

ABSTRAKTY

Univerzita Komenského, Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Slovenská farmakologická spoločnosť SLS

Česká společnost pro experimentální a klinickou farmakologii a toxikologii ČLS JEP

Slovenská spoločnosť fyziológie a patológie dýchania SLS

Slovenská fyziologická spoločnosť SLS



64. ČESKO-SLOVENSKÉ FARMAKOLOGICKÉ DNI

24. MARTINSKÉ DNI DÝCHANIA

MARTIN

25. - 27. jún 2014



64. ČESKO-SLOVENSKÉ FARMAKOLOGICKÉ DNI
24. MARTINSKÉ DNI DÝCHANIA
25.-27.6.2014

64. Farmakologické dni a 24. Martinské dni dýchania Zborník abstraktov (vydané len ako elektronický dokument)

Zostavovatelia: doc. RNDr. Soňa Fraňová, PhD.
doc. MUDr. Juraj Mokrý, PhD.

JLF UK, Martin, 2014

Počet strán: 109

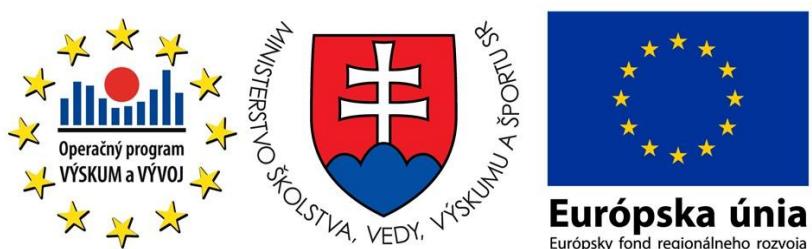
ISBN: 978-80-89544-70-7 (EAN 9788089544707)

Za obsahovú a jazykovú stránku súhrnov zodpovedajú autori.

Dostupné na <http://www.sfarm.sk/fdmdd2014>



Konferencia sa koná s podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja
na základe Zmluvy č. APVV-0305-12.



Podujatie je realizované s podporou projektu: Martinské centrum pre
biomedicínu (BioMed Martin), ITMS kód projektu: 26220220187

„Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ“

64. FARMAKOLOGICKÉ DNI 24. MARTINSKÉ DNI DÝCHANIA

Zborník abstraktov

Zborník abstraktov zo 64. Farmakologických dní a 24. Martinských dní dýchania organizovaných v dňoch 25.-27. Júna 2014 obsahuje súhrny prihlásených a prezentovaných príspevkov (prednášok a posterov) na tomto podujatí.

Farmakologické dni sa organizujú každoročne buď na území Slovenskej republiky alebo Českej republiky. Ide o prehliadku výsledkov aktuálne riešených projektov na jednotlivých farmakologických pracoviskách, ako aj poukázanie na smerovania rôznych oblastiach experimentálnej a klinickej farmakológie.

Martinské dni dýchania sa organizujú v dvojročnom intervale a významne prispievajú k neustálemu formovaniu martinskej škole respirologov.

Jednotlivé súhrny sú zoradené abecedne podľa priezviska prvého autora a na konci zboníka je zaradený register priezvisk autorov.

Zmeny hladiny vydychovaného NO a vybraných markerov oxidačného stresu u pacientov s karcinómom plúc.

Martina Antošová¹, Alica Benčová², Ivan Kocan², Daniela Mokrá¹, Pavol Mikolka¹, Petra Košútová¹, Eva Rozborilová²

¹Ústav fyziologie JLF UK, Martin, ²Klinika pneumológie a ftizeológie JLF UK a UNM, Martin (antosova@jfmed.uniba.sk)

Úvod a ciele: Karcinóm plúc patrí aj napriek rozšíreniu možností diagnostiky k najčastejším príčinám úmrtia na zhoubné nádorové ochorenia vo svete. Patogenéza tohto ochorenia je multifaktoriálna. V posledných rokoch sa viedie diskusia o možnosti zapojenia oxidu dusnatého (NO) do patogenézy plúcneho karcinómu. Negatívny efekt je spájaný najmä s vysokými hladinami NO, ktoré vytvárajú volné radikály a aktivujú prozápalové cytokíny (napr. TNF-α) čo môže prispievať k vzniku pronádorového mikroprostredia. V našej práci sme sa zamerali na detekciu hladín NO a jeho metabolitov u pacientov s karcinómom plúc. Zároveň sme monitorovali vybrané markery oxidačného stresu a nitrozačného stresu.

Metodika: V práci bolo vyšetrených 58 pacientov s karcinómom plúc a rovnaký počet pacientov kontrolnej skupiny. V oboch skupinách bola detegovaná hladina vydychovaného NO (eNO) v súlade s kritériami ATS/ERS pomocou prístroja NIOX MINO®. Z periférnej krvi boli stanovené hodnoty krvného obrazu, základné biochemické parametre a sérum bolo vyšetrené na markery poškodenia DNA/RNA (8-OHdG – 8-hydroxy-2-deoxyguanozín, 8-OHG – 8-hydroxyguanozín), markery poškodenia proteínov (3-NT – 3-nitrotyrozín) a koncové produkty metabolizmu NO (nitrity a nitráty). Sérum bolo tiež vyšetrené na TNF-α.

Výsledky: Zistili sme, že hladiny vydychovaného NO sú u pacientov s karcinómom plúc signifikantne vyššie ako u zdravých respondentov. Vyšetrenie markerov oxidačného stresu poukázalo na signifikatné zvýšenie 8-OHdG ($p = 0,0067$) a 3-NT ($p = 0,001$) v porovnaní s kontrolou. Významne zvýšená bola aj hladina TNF-α ($p = 0,014$). Minimálne zmeny sme zaznamenali pri detekcii poškodenia RNA (8-OHG). Zaujímavé bolo tiež vyhodnotenie koncových produktov metabolizmu NO. Kým pri hladine nitrátov sme významné zmeny nezaznamenali, hladina nitritov bola signifikatne zvýšená ($p=0,004$). Hodnoty tiež korelovali s hodnotami vydychovaného eNO. Rozdiely v závislosti od typu nádoru (NSCLC, SCLC) neboli ani v jednom prípade štatisticky signifikantné.

Závery: Z výsledkov vyplýva že diagnostika vybraných markerov oxidačného poškodenia môže byť užitočná, je však dôležité urobiť ďalšie porovnania vo vzťahu k typu tumoru a komorbiditám. Včasná diagnostika pacientov s karcinómom plúc ako aj skríning určitých rizikových skupín má potenciál zlepšiť kurabilitu nádorového ochorenia a výrazne prispieť k zníženiu mortality na toto ochorenie.

Práca bola podporená grantom: VEGA 1/0062/13 a projektom „Zvýšenie možností kariérneho rastu vo výskume a vývoji v oblasti lekárskych vied“, ITMS kód Projektu: 26110230067.

Komplexný pohľad na možnosti využitia L-NAME pri simulácii zápalových ochorení dýchacích ciest

Martina Antošová¹, Anna Strapková², Daniela Mokrá¹, Ivana Medved'ová², Pavol Mikolka¹, Petra Košútová¹, Juraj Mokrý²

¹Ústav fyziologie JLF UK, Martin, ²Ústav farmakológie JLF UK, Martin (antosova@jfmed.uniba.sk)

Úvod a cieľ: Oxid dusnatý (NO) je endogénny mediátor, ktorý sa podielá na regulácii fyziologických a patologickej procesov v dýchacích cestách. Literatúra poukazuje na jeho duálny efekt súvisiaci s určitou dysbalanciou v tvorbe a následnej zmene aktivity NO. Táto je závislá najmä od typu izoformy NO-syntázy, ktorá tento stav vyvolala. V súčasnosti poznáme tri izoformy NO-syntáz a o ich selektívnej blokáde sa často hovorí v spojení s určitým terapeutickým potenciálom. Ako je to však s neselektívou inhibíciou? V našej práci sme sa zamerali na komplexný účinok neselektívneho inhibítora NO-syntáz L-NAME v podmienkach alergického zápalu dýchacích ciest.

Metodika: V experimente sme použili morčatá-samce (250-300g). Zvieratá kontrolnej skupiny neboli liečené. Zvieratám senzibilizovaným alergénom (ovalbumín) bol aplikovaný neselektívny inhibítorka L-NAME (subst. Sigma Aldrich ®) intraperitoneálne počas celej dĺžky senzibilizácie (14. dní). Počas senzibilizácie bol u zvierat hodnotený špecifický odpor dýchacích ciest a vydychovaný oxid dusnatý (eNO) v podmienkach „*in vivo*“. V podmienkach „*in vitro*“ boli vyhodnotené zmeny reaktivitu hladkého svalu trachey a plúcneho tkaniva (15. deň) na histamín a acetylcholín. Krv zo srdca bola odobraná na ďalšie vyšetrenie - vybrané markery oxidačného stresu (3-nitrotyrozín a TBARS - ELISA), hladina IL-4 a IL-5, LT-B4, ECP, PAF (ELISA) a tkanivo plúc bolo uchované a spracované na detekciu expresie induktívnej NO-syntázy (PCR).

Výsledky: Zistili sme, že L-NAME má vplyv na nami stanovené premenné. Intraperitoneálna aplikácia nemala vplyv na zmeny špecifického odporu dýchacích ciest avšak signifikatne zvýšila reaktivitu hladkého svalu tachey a plúc. Je zaujímavé, že aplikácia L-NAME zároveň znížila hladiny eNO ($p<0,01$), 3-nitrotyrozínu ($p<0,01$), IL-5 ($p<0,05$) a eozinofilného chemotaktického proteínu ($p<0,001$) v porovnaní s kontrolou skupinou. Inhibítorka zároveň ovplyvnila expresiu iNOS, až na úroveň hodnôt detegovaných v kontrolnej skupine zvierat. Hladina PAF sa naopak po aplikácii L-NAME signifikantne zvýšila ($p=0,015$), Ostatné sledované premenné boli ovplyvnené bez väčšej miery významnosti.

Závery: Práca poukazuje na možnosť použitia neselektívneho inhibítora v experimente zameranom na zápalové ochorenia dýchacích ciest. Pre detailnejšie objasnenie účinku dysbalancie tvorby NO však bude vhodné do komplexného obrazu doplniť výsledky pôsobenia selektívnych inhibítordov jednotlivých NO-syntáz.

Práca bola podporená grantom: „Zvýšenie možností kariérneho rastu vo výskume a vývoji v oblasti lekárskych vied“, ITMS kód Projektu: 26110230067.

Charakterizácia kultivovaných kmeňových buniek z tkaniva pupočníka metódou prietokovej cytometrie**Flow cytometric characterization of cultured umbilical cord stem cells**

Tatiana Bačkayová¹, Zuzana Lešková¹, Marcela Kuniaková², Jana Mlynárová¹, Andrea Gažová¹, Peter Musil¹, Ján Kyselovič¹

¹Katedra farmakológie a toxikológie FaF UK, ²Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK (backayova.tatiana@gmail.com)

Úvod a ciele: Tkanivo pupočníka má významný potenciál ako zdroj kmeňových buniek z rôznych dôvodov. Sú to napr. dostupnosť, bezboleenosť procedúry a možnosť autológej bunkovej terapie. Na rozdiel od izolácie z pupočníkovej krvi nedochádza k významným stratám hematopoetických kmeňových buniek. Cieľom práce bolo analyzovať počet a životaschopnosť kmeňových buniek získaných z tkaniva pupočníka a na základe detekcie povrchových znakov ich kvalitatívne identifikovať.

Metodika: Kmeňové bunky boli izolované z pupočníka troch pacientov a po odstránení ciev boli 16 hodín inkubované v roztoku 0,1% Collagenase II a 30 minút v 0,25% v roztoku Trypsínu. Následne boli kultivované v kultivačnom médiu (DMEM/F12 + 10% BFS + ATB) do 90% konfluencie. Bunky boli analyzované prietokovým cytometrom MACSQuant Analyzer využitím protílátok pre mezenchymálne kmeňové bunky (MSC) a na základe pozitivity na povrchové markery CD90, CD105 a CD73 a negativity na CD14, CD20, CD34 a CD45 bola dokázaná prítomnosť MSC. Pozitivita na povrchové markery CD34 a CD133 určovala prítomnosť endoteliálnych progenitorových buniek (EPC).

Výsledky: Celkový počet kmeňových buniek predstavoval $1,04 \times 10^6$, $2,11 \times 10^6$ a $2,63 \times 10^6$ buniek. Životaschopnosť kmeňových buniek v odobratých vzorkách bola 87,94% až 96,63%. Z celkového počtu kmeňových buniek sme stanovili prítomnosť MSC od 35,8% do 80,8%. Žiadna vzorka nebola pozitívna na markery EPC.

Záver: Kvantitatívnu analýzu sme identifikovali existenciu a množstvo kmeňových buniek v tkanive pupočníka, pričom kvalitatívne sme dokázali iba prítomnosť MSC. Tkanivo pupočníka sa javí ako potenciálny zdroj pre autológnu aj alogénnu transplantáciu buniek.

Grantová podpora: UK/437/2014, VEGA 1/0076/2013, VEGA 1/0905/14

Antihypertenzívny efekt derivatov aryloxyaminopropanolu so substitúciou fluórom s nízkym chronotropickým efektom**Antihypertensive effect of -fluor substituted derivatives of aryloxyaminopropane with low negative chronotropic effect**

Ondrej Baďo¹, Eliška Kolmanová¹, Jan Tengler², Marek Frydrych¹

¹Department of Human Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic, ²Department of Chemical Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic (F09178@vfu.cz)

New potential ultrashort-acting beta blockers were developed in department of Chemical Drugs of the Faculty of Pharmacy of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno. Compounds 2FC2c, 2FC2d were used in experiment of pharmacological evaluation of the effect on systolic blood pressure and heart rate in normotensive rats by invasive method. Ester bond formation in the lateral chain of tested molecules is responsible for ultrashort-acting effect. To increase the affinity of tested molecules with β receptors was basic part substituted by large 2-fluoroxyethyl group.

The experiment was performed *in vivo* with 15 male Wistar laboratory rats. Main group was divided into 3 subgroups: In all subgroups (n=5) was administered the dose of 3.0 mg.kg⁻¹ of 2FC2c, 2FC2d or placebo dissolved in DMSO and saline solution. The tested agents were administered into *vena jugularis* and the values of systolic blood pressure and heart rate were monitored for 20 minutes following the administration. Invasive monitoring of systolic blood pressure on *arteria carotis* was measured by HSE UNIPER UP-100 by Hugo Sachs Electronic company. For monitoring of heart rate was used standard ECG machine for veterinary purposes. Dose of 3.0 mg.kg⁻¹ of 2FC2c compound has caused statistically significant decrease (p<0.05) in systolic blood pressure from the time of 30 seconds up to 150 seconds after administration. There was no significant decrease of heart rate during 20 minutes of experiment. Same dose of 2FC2d agent has caused statistically significant decrease (p<0.05) in systolic blood pressure from the time of 30 seconds up to 180 seconds. Decrease of the heart rate was significant only between 10th and 12th minute.

Both tested -fluor substituted compounds caused in this trial by way of invasive method in rats hypotensive effect. Antihypertensive effect started immediately after administration and hypothesis of ultra-short acting effect was verified.

Acknowledgment: This experiment was funded by IGA 104/2013/FAF.

**Hodnotenie apoptózy v experimentálnych modeloch respiračného zlyhávania
Evaluation of apoptosis in experimental models of respiratory failure**

Soňa Bálentová¹, Petra Košútová², Hana Pštěková², Lucia Tomčíková², Marián Adamkov¹, Andrea Čalkovská², Daniela Mokrá²

¹Ústav histológie a embryológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin, ²Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin (balentova@jfmed.uniba.sk)

Úvod a ciele: Zápal a oxidačný stress sú významnou zložkou patofyziológie respiračného zlyhávania u novorodencov. Cieľom našej pilotnej štúdie bolo overiť, či v súvislosti s prebiehajúcimi zápalovými a oxidačnými zmenami dochádza aj ku zmenám v apoptóze plúcnych buniek. Ďalším cieľom bolo zistiť, či existujú rozdiely v stupni apoptózy v dvoch nami používaných modeloch respiračného zlyhávania - akútneho syndrómu respiračnej tiesne (ARDS) a syndrómu aspirácie mekónia (MAS).

Metodika: U dospelých králikov (novozélandský biely) sme vytvorili model ARDS, a to opakovanými lavážami plúc fyziologickým roztokom (30 ml/kg), kým PaO₂ neklesol pod 26.7 kPa pri FiO₂=1 (n=5). U druhej skupiny zvierat sme vytvorili model MAS, a to intratracheálnym podaním mekónia (4 ml/kg, 25 mg/ml; n=5). Tretiu skupinu tvorili zdravé neventilované kontroly (n=5). Po vytvorení príslušného modelu respiračného zlyhávania boli zvieratá z ARDS skupiny a MAS skupiny ventilované kyslikom počas nasledujúcich 4 hodín. Na konci experimentu sme vo vzorke krvi hodnotili celkový a diferenciálny počet leukocytov. Po usmrtení zvierat anestetikom sme vybrali plúc. Lavý lalok sme lavážovali fyziologickým roztokom (3x10 ml/kg) a v lavážnej tekutine stanovili celkový a diferenciálny počet buniek ako aj ich viabilitu. Tkanivo pravých plúc sme použili na hodnotenie apoptózy buniek bronchov a plúc pomocou TUNEL metódy, na určenie stupňa plúcneho edému a tiež niektorých markerov apoptózy a zápalu (IL-1beta, TNFalfa, kaspáza-3 a pod.).

Výsledky: V oboch modeloch respiračného zlyhávania došlo ku zvýšeniu apoptózy plúcnych buniek a markerov zápalu, pričom výraznejšie zmeny sme pozorovali pri MAS.

Závery: Zápal a oxidačný stress pri respiračnom zlyhávaní je zodpovedný aj za zvýšenie apoptózy plúcnych buniek, a to predovšetkým pri MAS.

Grantová podpora: APVV-0435-11, VEGA 1/0305/14, VEGA 1/0050/11.

Substituované 1-hydroxypyrazolové deriváty ako inhibítory aldózareduktázy v prevencii diabetických komplikácií: molekulové modelovanie a predklinické štúdium *in vitro*
Substituted 1-hydroxy pyrazole derivatives as inhibitors of aldose reductase in prevention of diabetic complications: molecular modeling and preclinical study *in vitro*

Jana Balleková¹, Katarína Maňkošová¹, Magdaléna Májeková¹, Nikolaos Papastavrou², Ioannis Nicolaou^{2a} Milan Štefek¹

¹Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava,

²Oddelenie farmaceutickej chémie, Farmaceutická fakulta, Aristotelova Univerzita Thessaloniki, Thessaloniki, Grécko (jana.ballekova@gmail.com)

Úvod a ciele: Súčasné experimentálne štúdie poukazujú na kl'účovú úlohu polyolovej dráhy a oxidačného stresu v etiológii diabetických komplikácií (DK). Za hyperglykemických podmienok je časť nadbytočnej glukózy metabolizovaná aldózareduktázou (ALR2), prvým enzymom polyolovej dráhy, na osmolyt sorbitol. Zvýšenou akumuláciou tohto polyolu dochádza k rozvoju osmotického stresu, čo indukuje poškodenie buniek a vznik DK. Ciel'om farmakologického výskumu je vývoj inhibítov ALR2 ako perspektívny terapeutický prístup k liečbe DK. Predchádzajúca štúdia zaznamenala významnú inhibíciu aldózareduktázy bioisotérickými analógmi kyseliny octovej 1-hydroxypyrazolmi [1]. Ciel'om tejto práce bolo molekulové modelovanie a predklinické hodnotenie skupiny substituovaných 1-hydroxypyrazolových derivátov z hľadiska inhibičnej aktivity na ALR2, selektivity a biologickej dostupnosti *in vitro*.

Metodika: Na hodnotenie inhibičného účinku bol použitý enzym ALR2 izolovaný z očných šošoviek potkana, aldehydreduktáza (ALR1) bola získaná z potkaních obličiek. Izolované šošovky boli inkubované v prítomnosti glukózy. Inhibičná aktivita bola stanovená spektrofotometrickými metódami a hodnotená parametrom IC₅₀. Na výpočty molekulového modelovania boli použité programy Spartan'08 and Yasara.

Výsledky: Všetky sledované látky preukázali schopnosť účinne inhibovať ALR2, s vysokou selektivitou voči ALR1. Najúčinnejšia látka **2** (2,2,2-trifluoro-1-(1-(1-hydroxy-1H-pyrazol-4-yl)-4-(4-(metylito)benzoyl)-1H-pyrol-2-yl)etanón) prejavila submikromolárnu inhibičnú aktivitu ALR2 (IC₅₀ ≈ 40 nM) a vysokú selektivitu vzhľadom na ALR1 (SF ≈ 656). Na orgánovej úrovni v systéme izolovaných šošoviek potkana inkubovaných v prítomnosti glukózy látka **2** preukázala signifikantnú inhibíciu akumulácie sorbitolu, čo naznačuje dobrý prienik liečiva do šošovky a interferenciu s cytozolickou ALR2. Metódami molekulového modelovania boli identifikované kl'účové interakcie inhibítora so špecifickými aminokyselinami väzbového miesta enzymu ALR2.

Závery: Substituované 1-hydroxypyrazoly predstavujú skupinu efektívnych a vysoko selektívnych inhibítov aldózareduktázy s predpokladom priaznivej biologickej dostupnosti. Kombinácia týchto atribútov indikuje perspektívne využitie hodnotených látok ako farmakologických prostriedkov zameraných na liečbu diabetických komplikácií.

Grantová podpora: VEGA 2/0067/11, VEGA 2/0033/14

[1] Papastavrou et al. 1-Hydroxypyrazole as a bioisostere of the acetic acid moiety in a series of aldose reductase inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry 21 (2013), 4951–4957.

Kombinovaná léčba mometasone furoátem a budesonidem u dospělých pacientů s astma bronchiale**Combined treatment with mometasone furoate and budesonide in adult patients with bronchial asthma**Lenka Bartošíková¹, Jiří Nečas¹, Ladislav Fráňa², Tomáš Bartošík³, Martin Pavlík³, Petr Fráňa⁴

¹Ústav fyziologie, Lékařská fakulta UP v Olomouci, Česká republika, ²Alergologická a imunologická ambulance, Velké Meziříčí, Česká republika, ³Anestezio- a resuscitační klinika, FN U sv. Anny v Brně, Česká republika, ⁴II. Interní klinika, FN U sv. Anny v Brně, Česká republika (lenka.bartosikova@upol.cz)

Úvod: Astma bronchiale je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest spojené s jejich strukturálními změnami. Perzistující zánět je spojen s bronchiální hyperreaktivitou, obstrukcí a klinickými příznaky. Nejvýraznější protizánětlivý účinek mají kortikosteroidy podávané v inhalační formě, které jsou léky první volby, zejména pro terapii pezistujícího astmatu. Mometason furoát (Asmanex) - forma pro inhalační aplikaci, je určen pro pravidelnou protizánětlivou léčbu a kontrolu perzistujícího astmatu tříce lehké, středně těžké a těžké (dospělí, mladiství od 12 let).

Cílem pilotní studie bylo zhodnotit přínos mometason furoátu v kombinované léčbě astma bronchiale u dospělých pacientů.

Metodika a pilotní výsledky: mometason furoát byl nasazen u 20 dospělých pacientů s lehkým perzistujícím astma bronchiale. U všech pacientů byla pouze částečná kontrola astmatu při monoterapii budesonidem 400 (1-0-1 až 2). Dávka Asmanexu byla 1 x 200 µg večer. Důraz byl kladen především na pečlivé seznámení pacienta se způsobem užití inhalátoru. Při kontrole za 1 měsíc od nasazení terapie byla u 19 pacientů získána plná kontrola nad astmatem, pouze u 1 pacienta byla hodnota FEV₁ snížená. Nebyly zaznamenány žádné vedlejší účinky.

U druhé skupiny 20 pacientů s lehkým perzistujícím astma bronchiale byla pouze částečná kontrola astmatu při monoterapii budesonidem 400 (2-0-2). Dávka Asmanexu byla 1 x 400 µg večer. Při kontrole za 1 měsíc od nasazení terapie byla u 18 pacientů získána plná kontrola nad astmatem, pouze u 1 pacienta byla hodnota FEV₁ snížená a u 1 pacienta bylo užito SABA 3x týdně. Vedlejší účinky byly zaznamenány u 1 pacienta (transitorní soor dutiny ústní). Definitivní zpracování výsledků studie bude provedeno po 4 – 6 měsících léčby.

Závěr: Mometason furoát má dobrý bezpečnostní profil a vyznačuje se vysokou účinností. V současné době je významným obohacením nabídky inhalačních kortikosteroidů.

Kombinovaná terapie astmatu u geriatrických pacientů Combined Therapy of Asthma in Elderly

Renata Blechová¹, Božena Macešková²

¹Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta VFU Brno, (blechovar@vfu.cz), ²Ústav aplikované farmacie, Farmaceutická fakulta VFU Brno (maceskovab@vfu.cz)

Asthma bronchiale je chronické zánětlivé onemocnění dýchacího ústrojí, kdy u geriatrických pacientů (≥ 65 let) může být pokračováním onemocnění z předchozích let (early-onset asthma) nebo může vzniknout de novo až v seniorském věku (late-onset asthma). Spouštěcími faktory jsou zejména alergeny, infekty a léky. Stanovení diagnózy u seniorů může být obtížné, protože pacienti vlivem stárnutí mají sníženou percepci respiračních symptomů a udávají nespecifické příznaky. Z těchto důvodů nebývá astma ve stáří diagnostikováno a adekvátně léčeno. S ohledem na demografickou situaci a stárnutí světové populace, počet pacientů s bronchiálním astmatem bude narůstat a představovat problém jak z pohledu medicínského, tak společensko-ekonomického.

Cíl: Analýza farmakoterapie astmatu ve stáří zaměřená na spotřebu kombinovaných přípravků ATC skupin R03AK a R03AL:

- preferované inhalační techniky (dechem aktivované inhalátory, tekuté lékové formy, nebulizátory)
- upřednostněné kombinace léčiv

Metodika: Analýza spotřeby na základě výdejů v lékárně za období 1 roku (IV/2013 – III/2014). Porovnání se spektrem přípravků ATC skupin R03AK a R03AL dostupných v terapeutické praxi v ČR.

Výsledky: V ATC R03AL se 3 zástupci měl nejvyšší podíl v preskripci HVLP Berodual N 200 INH SOL PSS (obsahové látky ipratropium + fenoterol). Ve skupině R03AK bylo nalezeno 6 přípravků, které nebyly v daném období preskribovány. Z těchto přípravků bylo 5 hrazených pouze částečně, 3 z nich měly preskripční omezení. HVLP Combair INH SOL PSS (obsahové látky beclometazon + formoterol) jako jediný z vydávaných přípravků měl doplatek a rovněž preskripční omezení.

Závěr: Práce potvrzuje zkušenosti klinických studií, a to použití inhalačních kortikosteroidů, příp. parasympatolytik v moderní lékové formě s dlouhodobě působícími beta₂-sympatomimetiky, kdy pro kontrolu astmatu a pozitivní adherenci má větší přínos fixní kombinace než pouhé navýšení dávky jednotlivých léčiv.

Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) potentiates free radical induced hepatotoxic effects of hexavalent chromium in rats.

Monika Bludovská¹, Věra Křížková², Tereza Kubíková^{2,3}, Dana Kotyzová¹

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University in Prague, Czech Republic, ²Department of Histology and Embryology Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University in Prague, Czech Republic, ³Biomedical Centre, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University in Prague, Czech Republic (Monika.Bludovska@lfp.cuni.cz)

Introduction: β -Glucans are widely used immunomodulatory nutritional supplements. Many studies have also proven their antioxidant and hepatoprotective properties. The study was designed to evaluate the effects of pleuran, β -(1,3/1,6) glucan from *Pleurotus ostreatus*, on the toxic and oxidative effects and histological changes caused by an acute Cr(VI) intoxication in rats.

Materials and methods: Wistar albino male rats were divided into three groups: control, Cr, and Cr + pleuran. Pleuran (250 mg/kg/day) was administered by oral gavage for 10 (half of the animals for 11) consecutive days. $K_2Cr_2O_7$ (40 mg/kg/day) was administered i.p. as a single dose on the 10th day of the experiment. Half of animals in each group were sacrificed 24 hours and the rest 48 hours after the administration of Cr. Lipid peroxidation (LP), reduced glutathione (GSH) and activities of glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) and catalase (CAT) and the content of Cr were estimated in the liver, the activities of ALT, AST and GLDH were determined in serum. Liver tissue samples were collected for histological and immunohistochemical examination.

Results: Administration of Cr(VI) significantly decreased liver content of GSH and significantly increased LP. The activities of ALT, AST and GLDH were significantly increased in serum. Treatment with pleuran significantly increased the content of Cr in the liver, increased the effect of chromium on LP (24 and 48 hours post Cr dose), on the activities of ALT, AST and GLDH (24 hours post Cr dose) and on chromium-induced histopathological changes. The only antioxidant effect of pleuran administration was an increase in the content of GSH in the liver, which was decreased by Cr administration.

We wish to thank Ms. M. Šlajerová for the excellent technical assistance.

The work was supported by the SVV project No. 260 047 and by the project ED2.1.00/03.0076 from European Regional Development Fund.

Analýza farmakoterapie hospitalizovaných pacientov

Analysis of drug therapy in hospitalised patients

Lucia Borchová¹, Barbora Kováčová¹, Peter Pillár², Anna Hrabovská¹, Ján Kyselovič¹, Adela Čorejová¹

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Bratislava,

²Interné oddelenie, Nová nemocnica, Partizánske (adela.corejova@gmail.com)

Úvod: Bezpečnosť každej farmakoterapie závisí aj od včasného rozpoznania potenciálnych liekových interakcií. Riziko interakcií liečiv sa zvyšuje pri polyfarmácií s ktorou sa stretávame aj u hospitalizovaných pacientov. Včasnym zásahom pri identifikácii liekových interakcií a nežiaducich účinkov je možné u hospitalizovaných pacientov nielen racionalizovať farmakoterapiu, ale aj ovplyvniť dĺžku hospitalizácie a predísť prípadným komplikáciám súvisiacim s užívaním liekov.

Cieľom práce bolo identifikovať a analyzovať interakcie vyplývajúce z farmakoterapie a vyhodnotiť u hospitalizovaných pacientov potenciálne nevhodné liečivá.

Metodika: Spracované boli údaje o farmakoterapii, pridružených ochoreniach od 78 pacientov (63% pacientov starších ako 65 rokov) hospitalizovaných na internom oddelení. Farmakoterapia bola u pacientov sledovaná počas celej hospitalizácie. Liekové interakcie boli posudzované podľa databázy Lexicomp a aktuálne platného SPC liečiv.

Výsledky: Celkovo sme identifikovali 505 potenciálnych liekových interakcií, pričom 79% z nich bolo závažnosti C (vyžaduje sa monitorovanie terapie). Najčastejšie sa vyskytujúcou liekovou interakciou bola kombinácia liečiv furosemid a metoprolol, ktorá sa vyskytovala u viac ako 1/5 hospitalizovaných pacientov. Počas hospitalizácie došlo k zvýšeniu počtu užívaných liečiv u pacientov v oboch vekových skupinách (< 65 rokov; ≥ 65 rokov).

Záver: V našom sledovanom súbore hospitalizovaných pacientov sme zaznamenali vysoký výskyt potenciálnych farmakoterapeutických problémov, ktoré môžu výrazne ovplyvniť zdravotný stav pacienta. Pravidelným prehodnocovaním medikácie je možné zvýšiť jej bezpečnosť a efektivitu.

**Model eozinofilnej ezofagitídy pre štúdium viscerálnej aferentnej neuroplasticity
Model of eosinophil esophagitis for the study of visceral afferent neuroplasticity**

Mariana Brozmanová¹, Lenka Mazúrová¹, Juraj Halička¹, Lucia Hanzelová¹, Monika Kornhauserová¹, Miloš Tatár¹, Marián Kollárik^{1,2}

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Ústav patologickej fyziológie Jesseniovej lekárskej fakulty UK v Martine, ²The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA (brozmanova@jfmed.uniba.sk)

Úvod a ciele: Eozinofilná ezofagitída (EoE) je imunologicko-alergické ochorenie so zvýšenou prevalenciou charakterizovaná infiltráciou eozinofilov v sliznici pažeráka. Mnoho symptómov tohto ochorenia je priamo (bolest', pyróza, zvraťanie) alebo čiastočne (dysfágia a dyspepsia) sprostredkovany aktiváciou viscerálnych aferentných nervov, ktoré sú hypersenzitívne v dôsledku eozinofilného zápalu. Preto našim cieľom bolo vytvoriť model eozinofilnej ezofagitídy optimálny na štúdium účinku akútneho eozinofilného zápalu na ezofágové aferentné nervy. Predpokladali sme, že lokálna aplikácia alergénu do steny ezofágu senzibilizovaným zvieratám vyvolá eozinofilný zápal v mukóze a submukóze ezofágu.

Metodika: Použili sme morčatá Dunkin Hartley, ktoré sme senzibilizovali podaním ovalbumínu (OVA, 10mg/kg, i.p.), v krátkodobej celkovej anestéze ((ketamin (50mg/ml) a xylazin (2,5mg/ml)) sme injikovali 0,1% OVA do steny krčného pažeráka. Po 48 hodinách sme odobrali tkanivo pažeráka na histologické vyšetrenie na kvantifikáciu zápalovej odpovede analýzou počtu eozinofilov (peak/hpf) vizualizovaných podľa Giemsu.

Výsledky: Zistili sme, že OVA injekcia do krčnej časti ezofágu vyvolala masívnu eozinofilnú infiltráciu v sliznici strednej časti ezofágu (n=8/10 senzibilizovaných zvierat). Maximálny počet eozinofilov bol v priemere 121 ± 22 v jednom zornom poli (peak/hpf - high power field), čo predstavuje signifikantné zvýšenie v porovnaní s počtom eozinofilov v ezofágu u morčiat po injekcii vehikula (6 ± 1 /hpf, n=9, p<0.01). V sliznici pažeráka eozinofily boli viac lokalizované v subepitelovej vrstve (75%) v porovnaní s epitelom (25%, p<0.01).

Záver: Injekcia alergénu do pažeráka senzibilizovaným zvieratám imituje alergický zápal s infiltráciou eozinofilov v sliznici pažeráka podobne ako je to u pacientov s eozinofilnou ezofagitídou. Tento model sa môže uplatniť pre štúdium účinku akútneho eozinofilného zápalu na neuroplasticke zmeny aferentných nervov inervujúcich pažerák.

Finančne podporené: VEGA grant 1/0424/12 a Cevypet.

Vytvorenie nového modelu hypersenzitivitu dýchacích ciest za požitia roztočov ako modelového alergénu**Development of new model of airway hypersensitivity using house dust mite as model allergen**

Tomáš Buday, Silvia Gavliaková, Eva Hanusková-Kováčová, Jana Plevková

Department of Pathophysiology, Jessenius Faculty of Medicine in Martin, Comenius University in Bratislava, Sklabinska 26, 036 01 Martin, Slovakia (buday@jfmed.uniba.sk)

Background: Currently, the most widely used model to study cough in sensitised airways is a guinea pig sensitized by ovalbumin. There is nothing to object to model animal, because neurophysiology of their vagus nerve, which mediates cough reflex, is the closest to humans. The choice of model antigen is questionable – humans are not generally allergic to chicken eggs; and if they are it is a case of food allergy, not respiratory allergy. The choice of antigen together with the manner of sensitization limits translation of results to clinical conditions and there is need to develop new model of airway hypersensitivity, which could improve translation to human conditions.

