
ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ЭКСПРЕССИИ ГЛИКОПРОТЕИНА-R ПРИ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА

Е.Н. Якушева, Д.С. Титов, Н.М. Попова, А.Н. Рябков

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

На 16 половозрелых кроликах-самцах породы Шиншилла изучена функциональная активность и экспрессия белка-транспортера гликопротеина-R (АВСВ1-белка) на фоне аллоксан-индуцированного сахарного диабета 2-го типа. Сахарный диабет моделировали однократным внутривенным введением раствора аллоксана моногидрата в цитратном буфере. Активность гликопротеина-R оценивали по фармакокинетике его маркерного субстрата — фексофенадина после однократного внутрижелудочного введения. Уровень экспрессии гликопротеина-R определяли иммуногистохимически. Выявлено снижение транспортной функции АВСВ1-белка в результате ингибирования его функциональной активности и экспрессии, сопровождающееся уменьшением уровня постпрандиального инсулина и инсулиногенного индекса и повышением содержания постпрандиальной глюкозы в крови.

Ключевые слова: гликопротеин-R, АВСВ1-белок, функциональная активность, экспрессия, аллоксан-индуцированный сахарный диабет 2 типа

Актуальность. Гликопротеин-R (P-gr) — эффлюксный АТФ-зависимый белок-транспортер (АВСВ1-белок), локализующийся на апикальной мембране эпителиоцитов слизистой оболочки кишечника и проксимальных канальцев нефронов, на билиарной поверхности гепатоцитов, в гистогематических барьерах, а также в форменных элементах крови и опухолевых клетках. Основной физиологической функцией P-gr является поддержание внутриклеточного гомеостаза за счет экскреции липофильных ксенобиотиков и биобиотиков из клеток во внеклеточное пространство или полости органов. Кроме того, P-gr играет ключевую роль в фармакокинетике целого ряда лекарственных веществ, обеспечивая их выведение из клетки.

Функциональная активность P-gr вариабельна и зависит от генетических особенностей организма, действия факторов внешней и внутренней среды, применения лекарственных средств [1]. Повышение активности белка-транспортера приводит к снижению всасывания лекарственных веществ в кишечнике, усилению их экскреции печенью и почками и, как следствие, к неэффективности проводимой фармакотерапии. Снижение функционирования Pgr может стать причиной относительной передозировки и нежелательных лекарственных реакций [2].

Поскольку в роли регуляторов АВСВ1-белка способны выступать эндогенные соединения, для эффективной и безопасной фармакотерапии очевидна необходимость учета изменений со стороны P-gr на фоне различных патологий.

Целью настоящего исследования явилось изучение функциональной активности и экспрессии гликопротеина-R у кроликов на фоне сахарного диабета (СД) 2-го типа.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на 16 половозрелых кроликах-самцах породы Шиншилла, средней массой 3500—4500 г [3]. Работу с животными осуществляли в соответствии с правилами лабораторной практики (прил. к приказу Минздравсоцразвития РФ № 708н от 23.08.2010).

У животных моделировали СД 2-го типа ($n = 8$) и изучали изменения уровня инсулина, глюкозы, функциональной активности экспрессии Р-гр на фоне развившейся патологии. Группа контроля для изучения экспрессии белка-транспортера на фоне нормы включала 8 животных.

Сахарный диабет моделировали однократным внутривенным введением раствора аллоксана моногидрата в цитратном буфере ($\text{pH} = 4,0$) в дозе 80 мг/кг массы. Кролики, у которых через месяц после инъекции уровень глюкозы натощак был не более 13,89 ммоль/л на фоне сохраненной секреции базального инсулина; концентрация постпрандиальной глюкозы (120 минута) отличалась от базальной, а инсулиногенный индекс и уровень инсулина на 45 минуту после пероральной глюкозной нагрузки были снижены, признавались больными СД 2-го типа [4; 5].

Уровень инсулина в сыворотке крови определяли натощак, на 10 и 45 минуты после пероральной глюкозной нагрузки (3 г/кг). Сывороточную концентрацию глюкозы измеряли натощак, на 10, 90 и 120 минуты после глюкозной нагрузки, рассчитывали гликемический и инсулиногенный индексы [4; 5]. Содержание глюкозы (ммоль/л) определяли глюкозооксидазным методом с использованием наборов «Human» (Германия), инсулин (мкЕД/мл) — радиоиммунным методом с применением набора «Immunotech» (Чехия).

