

SBORNÍK ABSTRAKT



66. ČESKO-SLOVENSKÉ FARMAKOLOGICKÉ DNY
13. – 15. 9. 2016, Brno

POŘÁDAJÍCÍ ORGANIZACE

Česká společnost pro experimentální a klinickou farmakologii (ČSEKFT) ČLS JEP
Slovenská farmakologická spoločnosť (SFaS) SLS
Česká odborná společnost klinické farmacie (ČOSKF) ČLS JEP
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
PharmAround, nadační fond
The Federation of European Pharmacological Societies (EPHAR)

VĚDECKÝ VÝBOR KONFERENCE

doc. PharmDr. Jan Juřica, Ph.D. (předseda)
prof. RNDr. Pavel Anzenbacher, DrSc.
prof. MUDr. Ondřej Slanař, Ph.D.
doc. Ing. Jaroslav Chládek, Ph.D.
prof. PharmDr. Petr Pávek, Ph.D.
prof. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.

prof. MUDr. Stanislav Mičuda, Ph.D.
doc. RNDr. Eva Kmoníčková, CSc.
prof. MUDr. Jiří Kassa, CSc.
doc. MUDr. Regina Demlová, Ph.D.
doc. RNDr. Soňa Fraňová, Ph.D.

ORGANIZAČNÍ VÝBOR KONFERENCE

doc. PharmDr. Jan Juřica, Ph.D.
doc. MUDr. Regina Demlová, PhD.
Mgr. MVDr. Leoš Landa, Ph.D.
MUDr. Jana Pistovčáková, Ph.D.
PharmDr. Šárka Kozáková, MBA
Mgr. Bc. Šárka Matyšková
PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.
PharmDr. Jana Rudá, Ph.D.

Mgr. Jana Merhautová
Mgr. Gabriela Dovrtělová
MUDr. Jiří Deml
Ing. Hana Marténková, MBA
MVDr. Zuzana Babinská, Ph.D.
Mgr. Tibor Štark
prof. MUDr. Alexandra Šulcová, CSc.

Vydavatel:

Farmakologický ústav LF MU
Kamenice 5, Brno 625 00

ISBN 978-80-260-9782-2

OBSAH

POŘÁDAJÍCÍ ORGANIZACE.....	2
VĚDECKÝ VÝBOR KONFERENCE.....	2
ORGANIZAČNÍ VÝBOR KONFERENCE.....	2
PROF. MUDR. MAXMILIÁN WENKE, DRSC., FCMA IS NINETY	7
POTENCIÁLNÝ PROTINÁDOROVÝ ÚČINOK JEDU RODU NAJA SLEDOVANÝ NA VYBRANÝCH NÁDOROVÝCH BUNKOVÝCH LÍNIÁCH	8
ANTIPLATELET POTENTIAL OF ISOFLAVONOIDS.....	10
ALCOHOL DEPENDENCE IN A NEURODEVELOPMENTAL ANIMAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA IN MALE AND FEMALE RATS.....	11
TERMÁLNĚ SYNTETIZOVANÉ ZLATÉ ČÁSTICE S PEROXIDÁZOVOU AKTIVITOU A JEJICH EFEKT NA BUNĚČNOU LINII H9C2	13
OXAZOLIDINÓNOVÉ ANALÓGY PACHASTRISSAMÍNU A ICH VPLYV NA NÁDOROVÉ BUNKY.....	15
ANALGESIC EFFECT OF PIRITRAMIDE IN PATIENTS WITH ACUTE POSTOPERATIVE PAIN – THE COMPARISON OF PCA PUMP WITH INTRAMUSCULAR ADMINISTRATION	17
THE ROLE OF NUCLEAR RETINOID (RAR) AND RETINOID X (RXR) RECEPTORS IN PHYSIOLOGICAL PROCESSES AND THERAPY OF SELECTED ONCOLOGICAL DISEASES.....	19
DŮSLEDKY DEFICITU MRP2 PRO FARMAKOKINETIKU BOLDINU U POTKANA.....	21
VPLYV OPAKOVANÉHO PODÁVANIA LIPOPOLYSACHARIDU NA GÉNOVÚ EXPRESIU B ₃ - ADRENERGICKÝCH RECEPTOROV V TUKOVOM TKANIVE.....	23
INTERACTIONS OF ANTIRETROVIRAL DRUGS LAMIVUDINE, EMTRICITABINE AND EFAVIRENZ WITH MATE1 (SLC47A1), OCT1 (SLC22A1) AND OCT2 (SLC22A2) TRANSPORTERS.....	25
INDOLEAMINE 2,3-DIOXYGENASE IS ASSOCIATED WITH INCREASED AGE IN ELDERLY PATIENTS AFTER RENAL TRANSPLANTATION WITH ACUTE REJECTION AND CHRONIC TRANSPLANT DYSFUNCTION.....	27
ROLE OF NUCLEOSIDE TRANSPORTERS IN TRANSPLACENTAL PERMEATION OF NUCLEOSIDE DERIVED ANTIVIRALS.....	29
PALBOCICLIB (PD 0332991) REVERSES ABCB1 AND ABCG2 TRANSPORTER-MEDIATED MULTIDRUG RESISTANCE.....	30
BRAIN DOPAMINERGIC AND NORADRENERGIC SYSTEMS AS CENTERS REGULATING LIVER CYTOCHROME P450 IN THE RAT	32
VÝVOJ LÉČIVÉHO PŘÍPRAVKU SOMATOBUNĚČNÉ TERAPIE U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S VYSOCE RIZIKOVÝMI SOLIDNÍMI NÁDORY.....	34
28-DAY HESPERIDIN TREATMENT IMPROVED ENDOTHELIUM-DEPENDENT VASODILATION IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS	36
IZOFORMY ŤAŽKÝCH REŤAZCOV MYOZÍNU VO VZŤAHU K SRDCOVÉMU ZLYHÁVANIU RÔZNEJ ETIOLÓGIE	37
ANALÝZA REGULÁCIE EXPRESIE GALEKTÍNU-8 V ĽUDSKÝCH ENDOTELOVÝCH BUNKÁCH.....	38
PROBIOTIKÁ VO VETERINÁRNEJ MEDICÍNE.....	39
EFFECT OF HIGH FAT DIET ON NEURONAL FUNCTION IN HIPPOCAMPUS OF HYPERTRIGLYCERIDEMIC RATS.....	40
ANALYSIS OF MICRORNA IN PLASMA CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER (ASD).....	41
MECHANIZMUS ANTIPROLIFERATÍVNEHO ÚČINKU HOMOSPISULOSÍNU.....	43
NOVÉ ANTIMIKROBNÍ PŘÍPRAVKY V ÉŘE MIKROBIÁLNÍ REZISTENCE	45
STUDIUM ANTIPROLIFERAČNÍCH ÚČINKŮ PRENYLOVANÝCH FLAVONOIDŮ Z PAULOWNIA TOMENTOSA U LIDSKÉ NÁDOROVÉ BUNĚČNÉ LINIE.....	46
SYNDROM Z ODNĚTÍ, FARMAKOGENETIKA A ANALGOSEDACE NA DĚTSKÉ JEDNOTCE INTENZIVNÍ PÉČE	47
ÚČAST GHRELINU VE FENTANYLEM NAVOZENÝCH ÚČINCÍCH V NUCLEUS ACCUMBENS U POTKANŮ	48