Most important indoor allergen for people is house dust mite (HDM), most common species being *D.pteronyssius* and *D.farinae*. Allergenic potential of HDM is complex and includes immunogenic epitopes, faecal pellets, lipopolysaccharides, beta-glucans and chitin.

Material and methods: 10 guinea pigs (Dunkin-Hartley, males) were used to develop HDM model of airway hypersensitivity. Animals were sensitized by 0,25% HDM aerosol (Greer Labs, USA), which they inhaled for 5 min over 5 days, followed by inhalation of 0,5%HDM in same protocol as before. Sensitization was confirmed by skin prick test (15µL; 0,5% HDM applied intradermally). In SPT positive animals the symptoms of allergic rhinitis were induced by intranasal application of HDM (0,5%; 15µL) and the cough challenges with citric acid (0,1M;0,2M;0,4M) were performed. Airway resistance was measured *in vivo* by Pennock's method.

Results: Based on preliminary data, the cough response of HDM-sensitized animals is similar to cough response of OVA sensitized (control/HDM/OVA – 9/16/15 coughs/10 min); so is the cough latency (180s/86s/80s). Airway resistance was increased, but the data did not reach significance level.

Acknowledgement: Supported by VEGA 1/00107/14

We would like to thank Assoc. Prof. Mokry from Department of Pharmacology for Saw measurements.

Vývoj fluorescenční eseje pro studium lékových interakcí s lidskými ABC transportéry v HEK 293 membránových veziklech**Development of a fluorescence-based assay for drug interactions with human ABC transporters in HEK 293 membrane vesicles**

Daniela Číhalová¹, Martina Čečková¹, Jeroen J.M.W. van den Heuvel², Frans G.M. Russel², František Štaud¹

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Kralove, Czech Republic (cihad6aa@faf.cuni.cz; frantisek.staud@faf.cuni.cz), ²Department of Pharmacology and Toxicology, Radboud University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands (f.russel@pharmtox.umcn.nl)

Introduction: ATP-binding cassette (ABC) transporters play a major role in drug disposition and multidrug resistance. New models to study interactions with these transporters are sought after to simplify the screening process of potential inhibitors and substrates.

Aims: To establish a fluorescence based assay in membrane vesicles for drug interactions with ABC transporters using 5-(6)-carboxy-2'7'-dichlorofluorescein (CDCF) as a substrate and to test a panel of known inhibitors to test the suitability of the assay.

Methods: Membrane vesicles were isolated from HEK 293 cells previously transduced with recombinant baculoviruses containing the corresponding transporters (MRP1-5, P-gp, BCRP, BSEP) and eYFP as control. The vesicles were tested for functionality with known substrates ([³H]-estradiol-17 β -D-glucuronide for MRP1, 3 and 4, [³H]-methotrexate for MRP2 and 5, [³H]-N-methylquinidine for P-gp, [³H]-estrone-1-sulfate for BCRP and [³H]-taurocholic acid for BSEP). To assess the suitability of CDCF as a substrate probe, uptake into vesicles was determined in the absence and in the presence of other compounds interacting with ABC transporters (MK-571, benzbromarone, cyclosporin A, indomethacin).

Results: CDCF was most significantly taken up into the membrane vesicles overexpressing MRP2, MRP3 and MRP5 in a time- and concentration-dependent manner following a Michaelis-Menten type of kinetics with K_m values of 3.94, 11.2 and 1.30 μ M for MRP2, MRP3 and MRP5, respectively. The V_{max} values of CDCF accumulation for MRP2, MRP3 and MRP5 were 227, 225 and 69.3 fmol/mg protein/min, respectively. Uptake into vesicles from cells transduced with MRP transporters was significantly higher than uptake into vesicles from control cells (eYFP). Presence of known MRP inhibitors in the incubation medium decreased CDCF uptake into the vesicles.

Conclusions: CDCF-based vesicular uptake assay can be used as a screening technique to assess drug interactions with MRP2, MRP3 and MRP5.

Grant support: This work was supported by GAUK 700912/C/2012, SVV/2014/260-064 and project FAFIS CZ 1.07/2.2.00/28.0194.

Analýza expresie SLAMF receptorov u normálnych a patologických B-lymfoidných buniek
Analysis of SLAMF receptor expression in normal and pathological B-lymphoid cells

Matúš Čoma¹, Elena Tóthová², Marek Šarišský¹

¹Ústav farmakológie, ²Ústav lekárskej a klinickej biofyziky UPJŠ LF, Košice
(coma.matus@gmail.com; marek.sarissky@upjs.sk; etothova@post.sk)

Rodina SLAMF („signalling lymphocyte activation molecule“ family) receptorov pozostáva z 9 glykoproteínov modulujúcich diferenciáciu a aktiváciu širokého spektra buniek imunitného systému. Tieto receptory sú exprimované na povrchu B- a T-lymfocytov, NK buniek, NKT buniek, monocytov, makrofágov, dendritických buniek, plazmacytoidných dendritických buniek, trombocytov, granulocytov, hematopoetických kmeňových buniek a hematopoetických progenitorových buniek.

Cieľom tejto práce bolo porovnať expresiu vybraných SLAMF receptorov u normálnych vs. patologických B-lymfocytov z periférnej krvi resp. kostnej drene zdravých darcov vs. pacientov s B-CLL (chronická B-lymfocytová leukémia). Expresia receptorov CD150(SLAMF1), CD48(SLAMF2), CD229(SLAMF3), CD84(SLAMF5), CD352(SLAMF6) a CD319(SLAMF7) bola analyzovaná pomocou multiparametrickej prietokovej cytometrie.

U patologických B-lymfocytov bola oproti normálnym B-lymfocytom pozorovaná signifikantne znížená expresia receptorov CD150, CD48 a CD352 v zmysle zníženej hodnoty MFI („mean fluorescence intensity“) \pm SD: 429 ± 112 vs. 218 ± 218 ($p < 0.05$), 2787 ± 447 vs. 1151 ± 560 ($p < 0.01$), 7701 ± 2192 vs. 5582 ± 1007 ($p < 0.01$), v tomto poradí. V prípade ostatných analyzovaných markerov (CD229, CD84 a CD319) neboli medzi normálnymi a patologickými B-lymfocytmi pozorované žiadne štatisticky významné rozdiely.

Identifikované rozdiely v expresných vzorcoch SLAMF receptorov medzi normálnymi a patologickými B-CLL B-lymfocytmi by mohli mať významné potenciálne implikácie v biológii, diagnostike, liečbe a prognostikácii B-CLL, najčastejšie sa vyskytujúceho typu leukémie dospelého veku.

Účinok kombinovanej liečby antioxidantu s antidiabetikom na hypertrofiu obličiek a expresiu AMP-kinázy u diabetických zvierat**The effects of antioxidant-antidiabetic therapy on the renal hypertrophy and the expression of AMP-kinase in diabetic animals**

Denisa Dedíková, Barbora Čačíková, Stanislava Jankyová

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK v Bratislave, Odbojárov 10, 83232 Bratislava (jankyova@fpharm.uniba.sk)

Úvod: Diabetická nefropatia predstavuje hlavnú príčinu konečného štátia zlyhania obličiek a je jednou z hlavných príčin morbidity a mortality u diabetických pacientov. Charakteristickým znakom diabetickej nefropatie je zvýšenie vylučovania albumínu močom a pokles rýchlosťi glomerulárnej filtrace, ktoré sa vyskytujú v súvislosti so zvýšením krvného tlaku. V posledných rokoch bol odhalený aj vzťah medzi renálnou hypertrofiou a aktivitou AMP-kinázy (AMPK). Hyperglykémia spôsobuje pokles aktivity AMPK, čím sa aktivuje syntéza proteínov v obličkách a dochádza k renálnej hypertrofii.

Ciele: Cieľom práce bolo posúdenie zmien obličkového poškodenia s následnou hypertrofiou a zmien expresie AMPK po podávaní Pycnogenolu a metformínu v monoterapii, prípadne v kombinácii u diabetických experimentálnych zvierat.

Metodika: Wistar potkanom bol aplikáciou streptozotocínu (3x 25mg/kg *i.p.*) navodený diabetes a počas 8 týždňov bol aplikovaný Pycnogenol (20 mg/kg) a metformín (12,1 mg/kg) v monoterapii aj v kombinácii. Po usmrtení zvierat bola hypertrofia stanovená vážením obličiek a expresia AMPK použitím metódy Western blotting a imunodetekcie.

Výsledky: Expressia AMPK v obličke neliečených diabetických zvierat bola signifikantne znížená oproti skupine zdravých kontrolných zvierat. Liečba Pycnogenolom a metformínom v monoterapii, aj kombinácia týchto liečiv viedla ku zvýšeniu expresie AMPK, pričom najvyššiu hodnotu dosiahla práve podávaním dvojkombinácie liečiv ($p<0,05$). U neliečených diabetických zvierat bola prítomná renálna hypertrofia; pomer hmotnosti oblička/telo v porovnaní so zdravými kontrolnými zvieratami bol zvýšený. Monoterapia Pycnogenolom a metformínom spôsobila pokles pomeru hmotnosti oblička/telo v porovnaní s neliečenými diabetickými zvieratami. Podávanie kombinácie Pycnogenolu a metformínu viedlo rovnako ku zníženiu pomeru hmotnosti oblička/telo v porovnaní s neliečenými diabetickými zvieratami

Záver: Výsledky získané v tomto experimente sú dôkazom pozitívneho vplyvu terapie kombináciou Pycnogenolu a metformínu na zvýšenie expresie AMPK, ako aj na zamedzenie rozvoja hypertrofie obličiek. Pravdepodobným mechanizmom je práve zvýšenie expresie AMPK, ktoré koreluje so znížením syntézy proteínov v obličkách, čím predchádza vzniku hypertrofie.

Grantová podpora: Projekt bol podporený grantom FaF UK 12/2012 a VEGA 1/0638/12.

Cholínesterázy v srdci myši
Cholinesterases in mouse heartDominika Dingová^{1,2}, Eric Krejci², Anna Hrabovská¹

¹Departement of pharmacology and toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovakia, ²Université Paris Descartes, CNRS UMR 8257 MD 4, Cognac G, Paris, France (dominika.dingova@gmail.com)

Acetylcholine plays a key role in heart innervations. Its action causes activation of muscarinic M2 receptors and thus subsequent reduction of frequency and heart contractility. Protective effect of acetylcholine during chronic heart congestion or atrial fibrillation was confirmed by numerous studies. Level of acetylcholine is controlled by action of two important enzymes: acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE). This fact determines their crucial role in the process of cholinergic neurotransmission, however more profound data are needed. The aim of the present project was to obtain deeper information about cholinesterases in heart, especially characterization of their molecular forms and their localization in the mouse heart. Genetically modified mice lacking different molecular forms of cholinesterases were used in the study. Molecular forms in heart compartments were separated on sucrose gradient and activities were determined by Ellman's assay. Modified Karnovsky and Roots method^a was used for staining of cholinesterases in cryosections of heart, but also in heart filled with gelatin^b. Different molecular forms of cholinesterases were identified by light microscopy. The highest AChE activity was observed mainly in atria and at the base of the heart. AChE anchored by ColQ and PRiMA in ratio 1:1 was discovered in left ventricle, right ventricle, septum, apex and also at the base of the heart. However, a higher portion of PRiMA AChE than ColQ was found in right and left atria. BChE activity was found predominantly in myocardium of ventricles and septum. BChE is dispersed in all heart regions in form of monomers and dimmers.

^aTSUJI S et al., *Brain Res Brain Res Protocol*, 9, 16-22 (2002)

^bPAUZA DH et al., *Anat rec*, 259, 353-82 (2000)

Acknowledgement: This project was supported by APVV grant SK-FR-0048-11, VEGA 1/1139/12, ITMS 26240120031

Antihyperglykemicke a antiradikálové účinky med'natých komplexov odvodených od aminokyselín
Antihyperglycemic and antiradical effects of copper complexes derived from aminoacids

Markéta Dlouhá¹, Marek Matuška², Eva Račanská², Ingrid Tumová²

¹Ústav humánnej farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta VFU, Brno, Katedra chemickej teórie liečiv, ²Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava (Dlouha.mar@gmail.com; racanska@fpharm.uniba.sk)

Úvod a ciele. Med'naté komplexy Schiffových zásad odvodené od aminokyselín sú predmetom záujmu vo viacerých odvetviach bioorganickej chémie. Vzhľadom k ich významnému antiradikálovému a antioxidačnému pôsobeniu boli už skoršie v podmienkach *in vivo* zistené účinky protizápalové, antipyretické a antidiabetické ^{1,2}. Zistená bola aj antiureázová aktivita u niektorých príbuzných zlúčenín, ktorá dáva predpoklad ich využitia pri infekcii *Helicobacter pylori*, resp. d'alších ureolytických baktérií (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*), participujúcich sa na vzniku gastritíd a zápalových urologických infekcií. Práca je zameraná na skríniové hodnotenie piatich novosyntetizovaných med'natých komplexov odvodených od kyseliny 2-formylfenoxyoctovej s aminokyselinami (glycin, L- α -alanín, β -alanín, kyselina D,L- α -izoaminobutánová, kyselina γ -aminobutánová) s cieľom vyselektovať štruktúry vhodné pre d'alšie toxikologické a biologické štúdie.

Metodika. Antiradikálová a antiureázová aktivita komplexov bola hodnotená spektrofotometricky. Ako štandardy na inhibíciu ureázy sa použil glutaraldehyd a kyselina acetohydroxámová. Všetky med'naté komplexy Schiffových zásad vyznačovali antiureázovú a antiradikálovú aktivitu, ktorá sa zvyšovala s rastúcim kruhom aminokyseliny v komplexe, ktorých hodnoty IC₅₀ (mM) boli rádovo nižšie s rastúcim kruhom aminokyseliny ako pri použitých štandardoch. Cytoprotektívne vlastnosti komplexov boli hodnotené na alloxánovom modeli poškodenia β -buniek pankreasu u myší (80mg/kg i.v.) a nasledovnom 5-dňovom meraní zmien hladiny glukózy v krvi. Látky boli aplikované *i.p.* v dávke 10 mg/kg vo forme vodných roztokov 60 min. pred podaním alloxánu.

Výsledky. Na základe nameraných hodnôt pri stanovení antihyperglykemickej aktivity bola u všetkých hodnotených komplexov zistená ich schopnosť znížovať alloxánom indukovanú zvýšenú hladinu glukózy v krvi. Získané výsledky čiastočne korelovali s výsledkami antiradikálového a antiureázového pôsobenia týchto látok.

Záver. Hodnotené komplexné zlúčeniny potvrdili schopnosť inhibovať experimentálne indukovanú hyperglykémiu, na čom sa zrejme participuje ich antiradikálové a tým aj cytoprotektívne pôsobenie. Výsledný efekt je modifikovaný typom naviazanej aminokyseliny, resp. jej polohou.

Literatúra:

1. Račanská E. et al., Acta Facult. Univ. Comenianae 53, 200-206, 2006.
2. Sokolík J. et al.: Acta Facult. Univ. Comenianae 54, 165-170, 2007.

Podporené grantmi: FaF UK/49/2013 a IGA 65/2014/FaF (Česká republika)

Odlišné účinky samostatného a súčasného podania klaritromycínu a furosemidu na myokardiálnu génovú expresiu (Kcnq1, Cacna1c, Myh6, Myh7, Myh7b) v beta-adrenergne stimulovaných srdeciach

Disparate effect of single and co-administration of clarithromycin and furosemide on cardiac gene expression (Kcnq1, Cacna1c, Myh6, Myh7, Myh7b) in beta-adrenergically stimulated hearts

Gabriel Dóka¹, Jana Kmecová¹, Katarína Ochodnická-Mackovičová¹, Peter Vavrinec¹, Eva Kráľová¹, Tatiana Stankovičová¹, Peter Ochodnický², Peter Křenek¹, Ján Klimas¹

¹Univerzita Komenského, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie, Bratislava, Slovenská republika, ²Academic Medical Center of Amsterdam, Dpt. Pathology, Amsterdam, Holandsko (doka@fpharm.uniba.sk)

Úvod a ciele: Hypokaliémia v prítomnosti klaritromycínu, ktorý predlžuje QT-interval môže viest' k Torsades de Pointes (TdP). Predĺženie repolarizácie ovplyvňuje výkon srdca, normálne kontrolovaný vápnik regulujúcimi proteínmi a t'ažkými reťazcami myozínov (MHC). Testovali sme mRNA expresiu génov pre draslíkové kanály, gény regulujúce intracelulárnu hladinu Ca²⁺ a gény pre izoformy MHC v beta-adrenergne stimulovaných a nestimulovaných srdeciach.

Metodika: Potkanom Wistar bol 7 dní podávaný klaritromycin (KLA, 200 mg/kg/d, p.o.), furosemid (FUR, 200 mg/kg/d, p.o.) alebo kombinácia (KLA+FUR), kontrolám (KON) podávané vehikulum. EKG bolo monitorované za bazálnych podmienok a pri stimulácii izoprenalínom (IZO, 5-60 ng/min, i.v.) v anestézii. Použitím RT-qPCR sme merali ľavokomorú expresiu génov: Kcnh2, Kcnq1, Cacna1p, Atp2a2 (SERCA2A), Ryr2, Myh6 (alfa-MHC), Myh7 (beta-MHC), Myh7b

Výsledky: Furosemid podľa očakávaní spôsobil hypokaliémiu (p<0,05). Klaritromycin aj furosemid samostatne predlžovali QT interval. Súčasné podanie liečiv potencovalo QT prolongáciu v porovnaní s monoterapiou (p<0,05). Stimulovanie s IZO viedlo k nárastu tepovej frekvencie, porovnatel'ne medzi skupinami. U jedného z desiatich potkanov bol pri kombinácii KLA+FUR zaznamenaný výskyt TdP počas IZO stimulácie. Výhradne v KLA+FUR skupine stimulácia IZO zvyšovala expresiu K+ kanála Kcnq1 v porovnaní s monoterapiou (o 56% vs. FUR a o 52% vs. KLA, obe p<0,05) a tiež expresiu podjednotky Ca²⁺ kanála Cacna1c (o 73% vs. KON, 97% vs. FUR, 75% vs. KLA, všetko p<0,05). Súčasne sme zaznamenali nárast expresie všetkých MHC v stimulovaných KLA+FUR srdeciach v porovnaní s ostatnými skupinami (všetky p<0,05). Zásadné je, že žiadnen z analyzovaných génov nemal signifikantne zmenenú expresiu v nestimulovaných KLA, FUR ani KLA+FUR potkanoch v porovnaní s KON.

Závery: Súčasné podanie klaritromycínu a furosemidu výrazne predlžuje QT interval, čo môže pri beta-adrenergnej stimulácii spustiť TdP u potkanov. Pozoruhodným zistením je, že alterácia génovej expresie (Kcnq1, Cacna1c, MHC) bola prítomná len pri súčasnom podaní oboch liečiv a iba ako následok beta-adrenergnej stimulácie.

Grantová podpora: APVV-0887-11, VEGA 1/0981/12, VEGA 1/0564/13

New cholinesterases inhibitors 7-methoxytacrine-adamantylamine heterodimers as inhibitors of bace and amyloid beta 1-40

Lucie Drtinova², Miroslav Pohanka², Katarina Spilovska², Jan Korabecny^{1,2}, Vendula Sepsova^{1,2}, Evzenie Nepovimova^{1,2}, Kamil Kuca^{1,2,3}

¹Biomedical Research Centre, University Hospital Hradec Kralove, Czech Republic, ²Department of Toxicology, Department of Public Health, Centre for Advanced Studies, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Kralove, Czech Republic, ³University of Hradec Kralove, Faculty of Science, Department of Chemistry, Hradec Kralove, Czech Republic (luciedrtinova.ld@gmail.com)

Betasecretase (BACE) is enzyme and belongs to group of aspartyl proteases. It is located in myelin sheaths as transmembrane protein in peripheral nerve cells in brain. There are also other secretases: alpha-secretase and gamma-secretase (located on the same transmembrane protein like beta-secretase). BACE is the most important enzyme as promising therapeutic target because the enzyme initiates the first step in beta-amyloid production. The beta-amyloid can aggregate and create amyloid plaques. We have chosen new acetylcholinesterase inhibitors (7-methoxytacrine-adamantylamine heterodimers linked by alkyl chain with thioureas and ureas group) which could inhibit BACE. These two compounds 7-methoxytacrine (inhibitor of cholinesterases) and amino-adamantane (antagonist on NMDA receptors), would play an important role in the treatment of AD.

First experiment: It was used BACE Inhibitor Screening Assay Kit No. 600070 for assessment of median inhibitory concentration (IC₅₀) values. The kit contains human recombinant BACE, substrate and fluorescence buffer. After cleavage by BACE, product is brightly fluorescent and it was analyzed by fluorescence reader with excitation of 335-345 nm and emission of 485-510 nm.

Second experiment: Beta-amyloid aggregation induced by human acetylcholinesterase with added potential inhibitor from 7-methoxytacrine-adamantylamine heterodimer group. To determine amyloid fibril formation was used 1.5 μM solution of thioflavin-T in 50mM glycine-NaOH buffer. Fluorescence was monitored at 446 nm for excitation and 490 nm for emission; excitation-emission slits was 2 nm bandwidth.

In the experiments, standard substances suitable for AD therapy were measured and the IC₅₀ for AChE was exhibited in sub-μM concentration. Between these substances belongs (IC₅₀ for BACE): donepezil (0.1μM), galantamine (1μM), huperzine A (1μM), 7-MEOTA (10μM), L-tryptofan (10μM). Three compounds exerted similar IC₅₀ like 7-MEOTA and L-tryptofan, and one compound like galantamine and huperzine A. In amyloid beta study no one from tested substance was comparable with standard propidium iodide, but all tested compounds have had potential to inhibit fibrillogenesis of amyloid beta 1-40 and the range was between 25 to 40 %.

Three new potential inhibitors of BACE with interesting IC₅₀ were detected in the experiment in 10 μM and one in 1 μM concentrations. All these compounds were also tested on inhibition of beta-amyloid aggregation and three molecules were recommended for next *in vivo* testing.

Acknowledgement: SV/FVZ201203 Ministry of Education and Sport

Cyklické deriváty chalkónov ako potenciálne liečivá v terapii kolorektálneho karcinómu Cyclic chalcone analogues as potential drugs for colorectal cancer treatment

Dávid Drutovič¹, Martin Kello¹, Martina Chripková¹, Martina Pilátová¹, Pál Perjési², Marek Šarišský¹, Monica Lupi³, Giovanna Damia³, Ján Mojžiš¹

¹Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice,

²Katedra farmaceutickej chémie, Lekárska fakulta, Univerzita v Pécs, Pécs, Maďarsko, ³Ústav onkológie, Farmakologický inštitút Mario Negri, Miláno, Taliansko (drutovic@gmail.com)

Úvod: Chalkóny, chemicky 1,3-difenyl-2-propén-1-óny, sú prírodné látky patriace medzi polyfenolové zlúčeniny. Sú prekurzormi v syntéze flavonoidov a izoflavonoidov a esenciálnymi sekundárnymi metabolitmi v mnohých rastlinách. Chalkóny a ich syntetické deriváty majú antiproliferatívne, protinádorové, antioxidačné, protizápalové a antiangiogénne účinky. Vďaka ich biologickým účinkom, prírodnému pôvodu a jednoduchej syntéze nových derivátov sú potenciálnym zdrojom nových protinádorových liečiv, vhodné sú aj na použitie v chemoprevencii.

Ciele: Cieľom práce bolo študovať antiproliferatívny účinok novosyntetizovaných cyklických derivátov chalkónov na nádorových bunkových líniach kolorektálneho karcinómu a u najúčinnejších derivátov sledovať ich schopnosť indukovať apoptózu a ovplyvnenie bunkového cyklu.

Metodika: Antiproliferatívny účinok bol študovaný pomocou MTT testu a analýzy klonogénneho rastu buniek. Pomocou prietokovej cytometrie sme sledovali zmeny bunkového cyklu a viaceré znaky apoptózy, ako externalizácia fosfatidylserínu, špecifická fragmentácia DNA (TUNEL assay), kaspázová aktivita, zmeny mitochondriálneho membránového potenciálu (MMP) a vplyv reaktívnych kyslíkových radikálov na bunkovú smrť. Pomocou Western blotu sme analyzovali štiepenie PARP. Zmeny expresie vybraných génov boli analyzované pomocou real time qRT-PCR. Imunofluorescenčne sme sledovali zmeny morfológie jadra, markery poškodenia DNA a štruktúru tubulínov.

Výsledky: (E)-2-(2',4'-dimethoxybenzylidén)-1-tetalón (látku Q705) bol najúčinnejší derivát u línie HCT116 ($IC_{50} = 3,44 \pm 0,25 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$), ktorý tiež signifikantne inhiboval klonogénny rast. Látka Q705 spôsobovala zastavenie bunkového cyklu v G2/M fáze, ktorého možným mechanizmom sú sledované zmeny, ako fosforylacia histónu H2AX, porušenie štruktúry tubulínov a zníženie ich expresie. Bol tiež pozorovaný nárast subG0/G1 populácie buniek. Apoptóza bola potvrdená pomocou TUNEL assay a analýzou externalizácie fosfatidylserínu. Tento derivát u línie HCT116 spôsoboval zvýšenie kaspázovej aktivity, štiepenie PARP, zvýšenie produkcie reaktívnych kyslíkových radikálov a zníženie MMP. Tieto zmeny boli sprevádzané kondenzáciou chromatínu a zníženou expresiou antiapoptotického génu bcl-X_L.

Závery: Na základe antiproliferatívneho a proapoptotického účinku látky Q705 u línie HCT116 je tento chalkón potenciálnym liečivom v terapii kolorektálneho karcinómu.

Primárna ciliárna dyskinéza – diagnostika a liečba Primary ciliary dyskinesia – diagnosis and treatment

Peter Ďurdík^{1,2}, Peter Bánovčin^{1,2}

¹Klinika detí a dorastu, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, ²Centrum experimentálnej a klinickej respirologie, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine (peter.durdik@gmail.com)

Očistčovacia schopnosť dýchacích ciest, ktorá je tvorená viacerými vzájomne sa doplňujúcimi zložkami, je dôležitou súčasťou nereflexných obranných mechanizmov. Práve správna koordinácia jednotlivých zložiek je nevyhnutná k udržaniu rovnováhy v dýchacích cestách. Poruchy očistčovacej schopnosti dýchacích ciest predstavujú spoločného menovateľa pre početné chronické klinické jednotky v respirologii. Chronický kašeľ môže byť jedinou symptomatológiou, pre ktorú je pacient opakovane vyšetrovaný náročnými diagnostickými postupmi. Rozvoj biomedicínskych technológií, zdokonaľovanie digitalizácie záznamov a minimalizácia diagnostických prístrojov spresňujú diagnostiku na úrovni mikroštruktúr, zlepšujú stratifikáciu ochorenia a tým individualizáciu terapie. Jednou z najdôležitejších zložiek očistčovacej schopnosti dýchacích ciest je mukociliárny transport, ktorý je tvorený kinematikou cílií a reologickými vlastnosťami hlienu. Hodnotenie kinematiky cílií je stále vysokonáročný proces, ktorý predstavuje dôležitú súčasť diagnostického algoritmu primárnej ciliárnej dyskinézy.

Primárna ciliárna dyskinézia je raritné geneticky heterogénne ochorenie respiračného systému, ktoré patrí do širšej skupiny ciliopatii. Porucha motility cílií je podmienená funkčnými a ultraštrukturálnymi zmenami. Klinické príznaky sa manifestujú už v skorom detskom veku, najčastejšie sú chronická rinosinusitída, otitída a produktívny kašeľ. Diagnostiku zjednodušuje prítomný situs viscerum inversus alebo heterotaxia. Základom diagnostického algoritmu primárnej ciliárnej dyskinézy sú dôsledná anamnéza doplnená o komplexné fyzikálne vyšetrenie, sacharínový test vyžadujúci si spoluprácu pacienta a RTG a HRCT zobrazovacie vyšetrenie zamerané na odhalenie hlavne bronchiektáz. Exaktnejšími metódami sú meranie nazálneho NO a bioptické vyšetrenie s následnou svetelnou alebo elektrónovou mikroskopiou, ktorá presne popíše štrukturálne abnormality cílie. Svetelná mikroskopia spolu s vysokorýchlosťou kamerou umožňuje digitalizáciu pohybu riasinky a následnú objektivizáciu parametrov kinematiky. Najmodernejším postupom je možnosť stanovenia genetických zmien – špecifických génových mutácií, ktoré sú zodpovedné za primárne ciliárne dyskinézy.

V terapii je základom prevencia infekcie a dôsledný každodenný manažment zvyšujúci očistčovaciu schopnosť dýchacích ciest, ktorý je tvorený hlavne fyzioterapiou horných a dolných dýchacích ciest, terapiou znižujúcou viskozitu hlienu a zvyšujúcou pohyblivosť cílií. Okrem respiračnej terapie má významnú úlohu aj liečba chronickej rinosinusitídy či porúch sluchu.

Táto práca bola podporená Grantom VEGA 1/0252/14 a projektom Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin), ITMS: 26220220187, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ.

Alergická astma v experimentálnych podmienkach
Allergic asthma in experimental conditions

Soňa Fraňová, Marta Jošková, Ivana Kazimierová, Lenka Pappová, Martina Šutovská

Ústav farmakológie JLF UK, Martin (franova@jfmed.uniba.sk)

Úvod a cieľ: Experimentálne štúdie zaobrajúce sa manažmentom alergickej astmy sú neustále zamerané na hľadanie nových zdrojov látok, ktoré by sa mohli uplatniť v danej indikácii. Problémom experimentálnych štúdií je vytvorenie validného modelu, ktorý by simuloval priebeh astmy v humánnych podmienkach. Cieľom práce bolo sledovanie progresie zmien obranných mechanizmov dýchacích ciest, stupňa zápalu a remodelácie dýchacích ciest v podmienkach experimentálne vyvolanej alergickej astmy.

Metodika: Zmeny obranných mechanizmov dýchacích ciest a prítomnosť zápalu boli sledované u OVA senzibilizovaných morčiat po 21 dňoch. Z obranných mechanizmov dýchacích ciest boli vyšetrené zmeny: kašľového reflexu bdelých morčiat po inhalácii 0,3M kyseliny citrónovej; špecifického odporu dýchacích ciest metódou *in vivo* po inhalácii Hi (10^{-6} mol/l) a zmeny kinematiky cílií metódou *in vitro*. Stupeň zápalu bol definovaný stanovením hladín zápalových cytokínov IL-4, IL-5, IL-13 (BAL, sérum), hladín vydychovaného NO a stupňom mastocytárnej infiltrácie. Stupeň remodelácie dýchacích ciest vyšetrením hladín TGF β pomocou ELISA.

Výsledky: Po 21 dňoch senzibilizácie experimentálnych zvierat došlo oproti kontrole k miernemu poklesu počtu nárazov kašľa, ktoré môže byť vyvolané adaptáciou kašľových receptorov. Ostatné sledované parametre potvrdili zvýšenie citlivosti d'alších obranných mechanizmov a stupňa alergického zápalu u senzibilizovaných zvierat. Zistili sme zvýšenie odporu dýchacích ciest po inhalácii Hi a kinetiky cílií respiračného epitelu. Boli zaznamenané výrazné zápalové zmeny prezentované zvýšením hladiny zápalových cytokínov IL-4, IL-5, IL-13 (v BAL, sére), zvýšením hladín vydychovaného NO a stupňa degranulácie mastocytov. Zároveň po 3 týždňoch senzibilizácie dochádza k remodelácii dýchacích ciest.

Závery: Detailná analýza experimentálneho modelu použitého na štúdium zmien obranných mechanizmov dýchacích ciest v podmienkach alergického zápalu je základnou podmienkou na sledovanie možností ich farmakologického ovplyvnenia.

Podporené grantom: APVV-0305-12, MZ 2012/35-UKMA-12, VEGA 1/0165/14.

Sledovanie farmakodynamických a farmakokinetických vlastností teofylínu v experimentálne navodenom modeli alergickej astmy
Evaluation of pharmacodynamic and pharmacokinetic characteristics of theophylline in experimental model of allergic asthma

Anna c, Ivana Medved'ová, Miroslava Šimeková¹, Juraj Mokrý

Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine, ¹Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta UK a Univerzitná nemocnica Martin (fulmekova@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Bronchiálna astma je chronické zápalové ochorenie spojené s hyperreaktivitou dýchacích ciest (DC). K štandardnej liečbe patria v závislosti na štádiu ochorenia bronchodilatačné a protizápalové liečivá, ku ktorým sa zaraďujú aj metylxantíny. Jedným z mechanizmov pôsobenia ich reprezentanta teofylínu je neselektívna inhibícia fosfodiesteráz. Výsledkom je zvýšenie vnútrobunkovej koncentrácie cyklického AMP a GMP. V posledných rokoch sa zistilo, že zapojenie tohto mechanizmu účinku do výsledného farmakologického pôsobenia je závislé na dosahovanej koncentrácii v mieste pôsobenia. Cieľom tejto štúdie bolo porovnať pôsobenie jednorázovo a dlhodobo podávaného teofylínu v rôznych dávkach na reaktivitu dýchacích ciest v modeli experimentálne navodeného alergického zápalu u morčiat a zistiť, či dosiahnuté plazmatické hladiny sú relevantné k takému pôsobeniu.

Materiál a metódy: Dospelé morčatá boli rozdelené do šiestich skupín. Zvieratá v piatich skupinách boli senzibilizované ovalbumínom. Posledná skupina bola ponechaná bez senzibilizácie a bez liečby ako kontrola. Jedna senzibilizovaná skupina bola ponechaná bez liečby. Zvieratám v dvoch skupinách sa podával teofylín intraperitoneálne v dávke 5,0 mg/kg bud' jednorázovo alebo opakovane raz denne počas 7 dní. V ďalších dvoch skupinách sa teofylín aplikoval podobne, avšak v dávke 10,0 mg/kg. Špecifický odpor DC ako marker *in vivo* reaktivity DC sa hodnotil použitím celotelového dvojkomorového pletyzmografu po aplikácii histamínu (10^{-6} mol/l). *In vitro* reaktivita bola hodnotená prostredníctvom orgánových kúpeľov na prúžkoch tracheálneho a plúcneho tkaniva po aplikácii kumulatívnych dávok histamínu a acetylcholínu (10^{-8} - 10^{-3} mol/l). Plazmatické hladiny boli merané v liečených skupinách použitím HPLC metodiky.

Výsledky: Aplikácia teofylínu v dávke 5,0 mg/kg ako aj 10,0 mg/kg nedosiahla u morčiat odporúčané hladiny pre jeho farmakoterapeutické použitie (1,5 mg/l, resp. 2,5 mg/l). Napriek tomu bolo pozorované významné potlačenie reaktivity DC *in vivo*, avšak len po sedemdňovej aplikácii dávky 10,0 mg/kg. V porovnaní s nameranou hodnotou *in vivo* reaktivity DC u neliečenej senzibilizovanej skupiny bol rozdiel významný na 21. deň aj po sedemdňovej aplikácii v dávke 5,0 mg/kg. V podmienkach *in vitro* bola pozorovaná tendencia k poklesu reaktivity DC, pričom hladina významnosti bola dosiahnutá len pri nižších koncentráciách histamínu a acetylcholínu a po aplikácii vyšších dávok teofylínu. Plazmatická hladina teofylínu po jednorázovom a dlhodobom podaní sa pri rovnakej aplikovanej dávke významne nelíšila.