Функциональную активность Р-гр определяли по анализу плазменной концентрации маркерного субстрата фексофенадина («Телфаст» 180 мг, Aventis Pharma, Италия) в плазме крови после его однократного внутрижелудочного введения в дозе 67,5 мг/кг массы тела [3; 6]. Пробы крови забирали из краевой вены уха кролика через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 и 24 часа после введения препарата, центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин, плазму хранили до анализа при $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Концентрации фексофенадина в плазме крови определяли методом ВЭЖХ на хроматографе «Стайер» (Россия) с УФ-спектрофотометрическим детектором UVV104 и обращено-фазовой колонкой Ultrasphere фирмы «Beckman Coulter» 4,6*250 мм (зернение 5 мкм). Экстракцию фексофенадина осуществляли с применением дихлорметана («ACROSORGANICS»), этилацетата («ACROSORGANICS») 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 («ACROSORGANICS»). рН подвижной фазы доводили до 5,0 триэтиламино. Время удерживания пика фексофенадина составило $12,31 \pm 0,01$ мин.

При помощи программы «Kinetic 5.0» рассчитывали фармакокинетические параметры фексофенадина: C_{max} — максимальная концентрация (нг/мл); T_{max} — время достижения максимальной концентрации (ч); AUC_{0-t} — площадь под кривой «концентрация—время» от нуля до последнего забора крови (нг/мл)×ч; $AUC_{0-\infty}$ — площадь под кривой «концентрация—время» от нуля до бесконечности (нг/мл)×ч; $T^{1/2}$ — период полувыведения (ч); MRT — среднее время удерживания препарата в системном кровотоке (ч); общий клиренс (л/ч); V_d — объем распределения (л).

Экспрессию P-gr определяли непрямым иммуногистохимическим методом. Для этого кроликов выводили из эксперимента методом воздушной эмболии. Забирали образцы тощей кишки, печени, почек и коры больших полушарий головного мозга, которые фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина.

Гистологический материал подвергали стандартной обработке: производили обезвоживание в растворах этилового спирта возрастающей концентрации, просветляли ксилолом, с последующим заключением в парафин. Перед реакцией иммунного окрашивания производили демаскировку антигенов тканей нагреванием на водяной бане в 10 мМ цитратном буфере (pH = 6,0), блокировали эндогенную пероксидазу 3%-м раствором пероксида водорода. Срезы инкубировали с первичными антителами к P-gr (ABCB1 antibody — middle region, 100 мкл (Aviva Systems Biology ARP51326_P050, США)) в разведении 1 : 50. Для иммунного окрашивания применяли полимерную систему детекции с пероксидазной меткой («Leica Microsystems», Германия). Ядра клеток докрашивали гематоксилином.

Микропрепарат фотографировали с помощью цифровой камеры Canon Power Shot G5 при увеличении в 400 раз. В каждом гистологическом препарате оценивали 10 репрезентативных участков. В дальнейшем изображения анализировали с помощью программы «ImageJ» и плагина «IHCProfiler» [108]. Уровень экспрессии определяли в «+», по интенсивности и площади окраски («+++» — высокая, «++» — умеренная, «+» — слабая, 0 — отсутствие экспрессии). Интенсивность окраски «диаминобензидина» оценивали количественно в диапазоне от 0 (черное) до 255 (белое).

Полученные экспериментальные данные были подвергнуты математико-статистической обработке с использованием офисного пакета «Microsoft Office XP» и программ Statistica 8.0 и IBM SPSS Statistics 20. Характер распределения данных оценивали по критерию Шапиро—Уилка.

Для фармакокинетических параметров (за исключением T_{max}) рассчитывали двухсторонний 90% доверительный интервал отношения средних геометрических после предварительного логарифмирования значений изучаемых параметров фармакокинетики у интактных кроликов и на фоне СД 2-го типа. Достоверными принимались различия между фармакокинетическими параметрами, двухсторонний 90% доверительный интервал отношения средних геометрических которых полностью находился за пределами диапазона 80—125% (0,8—1,25), (т.е. –20%; +25%) [7]. Полученные результаты представлялись в виде среднего геометрического (Geom. mean) и его 95% доверительного интервала (95% CI (ДИ)). Статистическую значимость для T_{max} рассчитывали при помощи критерия Уилкоксона, без определения характера распределения.

