавших Ts в дозе 12 мг/кг массы — 1,53 (0,92; 1,64) нмоль/л, а в дозе 24 мг/кг массы — 2,1 (1,45; 4,16) нмоль/л. Исходная сывороточная концентрация эстрадиола в группе контроля равна 125,3 (92,1; 156,3) пг/мл, у животных, которым вводили Ts в дозе 12 мг/кг — 105,95 (74,34; 173,4) пг/мл, а в дозе 24 мг/кг массы — 198,5 (154,8; 298,37) пг/мл. Исходное содержание прогестерона в сыворотке крови в контрольной группе равнялось 0,43 (0,33; 0,54) нг/мл, у кроликов, получавших Ts в дозе 12 мг/кг массы — 0,42 (0,27; 0,64) нг/мл, а в дозе 24 мг/кг массы — 0,56 (0,31; 0,73) нг/мл.

Введение животным физиологического раствора достоверно не влияло на сывороточный уровень Ts (рисунок) и параметры фармакокинетики Ff.

Введение животным  $Ts_{undec}$  в дозе 12 мг/кг массы приводило к увеличению концентрации Ts в сыворотке крови на 7, 14 и 21 сут эксперимента на 246,4, 239,9 и 35,9 % ( $p < 0,05$ ) соответственно. Введение Ts в дозе 24 мг/кг массы вызывало несколько более выраженное увеличение содержания Ts в сыворотке крови на 7 день эксперимента на 334,3 %, на 14 сут — на 253,8 %, на 21 день — на 166,7 % ( $p < 0,05$ ). Концентрации эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови во всех исследуемых группах достоверно не изменялись.

В опытных группах наблюдались следующие изменения фармакокинетики Ff по сравнению с данными интактных животных: введение Ts в дозе 12 мг/кг массы на 7 сут вызывало повышение  $C_{max}$  Ff в плазме крови в 1,71 раза (90 % доверительный интервал (ДИ) 1,28; 2,29,  $p < 0,05$ ),  $AUC_{0-t}$  — в 1,57 раза (90 % ДИ 1,09; 2,25,  $p < 0,05$ ), и уменьшение  $Cl$  в 0,59 раза (90 % ДИ 0,38; 0,92,  $p < 0,05$ ). На 14 сут исследования  $C_{max}$  Ff в плазме крови повысилась в 2,04 раза (90 % ДИ 1,52; 2,75,  $p < 0,05$ ),  $AUC_{0-t}$  — в 2,25 раза (90 % ДИ 1,65; 3,08,  $p < 0,05$ ), а  $Cl$  уменьшился в 0,36 раза (90 % ДИ 0,25; 0,52,  $p < 0,05$ ). На 21 день эксперимента  $C_{max}$  Ff в плазме крови повысилась в 1,37 раза (90 % ДИ

Таблица 2  
Фармакокинетические параметры Ff (пероральное введение в дозе 67,5 мг/кг массы) после внутримышечного введения  $Ts_{undec}$  в дозе 24 мг/кг массы ( $T_{max}$  — медиана, верхний и нижний квартиль; остальные параметры — среднее геометрическое и его 95 % ДИ)

Параметр фармакокинетики	Интактные кролики	7 дней	14 дней	21 день
$C_{max}$ , нг/мл	468,29 (358,8; 611,20)	665,29 (516,86; 856,35)*	560,96 (439,81; 715,49)	556,74 (426,35; 727,01)
$T_{max}$ , ч	3,0 (1,0; 4,0)	4,0 (3,0; 4,0)	4,0 (3,0; 4,0)	4,0 (2,0; 6,0)
$AUC_{0-t}$ , нг · ч/мл	3124,93 (2468,53; 3955,87)	5682,74 (4724,79; 6834,89)*	5474,71 (4309,15; 6955,54)*	5382,25 (3696,82; 7836,11)*
$Cl$ , л/ч	63,99 (41,25; 99,26)	29,55 (20,88; 41,81)*	30,45 (17,83; 51,98)*	28,40 (10,68; 75,53)
$C_{max}/AUC_{0-t}$	0,149 (0,102; 0,219)	0,117 (0,094; 0,145)	0,102 (0,079; 0,133)	0,103 (0,086; 0,124)

\*  $p < 0,05$  — достоверные различия по сравнению с данными интактных кроликов (исходные показатели).