Závery: Teofylín spôsobuje pokles *in vivo* aj *in vitro* reaktivity DC u morčiat s ovalbumínom navodenou hyperreaktivitou DC, a to aj pri plazmatických koncentráciách, ktoré sú pod dolnou terapeutickou hranicou. Vyššia účinnosť pri dlhodobejšom podávaní naznačuje prevahu protizápalového pôsobenia teofylínu, ktoré sa môže nepriamo podieľať na jeho bronchodilatačnom pôsobení.

Grantová podpora: APVV-0305-12, Grant MZ 2012/35-UKMA-12, VEGA 1/0260/14

Gastroeozofágový reflux a respiračný systém Gastroesophageal reflux and respiratory system

Simona Gábrišová¹, Zuzana Havlíčeková², Renata Szépeová², Ján Mikler², Peter Bánovčin²

¹Pediatrické oddelenie, Fakultná nemocnica s poliklinikou Žilina, ²Klinika detí a dorastu, Jeseniova lekárska fakulta a Univerzitná nemocnica, Martin (simsonca@gmail.com)

Úvod: Liečba blokátormi protónovej pumpy je základom manažmentu u pacientov s gastroeozofágovou refluxovou chorobou (GERD) a endoskopicky potvrdenou ezofagitídou. Efektivita antisekrečnej liečby u pacientov s extraezofágovými prejavmi GERD je však stále diskutabilná. *Cieľom* štúdie bolo vyhodnotenie účinnosti liečby blokátormi protónovej pumpy v manažmente pediatrických pacientov respiračnými prejavmi asociovanými s GERD.

Metodika: Z 250 detí, ktoré podstúpili na KDaD UNM a JLF UK 24-hodinovú ezofagálnu pH-metriu bolo do štúdie zaradených 57 detí (31 chlapcov, 26 dievčat, priemerný vek $7,69 \pm 3,2$ roka), ktorí absolvovali opakovane vyšetrenie (pred liečbou a po 3-6 mesačnej liečbe blokátormi protónovej pumpy) pre respiračné symptómy asociované s GERD (perzistujúci kašel, rekurentné zápalové ochorenia dýchacích ciest, nedostatočne kontrolovaná brochiálna astma). Na posúdenie závažnosti refluxných epizód bolo použité DeMeester skóre.

Výsledky: Zistili sme signifikantné subjektívne zlepšenie po liečbe blokátormi protónovej pumpy ($p<0,001$), pokles DeMeesterovho skóre, ktorý však neboli signifikantný ($p=0,058$).

Záver: Naše výsledky potvrdili predpoklad, že liečba respiračných prejavov GERD blokátormi protónovej pumpy nie je jednoznačne účinná. Na posúdenie efektivity a bezpečnosti u pediatrických pacientov bude nutné zrealizovať ďalšie štúdie. Najvýznamnejšou limitáciou liečby blokátormi protónovej pumpy je perzistencia non-acidických refluxných epizód a nežiaduce účinky dlhodobej liečby blokátormi protónovej pumpy.

Práca bola podporená projektmi Dobudovania Centra experimentálnej a klinickej respirológie (CEKRII) - „Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov ES“ – ERDF – Európskeho fondu regionálneho rozvoja a Virtuálna a simulačná výučba ako nová forma vzdelávania na JLF UK v Martine.

Administration of Coca Cola for a long period of time results in development of manifestations of metabolic syndrome in Wistar rats

Kristína Galková, Eva Malíková, Eva Kráľová, Jasna Šranková, Peter Vavrinec, Martin Rupp, Peter Křenek, Ján Klimas

Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic (kristina.galkova@gmail.com)

Background&objective: In rat model, the use of Coca Cola to induce an experimental metabolic syndrome has not been described yet. Our priority aim was to determine whether six months administration of Coca Cola can lead to development of metabolic syndrome in rat.

Design/methods: Male Wistar rats received a standard diet. Additionally, a group of rats received a commercially available Coca Cola beverage (CC, n=13), controls (CON, n=7) drank common drinking water. We measured weight gain and triglycerides (TG) levels by using standard glucometer in capillary blood drops. Blood glucose was determined by oral glucose tolerance test (OGTT). In addition, heart rate (HR), systolic and diastolic blood pressures (sBP and dBP) were measured by using tail-cuff method.

Results: We observed a significantly increased body weight in CC rats (541 ± 12 g; $P < 0.01$) when compared to controls (443 ± 23 g). This was in accordance with significantly increased sBP (CC: 135 ± 3 mmHg vs. CON: 120 ± 4 mmHg; $P < 0.01$) and unaltered dBP (CC: 86 ± 1 mmHg vs. CON: 85 ± 1 mmHg; NS) and significantly increased HR (CC: 383 ± 9 mmHg vs. CON: 312 ± 15 mmHg; $P < 0.01$). Postprandial glycaemia was significantly changed after 60 minutes (CC: 9 ± 1 mmol/L vs. CON: 6 ± 1 mmol/L; $P < 0.01$) and after 90 minutes (CC: 8 ± 0.4 mmol/L vs. CON: 7 ± 0.5 mmol/L; $P < 0.01$). Additionally, we observed a non-significant tendency of increased TG (CC: 5.2 ± 0.4 mmol/L vs. 5 ± 0.5 mmol/L; NS).

Conclusion: Long-term administration of Coca-Cola can lead to development of cardiovascular (increased BP and HR) as well as metabolic manifestations (impaired glucose homeostasis) of metabolic syndrome in Wistar rat. Consequently, we propose this model as a reliable experimental model of rat metabolic syndrome.

Acknowledgment: This work was supported by grants APVV-0887-11, VEGA 1/0981/12, VEGA 1/0564/13.

Grafický nástroj na 3-D kvantitatívnu vizualizáciu respiračných neurónov v mozgovom kmeni – aspiračný, expiračný a kašľový reflex v porovnaní s dýchaním.**Graphical tool for 3-D quantitative visualization of brainstem respiratory neurons in aspiration, expiration, and cough reflexes compared to breathing.**Silvia Gavliaková¹, Ivan Poliaček², Zoltán Tomori³, Jana Plevková¹

¹Ústav patologickej fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, ²Ústav lekárskej biofyziky, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, ³Ústav lekárskej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika (silvia.gavliakova@gmail.com)

Respiratory neuronal networks contain several neuronal types differing in their functions and activities related to the phase of respiratory cycle, discharge frequency or location in the brainstem. Most of the respiratory centre neurons are located in the nucleus tractus solitarius, ventro-lateral medulla and dorso-lateral pons.

The aim of our study was to create a graphical tool to visualize distinct distribution and quantification of brainstem respiratory neurons in a three-dimensional and three-colour view. This tool was designed in Matlab environment and it provides possibilities to compare spatial distribution of regions involved in 3 different respiratory reflexes and spontaneous breathing.

Based on literary data we created a database of different respiratory groups of neurons. We processed data from feline brainstem studies. Actual database consists of 44 entries for spontaneous inspiration, 39 for spontaneous expiration, 37 for aspiration reflex, 57 for expiration reflex, and 57 for cough reflex. Each entry contains data on number, spontaneous or reflex character, and type of neurons assigned to respective anatomic region and a literature reference.

Visualized data locations differ in marker type, size and colour, allowing easier orientation for the user. The visual display demonstrates that there are more regions and more neurons involved in the generation of cough, expiration, and aspiration reflexes than those in spontaneous breathing.

This graphical tool was designed for students and researchers to improve their spatial orientation of distinct brainstem respiratory areas involved in different functions e.g. reflexes. The database designed in Microsoft Excel is simple and flexible so the users can apply their own entries, resulting from variable procedures, anytime.

Účinok antagonistu H₄ receptora JNJ 7777120 na kašľovú odpoveď a odpor dýchacích ciest v zvieracom modeli syndrómu kašľa asociovaného s ochoreniami horných dýchacích ciest**Effect of H₄ receptor antagonist JNJ 7777120 on cough response and airway resistance in animal model of upper airway cough syndrome.**

Eva Hanusková-Kováčová, Silvia Gavliaková, Tomáš Buday, Jozef Martinek, Juraj Halička, Jana Plevková

Department of Pathophysiology, Jessenius Faculty of Medicine in Martin, Comenius University in Bratislava, Martin, Slovakia (ehanuskova@jfmed.uniba.sk)

Background and aims: Older generation antihistamines are empirically used in subjects with upper airway cough syndrome, however the data about their efficacy share conflicting evidence with the concern related to side effects. Nowadays, attention is given to new categories of histamine H₄ receptor (H₄R) antagonists. H₄R are abundantly expressed on immune cells, nasal nerves and glands. H₄R antagonists reduce nasal inflammation and magnitude of nasal symptoms. The aim of our study was to assess the efficacy of H₄R antagonist JNJ7777120 on nasal symptoms magnitude; cough and specific airway resistance (Saw) in ovalbumin (OVA) induced allergic rhinitis (AR) in guinea pigs.

Material and methods: Animals (n=15) were sensitized by i.p. administration of OVA and were repeatedly challenged with nasal OVA to induce AR and up-regulate coughing. When the reliability of model was confirmed, animals were pre-treated with JNJ7777120 (0.25mg/kg and 0.5mg/kg i.p. 30 minutes prior OVA administration). Cough was induced by inhalation of citric acid 0.4M, in plethysmograph for 10 minutes. Final count of coughs was confirmed using traces of sudden interruption of the basal breathing by cough pattern and cough sound. Saw was measured in vivo by Pennock's method in baseline condition, during AR induced by OVA and during AR but after JNJ7777120 0.5mg/kg i.p. pre-treatment. Saw was evaluated after saline, histamine (H) and methacholine (M) inhalation challenges.

Results: AR up-regulated cough response from 11±2 to 19±3 coughs per provocation, med±IQR, p<0.05. Pre-treatment with 0.25mg/kg showed a tendency to decrease coughing and suppress nasal symptoms, however the data did not reach significance. Dose 0.5mg/kg significantly suppressed the nasal symptoms and number of cough obtained during provocation from 19±3 to 10±1, med±IQR, p<0.05. AR significantly enhanced airway reactivity to both H and M (p<0.05). JNJ7777120 pre-treatment inhibited significantly airway reactivity to H (p<0.05), but no M.

Vplyv chirurgickej liečby na citlivosť kašľového reflexu u pacientov s autoimunitnou tyreoiditídou**Influence of surgical treatment on cough reflex sensitivity in patients suffering from autoimmune thyroiditis**

Pavel Hanzel¹, Martina Neuschlová², Andrej Hajtman¹, Renata Péčová³

¹Klinika ORL a ChHaK UK JLF a UNM, ²Ústav mikrobiológie a imunológie UK JLF, ³Ústav patologickej fyziológie UK JLF (pavelhanzel@gmail.com)

Pl'úca a viaceré iné orgány postihnuté orgánovo-špecifickými autoimunitnými ochoreniami má spoločný embryologický pôvod. Asociácia idiopatického chronického kašľa s orgánovo-špecifickými autoimunitnými ochoreniami naznačuje, že kašeľ môže byť spôsobený infiltráciou steny dýchacích orgánov lymfocytmi pochádzajúcimi z primárneho miesta autoimunitného zápalu, alebo je výsledkom autoimunitného procesu v pl'úcach. Pacienti s idiopatickým kašľom sú prevažne ženy.

Cieľom našej štúdie bolo zistiť citlivosť kašľového reflexu u pacientov s autoimunitnou tyreoiditídou pred a po chirurgickej liečbe.

Sledovali sme 43 pacientov (35 Ž, 8 M, priemerný vek 34,68 roka) s autoimunitným a neautoimunitným ochorením štítnej žľazy hospitalizovaných na Klinike Otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku JLF UK a UNM pred a po chirurgickej liečbe a 21 zdravých dobrovoľníkoch (13 Ž, 8 M, priemerný vek 29,98 roka). Meranie citlivosti kašľového reflexu na kapsaicín sme vykonávali podľa odporúčaní guidelines Európskej respirologickej spoločnosti. Citlivosť kašľového reflexu sme u pacientov s ochorením štítnej žľazy zistovali pred a po chirurgickom odstránení *gl.thyroidea*.

Citlivosť kašľového reflexu bola u chorých s autoimunitnou tyreoiditídou v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi štatisticky významne vyššia. Po odstránení štítnej žľazy (eliminácia autoantigénu) sa citlivosť kašľového reflexu u pacientov autoimunitnou tyreoiditídou signifikantne znížila. U chorých s neautoimunitným ochorením štítnej žľazy po odstránení *gl.thyroidea* k štatisticky významnej zmene citlivosti kašľového reflexu nedošlo.

Citlivosť kašľového reflexu je u pacientov s autoimunitnou tyreoiditídou zvýšená. Po chirurgickom odstránenie štítnej žľazy sa u chorých s autoimunitnou tyreoiditídou citlivosť kašľového reflexu štatisticky významne zníži.

Účinky pentoxifylinu při akutním poškození plic indukovaném lipopolysacharidem u potkana Wistar**The effects of pentoxifylline in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in Wistar rat.**Zuzana Havlínová¹, Miloš Hrochh², Marian Šenkeřík³, Jaroslav Chládek¹

¹Ústav farmakologie a ²Ústav lékařské biochemie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, ³Dětské a novorozenecké oddělení Krajské nemocnice Pardubice (chladekj@lfhk.cuni.cz)

Úvod a cíle: V patogenezi akutního poškození plic (ALI) při sepsi mají kromě indukovatelné syntázy oxidu dusnatého (iNOS) význam i arginázy I a II (Arg I a II), jejichž zvýšená aktivita podporuje děje vedoucí k fibroproliferaci plic. Práce se zaměřila na změny v metabolické dráze arginin-NO na modelu lipopolysacharidem (LPS) indukovaného akutního poškození plic u potkana a vliv pentoxifylinu (PX).

Metodika: Samcům potkana Wistar SPF o hmotnosti 245 ± 33 g byl v čase 0 h intratracheálně (i.t.) podán LPS (*Escherichia coli*, serotyp O55:B5, 5 mg/kg, skupiny LPS a PXLPS) nebo fyziologický roztok (skupiny PX a K). Skupinám PXLPS a PX byl v čase 0 a 2 h podán PX (25 mg/kg i.t.) a skupinám LPS a K fyziologický roztok. V čase 6 h bylo provedeno vyšetření vydechovaného oxidu dusnatého (eNO), bronchoalveolární laváž (BAL) a odběr krve na biochemická vyšetření a plic na analýzu proteinové exprese metodou Western blot.

Výsledky: U potkanů LPS se zvýšila hmotnost plic, celková bílkovina v BAL a počet leukocytů a zastoupení neutrofilních granulocytů v buněčné složce BAL. Dále došlo k indukci exprese iNOS a Arg I a II v plicní tkáni a ke zvýšení koncentrace eNO a dusitanů a dusičnanů (násobné zvýšení oproti K: iNOS 1,9, eNO 4,8, Arg I 2,4, ArgII 1,6, NOx v BAL 1,6 a v plazmě 3,8; $p<0,001$). PX potlačil indukci iNOS a snížil eNO a NOx ve skupině PXLPS na úroveň kontrol. Expresa ArgI a ArgII se snížila částečně (- 40% a - 20% vs. LPS, $p<0,01$). PX neovlivnil další projevy ALI.

Závěry: PX v akutní fázi LPS indukovaného ALI u potkana není schopen zmírnit patologické změny, jako jsou zvýšená propustnost alveolokapilární membrány, otok plic a přítomnost buněk záhnu. Je nutné dále zkoumat, zda pokles exprese argináz v plicní tkáni ukazuje na schopnost PX snížit riziko plicní fibrózy.

Grantová podpora: Prvouk 37/05.

Metylfenidát a jeho vplyv na ADHD a komorbídne poruchy
Efect of methylphenidate on ADHD and comorbidity

Igor Hrtánek^{1,2}, Igor Ondrejka², Tomáš Kulhan^{1,2}, Ingrid Tonhajzerová³, Eva Šnircová^{1,2}, Gabriela Nosáľová¹

¹Ústav Farmakológie Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, ²Psychiatrická klinika Univerzitnej nemocnice Martin a Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, ³Ústav fyziológie Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave (hrtanek@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Porucha pozornosti s hyperaktivitou – ADHD – je ochorenie charakterizované jadrovými príznakmi, konkrétnie hyperaktivitou, nepozornosťou a impulzivitou, poruchami jemných motorických schopností (soft neurological signs), ako aj špecifickými porúchami školských schopností a pridružených symptómov z okruhu porúch správania a porúch nálady. Metylfenidát svojim vplyvom na dopamínovú neurotransmisiu ovplyvňuje jadrovú symptomatiku, pričom sa predpokladá aj jeho vplyv na komorbídne poruchy.

Ciele a metódy práce: V štúdii sme na vzorke 34 pacientov posudzovali efekt metylfenidátu na jadrovú symptomatiku a pridružené komorbídne symptómy, konkrétnie poruchy správania a poruchy nálady počas akútnej fázy liečby v trvaní 4 týždne pomocou dotazníkov ADHD-RS4, CDI a PQS. Jemné neurologické príznaky sme hodnotili na základe neurologického vyšetrenia Paness (Physical and Neurological Exam for Subtle Signs) a to pred nastavením na terapiu metylfenidátom a po jednom mesiaci administrácie.

Výsledky: Na našej vzorke pacientov sme zaznamenali signifikantný vplyv metylfenidátu na jadrovú symptomatiku (hyperaktivita p=0,003, impulzivita p= 0,009) ako aj na poruchy nálady v hrubom skóre CDI (p=0,005), na poruchy správania v jednotlivých transformovaných veličinách (Faktor 1 p=0,027, Faktor 2 p=0,046, Faktor 3 p=0,01, Faktor 4 p=0,003, Faktor 5 p=0,02, Faktor 6 p=0,034) a na jemné neurologické príznaky (chôdza a postoj p=0,001, 20 sekundové opakované úkony p=0,051). Signifikantné výsledky v zlepšení jednotlivých symptómov ochorenia ADHD sme zaznamenali aj v podskupine pacientov s komorbídnym psychickým ochorením.

Záver: Výsledky našej štúdie poukazujú na signifikantný vplyv metylfenidátu na jadrovú symptomatiku ADHD ako aj na komorbídne poruchy a jemné neurologické príznaky.

**1-metoxybrasinín, potenciálna protinádorová látka z kapustovitých rastlín
1-methoxybrassinin, potential anticancer agent from cruciferous vegetables**

Martina Chripková¹, Dávid Drutovič¹, Martina Pilátová¹, Martin Kello¹, Mariana Budovská², Janka Vašková³, Massimo Broggini⁴, Ladislav Mirossay¹, Ján Mojžiš¹

¹Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice,

²Katedra organickej chémie Prírodovedeckej fakulty, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice,

³Ústav lekárskej a klinickej biochémie a LABMED, a.s., Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice,

⁴Ústav onkológie, Farmakologický inštitút Mario Negri, Miláno, Taliansko (chripkova.martina@gmail.com)

Úvod: Brasín a 1-metoxybrasín patria medzi najvýznamnejšie a prvé izolované indolové fytoalexíny z čeľade kapustovité. Indolové fytoalexíny majú významnú úlohu pri obrane kapustovitých rastlín pred vonkajšími fytopatogénnymi vplyvmi, vykazujú antimikrobiálne, antifungálne a antiproliferatívne účinky.

Ciele práce: Zistiť možný antiproliferatívny účinok brasínu a jeho derivátov na nádorových bunkových líniach a zaoberať sa štúdiom potenciálneho mechanizmu účinku.

Metódy: Pomocou kolorimetrického MTT testu sme stanovili antiproliferatívny efekt študovaných látok, zmeny expresie a aktivity vybraných génov/proteínov regulujúcich apoptózu boli analyzované pomocou real-time qRT-PCR, Western blotu a fluorogénneho kitu na stanovenie aktivity kaspázy -3, -7. Elektroforézou v agarózovom géli sme analyzovali fragmentáciu DNA a prietokovou cytometriou zmeny bunkového cyklu po inkubácii s testovanou látkou.

Výsledky: Spomedzi testovaných derivátov brasínu vykazoval najvyššiu antiproliferatívnu aktivitu 1-metoxybrasín na nádorovej bunkovej línii Caco-2 ($IC_{50} 8.2 \pm 1.2 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$). Analýza bunkového cyklu poukázala na redistribúciu bunkového obsahu po inkubácii s testovanou látkou do subG₀/G₁ frakcie, ktorá je považovaná za marker apoptózy. 1-metoxybrasín indukoval zvýšenie expresie pro-apoptotického génu bax a pokles expresie anti-apoptotických génov bcl-2 a bcl-xL. Vplyvom tejto látky bola v bunkách Caco-2 taktiež pozorovaná aktivácia kaspázy -3, -7, štiepenie proteínu PARP, fragmentácia DNA a pokles hladiny glutatiónu.

Záver: 1-metoxybrasín je potenciálny prírodný inhibítorm pre proliferáciu a induktor apoptózy nádorových buniek kolorektálneho karcinómu. Vzhľadom na jeho schopnosť vyvoláť depléciu glutatiónu, by mohol byť tento indolový fytoalexín použitý ako senzibilizujúca látka u chemorezistentných nádorových buniek.

Práca bola podporovaná VEGA grantom 1/0322/14

**Aktuálne smery v liečbe bronchiálnej astmy v detskom veku
Current trends in treatment of bronchial asthma in children**

Miloš Jeseňák^{1,2}, Peter Bánovčin^{1,2}, Eva Babušíková³

¹Klinika detí a dorastu, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, ²Centrum experimentálnej a klinickej respirologie, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, ³Ústav lekárskej biochémie, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine (jesenak@gmail.com)

Bronchiálna astma je najčastejším chronickým respiračným ochorením v detskom veku. Je charakterizovaná chronickým zápalom v dýchacích cestách sprevádzaným ich prestavbou (tzv. remodeláciou) a následným rozvojom bronchiálnej hyperreaktivity na špecifické aj nešpecifické podnety z vonkajšieho a vnútorného prostredia.

V ostatných rokoch došlo k zásadným objavom v oblasti patogenézy bronchiálnej astmy, čo v konečnom dôsledku viedlo k vývoju jednak nových skupín antiastmatických liekov ako aj k zlepšeniu a zdokonaleniu niektorých starších molekúl s vystupňovaním ich klinického protizápalového účinku a minimalizáciou nežiaducích účinkov. Fenotypizácia a endotypizácia astmy do istej miery uľahčila optimalizáciu terapeutického prístupu. V liečbe bol ustanovený tzv. krokový prístup, v rámci ktorého dochádza ku korekcii liečby na základe dosiahnutého stupňa kontroly nad klinickými príznakmi. Základnými dvomi skupinami liekov sú inhalačné kortikosteroidy a antagonisti leukotriénových receptorov. V klinickom skúšaní sú aj nové molekuly tzv. disociovaných kortikosteroidov, pri ktorých je zvýraznený protizápalový účinok pri odstránení nežiaducích účinkov. Pri alergickom zápale a pridruženej alergickej komorbidite (napr. rinitíde) je na mieste aj liečba moderným nesedatívnym antihistamínikom. Pri nedostatočnej kontrole ochorenia je indikované pridanie dlhodobo pôsobiaceho β_2 -mimetika. V prípade ďažkej perzistujúcej astmy je indikovaná liečba systémovým kortikosteroidom alebo biologická liečba – omalizumab, ktorú je možné aplikovať od 6. roku života. Svoje miesto v liečbe astmy postupne získava aj špecifická alergénová imunoterapia, ktorá predstavuje jedinú kauzálnu liečbu alergického zápalu. Zatiaľ čo inhalačné kromóny svoje postavenie v liečbe stratili, vo výhľade sú nové skupiny liekov s potenciálom zaradenia sa do liečebných postupov astmy nielen u dospelých ale aj u detí (nové β_2 -mimetika, anticholínnergiká, nové formy biologickej liečby, nové protizápalové lieky).

Aj napriek tomu, že liečba detskej astmy predstavuje jeden z najprepracovanejších liečebných protokolov, budúcnosťou je personalizovaná terapia, pri ktorej bude možné liečiť konkrétneho pacienta na základe jeho genetickej informácie a ďalších špecifických charakteristík, ktoré sú jedinečné pre konkrétneho detského pacienta s bronchiálnou astmou.

Táto práca bola podporená Grantom VEGA 1/0252/14 a projektom Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin), ITMS: 26220220187, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ.

K molekulárni podstatě kardioprotektívного účinku dexrazoxanu proti chronické antracyklinové kardiotoxicite**To the molecular mechanisms of cardioprotective action of dexrazoxane against chronic anthracycline cardiotoxicity**

Eduard Jirkovský¹, Olga Lenčová¹, Anna Jirkovská², Eliška Potůčková², Miloš Hroch¹, Michaela Adamcová³, Tomáš Šimůnek², Vladimír Geršl¹, Martin Štérba¹.

¹Department of Pharmacology, ³Department of Physiology, Faculty of Medicine in Hradec Králové and ²Department of Biochemical sciences, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Hradec Králové, Czech Republic (jirkovskye@lfhk.cuni.cz)

Introduction: Chronic cardiotoxicity is the most feared toxic effect of anthracycline antibiotics (ANT). So far dexrazoxane (DEX) is the only clearly effective cardioprotective agent in this setting. However, molecular mechanisms responsible for DEX cardioprotection remain unclear. This report addresses traditional and alternative mechanisms which could explain its potent cardioprotective action against ANT cardiotoxicity.

Methods: Anthracycline cardiotoxicity was induced in rabbits with daunorubicin (DAU, 3 mg/kg/week for 10 weeks) and DEX (60 mg/kg) was administered 30 min prior each DAU dose. LV myocardium was analyzed for oxidative stress, mitochondrial damage, common deletions in mtDNA, mtDNA/nDNA and expression of mitochondrial proteins encoded by mtDNA and nDNA. Interaction of DEX with iron was studied in H9c2 cardiomyoblasts. In addition, topoisomerase 2β (TOP2b) expression was studied after DEX exposure *in vitro* and *in vivo*.

Results: Administration of DEX completely prevented profound systolic and diastolic LV dysfunction induced by DAU and this was associated with significant protection of mitochondria. However, the protection did not show strong direct relationship to markers of oxidative stress and we showed that the effect was not based on protection of mtDNA from common deletions. Instead, DAU significantly decreased expression of mitochondrial biogenesis regulators (e.g. TFAM) and oxidative phosphorylation subunits encoded by both nDNA and mtDNA. All these changes were almost completely prevented by DEX treatment. Noteworthy, *in vitro* experiments showed inability of DEX to mobilize iron from H9c2 cells. However, DEX exposure decreased TOP2b protein levels which correspond with recent data on key role of TOP2b in anthracycline cardiotoxicity development.

Conclusion: The present data suggest that DEX cardioprotective effects may not be based on iron chelation and prevention of oxidative stress or mtDNA deletions. Instead, DEX-induced depletion of TOP2b may be important for cardioprotection and merit further study.

Grant support: GACR 13-15008S and PRVOUK P37/05.

The role of ion channels in the regulation of airway ciliary beat frequency

Marta Jošková¹, Dušan Koniar², Libor Hargaš², Miroslav Hrianka², Peter Ďurdík³, Peter Bánovčin³, Martina Šutovská¹, Lenka Pappová¹, Soňa Fraňová¹

¹Department of Pharmacology, Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin, Slovakia, ²Department of Mechatronics and Electronics, Faculty of Electrical Engineering, University of Zilina, Slovakia, ³Department of Children and Adolescents, Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin and Martin University Hospital (joskova@jfmed.uniba.sk)

Introduction: Ion channels play a role in the pathophysiology of respiratory diseases. In addition to the control of contractile activity and neuronal reflexes in the airways, they modulate mucociliary clearance via regulation of ion transport in airway epithelial cells. But little is known about the extent to which they influence the movement of respiratory cilia.

Aim: The aim of this study was to analyse the role of potassium and calcium ion channels in respiratory cilia regarding to the ciliary beat frequency under the physiological and pathological conditions of allergen-induced airway inflammation.

Methods: The tracheal ciliated epithelium of healthy and ovalbumin sensitized guinea pigs was used in our in vitro experiment. Freshly obtained ciliary brushing samples for microscopic preparations were studied using high speed video camera and analysed by Ciliary analysis softwer. The dose-dependent effects of several potassium channel (K_{ATP} and BK_{Ca}) agonists (pinacidil, NS1619) and antagonists (glibenclamide, tetraethylammonium chloride) as well as the effect of CRAC ion channels antagonist, 3-fluoropyridine-4-carboxylic acid, on the ciliary beat frequency (in Hz) were examined.

Results: Our results confirmed the important role of K_{ATP} channels in ciliary stimulation under the physiological condition, but in ciliary inhibition during allergic airway inflammation. CRAC channel blockade was responsible for the significant inhibitory effect on the ciliary beating in healthy animals. This effect was reduced in asthma conditions. BK_{Ca} channels did not play a crucial role in the ciliary beat frequency regulation.

Conclusion: The present study suggests the modulatory effect of K_{ATP} and CRAC ion channels on the tracheal ciliary beat frequency in experimental conditions. But it should be noted that their roles vary during physiological and pathological conditions.

Acknowledgement: "The increasing of opportunities for career growth in research and development in the medical sciences", co-financed from EU sources; VEGA 1/0165/14; MZ 2012/35-UK MA-12; APVV-0305-12.

**Účinok polyfenolických látok a experimentálne vyvolaná alergická astma
The effect of polyphenolic compound and experimentally induced allergic asthma**

Ivana Kazimierová, Marta Jošková, Lenka Pappová, Martina Šutovská, Soňa Fraňová

Ústav farmakológie, Jesseniová lekárska fakulta UK v Martine (kazimierova@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Astma je chronické zápalové ochorenie sprevádzané hyperreaktivitou dýchacích ciest a hypersekréciou hlienu. Súčasná liečba astmy je zameraná na redukciu symptómov a optimalizáciu plúcnych funkcií cez potláčanie zápalu. Novinky vo farmakoterapii astmy preukázali pozitívne účinky polyfenolických látok v liečbe alergického zápalu a s ním spojených symptómov.

Ciel: Zhodnotiť dlhodobý účinok polyfenolických zmesí Provinolu (20 mg/kg, p.o.), Flavínu7 (2 ml/kg, p.o.) a ich kombinácie s budesonidom (1 mM, inhalačne) na experimentálnom modeli alergickej astmy.

Metodika: Obranné mechanizmy dýchacích ciest: špecifický odpor dýchacích ciest (sRaw) po inhalácii histamínu (10^{-6} mol.l⁻¹) a kašľový reflex vyvolaný aerosolom kyseliny citrónovej (10^{-3} mol.l⁻¹) sme hodnotili *in vivo* metódou u bdelých morčiat umiestnených v celotelovom bodypletyzmografe na 7., 14., a 21. deň experimentu. Zmena frekvencie kinematiky cílii (Hz) bola hodnotená *in vitro* brushing metodikou. Hladiny IL-4, IL-5 a IL-13 v sére

a v bronchoalveolárnej tekutine boli použité ako parameter protizápalovej aktivity testovaných substancií a vyšetrené použitím metódy BioPlex. Rastový faktor TGF-β podielajúci sa na prestavbe steny dýchacích ciest bol stanovený z plúcnych homogenátov metódou ELISA.

Výsledky: Naše výsledky ukázali, že 21- dňová aplikácia Provinolu a Flavínu7 viedla k signifikantnému zníženiu sRaw a k supresii kašľového reflexu. Testované substancie upravili frekvenciu pohybu cílii na fyziologickú hodnotu. Okrem toho, kombinácia Provinol+budesonid a Flavín7+budesonid zosilňovala bronchodilatačný a antitusický účinok substancie používanej v monoterapii. Naše výsledky tiež potvrdili protizápalový účinok Provinolu a Flavínu7.

Záver: Na záver môžeme povedať, že Provinol a Flavín7 majú antiastmatické účinky a ich kombinácia s budesonidom potvrdila možnosť využitia polyfenolických zmesí v kombinovanej terapii.

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-0305-12, CEKR II. – Projekt spolufinancovaný zo zdrojov EU; Grant VEGA 1/0165/14, Grant MZ 2012/35-UKMA-12; Grant Univerzity Komenského č. UK/8/2014.

**FLAVIN 7® a jeho vplyv na nádorové bunky
Effect of FLAVIN 7® on cancer cells**

Martin Kello, Ján Mojžiš

Ústav farmakológie LF UPJŠ v Košiciach (kellomartin@yahoo.com)

Úvod: V súčasnej dobe intenzívne študovanú skupinu prírodných látok predstavujú flavonoidy. Predpokladá sa, že pre ich vlastnosti by mohli hrať dôležitú úlohu v procesoch inhibície proliferácie a transformácie nádorových buniek.

Ciele práce: Mechanizmy účinku prírodných flavonoidov v súčasnosti ešte nie sú uspokojivo objasnené. Cieľom štúdie bolo objasniť účinok komerčne dostupného prírodného extraktu (FLAVIN 7®) s vysokým obsahom flavonoidov na bunky karcinómu prsníka MCF-7 v *in vitro* podmienkach.

Metódy: Na stanovenie možných antiproliferatívnych a proapoptických účinkov sa využili viaceré metodiky vrátane testu metabolickej aktivity (MTT), fluorescenčná analýza morfologických zmien a fragmentácia DNA. Stanovenie zmien bunkového cyklu, miera externalizácie fosfatidylserínu (FS), zmeny oxidačného stavu a miera poškodenia mitochondrií, ako aj stav zapojenia pro/antiapoptických proteínov bola vykonaná prostredníctvom pietokovej cytometrie.

Výsledky: Testovaný produkt FLAVIN 7® vyzkazoval koncentračne a časovo závislú inhibíciu proliferácie buniek MCF-7. Extracelulárne podanie zmesi viedlo k nárastu počtu buniek s apoptickou morfológiou, k zvýšenej miere externalizácie FS, k zmenám mitochondriálneho potenciálu a oxidačného stavu a k zmenám aktivácie pro/antiapoptických proteínov.

Záver: FLAVIN 7® prostredníctvom zmien oxidačného stavu, poškodením mitochondrií a indukciou apoptózy inhibuje proliferáciu buniek MCF-7.

Grantová podpora: Táto publikácia bola vytvorená za podpory (100%) a realizáciou projektu Medicínsky univerzitný park v Košiciach (MediPark, Košice) ITMS:26220220185 (100 %) na základe podpory Operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja (OP VaV-2012/2.2/08-RO) č. zmluvy: OPVaV/12/2013.

Hodnotenie biologických účinkov nových potenciálnych protinádorových liečiv *in vitro*
In vitro biological evaluation of new potential anticancer drugs

Stanislava Keltošová¹, Josef Jampílek², Peter Kollár¹

¹Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ²Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno (F11022@vfu.cz)

Úvod: Vážnym problémom v rámci terapie onkologických ochorení je neadekvátna terapeutická odpoveď, ktorá je spôsobená rezistenciou organizmu na používané chemoterapeutiká. Práve to je dôvodom neustálej snahy vyhľadávať nové protinádorové účinné liečivá.

Na Ústave chemických liečiv Farmaceutickej fakulty VFU v Brne bola syntetizovaná nová skupina 4-aminoaryl-2-styrylchinazolínov. Chinazolíny sa vyznačujú širokým spektrom biologických účinkov, mnoho liečiv z tejto skupiny sa používa v rámci protinádorovej terapie ako inhibítory tyrozínských kináz (TKI) – napr. gefitinib, lapatinib, niektoré sú inhibítory dihydrofolát reduktázy (DHFRI), interagujú s tubulínom, ovplyvňujú bunkový cyklus alebo pôsobia ako induktory apoptózy.

