

М.В. Баранов<sup>1</sup>, Е.Н. Архипова<sup>2</sup>, М.А. Лебедева<sup>2</sup>, Н.Н. Хлебникова<sup>2</sup>, Ю.С. Медведева<sup>2</sup>

## Особенности фармакокинетики цефтриаксона в условиях антиортостатической гипокинезии у крыс

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт космической медицины Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального научно-клинического центра Федерального медико-биологического агентства России. 115682 Москва, Ореховый бульвар, д. 28

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской Академии медицинских наук. 125315, Москва, Балтийская ул. д.8

*В рамках данной работы проведен эксперимент по определению особенностей фармакокинетики препарата цефтриаксон в условиях моделирования эффектов микрогравитации у крыс. В двух экспериментальных группах: опытной и контрольной проведен сравнительный анализ фармакокинетических параметров и установлено влияние на фармакокинетику цефтриаксона — антиортостатической гипокинезии (АНОГ). В опытной группе выявлено снижение максимальной концентрации цефтриаксона и его биодоступности при однократном внутримышечном (в/м) введении по сравнению с контрольной группой. При этом увеличивалась скорость всасывания препарата.*

**Ключевые слова:** микрогравитация, фармакокинетика, цефтриаксон, крысы

M.V. Baranov, E.N. Arkhipova, M.A. Lebedeva, N.N. Khlebnikova, Yu.S. Medvedeva

## Features of the pharmacokinetics of ceftriaxone during the antiorthostatic hypokinesia in rats

*This study was designed to investigate the effects of simulated microgravity on the plasma kinetics of ceftriaxone in rats. Comparative analysis of pharmacokinetic parameters in control and experimental groups has revealed the influence of antiorthostatic hypokinesia (ANOH) on the pharmacokinetics of ceftriaxone. Decreased level of maximum plasma concentration (C<sub>max</sub>) and bioavailability of ceftriaxone after single intramuscular (IM) injection were revealed in rats with antiorthostatic hypokinesia. The rate of absorption of the drug was higher respectively.*

**Key words:** microgravity, pharmacokinetic, ceftriaxone, rats

В ходе экспериментальных работ, посвященных особенностям развития патологических процессов в условиях моделирования эффектов невесомости, были выявлены определенные качественные и количественные отличия в патогенезе таких заболеваний как перитонит и острый панкреатит.

Выявлено, например, что развитие перитонита на фоне антиортостатической гипокинезии (АНОГ) сопровождается более выраженными деструктивными изменениями в поджелудочной железе и менее выраженным поражением печени, чем при развитии воспалительного процесса в условиях вивария [1]. Помимо морфологических изменений определенным образом меняются биохимические показатели крови [5]. Особенности патогенеза связаны, в первую очередь, с определенными сдвигами в организме, происходящими под действием модели микрогравитации. Перераспределение жидких сред в спланхническом бассейне, перестройка кровообращения, как на уровне сис-

темной гемодинамики, так и на уровне микроциркуляции, изменения в иммунной, эндокринной и других системах — все это может влиять на развитие заболеваний в условиях космических полетов [2].

Однако нельзя не учитывать, что помимо особенностей патогенеза патологического процесса на терапию будут влиять особенности фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных препаратов.

Установлено, что в условиях невесомости меняется физиологический баланс жидкостей и электролитов, уровень метаболизма и гормональный профиль. Эти и ряд других изменений способны серьезно изменить как фармакокинетику, так и фармакодинамику лекарственных веществ.

Проблемой влияния факторов космического полета на фармакокинетику отдельных лекарственных препаратов начали заниматься достаточно давно как в рамках советских, а впоследствии, и российских научных программ, так и за рубежом [4, 6, 8, 9]. Име-

ются данные о том, что отдельные препараты, использованные в космосе не производят того же действия, которое наблюдалось на Земле [10].

Вместе с тем, информации о влиянии факторов космического полета на фармакокинетику лекарственных препаратов за время проведения космических исследований в этой области, получено явно недостаточно.

Как установлено, за период многолетних медицинских наблюдений за состоянием здоровья экипажей пилотируемых орбитальных станций и космических кораблей, одним из наиболее вероятных медицинских событий в условиях космического полета является воспалительный процесс [3, 7, 11]. В связи с чем исследование влияния эффектов микрогравитации на фармакокинетику антибактериальных препаратов приобретает особый интерес.

Исследование антибактериальных препаратов позволит не только установить общие закономерности влияния невесомости на фармакокинетику препаратов, но и вплотную подойти к выбору оптимальных схем лекарственной терапии воспалительных процессов в условиях космических полетов.

*Цель исследования* — оценка фармакокинетики препаратов для этиотропной терапии инфекционного воспаления в условиях моделирования эффектов невесомости.