1,14; 1,64,  $p < 0,05$ ),  $AUC_{0-t}$  — в 1,63 раза (90 % ДИ 1,12; 2,37,  $p < 0,05$ ),  $Cl$  уменьшился в 0,52 раза (90 % ДИ 0,32; 0,84,  $p < 0,05$ ).  $T_{max}$  и  $C_{max}/AUC_{0-t}$  Ff на протяжении всего эксперимента статистически значимо не изменялись (табл. 1).

На 7 сут введения Ts в дозе 24 мг/кг массы, по сравнению с данными интактных кроликов  $C_{max}$  Ff в плазме крови увеличивалась в 1,42 раза (90 % ДИ 1,30; 1,55,  $p < 0,05$ ),  $AUC_{0-t}$  — в 1,82 раза (90 % ДИ 1,43; 2,32,  $p < 0,05$ ),  $Cl$  уменьшился в 0,46 раза (90 % ДИ 0,29; 0,73,  $p < 0,05$ ). На 14 сут исследования  $AUC_{0-t}$  Ff повысилась — в 1,75 раза (90 % ДИ 1,47; 2,09,  $p < 0,05$ ),  $Cl$  уменьшился в 0,48 раза (90 % ДИ 0,37; 0,61,  $p < 0,05$ ). На 21 день эксперимента  $AUC_{0-t}$  Ff увеличилась в 1,72 раза (90 % ДИ 1,29; 2,28,  $p < 0,05$ ).  $T_{max}$  и  $C_{max}/AUC_{0-t}$  Ff на протяжении всего эксперимента статистически значимо не изменялись (табл. 2).

Ff считается маркерным субстратом Pgp, так как не подвергается метаболизму и его фармакокинетика зависит исключительно от функционирования данного белка-транспортера, который препятствует его всасыванию в кишечнике и способствует выведению с желчью (90 %) и мочой (10 %) [9]. Изменения фармакокинетики Ff, полученные в нашем исследовании, свидетельствуют о повышении содержания препарата в организме кроликов и замедлении его выведения, что, в свою очередь, является следствием снижения функциональной активности Pgp.

Выполнение корреляционного анализа выявило, что при введении Ts кроликам в дозе 12 мг/кг массы  $C_{max}$  и  $AUC_{0-t}$  Ff прямо пропорциональны уровню Ts в сыворотке крови —  $R_s = 0,58$  ( $p = 0,001$ ) и  $R_s = 0,47$  ( $p = 0,011$ ) соответственно. При введении Ts в дозе 24 мг/кг массы обнаруженные корреляции сохраняются и отчасти усиливаются:  $C_{max}$  и  $AUC_{0-t}$  прямо пропорциональны сывороточной концентрации тестостерона ( $R_s = 0,36$  ( $p = 0,058$ ) и  $R_s = 0,71$  ( $p = 0,000027$ )), а  $Cl$  обратно пропорционален ей —  $R_s = -0,71$  ( $p = 0,00003$ ).

Согласно данным литературы, функционирование Pgp может варьировать вследствие прямого изменения его активности либо из-за модификации экспрессии белка-транспортера [2].

В исследовании на роговицах новозеландских кроликов показано, что Ts в концентрации 100 и 150 мкмоль/л не влиял на опосредованный Pgp транспорт эритромицина через роговицу, однако в концентрациях 250 и 500 мкмоль/л существенно ингибировал активность белка-транспортера, при этом  $IC_{50}$  (концентрация, ингибирующая активность Pgp на 50 %) составила  $(241 \pm 27,6)$  мкмоль/л [4].