Ciele: Cieľom práce bolo zistiť *in vitro* antiproliferačnú/cytotoxickú aktivitu troch nových 4-aminoaryl-2-styrylchinazolínov (JF-derivátov) na THP-1 bunkovú líniu ľudskej monocytárnej leukémie a analyzovať bunkový cyklus pomocou prietokového cytometra.

Metodika: Antiproliferačný účinok bol zisťovaný WST-1 analýzou a priamym počítaním buniek. Metóda priameho počítania bola využitá aj na hodnotenie viability buniek. Bunkový cyklus bol sledovaný prietokovou cytometriou.

Výsledky: Z troch derivátov (JF-131, JF-132, JF-134), testovaných v koncentračnom rozsahu 0,5 – 30 µmol/l, vykázal antiproliferačnú aktivitu iba JF-131. Hodnoty IC₅₀ boli v rozsahu od 9,8 do 12,5 µmol/l v rôznych časoch pôsobenia látky (24, 48 a 72h). V rozmedzí efektívnych koncentrácií vykazoval derivát JF-131 cytotoxické účinky, ktoré sa prejavili poklesom viability buniek. Efekt bol časovo a koncentračne závislý. V ďalšej časti práce sme sledovali bunkový cyklus. Na základe predošlých výsledkov meraní boli zvolené testovacie koncentrácie 8, 10, 12 a 15 µmol/l. Výsledky ukazujú, že derivát JF-131 po 24h v koncentráciách 8 a 10 µmol/l indukuje kumuláciu buniek v G₀/G₁ fáze a zníženie prechodu buniek do S fázy. Vo vyšších koncentráciách (12 a 15 µmol/l) bol charakter distribúcie bunkového cyklu zmenený a zároveň bola pri týchto koncentráciách detekovaná sub-G₁ frakcia, ktorá je charakteristickým znakom apoptózy a naznačuje, že tento derivát ju pri daných koncentráciách indukuje.

Závery: Na základe doterajších výsledkov môžeme povedať, že chinazolínový derivát JF-131 má potenciál byť efektívou a netoxickou látkou v oblasti protinádorovej terapie. V ďalšej časti práce sa zameriame predovšetkým na definovanie molekulového mechanizmu pôsobenia látky.

Grantová podpora: Táto práca bola podporená grantom Internej grantovej agentúry VFU Brno, projektom 44/2014/FaF.

**Imunobiologická aktivita konjugátu trilobolidu
Immunobiological activity of trilobolide and its conjugates**

Eva Kmoníčková^{1,2}, Silvie Rimpelová³, Lucie Vejvodová¹, T. Ruml³, Michal Jurášek⁴, Pavel Drašar⁴

¹Institute of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University in Prague Pilsen, ²Biomedical Center, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University in Prague, Pilsen, Czech Republic, ³Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology in Prague, Czech Republic, ⁴Department of Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemical Technology in Prague, Czech Republic (Eva.Kmonickova@fp.cuni.cz)

Introduction: Thapsigargin, a natural compound of guaianolide type of sesquiterpene lactones (SL), is subject of interest in antineoplastic treatment for its ability to increase intracellular calcium and to induce apoptosis. In addition, we revealed immunostimulatory activity of thapsigargin and closely related trilobolide. A relation between changes of intracellular calcium and immunomodulatory activity induced by SL is subject of our studies.

Aim: To better understand intracellular kinetic and functions of SL, we focused on synthesis of trilobolide conjugates. New semi-synthetic trilobolide analogues were investigated for cytotoxicity and immunomodulatory properties.

Methods: Trilobolide molecules were modified with acyl chain linkers of various length at C-8 position. These derivatives were used for conjugation with fluorescence marker Bodipy. Primary peritoneal cells isolated from rats were used for evaluation of biological effects. Rat peritoneal cells (2×10^6 /ml) were cultured 24 h in presence of test compounds in RPMI-1640 medium. Supernatants of rat peritoneal cells were analyzed for NO (nitric oxide) production (Griess reagent). Concentrations of cytokines were determined by ELISA kits. Cytotoxicity of trilobolide and its derivatives was evaluated by WST-1 assay. Cellular uptake of the test derivatives was performed by fluorescence microscopy in live cells.

Results: We found significant and dose-dependent (0.01- 100.0 μ M) NO production induced by trilobolide conjugates. The potency of compounds was lower in comparison to trilobolide, but correlated well with the cytokine expression (TNF- α , IFN- γ , IL-2). The effects of conjugates were not influenced by fluorescent Bodipy itself. The highest cytotoxic effect was found for trilobolide. Using live cell microscopy we confirmed intracellular target, i.e. endoplasmic reticulum for bioconjugates.

Conclusion: We succeeded in synthesis of fluorescently modified trilobolide and confirmed its biological activity. Trilobolide conjugates will serve for further pharmacological characterization of sesquiterpene lactones.

This work was supported by Czech Science Foundation 303/14/ 04329 and by ERDF: CZ.1.05/2.1.00/03.0076.

**Vplyv rifampicínu na povrchové vlastnosti exogénneho surfaktantu
Effect of rifampicin on the surface properties of exogenous surfactant**

Maroš Kolomazník¹, Andrea Čalkovská¹, Egbert Herting², Guido Stichtenoth²

¹Ústav fyziologie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko; ²Department of Pediatrics, University of Schleswig-Holstein, Lübeck, Germany (maroskolomaznik@gmail.com)

Úvod a ciele: Exogénny plúcny surfaktant môže byť použitý na vpravenie liečiv (napr. antibiotík) do alveolárneho priestoru. Vzhľadom na riziko inaktivácie surfaktantu treba poznáť jeho vzájomnú interakciu s prepravovanou látkou, avšak podrobnejšie informácie o interakcii medzi surfaktantom a liekmi s antimikrobiálnym účinkom chýbajú. Cieľom štúdie bolo zhodnotiť, či baktericídne antibiotikum rifampicín modifikuje biofyzikálne vlastnosti surfaktantu živočíšneho pôvodu. Rifampicín je vďaka svojej intracelulárnej aktivite a širokému antimikrobiálemu pôsobeniu účinnou látkou napríklad v boji proti plúcnej infekcii spôsobenej *Mycobacterium tuberculosis*.

Metodika: Curosurf® (surfaktant z prasacích plúc) a Survanta® (hovädzí surfaktant) boli zriadené na koncentráciu 2,5 až 5 mg/ml fosfolipidov v 0,9% NaCl, a bol pridaný rifampicín (RIF) 1%, 5% a 10% (w/w). Minimálne (γ_{\min}) a maximálne (γ_{\max}) povrchové napätie zmesi bolo hodnotené surfaktometrom pracujúcim na princípe pulzujúcej bubliny (PBS) imitujucej striedanie inspíria a exspíria.

Výsledky: Po 5 minútach v PBS, γ_{\min} Survanty v koncentráции 3 mg/ml bolo signifikantne vyššie po pridaní 5% a 10% RIF oproti Survante bez RIF (obidve $p < 0,001$). Po pridaní 1% RIF γ_{\min} Survanty bolo ≈ 10 mN/m, táto hodnota však nebola významne rozdielna v porovnaní so Survantou bez RIF. γ_{\min} Curosurfu v dávke 3 mg/ml bolo zvýšené v zmesi s 10% RIF ($p < 0,001$), ale nie s 1% a 5%. Pri koncentrácií 5 mg/ml, Survanta bola inhibovaná 10% RIF ($p < 0,05$), zatiaľ čo γ_{\min} Curosurfu bolo nízke (< 5 mN/m) vo všetkých zmesiach.

Závery: Curosurf® a Survanta® interferujú s rifampicínom v závislosti od koncentrácie. Pri vhodnej koncentrácií fosfolipidov sú surfaktanty živočíšneho pôvodu schopné zachovať si dobrú povrchovú aktivitu aj po zmiešaní s antibiotikami.

Grantová podpora: VEGA 1/0416/12; APVV-0435-11; UK/171/2014.

Vliv pohlaví na farmakokinetiku itopridu u zdravých lidských dobrovolníků
The influence of sex on the pharmacokinetics of itopride in healthy human volunteers

Jiří Kopecký, Zbyněk Svoboda, Jana Zoulová, Ivana Zubatá

Institute of Experimental Biopharmaceutics, PRO.MED.CS Praha a.s., Hradec Králové, Czech Republic (jiri.kopecky@promed.cz)

Introduction. Sex differences in pharmacokinetics have been described in many drugs (Soldin *et al.* Clin Pharmacokinet 2009; 48: 143-57; Schwartz Clin Pharmacokinet 2003; 42: 107-21). The aim of our study was to investigate the influence of sex on the pharmacokinetics of prokinetic drug itopride.

Methods. Itopride was administered to 18 healthy men (18-48 years, 62-85 kg) and 16 healthy women (20-53 years, 58-88 kg) in a single dose of 50 mg (one tablet) after 10-hour fasting. Blood samples (5 ml) were drawn 0-36 hours after the administration. Plasma itopride concentrations were determined by an HPLC-MS/MS method.

Results. Calculated pharmacokinetic parameters (arithmetic mean ± standard deviation, except for t_{max} data which are given as median and range) are presented in the Table. Unpaired *t*-test was used for statistical evaluation of logarithmically transformed pharmacokinetic parameters (men *versus* women).

Parameter	Unit	Men	Women	p
AUC _{0-inf}	[ng.h/ml]	799 ± 200	680 ± 336	0.0722
AUC _{0-t}	[ng.h/ml]	750 ± 206	630 ± 333	0.0700
C _{max}	[ng/ml]	254 ± 85	249 ± 110	0.6150
t _{max}	[h]	0.75 (0.33-1.25)	0.5 (0.33-1.25)	-
t _{1/2}	[h]	5.76 ± 1.20	5.94 ± 1.58	0.7042
AUC _{0-inf, adj}	[ng.h/ml]	836 ± 230	671 ± 324	0.0274
AUC _{0-t, adj}	[ng.h/ml]	785 ± 237	621 ± 323	0.0296
C _{max, adj}	[ng/ml]	267 ± 101	245 ± 106	0.4086

adj ... body weight-adjusted parameter (calculated by normalizing for 70 kg of body weight)

There were no statistically significant differences between men and women in any non-adjusted pharmacokinetic parameter. However, after adjustment of the parameters AUCs to the body weight significant differences were found.

Conclusion. The pharmacokinetics of itopride seems to be influenced by the sex in healthy human volunteers; the extent of bioavailability is about by 20 % lower in women.

N-acetylcysteín potencuje efekt liečby surfaktantom pri respiračnom zlyhávaní v experimente**N-acetylcysteine potentiates the effect of surfactant therapy in experimental respiratory failure**

Jana Kopincová, Daniela Mokrá, Pavol Mikolka, Maroš Kolomazník, Andrea Čalkovská

Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Martine
kopincova@jfmed.uniba.sk)

Introduction and aims: Meconium aspiration induces in newborns serious respiratory failure known as meconium aspiration syndrome (MAS). MAS is associated with activation of inflammatory and oxidative pathways and airway obstruction with pulmonary surfactant inactivation. One of the most effective therapies for severe meconium aspiration syndrome is exogenous surfactant administration which improves respiratory functions; however, surfactant does not treat the inflammation completely. Oxidative process can lead to later surfactant inactivation. Hence, surfactant combination with antioxidative agent may potentiate the benefit of therapy.

Methods: Young New Zealand rabbits were instilled by meconium suspension and treated by surfactant alone, N-acetylcysteine (NAC) alone or by their combination and ventilated for 5 hours. Before meconium application, blood samples were taken and then in intervals 30 min after meconium and 30 min, 1, 3 and 5 hours after the treatment administration for evaluating of oxidative damage, white blood cell (WBC) differential count, blood gasses and ventilatory parameters. IL-8 and IL-1 β levels were assessed in lung tissue homogenates, WBC differential was assessed also in bronchoalveolar lavage fluid.

Results: NAC alone had only mild therapeutic effect on MAS. However, the combination of NAC and surfactant facilitated quicker onset of therapeutic effect in ventilatory parameters (oxygenation index, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) compared to surfactant. The combination was the only treatment whose effect lasted out till the end of experiment and which prevented leukocyte migration into the lungs and oxidative damage. Moreover, NAC suppressed cytokine formation and thus seems to be favourable agent for improving surfactant therapy in given respiratory failure.

Supported by: VEGA 1/0291/12, APVV-0435-11, Biomed Martin

Effect of late subchronic prenatal asphyxia - programming of anxiety and depression-like behaviour

Romana Koprdová¹, Natália Sedláčková¹, Martina Krajčiová², Eduard Ujházy¹, and Mojmír Mach¹

¹Institute of Experimental Pharmacology & Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia, ²Department of Animal Physiology and Ethology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovakia (romana.koprdova@savba.sk)

Introduction: Asphyxia is a condition of deteriorated blood gas exchange across the placenta with an impairment of oxygen saturation in fetal tissues, carbon dioxide retention and gradually evolving metabolic acidosis. Perinatal asphyxia might affect all physiological systems in later adulthood and is associated with many severe diseases. The aim of this study was to assess effect of subchronic prenatal asphyxia (SPA) during sensitive stages of brain maturation on behavioral changes in rats.

Methods: Pregnant Wistar/DV females (n=12) were exposed to environment containing lower oxygen during sensitive stages of brain maturation (day 19-20 of gestation) for 4h a day and anxiety- and depression-like behavior in offspring (females n=24; males n=24) was assessed using battery of behavioral tests – Open field (OF), Elevated plus maze (EPM), Light/dark test (L/D), Forced swim test (FST), Morris water maze test (MWM) and Stress induced hyperthermia (SIH).

Results: SPA evoked growth retardation of pups and induced reduction of exploratory activities in OF. The anxiety-like behaviour was induced by SPA in EPM and L/D. These results were significant in males only. Higher response to the stress stimulus in SIH was recorded in both males and females. SPA also caused increase depression-like behaviour in FST exhibited as lower frequency of climbing on the walls of cylinder. Cognitive functions were not influenced by SPA.

Conclusions: This model proved to be useful for studying asphyxia and its potential consequences on the offspring. It use the non-invasive approach, it's easy replicable and also suitable for screening indicators of asphyxia. SPA during days 19-20 of gestation evoked behavioural changes and detailed ethological and physiological observations revealed inappropriate reaction to the stress and increased anxiety- and depressive-like behavior.

Acknowledgement: This work was financially supported by the grant VEGA 2/0081/11 and 2/0107/12.

**Zmeny markerov zápalu v experimentálnom modeli akútneho poškodenia plúc.
Changes of pro-inflammatory and apoptotic markers in an experimental model of acute lung injury.**

Petra Košútová¹, Daniela Mokrá¹, Pavol Mikolka¹, Soňa Bálentová², Hana Píštěková¹, Lucia Tomčíková¹, Andrea Čalkovská¹

¹Ústav fyziologie, Jeseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin , ²Ústav histológie a embryológie, Jeseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin (petra.kosutova@gmail.com)

Model akútneho poškodenia plúc (ALI)/syndróm akútnej respiračnej tiesne (ARDS) indukovaný opakovanou lavážou fyziologickým roztokom je charakterizovaný plúcnym edémom, zápalom a dysfunkciou endogénneho surfaktantu. Hlavným cieľom bolo odhaliť vzťah medzi zápalom a apoptózou v plúcach pri ALI/ARDS.

Experimentálny model ALI/ARDS u novozélandských bielych králikov sme vytvorili opakovanými lavážami plúc fyziologickým roztokom (30 ml/kg). Zvieratá sme následne ventilovali kyslíkom po dobu 5 hodín. Zvieratá z druhej skupiny boli usmrtené na začiatku experimentu a slúžili ako zdravé neventilované kontroly.

Po usmrtení zvierat sme stanovili celkový a diferenciálny počet leukocytov v krvi, celkový a diferenciálny počet buniek a percento viability buniek v bronchoalveolárnej lavážnej tekutine (BAL). Okrem toho sme určili plúcny edém (vyjadrený ako pomer mokrej/suchej hmotnosti plúcneho tkaniva) a apoptózu plúcnych buniek (pomocou TUNEL metódy). V plazme a homogenátoch plúc sme stanovili koncentráciu interleukínov (IL)-1 β , -6 a -8, TNF- α , kaspázy-3, endogénneho sekrečného receptoru pre pokročilú glykáciu konečných produktov (esRAGE) a sfingozín-1-fosfátového receptora 3 (S1PR3) pomocou ELISA metódy.

V ALI/ARDS skupine sme pozorovali zvýšenie celkového počtu buniek, hlavne neutrofilov v BAL tekutine. Výsledkom ich aktivácie bol vzostup plúcneho edému a apoptózy plúcnych buniek. V ALI/ARDS skupine sa signifikantne zvýšili aj koncentrácie niektorých prozápalových látok (IL-1 β a IL-8) v plazme i v plúcnom homogenáte (IL-1 β a esRAGE) oproti kontrole, kým vzostup ostatných hodnotených markerov bol nesignifikantný.

Výsledky našej štúdie ukázali, že zápal pri ALI/ARDS je spojený aj so zvýšenou apoptózou plúcnych buniek.

Grantová podpora: APVV-0435-11, VEGA 1/0291/12, VEGA 1/0305/14, BioMed (ITMS 26220220187)

Novosyntetizované potenciálne beta-blokátory a ich vplyv na vybrané biometrické a hemodynamické parametre myokardu u spontánne hypertenzných potkanov
Potentially newly - synthesized beta-blockers and their effect on selected biometric and hemodynamic parameters of myocard in spontaneously hypertensive rats

Eva Kráľová¹, Anna Vicenová¹, Iveta Bošel'ová¹, Tatiana Stankovičová¹, Stanislava Jankyová¹, Ivan Malík², Eva Sedlárová², Jozef Csollei³

¹Katedra Farmakológie a toxikológie, FaF UK, Bratislava, ²Katedra farmaceutickej chémie, FaF UK, Bratislava, ³Ústav chemických lečív, FaF VFU, Brno (kralova@fpharm.uniba.sk)

Úvod: Artériová hypertenzia (AH) je veľmi častým ochorením, ktoré významne zvyšuje kardiovaskulárnu morbiditu i mortalitu. AH je dôležitým faktorom pre vzniku a rozvoja hypertrofie ľavej komory (LK) a jej následkov. V liečbe AH majú významné miesto beta-blokátory (BB). Z tohto dôvodu je syntéza nových potenciálnych BB stále aktuálna.

Ciel: Cieľom práce bolo charakterizovať účinok nových potenciálnych BB, nasyntetizovaných na Katedre farmaceutickej chémie FaF UK v Bratislave, na vybrané biometrické a hemodynamické parametre sŕdc izolovaných zo spontánne hypertenzných potkanov (SHR).

Metódy: Troj mesačným potkanom Wistar (n= 5) a SHR (n= 8) boli aplikované s.c. potenciálne BB (6i, 7c, 7d, 8f) v dávke 1mg/kg po dobu 7 dní. Kontrolným zvieratám (n= 6) bol podávaný s.c. fyziologický roztok 7 dní. Tlak krvi bol meraný u bdelých zvierat metódou "tail cuff". Hemodynamické a biometrické parametre boli merané na izolovanom srdci, perfundovanom podľa Langendorffa.

Výsledky: Vybrané látky zvyšovali krvný tlak u Wistar potkanov, okrem látky 7d, ktorá ho mierne znižovala. Rovnaký trend zmien tlaku krvi sme pozorovali aj u SHR potkanov. Po podaní látky 7d sme zistili stenčenie hrúbky LK a komorového septa u oboch modelov v porovnaní s kontrolami. Všetky látky oslabovali kontrakciu LK. Novosyntetizované BB spomaľovali rýchlosť kontrakcie a relaxácie myokardu v porovnaní s kontrolami u oboch typov zvierat. Taktiež znižovali hodnoty LK komorového diastolického tlaku, okrem látky 7c, ktorá ho zvyšovala. Látka 7d zlepšila aj prietok vencovitými tepnami myokardu u Wistar aj SHR zvierat.

Záver: Zdá sa, že len látka 7d má perspektívne použitie v terapii hypertenzie a hypertrofie myokardu.

Grantová podpora: VEGA 1/0039/12, FaF/29/2013, FaF/30/2013.

**Výzkum a vývoj reaktivátorů cholinestráz
Research and Development of cholinesterase reactivators**

Kamil Kuča, Kamil Musílek, Daniel Jun, Jana Žďárová-Karasová, Michal Pavlík, Ondřej Soukup, Martin Kuneš, Vendula Šepsová, Martina Hrabinová

Fakultní nemocnice HK, Fakulta vojenského zdravotnictví, UNOB, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Hradec Králové (Kamil.kuca@fnhk.cz)

Reaktivátory acetylcholinesterázy (AChE, EC 3.1.1.7) se v současnosti používají jako antidota otrav způsobených nervově paralytickými látkami (NPL) či organofosforovými pesticidy. Ačkoliv se výzkum zaměřil hlavně na vývoj nových reaktivátorů AChE inhibované pesticidy, v nedávné době byly zneužity nervově paralytické látky (jmenovitě sarin) v Syrii. Proto je vývoj nových reaktivátorů stále aktuální.

Během posledních 10 let byly v Hradci Králové připraveny a otestovány stovky nových potenciálních reaktivátorů AChE. Některé z nich jsou v současnosti v různých stupních vývoje léčiva (základní výzkum, preklinické testování, léčivo schválené SUKL). V tomto příspěvku budou prezentovány prozatím nejúspěšnější reaktivátory AChE vyvinuté na našem pracovišti (oximy K027, K048 a HI-6). Následně bude nastíněn směr vývoje nových antidot pro případ léčby otrav NPL či pesticidy.

**Úloha butyrylcholinesterázy vo fyziológii kardiovaskulárneho systému
The role of butyrylcholinesterase in physiology of cardiovascular system**

Matej Kučera¹, Philippe Mateo², Vladimír Farár³, Jaromír Mysliveček³, Rodolphe Fischmeister², Anna Hrabovská¹

¹Katedra farmakológie a toxikológie Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika, ²INSERM UMR-S 769, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud, Châtenay-Malabry, Francúzska republika, ³Fyziologický ústav 1. Lékařské fakulty Univerzity Karlove, Praha, Česká republika (kucera@fpharm.uniba.sk)

Na rozdiel od acetylcholínesterázy (AChE), úloha butyrylcholinesterázy (BChE) v organizme nie je doposiaľ uspokojivo objasnená. Niektoré práce jej pripisujú úlohu pri degradácii rôznych xenobiotík, iné ju spájajú s ochoreniami ako napríklad dyslipidémia alebo diabetes mellitus. V srdci bola dokázaná prítomnosť BChE pričom jej aktivita je až štyrikrát vyššia ako aktivita AChE. Do dnešných dní nebola úloha BChE vo fyziológii srdca systematicky skúmaná. Cieľom tohto projektu bolo študovať funkciu BChE vo fyziológii kardiovaskulárneho systému.

V tomto projekte sme použili dva rôzne genotypy myší: myši s absenciou BChE (BChE-/-) a myši divokého kmeňa. Počas *in vivo* experimentov sme zaznamenávali parametre srdca za bazálnych podmienok a v priebehu β 1-adrenergickej stimulácie. Ďalšie experimenty sme uskutočnili na izolovaných srdciach perfundovaných podľa Langendorffa za bazálnych podmienok, počas cholinergickej (neostigmín) alebo adrenergickej (izoprenalín) simulácie. Účinok neostigmínu sme blokovali bud' atropínom alebo hexametóniom. Pomocou rádioligandových väzbových štúdií sme porovnávali hladiny muskarínových (MR) alebo β -adrenergických receptorov v jednotlivých častiach srdca.

In vivo experimenty preukázali, že BChE-/- myši majú nižší systolický arteriálny tlak a pulzný tlak ako myši divokého kmeňa. Ľavokomorový tlak sa nelísi medzi myšami divokého kmeňa a BChE-/- myšami. Cholinergická stimulácia izolovaných sŕdc neostigmínom spôsobuje u BChE-/- myší oveľa výraznejší pokles srdcovej frekvencie ako je tomu u myší divokého kmeňa. Blokáda cholinergickej stimulácie atropínom vyvoláva u BChE-/- myší pomalší nárast srdcovej frekvencie ako u myší divokého kmeňa. Okrem toho majú BChE-/- myši vyšší koronárny prietok ako myši divokého kmeňa. Rádioligandové väzbové štúdie preukázali adaptačné zvýšenie hladín MR v sledovaných častiach srdca.

Zmeny v koronárnom prietoku a nižšom systolickom tlaku krvi sú jasným dôkazom, že BChE zohráva dôležitú úlohu vo fyziológii ciev. Okrem toho je viac ako pravdepodobné, že BChE participuje na regulácii srdcovej frekvencie sprostredkovanej MR. Zmeny na úrovni MR naznačujú úlohu BChE v komorovom cholinergickom systéme.

Práca bola podporená grantmi APVV SK-FR-0048-11, VEGA 1/1139/12 2012-2014, ITMS 26240120031.

**Aktuálne poznatky vo farmakoterapii a diagnostike úzkostnej depresie.
The current knowledge in anxious depression pharmacotherapy and diagnostics.**

Tomáš Kulhan^{1,2}, Igor Ondrejka², Igor Hrtánek^{1,2}, Ingrid Tonhajzerová³, Eva Šnircová^{1,2}, Gabriela Nosáľová¹

¹Ústav Farmakológie Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, ²Psychiatrická klinika Univerzitnej nemocnice Martin a Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, ³Ústav fyziológie a Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave (kulhan@jfmed.uniba.sk)

Depresia a úzkosť patria medzi najčastejšie psychické poruchy a významným spôsobom limitujú fungovanie a život pacienta. Medzi oboma poruchami existujú vzájomné vzťahy, ktoré však nie sú v súčasných klasifikačných systémoch a algoritnoch liečby zohľadnené. Častou realitou v klinickej praxi je výskyt úzkostnej symptomatiky pri depresii a naopak pri úzkostných poruchách, najmä neliečených je často prítomná depresívna symptomatika. V priebehu rokov sa pracovalo s určitými teoretickými modelmi, pri ktorých boli depresia a úzkosť dávané v určitej miere do súvislosti a v krajných prípadoch boli tieto dve poruchy považované za dve v podstate separované jednotky. S postupom času však stále rastie evidencia, ktorá svedčí pre zdielané patomechanizmy, genetický a neurobiologický základ a dokonca vo vysokej miere zhodné reagovanie na liečivá z rovnakých farmakologických skupín. Na základe uvedených skutočností považujeme za opodstatnený predpoklad existencie primárnej anxióznej depresie, ktorá vyžaduje adekvátny diagnostický a najmä terapeutický prístup. Ked'že depresia a úzkosť predstavujú závažné ochorenie, naviac s komplikovanejším priebehom a horšou prognózou pri ich súčasnom výskute a predstavujú tak aj značnú zát'až pre zdravotný systém, výsledky našej práce môžu predstavovať významný prínos pre klinickú prax. V príspevku venujeme pozornosť prehľadu genetických aspektov, neuroanatomických korelátov, neuroendokrinných faktorov, porúch neurotransmisie a možnosti liečby v spoločnom koncepte úzkosti a depresie. V závere, nadvážujúc na neurobiologické patomechanizmy uvádzame aktuálne alternatívy farmakoterapie a niektoré liečivá z iných skupín, s inými primárnymi indikáciami, ako nádejnú perspektívnu v liečbe úzkostnej depresie.

**Farmakokinetika nových reaktivátorů acetylcholinesterázy u experimentálních prasat
Pharmacokinetics of novel acetylcholinesterase reactivators in experimental pigs**

Martin Kuneš, Jaroslav Květina, Jana Žďárová-Karasová, Michal Pavlík, Kamil Kuča

Fakultní nemocnice Hradec Králové, Fakulta vojenského zdravotnictví Hradec Králové
martin.kunes@fnhk.cz

An acetylcholinesterase reactivators are therapeutically efficient against nerve agents. The determination of pharmacokinetic characteristics are crucial for the evaluation of therapeautical suitability of newly synthesized drugs. We evaluated the pharmacokinetic profiles of two novel oximes after their administration to pigs. The study entered six mature animals in each group (average weights $32\pm1\text{kg}$). After their administration, the blood samples were withdrawn to next evaluation of blood concentration. Detection of systemic concentration of oximes were done using HPLC method after previous samples preparation.

The main pharmacokinetic parameters were determined and compared between the studied oximes. These data were the basis for the future direction of next development of next generation acetylcholinesterase reactivators.

Možnosti aplikácie autológnych kmeňových buniek CD133 u pacientov s ischemickou chorobou srdca**Possibilities of application of autologous stem cell CD133 in patients with coronary artery disease**

Kyselovič Ján

Katedra farmakológie a toxikológie, FaF UK, Bratislava (kyselovic@fpharm.uniba.sk)

Súčasná liečba pacientov so srdovým zlyhávaním na podklade koronárnej choroby sa opiera a komplexnú farmakoterapiu a u selektovaných pacientov revaskularizáciu či resynchronizačnú liečbu. U časti z nich je indikovaná implantácia ICD v primárnej a sekundárnej prevencii náhlaj srdcovej smrti. Napriek pokrodom v liečbe je prežívanie pacientov s chronickou formou koronárnej choroby srdca a srdcových zlyhávaní pri systolickej dysfunkcii ľavej komory výrazne kratšie ako s pacientov s koronárnou chorobou a zachovanou systolickou funkciou ľavej komory. Nedávno publikované výsledky štúdie STICH dokumentujú že samotná revaskulazícia nevedie k výraznejšiemu zlepšeniu prežívania týchto pacientov.

Bunková liečba chorôb srdca sa rozvíja v posledných 10 rokoch. V kardiologii je najlepšie preskúmaná bunková liečba pri akútnej infarkte myokardu. Doterajšie výsledky sú nekonzistentné, ale väčšina správ dokumentuje štatisticky signifikantné zlepšenie.

Metodicky plánujeme randomizovanú dvojito zaslepenú placebom kontrolovaná klinickú štúdiu s cieľom vyhodnotiť bezpečnosť a účinnosť transepikardiálnej intramyokardiálnej aplikácie progenitorových buniek u chorých s ischemickou kardiomyopatiou alebo infarktom myokardu. Použité budú autológové progenitorové CD 133 + a mezenchýmové bunky izolované s kostnej dreni, ako výsledok už realizovaných experimentálnych pokusov na zvieratách v našich laboratóriach.

Cielená farmakoterapia vhodnou kombináciou klinicky používaných liečiv a príprava biodegradovateľného autológového matrixu sa z dôvodu prípravy patentovaného konania sa neuvádzaj.

Grantová podpora: Práca vznikla ako súčasť projektu podporeného z Operačného programu Výskum a Vývoj, spolufinancovaného Európskou úniou z Európskeho fondu regionálneho rozvoja, ITMS: 26240220071, názov projektu: „Vybudovanie Kompetenčného centra pre výskum a vývoj v oblasti molekulárnej medicíny“.

**Riziká farmakoterapie v gravidite v databáze Liekového informačného centra
Risk of pharmacotherapy during pregnancy in database of Drug information center**

Monika Laššánová, Jana Tisoňová, Milan Kriška, Viera Kristová

Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LFUK, Bratislava (lassanova@email.com; Monika.lassanova@fmed.uniba.sk)

Úvod a ciele: Medikamentózna terapia počas gravidity a laktácie je obtiažnym medicínsko-etiickým problémom, nakol'ko môže zásadným spôsobom narušiť vývoja nezrelého organizmu. Taktiež samotná percepcia rizika liekového poškodenia sa významne odráža v konečnom hodnotení liekovej bezpečnosti. Nezanedbatelným faktorom pri výbere lieku je percepcia rizika pacientom, ktorá reflektuje jeho zdravotnú gramotnosť (health literacy). Cieľom našej práce je skúmanie odlišností v percepции rizika farmakoterapie počas gravidity v laickej a odbornej verejnosti.

Metodika: V práci prezentujeme analýzu na základe počtu a štruktúry konzultácií v oblasti užívania liekov v gravidite v Liekovom informačnom centre v Bratislave za obdobie máj 1997 až február 2014, ako aj pilotnú analýzu dotazníkov zameraných na vnímanie rizika liekov užívaných pred a počas gravidity medzi tehotnými a dojčiacimi mamičkami.

Výsledky: Analyzovali sme 1281 otázok zadaných do LICu, z ktorých 63% zadali bratislavskí zdravotnícki pracovníci, dominantne z nemocničných zariadení. Otázky ohľadne užívania liekov v gravidite a laktácii tvoria 29%, pričom najčastejšie dotazy boli na lieky z ATC skupín: J, A, N, H a M. 68% týchto zadaní súviselo s liekmi už užívanými počas tehotenstva, 59% liekov bolo na základe analýzy zaradených do FDA rizikovej skupiny . V 216 analyzovaných dotazníkoch nám 50% mamičiek uviedlo, že pred graviditou neužívali žiadny liek, 22,69 % užívalo nejakú medikáciu (okrem vitamínov a železa). Počas tehotenstva užívalo nejaký liek až 58 % opýtaných, z toho 26% lieky iné, ako vitamíny a železo.

Závery: Percepcia rizika liekov počas gravidity predstavuje závažný medicínsky problém, nakoľko požiadavka absolútneho vyhnutia sa medikácií je nereálna. Navyše neexistujú ideálne odporúčania pre bezpečné používanie liekov v tomto kritickom období. Súčasne neustále narastá počet žien užívajúcich lieky v priebehu gravidity, čo súvisí nielen so zvyšujúcim sa vekom rodičiek, ale aj s vyšším podielom chronických ochorení (ktoré v minulosti vyradovali takého ženy z reprodukčného cyklu) vyžadujúcich farmakoterapiu, ako aj s narastajúcim počtom rizikových a asistovaných gravidít, ktoré musia byť farmakologicky vedené.

Grantová podpora: VEGA 1/0886/14

Studium potenciálně kardioprotektivních účinků anorganických dusičnanů a dusitanů vůči chronické antracyklinové kardiotoxicitě**Study of potential cardioprotective effects of inorganic nitrates and nitrites against chronic anthracycline cardiotoxicity**

Olga Lenčová¹, Eduard Jirkovský¹, Lucie Tichotová², Anna Jirkovská², Hana Jansová², Yvona Mazurová³, Michaela Adamcová⁴, Jaroslav Chládek¹, Tomáš Šimůnek², Vladimír Geršl¹, Martin Štěrba¹.

¹Ústav farmakologie, ³Ústav histologie a embryologie, ⁴Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové a ²Katedra biochemických věd, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Hradec Králové (sterbam@lfhk.cuni.cz)

Úvod a cíle: Anorganické dusičnany a dusitany vykazují kardioprotektivní potenciál u ischemicko-reperfuzního poškození myokardu. Recentní práce ale poukázala na možný protektivní účinek i u akutní kardiotoxicity navozené supraterapeutickými dávkami antracyklinů. Přenositelnost těchto poznatků do podmínek klinicky významnější chronické antracyklinové kardiotoxicity navozené terapeutickými dávkami je ovšem nejistá. Cílem práce proto bylo studovat potenciálně kardioprotektivní účinek anorganického dusičnanu a dusitanu vůči antracyklinové kardiotoxicitě navozené in vitro a in vivo klinicky relevantními dávkami antracyklinů.

Metodika: Protektivní potenciál dusitanu sodného byl nejprve hodnocen na izolovaných neonatálních kardiomyocytech exponovaných doxorubicinu a daunorubicinu. Kardioprotektivní účinky anorganických dusičnanů i dusitanů byly dále studovány na modelu chronické antracyklinové kardiotoxicity u králíka (daunorubicin, 3 mg/kg/týden po 10 týdnů) a výsledky porovnány s účinkem dextrazoxanu. Dusičnan sodný byl podáván denně (1 g/l pitné vody, dle předchozí studie), zatímco dusitan sodný (0,15 a 5 mg/kg) a dextrazoxan (60 mg/kg) byly podávány parenterálně před každou dávkou daunorubicinu.