Для исследования статистической значимости изменений уровней инсулина и глюкозы в крови в случае нормального распределения данных применяли парный критерий Стьюдента. Для оценки показателей, распределение которых отличалось от нормального, использовали критерий Уилкоксона.

Результаты в таблицах представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения среднего арифметического ($M \pm SD$) в случае нормаль-

ного распределения данных; медианы, нижнего и верхнего квартилей (Med, Iq, uq) в случае отличного от нормального распределения данных.

Изучение статистической значимости изменений экспрессии P-gr проводили критерием Манна—Уитни. Для описания данных использовали моду (Mode) и размах вариации (Range (R)), а также медиану (Median) и верхний и нижний квартили (Iq; uq).

Результаты и их обсуждение. У кроликов с аллоксан-индуцированным СД 2-го типа отмечалось достоверное уменьшение ($p < 0,05$) уровня инсулина на 45-й минуте после глюкозной нагрузки на 72,05% и инсулиногенного индекса на 99,81%, а также повышение ($p < 0,05$) содержания глюкозы на 90-й минуте на 130% и на 120-й минуте на 190,94% после глюкозной нагрузки по сравнению со значениями интактных животных (табл. 1).

Таблица 1

Изменения уровней инсулина и глюкозы на фоне аллоксан-индуцированного сахарного диабета 2-го типа (Mean \pm SD или Media (Iq; uq))

| Изучаемые параметры | Исходные значения ($n = 8$) | СД 2-го типа ($n = 8$) |
|--------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| Инсулин 45 мин, мкЕД/мл | 16,96 \pm 4,65 | 4,74 \pm 2,58 ^c |
| Глюкоза 90 мин, ммоль/л | 7,80 \pm 1,22 ^{a,b} | 17,94 \pm 2,62 ^{a,c} |
| Глюкоза 120 мин, ммоль/л | 6,29 \pm 0,91 | 18,30 \pm 2,59 ^{a,c} |
| Гликемический индекс натощак | 1,23 \pm 0,4 | 2,11 \pm 1,21 |
| Инсулиногенный индекс на 10-й минуте | 0,9873 (0,4154; 18,4301) | 0,0019 (-0,0639; 0,1143) ¹ |

Примечание: ^a — уровень значимости $< 0,05$ ($p < 0,05$) по сравнению со значениями базальной глюкозы в соответствующем периоде (исходные значения, СД 2-го типа); ^b — уровень значимости $< 0,05$ ($p < 0,05$) по сравнению со значениями глюкозы на 120 минуту после глюкозной нагрузки в соответствующем периоде (исходные значения, СД 2-го типа); ^c — уровень значимости $< 0,05$ ($p < 0,05$) по сравнению с исходными значениями.

Анализ фармакокинетических параметров фексофенадина на фоне СД 2-го типа показал следующие достоверные изменения по сравнению с исходными значениями (табл. 2): увеличение Geom. mean C_{max} на 82,96% (90% ДИ \uparrow 62,03%; \uparrow 106,59%); увеличение Geom. mean $T_{1/2}$ на 120,81% (90% ДИ \uparrow 37,08%; \uparrow 255,67%); увеличение Geom. mean AUC_{0-t} на 103,78% (90% ДИ \uparrow 63,23%; \uparrow 154,36%); увеличение Geom. mean $AUC_{0-\infty}$ на 208,89% (90% ДИ \uparrow 97,85%; \uparrow 382,26%); увеличение Geom. mean MRT на 109,07% (90% ДИ \uparrow 31,38%; \uparrow 232,7%); снижение Geom. mean Cl на 67,63% (90% ДИ \downarrow 49,46%; \downarrow 79,27%); снижение Geom. mean Vd на 32,34% (90% ДИ \downarrow 22,34%; \downarrow 41,06%).

Фексофенадин является маркерным субстратом P-gr, так как его фармакокинетика зависит только от функционирования данного белка-транспортера, который препятствует его всасыванию в кишечнике и способствует выведению с желчью (90%) и мочой (10%) [8]. Изменения параметров фармакокинетики фексофенадина при СД 2-го типа (увеличение C_{max} , $T_{1/2}$, AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, MRT и уменьшение Cl и Vd фексофенадина) свидетельствуют об увеличении концентрации препарата в крови за счет повышения всасывания и снижения экскреции, что указывает на ингибирование функциональной активности ABCB1-белка на фоне СД 2-го типа.