### Методика

Исследование проводили на 200 беспородных крысах самцах массой 220—250 г. Крысы были разделены на 2 группы: опытную, в которой моделировали эффекты микрогравитации, и контрольную, находившуюся в условиях вивария. В каждой группе было по 100 животных. Крысы обеих групп получали стандартный пищевой рацион и в течение всего эксперимента имели свободный доступ к воде и пище. Масса животных опытной группы перед введением препарата составляла  $208,9 \pm 4,1$  г, контрольной группы —  $239,9 \pm 3,6$  г. В качестве модели воспалительного процесса нами был выбран перитонит — воспаление брюшины. Одной из наиболее употребляемых групп антибиотиков для эмпирической терапии острого перитонита являются цефалоспорины III поколения. Для эксперимента был выбран препарат этой группы — цефтриаксон. Он используется при большинстве неосложненных абдоминальных хирургических инфекций (прободная гастродуоденальная язва, острый холецистит, острый аппендицит, дивертикулит толстого кишечника, абсцесс печени) и даже при распространенном перитоните (первичном и вторичном), кроме послеоперационного.

Цефтриаксон выводится из организма в неизменном виде и не подвергается метаболизму, однако, его фармакокинетика может существенно меняться в условиях невесомости. Это может быть связано как с изменениями кровообращения в печени и почках, приводящим к сдвигам в элиминации препарата, так и с изме-

нениями протеома в условиях полета, поскольку цефтриаксон обладает высокой способностью связываться с белками плазмы крови.

Препарат вводили крысам однократно внутримышечно в дозе 0,0285 мг/г массы в мышцы правого бедра после обработки места инъекции антисептиком. Образцы плазмы крови крыс получали из лаборатории после декапитации животных. Животные как опытной, так и контрольной групп выводились из эксперимента через 15, 30, 45 мин, 1 ч, 1,5, 2, 3, 4, 6 и 8 ч с момента инъекции препарата. В каждой временной точке выводилось из эксперимента по 10 животных для получения статистически значимых результатов.

### Методика моделирования микрогравитации

Эффекты микрогравитации достигались путем вывешивания крыс на специальном стенде на срок 7 сут. перед введением цефтриаксона.

Стенд представляет собой каркас на котором по двум направляющим рельсам перемещается балка с подвижной кареткой. Каретка может двигаться в любом направлении в пределах горизонтальной плоскости над сетчатым полом размером 40 на 40 см, под которым помещается поддон для сбора экскрементов. Для подвешивания животного к подвижной каретке в целях обеспечения равномерного распределения весовой нагрузки на туловище используется специальная система, состоящая из капронового костюма для крысы с отверстиями для конечностей. На спинке животного, в костюме, располагаются две металлические пластины, которые удерживают тело животного от провисания и позволяют придать избранный угол вывешивания для всего тела.

Для каждого животного, которому внутримышечно вводили цефтриаксон, определялись и рассчитывались следующие параметры:

$C_{\max}$  — максимальная концентрация цефтриаксона (мкг/мл) в плазме крови;

$t_{\max}$  — время достижения максимальной концентрации, ч;

MRT — среднее время удержания, ч;

$AUC_{0-8}$  — площадь под кривой «концентрация-время» для препарата в интервале от 0 до 8 ч (в мкг\*ч/мл для цефтриаксона);

$AUC_{0-\infty}$  — площадь под кривой «концентрация-время» для препарата в интервале от 0 до  $\infty$  (в мкг\*ч/мл для цефтриаксона);

$k_{el}$  — константа скорости элиминирования препарата;

$T_{1/2}$  — период полувыведения препарата, ч;

MRT — время удержания препарата, ч.

Кроме того, усреднялись значения концентраций во все сроки наблюдения.

Все расчеты, проводили с помощью автоматизированной компьютерной программы «Резольвента»,

дисперсионный анализ «ANOVA», Statistica 6.0, Word, Excel и других специализированных компьютерных программ.

Для сравнительной фармакокинетической оценки показателей опытной и контрольной групп был проведен статистический анализ полученных данных.

В качестве основных переменных при этом были выбраны показатели AUC (площадь под кривой),  $T_{max}$  (время достижения максимальных концентраций),  $C_{max}$  (максимальная концентрация препарата в плазме крови) и  $C_{max}/AUC$  для соответствующих фармакокинетических кривых.

Моменты фармакокинетических кривых (AUC, MRT для заданного интервала времени 0—t) были рассчитаны по правилу трапеций. Период времени наблюдения t был равен 8 ч.

С помощью дисперсионного анализа (ANOVA; параметрический метод) оценивали различия между средними значениями фармакокинетических параметров двух групп животных после в/м введения препарата при 5% уровне значимости (\* —  $p < 0,05$  при сравнении с контрольной группой).