POHLAVNÉ ROZDIELY V KOGNITÍVNYCH FUNKCIÁCH U POTKANOV PO AKÚTNEJ INHIBÍCII DEGRADAČNÉHO ENZÝMU ENDOKANABINOIDOV	49
PROTINÁDOROVÝ ÚČINOK LÁTKO IZOLOVANÝCH Z KAPUSTOVITÝCH RASTLÍN.....	51
DEPRESSIVE MODE: THE ROLE OF CYTOCHROME P450.....	53
COMPARISON OF SELECTED METHODS FOR RADIOLABELING OF MONOCLONAL ANTIBODY RAMUCIRUMAB	54
LEVEL OF NUCLEOSIDE TRANSPORTERS EXPRESSION IN HUMAN CHORIOCARCINOMA DERIVED BEWO CELLS IS MODULATED BY DIFFERENTIATION AND EPIGENOME AFFECTING COMPOUNDS.....	56
FARMAKOKINETICKÝ ŘÍZENÁ STUDIE KARDIOPROTEKTIVNÍCH VLASTNOSTÍ DOMNĚLÉHO AKTIVNÍHO METABOLITU DEXRAZOXANU (ADR-925) PROTI ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITĚ.....	58
MODULAČNÝ VPLYV ANESTÉZY NA KINEMATIKU CÍLÍ V DÝCHACÍCH CESTÁCH.....	60
FARMAKOMETABOLOMIKA V PSYCHIATRII	62
ENDOCANNABINOID SYSTEM AND PHARMACOKINETICS OF PSYCHOTROPIC DRUGS.....	64
HYPERTRIGLYCERIDEMIC RAT FED HIGH FAT DIET AS A MODEL OF NON-OBESE METABOLIC SYNDROME	65
ROLE OF EQUILBRATIVE AND CONCENTRATIVE NUCLEOSIDE TRANSPORTERS IN TRANSPLACENTAL PERMEATION OF RIBAVIRIN.....	66
A COMPARISON OF THE REACTIVATING AND THERAPEUTIC EFFICACY OF TWO NOVEL BISPYRIDINIUM OXIMES (K305, K307) WITH THE OXIME K203 AND TRIMEDOXIME IN TABUN-POISONED RATS AND MICE	68
PK/PD TARGET ATTAINMENT OF BETA-LACTAM ANTIBIOTICS IN CRITICALLY ILL PATIENTS.....	70
ANTIPROLIFERATIVE AND PRO-APOPTOTIC EFFECT OF NOVEL NITRO-SUBSTITUTED 3- HYDROXYNAPHTHALENE-2-CARBOXANILIDES ON THP-1 HUMAN MONOCYTIC LEUKEMIA CELLS.....	72
SYZYGIUM AROMATICUM FLOWER BUDS EXTRACT INDUCE APOPTOSIS VIA MITOCHONDRIAL PATHWAYS IN BREAST CANCER MODEL IN VITRO.....	74
VÝVOJ METÓDY NA STANOVENIE TEOFYLÍNU V PLAZME POMOCO UHPLC-MS/MS U OVALBUMÍNOM SENZIBILIZOVANÝCH MORČIAT	75
EARLY AND PROGRESSIVE BRAIN MICROSTRUCTURAL CHANGES IN MICE OVEREXPRESSING HUMAN A-SYN DETECTED BY THE DIFFUSION KURTOSIS IMAGING	77
VNÍMANIE BEZPEČNOSTI FARMAKOTERAPIE ADOLESCENTMI A ICH POZNATKY O LIEKACH	79
VPLYV PROTEÍNOV NA SIGNALIZÁCIE NA ROZVOJ EXPERIMENTÁLNEJ PLŮCNEJ HYPERTENZIE NAVODENEJ MONOKROTALÍNOM.....	81
THE ALLERGIC INFLAMMATION-INDUCED CHANGES IN THE REGULATION OF THE AIRWAYS DEFENCE MECHANISMS BY VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNELS	82
BEHAVIORAL SCREENING OF ANTIDEPRESSANT PROPERTIES OF THE NEW PYRIDONINDOLE DERIVATIVE IN THE RAT MODEL OF CHRONIC MILD STRESS	83
METABOLICKÝ SYNDROM JAKO KOMORBIDITA SCHIZOFRENIE – JAKOU ROLI HRAJÍ ADIPOKINY?.....	84
THE IMPACT OF ENANTIOSPECIFIC INTERACTIONS OF BENIDIPINE WITH HUMAN CYTOCHROME P450 IN VITRO	86
VLIV NIKOTINU NA KONSTITUTIVNĚ AKTIVNÍ SLOŽKU INWARD RECTIFIER DRASLÍKOVÉHO PROUDU CITLIVÉHO NA ACETYLCHOLIN: SROVNÁNÍ S PŮSOBENÍM ETANOLU A JEHO PRIMÁRNÍHO METABOLITU ACETALDEHYDU	88
EXPERIMENTAL PIGS: PHARMACOKINETICS AND ORGAN DISTRIBUTION OF ACETYLCHOLINESTERASE REACTIVATORS K027 AND K203	90
PERSPEKTÍVY LIEČBY ASTMY BRONCHIALE, SÚČASNOSŤ A BUDÚCNOSŤ	91
BIODISTRIBUTION AND PHARMACOKINETICS OF IRON OXIDE NANOPARTICLES IN RATS	93
NILOTINIB INDUCES ROS, ER STRESS AND APOPTOSIS IN H9C2 CELLS.....	94
INCREASE IN MALIGN HEART ARRHYTHMIA IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF THE METABOLIC SYNDROME	96