Таблица 2

Усредненные фармакокинетические параметры фексофенадина (67,5 мг/кг) у кроликов на фоне сахарного диабета 2-го типа (Media (Iq; uq)/Geom. Mean (95% CI (ДИ)))

| Исследуемые параметры | Исходные значения (n = 8) | СД 2-го типа (n = 8) |
|------------------------------|----------------------------|---|
| C_{max}^1 , нг/мл | 124,29 (102,36; 150,92) | 227 (186,29; 277,6) ¹ |
| T_{max}^1 , ч | 3,5 (3; 4) | 4 (3; 5) |
| TS, ч | 11,69 (8,07; 16,93) | 25,8 (15,75; 42,29) ¹ |
| AUC_{0-t} , (нг/мл)×ч | 1212,40 (1073,58; 1369,16) | 2470,47 (2032,73; 3002,48) ¹ |
| $AUC_{0-\infty}$, (нг/мл)×ч | 1762,41 (1454,20; 2135,93) | 5443,95 (3393,50; 8733,35) ¹ |
| Cl, л/ч | 2974,29 (2293,80; 3856,65) | 2012,31 (1645,67; 2460,63) ¹ |
| Vd, л | 163,33 (134,94; 197,69) | 52,87 (34,86; 80,19) ¹ |
| MRT, ч | 18,20 (12,89; 25,69) | 38,05 (23,66; 61,20) ¹ |

Примечание: ¹ — двухсторонний 90% доверительный интервал отношения средних геометрических к средним геометрическим исходных значений, не укладывающийся в пределы диапазона 80—125% (0,8—1,25), (т.е. -20%; +25%) (СД 2-го типа/исходные значения).

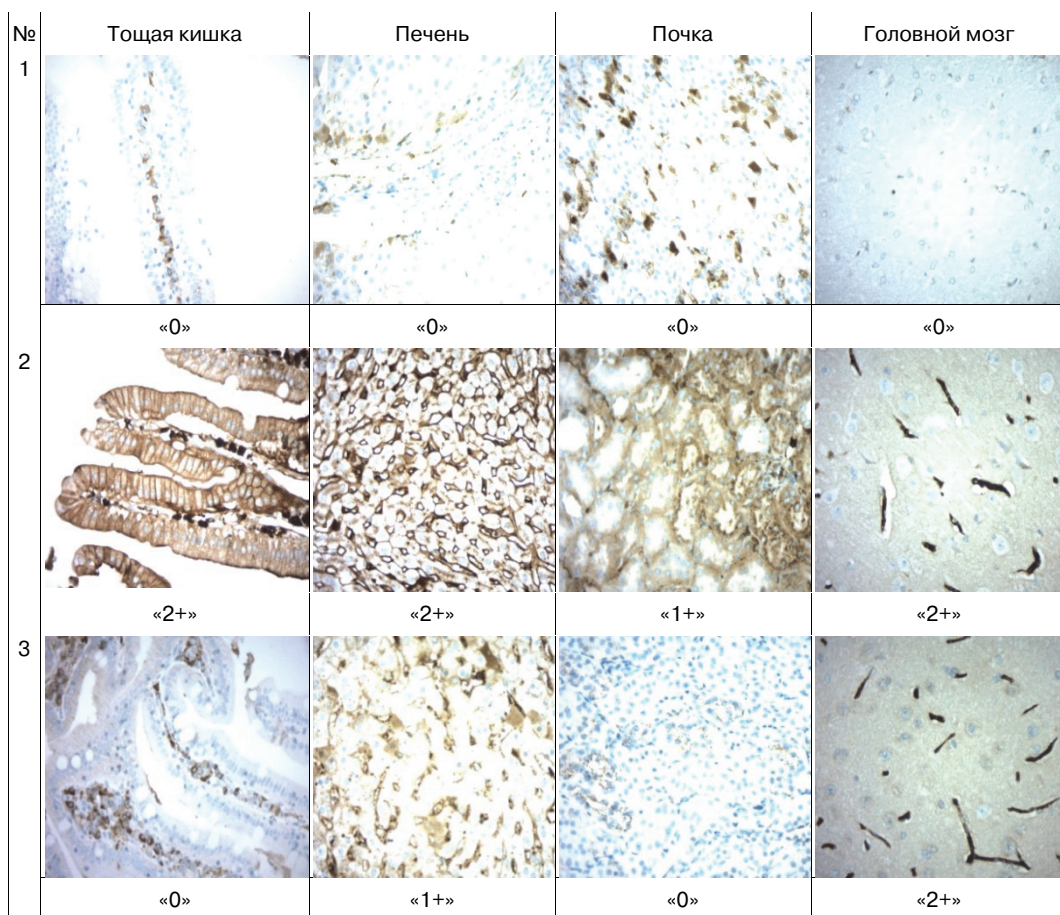


Рис. 1. Иммуногистохимическая картина экспрессии гликопротеина-P у интактных кроликов и животных с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом 2-го типа (×400 раз)

Примечание: 1 — без первичных антител в тканях интактных кроликов; 2 — с первичными антителами (группа контроля) в тканях интактных кроликов; 3 — аллоксан-индуцированный сахарный диабет 2-го типа

**Экспрессия в «+» гликопротеина-R в тканях кроликов
на фоне аллоксан-индуцированного сахарного диабета 2-го типа
(Mode (R)/Media (Iq; uq))**

| Орган | Контроль (интактные кролики) (n = 8) | СД 2-го типа (n = 8) |
|-------------|---|------------------------------|
| Тощая кишка | 2(1)/2 (2;2) | 0(1)/0 (0;1) ¹ |
| Печень | 2(1)/2 (2;2) | 1(1)/1 (1;1) ¹ |
| Почка | 1 (0)/1 (1;1) | 0 (1)/0 (0;0,5) ¹ |
| Мозг | 2(1)/2 (2;2) | 2(0)/2 (2;2) |

Примечание: ¹ — уровень значимости < 0,05 (p < 0,05) по сравнению с исходными значениями.

При исследовании экспрессии Р-гру кроликов с СД 2-го типа выявлено ее достоверное уменьшение в тканях тощей кишки, печени и почек ($p < 0,05$), при этом экспрессия белка-транспортера в гематоэнцефалическом барьере оставалась неизменной (рис., табл. 3).

Таким образом, на фоне аллоксан-индуцированного СД 2-го типа отмечается снижение транспортной функции ABCB1-белка в результате ингибирования его функциональной активности и экспрессии, сопровождающееся уменьшением уровня постпрандиального инсулина и инсулиногенного индекса и повышением содержания постпрандиальной глюкозы в крови.

Известно, что инсулин и глюкоза являются эндогенными регуляторами Р-гр. В исследовании *in vitro* выявлено, что повышение уровня глюкозы приводит к накоплению субстратов ABCB1 белка в культуре клеток MCF-7 вследствие снижения его экспрессии [9]. При моделировании на мышях стрептозоцин-индуцированного СД 1-го типа отмечалось выраженное уменьшение функциональной активности и экспрессии Р-гр [10]. Показано увеличение экспрессии белка-транспортера в капиллярах полосатого тела при моделировании СД 2-го типа у мышей [11]. В исследованиях *in vitro* на клетках линий Сасо-2 и MCF-7 выявлено увеличение функциональной активности и экспрессии Р-гр в условиях низкого уровня глюкозы [12; 13]. Вероятно, в регуляции функционирования ABCB1 белка принимает участие цАМФ-зависимая протеинкиназа А, активность которой снижается при высоком уровне глюкозы [13].

В опытах *in vitro* установлено, что инсулин индуцирует экспрессию Р-гр в гепатоцитах и эндотелиоцитах микрососудов головного мозга посредством активации транскрипционного фактора NF-kB через Raf-1 киназу [14]. В исследованиях *in vivo* и *in vitro* отмечались изменения функциональной активности и экспрессии Р-гр у крыс и мышей со стрептозоцин-индуцированным СД 1-го типа [10; 15].

Учитывая вышеизложенное, ингибирование ABCB1-белка при аллоксан-индуцированном СД 2-го типа могло быть связано со снижением уровня инсулина и повышением содержания глюкозы крови, что подтверждает результаты, полученные в других исследованиях, выполненных *in vitro* и на других видах животных.

Выводы

1. Однократное внутривенное введение кроликам раствора аллоксана моногидрата (80 мг/кг) вызывает достоверное уменьшение уровня инсулина на 45-й ми-

нута после глюкозной нагрузки и инсулиногенного индекса, а также повышение содержания глюкозы на 90-й и 120-й минуте после глюкозной нагрузки и приводит к развитию сахарного диабета 2-го типа.

2. Моделирование аллоксан-индуцированного сахарного диабета 2-го типа у кроликов вызывает ингибирование функциональной активности гликопротеина-Р, определяемой по фармакокинетике маркерного субстрата фексофенадина, и сопровождается снижением экспрессии белка-транспортера в тканях печени, почек и тощей кишки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- [1] Якушева Е.Н., Черных И.В., Шулькин А.В. и др. Гликопротеин-Р: структура, физиологическая роль и молекулярные механизмы модуляции функциональной активности // Усп. физиол. наук. 2014. Т. 45. № 4. С. 89—98.
- [2] Шулькин А.В., Якушева Е.Н., Попова Н.М. Роль гликопротеина-Р в рациональной фармакотерапии в кардиологии // Рац. фармакотер. в кардиол. 2013. Т. 9. № 6. С. 701—707.
- [3] Гацанога М.В., Черных И.В., Шулькин А.В. и др. Можно ли оценивать принадлежность лекарственных веществ к субстратам гликопротеина-Р на самках кроликов породы шиншилла // Наука молодых — Eruditio Juvenium. 2016. № 3. С. 5—10.
- [4] Shukla R., Anand K., Prabhu K.M. et al. Hypoglycaemic effect of the water extract of *Ficus bengalensis* in alloxan recovered, mildly diabetic and severely diabetic rabbits // Int. J. of Diabetes in Developing Countries. 1994. V. 14. P. 78—81.
- [5] Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / редкол.: А.Н. Миронов [и др.]. М.: Гриф и К, 2012. Ч. 1.
- [6] Якушева Е.Н., Шулькин А.В., Черных И.В. и др. Функциональная активность гликопротеина-Р при экспериментальных манипуляциях // Рос. мед-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2014. № 2. С. 74—77.
- [7] Guidance for Industry Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations / U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Rockville, 2012.
- [8] Molimard M., Diquet B., Benedetti M.S. Comparison of pharmacokinetics and metabolism of desloratadine, fexofenadine, levocetirizine and mizolastine in humans // Fund. & Clin. Pharmacol. 2005. V. 18(4). P. 399—411.
- [9] Pandey V., Chaube B., Bhat M.K. Hyperglycemia regulates MDR-1, drug accumulation and ROS levels causing increased toxicity of carboplatin and 5-fluorouracil in MCF-7 cells // J. of cell.biochem. 2011. V. 112. № 10. P. 2942—2952.
- [10] Nawa A. Inducible nitric oxide synthase-mediated decrease of intestinal P-glycoprotein expression under streptozotocin-induced diabetic conditions // Life sci. 2010. V. 86. № 11. P. 402—409.
- [11] Wu K.C., Pan H.J., Yin H.S. et al. Change in P-glycoprotein and caveolin protein expression in brain striatum capillaries in New Zealand obese mice with type 2 diabetes // Life sci. 2009. V. 85. № 23. P. 775—781.
- [12] Ledoux S., Yang R., Friedlander G. et al. Glucose depletion enhances P-glycoprotein expression in hepatoma cells role of endoplasmic reticulum stress response // Cancer res. 2003. V. 63. № 21. P. 7284—7290.
- [13] Li Q., Sai Y., Kato Y. et al. Influence of drugs and nutrients on transporter gene expression levels in Caco-2 and LS180 intestinal epithelial cell lines // Pharmac. res. 2003. V. 274. № 39. P. 27371—27378.

- [14] Zhou G., Kuo M.T. NF- κ B-mediated induction of mdr1b expression by insulin in rat hepatoma cells // *J. of Biolog. Chem.* 1997. V. 272. № 24. P. 15174—15183.
- [15] Zhang L., Lu L., Jin S. et al. Tissue-specific alterations in expression and function of P-glycoprotein in streptozotocin-induced diabetic rats // *Acta Pharmacol. Sinica.* 2011. V. 32. № 7. P. 956—966.

P-GLYCOPROTEIN FUNCTIONAL ACTIVITY AND EXPRESSION IN TYPE 2 ALLOXAN DIABETES

**E.N. Yakusheva, D.S. Titov,
N.M. Popova, A.N. Ryabkov**

Ryazan state medical university, Ryazan, Russia

On 16 Chinchilla rabbits males of breed with type 2 alloxan diabetes P-glycoprotein functional activity and expression was studied. The diabetes mellitus was modelled by intravenous administration of alloxan monohydrate in the citrate buffer. P-glycoprotein functional activity was assessed by pharmacokinetics of its probe substrate — fexofenadine after its single oral administration. P-glycoprotein expression was investigated by immunohistochemistry method. The inhibition of P-glycoprotein functional activity and expression was followed by decrease of postprandial insulin level and an insulinogenic index and increase of postprandial glucose level in a blood.

Key words: P-glycoprotein, ABCB1 protein, functional activity, expression, alloxan diabetes of the second type

REFERENCES

- [1] Yakusheva E.N., Chernykh I.V., Shchulkin A.V. et al. P-Glycoprotein: Structure, Physiological Role and Molecular Mechanisms of Modulation Functional Activity // *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk.* 2014. V. 45. № 4. P. 89—98.
- [2] Shchulkin A.V., Yakusheva E.N., Popova N.M. The role of P-glycoprotein in rational pharmacotherapy in cardiology // *Rational Pharmacotherapy in Cardiology.* 2013. V. 9. № 6. P. 701—707.
- [3] Gatsanoga M.V., Chernykh I.V., Shchulkin A.V. et al. The method of assessment of drugs belonging to the substrates of P-glycoprotein on female rabbits // *«Nauka molodykh» (Eruditio Juvenium).* 2016. № 3. P. 5—10.
- [4] Shukla R., Anand K., Prabhu K.M. et al. Hypoglycaemic effect of the water extract of *Ficus bengalensis* in alloxan recovered, mildly diabetic and severely diabetic rabbits // *Int. J. of Diabetes in Developing Countries.* 1994. V. 14. P. 78—81.
- [5] Management on carrying out preclinical researches of drugs / A.N. Mironov [et al.]. M.: Grif & Co, 2012. V. 1.
- [6] Yakusheva E.N., Shchulkin A.V., Chernykh I.V. et al. Functional activity of P-glycoprotein during experimental manipulations // *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2014. № 2. P. 74—77.
- [7] Guidance for Industry Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations / U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Rockville, 2012.

- [8] Molimard M., Diquet B., Benedetti M.S. Comparison of pharmacokinetics and metabolism of desloratadine, fexofenadine, levocetirizine and mizolastine in humans // *Fund. & Clin. Pharmacol.* 2005. V. 18(4). P. 399—411.
- [9] Pandey V., Chaube B., Bhat M.K. Hyperglycemia regulates MDR-1, drug accumulation and ROS levels causing increased toxicity of carboplatin and 5-fluorouracil in MCF-7 cells // *J. of cell. biochem.* 2011. V. 112. № 10. P. 2942—2952.
- [10] Nawa A. Inducible nitric oxide synthase-mediated decrease of intestinal P-glycoprotein expression under streptozotocin-induced diabetic conditions // *Life sci.* 2010. V. 86 № 11. P. 402—409.
- [11] Wu K.C., Pan H.J., Yin H.S. et al. Change in P-glycoprotein and caveolin protein expression in brain striatum capillaries in New Zealand obese mice with type 2 diabetes // *Life sci.* 2009. V. 85. № 23. P. 775—781.
- [12] Ledoux S., Yang R., Friedlander G. et al. Glucose depletion enhances P-glycoprotein expression in hepatoma cells role of endoplasmic reticulum stress response // *Cancer res.* 2003. V. 63. № 21. P. 7284—7290.
- [13] Li Q., Sai Y., Kato Y. et al. Influence of drugs and nutrients on transporter gene expression levels in Caco-2 and LS180 intestinal epithelial cell lines // *Pharmac. res.* 2003. V. 274. № 39. P. 27371—27378.
- [14] Zhou G., Kuo M.T. NF- κ B-mediated induction of *mdr1b* expression by insulin in rat hepatoma cells // *J. of Biolog. Chem.* 1997. V. 272. № 24. P. 15174—15183.
- [15] Zhang L., Lu L., Jin S. et al. Tissue-specific alterations in expression and function of P-glycoprotein in streptozotocin-induced diabetic rats // *Acta Pharmacol. Sinica.* 2011. V. 32. № 7. P. 956—966.