В эксперименте на культуре клеток 2780AD (карцинома яичника человека, вариант резистентный к лекарственной терапии) выявлено, что Ts в концентрации 50 – 150 мкмоль/л ингибировал активность Pgp, оцениваемую по эффлюксу субстрата белка-транспортера — даунорубицина [5].

Однако концентрация Ts в сыворотке крови в нашем исследовании в среднем составляла 5 –

10 нмоль/л, что значительно ниже концентраций, в которых Ts оказывал прямое ингибирующее влияние на активность Pgp в опытах *in vitro*. Следовательно, можно предположить, что Ts, скорее всего, влияет на активность белка-транспортера на уровне целостного организма опосредованно, снижая его экспрессию. При этом механизм влияния гормона на экспрессию Pgp может быть обусловлен как непосредственно связыванием с тестостероновым рецептором, так и взаимодействием с прегнан-Х-рецептором и/или андростановым рецептором.

В ряде работ оценивались половые (гендерные) различия экспрессии и функциональной активности Pgp, что косвенно может свидетельствовать о влиянии на белок-транспортер половых гормонов. В исследованиях на здоровых добровольцах показано, что экспрессия Pgp в биоптате печени у мужчин в 2,4 раза выше, чем у женщин ( $p = 0,0513$ ). Однако отмечалась значительная (более 55 раз) межиндивидуальная вариация экспрессии белка-транспортера [10].

В другом исследовании на здоровых добровольцах, проведенном в Германии, не выявлено достоверных различий между фармакокинетическими параметрами Ff у мужчин и женщин [11].

В эксперименте на крысах линии Sprague-Dawley установлено, что у самцов гепатобилиарное выведение доксорубина — субстрата Pgp — после его однократного введения ниже, чем у самок. При оценке экспрессии белка-транспортера методом Вестерн-блоттинг в печени показано, что она значительно выше у самок крыс. Введение самкам крыс Ts в дозе 10 мг/день в течение 7 дней приводило к снижению экспрессии и функциональной активности Pgp [12].

В другом исследовании на крысах показано, что экспрессия Pgp у самцов на 40 % ниже, чем у самок, также как и экспрессия мРНК гена *mdr2*, кодирующего данный белок-транспортер [13].

При изучении экспрессии Pgp и генов, кодирующих его (*mdr1a* и *mdr1b*), во всех отделах тонкого кишечника самцов и самок крыс не выявлено достоверных различий, однако авторы отмечали существенную внутри- и межиндивидуальную вариабельность экспрессии белка-транспортера [14].

Противоречивые результаты, полученные в данных работах, скорее всего связаны с тем, что не проводилось исследования уровней половых гормонов, а у особой женского пола не определялась фаза менструального цикла, от которой напрямую зависит гормональный фон самки в конкретный период.

При изучении половых различий функциональной активности и экспрессии Pgp на кроликах породы Шиншилла нами показано, что экспрессия и функциональная активность белка-транспортера достоверно выше у самок, чем у самцов. При этом самки кроликов постоянно находятся в состоянии диэструса (то есть в одной фазе цикла), поскольку овуляция у них наступает только после оплодотворения [15].

Следует отметить, что по способности ингибировать активность Pgp Ts сопоставим с такими сильны-