Количественную оценку цефтриаксона в плазме крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ детектированием.

Пробы для получения калибровочных кривых (спайки) готовили путем добавления известного количества стандарта определяемого соединения в интактную плазму крови.

Количественный анализ проводили методом абсолютной калибровки с использованием программного обеспечения «Galaxy» компании «VARIAN». Калибровочную зависимость получали в результате анализа проб плазмы с добавлением известного количества стандартов определяемого соединения.

Валидация методики количественного определения цефтриаксона в плазме методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ детектированием была проведена в соответствии с нормами GCP/CLP, руководством FDA для предприятий «Bioanalytical Method Validation» (Май 2011 г.) По результатам проведенной валидации чувствительность метода составила 0,5 мкг/мл. Воспроизводимость, точность и достоверность достигалась во всем интервале концентраций. Степень извлечения из плазмы крови составила 84,6%.

Анализ фармакокинетических данных произведен в соответствии с Методическими рекомендациями по проведению качественных клинических исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов МЗ РФ (2008) и In vivo bioequivalence guidances (U.S. Pharmacopeia 24 'NF 19, National Formulary, Supplement 1090, 2000).

Программа эксперимента была обсуждена и одобрена комиссией по биомедицинской этике ФГБУ НИИ ОПП РАМН.

Все манипуляции с животными производили в соответствии с требованиями Совета Европейского сообщества 86/609/ЕЕС об использовании животных для экспериментальных исследований.

### Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ основных фармакокинетических параметров цефтриаксона в сравниваемых группах животных показал, что изучаемые препараты быстро всасываются из места введения с разной скоростью. Так параметр, характеризующий скорость всасывания —  $C_{max}/AUC_{0-8}$ , составил для опытной группы  $0,576 \pm 0,0249^* \text{ ч}^{-1}$  и для контроля —  $0,504 \pm 0,01558 \text{ ч}^{-1}$ . Таким образом, скорость всасывания у опытной группы выше, чем у контроля.

Среднее значение времени достижения максимальной концентрации ( $T_{max}$ ) составило для опытной группы  $0,28 \pm 0,058^* \text{ ч}$ , а для контрольной группы —  $0,50 \pm 0,123 \text{ ч}$  с минимальным значением  $T_{max} = 0,25 \text{ ч}$  для обеих групп животных, а для максимальных временных значений 0,50 и 0,75 ч соответственно для опыта и контроля. В опытной группе произошло уменьшение времени достижения максимальной концентрации по сравнению с контрольной. Как было показано ранее, скорость всасывания была выше у опытной группы (параметр  $C_{max}/AUC_{0-8}$ ) примерно в 1,14 раза.

Средняя максимальная концентрация цефтриаксона, определяемая в плазме крови животных ( $C_{max}$ ), составила для опытной группы —  $115,72 \pm 10,04 \text{ мкг/мл}$  и для контроля —  $120,20 \pm 14,04 \text{ мкг/мл}$ . Здесь также имеются некоторые различия в величинах максимальных значений  $C_{max}$ : 143,10 — опытная группа и 155,20 мкг/мл — контроль.

Среднее значение  $AUC_{0-8}$  цефтриаксона для опытной группы составило  $201,63 \pm 17,21^* \text{ мкг} \times \text{ч/мл}$  и для контроля —  $239,39 \pm 30,36 \text{ мкг} \times \text{ч/мл}$ . Степень относительной биологической доступности (всасывания) цефтриаксона у опытной группы по сравнению с контролем, определяемая отношением соответствующих значений  $AUC_{0-t}$ , составила 84,2%.

Среднее значение  $AUC_{0-\infty}$  для цефтриаксона для опытной группы составило  $204,13 \pm 17,24^* \text{ мкг/мл} \times \text{ч}$  и для контроля —  $242,35 \pm 30,56 \text{ мкг} \times \text{ч/мл}$ . В этом случае, степень относительной биологической доступности изучаемого препарата на основании точечных индивидуальных оценок, определяемая отношением соответствующих значений  $AUC_{0-\infty}$ , также составила 84,2%.

Отношение области фармакокинетической кривой от момента  $AUC_{0-8}$  до  $AUC_{0-\infty}$  составило в среднем 96,01%, что говорит о достаточности времени отбора проб крови.

В целом, подводя итог, можно констатировать, что в опытной группе происходило более быстрое всасывание препарата, быстрее достигалось время максимальной концентрации цефтриаксона в плазме, но относительная биодоступность была выше в контрольной группе на фоне более высоких максимальных значений концентрации цефтриаксона.

### Заключение

В проведенном экспериментальном исследовании установлено, что моделирование эффектов микрогравитации влияет на фармакокинетические параметры антибактериального препарата цефтриаксон.