TRIORGANOTIN COMPOUNDS – RETINOID X RECEPTOR LIGANDS – BIOLOGICAL EFFECTS IN BREAST CANCER CELL LINES	98
ZINOK A POŠKODENIE OBLIČIEK.....	99
OPTIMIZATION OF IN VITRO AND EX VIVO METHODS TO STUDY ROLE OF DRUG TRANSPORTERS FOR INTESTINAL ABSORPTION	101
VPLYV MODIFIKÁCIE POVRCHU NA ADHERENCIU BUNIEK V IMUNOFLUORESCENČNEJ MIKROSKOPII.....	102
THE EFFECT OF SILYMARIN ON THE EXPRESSION OF PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTORS IN HYPERTRIGLYCERIDEMIC RATS.....	104
SYSTEMIC ADMINISTRATION OF MIRNA-MIMICS BY LIPOSOMAL DELIVERY SYSTEM IN ANIMAL MODEL OF COLORECTAL CARCINOMA	105
THE ARTICHOKE LEAVES EXTRACT DECREASES NF-KAPPA B PROBABLY VIA INHIBITION AKR1B1 IN HUMAN LEUKEMIC CELLS	107
VILDAGLIPTIN PREVENTS REACTIVE OXYGEN SPECIES-INDUCED VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELL SENESCENCE VIA ACTION OF GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1	108
OPTIMIZATION OF FLOW CYTOMETRY ANALYSIS FOR IDENTIFICATION OF MSCS IN BONE MARROW CONCENTRATE IN PATIENTS WITH CRITICAL LIMB ISCHEMIA	110
OBRAZOVÁ ANALÝZA KARDIOMYOCYTOV V EXPLANTOVANÝCH HUMÁNNÝCH VZORKÁCH	112
ANTIPROLIFERATÍVNY ÚČINOK FURÁNOVÝCH ANALÓGOV JASPÍNU B.....	114
COMPARISON OF ROSUVASTATIN UPTAKE VIA INTESTINAL OATP TRANSPORTERS	115
THE EFFECT OF (-) LINALOOL ON THE METABOLIC ACTIVITY OF LIVER CYP ENZYMES IN RATS	117
SLEDOVANIE KLINICKÉHO PRIEBEHU INTOXIKÁCIÍ ANTIDEPRESÍVAMI.....	119
ODKAZ ALBERTA SZENT-GYÖRGIHO SOUČASNÉ FARMAKOLOGII	120
VPLYV AKÚTNEHO A CHRONICKÉHO PODANIA ERDOSTEÍNU NA OBRANNÉ MECHANIZMY DÝCHACÍCH CIEST V EXPERIMENTÁLNYCH PODMIENKACH	121
THERAPEUTIC DRUG MONITORING IN PSYCHIATRY – HELPING TO ENSURE THERAPEUTIC EFFICACY AND PATIENT’S SAFETY	123
THE PREGNANE X RECEPTOR DOWN-REGULATES ORGANIC CATION TRANSPORTER 1 (SLC22A1) IN HUMAN HEPATOCYTES: NEW PARADIGM IN DETOXIFICATION GENES REGULATION?	124
POTENCIÁLNA ÚLOHA OSI SDF-1/CXCR4 V EXPERIMENTÁLNOU MODELI IZOPRENALÍNOM VYVOLANÉHO POŠKODENIA MYOKARDU U POTKANA	125
FARMAKOKINETIKA FENOBARBITALU U KRITICKY NEMOCNÝCH NOVOROZENCŮ A DĚTÍ LÉČENÝCH POMOCÍ EXTRAKORPORÁLNÍ MEMBRÁNOVÉ OXYGENACE	126
VLIV PROTEASOMOVÝCH INHIBITORŮ BORTEZOMIBU A KARFILZOMIBU NA ROZVOJ CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY	127
VLIV KOMBINACE SILYMARINU A POLYNEENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN NA EXPRESI JATERNÍCH TRANSPORTÉRŮ ABCA1, ABCG5 A ABCG8 U MODELU METABOLICKÉHO SYNDROMU	129
ANTI-OXIDATIVE AND IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF 6-GINGEROL BUT NOT 8- AND 10-GINGEROL DERIVATIVES: IN VIVO AND IN VITRO STUDY	130
ROZDIEL V ÚČINNOSTI KOMBINOVANEJ LIEČBY VALSARTANOM A AMLODIPÍNOM V ZÁVISLOSTI OD ČASU PODANIA V EXPERIMENTÁLNOU MODELI HYPERTENZIE U POTKANOV	132
ZMENY EXPRESIE CIRKADIÁNNÝCH REGULÁTOROV V RANNEJ A VEČERNEJ KOMBINOVANEJ TERAPII HYPERTENZIE U POTKANOV.....	134
OPERANT SELF-ADMINISTRATION OF KETAMINE IN AN ANIMAL MODEL OF DEPRESSION.....	135
ETRAVIRINE INFLUENCES TRANSPLACENTAL PASSAGE OF TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATE THROUGH INHIBITION OF BCRP DRUG TRANSPORTER.....	136
VPLYV FYZICKEJ ZÁŤAŽE NA VYBRANÉ ELEKTROKARDIOGRAFICKÉ PARAMETRE MLADÝCH DOSPELÝCH.....	138
EFFECTS OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES ON FUNCTIONAL STATE AND OXIDATIVE STATUS OF CULTURED PORCINE OVARIAN GRANULOSA CELLS	139

SEDATIVE EFFECTS OF INTRANASAL OXYTOCIN IN RHESUS MONKEYS	141
CRYOPRESERVATION AND PHENOTYPING OF ADHERENT CELLS DERIVED FROM BONE MARROW...	142
ROLE OF POLYMORPHIC CYP450 DRUG METABOLIZING ENZYMES IN BRAIN FUNCTION: IMPLICATIONS FOR AFFECTIVE DISORDERS AND DRUG THERAPY	143
ANALYSIS OF DRUG-DRUG INTERACTIONS DURING HOSPITALISATION AT A UNIVERSITY HOSPITAL	145
FARMAKOKINETICKÉ PARAMETRY VANKOMYCINU U NOVOROZENCŮ SE SEPSÍ.....	147
RIBOCICLIB INTERACTS WITH ABC DRUG EFFLUX TRANSPORTERS CORRESPONDINGLY TO STRUCTURALLY RELATED CDK 4/6 INHIBITOR PALBOCICLIB.....	149
VPLYV G-CSF A LINAGLIPTÍNU NA EXPRESIU CYTOKÍNOV A KOMPONENTOV HGF SYSTÉMU V SRDCI POTKANA S DAUNORUBICÍNOM-INDUKOVANOU KARDIOMYOPATIOU	151
ENDOCANNABINOID SYSTEM AND SCHIZOPHRENIA: BEHAVIORAL AND MOLECULAR CHANGES IN NEURODEVELOPMENTAL ANIMAL MODEL.....	153
DERIVÁTY INDOLOVÝCH FYTOALEXÍNOV INDUKUJÚ APOPTÓZU V BUNKÁCH NÁDORU KRČKA MATERNICE.....	155
POHLAVNÉ ODLIŠNOSTI V KARDIOVASKULÁRNÝCH ODPOVEDIACH NA PODANIE KOFEÍNU V PODMIENKACH STRESU	157
MARAVIROC DOES NOT INHIBIT ABC DRUG EFFLUX TRANSPORTERS ABCB1 AND ABCG2.....	159
BRONCHODILATAČNÉ A PROTIZÁPALOVÉ ÚČINKY PODMIENENÉ NESELEKTÍVNOU A SELEKTÍVNOU INHIBÍCIOU FOSFODIESTERÁZY V MODELI ALERGICKEJ ASTMY	161
POUŽÍVANIE AMINOGLYKOZIDOVÝCH ANTIBIOTÍK V SÚČASNEJ PRAXI	163
DIFERENCIÁCIA KOSTNEJ DRENE PRIETOKOVÝM CYTOMETROM	165
INHIBITION OF CYTOCHROME P450 3A4 ACTIVITIES BY RESVERATROL-LIKE COMPOUNDS.....	166
ABCA1 TRANSPORTER EXPRESSION IN THE LIVER OF OVARECTOMIZED RATS	167
VLIV NIKOTINU A ETANOLU NA ACETYLCHOLINEM AKTIVOVANOU SLOŽKU INWARD RECTIFIER DRASLÍKOVÉHO PROUDU.....	168
VPLYV INHIBÍCIE BUTYRYLCHOLÍNESTERÁZY NA RELAXÁCIU AORTY NORMOTENZNÉHO A SPONTÁNNÉ HYPERTENZNÉHO POTKANA.....	170
COMPUTATIONAL MODELING AS A MODERN APPROACH FOR EVALUATION OF ARTERIAL SEGMENT REACTIVITY.....	172
TRANSPORT MECHANISMS POTENTIALLY INVOLVED IN THE RENAL UPTAKE OF RADIOLABELED SOMATOSTATIN AND GASTRIN ANALOGS	174
FARMAKOLOGICKÉ ÚČINKY MODULÁTORŮ AMPK V EXPERIMENTÁLNIÍM MODELU HEPATOTOXICITY	176
FARMAKOKINETICKÁ INTERAKCE METAMFETAMINU S ETANOLEM V PREKLINICKÉM EXPERIMENTU.	177
PARTNEŘI KONFERENCE.....	179