ми ингибиторами белка-транспортера как хинидин и амиодарон, которые вызывают повышение  $C_{\max}$  дигоксина (субстрат Pgp с узкой шириной терапевтического действия) в 1,75 и 1,84 раза соответственно [16]. Помимо нежелательного эффекта, связанного с увеличением концентрации и токсичности субстрата Pgp на фоне ингибитора, это явление может найти практическое применение для преодоления фармакорезистентности к субстратам белка-транспортера, например, при фармакотерапии онкологических заболеваний.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00320 а.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. Г. Кукес, С. В. Грачев, Д. А. Сычев, Г. В. Раменская, *Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализационной медицины: руководство для врачей*, ГЭОТАР-МЕДиа, Москва (2008).
2. Е. Н. Якушева, И. В. Черных, А. В. Шулькин, Н. М. Попова, *Успехи физиологических наук*, **45**(4), 90 – 99 (2014).
3. V. Poongavanam, N. Haider, G. F. Ecker, *Bioorg. Med. Chem.*, **20**(18), 5388 – 5395 (2012).
4. D. Surajit, G. Sriram, A. K. Mitra, *JPET*, **311**(1), 246 – 255 (2004).
5. C. K. van Kalken, H. J. Broxterman, H. M. Pinedo, et al., *Br. J. Cancer*, **67**(2), 284 – 289 (1993).
6. C. Zhao, D. G. Moon, J. K. Park, *Can. Urol. Assoc. J.*, **7**(3 – 4), 221 – 225 (2013).
7. Е. Н. Якушева, А. В. Шулькин, И. В. Черных, Д. С. Титов, *Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И. П. Павлова*, № 2, 74 – 77 (2014).
8. U. S. Food and Drug Administration, *Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: drug interaction studies study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations*; Available at: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm292362.pdf>.
9. M. Molimard, B. Diquet, M. S. Benedetti, *Fund. Clin. Pharmacol.*, **18**(4), 399 – 411 (2004).
10. E. G. Schuetz, K. N. Furuya, J. D. Schuetz, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **275**, 1011 – 1018 (1995).
11. S. Drescher, E. Schaeffeler, M. Hitzl, et al., *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **53**(5), 526 – 534 (2002).
12. T. Suzuki, Y. L. Zhao, M. Nadai, et al., *Life Sci.*, **79**(5), 455 – 461 (2006).
13. L. Salphati, L. Z. Benet, *Biochem. Pharmacol.*, **55**(4), 387 – 395 (1998).
14. C. MacLean, U. Moenning, A. Reichel, G. Fricker, *Drug Metab. Dispos.*, **36**(7), 1249 – 1254 (2008).
15. Е. Н. Якушева, И. В. Черных, А. В. Шулькин и др., *Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова*, **100**(8), 944 – 952 (2014).
16. K. S. Fenner, M. D. Troutman, S. Kempshall, et al., *Clin. Pharmacol. Therap.*, **85**(2), 173 – 181 (2009).

Поступила 26.03.16

## INFLUENCE OF TESTOSTERONE ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF P-GLYCOPROTEIN

A. V. Shchul'kin\*, E. N. Yakusheva, I. V. Chernykh, A. A. Nikiforov, and N. M. Popova

I. P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, 390026 Russia; \* e-mail: p34-66@yandex.ru

The influence of testosterone on the functional activity of P-glycoprotein (ABCB1 protein) was studied on Chinchilla rabbits. Testosterone was introduced by single intramuscular injection in doses of 12 and 24 mg/kg. P-glycoprotein functional activity was assessed by measuring the pharmacokinetics of its marker substrate fexofenadine for 7, 14, and 21 days after testosterone injection. The introduction of testosterone in a dose of 12 mg/kg ( $n = 7$ ) caused an increase in  $C_{\max}$  of fexofenadine for 7 and 14 days, increase in  $AUC_{0-1}$  for 14 days, and decrease in the total clearance for 14 days. Testosterone in a dose of 24 mg/kg ( $n = 7$ ) led to an increase of  $C_{\max}$  of fexofenadine for 7 days, increase in  $AUC_{0-1}$  for 7, 14 and 21 days, and decrease in the total clearance for 7 and 14 days. The observed changes in pharmacokinetics of fexofenadine demonstrate decrease in the functional activity of P-glycoprotein after testosterone introduction. Correlation dependences between the parameters of fexofenadine pharmacokinetics and testosterone level in blood serum were revealed.

**Keywords:** P-glycoprotein; ABCB1 protein; fexofenadine; functional activity; testosterone.