В первую очередь, в условиях АНОГ происходит увеличение скорости всасывания препарата и скорости наступления максимальной концентрации. В ситуации с антибактериальным лекарственным средством это не имеет существенного терапевтического значения. Однако, если эта закономерность относится и к другим лекарственным препаратам это может оказать существенное влияние на схемы интенсивной терапии с использованием сильнодействующих лекарственных средств: наркотических обезболивающих, седативных и снотворных препаратов, препаратов влияющих на системное артериальное давление и др.

В тоже время, установлено, что максимальная концентрация цефтриаксона несколько выше в контрольной группе. В условиях АНОГ также снижается биодоступность цефтриаксона после в/м введения. Учитывая особенности фармакокинетики цефтриаксона и кратность его введения: 1—2 раза в сутки, снижение биодоступности и максимальной концентрации может привести к ослаблению антибактериального эффекта препарата. Это может потребовать коррекции схем введения или дозировки цефтриаксона.

Поскольку цефтриаксон практически не метаболизируется в организме возможным механизмом выявленного снижения максимальной концентрации препарата и его биодоступности вероятнее всего является изменения скорости экскреции. Это может быть связано с изменением почечного и печеночного кровотока.

Знание кинетики и динамики поведения фармакологического препарата позволяет рассчитать и разработать эффективные методы введения препаратов и режимы приема, усовершенствовать существующие режимы применения для индивидуальных специфических нужд, а также понять причину необычных фармакологических ответов, а значит и скорректировать их в будущем.

### Список литературы

1. *Астахов Д.А., Баранов М.В., Панченков Д.Н.* и др. Морфологические аспекты влияния антиортостатической гипокинезии на течение экспериментального перитонита // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2012. Т. V. №2. С. 258-263.
2. *Астахов Д.А., Баранов М.В., Панченков Д.Н.* Физиологические эффекты микрогравитации как факторы риска заболеваний в космическом полете // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2012. — №2. — С. 70-76.
3. *Гончаров И.Б., Ковачевич И.В., Жернаков А.Ф.* Анализ заболеваемости в космическом полете. // Космическая биология и медицина, М. Наука, 2001, т. IV, С.145-164.
4. *Ковачевич И.В., Репенкова Л.Г., Кондратенко С.Н.* Исследование особенностей фармакологического воздействия в условиях длительного космического полета «Фарма» // Международная космическая станция. Российский сегмент. Москва, 2011, Том 1., С. 229-235.
5. *Панченков Д.Н., Баранов М.В., Астахов Д.А.* и др. Биохимические аспекты влияния антиортостатической гипокинезии на течение экспериментального перитонита // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2013, №1, С. 56-60.
6. *Синтрон Н.М., Путча Л.* Фармакокинетика в полете // Космическая биология и медицина. Совместное российско-американское издание. Человек в космическом полете. — М.: Наука, 1997. — Т. 3 — Кн. 2. — С. 469-486.
7. *Nelson B., Gardner R., Osiler D.* et al. Medical impact analysis for the space station //Aviat. Space and Environ. Med. 1990. Vol. 61, N 2.P.169-175.
8. *O'Connell S.E., Zurzola F.J.* A rapid quantitative determination of acetaminophen in plasma.// J. Pharm. Sci. 1982, Vol.71, №11, P. 1291-1294
9. *Putcha L., Cintron N.M., Vanderploeg J.M.* Pharmacokinetics of scopolamine in normal subjects placed on anti-orthostatic bedrest: (abstract) Ann. sci. meet. of the aerosp. med. Assoc. Wash. (DC). 1989.
10. *Putcha L., Pool S.L., Cintron N.M.* Pharmacology//Space Physiology and Medicine. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Lae and Febiger. — 1994. — P. 435-446.
11. *Wegmann H.M.* Health risk and medical care considerations for the European space program // III Nihon Univ. Intern.Symp. on aerospace science Tokyo, 1990. P. 49-54.

Поступила 10.12.13

### Сведения об авторах:

*Баранов Михаил Викторович* — к.м.н., заместитель директора по медицинским вопросам дирекции Научно-исследовательского института космической медицины ФГБУ ФНКЦ ФМБА России

*Архипова Елена Николаевна* — к.б.н., с.н.с. лаборатории полисистемных исследований ФГБУ «Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии» РАМН

*Лебедева Марина Андреевна* — д.б.н., в.н.с. лаборатории полисистемных исследований ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН

*Хлебникова Надежда Николаевна* — к.б.н., в.н.с. лаборатории общей патологии нервной системы ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН

*Медведева Юлия Сергеевна* — м.н.с. лаборатории полисистемных исследований ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН