

Безопасность флураланера — нового противопаразитарного препарата системного действия — при пероральном применении у собак породы колли генотипа MDR1(–/–)

Feli M Walther, Allan J Paul, Mark J Allan, Rainer KA Roepke, Martin C Nuernberger

Аннотация

Общие сведения. Флураланер — новый системный эктопаразитицид для собак, обеспечивающий долговременную защиту против блох и клещей после однократного перорального применения. В настоящем исследовании изучена безопасность флураланера при пероральном применении в трехкратной предполагаемой клинической дозе у собак породы колли с дефектом гена белка множественной лекарственной устойчивости (MDR1(–/–))

Методы. В исследование было включено 16 собак породы колли, гомозиготных по делеции MDR1. Восемь колли один раз получили жевательные таблетки флураланера в дозе 168 мг/кг; в качестве контроля использовалось восемь колли, получивших плацебо. За всеми животными велось клиническое наблюдение до 28 дня после лечения.

Результаты. При введении трехкратной максимальной предполагаемой клинической дозы флураланера MDR1(–/–) собакам колли нежелательные явления не зафиксированы.

Выводы. Жевательные таблетки флураланера хорошо переносятся MDR1(–/–) собаками породы колли после перорального применения.

Ключевые слова: флураланер, Bravecto, собака, безопасность, MDR1.

Общие сведения

Флураланер — новое инсектицидное и акарицидное средство системного действия для собак, оказывающее длительный эффект после перорального применения. Флураланер принадлежит к новому классу соединений — изоксазолинам. Эти соединения действуют на ГАМК- и глутаматзависимые хлоридные каналы и обладают значительной селективностью в отношении нейронов членистоногих в сравнении с нейронами млекопитающих [1]. В полевом исследовании было продемонстрировано, что однократное пероральное применение флураланера у собак обеспечивает защиту против блох и клещей в течение как минимум 12 недель [2]. Значительная продолжительность действия обеспечивает большее удобство лечения по сравнению с препаратами против блох и клещей для ежемесячного применения, что потенциально может способствовать повышению комплаентности и снизить риск заболеваний, переносимых эктопаразитами.

Применение этого препарата системного действия у собак — носителей делеции гена множественной лекарственной устойчивости (MDR1) возможно. У собак, го-

мозиготных по этой мутации, не экспрессируется функциональный Р-гликопротеин [3] — эффлюксный насос, интенсивно экспрессирующийся в гематоэнцефалическом барьере и предотвращающий накопление лекарств в центральной нервной системе за счет эффлюксного механизма их транспорта [4]. Мутации MDR1 зафиксированы у различных пород собак, в частности грубошерстных и гладкошерстных колли, шелти, австралийской овчарки, овчарки макнаб, длинношерстного уиппета, шелковистого виндхаунда, староанглийской овчарки, английской овчарки, бордер-колли и валлера [5, 6]. Гомозиготная мутация (MDR1(–/–)) связана с повышенным риском нейротоксичности многих лекарств, что приводит к таким клиническим симптомам, как угнетенное состояние, мидриаз, слюноотделение, тремор, атаксия и кома [3, 7–10]. Несмотря на то, что у MDR1(–/–) собака не экспрессируется функциональный Р-гликопротеин, опубликованы данные об индивидуальной вариабельности чувствительности [7, 11]. В дополнение к тому, что *in vitro* флураланер характеризуется низкой аффинностью к рецепторам нейронов млекопитающих [1], в предыдущем исследовании безопасности высоких доз



у здоровых собак [12] и в полевом исследовании [2] не выявлено каких-либо признаков его нейротоксичности; настоящее исследование проведено с целью подтвердить безопасность препарата флураналера для приема внутрь у собак с подтвержденной мутацией MDR1(-/-). Для учета вариабельности чувствительности флураналер применялся в условиях передозировки, т. е. в дозе, в трикратно превышающей максимальную предполагаемую клиническую дозу в 56 мг/кг МТ [2].

Методы

В данное одноцентровое рандомизированное исследование в параллельных группах в слепом для исследователя режиме было включено 16 здоровых самцов и самок грубошерстных колли в возрасте 1,7–4,0 года (среднее 1,9 лет) массой 16–27 кг (среднее 22 кг). Собаки относились к четырем разным пометам, в каждой группе имелись собаки из трех разных пометов. Все животные были гомозиготными по делеции MDR1, что подтверждено генетическим тестированием (www.vetmed.wsu.edu/VCPL).

Исследование проведено в Мичигане, США, в соответствии с Законом о защите животных под надзором Министерства сельского хозяйства США; до начала исследования было получено одобрение Этического комитета. Исследование утверждено Институциональным комитетом по содержанию и использованию животных (№ IACUC СНК-13-0419).

Колли, здоровые по результатам первичного физического обследования и клинических анализов, содер-

жались отдельно друг от друга и получали стандартный коммерчески доступный корм в рекомендованных объемах. Животных случайным образом распределяли по группам с помощью следующего метода блочной рандомизации: собак сгруппировали по полу и отсортировали в порядке увеличения массы тела; если у двух животных масса тела совпадала, то их сортировали по увеличению номера микрочипа. Первые две собаки каждого пола образовали блок, который случайным образом распределили по каждой из двух групп, после чего этот процесс повторялся до получения в каждой группе по четыре самца и четыре самки. В общей сложности флураналер получили восемь колли, а в качестве контрольной группы использовались восемь колли, получавших плацебо.

Ожидаемый диапазон доз флураналера при стандартном клиническом применении — 25–56 мг/кг [2]. В настоящем исследовании изучалось однократное пероральное введение флураналера в виде жевательной таблетки при трехкратном превышении максимальной предполагаемой клинической дозы (168 мг флураналера / кг массы тела). Индивидуальную дозу для каждой получавшей препарат собаки рассчитывали исходя из массы тела, определенной за день до лечения. Использовался готовый коммерчески доступный препарат, предназначенный для выпуска под маркой Bravecto и произведенный в соответствии с положениями Надлежащей производственной практики (GMP). Однородность распределения флураналера в таблетках подтверждена ранее в рамках разработки препарата. Для

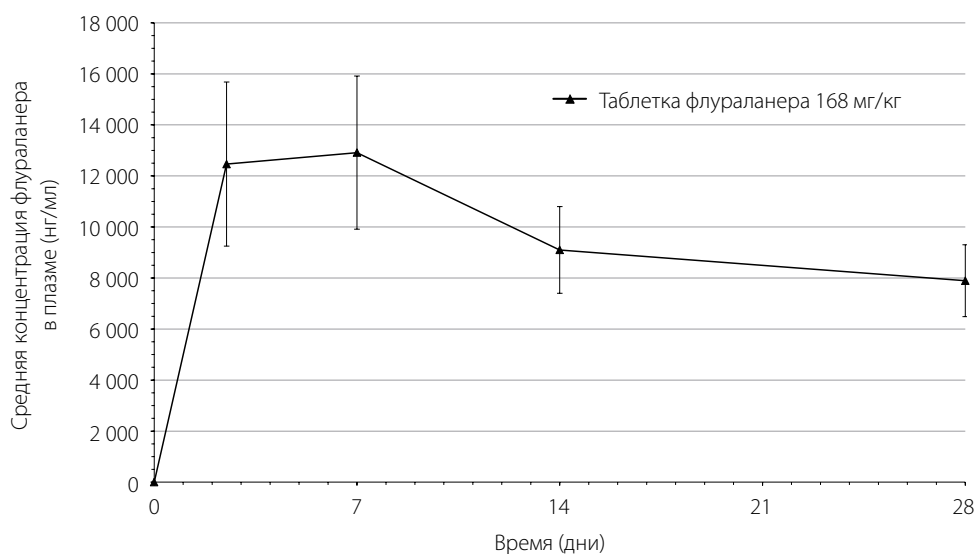


Рисунок 1. Средняя концентрация флураналера в плазме (\pm стандартное отклонение) после перорального применения MDR1(-/-) колли в дозе 168 мг/кг



получения рассчитанной дозы каждой собаке давались целые таблетки флураналанера (1400 мг флураналанера/таблетку) и фрагменты таблеток. За счет применения расщепленных таблеток максимальное отклонение от целевой дозы составило 0,5 мг флураналанера / кг массы тела. После применения таблетки собаке давали небольшое количество воды для стимуляции глотания. Контрольным собакам не давали препарат, имитируя его применение только водой. В день лечения (0-й день) собакам из обеих групп давали порцию консервированного корма в течение 30 минут до лечения и другую порцию консервированного корма — непосредственно после лечения (в общей сложности 350 граммов). Собак кормили с небольшим временным интервалом относительно лечения для обеспечения высокой системной экспозиции флураналанера, так как его биодоступность у собак повышается после приема пищи [13]. Нормальный суточный рацион пищи был предложен животным через один час после лечения.

До лечения и в течение первого часа после применения флураналанера за всеми собаками наблюдал технический специалист, отмечая общее состояние здоровья. Клиническая оценка проводилась ветеринаром, который не был осведомлен о групповой принадлежности каждой собаки, через 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60 и 72 часа после введения препарата. В основном, но не исключительно, при оценке обращали внимание на поведение, слюноотделение, рвоту, атаксию, тремор, мидриаз и зрачковый рефлекс. В период с 3 по 7-й день после лечения за собаками наблюдали четыре раза в день, а в течение оставшегося 21 дня периода исследования — дважды в день. Наблюдение вел техник, не осведомленный о групповой принадлежности каждой собаки. Кроме того, физикальный осмотр был проведен ветеринаром (не осведомленным о групповой принадлежности собак) до введения флураналанера, а также через 7, 14 и 28 дней. Ветеринарный ответственный исполнитель оценил взаимосвязь всех зарегистрированных параметров и всех клинических результатов с лечением флураналанером. Все связанные с лечением наблюдения классифицировались как нежелательные явления. Для оценки системной экспозиции флураналанера в течение периода исследования через определенные промежутки времени отбирались образцы крови. Время отбора образцов крови выбиралось на основании ранее полученных фармакокинетических данных [14], а образцы анализировались методом ЖХ-МС/МС с помощью прошедшей валидацию методики (предел количественного определения — 10 нг/мл).

Обсуждение результатов

Все получившие флураналанер собаки быстро употребили всю предложенную им пищу до и сразу после применения флураналанера.

Флураналанер количественно определялся в плазме всех получивших препарат собак начиная с первого момента

пробоотбора после применения препарата, что подтвердило дозозависимость системной экспозиции (рис. 1).

В течение первого часа клинических наблюдений после применения препарата и в ходе частых клинических осмотров в первые три дня после введения флураналанера рвота, чрезмерное слюноотделение и какие-либо иные симптомы не отмечались. Клинические наблюдения, полученные за период исследования, включали осадненную мозоль в средней части подколенка одной собаки до лечения, прикусывание языка одной собакой при кормлении до лечения, признаки эструса у трех собак в группе флураналанера и тахикардию у собаки из контрольной группы. Эти клинические наблюдения являются незначительными и не связаны с лечением флураналанером.

Клиническая оценка безопасности флураналанера — нового системного противопаразитарного препарата — у MDR1(-/-) собак, получивших препарат перорально в трехкратной рекомендованной клинической дозе, не выявила каких-либо нежелательных эффектов. Время тщательных клинических осмотров было подобрано так, чтобы в максимальной степени охватить период наибольшей ожидаемой системной концентрации флураналанера и обнаружить проявление потенциальных неврологических клинических симптомов. Однако в ходе частых клинических осмотров симптомов нейротоксичности, как и других нежелательных эффектов, зафиксировано не было.

Эти результаты согласуются с предыдущим исследованием безопасности [12] на здоровых собаках породы бигль, в котором признаки наличия симптомов нейротоксичности или каких-либо иных связанных с лечением эффектов при многократном пероральном применении флураналанера в дозе до 280 мг/кг обнаружены не были.

Выводы

Жевательные таблетки флураналанера хорошо переносятся MDR1(-/-) собаками породы колли после перорального применения.



Литература

1. Ozoe Y, Asahi M, Ozoe F, Nakahira K, Mita T: **The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels.** *Biochem Biophys Res Commun* 2010, **391**:744–749.
2. Rohdich N, Roepke RKA, Zschiesche E: **A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto™ (fluralaner) against Frontline™ (fipronil) in flea- and tick-infested dogs.** *Parasit Vectors* 2014, **7**:83.
3. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, Cantor GH: **Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene.** *Pharmacogenetics* 2001, **8**:727–733.
4. Schinkel AH: **The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins.** *Semin Cancer Biol* 1997, **8**:161–170.
5. Neff MW, Robertson KR, Wong AK, Safra N, Broman KW, Slatkin M, Mealey KL, Pedersen NC: **Breed distribution and history of canine *mdr1-1Δ*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, **101**:11725–11730.
6. Geyer J, Doering B, Godoy JR, Leidolf R, Moritz A, Petzinger E: **Frequency of the nt230(del4) MDR1 mutation in Collies and related dog breeds in Germany.** *J Vet Pharmacol Therap* 2005, **28**:545–551.
7. Paul AJ, Tranquilli WJ, Seward RL, Todd KS Jr, DiPietro JA: **Clinical observations in collies given ivermectin orally.** *Am J Vet Res* 1987, **48**:684–685.
8. Geyer J, Doering B, Godoy JR, Moritz A, Petzinger E: **Development of a PCR-based diagnostic test detecting a nt230(del4) MDR1 mutation in dogs: verification in a moxidectin-sensitive Australian Shepherd.** *J Vet Pharmacol Therap* 2005, **28**:95–99.
9. Geyer J, Klintzsch S, Meerkamp K, Woehlke A, Distl O, Moritz A, Petzinger E: **Detection of the nt230(del4) MDR1 mutation in White Swiss Shepherd dogs: case reports of doramectin toxicosis, breed predisposition, and microsatellite analysis.** *J Vet Pharmacol Therap* 2007, **30**:482–485.
10. Barbet JL, Snook T, Gay JM, Mealey KL: **ABCB1-1Δ (MDR1-1Δ) genotype is associated with adverse reactions in dogs treated with milbemycin oxime for generalized demodicosis.** *Vet Dermatol* 2009, **20**:111–114.
11. Martinez M, Modric S, Sharkey M, Troutman L, Walker L, Mealey K: **The pharmacogenomics of P-glycoprotein and its role in veterinary medicine.** *J vet Pharmacol Therap* 2008, **31**:285–300.
12. Walther FM, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: **Safety of fluralaner chewable tablets (Bravecto™), a novel systemic antiparasitic drug, in dogs after oral administration.** *Parasit Vectors* 2014, **7**:87.
13. Walther FM, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: **The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs.** *Parasit Vectors* 2014, **7**:84.
14. Kilp S, Ramirez D, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: **Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration.** *Parasit Vectors* 2014, **7**:85.