Výsledky: Dusitan sodný nenavodil významný stupeň ochrany izolovaných kardiomyocytů před antracyklinovou toxicitou. P.o. podávání anorganického dusičnanu vedlo k významnému nárůstu koncentrací NOx v plazmě, což ale nemělo protektivní vliv na mortalitu, histopatologický nález a systolickou či diastolickou dysfunkci navozenou opakováním podáním daunorubicinu. Obdobné výsledky vykazovala i kombinace daunorubicinu s nižší dávkou dusitanu, nicméně ve skupině s vyšší dávkou dusitanu přežila všechna zvířata do konce pokusu a nejtěžší formy poškození myokardu byly relativně méně časté. Navzdory tomu nebylo v této skupině u většiny parametrů dosaženo statisticky signifikantního rozdílu v porovnání s daunorubicinovou skupinou, což ostře kontrastovalo s výrazným protektivním potenciálem dextrazoxanu. Obdobné výsledky byly zjištěny i v expresi molekulárních markerů kardiotoxicity (např. ANP, desmin, kolagenu-I a IV či HO-1).

Závěr: Anorganické dusičnany a dusitany nejsou schopny poskytnout účinnou a spolehlivou ochranu myokardu před toxicitou navozenou klinicky relevantními dávkami antracyklinů, což kontrastuje s výrazným protektivním potenciálem dextrazoxanu.

Grantová podpora: IGA NT13457-4-2012.

Stanovenie mezenchymálnych buniek v rôznych pasážach kultivácie kmeňových buniek z tukového tkaniva
Determination of mesenchymal cells in the various passages of culturing adipose tissue derived stem cells

Zuzana Lešková¹, Tatiana Bačkayová¹, Marcela Kuniaková², Jana Mlynárová¹, Andrea Gažová¹, Peter Musil¹, Ján Kyselovič¹

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, ²Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, Lekárska fakulta UK (leskova.zuzanka@gmail.com)

Úvod a ciele: Mezenchymálne kmeňové bunky (MSC) predstavujú rôznorodú populáciu buniek s unikátnymi vlastnosťami, vďaka ktorým sú schopné špecializovať sa na rôzne typy buniek v organizme. Najznámejším zdrojom MSC je kostná dreň, no v súčasnosti sa stále častejšie diskutuje aj o úlohe tukového tkaniva ako zdroja kmeňových buniek. Tento zdroj je využívaný hlavne pre jeho ľahkú dostupnosť – tukové tkanivo sa získava ako odpadový materiál po kozmetickej liposukcii. Cieľom našej práce bolo izolovať a kultivovať kmeňové bunky z tukového tkaniva po liposukcii, a následne ich charakterizovať na základe prítomnosti špecifických povrchových markerov metódou prietokovej cytometrie.

Metodika: Tukové tkanivo po liposukcii sa inkubovalo 60 minút v 0,2% roztoku Collagenase I., následne boli bunky vysiate na kultivačné fl'aše a kultivované v médiu (DMEM/F12 + 10% BFS + ATB) do 90% konfluencie. Bunky boli pasážované a kvantitatívne i kvalitatívne charakterizované metódou prietokovej cytometrie (MACSQuant Analyzer, Miltenyi Biotec, Nemecko). Okrem viability a počtu buniek sa určovala aj pozitivita buniek na povrchové markery CD90, CD105 a CD73. Táto kombinácia povrchových markerov CD90, CD105 a CD73 je špecifická pre populáciu MSC buniek. Zároveň sme sledovali aj prítomnosť povrchových markerov CD34 a CD133, ktoré sú charakteristické pre endoteliálne progenitorové bunky.

Výsledky: V rámci všetkých sledovaných vzoriek sme stanovili zastúpenie MSC buniek (buniek pozitívnych na markery CD90, CD105 a CD73 a zároveň negatívnych na CD14, CD20, CD34 a CD45) v rozsahu od 71,8% do 96,8%. Určité odlišnosti v množstvách boli zaznamenané v rámci jednotlivých pasáží tej istej vzorky. Ani v jednej zo sledovaných vzoriek sa nepotvrdila prítomnosť kombinácie povrchových markerov CD34 a CD133, ktorá by naznačovala prítomnosť endoteliálnych progenitorových buniek.

Závery: Kmeňové bunky izolované z tukového tkaniva sú sľubnou perspektívou regeneratívnej medicíny. Ukazuje sa, že predstavujú populáciu MSC buniek s podobnou charakteristikou ako majú MSC izolované z kostnej drene.

Grantová podpora: UK/428/2014, VEGA 1/0076/2013, VEGA 1/0905/14

**Porovnanie účinku syntetických liečiv a prírodných polyfenolov na apoptózu neutrofilov
Comparison of the Effects of Synthetic Drugs and Natural Polyphenols on Neutrophil Apoptosis**

Marianna Lucová, Silvia Pažoureková, Katarína Drábiková, Radomír Nosál', Tomáš Perečko, Viera Jančinová

Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV, Dúbravská cesta 9, 84104, BA
[\[Viera.Jancinova@savba.sk\]](mailto:Viera.Jancinova@savba.sk)

Background: Neutrophil immune defence mechanisms need to be tightly regulated to limit undesirable effects to the host. They have a short lifespan that limits expression of their pro-inflammatory functions. During the initial phase of inflammation, neutrophils are thought to have an extended lifespan and their persistence cause a non-resolving inflammation resulting in chronic disease development. Recent pharmacological treatment allows the use of various synthetic drugs including chloroquine and its derivate hydroxychloroquine. The above mentioned knowledge led us to investigate the effect of these substances on neutrophil apoptosis and to compare them with the effect of natural polyphenols from the stilbene (resveratrol, pterostilbene, pinosylvin, piceatannol), isoflavone (equol) and ferulic acid (curcumin, N-feruloylserotonin) derivates.

Methods: Neutrophils were isolated from human whole blood by hemolysis and gradient centrifugation. Three different concentrations (1, 10 and 100 µM) of compounds tested were used during the incubation time of 60 min. at 37 °C. Apoptosis was measured through the annexin-V/propidium iodide system by flow cytometer.

Results: The most significant impact on neutrophil apoptosis was detected in the case of curcumin. Its pro-apoptotic properties were reflected in concentration dependent manner, mainly in 100 µM. Stilbene derivate piceatannol showed almost the same massive effect (up to 24 %) in the highest concentration used. Reducing impact was confirmed in the case of resveratrol also, the substance with well known pro-apoptotic action in certain cell type. However, the response was not so marked (up to 12 %) in comparison with above mentioned compounds. Pterostilbene, N-feruloylserotonin, pinosylvin and equol did not change the number of viable neutrophils significantly. Chloroquine and its derivate hydroxychloroquine did not have an effect on apoptosis of neutrophils in all concentrations used.

Conclusions: Curcumin and piceatannol appear to have the most remarkable effect of substances tested resulting in increasing of neutrophil apoptosis. These compounds might be attractive candidates in pharmacological treatment of chronic inflammation.

Supported by grants APVV-0052-10, VEGA 2/0010/13 and APVV-0315-07.

Upregulation of hsp90 might play a role in the failing right ventricle of monocrotaline induced pulmonary hypertension

Eva Malíková, Kristína Galková, Martin Rupp, Peter Křenek, Ján Klimas

Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava, Odbojarov 10, 832 32 Bratislava, Slovak Republic (rikaja@gmail.com)

Background&Objective: Pulmonary arterial hypertension can be well studied using the monocrotaline model in rats. The mechanism of the failing right ventricle in this model is still not completely known. Heat shock protein 90 (Hsp90) seems to play a role in compensating mechanism of the failing heart alongside with caveolin-1 (CAV-1). Therefore we hypothesized that levels of these proteins might be changed in right ventricle of experimentally induced pulmonary hypertension.

Design/Methods: Group of 9 male Wistar rats was injected with monocrotaline (MON; 60 mg/kg) and 5 control rats (CON) received vehicle. Animals were weighted frequently and vital functions were measured using MouseOx meter. Rats were sacrificed after 4 weeks or immediately if showing dyspnea, lethargy and significant weight reduction.

Results: MON-treated rats had a decrease in body weight when compared to controls (MON: 312 ± 11 g vs. CON: 358 ± 6 , $P < 0.01$). Right ventricular weight to body weight ratio was significantly increased (MON: 0.27 ± 0.01 vs. CON: 0.15 ± 0.01 , $P < 0.05$), whereas left ventricular weight to body weight ratio was not significantly changed (MON: 0.74 ± 0.02 vs. CON: 0.70 ± 0.05). Expression of Hsp90 in right ventricle of monocrotaline treated rats was significantly increased (MON: 1317 ± 399 vs. CON: 100 ± 26 , $P < 0.05$), while in left ventricle remained stable (MON: 106 ± 26 vs. CON: 100 ± 4). Interestingly, we found altered expression of caveolin-1 isomeres in right ventricle when comparing monocrotaline and control group.

Conclusion: Elevated level of Hsp90 in hypertrophied right ventricle along with altered expression of CAV-1 isomeres might contribute to or be a protective mechanism against hypertrophy of the right ventricle and its eventual failure in monocrotaline induced pulmonary hypertension model.

Acknowledgement: This work was supported by the following grants: APVV-0887-11, VEGA 1/0981/12, VEGA 1/0564/13 and UK/331/2013.

**Detekcia zvuku kašľa pomocou umelých neurónových sietí
Cough sound detection using by artificial neural networks**

Jozef Martinek¹, Peter Klčo², Miloš Tatár¹, Tomáš Zaťko¹, Miro Vrabec¹, Michal Javorka²

¹Ústav patologickej fyziológie, JLF UK Martin, ²Ústav fyziológie, JLF UK Martin (martinek@jfmed.uniba.sk)

Úvod a Ciele: Kašeľ predstavuje najčastejší symptom respiračných ochorení, kvôli ktorému pacienti vyhľadávajú lekársku starostlivosť. Napriek tejto skutočnosti v súčasnosti ešte stále nie je v klinickej praxi dostupné zariadenie na jeho objektívny monitoring. Zlatý štandard na hodnotenie frekvencie kašľa za sledované časové obdobie predstavuje jeho manuálne počítanie odposluchom získaných zvukových záznamov. To je však časovo veľmi náročné a prácne. Cieľom našej práce je pripraviť algoritmus, ktorý by bol schopný na základe analýzy v časovej a frekvenčnej oblasti získaných zvukových záznamov automaticky vyhodnotiť počet zakašľaní za sledované časové obdobie.

Metodika: Na analýzu sme použili 5-hodinové záznamy zvuku kašľa získané od šiestich pacientov trpiacich kašľom v dôsledku respiračných ochorení. Monitorovaní pacienti boli hospitalizovaní na Klinike pneumológie a ftizeológie JLF UK v Martine. Počas celej doby záznamu mohli pacienti vykonávať svoje každodenné aktivity. Na charakterizáciu zvuku kašľa sme použili Melovské frekvenčné kepstrálne koeficienty. Na klasifikáciu získaných zvukových záznamov do skupiny kašľov a nekašľových zvukov sme použili umelú neurónovú sieť. Neurónová sieť bola trénovaná na každého pacienta samostatne. Trénovacia množina pozostávala približne z 20% kašľových a nekašľových zvukov. Presnosť nášho algoritmu bola vyjadrená pomocou hodnôt senzitívnosti a špecifickosti.

Výsledky: Priemerná hodnota senzitívnosti dosiahnutá od všetkých šiestich hodnotených pacientov bola 83.79% a priemerná hodnota špecifickosti bola 95.87%. Hodnota senzitívnosti sa pohybovala v rozmedzí od 66.8% do 96.63%. Špecifickosť dosahovala hodnoty od 88.55% do 98.9%.

Závery: Dosiahnuté hodnoty senzitívnosti a špecifickosti považujeme naďalej za nedostatočné na presnú detekciu počtu zakašľaní za sledované časové obdobie. V budúcnosti by sme sa chceli zameriť na výraznú redukciu nekašľových zvukov prítomných v kontinuálnom zázname zvuku kašľa a tým by sme chceli znížiť chybovosť vytváraného algoritmu.

Štúdia bola podporená projektom: "Zvýšenie možností kariérneho rastu vo výskume a vývoji v oblasti lekárskych vied." Číslo projektu: 26110230067

Naše skúsenosti s diagnostikou primárnej ciliárnej dyskinézy

Lucia Marušiaková¹, Peter Ďurdík¹, Marta Jošková², Libor Hargaš³, Peter Bánovčin¹

¹Klinika detí a dorastu, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin, ²Ústav farmakológie, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin, ³Elektrotechnická fakulta, Žilinská Univerzita, Žilina (marusiakova.lucia@gmail.com)

Primárna ciliárna dyskinézia (PCD) je geneticky heterogénne, typicky autozomálne recesívne dedičné ochorenie, charakterizované abnormálnym pohybom cílií a nedostatočným mukociliárnym transportom. Klinické príznaky sa manifestujú už v skorom detskom veku, najčastejšie sú perzistentná rinitída a chronický kašel. Diagnóza PCD je napriek prítomným klinickým príznakom často stanovená až v staršom detskom veku prípadne v dospelosti, v dôsledku heterogénej povahy ochorenia a nedostatočného technického vybavenia pracovísk potrebného k správnej diagnóze. V spolupráci s Elektrotechnickou fakultou Žilinskej univerzity bola vytvorená akvizičná zostava (inverzný svetelný mikroskop, digitálna vysokofrekvenčná kamera, PC zostava - špecifická softwarová aplikácia), ktorá je schopná snímať, zaznamenávať a následne analyzovať kinematiku cílií respiračného epitelu. Prvé skúsenosti boli získavané v spolupráci s Ústavom farmakológie JLF UK na experimentálnych modeloch. Posledné dva roky je táto metodika implementovaná aj do klinickej praxe. Na pracovisku KDaD JLF UK sa realizuje odber ciliárnych respiračných buniek z dolných dýchacích ciest v rámci bronchofibroskopického vyšetrenia biopsiou sliznice trachey a brushingovou metódou, pri ktorej sa bronchoskopickou kefkou urobí ster z vybranej časti tracheobronchiálneho stromu a ster zo sliznice dolnej konchy nosa. Pomocou svetelného mikroskopu napojeného na vysokorýchlosnú kameru sa získaný materiál analyzuje. Nasnímajú sa krátke videosekvencie, ktoré sú následne vyhodnotené pomocou špeciálneho softwaru. K štandardnému diagnostickému algoritmu pacientov s podozrením na PCD patrí vyšetrenie nazálneho oxidu dusnatého, sacharínový test, funkčné vyšetrenie dýchacích ciest, zobrazovacie vyšetrenie plúc, mikrobiologické vyšetrenie z horných aj dolných dýchacích ciest, prietoková cytometria bronchoalveolárnej laváže a genetický screening. Autori prezentujú vo svojej práci prvé skúsenosti s vyhodnocovaním kinematiky cílií respiračného traktu v klinickej praxi na súbore 12 pacientov. Z nich bola v 2 prípadoch dokázaná akinéza a v 2 prípadoch hypokinéza cílií respiračného epitelu.

Táto práca bola podporená projektom Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin), ITMS: 26220220187 a Meranie kinetiky cílií respiračného traktu ITMS: 26220220019, ktoré sú spolufinancované zo zdrojov EÚ.

Najčastejšie potenciálne interakcie vyššej celkovej významnosti u pacientov liečených na dyslipidémiu**Most frequent potential drug-drug interactions of the highest overall severity in patients treated for dislipidemia**

Viktória Mašlonková¹, Tamara Vraždová², Zuzana Horníková², Monika Lainczová³, Henrieta Tulejová², Ingrid Tumová¹, Tatiana Foltánová¹

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, ²Odbor strategického plánovania, Dôvera zdravotná poistovňa, ³Odbor liekovej politiky, Dôvera zdravotná poistovňa (foltanova@fpharm.uniba.sk)

Ciel: Cieľom práce bolo zhodnotenie rizika potenciálnych interakcií (PI) vyššej celkovej závažnosti (4, 5, 6) v skupine pacientov s dyslipidémiou.

Metodika: Spracovali sme dátu získané z lekárskych predpisov jednej zdravotnej poistovne s počtom n = 1 169 445. Interakcie sme identifikovali pomocou databázy INFOPHARM a. s. Praha. Hodnotili sme potenciálne interakcie (PI) vyššej celkovej závažnosti (4, 5, 6). Za PI sme považovali kombináciu dvoch liekov, ktoré si pacient vyzdvihol v intervale siedmich dní. Pacientov s kardiovaskulárnym (KV) ochorením sme definovali na základe diagnózy uvedenej na lekárskom predpise resp. farmakoterapie. Za terapiu pacientov s KV ochorením sme považovali liečbu ATC skupinou C, minimálne 3 mesiace. Z celkového súboru pacientov sme sa zamerali na skupinu pacientov liečených na poruchy metabolizmu lipidov E 78.

Výsledky: Pacienti s KV ochorením tvorili 290 089, čo predstavuje 24,8 % z celého súboru poistencov. Dyslipidémia bola druhým najčastejšie sa vyskytujúcim KV ochorením so zastúpením 39,3 %. Zo súboru pacientov s dyslipidémiou sa 37,7 % liečilo na dyslipidémiu s pridruženým KV ochorením. Najpredpisovanejšie statíny boli atorvastatín (81,7 %, najpredpisovanejšie liečivo vôbec) a simvastatín (12,6 %) u pacientov s dyslipidémiou. PI vyššej celkovej závažnosti sa zaznamenali u 20,1 % pacientov s dyslipidémiou. Najčastejšie sa vyskytovali PI celkovej závažnosti (4), ktorá bola u 11,7 % pacientov. PI najvyššej celkovej závažnosti 6 sa zaznamenala len u 2,7 % pacientov liečiacich sa na dyslipidémiu. V prvej desiatke najčastejšie sa vyskytujúcich PI boli interakcie: atorvastatín – verapamil (2,9 %), simvastatín - amlodipín (2,3 %), atorvastatín – amiodaron (1,7 %) a simvastatín – verapamil (0,6 %) pacientov liečiacich sa na dyslipidémiu.

Záver: Je nevyhnutné aktívne vyhľadávať závažné alebo kontraindikované kombinácie liečiv a tak predísť potenciálnym nežiaducim účinkom, prípadne zlyhaniu farmakoterapie. Elektronizácia zdravotníckych informácií tak prispieva k využívanie renomovaných databáz ako dôležitého nástroja pre účinnú a bezpečnú farmakoterapiu.

Viabilita zápalových buniek v dýchacích cestách počas ovalbumínom-navodeného alergického zápalu

Viability of inflammatory cells in airways during ovalbumin-induced allergic inflammation

Ivana Medved'ová, Juraj Mokrý, Marek Pršo, Alexandra Eichlerová, Daniela Mokrá¹

Ústav farmakológie, ¹Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin (medvedova@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Apoptóza je formou bunkovej smrti u eukaryotov, ktorú je možné charakterizovať špecifickými, presne regulovanými morfologickými aj biochemickými procesmi. Tieto procesy nie sú sprevádzané zápalovou odpoved'ou. Bronchiálna astma ako zápalové ochorenie dýchacích ciest (DC) je riadené aktiváciou Th₂ typu T lymfocytov, ktoré produkujú rôzne zápalové cytokíny (napr. IL-4, IL-13 a IL-5). Interleukíny IL-4 a IL-13 stimulujú B bunky imunitného systému k produkciu IgE protílátok. IL-5 napomáhajú aktivácii eozinofilov nachádzajúcich sa v DC a IL-9 spolu s IL-13 prispievajú k bronchiálnej hyperreaktivite. Je známe, že dysregulácia apoptózy môže zohrávať úlohu v rozvoji zápalu DC aj pri astme. Podľa niektorých štúdií inhibícia programovanej bunkovej smrti eozinofilov vedie k patologickému procesu v dôsledku narušenia rovnováhy fyziologických procesov s následkom vyvolania choroby týmito charakteristickými bunkami. Medzi účinné liečivá, u ktorých sa predpokladá ich protizápalové (proapoptotické) pôsobenie patria inhibítory fosfodiesterázy 4 (PDE4). Predstaviteľom druhogeneračných PDE4 inhibítov je roflumilast. Jeho protizápalové pôsobenie a vysvetľuje zvýšením intracelulárnych hladín cAMP v zápalových bunkách a znížením vyplavovania zápalových cytokínov. Roflumilast tiež bráni nadmernej akumuláciu eozinofilov, neutrofilov a makrofágov v plútuncnom tkanive. Taktiež sa predpokladá, že zvýšená koncentrácia intracelulárneho cAMP v zápalových bunkách indukuje apoptózu týchto buniek, čím sa znižuje počet zápalových buniek v DC, hlavne eozinofilov, a eliminuje sa zápal. Cieľom tejto práce bolo sledovať viabilitu zápalových buniek v bronchoalveolárnej laváži u morčiat s ovalbumínom indukovanou hyperreaktivitou DC a jej ovplyvnenie selektívnu inhibíciou PDE4 roflumilastom.

Metodika: Celkovo sme použili 6 skupín dospelých morčiat (samcov). Zvieratá v kontrolnej skupine neboli senzibilizované. Ďalšie skupiny morčiat boli senzibilizované ovalbumínom počas 14 dní a následne sme zvieratám podávali roflumilast buď perorálne počas 7 dní v dennej dávke 0,5 mg/kg, alebo vehikulum, alebo roflumilast intraperitoneálne, inhalačne alebo v kombinácii so salbutamolom. Životnosť (viabilitu) imunokompetentných buniek v roztoču z bronchoalveolárnej laváže sme merali na automatickom počítači buniek po zafarbení špecifickým farbivom.

Výsledky a závery: Viabilita imunokompetentných buniek v skupinách s roflumilastom sa významne znížila oproti kontrolnej i senzibilizovanej skupine. Výsledky tejto štúdie dokazujú, že roflumilast má u morčiat s experimentálne navodeným alergickým zápalom protizápalové pôsobenie. Taktiež sme zistili významné indukčné pôsobenie roflumilstu na apoptózu imunokompetentných buniek DC, čo naznačuje jeho možné využitie aj v rámci terapeutického ovplyvnenia týchto procesov. Štúdium apoptózy v DC predstavuje perspektívnu stratégiu eliminácie zápalových buniek pri pretrvávajúcom alergickom zápale.

Grantová podpora: APVV-0305-12, Grant MZ 2012/35-UKMA-12, VEGA 1/0260/14

**Neinvazívne možnosti sledovania stresovej odpovede
Noninvasive methods of the stress response evaluation**

Michal Mešťaník¹, Zuzana Višňovcová¹, Alexander Jurko², Ingrid Tonhajzerová¹

¹Ústav fyziologie JLF UK Martin, ²Pediatrická kardiológia Martin (mestanik@gmail.com; ajurko@zmail.sk)

Úvod a ciele: Stres ako stav disharmónie organizmu vyvoláva adaptačné odpovede regulačných mechanizmov, ktorých dlhodobá zvýšená aktivácia môže viest' k maladaptácii s následným zvýšeným rizikom morbidity. Autonómny nervový systém (ANS) je jedným z hlavných allostatických systémov zapojených do stresovej reakcie. Zvýšená, rovnako ako znížená reaktivita ANS na stresové podnety je považovaná za významný rizikový faktor v etiopatogenéze kardiovaskulárnych ochorení. Preto sa v súčasnosti kladie dôraz na hľadanie nových možností neinvazívneho hodnotenia stresovej odpovede aplikovateľných v diagnostike stresom podmienených ochorení s cieľom detekcie patofyziológických procesov vo fáze reverzibilných zmien.

Metodika a výsledky: Stresovú odpoveď možno sledovať použitím biochemických a fiziologických metód. Biochemickými metódami je možné analyzovať substancie vyučované v rámci stresovej reakcie. V prípade neinvazívnych ukazovateľov sa využívajú látky vyučované slinnými žľazami a v moči: slinný kortizol a α -amyláza, kateholamíny, metanefríny a chromogranín A. Medzi psychofyziologické markery patria predovšetkým parametre lineárnej a nelineárnej analýzy variability frekvencie srdca, tlaku krvi, elektrodermálnej aktivity a respiračné ukazovatele (dychový objem a frekvencia dýchania). Regulačné mechanizmy centrálneho nervového systému sú pri nich skúmané nepriamo - prostredníctvom zmien aktivity periférnych orgánov. V tejto práci sú uvedené rôzne stresové odpovede skúmané prostredníctvom vybraných neinvazívnych fyziologických metód: odpoveď ANS na akútny a dlhotrvajúci mentálny stres u zdravých ľudí.

Závery: Neinvazívne fyziologické metódy boli senzitívne pri detekcii rozdielov autonómnej regulácie v odlišných prípadoch stresovej reakcie. Tieto vyšetrovacie postupy tak môžu napomôcť k objasneniu centrálno-periférnych vzťahov v podmienkach mentálneho stresu. Aplikácia daných poznatkov v klinickej praxi môže nájsť uplatnenie v skorej diagnostike stresom podmienených ochorení a kauzálnej terapii s cieľom predchádzať vzniku ireverzibilného poškodenia orgánových systémov.

Grantová podpora: VEGA 1/0087/14, VEGA 1/0059/13, CEPVI 26220120016, APVV-0235-12

Oxidačné zmeny po terapii surfaktantom/budezonidom pri experimentálnom syndróme aspirácie mekónia**Oxidative changes after surfactant/budesonide therapy in experimental meconium aspiration syndrome**

Pavol Mikolka, Jana Kopincová, Lucia Tomčíková, Daniela Mokrá, Andrea Čalkovská

Ústav fyziologie, Jesseniova Lekárska Fakulta, Univerzita Komenského, Martin
mikolka@jfmed.uniba.sk

Úvod a cieľ: Syndróm aspirácie mekónia (MAS) je život ohrozujúce ochorenie novorodencov. Terapia MAS je založená na podpornej ventilácii a aplikácii exogénneho surfaktantu do plúc pacientov. Účinky surfaktantovej liečby však môžu byť výrazne redukované v dôsledku zápalu, tvorby volných radikálov a proteolytických enzýmov, ktoré poškodzujú plúcne tkanivo a môžu degradovať a inaktivovať aj surfaktant. Predpokladáme, že pridanie protizápalovej látky budezonidu k surfaktantovej terapii by mohlo potlačiť rozvoj zápalu a prispiet' k účinnejšej liečbe MAS.

Metodika: Experimentálne zvieratá (králiky), u ktorých bolo i.t. podaním mekónia vyvolané respiračné zlyhávanie, sme rozdelili do skupín podľa liečby (n=6): bez terapie (Mec), monoterapia surfaktantom (Mec+Surf), monoterapia budezonidom (Mec+Bud) a kombinovaná terapia surfaktantom+budezonidom (Mec+Surf+Bud), alebo bol i.t. podaný fyziologický roztok namiesto mekónia (Kontrola). Po usmrtení zvierat sme stanovili plúcny edém (wet/dry ratio, W/D) a oxidačné poškodenie lipidov a proteínov (TBARS a 3NT pomocou ELISA metódy, dityrozín a lyzín-LPO pomocou fluorescenčnej analýzy) v plúcnom homogenáte a plazme.

Výsledky: Kombinovaná terapia Surf+Bud znížila W/D a TBARS ($p<0.05$ vs. Mec, Mec+Bud, Mec+Surf). Pozorovali sme aj pokles tvorby 3NT, ktorý ale neboli štatisticky významný. K redukcii formovania dityrozínov došlo v oboch liečených skupinách v porovnaní s Mec, pričom tento pokles bol významný len pre Mec+Surf+Bud skupinu ($p<0.05$). Fluorescencia lyzín-LPO produktov preukázala významné zníženie v Mec+Surf a Mec+Surf+Bud skupinách vs. Mec ako aj medzi Mec+Surf vs. Mec+Surf+Bud skupinou ($p <0.05$).

Závery: Pridanie budezonidu k surfaktantovej terapii príaznivo ovplyvnilo tvorbu plúcneho edému a oxidačného poškodenia v plúcnom tkanive a plazme v porovnaní s monoterapiou surfaktantom. Použitie protizápalových látok by tak mohlo čiastočne zmierniť inaktiváciu surfaktantu, a tým prispiet' k zvýšeniu účinnosti terapie MAS.

Grantová podpora: VEGA 1/0291/12, VEGA 1/0305/14, APVV-0435-11, BioMed (ITMS 26220220187)

**Galektíny a ich úloha v nádorovej angiogenéze
Galectins and their role in tumour angiogenesis**

Ján Mojžiš, Lenka Varinská, Ladislav Mirossay, Martina Chripková, David Drutovič

Ústav farmakológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice (jan.mojzis@upjs.sk)

Galektíny patria do rodiny proteínov schopných rozpoznať a viazať cukrové zbytky s vysokou afinitou pre β -galaktozidy. Okrem fyziologických procesov sú zapojené do patogenézy viacerých ochorení, medzi ktoré patria aj nádorové ochorenia. Ich úloha bola zistená v nádorovej transformácii, úniku imunitnej reakcie organizmu, metastázovaní, ako aj v regulácii nádorovej angiogenézy. Viaceré ich funkcie sú spájané s galektínmi produkovanými endotelovými bunkami. Vzhľadom k tomu, že nádorová vaskulatúra je ľahko dostupným cieľom, pochopenie úlohy jednotlivých typov galektínov v nádorovom procese by mohlo prispiet' k rozvoju novej stratégie v modulácii nádorového rastu.

Grantová podpora. Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0408-12 a grantom VEGA č. 1/0299/13.

**Efekt kortikosteroidov na niektoré markery zápalu pri experimentálnom modele ARDS
Effect of corticosteroids on some markers of inflammation in experimental model of ARDS**

Daniela Mokrá, Hana Píštěková, Petra Košútová, Pavol Mikolka, Lucia Tomčíková, Andrea Čalkovská

Ústav fyziologie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin (mokra@jfmed.uniba.sk)

Úvod a ciele: Zápal je významnou zložkou patogenézy akútneho syndrómu respiračnej tiesne (ARDS). Z toho dôvodu sa v jeho liečbe testuje aj podanie rôznych protizápalových látok vrátane kortikosteroidov. Cieľom našej štúdie bolo porovnať účinnosť intratracheálne a intravenózne podaného kortikosteroidu na plúcne funkcie a niektoré markery zápalu u experimentálnych zvierat s ARDS.

Metodika: U dospelých králikov (novozélandský biely) sme vytvorili model ARDS, a to opakovanými lavážami plúc fyziologickým roztokom (30 ml/kg), kým PaO₂ neklesol pod 26.7 kPa pri FiO₂=1. Po vytvorení modelu ARDS sme zvieratám podali budesonid i.t. (Pulmicort, 0,25 mg/kg; ARDS+Bud, n=6) alebo dexametazón (Dexamethasone, 0,5 mg/kg; ARDS+Dex, n=6), alebo sme ich nechali bez farmakologickej liečby (ARDS, n=6) a následne sme ich ventilovali počas 5 hodín. Štvrtú skupinu tvorili zdravé neventilované kontroly (Kontr, n=6). Počas experimentu sme priebežne hodnotili krvné plyny a plúcne funkcie a vo vzorkách krvi aj celkový a diferenciálny počet leukocytov. Po usmrtení zvierat anestetikom sme vybrali plúca. Lavý lalok sme lavážovali fyziologickým roztokom (3x10 ml/kg) a v lavážnej tekutine stanovili celkový a diferenciálny počet buniek. Tkaniivo pravých plúc sme použili na hodnotenie stupňa plúcneho edému a niektorých markerov zápalu a poškodenia.

Výsledky: Opakované laváže fyziologickým roztokom viedli k signifikantnému poškodeniu plúc s výraznou deterioráciou plúcnych funkcií a zvýšením hladín prozápalových markerov v porovnaní so zdravými kontrolami. Liečba oboma kortikosteroidmi zlepšila ventilačné parametre, znížila percento pravo-lavých plúcnych skratov, potlačila zápal a zmiernila plúcny edém v porovnaní so skupinou bez liečby.

Závery: Zlepšenie plúcnych funkcií po intratracheálnom i intravenóznom podaní kortikosteroidov v experimentálnom modele ALI/ARDS naznačuje možný benefit uvedenej liečby aj pri klinickom ALI/ARDS.

Grantová podpora: APVV-0435-11, VEGA 1/0305/14, BioMed (ITMS 26220220187)

Riešenie klinických prípadov vo výučbe farmakológie a klinickej farmakológie
Clinical case studies in teaching of pharmacology and clinical pharmacology

Juraj Mokrý

Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin (mokry@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Na lekárskych fakultách v SR je stále najpopulárnejší tzv. tradičný spôsob výučby, pri ktorom sú jednotlivé kurzy rozdelené na prednášky, praktické cvičenia a semináre. Farmakológia patrí k profilovým predmetom na LF, kym klinická farmakológia sa zväčša zaraduje do kurikula ako voliteľný, resp. výberový predmet. Ich zvládnutie je klúčovým predpokladom úspešného zvládnutia celého pregraduálneho štúdia medicíny.

Ciele a metodika: Cieľom zaradenia klinických prípadových štúdií do výučby farmakológie a klinickej farmakológie je zvýšenie retencie získaných vedomostí u študentov a ich lepšia pripravenosť na etapu klinického štúdia. Okrem klinických prípadových štúdií sa do kurikula oboch predmetov zaradila práca v menších skupinách, problémovo-orientovaná výučba a interaktívna forma formatívneho hodnotenia, vrátane prípravy a prezentácie vlastných klinických prípadov študentmi. Dopad týchto zmien bol hodnotený na základe tzv. retenčných testov a porovnaný s výsledkami z minulých rokov. Zároveň sme sledovali vývoj študentskej spätnej väzby ako subjektívny marker akceptácie týchto zmien.

Výsledky: Spätná väzba študentov ukázala významné zlepšenie subjektívneho hodnotenia predmetov farmakológia a klinická farmakológia. Zároveň sa zlepšila teoretická príprava študentov na jednotlivé semináre. V prípade retenčných testov sme však nezistili významný nárast percentuálnej úspešnosti študentov.

Závery: Nakol'ko záujem študentov o voliteľný predmet klinická farmakológia je neustále veľký, svedčí to okrem iného aj o priaznivom vnímaní foriem výučby tohto predmetu. Aj preto je dôležité zachovať trend inovácií vo výučbe a postupne zaradovať interaktívnejšie formy, vrátane prípravy elektronickej databázy klinických prípadových štúdií, komplexných virtuálnych pacientov, prípadne simulácií. Na zistenie reálneho dopadu na klinické rozhodovanie študentov je však potrebné použiť detailnejšie hodnotenie.

Grantová podpora: Podporené projektom Virtuálna a simulačná výučba ako nová forma vzdelávania na JLF UK v Martine a grantom KEGA 055UK-4/2012.

Fosfodiesterázy pri alergickom zápale dýchacích ciest Phosphodiesterases in allergic airways inflammation

Juraj Mokrý¹, Ivana Medved'ová¹, Anna Fulmeková¹, Pavol Mikolka², Petra Košútová², Daniela Mokrá²

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, ²Ústav fyziologie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin (mokry@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Neselektívna inhibícia fosfodiesteráz (PDE) predstavuje účinný farmakologický cieľ liečby chronických zápalových ochorení dýchacích ciest (DC) spojených s hyperreaktivitou. Teofylín ako predstaviteľ metylxantínov má však okrem tohto mechanizmu účinku aj viaceré ďalšie (ako napríklad antagonizmus adenozínových receptorov). Táto skutočnosť ako aj neselektívnosť inhibície PDE nesie so sebou riziko výskytu nežiaducích účinkov. Aj preto sa čoraz častejšie sleduje úloha jednotlivých izoforiem PDE a potenciálny prínos ich selektívnej inhibície pri liečbe bronchiálnej astmy. Dlhodobým zameraním výskumu na pracovisku je preto overenie účinnosti inhibítormov jednotlivých izoforiem PDE, prípadne ich kombinácií, v podmienkach experimentálne navodeného alergického zápalu DC u morčiat.

Materiál a metodika: Senzibilizácia morčiat sa realizovala opakovanej aplikáciou ovalbumínu. *In vivo* reaktivita DC sa hodnotila v celotelovom dvojkomorovom pletyzmografe (špecifický odpor DC). Sledovanie kontrakčných odpovedí tracheálnych a plíúcnych stripov v orgánových komôrkach na kumulatívne dávky acetylcholínu a histamínu sa použilo na hodnotenie *in vitro* reaktivity DC. V krvi a plazme sa hodnotilo zastúpenie zápalových buniek, vrátane ich absolútneho a relatívneho počtu ako aj viability. Zároveň sa hodnotili zápalové markery a markery oxidačného stresu v plazme, plíúcnom tkanive a bronchoalveolárnej laváži.

Výsledky: Roflumilast (PDE4 inhibítorm), tadalafil (PDE5 inhibítorm) ako aj olprinon (PDE3 inhibítorm) viedli k potlačeniu *in vivo* aj *in vitro* reaktivity a k priaznivému ovplyvneniu zastúpenia zápalových buniek a koncentrácií zápalových markerov.

Záver: Selektívna inhibícia PDE prináša nové možnosti ovplyvnenia alergického zápalu DC, pričom za najperspektívnejšiu možno považovať inhibíciu PDE4 a PDE5, prípadne ich kombináciu. Ich bronchodilatačné pôsobenie je zrejme dôsledkom protizápalového účinku.

Grantová podpora: APVV-0305-12, Grant MZ 2012/35-UKMA-12, VEGA 1/0260/14, BioMed (ITMS 26220220187).

Klinicky závažná komplikace léčby transplantovaného pacienta jako následek nevhodné kombinace léků (kazuistika)

Veronika Müller Závalová¹⁻³, Milan Juhás^{2,4}

¹II. chirurgická klinika, Centrum cévních onemocnění Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity, Brno, Česká republika, ²Nemocniční lékárna Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, Česká republika, ³Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, Česká republika, ⁴I. interní kardioangiologická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně (veronika.zavalova@email.cz)

Imunosupresivní léčba transplantovaných pacientů vyžaduje podávání spektra farmak s nutností regulace jejich plazmatických hladin za účelem optimalizace efektu a minimalizace nežádoucích účinků. Profylaxe či terapie rejekce transplantátu spočívá v komedikaci látek s vysokým interakčním potenciálem. Je tedy potřeba každou indikaci podávaných léčiv pečlivě zvážit s ohledem na jejich možné vzájemné ovlivnění farmakokinetických a farmakodynamických charakteristik. Účelem této kazuistiky je popsat riziko interakce mezi nezbytně podávanou imunomodulační léčbou ve vztahu k hypolipidemické farmakoterapii.

Elektromyografické zmeny amplitúd a latencií nervus medianus po lokálnej aplikácii lidokainu**Electromyographic changes in latencies and amplitudes of the median nerve after topical application of lidocaine**

Peter Musil, Mária Čerňanská, Ján Haršány, Andrea Gažová, Ján Kyselovič

Katedra farmakológie a toxikológie, FaF UK (musil@fpharm.uniba.sk)

Úvod a cieľ Bolest' je najčastejší prejav utrpenia človeka a zároveň symptómom, ktorý znižuje kvalitu života. Cielom práce bola analýza EMG za fyziologických podmienok a pri vplyve farmák používaných pri bolesti- lidocain 10% za účelom objektívneho poukázania na analgetický účinok.

Metodika Z celkového počtu 10 vyšetrovaných osôb na EMG boli muži zastúpený počtom 5, ich vek sa pohyboval v rozmedzí od 25 - 50 rokov. Rovnako tak i žien bolo 5, ich vek bol v rozmedzí 23 - 47 rokov. Aplikovali sme liečivo lidokain, ktorý bol v podobe 10% spreju, účinok sa prejavil po 5 minútach od nastriekania. Vyšetrenie prebiehalo na pravej ruke za podmienok fyziologických, pred aplikáciou, 5 min. po aplikácii spreju (3 vstreky) na oblasť karpálneho tunela a po odznení účinku, čo predstavoval čas 20 minút od nastriekania.

Výsledky Z výsledkov nezávislých na pohlaví vyplýva, že na motorických aj senzorických vláknach nastal nárast latencie po nastriekaní lidokainového spreja ($p < 0.05$).

Na ukážku ovplyvnenia CNS zmien merateľných na úrovni vln spojených s generovaním AP sa použila jedna diagnostika EEG. Najskôr bolo vykonané fyziologické meranie vertikálnych vln pochádzajúcich z 21 regisračných elektród pri kontrole pomocou 2 EKG elektród bez stimulácie. Následne proband prijal orálnou cestou 2tbl Tramal 50mg, so zapitím 1,5 dcl vody. Po 30 minútach od prijatia tramadolu bol vykonaní opäťovný záznam EEG signálov so zachovaným umiestnením elektród. Zaznamenali sme výrazne nižší výskyt spontanných vln s vyššou amplitúdou a zaregistrovali sme aj nižšiu frekvenciu signálu.

Závery Pre generalizovanie, resp. možnosť klinickej interpretácie získaných výsledkov by bolo vhodné rozšíriť skupinu probandov, prípadne dopracovať protokol experimentu do formy klinickej štúdie, čo očakávame v ďalšom výskume.

Grantová podpora Práca vznikla ako súčasť projektu podporeného z Operačného programu Výskum a Vývoj, spolufinancovaného Európskou úniou z Európskeho fondu regionálneho rozvoja, ITMS: 26240220075, názov projektu: „Aplikovaný výskum v oblasti neuronálnej diagnostiky a liečby“.

Interakce steviolu a steviosidu s vybranými transportéry pro organické anionty exprimované v ledvinách a střevě
Interaction of steviol and stevioside with the selected renal and intestinal transporters for organic anions

Lucie Navrátilová, Jana Mandíková, František Trejtnar

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie (navratl2@faf.cuni.cz)

Úvod a cíle: Diterpenická látka steviosid, obsažená v listech rostliny *Stevia rebaudiana* Bertoni, je často používána jako náhrada sacharózy. Steviosid je štěpen střevní mikroflórou na aglykon steviol, který pak může procházet střevní stěnou do systémového oběhu. hOAT1 je důležitý influxní transportér typicky lokalizovaný v basolaterální membráně ledviných tubárních buněk, který je součástí sekrečního tubulárního systému pro organické kyseliny. hOAPT2B1 je ve významné míře přítomen v apikální membráně enterocytů a může se podílet na uptake látek typu organických aniontů ze střevního lumen. Inhibice studovaných transportérů by mohla ovlivňovat hladiny léčiv, které využívají tyto transportéry pro aktivní absorpci ze střeva a vylučování v ledvinách. Cílem této studie bylo posoudit potenciální interakce steviolu a steviosidu s uvedenými transportními systémy pomocí *in vitro* studií na buněčné úrovni.

Metodika: Pro studium interakcí s hOAT1 byla transientně transfekována linie HeLa buněk a byl sledován inhibiční vliv testovaných látek na akumulaci standardního substrátu hOAT1 – [³H]*p*-aminohippurové kyseliny (PAH). Při studiu interakcí s hOATP2B1 byla sledována inhibice uptake [³H]estrone 3-sulfátu (E3S) v MDCKII buňkách transientně transfekovaných hOATP2B1. Jako kontrola sloužily buňky transfekované prázdným plazmidem.

Výsledky: Při interakci na hOAT1 došlo k poklesu uptake PAH v přítomnosti steviolu i steviosidu. Potence steviolu inhibovat transportní funkci OAT1 byla významně vyšší než u steviosidu. Inhibiční studie na hOATP2B1 zjistily pokles kumulace E3S pouze v přítomnosti steviolu, v případě steviosidu byl pozorován spíše trend zvýšování akumulace E3S. Hodnota IC₅₀ steviolu při interakci s hOATP2B1 byla vyšší, než v případě OAT1.

Závěry: Studie potvrdila, že steviol je schopen inhibovat uptake látek prostřednictvím hOAT1 s intenzitou, která je srovnatelná s potentními inhibitory hOAT1, jako je např. probenecid. Inhibiční efekt steviolu vůči OATP2B1 byl nižší, avšak vzhledem k možným vysokým koncentracím ve střevě by mohl být potenciálně významný.

Grantová podpora: Projekt SVV 260064 a grant GAČR P303/12/G163.

Synthesis, pharmacological evaluation, molecular modeling and QSAR studies of 7-MEOTA-donepezil like compounds

Eugenie Nepovimova,^{1,2} Jan Korabecny,^{1,2} Rafael Dolezal,¹ Pavla Cabelova,³ Kamil Musilek,⁴ Kamil Kuca^{1,2,4}

¹Biomedical Research Centre, University Hospital Hradec Kralove, Czech Republic, ²Department of Toxicology, Department of Public Health, Centre for Advanced Studies, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Kralove, Czech Republic, ³Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Charles University in Prague, Czech Republic, ⁴University of Hradec Kralove, Faculty of Science, Department of Chemistry, Hradec Kralove, Czech Republic.

Alzheimer's disease (AD) is a multifactorial progressive neurodegenerative disorder that manifests as memory loss, spatial disorientation, and gradual deterioration of intellectual capacity. Nowadays, there are no effective preventative measures, definitive diagnostic guidelines, or curative therapy for AD, its precise etiology remains unknown as well. To date, the pharmacotherapy of AD has relied on acetylcholinesterase (AChE) inhibitors – tacrine, donepezil, rivastigmine and galantamine – and, more recently, on an *N*-methyl-*D*-aspartate receptor antagonist – memantine. Multi-target-directed ligands (MTDLs) have a great potential for treating complex diseases such as neurodegenerative disorders because they interact with multiple targets. The design of such compounds that can hit more than one specific target thus represents an innovative strategy for AD treatment. Since one of the two currently approved drug-groups in AD therapy are cholinesterase inhibitors, they are one of the most used starting compounds in MTDLs design strategy. In our contribution we will introduce 7-MEOTA-donepezil like compounds as MTDLs combining 7-MEOTA unit, representing less toxic tacrine (THA) derivative, with analogues of *N*-benzylpiperazine moieties mimicking *N*-benzylpiperidine fragment of donepezil. 7-MEOTA-donepezil like compounds exerted mostly non-selective profile in inhibiting cholinesterases of different origin with IC₅₀ values ranging from micromolar to sub-micromolar concentration scale. Kinetic analysis revealed mixed-type mode of inhibition presuming that these inhibitors are capable to simultaneously bind peripheral anionic site (PAS) as well as catalytic anionic site (CAS) of AChE. Molecular modeling studies and QSAR studies were performed to rationalize *in vitro* studies.

The work was supported by the Post-doctoral project (No. CZ.1.07/2.3.00/30.0044), by University of Defence (Long Term Development Plan – 1011) and specific research (No. SV/FVZ201409).

Vliv lékových efluxních transportérů ABCB1 a ABCG2 na transplacentární přestup abakaviru**Effect of drug efflux transporters ABCB1 and ABCG2 on abacavir transport across the placenta**

Zuzana Neumanová, Lukáš Červený, František Štaud

Katedra farmakologie a toxikologie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Česká republika (neumz6aa@faf.cuni.cz)

Introduction and Aims. Current prophylaxis of mother-to-child-transmission of HIV infection is based on combination antiretroviral therapy (cART) administered throughout the whole gestation. Abacavir, a nucleoside reverse transcriptase inhibitor, is as a part of cART used in pregnant women; however its transport across the placenta has not been satisfactorily described yet. In this study we aimed to detect whether transplacental pharmacokinetics of abacavir is affected by activity of ATP-binding cassette (ABC) transporters P-glycoprotein (ABCB1) and Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) that are known to reduce permeation of drugs across the placenta.

Methods. *In vitro* transport assays across MDCK II monolayers overexpressing human ABC transporters ABCB1 and ABCG2 were used to detect whether abacavir transcellular transport is affected by activity of these transporters. Subsequently *in situ* method of dually perfused rat term placenta in the closed experimental setup was employed to further evaluate role of ABCB1 and ABCG2 in abacavir transplacental passage.

Results. *In vitro* method revealed abacavir interactions with both ABCB1 and ABCG2 transporters; *in situ* experimental setup confirmed active abacavir transport in fetal-to-maternal direction that was completely abolished in the presence of dual ABCB1/ABCG2 inhibitor (GF120928).

Conclusion. Based on these results, we suppose significant role of ABCB1 and ABCG2 transporters in the transplacental pharmacokinetics of abacavir, which should be taken into account in assessment of therapy of HIV-infected pregnant women.

Acknowledgement. This work was supported by the Czech Science Foundation (GACR P303/12/0850) and Grant Agency of Charles University (GAUK 695912/C/2012, SVV 2014/260-064).

**Terapeutické monitorování citalopramu u polymorbidných starých nemocných
TDM of citalopram**

Zoltán Paluch^{1,2}, Tomáš Richter³, Ondřej Slanař¹, Štefan Alušík⁴

¹Farmakologický ústav 1. LF UK Praha, Oddělení klinické farmakologie VFN, Praha, ²VŠZaSP sv. Alžbety, Ústav sv. J. N. Neumanna, Příbram, ³Geriatrická klinika, 1. LF UK, Praha, ⁴Interní katedra, IPVZ, Praha (Paluch.Z@seznam.cz)

Terapeutického monitorování léčiv (TDM) nově zahrnuje také skupinu antidepressiv. Většina doporučených hodnot plazmatických koncentrací je stanovena na základě údajů klinických studií provedených na souboru mladých nemocných bez přidružených onemocnění. U nich byla prokázána významná souvislost mezi hodnotou dosažené plazmatické koncentrace a klinickým efektem. Citalopram je jedním z nejčastěji používaných antidepressiv v interních oborech. Řadíme jej do skupiny selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu. U starších a velmi starých pacientů musíme při podávání citalopramu vzít v úvahu pozměněné farmakokinetické i farmakodynamické parametry tohoto léčiva. Proto u nemocných nad 60 let je terapie antidepressivy zahajována nižšími dávkami. V případě podávání 20 mg citalopramu denně zaznamenáváme po dosažení ustáleného stavu průměrnou sérovou koncentraci 130 ± 70 nmol/l a rozdíl mezi vrcholovou a údolní koncentrací je přibližně desetinásobný. V přednášce bychom chtěli prezentovat naše zkušenosti s TDM citalopramu a jeho pleiotropní účinky.

**Terapeutické monitorování vankomycinu v klinické praxi
TDM of vancomycin in clinical practice**Zoltán Paluch^{1,2}, Ondřej Slanař¹, Štefan Alušík³

¹Farmakologický ústav 1. LF UK Praha, Oddělení klinické farmakologie VFN, Praha, ²VŠZaSP sv. Alžbety, Ústav sv. J. N. Neumanna, Příbram, ³Interní katedra, IPVZ, Praha (Paluch.Z@seznam.cz)

Vankomycin je důležitým léčivem v terapii infekcí vyvolaných grampozitivními bakteriemi, meticilin rezistentním *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) a v terapii pseudomembranozní kolitidy. Před pěti lety došlo ke změně doporučených léčebných postupů, avšak v běžné praxi se zatím zcela neuplatňují. K dlouhodobému zachování terapeutického potenciálu vankomycinu je nutné dodržovat několik základních pravidel. Při léčbě musejí být u pacientů kontrolovány plazmatické koncentrace tohoto léčiva (TDM). Po čtvrté aplikované dávce se doporučuje vyšetření údolní a vrcholové koncentrace. Vankomycin nemá postantibiotický efekt, proto se jeho koncentrace v průběhu léčby musí pohybovat v terapeutickém rozmezí. Údolní koncentrace nesmí klesnout pod 10 mg/l (14 µmol/l); vedlo by to ke snížení účinnosti léčby a k nárůstu rezistence. Vrcholová koncentrace terapeutického rozmezí je 40 mg/l (28 µmol/l). Vyšší koncentrace vedou k poškození ledvin a sluchu. Autoři přednášky by chtěli upozornit na současnou situaci v používání vankomycinu a seznámit s novými terapeutickými postupy.

Účinok dlhodobého podania beta2 sympathomimetík a glukokortikoidov na obranné mechanizmy dýchacích ciest
Effect of long-term administration of beta 2 sympathomimetics and glucocorticoids on defensive mechanisms of airways

Lenka Pappová, Marta Jošková, Ivana Kazimierová, Martina Šutovská, Soňa Fraňová,
Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin (pappova@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Astma je chronické zápalové ochorenie, prejavujúce sa hyperreaktivitou dýchacích ciest, morfologickými zmenami epitelu a zníženou účinnosťou mukociliárneho transportu. Inhalačné protizápalové glukokortikoidy a bronchodilatačné β_2 -sympatomimetiká patria v súčasnosti k najúčinnejším liečivám v terapii astmy. Našim cieľom bolo porovnať vplyv glukokortikoidov (budesonidu), β_2 -sympatomimetík (salmeterolu) a ich vzájomnej kombinácie na obranné mechanizmy dýchacích ciest v podmienkach experimentálne vyvolaného alergického zápalu.

Materiál a metódy: Morčatá boli rozdelené do piatich skupín. Všetky okrem kontrolnej skupiny podstúpili 21 dňovú senzibilizáciu ovalbumínom. Od prvého dňa senzibilizácie bol jednotlivým skupinám zvierat inhalačne podávaný budesonid (10^{-3} M), salmeterol (0,1 mg/ml) alebo ich kombinácia v polovičných dávkach. Parametre obranných reflexov dýchacích ciest v in vivo podmienkach sme hodnotili prostredníctvom celotelového pletyzmografu. Sledovali sme hodnoty špecifického odporu dýchacích ciest po inhalácií bronchokonstriktívneho mediátora histamínu (10^{-6} M) a počet nárazov kašľa vyvolaného inhaláciou kyseliny citrónovej (0,3 M). Ciliárna frekvencia bola skúmaná metódou in vitro po odbere ciliárneho tkaniva „brushing“ metódou. Pohyb cilií bol sledovaný elektrónovým mikroskopom a zaznamenaný kamerovým systémom.

Výsledky: Všetky tri terapeutické postupy preukázali značné zníženie v počte nárazov kašľa, znížili špecifický odpor dýchacích ciest a zvýšili frekvenciu kmitania cílií. V priebehu 21 dňovej terapie kombináciou salmeterolu a budesonidu sme pozorovali aditívny až synergický bronchodilatačný a antitusický účinok týchto liečív. Súčasné podávanie budesonidu a salmeterolu viedlo k najvýraznejšiemu zvýšeniu ciliárnej frekvencie.

Záver: Salmeterol, budesonid aj ich kombinácia v polovičných dávkach priaznivo ovplyvnili reaktivitu plúc po inhalácii histamínu (10^{-6} M), znížili počet nárazov kašľa a stimulovali frekvenciu cílií u morčiat s experimentálne navodeným alergickým zápalom. Kombináčná terapia budesonidom a salmeterolom, napriek zníženiu dávky liečív na polovicu, sa ukázala ako najvhodnejšia v ovplyvnení obranných mechanizmov dýchacích ciest.

Grantová podpora: APVV-0305-12, VEGA 1/0165/14 a MZ 2012/35-UKMA-12

**Analýza intracelulárneho vápnika v ľudských neutrofiloch prietokovou cytometriou
Analysis of Free Intracellular Calcium by Flow Cytometry in Human Neutrophils**

Silvia Pažoureková, Marianna Lucová, Katarína Drábiková, Radomír Nosál', Viera Jančinová

Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV, Dúbravská cesta 9, 84104, BA
(silvia.pazourekova@savba.sk; Viera.Jancinova@savba.sk)

Background: Neutrophils (NE) play a key role in the immune response. Upon NE activation, one of the earliest events is the mobilization of intracellular calcium. Calcium is an important second messenger that mediates many important cellular functions. Many methods, one of which is the flow cytometry, have been employed in the quest to monitor the above mentioned process. The aim of the present study was to adapt the flow cytometry based assay to measure the mobilization of calcium in isolated NE and in NE in a small volume of lysed whole blood.

Methods: Whole blood, lysed in NH₄Cl buffer (21.5 mM Tris, 138.3 mM NH₄Cl, pH 7.4) and suspension of isolated NE in PBS (1.7x10⁶cells/mL) were loaded with Fluo-4 AM (2 μM) and incubated at room temperature for 20 min. The stimuli N-formyl-Met-Leu-Phe (fMLP, 1 μM), opsonized zymosan (OpZ, 1 μM), Ca²⁺-ionophore A23187 (ION, 1 μM) and phorbol-myristate-acetate (PMA, 0.05 μM) were added after 1 min of measurement. Measurements were performed by using the Cytomics FC 500. Data were analysed off-line using the Winmdi 2.8 software.

Results: The NH₄Cl buffer showed that light scatter properties of leukocytes were preserved and did not affect the viability of NE. A transient increase of intracellular calcium in lysed whole blood and isolated NE was induced by ION. PMA did not change the mobility of intracellular calcium and in the case of fMLP and OpZ increase of intracellular calcium was shown in an isolated NE only.

Conclusions: Described method appears to be advisable for the analysis of intracellular calcium mobilization in the isolated NE. This can be useful for evaluation of different compounds effect in pharmacology.

Supported by grants APVV-0052-10, VEGA 2/0010/13 and APVV-0315-07

**Ovplyvnenie kontrakčnej odpovede femorálnej artérie diabetických potkanov inhibíciou K_{IR} kanálov, cyklooxygenázy a NO syntázy
Effect of K_{IR} channel, cyclooxygenase and NO synthase inhibition on contractile responses of femoral artery in diabetic rats**

Miriam Petrová¹, Silvia Líšková¹, Lukáš Dobiáš¹, Viera Kristová¹, Róbert Vojtko¹, Alexander Kurtanský²

¹Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, ²Ústav fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava (miriam.petrova@fmed.uniba.sk)

Úvod: Endotelová dysfunkcia vyvolaná experimentálnym diabetom môže vplývať na vylučovanie vazoaktívnych látok z ciev a meniť ich odpovede na noradrenálnom vyvolanú kontrakciu. K objasneniu mechanizmov kontrakčných odpovedí femorálnych artérií, reprezentujúcich veľké konduktívne artérie, môže prispieť ich ovplyvnenie inhibítormi K_{IR} kanálov (BaCl₂), cyklooxygenázy (diklofenakom) a NO syntázy (L-NNA).

Ciel: Cieľom práce bolo hodnotiť úlohu inwardly rectifying draslikových kanálov, cyklooxygenázy a NO syntázy na vazokonstričné stimuly v prítomnosti diabetu.

Metodika: Prstence femorálnych artérií normoglykemických a diabetických potkanov so streptozotocínom-indukovaným diabetom (45 mg/kg streptozotocínu i.v.) boli vložené do komôrky Mulvany-Halpern izometrického myografu, ktorá obsahovala modifikovaný Krebs-Ringerov roztok (119 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.17 mM MgSO₄, 25 mM NaHCO₃, 1.18 mM KH₂PO₄, 0.03 mM EDTA, 2.5 mM CaCl₂, 200 mg/l kyselina askorbová, 2 g/l glukóza) zohriaty na teplotu 37 °C a prebulívaný pneumoxidom. Po 30 minút trvajúcej stabilizácie ciev sme pridávali noradrenálín (NA) v stúpajúcich koncentráciách v prítomnosti BaCl₂ (3x10⁻⁵ M), L-NNA (10⁻⁴ M) a diklofenaku (3x10⁻⁵ M).

Výsledky: V kontrolnej skupine (n=6) ako aj v diabetickej skupine (n=8) prítomnosť BaCl₂ signifikantne zosilnila kontrakcie na NA už v nízkych dávkach. Pri súčasnej aplikácii L-NNA a diklofenaku došlo k inhibícii odpovedí na NA v kontrolnej skupine zvierat. Naopak súčasná premedikácia s L-NNA a diklofenakom zosilnila kontrakčné odpovede na NA v diabetickej skupine zvierat.

Závery: Naše výsledky ukazujú, že hyperglykemické potkany v porovnaní k normoglykemickým majú odlišné kontrakčné odpovede femorálnej artérie počas inhibície cyclooxygenázy a NO syntázy. Tieto zistenia nasvedčujú na porušenie uvedených mechanizmov pri experimentálnom modeli diabetu u potkanov.

**Mechanizmus antiproliferatívneho účinku benzokamalexínu.
Mechanism of benzocamalexin antiproliferative activity.**

Martina Pilátová¹, Lenka Varinská¹, Martina Chrípková¹, Dávid Drutovič¹, Marek Šarišský¹, Mariana Budovská², Ján Mojžiš¹

¹Ústav farmakológie LF UPJŠ, Košice, SR, ²Ústav chemických vied PF UPJŠ, Košice, SR (martinapilatova@yahoo.co.uk)

Úvod: Na základe výsledkov epidemiologických štúdií popisujúcich chemopreventívne účinky kapustovitej zeleniny bol testovaný antiproliferatívny účinok prirodzene sa vyskytujúceho kamalexínu a jeho syntetických derivátov na rôznych nádorových a nenádorových bunkách.

Najvyššiu účinnosť na nádorových bunkách vykazoval benzokamalexín s hodnotou IC₅₀ 23.3-30.1 µmol/L v závislosti od bunkovej línie, pričom na nenádorových bunkách vykazoval minimálnu toxitu (IC₅₀>100 µmol/L).

Ciele: Cieľom tejto práce bolo sledovať schopnosť benzokamalexínu modulovať bunkový cyklus, expresiu vybraných génov a indukovať apoptózu.

Metodiky: Na sledovanie bunkového cyklu bola použitá flow cytometria. Metódu kvantitatívnej real time PCR sme využili na sledovanie expresie vybraných génov. Gélovou elektroforézou sme potvrdili fragmentáciu DNA.

Výsledky: Flowcytometrická analýza poukázala na blokádu bunkového cyklu v G2/M fáze a redistribúciu obsahu DNA do sub G0/G1 frakcie, ktorá je považovaná za apoptickú. Sledovaním vplyvu benzokamalexínu na expresiu génov sme spozorovali zníženu expresiu α-tubulínu, α1-tubulínu a β- tubulínu zúčastňujúcich sa na tvorbe mikrotubulov. Súčasne sme zaznamenali zníženú expresiu antiapoptotických Bcl-2 and Bcl-xL génov a zvýšenú expresiu proapoptotického génu Bax. Proapapototický učinok benzokamalexínu bol potvrdený aj detekciou fragmentácie DNA gélovou elektroforézou.

Záver: Výsledky našich experimentov naznačujú, že zablokovanie bunkového cyklu v G2/M fáze a indukcia apoptózy zohrávajú dôležitú úlohu v mechanizme antiproliferatívneho účinku benzokamalexínu

Táto práca bola finančne podporená VEGA grantom 1/0322/14.

Krátkodobý kardiovaskulárni efekt terapie N-acetylcysteinom u respiračního selhávání vyvolaného podáním mekoniu**Short-term cardiovascular effects of therapy by N-acetylcysteine in a meconium-induced acute lung injury**

Hana Píštěková¹, Daniela Mokrá¹, Ingrid Tonhajzerová¹, Zuzana Višňovcová¹, Anna Drgová², Martina Repčáková², Lucia Tomčíková¹, Andrea Čalkovská¹

¹Ústav fyziologie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin, ²Ústav lekárskej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin (hanka.pst@seznam.cz)

Úvod a cíle: Na složité patogenezi MAS se spolupodílejí i volné kyslíkové radikály produkované během probíhajícího zánětlivého procesu. Jako součást terapie je proto na místě použití antioxidantů. Cílem této studie bylo na animálním modelu MAS ověřit akutní efekt podání N-acetylcysteingu na kardiovaskulární parametry, které mohou být léčbou ovlivněny.

Metodika: Dospělým králíkům v celkové anestezii (ketamin (20 mg/kg) a xylazin (5 mg/kg) i.m.; ketamin (20 mg/kg) i.v.), napojených na umělou plicní ventilaci (f 30/min; FiO₂ 1,0; PEEP 0,3) bylo intratracheálně podáno mekonium (4 ml/kg) v suspenzi (25 mg/ml) nebo fyziologický roztok. 30 min po podání mekonia byl i.v. aplikován N-acetylcystein (10 mg/kg) nebo fyziologický roztok. Změny kardiovaskulárních parametrů (krevní tlak, srdeční frekvence, variabilita srdeční frekvence) byly sledovány během 5 min podávání a 5 min bezprostředně po podání a dále pak v pravidelných intervalech během následujících 5 hod po aplikaci terapie. V plazmě byly stanoveny markery kardiovaskulárního poškození (aldosteron, GGT, AST, ALT) a oxidačního stresu (TBARS, 3-NT, TAS).

Výsledky: Samotné podání mekonia neevokovalo signifikantní kardiovaskulární změny, ale indukovalo oxidační stres a vedlo k nárůstu plazmatických hladin aldosteronu. N-acetylcystein signifikantně redukoval markery poškození, nicméně jeho aplikace byla spojena s krátkodobým vzestupem krevního tlaku a zvýšením některých parametrů variability srdeční frekvence, jejíž hodnoty zůstaly zvýšené až do ukončení experimentu.

Závěry: S ohledem na pozorované změny, i.v. podání N-acetylcysteingu novorozencům s MAS je podmíněno zvýšeným monitoringem těchto pacientů.

Grantová podpora: CEPV II 26220120036, APVV-0435-11, VEGA 1/0057/11 a 1/0291/12

Rozdielna expresia cytochrómov p450 podielajúcich sa na tvorbe vazoaktívnych metabolitov kyseliny arachidónovej v animálnych modeloch glukózovej intolerancie a diabetu

Different expression of CYP enzymes generating vasoactive arachidonic acid metabolites in animal models of glucose intolerance and diabetes

Lenka Piváčková¹, Jasna Šranková¹, Gabriel Dóka¹, Lucia Menšíková¹, Kristína Galková¹, Eva Malíková¹, Ružena Sotníková², Jana Navarová², Ján Klimas¹, Peter Křenek¹

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, ²Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, Slovenská akadémia vied (pivackova@fpharm.uniba.sk)

Úvod a cieľ: Epoxyeikozatriénové kyseliny (EETs) sú syntetizované z kyseliny arachidónovej (AA) epoxygenázami zo skupiny cytochrómu p450. Okrem ich hypoglykemického účinku, existujú dôkazy, že môžu prispievať k regulácii vaskulárneho tonusu. Alternatívna cesta metabolizmu AA sprostredkovaná ω -hydroxylázami p450 produkuje vazokonstrikčne pôsobiace hydroxyeikozatetraénové kyseliny (HETEs). EETs sú degradované solubilnou epoxid hydrolázou na neaktívne dihydroxyeikozatriénové kyseliny (DHETs). Naším cieľom bolo preskúmať expresiu týchto enzymov v dvoch animálnych modeloch reflektujúcich rozličné štádiá poruchy glukózového metabolismu a spojených s endotelovou dysfunkciou.

Metodika: V prvom modeli glukózovej intolerancie (GI) sme 12-13 týždňových samcom potkanov kmeňa Wistar (n=6-7 v skupine) aplikovali streptozotocín postprandiálne počas 3 dní (25mg/kg/d, i.p.). Na indukciu diabetu v druhom modeli (D) bol potkanom preprandiálne podávaný streptozotocín (30mg/kg/d, i.p) počas 3 dní. 10 týždňov po poslednej dávke sme vykonali meranie preprandiálnej glykémie alebo orálny glukózový tolerančný test a pomocou RT-qPCR sme v aortách stanovili expresiu vybraných epoxygenáz (Cyp2j4, Cyp2c23), ω -hydroxyláz (Cyp4a2, Cyp4a3) a solubilnej epoxid hydrolázy (Ephx2).

Výsledky: V GI modeli bola porušená glukózová tolerancia (celková AUC: 1835±55 vs 3079±55 mmol/l x 270min; p<0,01), preprandiálna glykémia zostala nezmenená. V D modeli bola preprandiálna glykémia signifikantne zvýšená (6,0±0,2 vs 29,57±0,4 mmol/l; p<0,001). Jediná zmena relatívnej expresie sledovaných génov v GI modeli bola upregulácia Ephx2 (1,00±0,16 vs 2,53±0,27; p<0,05). V D modeli bola expresia Ephx2 na úrovni kontroly, avšak nastala upregulácia Cyp2j4 (1,00±0,05 vs 3,16±0,91; p<0,01) a Cyp4a3 (1,00±0,24 vs 2,35±0,6; p<0,05).

Závery: Oba modely sprevádzajú endotelová dysfunkcia, avšak zmeny v expresii enzymov regulujúcich od cytochrómu p450 závislý metabolismus kyseliny arachidónovej naznačujú rozdielne patogenické mechanizmy. V modeli glukózovej intolerancie by zvýšená expresia Ephx2 mohla zvýšiť degradáciu EETs a tým prispievať k endotelovej dysfunkcii. V diabetickom modeli s hyperglykémiou môže byť dôležitejšia zmena rovnováhy medzi produkciou vazodilatačných EETs a vazokonstrikčných HETEs vyplývajúca zo zmien v expresii Cyp2j4 a Cyp3a4.

Grantová podpora: EFSD New Horizons 2012, VEGA 1/0981/12

**Vliv různých lékových forem silymarinu na plazmatické hladiny lipidů u HHTg potkana
The influence of different forms of silymarin on plasma lipid levels in HHTg rats**

Martin Poruba¹, Ludmila Kazdová², Olena Oliyarnik², Hana Malínská², Pavel Anzenbacher¹, Zuzana Matušková¹, Rostislav Večeřa¹

¹Ústav farmakologie LF UP v Olomouci, ²Oddělení metabolismu diabetu, IKEM, Praha (martin.poruba@seznam.cz)

Mezi významné faktory metabolického syndromu se řadí poruchy metabolismu lipidů, které jsou vysoko asociovány s kardiovaskulárním rizikem. Jednou z možných léčebných metod jsou kromě léčiv s hypolipidemickým působením i látky přírodního původu. V řadě studií bylo potvrzeno pozitivní působení rostlinných extraktů s obsahem polyfenolů. Na polyfenolické látky a flavonoidy je bohatý bodlák z čeledi Asteraceae, *Silybum marianum*, a především pak extrakt z jeho semen - silymarin. V naší studii jsme porovnávali rozdílnou účinnost jednotlivých lékových forem silymarinu (standardizovaný extrakt silymarinu, mikronizovaný silymarin a silymarin ve formě phytosomů) v ovlivnění plazmatických hladin triacylglycerolů, celkového cholesterolu a HDL cholesterolu u hereditárně hypertriglyceridemických (HHTg) potkanů (akceptovaný model metabolického syndromu). U všech skupin potkanů krmených standardní dietou s obsahem různých lékových forem silymarinu došlo ke statisticky významnému poklesu plazmatických hladin triacylglycerolů v porovnání se skupinou kontrolní ($p < 0,0001$). Hladiny celkového cholesterolu byly významně ovlivněny u skupiny na standardizovaném extraktu silymarinu ($p < 0,001$) i silymarinu ve formě phytosomů ($p < 0,01$). Plazmatické hladiny HDL cholesterolu byly, v porovnání s kontrolní skupinou, významně zvýšeny u všech skupin, kterým byl podáván silymarin ($p < 0,001$). Naše výsledky poprvé popisují u HHTg potkanů pozitivní vliv silymarinu na hladiny antiaterogenních HDL lipoproteinů. Tento nález je významný zejména z hlediska vysokého rizika kardiovaskulárních nemocí asociovaných s metabolickým syndromem. Je třeba dalších studií pro objasnění mechanismů hypolipidemických účinků silymarinu.

Studie byla podpořena grantem GAČR 13-10813S

Diagnostika tuberkulózy včera a dnes Diagnostics of TBC – past and current situation

Igor Porvazník^{1,2}, Ivan Solovič², Juraj Mokrý¹

¹Národný ústav tuberkulózy, plúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy, ²Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského, Martin (porvaznik@hagy.sk)

Tuberkulóza je ľudstvu známa už od staroveku. V roku 1982 Robert Koch objavil *Mycobacterium tuberculosis*, bacil vyvolávajúci tuberkulózu, čím identifikoval tuberkulózu ako infekčné ochorenie. Tento objav viedol krátko potom k vývoju metód na farbenie bacilov v klinických vzorkách, vďaka čomu bolo možné mikroorganizmy pozorovať za použitia svetelnej mikroskopie. Od tých čias mikroskopia, zostáva široko používanou metódou, aj keď jej citlivosť je nízka.

Kultivácia *M. tuberculosis* zostáva zlatým štandardom pre všetky formy tuberkulózy ako v klinickej, tak i vedeckej praxi. Vďaka automatizovaným systémom bol zaznamenaný progres kultivačných metód prinášajúci zníženie času kultivácie a jej vyššiu senzitivitu.

Konvenčné amplifikačné metódy súce prinášajú vysokú špecifitu a senzitivitu u mikroskopicky pozitívnych pacientov, v prípade mikroskopickej negatívity je však senzitivita nižšia (> 60%). Navyše v porovnaní s mikroskopiou a kultiváciou sú tieto metódy drahé a vyžadujú špecializovanú laboratórnu infraštruktúru.

Najnovšie amplifikačné metódy, ku ktorým sa radí Xpert® MTB/RIF, sú plne automatizované, ponúkajúce systém pre extrakciu DNA a jej následnú amplifikáciu a identifikáciu, ponúkajú riešenie problémov konvenčných metód.

Ako rýchla alternatíva fenotypového testu citlivostí, boli vyvinuté špeciálne amplifikačné metódy využívajúce manuálnu amplifikáciu a hybridizáciu, známe ako Line probe assays. Tieto ponúkajú možnosť jednako rýchlej identifikácie *M. tuberculosis* v klinickej vzorke a zároveň stanovenie rezistencie na dve najdôležitejšie antituberkulotiká – izoniazid a rifampicín.

Napriek pokroku v diagnostike tuberkulóze existuje stále naliehavá potreba na technické vybavenie nenáročného a zároveň lacného point-of-care testu, použiteľného na všetkých úrovniach zdravotníckeho systému aj v komunitách.

Len rýchla a presná diagnostika tuberkulózy je predpokladom ako úspešnej liečby, tak aj úspešného boja proti šíreniu tuberkulózy.

Emtricitabin není transportován ABCB1, ABCG2, ABCC2 nebo MATE1 efluxními transportéry.

Emtricitabine is not transported by ABCB1, ABCG2, ABCC2 or MATE1 efflux transporters

Josef Řezníček, Martina Čečková, Lukáš Červený, František Štaud

Katedra farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Česká republika (reznj7ba@faf.cuni.cz)

Introduction and aim: Emtricitabine (FTC) is one of the most widely used antiretroviral drugs applied in the treatment of HIV-1 infection. It is a nucleoside reverse transcriptase inhibitor and is recommended as a part of combination therapeutic regimes in pregnant women. The aim of our study was to describe interactions of emtricitabine with the major placental efflux transporters ABCB1 (P-gp), ABCG2 (BCRP), ABCC2 (MRP2) and recently discovered MATE1 (SLC47A1).

Methods and cells: MDCK cell lines stably expressing human ABCB1, ABCG2, ABCC2 or MATE1 transporters cultured on semipermeable membranes were used for transcellular transport experiments.

Results: Transport of FTC (20nM) across MDCK cells expressing ABCB1, ABCG2 and ABCC2 did not differ in basolateral-to-apical compared to apical-to-basolateral direction suggesting no role of these transporters in transepithelial transport. Employing transport studies with FTC (6nM) in MATE1 expressing cells, we did not observe any pH dependency in basolateral-to-apical passage of the drug. Moreover, the basolateral-to-apical transport of FTC was not changed by addition of 2 µM mitoxantrone or 100 µM MPP+, known MATE1 inhibitors.

Conclusions: Based on transport experiments, our data suggest, that FTC is not a substrate of placental ABC efflux transporters ABCB1, ABCG2, ABCC2 or SLC transporter MATE1.

Acknowledgment: The study was supported by the Grant Agency of the Charles University in Prague (GAUK 1148213/C/2013), GACR 303/13-31118P and SVV/2014/260-064.

**Sledovanie terapie DPP-4 inhibítormi v diabetickej ambulancii
Monitoring of the therapy with DPP-4 inhibitors at diabetologist.**

Dominika Rubintová¹, Ingrid Tumová¹, Jozef Lacko², Tatiana Foltánová¹, Stanislava Jankyová¹

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava, ²Diabetologická ambulancia, Trnava (dominika.rubintova@gmail.com)

Úvod: Hlavným cieľom sledovania bolo zhodnotiť efektivitu terapie DPP-4 inhibítormi v klinickej praxi a porovnať liečbu linagliptínom, vildagliptínom a saxagliptínom na sledované parametre: glykémiu nalačno a glykovaného hemoglobínu HbA1c.

Metodika: Retrospektívna analýza výsledkov biochemických a fyzikálnych vyšetrení 84 pacientov s diabetes mellitus typu 2 (DM2). Údaje boli zaznamenávané do MS Excell a štatisticky spracované v SPSS 19. Pacienti boli liečení metformínom/derivátom sulfonylurey +/- DPP-4i. Do skupín boli rozdelení podľa dĺžky terapie DPP-4i ('A' DPP-4i pridaný do terapie, 'B' liečení DPP-4i > 1,5 roka, 'C' liečení inými antidiabetikami) a podľa typu DPP-4i (vildagliptínom/linagliptínom/sitagliptínom/saxagliptínom).

Hlavné cieľové parametre: Hladiny glykémie a HbA1c a percento pacientov s vyhovujúcou kompenzáciou DM2.

Výsledky: V skupine 'A' sa glykémia znížila z 8,77 na $8,37 \pm 0,52$ mmol/l, kým v skupine 'C' bola zvýšená zo 7,96 na $8,08 \pm 0,46$ mmol/l. Zvýšenie hladín glykémie sme zaznamenali aj v skupine 'B' (7,17 vs. $7,74 \pm 0,42$ mmol/l). Celkovo bolo 47,94% pacientov liečených vildagliptínom, 39,72% linagliptínom, 6,85% sitagliptínom a 5,48% saxagliptínom. V našom sledovaní sme zaznamenali najvyššie zníženie hladín glykémie a HbA1c v skupine pacientov užívajúcich saxagliptín (n=7).

Záver: Predbežné výsledky ukázali zvýšenie hladín glykémie a HbA1c u pacientov dlhodobo užívajúcich DPP-4i. Dôvodom zvýšenia môže byť i progresia ochorenia. Avšak nemôžeme vylúčiť ani vznik tolerancie na liečivá. Na potvrdenie výsledkov by bolo potrebné dlhodobejšie sledovanie rozšíreného súboru pacientov.

Skupina pacientov, ktorým bol pridaný do terapie saxagliptín (n=7) dosiahla požadované hodnoty HbA1c < 7%, u pacientov s pridaným vildagliptínom (n=8) sa hladina HbA1c znížila avšak bola vyššia ako 7%. Najmenšie zníženie parametrov HbA1c sme zaznamenali u pacientov, ktorým bol do terapie pridaný linagliptín (n=15), ktorým sa zvýšila hladina glykémie.

Srdcová expresia hepatocytárneho rastového faktora v experimentálne navodenom diabete a vplyv crizotinibu
Cardiac expression of hepatocyte growth factor in experimental diabetes and the influence of crizotinib

Martin Rupp, Gabriel Doka, Michal Riha¹, Eva Malikova, Kristina Galkova, Jasna Srankova, Lucia Mesarosova, Peter Krenek, Jan Klimas

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave,
¹Katedra farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze (ruppmartin89@gmail.com; klimas@fpharm.uniba.sk)

Background&Objective: Hepatocyte growth factor (HGF) has an important role in cardioprotection as an endogenous cardiotrophic factor. HGF exerts anti-apoptotic and angiogenic properties by activating its c-Met receptor and a downstream ERK1/2-mediated signalling pathway in cardiomyocytes. We hypothesized that experimentally induced cardiac damage in rats and inhibition of c-Met receptor might be associated with alteration in expression of HGF/c-Met system.

Methods: Male Wistar rats received c-Met inhibitor Crizotinib (CRZ) (p.o 25 mg/kg for 10 days, n=8), streptozotocin (STZ) (i.p 80 mg/kg single dose, n=9), or combination of both (SC, n=8), control rats (CON, n=8) received vehicle. We studied mRNA and protein expression of HGF and c-Met in left ventricle after 10 days of administration.

Results: The expression of c-Met was not observed to be significantly altered following diabetic cardiac damage. However, expression of HGF showed differences at the mRNA level during cardiac damage. While the mRNA expression of HGF is significantly lower in CS group when compared to control group (CON= 100±6%, SC= 85±2%; P<0.05), at the protein level the expression of HGF in CS group compared with CON group was rather increased, although non-significantly (CON= 100±23%, SC= 123±21%; P=NS).

Conclusion: We did not observe significant alterations in expression of c-Met when cardiac damage. Observed discrepancy between expression of HGF at the protein and mRNA level might suggest an alternative source of HGF (liver, kidney, lung, spleen) to damaged cardiac tissue.

Acknowledgement: Grant support: EFSD New Horizons 2012, APVV-0887-11, VEGA 1/0981/12 and VEGA 1/0564/13.

Effect of early subchronic prenatal asphyxia - programming of behavioural and metabolic disorders

Natália Sedláčková, Romana Koprdová, Eduard Ujházy, Mojmír Mach

Institute of Experimental Pharmacology & Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia (natalia.sedlackova@savba.sk)

Introduction: Asphyxia during critical periods of development is a serious clinical problem worldwide. Incidence of perinatal asphyxia is 2 to 10 per 1000 newborns, and increases for those that are born prematurely. The aim of study was to assess effects of subchronic prenatal asphyxia (SPA) during organogenesis on behavioral and biochemical outcomes of offspring in Wistar/DV rats.

Methods: Wistar/DV intact female rats (n=20) and offspring (females n=40; males n=40) were used. Pregnant female Wistar/DV rats were exposed to the lowered oxygen containing environment in a special PVC chamber during sensitive stages of organogenesis (days 10-15 of gestation) for 4h a day. We studied effects of SPA on postnatal development (neuromotor and reflex development, sensory function). Behavioural changes were assessed using battery of behavioral tests up to adulthood. Following test were used: Open field (OF), Elevated plus maze (EPM), Light/dark test (L/D), Forced swim test (FST), Stress induced hypertermia (SIH), and Morris water maze test (MWM).

Results: The distance traveled in OF and the time spent in open arm in EPM was slightly increased compared to controls. Anxiety-like behaviour was fairly increased in L/D test and depression-like behaviour was decreased in FST. Lower response to the stress stimulus in SIH was established. The main effects of SPA concerned decreased cognitive functions measured in MWM compared to control in both males and females. Biochemical parameters such as glucose, ALT or triglycerides were also significantly increased compared to control.

Conclusion: Our findings showed that oxygen supply during sensitive developmental stages is crucial for appropriate growth and functional maturation. Metabolic changes as well as cognitive impairment without apparent anxiety- and depression-like behavior point out that this model might be suitable for metabolic diseases and/or cognitive oriented experiments.

Acknowledgement: This work was supported by the grants VEGA 2/0081/11 and 2/0107/12.

Chemická štruktúra a *in vivo* antitusická aktivita vodou extrahovaného pektínového arabinogalaktánu zo Solanum xanthocarpum

Veronika Sivová¹, Gabriela Nosál'ová¹, Washim Raja², Bimalendu Ray²

¹Ústav farmakológie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského Martin, Slovensko,

²Laboratórium prírodných produktov, Ústav chémie Univerzity v Burdwane, Západné Bengálsko, India (sivova@jfmed.uniba.sk)

Úvod a ciele: Liečivé rastliny sú významným zdrojom látok, ktoré sú v terapii rovnako účinné, ale k telu oveľa šetrnejších, ako syntetické liečivá. V našich predchádzajúcich prácach sme dokázali, že mnohé rastlinné polysacharidy vykazujú vysokú antitusickú aktivitu s minimom nežiaducích účinkov. Cieľom našej práce bola izolácia, štrukturálna analýza polysacharidu z rastliny Solanum xanthocarpum a posúdenie jeho účinku na kašeľ a obranné mechanizmy dýchacích ciest.

Metodika: Pomocou tradičnej vodnej extrakcie sme z listov rastliny izolovali polymérovú frakciu a podrobili ju chemickej, chromatografickej a spektrálnej analýze. U zdravých bdelých morčiat sme kašeľ vyvolávali inhaláciou kyseliny citrónovej s použitím bodypletyzmografu. Antitusickú aktivitu izolovaného polysacharidu sme stanovili meraním počtu nárazov kašla po perorálnom podaní v dávke 50mg/kg. *In vivo* sledovaním špecifického odporu dýchacích ciest a hladín NO vo vydychovanom vzduchu u zdravých zvierat sme študovali vplyv polysacharidu aj na ďalšie obranné mechanizmy dýchacích ciest.

Výsledky: Štrukturálnou analýzou sme zistili, že nami izolovaný polysacharid (WEp) je vysoko vetvený pektínový arabinogalaktán obsahujúci (1→3)-, (1→6)- a (1→3, 6)-viazané β -D-Gal zvyšky spolu s (1→5)- a (1→3,5)-viazanými α -L-Ara zvyškami a neredukujúcimi koncovými jednotkami α -L-Ara. Perorálna aplikácia arabinogalaktánu WEp vyvolala vysoko signifikantnú supresiu kašla, ktorá zároveň prevýšila supresiu kašla po aplikácii kodeínu, najčastejšie používaného opioidného antitusika. WEp frakcia neprekázala signifikantný vplyv na špecifický odpor dýchacích ciest a taktiež významne nemenila hladiny NO vo vydychovanom vzduchu a zdravých zvierat. Perorálne podávanie arabinogalaktánu počas celého experimentu neviedlo k výskytu akýchkoľvek nežiaducích účinkov.

Závery: Tradičná vodná extrakcia z listov Solanum xanthocarpum poskytuje pektínový arabinogalaktán preukazujúci signifikantnú antitusickú aktivitu bez nežiaducích účinkov. Naše zistenia predstavujú dôležitý krok vo vývoji účinných a bezpečných fytoterapeutík v terapii kašla.

Grantová podpora: Štúdia bola podporená grantom MZ 2012/35-UKMA-12, APVV 0305-12 a UK – 24/2014.

Praktická výuka farmakokinetiky a TDM - hodnocení studenty

Ondřej Slanař, Zoltán Paluch

Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN, Praha (oslan@lf1.cuni.cz)

Do sylabu předmětu farmakologie pro všeobecné lékařství byl v letošním letním semestru přidán praktický seminář „TDM + farmakokinetické simulace“. Díky projektu FRVŠ jsme pořídili vybavení interaktivní počítačové učebny s 24 studentskými stanicemi, která umožňuje studentům praktické vyzkoušení práci s programy MWPharm, Edsim++, databáze LI Infopharm , P450 Drug-drug interactions a PK Solver. Seminář je organizován formou výuky na individuálních případech.

Hodnocení studenty s touto novou formou výuky je pozitivní (předběžné výsledky po ukončení semináře v přibližně 2/3 vyučovaných skupin). Vybavení učebny hodnotilo 64% studentů jako výborné, 28% velmi dobré a 8% jako dobré. Nedostatečně nehodnotil žádný z 202 respondentů. Celkově spokojeno s praktiky bylo 96% studentů (známky 1či 2 z 5).

Ve slovním hodnocení bylo přibližně 80% studentů zcela spokojeno, 20% studentů poskytlo drobné slovní připomínky. Připomínkující studenti většinou požadují více podobně orientovaných kazuistik v průběhu výuky farmakologie či komentují formu prezentace lektora.

Závěr: Snaha přiblížit výuku farmakokinetiky a TDM konceptu „Patient oriented education“ je pozitivně vnímána studenty 3. Ročníku 1. LF UK.

Zařízení interaktivní výukové učebny bylo podpořeno grantem 217/2013/A/b.

Faktory ovplyvňujúce predpísanie gastroprotektívnej liečby u hospitalizovaných starších pacientov užívajúcich antiagregačnú terapiu**Factors influencing gastroprotective medication prescribing in hospitalized elderly antiplatelet users**

Veronika Slezáková¹, Zoltán Varga¹, Ján Murín², Jana Schweigertová³, Stanislava Janková³, Táňa Foltánová³, Martin Wawruch¹

¹Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LF UK, ²I. interná klinika LF UK, ³Katedra farmakológie a toxikológie FaF UK (veronika.slezakova@fmed.uniba.sk; slezakowaw@gmail.com)

Úvod a cieľ: Vyšší vek je spojený s prítomnosťou kardiovaskulárnych ochorení a s často doživotnou potrebou podávania antiagregačnej liečby. Vysoký vek je však zároveň jedným z hlavných rizikových faktorov pre GI krvácanie. Z týchto dôvodov môže chýbanie gastroprotektívnej terapie u starších pacientov so zvýšeným rizikom gastrointestinálneho (GI) krvácania zvyšovať pravdepodobnosť GI komplikácií. V našej práci sme sa zamerali na hodnotenie faktorov, ktoré ovplyvňujú preskripciu gastroprotektívnej terapie v prevencii GI komplikácií u starších pacientov užívajúcich antiagregačnú liečbu.

Metodika: Základnú databázu pre naše analýzy tvorili hospitalizovaní pacienti na 3 interných oddeleniach vo veku ≥ 65 rokov. Do našej štúdie sme zaradili 428 pacientov, ktorí mali predpísanú kyselinu nízkodávkovú acetylsalicylovú a/alebo klopidogrel pri prijatí a zároveň pri prepustení z nemocnice. U týchto pacientov sme hodnotili prítomnosť rizikových faktorov pre GI krvácanie. Pomocou univariantnej analýzy (McNemarov test a χ^2 test) a metódou binárnej logistickej regresie sme hodnotili vplyv jednotlivých rizikových faktorov pre GI krvácanie na preskripciu gastroprotektívnej liečby pri prijatí a pri prepustení z nemocnice.

Výsledky: U pacientov s vysokým rizikom GI krvácania (2 a viac rizikových faktorov pre GI krvácanie) sme zistili poddimenzovanú preskripciu gastroprotektívnej liečby. Starší vo veku ≥ 85 rokov (OR=1,5; OR=3,0), pacienti s anamnézou peptického vredu/GI krvácania (OR=5,2; 15,8), pacienti s inými GI ochoreniami (OR=4,9; OR=15,5), podobne ako aj chorí užívajúci systémové kortikosteroidy (OR=125,7; OR=29,0) mali výšiu pravdepodobnosť predpisania gastroprotektívnej liečby pri prijatí aj pri prepustení z nemocnice. Súčasné užívanie NSA bolo spojené s vyššou preskripciou gastroprotektívnej liečby pri prepustení z nemocnice (OR=4,8). Duálna antiagregačná liečba neovplyvňovala predpísanie gastroprotektívnej terapie počas hospitalizácie.

Závery: Nemocniční lekári pri svojom rozhodovaní zohľadňujú väčšinu hlavných rizikových faktorov pre GI krvácanie, ako aj ich kumuláciu. Naše výsledky poukazujú na potrebu zvyšovanie povedomia o GI rizikách duálnej antiagregačnej liečby v rámci kurzov kontinuálnej medicínskej edukácie.

Grantová podpora: Naša štúdia bola podporená grantom VEGA 1/0886/14 a VEGA 1/0939/14.

Účinok vitamínu C a pyridoindolu SMe1EC2 na funkčný stav hipokampu potkana s neurodegeneráciou navodenou trimetylčinom**The effect of vitamin C and pyridoindole SMe1EC2 on the functional state of the rat hippocampus with trimethyltin-induced neurodegeneration**Veronika Stará¹, Jana Navarová¹, Pavol Janega^{2,3}, Natália Sedláčková¹, Mojmír Mach¹, Eduard Ujházy¹, Zdenka Gáspárová¹

¹Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava, ²Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, ³Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava (veronika.stara@savba.sk)

Úvod: V súčasnosti sa intenzívne pracuje na vývoji liečiv efektívnych pri neurodegeneratívnych ochoreniach Alzheimerovho typu. Terajšia dostupná liečba je iba symptomatická, nezastavuje progresívny charakter choroby. V našej štúdii sme zistovali účinok vybraných látok na funkčný stav pamäte a hipokampu u zvierat s neurodegeneráciou navodenou pomocou trimetylčinu (TMT). TMT je toxín ktorý poškodzuje hipokampus prostredníctvom indukcie oxidačného stresu a navodením apoptózy, čo spolu s jeho ďalšími účinkami v konečnom dôsledku spôsobuje zhoršenie priestorovej pamäte. Práve kvôli jeho selektívny účinkom na hipokampus, ktorý sa demonštruje zhoršením pamäte, je využívaným modelom neurodegenerácie Alzheimerovho typu u viacerých výskumných skupín.

Metodika: Samcom potkanov kmeňa Wistar sme perorálne podali SMe1EC2 (50g/mg), vitamín C (50 mg/kg) alebo *aqua pro injectione* (kontrolná skupina) 1 hodinu pred jednorazovým podaním TMT (8 mg/kg; *i.p.*), 1 hodinu a 24 hodín po podaní TMT.

Výsledky: Podanie TMT zapríčinilo predpokladané zníženie počtu pyramidálnych buniek v CA1 vrstve hipokampu a zvýšenie hladiny malondialdehydu (MDA) v sére v porovnaní s kontrolnou skupinou. V hipokampe potkanov, ktorým bol okrem TMT podaný aj pyridoindol SMe1EC2 bol zistený významne vyšší počet pyramidálnych buniek pola CA1 v porovnaní s jedincami ovplyvnenými len TMT. SMe1EC2, ako aj vitamín C, znížil hladinu MDA v sére, kym stratu pyramidálnych buniek zapríčinených podaním TMT vitamín C nezvrátil. Testovanie potkanov vo vodnom bludisku odhalilo, že látka SMe1EC2 ani vitamín C nedokázali zachovať funkčný stav hipokampu, čoho výsledkom bolo zhoršenie priestorovej pamäte v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Závery: Vitamín C účinkoval na biochemickej úrovni znížením hladiny MDA v sére, ale zlyhal v protekcií pyramidálnych buniek. Napriek tomu, že pyridoindol SMe1EC2 bol efektívny z hľadiska zníženia množstva MDA aj ochrany pyramidálnych CA1 buniek hipokampu, ani jedna z testovaných látok nedokázala odvrátiť stratu pamäte vyvolanú TMT.

Grantová podpora: VEGA 2/0048/11

Sledování účinku inhibitorů acetylcholinesterasy na muskarinový M₁ receptor
Efficacy testing of acetylcholinesterase inhibitors on muscarinic M₁ receptor

Vendula Šepsová¹, Lucie Drtinová¹, Evženie Nepovimová¹, Jana Žďárová-Karasová², Ondřej Soukup^{2,3}

¹Katedra toxikologie, ²Katedra veřejného zdravotnictví, Fakulta vojenského zdravotnictví, Hradec Králové, Univerzita obrany, Česká republika, ³Centrum biomedicínského výzkumu, Fakultní nemocnice, Hradec Králové, Česká republika (sepsova@pmfhk.cz)

Etiologie vzniku Alzheimerovy choroby (AD) je stále nejasná. Cholinergní hypotéza vzniku tohoto onemocnění je spojena se synaptickou dysfunkcí, především se sníženou aktivitou acetylcholintransferasy, s následným nedostatkem acetylcholinu (ACh) v synapsích a sníženým počtem jak nikotinových (nAChR) tak muskarinových (mAChR) receptorů. Inhibitory acetylcholinesterasy (AChEI) jsou zavedená léčiva AD. Zvyšují koncentraci ACh, který je hlavním agonistou nAChR i mAChR. V paměti a učení hraje hlavní roli M₁ subtyp mAChR.

Cílem této studie bylo zjistit, zda vybrané AChEI, kromě jejich primární funkce, nemohou působit jako agonisté M₁ mAChR a zlepšovat tak cholinergní funkce mozku.

K testování byla využita CHO linie, která stabilně exprimuje M₁ mAChR. Po přidání fluorescenčního čnidla (Fluo-4 AM), agonisty oxotremorinu (EC₈₀= 1x10⁻⁶ M) a dané koncentrace AChEI (10⁻⁸-10⁻³ M) do 96 jamkové destičky byla změřeny hodnoty fluorescence. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí statistického programu GraphPad Prism6.

Bohužel žádný s testovaných AChEI neprokázal agonistický účinek na daný subtyp mAChR. Avšak bylo zjištěno, že koncentrace, které by inhibovaly M₁ receptor jsou mnohem vyšší, než při kterých látky inhibují AChE. Tudíž nelze tyto AChEI vyloučit z dalšího testování.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu Ministerstva obrany České republiky: Dlouhodobý plán organizace 1011 – ZHN.

Tracheobronchiálny kašeľ po mikroinjikovaní kodeínu do laterálneho tegmentálneho pol'a u anestézovaných mačiek.**Tracheobronchial cough after codeine microinjection into the lateral tegmental field in anaesthetized cats**

Michal Šimera, Ivan Poliaček, Marcel Veterník, Nadežda Višňovcová, Peter Macháč, Ján Jakub

Ústav lekárskej biofyziky JLF UK v Martine (simera@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Jadrá retikulárnych neurónov laterálneho tegmentálneho pol'a (LTF) ležia medzi neurónovými populáciami ventrálnej a dorzálnnej respiračnej (VRG, DRG) skupiny v mozgovom kmeni. Aj keď výbojová aktivita neurónov LTF priamo nesúvisí s generovaním respiračného rytmu pokojného dýchania, ich projekcie napr. do VRG a DRG sú nevyhnutné pre kontrolu rôznych foriem dýchania, ako aj pre zachovanie časovania a moduláciu motorického vzoru reflexov.

Materiál a metódy: Účinok kodeínu v FTL na mechanicky indukovaný tracheobronchiálny (TB) kašeľ bol skúmaný na experimentálnom modeli anestézovanej mačky (n=14, 3,15±0,22 kg; pentobarbital i.p. 35 - 40 mg/kg, potom 1-4 mg/kg/hod i.v.). Kodeín (33 mM; rozpustený v umelo pripravenom cerebrospinálnom moku - CSF) bol mikroinjikovaný bilaterálne do LTF (rostrálne od obexu: 2.1-2.4 mm; laterálne: 2.3-2.5 mm a 2.3-2.6 mm pod dorzálny povrch meduly) v objeme 66±6 nl (n=7, obidve mikroinjekcie) a kontrolné mikroinjekcie CSF 93±14 nl (n=7).

Výsledky: Mikroinjekcie kodeínu do FTL nemali signifikantý účinok na počet TB kašľov, avšak kodeín redukoval: amplitúdu integrovanej EMG aktivity DIA na 66±8% (p<0,01; návrat 6-60 min. po mikroinjikovaní 82±6%, p<0,01 oproti kontrole), amplitúdu integrovanej ABD EMG na 40±10% (p<0,01; návrat 92±22%, p<0,01 oproti okamžitým post-mikroinjekčným hodnotám), minimálny inspiračný ezofageálny tlak (ET) z -1,19±0,25 na -0,84±0,15 kPa (p<0,05; návrat -1,21±0,18 kPa; p<0,01 oproti mikroinjekčným hodnotám) a maximálny exspiračný ET z 1,73±0,37 na 0,79±0,28 kPa (p<0,01; návrat 1,20±0,37 kPa; p<0,05 oproti kontrole). Nezaznamenali sme signifikantné zmeny v hodnotených časových parametroch kašľa, rovnako kodeín v FTL významne neovplyvnil frekvenciu srdca, počet dychov a stredný artériový tlak krvi.

Závery: Naše nálezy ukázali: selektívny inhibičný efekt kodeínu v jadrách FTL na kašľové inspiračné a exspiračné úsilie, čo naznačuje špecifickú úlohu neurónov v FTL pri generovaní kašľovej odpovede. Nezaznamenali sme zmeny v časových parametroch kašľa čo naznačuje, že vplyv štruktúr FTL na generátor dychu a/alebo centrálny generátor vzoru je limitovaný.

Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov APVV-0189-11 a VEGA 1/0126/12.

Farmakokinetické parametry fenobarbitalu u novorozenců s mírným stupněm hypoxicko-ischemické encefalopatie
Pharmacokinetic parameters of phenobarbital in neonates with mild hypoxic-ischemic encephalopathy

Martin Šíma¹, Pavla Pokorná^{1,2}, Ondřej Slanař¹

¹Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN, Praha, ²Klinika dětského a dorostového lékařství VFN a 1. LF, Praha (sima.mart@seznam.cz)

Úvod: Farmakokinetické parametry léčiv se u specifických skupin pacientů mohou významně lišit od populačních hodnot. Cílem této studie bylo stanovit farmakokinetické parametry (Vd, T1/2) fenobarbitalu u donošených novorozenců s hypoxicko-ischemickou encefalopatií.

Metodika: Ve skupině donošených novorozenců s mírným stupněm hypoxicko-ischemické encefalopatie léčených fenobarbitalem bez indikace k celotělové hypotermii jsme simulovali průběh hladin pomocí programu MW Pharm 3.0. Individuální farmakokinetické parametry vycházející z koncentrací fenobarbitalu během léčby jsme počítali v případě, že farmakokinetický model dobře predikoval skutečně naměřené hladiny léčiva.

Výsledky: Do studie jsme zařadili 14 novorozenců (6 chlapců / 8 dívek; gestační týden 37 – 41; hmotnost 2,58 – 4,00 kg; sérový kreatinin 31 – 200 µmol/l). Průměrná hodnota Vd byla $0,4948 \pm 0,18$ l/kg (rozmezí 0,2207 – 0,9089 l/kg), průměrná hodnota T1/2 byla $92,37 \pm 46,32$ hod (rozmezí 30,39 – 231,00 hod), průměrná hodnota clearance byla $0,0040 \pm 0,00119$ l/hod/kg (rozmezí 0,0018 – 0,0068 l/hod/kg). Rozdíly ve farmakokinetických parametrech v našem souboru byly mezi jednotlivci výrazně větší, než je pro fenobarbital popisováno (variační koeficient byl pro Vd 26,38 %, pro T1/2 50,15 % a pro clearance 29,75 %).

Závěr: Pozorovali jsme vysokou inter-individuální variabilitu farmakokinetiky fenobarbitalu, což ukazuje na nutnost rutinního TDM v této skupině pacientů.

Bezpečnosť a účinnosť liečby atomoxetínom u detských a adolescentných pacientov s ADHD a pridruženými poruchami**Safety and efficacy of atomoxetine as a treatment of ADHD and associated disorders in child and adolescent patients**Eva Šnircová^{1,2}, Igor Ondrejka², Igor Hrtánek^{1,2}, Tomáš Kulhan^{1,2}, Gabriela Nosál'ová¹

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzity Komenského v Bratislave, Martin, Slovenská republika, ²Psychiatrická klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzity Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin, Slovenská republika (snircova@jfmed.uniba.sk)

Úvod a cieľ: Atomoxetín, selektívny inhibítorm spätného vychytávania noradrenálínu, patrí na Slovensku k najdlhšie a najviac využívanej špecifickej terapii Attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD). ADHD je najčastejšie diagnostikovanou a liečenou neurobehaviorálnou poruchou detského a adolescentného veku. Klinická prax navyše opakovane potvrzuje jej pravdepodobne nenáhodný súčasný výskyt s d'alšími psychopatologickými prejavmi. Vzhľadom k noradrenergickému pôsobeniu atomoxetínu sa uvažuje o jeho možnom terapeutickom efekte pridružených porúch pri ADHD. Cieľom našej práce bolo sledovať efektivitu atomoxetínu na základnú symptomatiku ADHD, a na pridružené symptómy. Ďalej sme hodnotili zlepšenie celkového klinického stavu pacientov, výskyt možných nežiaducích účinkov, tlak krvi, frekvenciu srdca a QTc interval pred a po liečbe atomoxetínom.

Metodika: Sledovaný súbor tvorilo 38 detských a adolescentných pacientov, z toho 28 chlapcov a 10 dievčat. Išlo o pacientov s diagnózou ADHD vo veku 6-18 rokov, ktorí boli hospitalizovaní na Detskom oddelení Psychiatrickej klinike UNM Martin, alebo ambulantne vedení. Podmienkou pre zaradenie do súboru bola prítomnosť ADHD na liečbe atomoxetínom. Prítomnosť prejavov ADHD a pridružených porúch sme hodnotili klinickým vyšetrením a použitím škál ADHD-RS a CPQ, celkový klinický stav škálou CGI. Jednotlivé symptómy sme sledovali pred začiatkom liečby a potom každé 2 týždne po dobu 8 týždňov. Pred a po liečbe sme hodnotili tlak krvi, frekvenciu srdca a QTc interval u pacientov. V sledovanom období sme zaznamenávali výskyt nežiaducich účinkov liečby pomocou zostavenej škály nežiaducich účinkov. Výsledky boli štatisticky spracované.

Výsledky a závery: Atomoxetín bol účinný v liečbe ADHD. V sledovanom súbore pacientov sme pozorovali prítomnosť symptomov porúch správania, úzkosti a psychosomatické problémy, pričom na liečbe sme pozorovali redukciu týchto prejavov. Celkový klinický stav pacientov sa signifikantne zlepšil. K najčastejším nežiaducim účinkom liečby bola denná ospanenosť, bolesti brucha a pocity smútka. Liečba atomoxetínom neviedla k signifikantným zmenám tlaku krvi, frekvencie srdca ani dĺžke intervalu QTc, u jedného pacienta sa manifestovalo klinicky významné zvýšenie systolického i diastolického tlaku krvi a frekvencie srdca.

Podakovanie: Táto práca bola podporená grantom VEGA 1/0087/14 a Grantom UK 127/2013.

Nový karboxymetyl-merkapto-triazino-indolový inhibítorm aldózareduktázy v prevencii diabetických komplikácií: predklinické štúdium *in vitro*

Marta Šoltésová Prnová, Ivana Miláčková, Michal Staško, Magdaléna Májeková, Milan Štefek

Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava (marta.prnova@savba.sk)

Úvod a cele: Na vzniku diabetických komplikácií sa významne podiela metabolická premena nadbytočnej glukózy polyolovou dráhou. Prvým enzýmom polyolovej dráhy je aldózareduktáza (ALR2), ktorá利用uje glukózu na sorbitol. Na základe našej predchádzajúcej práce [1], kde sme zaznamenali signifikantný inhibičný účinok kyseliny 1-indoloctovej na ALR2, sme testovali ďalšie komerčne dostupné látky na báze 1-indoloctovej kyseliny ako inhibítory aldóza reduktázy. Naša databáza pozostáva z 19 zlúčenín, z ktorých 15 je na báze kyseliny 1-indoloctovej.

Metodika: Enzým ALR2 bol izolovaný z očných šošoviek a enzým aldehydreduktáza (ALR1) z obličiek potkanov. Inhibičné aktivity boli stanovené na základe poklesu absorbancie NADPH. Potkanie šošovky a erytrocyty boli izolované z 8-9 týždňových samcov potkanov kmeňa Wistar vážiacich 200-300g. Distribučný pomer D v systéme 1-oktanol/pufor bol stanovený pomerom koncentrácie v organickej a vodnej fáze.

Výsledky: Z databázy študovaných látok sa ukázala ako najúčinnejší inhibítorm ALR2 zlúčenina 5-karboxy-3-merkapto-1,2,4-triazino-[5,6-b]indol (látka **13**) s hodnotou IC(50) v submikromolárnej oblasti. Analýza enzýmovej kinetiky najúčinnejšieho derivátu **13** preukázala akompetitívny typ inhibície. Pomocou metód molekulového modelovania „docking“ boli identifikované klúčové interakcie so špecifickými aminokyselinovými zvyškami väzobného miesta ALR2. Selektivita inhibície je pre študovaný derivát **13** charakterizovaná hodnotou faktora selektivity ~ 400 vo vzťahu k príbuznej ALR1. Na orgánovej úrovni v systéme izolovaných očných šošoviek a RBC potkana inkubovaných za prítomnosti glukózy hodnotená látka **13** signifikantne prenikala do cytozolu kde znižovala hladinu sorbitolu. V systéme vodnej fáza/oktanol pri pH 7,4 bola zaznamenaná hodnota distribučného pomeru D ~ 0,012.

Závery: Derivát **13** je účinný a selektívny inhibítorm ALR2 s priaznivými parametrami molekulovej obezity vyhovujúcimi Lipinského kritériám, čo z látky **13** robí perspektívne farmakum využitelné v prevencii diabetických komplikácií.

[1] Juskova M, Majekova M, Demopoulos V, Stefek M. Substituted derivatives of indole acetic acid as aldose reductase inhibitors with antioxidant activity: structure-activity relationship. Gen Physiol Biophys. 2011 Dec;30(4):342-9.

Grantová podpora: VEGA 2/0067/11

Vplyv daunorubicínu na expresiu potenciálnych faktorov zúčastňujúcich sa v migrácii a uchytení kmeňových buniek v srdci potkana s navodenou akútou a subchronickou kardiomyopatiou**Impact of daunorubicin on the expression of potential factors participating in the migration and homing of stem cells in the rat heart with acute and subchronic cardiomyopathy**

Jasna Šranková, Lenka Piváčková, Gabriel Dóka, Lucia Mésarošová, Ján Kyselovič, Ján Klimas, Peter Křenek

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzity Komenského Bratislava, Slovenská republika (srankova@fpharm.uniba.sk)

Úvod a cieľ: Rastové faktory, faktor kmeňových buniek (SCF) a jeho receptor c-kit sa môžu podieľať na regenerácii poškodeného srdca ovplyvnením migrácie a uchytenia kmeňových buniek. Naším cieľom bolo sledovať expresiu týchto faktorov, ako aj markerov kmeňových buniek v modeloch akútej a subchronickej daunorubicínovej kardiomyopatie.

Metodika: Akútna kardiomyopatia bola vyvolaná i.p. podaním daunorubicínu (DAU, 6 x 3 mg/kg každých 48h) samcom potkana kmeňa Wistar. Subchronická kardiomyopatia bola navodená jednorázovou i.v. injekciou DAU (15mg/kg). Hemodynamické parametre boli zmerané pomocou l'avokomorovej kateterizácie. Zvieratá boli utratené po 2. týždňoch (akútna kardiomyopatia) a 8. týždňoch (subchronická kardiomyopatia) od podania prvej dávky DAU. Vo vzorkách l'avej komory srdca sme stanovili expresiu ANP, SCF, rastových faktorov (VEGF, HGF a IGF-1), markerov mezenchymálnych kmeňových buniek (CD44 a CD105), srdcových (c-kit a MDR1) a endotelových progenitorových buniek (CD34 a CD133) na úrovni mRNA prostredníctvom qRT-PCR.

Výsledky: Aplikácia DAU viedla k zníženiu telesnej hmotnosti, absolutnej hmotnosti srdca a dysfunkcii l'avej komory srdca. Expresia ANP, markera srdcového poškodenia, bola v oboch modeloch zvýšená. V modeli akútej kardiomyopatie sme zaznamenali signifikantné zníženie CD34 a zvýšenie CD105 a Mdr1, zatiaľ čo expresia ostatných markerov kmeňových buniek, SCF a rastových faktorov nebola zmenená. V subchronickom modeli bola zaznamenaná downregulácia SCF a markerov kmeňových buniek s výnimkou nezmenenej expresie CD44 a upregulácie expresie Mdr1. Z rastových faktorov bolo zaznamenané výrazné zníženie VEGF v DAU skupine.

Záver: Downregulácia VEGF, SCF a jeho receptora c-kit vplyvom DAU môže viesť k zníženiu migrácie kmeňových buniek do srdca potkana so subchronickou kardiomyopatiou. Znížená expresia markerov kmeňových buniek a downregulácia VEGF môžu byť indikátormi defektnej angiogenézy a uchytenia kmeňových buniek, a tým aj zníženej regeneračnej schopnosti srdca. V modeli akútej kardiomyopatie, napriek l'avokomorovej dysfunkcii neboli zaznamenané výrazné vplyvy DAU na expresiu potenciálnych faktorov ovplyvňujúcich regeneráciu srdca za účasti kmeňových buniek.

Podakovanie: Táto práca bola podporená grantmi VEGA 1/0981/12, APVV-0887-11.

Manažment dieťaťa s obštrukčným spánkovým apnoe
Management of the child with obstructive sleep apnea

Anna Šujanská, Peter Ďurdík, Peter Bánovčin

Klinika detí a dorastu, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine (anna.sujanska@gmail.com)

V poslednom desaťročí možno syndróm obštrukčného spánkového apnoe v detskej populácii považovať za pomerne časte ochorenie so závažnými klinickými dôsledkami. Ako klinické a experimentálne štúdie dokazujú, oneskorená, podcenená diagnostika a liečba tohto syndrómu u detského pacienta môže viest' k poruchám správania, pozornosti, rastovej retardáciu a k zvýšenému riziku vzniku kardiovaskulárnych, metabolických, neurologických a endokrinných porúch nielen v dospelosti. Vzhľadom k závažnosti neliečených spánkových porúch dýchania v detskej populácii má byť dotaz na klasické denné i nočné príznaky už súčasťou pravidelných prehliadok a skríningu u obvodného pediatra u každého dieťaťa. Rodičia detských pacientov sa najčastejšie stážajú na hlasné, hlučné chrápanie, stážené dýchanie počas spánku, zvýšené respiračné úsilie až prítomnosť apnoických páuz počas spánku. Variácia klinických príznakov v rôznych vekových skupinách, pestrá klinická prezentácia a tăžkosti s diagnostikovaním len na základe individuálnych príznakov v detskej populácii môžu byť príčinou problémovej diagnostiky. V prípade klinického podezrenia na syndróm obštrukčného spánkového apnoe by malo každé dieťa podstúpiť komplexné vyšetrenie na vylúčenie, alebo potvrdenie spánkovej poruchy dýchania v špeciálnych spánkových centrach. Základné diagnostické postupy následne zahŕňajú kompletnú anamnézu zameranú na spánok, objektívne fyzikálne vyšetrenie, dotazníkové metódy a ďalšie odborné vyšetrenia (otorinolaryngologické, ortodontické, imunoalergologické vyšetrenia a iné). Štandardné celonočné polysomnografické vyšetrenie v spánkovom laboratóriu sa v súčasnosti považuje za zlatý štandard v diagnostike porúch spánku a bdenia v pediatrickej populácii. Podľa najnovších svetových odporúčaní zatiaľ ako jediné objektívne vyšetrenie dokáže potvrdiť, alebo vylúčiť prítomnosť závažnej spánkovej poruchy dýchania.

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0262/14 a projektom Dobudovanie centra experimentálnej a klinickej respirológie (CEKR II) (ITMS: 26220120034), ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EU.

Použitie ventilátora „Aura V“ v experimentálnych modeloch respiračného zlyhávania novorodencov**Use of ventilator „Aura V“ in experimental models of respiratory failure in neonates**

Lucia Tomčíková¹, Daniela Mokrá¹, Hana Píštěková¹, Petra Košútová¹, Mária Petrášková¹, Kamil Javorka¹, M. Jurček², P. Ištoňa², Andrea Čalkovská¹

¹Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin, ²Chirana, s.r.o., Stará Turá (lucia.mikusiakova@gmail.com)

Úvod a ciele: Základom liečby respiračného zlyhávania u novorodencov je ventilačná podpora. Nakol'ko v súčasnosti neexistujú jednoznačné odporúčania pre nastavenia jednotlivých ventilačných parametrov na rôznych typoch ventilátorov, cielom našej pilotnej štúdie bolo overiť, či ventilátor „Aura V“, ktorý je novinkou v liečbe respiračného zlyhávania u dospelých pacientov, môže byť s určitými modifikáciami použiteľný aj v experimentálnych modeloch respiračného zlyhávania novorodencov - akútneho syndrómu respiračnej tiesne (ARDS) a syndrómu aspirácie mekónia (MAS).

Metodika: V štúdii sme použili 11 dospelých králikov (novozélandský biely). U 5 zvierat sme vytvorili model ARDS, a to opakovanými lavážami plúc fyziologickým roztokom (30 ml/kg), kým PaO₂ neklesol pod 26.7 kPa pri FiO₂=1. U 6 zvierat sme vytvorili model MAS, a to intratracheálnym podaním mekónia (4 ml/kg, 25 mg/ml). Po vytvorení príslušného modelu respiračného zlyhávania boli zvieratá ventilované pomocou pressure-support ventilation počas nasledujúcich 4 hodín. Ventilačné parametre, krvné plyny, parametre acidobázickej rovnováhy, end-tidal CO₂, saturácia hemoglobínu kyslíkom, oxygeneračné indexy, index účinnosti ventilácie a pravo-ľavé plúcne skraty boli hodnotené v pravidelných intervaloch.

Výsledky: V oboch experimentálnych skupinách došlo ku zabezpečeniu uspokojuivej výmeny krvných plynov počas celého priebehu experimentu.

Závery: Výsledky našej pilotnej štúdie naznačujú, že ventilátor Aura V môže byť použitý na ventilovanie zvierat s experimentálne navodeným respiračným zlyhávaním. Vzhľadom na širokú ponuku ventilačných režimov a množstvo parametrov hodnotených priamo počas ventilácie je možné predpokladať, že použitie tohto prístroja by po dôkladnom testovaní v klinických podmienkach mohlo byť perspektívne aj v liečbe respiračného zlyhávania novorodencov.

Grantová podpora: APVV-0435-11, VEGA 1/0305/14

**Respiračná sínusová arytmia ako psychofiziologický index pri antidepresívnej liečbe
Respiratory sinus arrhythmia as a psychophysiological index in the antidepressive treatment**

Ingrid Tonhajzerová¹, Igor Ondrejka², Ivan Farský^{2,3}, Zuzana Višňovcová¹, Michal Mešťaník¹, Valéria Kerná², Michal Gala⁴, Michal Javorka¹

¹Ústav fyziologie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, ²Psychiatrická klinika, Jesseniova lekárska fakulta UK, Univerzitná nemocnica Martin, Martin, ³Ústav ošetrovateľstva, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, ⁴Katedra teoretickej elektrotechniky a biomedicínskeho inžinierstva, Elektrotechnická fakulta, Žilinská Univerzita, Žilina (tonhajzerova@jfmed.uniba.sk)

Úvod: Respiračná sínusová arytmia (RSA), t.j. oscilácie frekvencie srdca v súvislosti s dýchaním, predstavuje v kontexte polyvagovej teórie komplexný psychofiziologický marker centrálno-periférnych vzťahov, kde významnú úlohu zohráva n. vagus regulujúci chronotropnú činnosť srdca. Táto nepretržitá kontrola zmien frekvencie srdca (variabilita frekvencie srdca) vagovým systémom je zároveň v spojitosti s kontrolou pozornosti, emócií a správania, a preto RSA je vyjadrením nielen vagovej regulácie činnosti srdca, ale aj emočnej regulácie/dysregulácie. **Cieľom** tejto práce bolo zistiť zmeny RSA vplyvom antidepresívnej liečby použitím hodnotenia variability frekvencie srdca (VFS) v skupine dospelých depresívnych pacientov.

Metodika: Celkovo bolo vyšetrených 25 pacientov s depresívnu poruchou pred začatím terapie (T1) a po klinickom zlepšení stavu (T2, 3-6 týždňov). EKG signál bol kontinuálne snímaný počas ľahu a ortostázy. RSA bola hodnotená použitím indexov lineárnej analýzy VFS (rMSSD, spektrálny výkon v oblasti vysokej frekvencie – HF-VFS) a indexu nelineárnej analýzy VFS - symbolickej dynamiky 2LV%.

Výsledky: Kým v ľahu neboli pozorované žiadne signifikantné zmeny, počas ortostázy boli zistené signifikantne nižšie parametre lineárnej analýzy (rMSSD, HF-VFS) a signifikantne vyššia reaktivita daných parametrov v období T2 v porovnaní s T1 ($p<0.05$). Index 2LV% nevykazoval signifikantné zmeny.

Záver: Práca odhalila pokles veľkosti respiračnej sínusovej arytmie a výraznejšiu vagovú reaktivitu v odpovedi na fyziologický stres (ortostáza), čo môže poukazovať na diskrétnu abnormalitu vo vagovej regulácii chronotropnej činnosti srdca, ako aj na možné zlepšenie emočnej dysregulácie vplyvom liečby pri dospelej depresii. Predpokladáme, že tieto poznatky môžu prispieť ku poznaniu efektu antidepresívnej liečby na interakciu alostatických regulačných mechanizmov dôležitých pre adaptabilitu a flexibilitu organizmu.

Podpora: VEGA 1/0087/14, BioMed (26220220187).

Interakce entecaviru s vybranými ledvinnými transportními systémy
Interactions of entecavir with selected renal transport systems

František Trejtnar, Jana Mandíková, Marie Volková, Petr Pávek

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie, Hradec Králové, ČR (trejtnarf@faf.cuni.cz)

Úvod a cíle: Entecavir je pokládán za jedno z nejúčinnějších antivirotik pro léčbu chronické hepatitidy B. Jeho exkrece probíhá převážně ledvinami. Transportéry ze skupiny SLC transportérů, které jsou lokalizovány v membránách buněk ledvinných proximálních tubulů, mohou být potenciálním místem interakcí tohoto léčiva. Cílem této studie bylo zkoumání affinity entecaviru k influxním SLC transportérům, které jsou typicky přítomny v ledvinách a mohou být odpovědné za transport tohoto léčiva. Jednalo se o transportéry pro organické kyseliny hOAT1 a hOAT3, transportér pro organické kationty hOCT2 a nukleosidové transportéry hCNT2 a hCNT3. Úkolem bylo též posoudit souvislost transportních mechanismů s cytotoxicitou léčiva a s možnými lékovými interakcemi na transportérech s nejsilnější afinitou k entecaviru.

Metodika: Interakce entecaviru s influxními transportéry byly studovány pomocí inhibičních studií s využitím triciem značených standardních substrátů a antivirotik na linii lidských buněk cervikálního karcinomu (HeLa buňky) přechodně transfekovaných hOAT1 či hOAT3. MDCKII buňky (linie Madin-Darby Canine Kidney II) přechodně transfekované hOCT2, hCNT2 či hCNT3 byly využity stejným způsobem pro studium interakce entecaviru s těmito transportéry.

Výsledky: Dle nalezených hodnot afinitních parametrů (K_i) entecaviru lze seřadit transportéry od nejvyšší afinity k nejnižší v následujícím pořadí: hOAT1 >> hCNT3 > hCNT2 > hOAT3. Na rozdíl od uvedených transportérů jsme nenalezli významnou interakci entecaviru s hOCT2. Entecavir významně ovlivňoval transport adefoviru, tenfovirovi a cidofovirovi zprostředkovaný transportérem hOAT1. Pozorovaná cytotoxicita entecaviru pro ledvinné buňky byla relativně nízká a IC_{50} byla podobná ve všech interakčních experimentech se studovanými antivirotiky.

Závěry: Zjištěné interakce entekaviru s transportéry hOAT1, hOAT3, hCNT2 a hCNT3 mohou mít význam pro exkreci entekaviru v lidských ledvinách a mohly by být podkladem možných lékových interakcí s léčivy transportovanými těmito transportními systémy včetně současně podávaných antivirotik.

Studie byla finančně podpořena grantem IGA MZ ČR č. NT12398-4/2011 a Karlovou Univerzitou v Praze (projekt SVV 260064).

**Význam funkčného vyšetrenia plúc v detskej diabetológií
Importance of lung function tests in pediatric diabetology**

Jarmila Vojtková, Peter Ďurdík, Miriam Čiljaková, Zuzana Michnová, Tomáš Turčan, Peter Bánovčin st.

Klinika detí a dorastu JLF UK a UNM, Centrum experimentálnej a klinickej respirológie JLF UK Martin (jarmilavojtkova@gmail.com)

Diabetes mellitus 1.typu (DM1), ochorenie s celosvetovo stúpajúcou incidenciou, zhoršuje kvalitu života najmä prostredníctvom chronických komplikácií, ktoré môžu postihovať všetky orgánové systémy vrátane respiračného. Pretrvávajúca hyperglykémia vyvoláva množstvo vzájomne interagujúcich patologických procesov – neenzymovú glykáciu proteínov, oxidačný stres, polyolovú cestu, aktiváciu proteínkináz C alebo aktiváciu proinflamačných cytokínov. Tieto procesy vedú k poškodeniu proteínov a iných súčasťí buniek, k zmenám kolagénu, k mikroangiopatii plúcnych kapilár, k autonómnej neuropatii, prípadne k myopatii respiračných svalov. Funkčnými a klinickými dôsledkami môže byť zníženie vitálnej kapacity plúc a plúcnych objemov, zníženie difúznej kapacity plúc, znížený bazálny tonus bronchov, nižšia citlivosť kašľového reflexu, zvýšená incidencia obstrukčného spánkového apnoe, vyššia incidencia respiračných infekcií a poruchy dýchacích svalov alebo frenického nervu. Funkčné vyšetrenie plúc tak prispieva k včasnému odhaleniu už diskrétnych orgánových zmien následkom diabetu. Autori prinášajú prehľad najvýznamnejších vyšetrení dýchacieho systému s prínosom v diagnostike a manažmente detského pacienta s DM1.

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0262/14 a projektom BioMed Martin (ITMS: 26220220187), ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ.

Metabolismus a biologická aktivita galloylesterov kvercetinu a taxifolinu
Metabolism and biological activity of galloyl esters of quercetin and taxifolin

Jiří Vrba¹, Vladimír Křen², Jitka Ulrichová¹

¹Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic, ²Institute of Microbiology, Laboratory of Biotransformation, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic (vrbamby@seznam.cz)

Introduction and objective. The natural flavonoids quercetin and taxifolin (2,3-dihydroquercetin) exert a number of biological activities. The aim of our research was to prepare galloyl esters of these flavonoids, and to examine their biotransformation and ability to activate the cytoprotective transcription factor Nrf2.

Methods. Galloyl esters, namely, 3-O-galloylquercetin, 7-O-galloylquercetin and 7-O-galloyltaxifolin were prepared semisynthetically from rutin, quercetin and taxifolin, respectively. Cytotoxicity of the tested compounds was examined by MTT reduction assay, the biotransformation in human hepatocytes was studied using HPLC/MS technique and the effect on the Nrf2 pathway was investigated in murine macrophage RAW264.7 cells using quantitative real-time-PCR and western blot analyses.

Results. We have developed procedures for specific galloylation of taxifolin and quercetin at 7-OH or 3-OH group. Biotransformation studies showed that galloylated quercetin was mainly glucuronidated or methylated in human hepatocytes. On the other hand, 7-O-galloyltaxifolin was either oxidized to 7-O-galloylquercetin or cleaved to taxifolin, subsequently conjugated with sulfate or glucuronic acid. In RAW264.7 cells, we found that both 7-O-galloyltaxifolin and 7-O-galloylquercetin, but not 3-O-galloylquercetin, induced the expression of heme oxygenase-1 (HO-1) via activation of the Nrf2 signaling pathway. Moreover, 7-O-galloyltaxifolin was found to undergo a rapid oxidation to 7-O-galloylquercetin in RAW264.7 cells. Since the cell exposure to either compound induced the expression of HO-1 essentially through the same mechanism, we conclude that 7-O-galloylquercetin is responsible for the activation of the Nrf2/HO-1 pathway in RAW264.7 cells.

Conclusions. Quercetin and taxifolin galloyl esters of high purity were prepared and their metabolic profiles in human hepatocytes were characterized. 7-O-Galloylquercetin was identified as a novel activator of the Nrf2 pathway.

Financial support. Czech Science Foundation (grant No. P301/11/0767).

Choleretický účinek boldinu
Choleretic effect of boldine

Marie Zagórová¹, Zuzana Kadová^{1,4}, Miloš Hroch^{1,2}, Jolana Cermanová¹, Jitka Hájková¹, Pavel Tomšík², Zdeňka Kudláčková⁵, Martina Čečková⁴, František Štaud⁴, Peter Nachtigal⁵, Petr Pávek⁴, Jaroslav Mokrý³, Stanislav Mičuda¹

¹Ústav farmakologie, ²Ústav lékařské biochemie, ³Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta UK, Hradec Králové, Česká republika; ⁴Katedra farmakologie a toxikologie, ⁵Katedra biologických a lékařských věd, Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, Česká republika (micuda@lfhk.cuni.cz)

Boldin, hlavní alkaloid boldvníku vonného (*Peumus boldus*), je dlouhodobě popisován jako látka schopná zvýšit tvorbu žluče, nicméně mechanizmus tohoto účinku není prozatím znám. Cílem studie bylo proto zhodnotit podstatu choleretického vlivu boldinu u potkanů. Sledován byl jak bezprostřední účinek látky po její jednorázové aplikaci formou dvouhodinové nitrožilní infuze, tak i dlouhodobý efekt perorálního podávání po dobu 28 dnů. Kontinuální nitrožilní přívod boldinu vedl k okamžitému zvýšení tvorby žluče o 40 %, které bylo stabilní po celou dobu aplikace. Tento účinek nebyl spojen s paralelním zvýšením biliární exkrece žlučových kyselin nebo glutathionu, tj. hlavních osmoticky aktivních látek představujících základní fyziologické, na žlučových kyselinách závislé a nezávislé, mechanizmy tvorby žluče, což poukázalo na možný přímý osmotický vliv boldinu. Tento mechanizmus se podařilo potvrdit v následné studii s nitrožilním podáním boldinu formou bolusu, kdy změny tvorby žluče těsně korelovaly s koncentrací této látky ve žluči. Nejnížší koncentrace boldinu, která ještě byla schopna navodit signifikantní vzestup tvorby žluče, byla 10 µM. Boldin rovněž indukoval vzestup tvorby žluče po dlouhodobém perorálním podávání, a to 24 hodin po poslední aplikaci, kdy jeho koncentrace v plazmě nebo žluči již nebyly měřitelné. Zprostředkujícím mechanizmem bylo zvýšení jaterní exprese Bsep, hlavního apikálního transportéru určujícího rychlosť biliární exkrece žlučových kyselin. Efekt byl navozen schopností boldinu stimulovat hlavní transkripční regulátor Bsep, Farsenoidní X receptor, což bylo potvrzeno gene-reportérovou metodou. Závěrem lze konstatovat, že výsledky práce poprvé přibližují podmínky a mechanizmy choleretického účinku boldinu.

Vznik práce byl podpořen granty IGA NT/13473-3/2012, SVV-2013-266901 a Prvouk P37/05.

**Perspektivní farmakologické vlastnosti pyrimidinových derivátů
Prospective pharmacological properties of pyrimidine derivatives**

Zdeněk Zídek¹, Eva Kmoníčková^{1,2}, Miloslav Kverka^{1,3}, Zlatko Janeba⁴, Viktor Kolman⁴, Petr Jansa⁴

¹Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences, Praha, Czech Republic, ²Institute of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic, ³Institute of Microbiology, Academy of Sciences, Praha, Czech Republic, ⁴Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences, Praha, Czech Republic (zidekz@biomed.cas.cz)

Introduction and aims. We have synthesized a series of polysubstituted analogues of 2,4-diamino-6-hydroxypyrimidine differing at the positions C-2, C-4, C-5 and C-6 of the pyrimidine ring. Their immunobiological properties were screened under the *in vitro* conditions in mouse and rat resident peritoneal cell, using the nitric oxide (NO), prostaglandin E₂ (PGE₂), and cytokine tumour necrosis factor-α (TNF-α) assays.

Methods. The high output NO production was activated by interferon-γ (5 ng/mL) in combination with lipopolysaccharide (LPS; 0.1 ng/mL). Concentration of nitrite in supernatants was determined by Griess reagent at the interval of 24 h of culture. PGE₂ and TNF-α were induced by LPS (10 ng/mL and 5 µg/mL, respectively) and determined by ELISA after 16 h of culture.

Results and conclusions. A number of compounds proved to be remarkable inhibitors of NO formation. The production of PGE₂ and TNF-α was significantly, though less effectively suppressed either. The compounds were devoid of cytotoxicity. The effects were tightly dependent on the structure, the major determinant of the inhibitory mode of action being the 4,6-dichloropyrimidine scaffold. The function of substituents at the position C-5 was of minor importance. While the 2-amino-4,6-dichloropyrimidines decreased the NO production by approximately 50%, the 4,6-dichloro-2-[(*N,N*-dimethylamino)methylene-amino]pyrimidines and 4,6-dichloro-2-formamidopyrimidines did nearly completely abrogate the NO production. The NO-inhibitory IC₅₀s of most of them were ≤ 5 µM. On the other hand, the 2-amino-4,6-dihydroxypyrimidines showed no inhibitory potential. Selected pyrimidine derivatives also exhibited prospective pharmacological activity under the conditions *in vivo*. They substantially attenuated the severity of model inflammatory diseases such as ulcerative colitis in mice and adjuvant arthritis in rats.

Acknowledgements. The research was supported by the grant TE01020028 from the Technology Agency of the Czech Republic.

Register priezvisk autorov:

A

Adamcová, 36, 54
Adamkov, 8
Alušk, 73, 74
Antošová, 4, 5
Anzenbacher, 81

B

Babušíková, 35
Bačkayová, 6, 55
Baďo, 7
Bálešová, 8, 46
Balleková, 9
Bánovčin, 24, 27, 35, 37, 59, 97, 101
Bartošík, 10
Bartošíková, 10
Benčová, 4
Blechová, 11
Bludovská, 12
Borchová, 13
Bošel'ová, 47
Broggini, 34
Brozmanová, 14
Buday, 15, 30
Budovská, 34, 78

C

Cábelová, 71
Cermanová, 103
Csollei, 47

Č

Čačíková, 18
Čalkovská, 8, 42, 44, 46, 63, 65, 79, 98
Čečková, 16, 83, 103
Čerňanská, 69
Červený, 72, 83
Číhalová, 16
Čiljaková, 101
Čoma, 17
Čorejová, 13

D

Damia, 23
Dedíková, 18
Dingová, 19
Dobiáš, 77
Dóka, 21, 80, 85, 96
Doležal, 71
Drábiková, 56, 76
Drašar, 41
Drgová, 79

Drtinová, 22, 91
Drutovič, 23, 34, 64, 78
Ďurdík, 24, 37, 59, 97, 101

E

Eichlerová, 61

F

Farár, 49
Farský, 99
Fischmeister, 49
Foltánová, 60, 84, 89
Fráňa, 10
Fraňová, 25, 37, 38, 75
Frydrych, 7
Fulmeková, 26, 67

G

Gábrišová, 27
Gala, 99
Galková, 28, 57, 80, 85
Gáspárová, 90
Gavliaková, 15, 29, 30
Gažová, 6, 55, 69
Geršl, 36, 54

H

Hájková, 103
Hajtman, 31
Halička, 14, 30
Hanusková-Kováčová, 15, 30
Hanzel, 31
Hanzelová, 14
Hargaš, 37, 59
Haršány, 69
Havlíčeková, 27
Havlínová, 32
Herting, 42
Horníková, 60
Hrabinová, 48
Hrabovská, 13, 19, 49
Hrianka, 37
Hroch, 32, 36, 103
Hrtánek, 33, 50, 94

C

Chládek, 32, 54
Chripková, 23, 34, 64
Chrípková, 78

I

Ištoňa, 98

J

Jakuš, 92
Jampílek, 40
Jančinová, 56, 76
Janeba, 104
Janega, 90
Janková, 18, 47, 84, 89
Jansa, 104
Jansová, 54
Javorka, 58, 98, 99
Jesenák, 35
Jirkovská, 36, 54
Jirkovský, 36, 54
Jošková, 25, 37, 38, 59, 75
Juhás, 68
Jun, 48
Jurášek, 41
Jurček, 98
Jurko, 62

K

Kadová, 103
Kazdová, 81
Kazimierová, 25, 38, 75
Kello, 23, 34, 39
Keltosová, 40
Kerná, 99
Klčo, 58
Klimas, 21, 28, 57, 80, 85, 96
Kmecová, 21
Kmoníčková, 41, 104
Kocan, 4
Kollár, 40
Kollárik, 14
Kolman, 104
Kolmanová, 7
Kolomazník, 42, 44
Koniar, 37
Kopecký, 43
Kopincová, 44, 63
Koprlová, 45, 86
Korábečný, 22, 71
Kornhauserová, 14
Košútová, 4, 5, 8, 46, 65, 67, 98
Kotyzová, 12
Kováčová, 13
Krajčiová, 45
Král'ová, 21, 28, 47
Krejci, 19
Kristová, 53, 77
Kriška, 53
Křen, 102
Křenek, 21, 28, 57, 80, 85, 96
Křížková, 12
Kubšková, 12

Kuča, 22, 48, 51, 71

Kučera, 49
Kudláčková, 103
Kulhan, 33, 50, 94
Kuneš, 48, 51
Kuniaková, 6, 55
Kurtanský, 77
Kverka, 104
Květina, 51
Kyselovič, 6, 13, 52, 55, 69, 96

L

Lacko, 84
Lainczová, 60
Laššánová, 53
Lenčová, 36, 54
Lešková, 6, 55
Líšková, 77
Lucová, 56, 76
Lupi, 23

M

Macešková, 11
Mach, 45, 86, 90
Macháč, 92
Májeková, 9, 95
Malík, 47
Malíková, 28, 57, 80, 85
Malínská, 81
Mandlíková, 70, 100
Mařkošová, 9
Markéta Dlouhá, 20
Martinek, 30, 58
Marušiaková, 59
Mašlonková, 60
Mateo, 49
Matuška, 20
Matušková, 81
Mazurová, 54
Mazúrová, 14
Medved'ová, 5, 26, 61, 67
Menšíková, 80
Mesárošová, 85
Mésarošová, 96
Mešťaník, 62, 99
Mičuda, 103
Michnová, 101
Mikler, 27
Míkolka, 4, 5, 44, 46, 63, 65, 67
Miláčková, 95
Mirossay, 34, 64
Mlynárová, 6, 55
Mojžiš, 23, 34, 39, 64, 78
Mokrá, 4, 5, 8, 44, 46, 61, 63, 65, 67, 79, 98
Mokrý, 2, 5, 26, 61, 66, 67, 82, 103
Müller Závalová, 68
Murín, 89
Musil, 6, 55, 69
Musílek, 48, 71
Mysliveček, 49

N

Nachtigal, 103
Navarová, 80, 90
Navrátilová, 70
Nečas, 10
Nepovimová, 22, 71, 91
Neumanová, 72
Neuschlová, 31
Nicolaou, 9
Nosál, 56, 76
Nosál'ová, 33, 50, 87, 94

O

Ochodnická-Mackovičová, 21
Ochodnický, 21
Oliyarnik, 81
Ondrejka, 33, 50, 94, 99

P

Paluch, 73, 74, 88
Papastavrou, 9
Pappová, 25, 37, 38, 75
Pávek, 100, 103
Pavlík, 10, 48, 51
Pažoureková, 56, 76
Péčová, 31
Perečko, 56
Perjési, 23
Petrášková, 98
Petrová, 77
Pilátová, 23, 34, 78
Pillár, 13
Píštěková, 8, 46, 65, 79, 98
Piváčková, 80, 96
Plevková, 15, 29, 30
Pohanka, 22
Pokorná, 93
Poliaček, 29, 92
Poruba, 81
Porvazník, 82
Potůčková, 36
Pršo, 61

R

Račanská, 20
Raja, 87
Ray, 87
Repčáková, 79
Richter, 73
Rimpelová, 41
Rozborilová, 4
Rubintová, 84
Ruml, 41
Rupp, 28, 57, 85
Russel, 16

Ř

Řezníček, 83
Říha, 85

S

Sedláčková, 45, 86, 90
Sedlářová, 47
Schweigertová, 89
Sivová, 87
Slanař, 73, 74, 88, 93
Slezáková, 89
Solovič, 82
Soňa Fraňová, 2
Sotníková, 80
Soukup, 48, 91
Stankovičová, 21, 47
Stará, 90, 98
Staško, 95
Stichtenoth, 42
Strapková, 5
Svoboda, 43
Szépeová, 27

Š

Šarišský, 17, 23, 78
Šenkeřík, 32
Šepsová, 22, 48, 91
Šíma, 93
Šimeková, 26
Šimera, 92
Šimůnek, 36, 54
Šnircová, 33, 50, 94
Šoltésová Prnová, 95
Špilovská, 22
Šranková, 28, 80, 85, 96
Štaud, 16, 72, 83, 103
Štefek, 9, 95
Štěrba, 36, 54
Šujanská, 97
Šutovská, 25, 37, 38, 75

T

Tatár, 14, 58
Tengler, 7
Tichotová, 54
Tisoňová, 53
Tomčíková, 8, 46, 63, 65, 79, 98
Tomori, 29
Tomšík, 103
Tonhajzerová, 33, 50, 62, 79, 99
Tóthová, 17
Trejtnar, 70, 100
Tulejová, 60
Tumová, 20, 60, 84
Turčan, 101

U

Ujházy, 45, 86, 90
Ulrichová, 102

V

van den Heuvel, 16
Varga, 89
Varinská, 64, 78
Vašková, 34
Vavrinec, 21, 28
Večeřa, 81
Vejvodová, 41
Veterník, 92
Vicenová, 47
Višňovcová, 62, 79, 92, 99
Vojtko, 77
Vojtková, 101
Volková, 100

Vrabec, 58
Vraždová, 60
Vrba, 102

W

Wawruch, 89

Z

Zagórová, 103
Zaťko, 58
Zídek, 104
Zoulová, 43
Zubatá, 43

Ž

Žďárová-Karasová, 48, 51, 91

Sponzori podujatia:

LABO-SK, s.r.o., Ferdinand Menzl, Lekárska technika, s.r.o., Novartis Slovakia s.r.o., GlaxoSmithKline Slovakia s.r.o., TEVA Pharmaceuticals Slovakia, s.r.o., Lambda Life, a.s., PHOENIX Zdravotnícke zásobovanie, a.s., MR Diagnostic s.r.o., ECOMED, s.r.o., MERCK Millipore s.r.o., Life Technologies s.r.o.



A company of PHOENIX group



A Thermo Fisher Scientific Brand