PROF. MUDR. MAXMILIÁN WENKE, DRSC., FCMA IS NINETY

Ondřej Slanař, František Perlík

The development of pharmacology in Czechoslovakia in the second half of the last century is inseparably connected with the personality of Prof. Wenke. He initiated several groundbreaking trends in our experimental pharmacology and he influenced education of pharmacology of one generation of the students of medicine. Max Wenke was born on the 9th September 1926 in west Bohemia in Klatovy. He graduated at the Medical Faculty of the Charles University in Prague in 1950, presently named as the First Faculty of Medicine. Already during his studies, he was interested in experimental

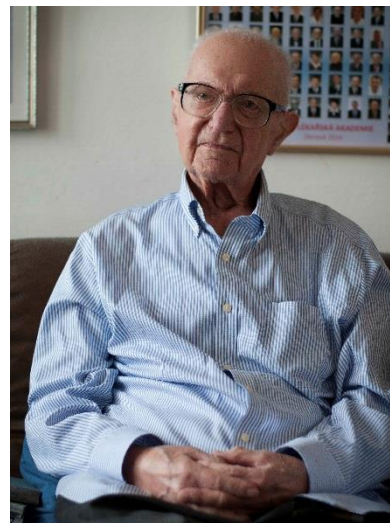


Foto: Daniel Horák

work at the laboratory of Prof. Josef Charvát and at the Institute of Pharmacology. He defended his Ph.D. degree in 1955 and five years later he was appointed to lead the Institute of Pharmacology after the death of Prof. Bohumil Polák. At that time he was the youngest head of the department at the Medical Faculty. He successfully led the Institute of Pharmacology for 35 years. Prof. Wenke was nominated as a Full Professor of Pharmacology in 1965. The young representative of our oldest pharmacological institution has shown his scientific visions soon, while he began to study drug-receptor interactions and drug-induced metabolic changes. He was one of the first representatives of our pharmacological school, who quantitatively evaluated drug effects using pharmacon-receptor interactions. Prof. Wenke successfully continued with this activity during the study stays abroad in Mainz (Germany) and in Philadelphia (USA). He applied his scientific expertise and created a research team focused on substances acting on the autonomic nervous system. He has published more than 150 scientific papers and headed Pharmacological institute until 1990, when he retired. One of the exceptional abilities of Prof. Wenke is his art of teaching. He was not only an excellent lecturer, but also the author of almost thirty pharmacological textbooks and lecture notes. He was also the editor of the nationally used pharmacology textbooks. After retiring he served as a consultant at the Psychiatric Clinic and Department of Pathological Physiology of the 1st Faculty of Medicine in Prague. He also translated several foreign pharmacological textbooks into the Czech language. The 90th birthday celebrations of Prof. Wenke are an exceptional occasion to express our sincere thanks for all that he has done for the Czech pharmacology and medical education and we wish him all the best and good health.

POTENCIÁLNY PROTINÁDOROVÝ ÚČINOK JEDU RODU NAJA SLEDOVANÝ NA VYBRANÝCH NÁDOROVÝCH BUNKOVÝCH LÍNIÁCH

Antoliková N.¹, Chripková M.², Petrilla V.³, Mojžiš J.², Pirnik Z.¹

1) Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Ústav humánnej a klinickej farmakológie, Košice

2) Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Ústav farmakológie, Košice

3) Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Ústav fyziológie, Košice

E-mail: natalia.antolikova@uwl.sk

Úvod: Nádorové ochorenie postihuje rôzne vekové kategórie bez rozdielu rasy či pohlavia a aj napriek nedávnym pokrokom v diagnostike a liečbe zostáva naďalej významným zdravotným problémom na celom svete. Veľký prínos v terapeutickom režime prináša identifikácia nových prírodných produktov s protinádorovým potenciálom. Hadie jedy (patriace tiež do kategórie prírodných produktov) disponujú zjavnou chemickou rozmanitosťou a s tým súvisiacimi rôznorodými farmakologickými účinkami, pričom ľudskú zvedavosť vyvolávajú už od existencie egyptskej civilizácie. Všeobecne sú animálne jedy považované za špecializované toxické látky vylučované jedovatými živočíchmi, ktoré po preniknutí do tel obetí (uhryznutie, bodnutie...), môžu spôsobiť intenzívne fyziologické zmeny, bolesť či smrť, často, v krátkom časovom intervale. Ale aj napriek tejto skutočnosti disponujú jednotlivé zložky hadieho jedu potenciálnou lekárskou či biotechnologickou hodnotou.

Cieľ: Cieľom tejto štúdie bolo zamerať sa na účinok jedu rodu *Naja* z čeľade *Elapidae*, ktorého zloženie pozostáva z troch základných toxínov (cytotoxín, neurotoxín, kardiotoxín) a fosfolipázy A₂. Prioritou boli cytotoxíny predstavujúce malé pevné membránové proteíny zložené z 59 - 62 aminokyselinových zvyškov tvoriacich cca 60% všetkých proteínov kobrieho jedu.

Metódy: Pomocou skriningového testu MTS stanovíť potenciálny antiproliferatívny efekt konkrétneho jedu na vybraných nádorových bunkových líniách.

Výsledky a diskusia: V súčasnosti sú jedy rodu *Naja* z čeľade *Elapidae* skúmané pre možnú schopnosť účinkovať ako antikarcinogénne činidlá na úrovni indukcie apoptózy, inhibície proliferácie nádorových buniek s minimálnym vplyvom na normálne bunky, čo predstavuje najúčinnnejšiu obranu proti nádorovému procesu. Mechanizmus pôsobenia na tejto úrovni pravdepodobne zahŕňa lyzozomálne poškodenie, uvoľňovanie lyzozomálnych cysteínových hydroláz, produkciu intracelulárnych voľných kyslíkových radikálov, poškodenie mitochondrií a aktiváciu kaskády kaspáz. Analyzovaná cytotoxicita hodnotená prostredníctvom MTS testu preukázala inhibíciu proliferácie nádorových buniek v závislosti

na dávke a od času. Súčasne sa hodnotil účinok jedu na jednotlivé fázy bunkového cyklu a indukciu apoptózy.

ANTIPLATELET POTENTIAL OF ISOFLAVONOIDS

Lenka Applová¹, Přemysl Mladěnka¹, Jana Karličková², Kateřina Macáková², Michal Říha¹, Tomáš Filipský¹

1) Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic

2) Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic

E-mail: applovl@faf.cuni.cz

Introduction: Isoflavonoids were suggested to have positive effects on the human health, e.g. the lower risk of the coronary artery disease was reported by many studies. These data are also supported by lower incidence of cardiovascular diseases in countries with high consumption of soya products.

Aims: The target of this study was to compare antiplatelet activities of a row of chemically related isoflavonoids, define structure-activity relationship and to identify the mechanisms of their action.

Methods: Antiplatelet activity was investigated in human blood by impedance aggregometry, turbidimetry and ELISA. Firstly, inhibition of aggregation induced by arachidonic acid (AA) was tested. In active compounds, also inhibition of cyclooxygenase-1 (COX-1) and thromboxane synthase, and influence at the thromboxane A₂ receptors was measured.

Results and Discussion: The screening in whole blood has shown that 12 isoflavonoids blocked platelet aggregation induced by AA. Structure-activity relationship disclosed that the 7,4'-dihydroxyl group represented the most efficient functional group and substitution of these positions by methoxyl group(s) was connected with a reduction of the effect. Substitution by a glucose in the position C-7 was associated with almost complete loss of the activity. Presence of the 5-hydroxyl group seemed to be beneficial, as well as, the co-presence of the 6-methoxyl group. Further mechanistic study has shown that two of the tested compounds acted as inhibitors of COX-1 while the effect of other active isoflavonoids appeared to be based mainly on the antagonism at thromboxane receptors. Isoflavonoids with appropriate chemical structure possess even higher antiplatelet activity in comparison to the standard antiplatelet drug acetylsalicylic acid.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by Charles University in Prague, grant project GAUK (170/50/55003) and Czech Science Foundation (P303/12/G163).

ALCOHOL DEPENDENCE IN A NEURODEVELOPMENTAL ANIMAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA IN MALE AND FEMALE RATS

Zuzana Babinská¹, Jana Rudá-Kučerová¹, Tibor Štark¹, Vincenzo Micale²

1) Dpt. of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 5, 625 00, Brno

2) CEITEC – Central European Institute of Technology, Kamenice 5, 625 00, Brno

E-mail: babinska@med.muni.cz

Introduction: Almost 50 % of schizophrenic patients suffer comorbid substance abuse with nicotine and alcohol being the most prevalent drugs. This comorbidity is associated with substantially higher burden of the disease as these patients have higher rate of hospitalizations, shorter life expectancy and higher suicide attempt rate. Comorbid alcohol abuse leads to worse response to antipsychotic treatment and deteriorates development of positive signs of schizophrenia. Furthermore, comorbid alcohol abuse in women significantly aggravates course and prognosis of schizophrenia (Schmidt *et al.*, 2011).

Aims: The majority of both clinical and pre-clinical studies is conducted on male subjects only, therefore the aim was to assess addictive behaviour in a neurodevelopmental model of schizophrenia induced by prenatal methylazoxymethanol acetate (MAM) exposure in both sexes.

Methods: Vehicle or MAM (dose of 22 mg/kg on gestational day 17) was administered intraperitoneally to the pregnant dams (Sprague-Dawley strain) and study was performed with their 9 weeks old offspring (20 females and 20 males; groups: F VEH, F MAM, M VEH, and M MAM). Drinking in the dark paradigm with a sucrose fading procedure (Samson *et al.*, 1988) was used to assess daily intake of 20% alcohol. Relapse-like behaviour was evaluated after 2 weeks of forced abstinence. Alcohol intake was calculated as grams of pure alcohol per kg of body weight.

Results and Discussion: Alcohol consumption was significantly higher in MAM treated females in comparison to MAM treated male rats. This finding suggests that the prenatal MAM exposure may increase vulnerability for alcohol drinking in female rats. During the relapse phase this phenomenon was still present and also sex difference in control animals has reached significance when control females consumed more alcohol than control males. To our knowledge, this is the first report on alcohol drinking behaviour in the MAM model. Our study suggests that female sex and schizophrenia-like phenotype induced by the prenatal MAM exposure may possibly work synergistically to enhance alcohol consumption.

ACKNOWLEDGMENT

This study was financed from the SoMoPro II programme. The research leading to this invention has acquired a financial grant from the People Programme (Marie Curie action) of the Seventh Framework Programme of EU according to the REA Grant Agreement No. 291782. Further co-financing was by the project of specific research at the Masaryk University (MUNI/A/1284/2015).

TERMÁLNĚ SYNTETIZOVANÉ ZLATÉ ČÁSTICE S PEROXIDÁZOVOU AKTIVITOU A JEJICH EFEKT NA BUNĚČNOU LINII H9C2

Petr Babula¹, Pavel Suchý², Michaela Dočekalová², Jarmila Zídková³, Libuše Trnková⁴, Peter Barath⁵, René Kizek^{2}*

1) Ústav fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Česká republika

2) Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

3) Ústav biochemie a mikrobiologie; Vysoká škola chemicko-technologická v Praze; Technická 5, 166 28 Praha, Česká republika

4) Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Česká republika

5) Metrohm Česká republika s.r.o., Na Harfě 935/5c, 190 00 Praha 9, Česká republika

E-mail: kizek@sci.muni.cz

Úvod: Zlaté nanočástice (AuNPs) jsou již velmi dlouhou dobu používány jako vhodný nástroj pro molekulárně-biologické experimenty (Sathuluri *et al.*, 2011). Navíc, s rychlým rozvojem nanotechnologií jsou využívány jako jeden z hlavních nosičů biomolekul v nanomedicínských a biosenzorových aplikacích (Lahm *et al.*, 2015), včetně aplikací v experimentální kardiologii (Ganji *et al.*, 2016). Je velmi dobře známo, že peroxidázová reakce, která probíhá v nepřeberném množství biochemických přeměn, je široce biotechnologicky využívána (Gao *et al.*, 2007). Na základě zjištěného faktu, že některé skupiny chemických látek nebo nanomateriálů mohou vykazovat enzymatickou (také peroxidázovou) aktivitu, dostaly se tak do popředí zájmu tohoto výzkumu (Jv *et al.*, 2010, Sun *et al.*, 2015).

Cíle: Cílem práce bylo syntetizovat zlaté nanočástice modifikované citrátem trisodným za rozdílných teplotních profilů a zároveň studovat peroxidázovou aktivitu z hlediska jejich efektů na buněčnou linii H9C2.

Metody: Termální syntéza AuNPs probíhala na magnetické míchačce s ohřevem za kontrolované teploty a míchání po dobu 60 minut. Získané nanočástice byly charakterizovány pomocí ZetaSizer, spektrofotometru, fluorimetru a elektrochemie. Peroxidázová aktivita byla sledována jako katalytická oxidace tetramethylbenzidinu (TMB). Buněčná linie byla kultivována v médiu DMEM obohaceném 2mM glutaminem a 10% fetální bovinní sérem při 37°C a 5% CO₂ v jedné pasáži 72 h.

Výsledky a diskuse: Termální syntézou s výše uvedeným časem byly připraveny AuNPs. Získané částice byly charakterizovány dostupnými fyzikálně-chemickými přístupy. Získané výsledky jsou shrnuty v Tab. 1. Hodnocení peroxidázové aktivity AuNPs bylo normalizováno na aktivitu křenové (HRP) peroxidázy a substrátu. U sledovaných AuNPs byla peroxidázová aktivita v rozmezí 0,75 až 0,92 mU/ml. V biologickém experimentu byl hodnocen vliv

nanočástic na buněčnou kulturu H9C2. AuNPs byly aplikovány k buněčné kultuře v exponenciální fázi růstu.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the project for conceptual development of research organization.

OXAZOLIDINÓNOVÉ ANALÓGY PACHASTRISSAMÍNU A ICH VPLYV NA NÁDOROVÉ BUNKY

Martina Bago Pilátová¹, Alexandra Nagyová¹, Gabriela Gönciová¹, Martin Kello¹, Miroslava Martinková², Eva Mezeiová², Jozef Gonda², Štefánia Megyesi³

1) Ústav Farmakológie LF UPJŠ, Trieda SNP 1, 040 11 Košice SR

2) Katedra organickej chémie PF UPJŠ; Moyzesova 11, 040 11 Košice SR

3) Katedra farmaceutickej technológie UVLF, Komenského 73, 041 81 Košice SR

E-mail: martina.pilatova@upjs.sk

Úvod: Nádorové ochorenia patria medzi najčastejšie príčiny úmrtia vo vyspelých krajinách. Množstvo dôležitých protinádorových liečiv bolo získaných štruktúrnou modifikáciou prírodných látok alebo syntézou nových látok dizajnovaných podľa nich. Pachastrissamín (jaspín B) bol izolovaný z morských hubiek *Pachastrissa sp. (Calthropellidae)* a *Jaspis sp.* Cytotoxické účinky pachastrissamínu (jaspín B) boli popísané na myšacích (P-388) a ľudských (A-549, HT-29, Mel-28) nádorových bunkových líniiach. V experimentoch s analógmi pachastrissamínu obsahujúcimi 1, 2, 3 - triazolový kruh v alkylovom reťazci sa zistilo, že 1 z analógov preukazuje vyššiu cytotoxicitu než prírodný pachastrissamín.

Ciele: Cieľom prvotného skríningu bolo sledovať účinok oxazolidinónových analógov na nádorových bunkových líniiach Jurkat (human acute T-lymphoblastic leukemia), HeLa (cervical carcinoma cells), MDA-MB-231 (breast cancer cells), HCT 116 (human colon carcinoma) a Caco -2 (human colon carcinoma).

Metódy: Antiproliferatívne účinky sme sledovali pomocou kolorimetrického MTT testu.

Výsledky a diskusia: V našich experimentoch najvyššiu antiproliferatívnu aktivitu vykazovali (4*R*)-3-benzyl-4-[(1'*R*,2'*R*)-1,2'-dihydroxyhexadecyl] a (4*S*)-3-benzyl-4-[(1'*S*,2'*S*)-1,2'-dihydroxyhexadecyl] analógy, ktoré dosahovali hodnoty IC₅₀ = 7 - 25 μM v závislosti od bunkovej línie, pričom najvyššia toxicita bola spozorovaná u bunkovej línie Jurkat. Výsledky tejto práce poukazujú na opodstatnenosť výskum zaoberajúceho sa testovaním nových látok prírodného pôvodu a ich syntetických derivátov a sledovaním vzťahov medzi účinkom a štruktúrou. Sú však potrebné ďalšie experimenty zaoberajúce sa mechanizmom účinku týchto látok ako aj možnými nežiaducimi účinkami, či liekovými interakciami.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla za finančnej podpory grantovej agentúry MŠ SR (No. 1/0168/15, No. 1/0322/14; No. 1/0398/14; 1/0546/16) a realizáciou projektu Medicínsky univerzitný park v Košiciach (MediPark, Košice) ITMS:26220220185 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.

ANALGESIC EFFECT OF PIRITRAMIDE IN PATIENTS WITH ACUTE POSTOPERATIVE PAIN – THE COMPARISON OF PCA PUMP WITH INTRAMUSCULAR ADMINISTRATION

Olga Bartošová¹, Jaroslava Adámková², Ondřej Polanecký², František Perlík¹, Svatopluk Adámek², Ondřej Slanář¹

1) Institute of Pharmacology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

2) 3rd Department of Surgery, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

E-mail: olga.matouskova@lfl.cuni.cz

Introduction: Different ways to take analgesics affect the response to the opioid in the patients with acute postoperative pain.

Aims: To compare patient-controlled i.v. administration and intramuscular administration of piritramide in patients with acute postoperative. The secondary objective was to compare the consumption of analgesics, length of hospital stay and the incidence of opioid - induced adverse effects.

Methods: The study included 110 patients aged 18-75 years undergoing inguinal hernioplasty by Lichtenstein performed under general anesthesia standardized. Clinical status of patients was assessed 16 hours after surgery. Patients were treated by piritramide, a maximum of 15 mg 3 times daily, with patient-controlled i.v. administration (bolus doses 0.044 mg/kg, logout interval 10 minutes) or intramuscular administration. Pain intensity was assessed using visual analogue scale (VAS 0 - 100 mm) at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 and 16 hours after the surgery. In addition, opioid consumption, length of hospital stay and incidence of opioid – induced adverse effects; postoperative nausea and vomiting (PONV), headache, sedation, pruritus, vertigo and hallucination were evaluated.

Results and Discussion: Mean pain intensity score (SD) VAS 1-16 was observed in the PCA group 13.06 (0.99) mm, which was significantly different from the IM group 28.39 (16.81) mm ($p = 0.021$). The rate of opioid – induced adverse effects was 19.34 % in the PCA group and 8.52 % in the IM group ($p = 0.041$). The difference in the total number of piritramide injections (SD) between both groups was highly significant, 1.82 (0.89) in the PCA group and 1, 13 (0.34) in the IM group ($p = 0.000$). The length of hospital stay between both groups was not significant. Patient-controlled i.v. administration is associated with increase in acute postoperative pain relief and increase in consumption of piritramide and adverse effects.

ACKNOWLEDGMENT

This study has been supported by Charles University project PRVOUK P25/LF1/2 and UNCE 204022.

THE ROLE OF NUCLEAR RETINOID (RAR) AND RETINOID X (RXR) RECEPTORS IN PHYSIOLOGICAL PROCESSES AND THERAPY OF SELECTED ONCOLOGICAL DISEASES

Július Brtko¹, Lucia Toporová¹, Lucia Bialešová¹, Luba Hunaková², Dana Macejová¹

1) Institute of Experimental Endocrinology, BMC, SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

2) Institute of Experimental Oncology, BMC SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

E-mail: julius.brtko@savba.sk

Introduction: All-*trans* retinoic acid (retinoid) represents a cognate ligand of natural origin for nuclear retinoid receptors (RARalpha, RARbeta, and RARgamma). Its structural isomer, 9-*cis* retinoic acid (rexinoid) plays a role as a natural cognate ligand for nuclear retinoid X receptors (RXRalpha, RXRbeta, and RXRgamma). Both retinoids, rexinoids and their biologically active derivatives are involved in a complex arrangement of physiological and developmental responses in many tissues acting as ligand-inducible transcription factors. RXRs are common heterodimerization partners for several nuclear receptors comprising retinoid receptors, thyroid hormone receptors, dihydroxyvitamin D₃ receptor, peroxisome proliferator-activated receptors, liver X receptors, farnesoid X receptor, pregnane X receptor, and constitutive androstane receptor. Thus, the "nuclear receptor partner"/retinoid X heterodimers are considered to be ligand-activated, DNA-binding, trans-acting, transcription-modulating proteins involved in a general molecular mechanism responsible for transcriptional responses in target genes.

Aims: We introduce nuclear retinoid and retinoid X receptors upon binding of their cognate ligands as crucial transcriptional regulators of many cellular processes such as differentiation, development or apoptosis.

Methods: A number of biochemical, cell biology, radioisotope techniques and molecular biology approaches have been exploited in the study.

Results and Discussion: We have evaluated retinoid/rexinoid nuclear receptor subtypes (RARalpha, RARbeta, RARgamma, RXRalpha, RXRbeta, RXRgamma) expression pattern in a variety of tumour tissues of patients with different types of cancer verified by cytology and histopathology techniques. In conclusion, this type of diagnostic approaches based on studies on nuclear receptors expression profiles, enlisted into the diagnostic algorithm of patients before their possible treatment by specific nuclear receptor ligands, might thus enhance therapeutical potentialities and bring positive results in the treatment of a variety of neoplasias.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the APVV-15-0372, APVV-0160-11, VEGA 2/0171/14, and VEGA 02/0092/16 grants.

DŮSLEDKY DEFICITU MRP2 PRO FARMAKOKINETIKU BOLDINU U POTKANA

Jolana Cermanová¹, Alena Prašnická¹, Zuzana Kadová¹, Eva Doleželová³, Lucie Rozkydalová^{1,4}, Pavel Tomšík², Miloš Hroch², Stanislav Mičuda¹

1) Ústav farmakologie, Univerzita Karlova; Lékařská fakulta v Hradci Králové; Šimkova 870; Hradec Králové 500 38

2) Ústav lékařské biochemie, Univerzita Karlova; Lékařská fakulta v Hradci Králové; Šimkova 870; Hradec Králové 500 38

3) Katedra biologických a lékařských věd, Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové Akademia Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

4) Katedra farmakologie a toxikologie Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové Akademia Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

E-mail: micuda@lfhk.cuni.cz

Úvod: Boldin je přírodní látka se známými antioxidačními a hepatoprotektivními vlastnostmi, jehož klinické užití je však stále omezeno neúplnou znalostí jeho farmakokinetiky (PK).

Cíle: Předložená práce se věnuje detailnímu studiu PK vlastností látky a její biologické dostupnosti (BAV) po p.o. podání u potkana. Současně bylo úmyslem stanovit podíl Mrp2 transportního proteinu na eliminaci této látky z organismu.

Metody: V experimentu byly použity dvě skupiny zvířat: kontrolní (Ctrl) a Mrp2 deficientní (Tr⁻), u kterých byla provedena kinetická studie po p.o. a i.v. podání boldinu v dávce 10 mg/kg.

Výsledky a diskuze: U obou skupin byla hodnota Cl_{tot} (celková clearance) mateřské látky srovnatelná (Ctrl 53,4 ml/min/kg; Tr⁻ 48,6 ml/min/kg) a látka byla eliminována renální (R) i biliární (B) cestou. U Mrp2 deficientních potkanů dosahovala Cl_B hodnot polovičních ve srovnání s kontrolami ($P < 0,05$), zatímco Cl_R byla téměř dvojnásobná (Ctrl 0,42 ml/min/kg; Tr⁻ 0,75 ml/min/kg; $P < 0,05$). Kinetika metabolitů boldinu (glukuronidy a sulfáty) vykazovala výrazné rozdíly v hodnotě Cl_{tot}, která byla snížena u Tr⁻ zvířat na 65 % hodnoty kontrolní skupiny ($P < 0,01$) a byla dána především významným snížením Cl_B (Ctrl 3,13 ml/min/kg; Tr⁻ 0,23 ml/min/kg; $P < 0,001$) v důsledku absence Mrp2 proteinu, zatímco poměr hodnot Cl_R byl podobný jako pro látku mateřskou (Ctrl : Tr⁻; 1:2). BAV boldinu po p.o. podání 10 mg/kg látky byla u obou skupin řádově srovnatelná (Ctrl 7%; Tr⁻ 4,5%), ačkoliv AUC_{tot} (mg/ml*min) byla u Mrp2 deficientních potkanů dvojnásobná (Ctrl 0,054; Tr⁻ 0,128; $P < 0,01$) v důsledku nízké clearance látky (Ctrl 187,2 ml/min/kg; Tr⁻ 87,8 ml/min/kg; $P < 0,001$). Výsledky provedené studie ukázaly nízkou biologickou dostupnost boldinu, která bude velmi omezovat praktické využití této látky. Hodnocení kinetiky boldinu u potkanů s deficitem Mrp2 proteinu umožnilo popsat významnou roli tohoto transportéru pro eliminaci boldinu.

PODĚKOVÁNÍ

Studie byla podpořena projektem Prvouk P37/05.

VPLYV OPAKOVANÉHO PODÁVANIA LIPOPOLYSACHARIDU NA GÉNOVÚ EXPRESIU β_3 -ADRENERGICKÝCH RECEPTOROV V TUKOVOM TKANIVE

Agneša Csánová, Michal Pokusa, Daniela Ježová

Laboratórium farmakologickej neuroendokrinológie, Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

E-mail: agnes.a.csanova@savba.sk

Úvod: Lipopolysacharid (LPS) je endotoxín z Gram-negatívnej baktérie *Escherichia coli*. Opakované podávanie LPS predstavuje model aktivácie imunitného systému, ako aj model chronického stresu. Je už dávno známe, že počas stresu sa zvýši hladina katecholamínov, ktoré vplývajú na α a β -adrenergické receptory. Najmenej preštudovaným typom β -receptorov je tretí podtyp. β_3 -receptory sú v organizme široko distribuované, v najväčšom zastúpení sú lokalizované v bielom tukovom tkanive, kde ich hlavnou úlohou je regulácia lipolýzy.

Ciele: Cieľom tejto práce bolo overiť hypotézu, že aktivácia imunitného systému vyvolaná stresom má negatívny vplyv na génovú expresiu β_3 -adrenergických receptorov a ďalších regulačných faktorov v tukovom tkanive a mozgu.

Metódy: Samcom a samiciam potkanov kmeňa Sprague-Dawley bol intraperitoneálne podávaný LPS vo zvyšujúcich sa dávkach po dobu 5 dní (50, 50, 100, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) alebo placebo. 2 hodiny po poslednom podaní LPS bolo izolované retroperitoneálne tukové tkanivo a vybrané mozgové štruktúry. Koncentrácie mRNA kódujúcej β_3 -receptory a ostatné regulačné faktory v tuku boli merané metódou real-time PCR. Na štatistické hodnotenie jednotlivých parametrov sa použila dvojcestná ANOVA pre faktory pohlavie a farmakologické ovplyvnenie.

Výsledky a diskusia: Aktivácia imunitného systému opakovaným podávaním LPS bola potvrdená zvýšením expresie interleukínu-6 v tukovom tkanive. Opakované vystavenie imunitnej aktivácii vyvolalo zníženie génovej expresie β_3 -receptorov v tukovom tkanive. Hladiny mRNA pre adipogénny faktor „peroxisome proliferator-activated receptor gamma“ (PPAR-gamma) boli po podávaní LPS znížené. Koncentrácie mRNA adipokínov adiponektínu a leptínu sa signifikantne znížili. Opakované podávanie LPS nemalo vplyv na expresiu rezistínu, hoci hladiny mRNA tohto sekrečného faktoru boli signifikantne vyššie u samcov v porovnaní so samicami. Na rozdiel od tukového tkaniva, génová expresia β_3 -receptorov v hipokampe a prefrontálnej kôre nebola zmenená. Záverom, opakované podávanie LPS vyvolalo paralelný pokles génovej expresie β_3 -adrenoreceptorov, PPAR-gamma, leptínu a adiponektínu. Na základe toho možno predpokladať úlohu β_3 -

adrenoreceptorov v adipogenéze a regulácii tvorby adipokínov v bielom tukovom tkanive po imunitnej aktivácii.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená grantom VEGA 2/0128/14 a APVV-14-0840.

INTERACTIONS OF ANTIRETROVIRAL DRUGS LAMIVUDINE, EMTRICITABINE AND EFAVIRENZ WITH MATE1 (SLC47A1), OCT1 (SLC22A1) AND OCT2 (SLC22A2) TRANSPORTERS

Martina Čečková, Josef Řezníček, Lenka Ťupová, Zuzana Ptáčková, Lukáš Červený, František Štaud

Department of Pharmacology and Toxicology Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

E-mail: martina.ceckova@faf.cuni.cz

Introduction: Multidrug and toxin extrusion protein (MATE1) is a solute carrier encoded by SLC47A1 gene able to transport high variety of compounds out from polarized epithelial cells. MATE1 is believed to enable elimination of several, usually ionized compounds by ensuring their efflux from the apical membrane of renal tubular cells and hepatocytes, while the first step, influx to the cells across basolateral membrane is provided by organic cation uptake transporters (OCT) belonging to the SLC22A subfamily of solute carriers.

Aims: The aim of this study was to evaluate interactions of antiretroviral drugs used in combination antiretroviral therapy (cART) of HIV positive patients, lamivudine, emtricitabine, efavirenz, etravirine and rilpivirine with MATE1, OCT1 (SLC22A1) and OCT2 (SLC22A2) transporters and to assess the risk of pharmacokinetic drug-drug interactions.

Methods: Accumulation and transport studies in MDCK cells mono-transfected for expression of human MATE1, OCT1 or OCT2 and double-transfected cells overexpressing human MATE1 and OCT1 or OCT2 transporters were employed to evaluate inhibitory or substrate properties of the studied drugs. The transporter-mediated drug-drug interactions were further evaluated *in vivo* employing pharmacokinetic analysis in Wistar rat.

Results and Discussion: Our results show that MATE1 and both OCT transporters play a role in the transcellular transfer of lamivudine, while emtricitabine was transported by MATE1 but not by OCT1 or OCT2. We further identified efavirenz, but not rilpivirine or etravirine as potent inhibitor of OCT1, OCT2 and MATE1 transporters. Efavirenz was able to diminish the transporter-mediated uptake of metformin in OCT1-, OCT2- and MATE1-expressing cells with inhibitory IC₅₀ values 2.1 μM, 6.8 μM and 7.4 μM respectively. Moreover, the drug was able to decrease the transcellular transfer of model compound MPP⁺ and interacted also with transcellular transfer of lamivudine across OCT1/OCT2-MATE1-expressing MDCK cells *in vitro*. This interaction was further confirmed *in vivo* when efavirenz was co-administered with lamivudine intravenously to Wistar rats and significantly decreased lamivudine excretion to urine while enhancing its retention in renal tissue. To conclude, combination of antiretroviral drugs efavirenz and lamivudine bears the risk of

transporter-mediated drug-drug interaction that can lead to decreased renal elimination of lamivudine.

ACKNOWLEDGMENT

This research was financially supported by Czech Science Foundation (GACR P303/120850), and the Grant Agency of Charles University 812216/2016 and SVV/ 2016/260-293.

INDOLEAMINE 2,3-DIOXYGENASE IS ASSOCIATED WITH INCREASED AGE IN ELDERLY PATIENTS AFTER RENAL TRANSPLANTATION WITH ACUTE REJECTION AND CHRONIC TRANSPLANT DYSFUNCTION

Diana Čepcová¹, Zuzana Žilinská², Svetozár Mišúth¹, Elena Bandžuchová³, Ido P. Kema⁴, Ján Klímas¹, Peter Vavrínek¹, Diana Vavrincová-Yaghi¹

1) Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava, Slovakia,

2) Department of Urology with Kidney Transplant Centre, University Hospital Bratislava, Bratislava, Slovakia

3) National Transplantation Organization, Bratislava, Slovakia

4) Department of Laboratory Medicine, University of Groningen, University Medical Center Groningen, The Netherlands

E-mail: vavrincova@fpharm.uniba.sk

Introduction: Human lifespan has risen markedly during the last century resulting in increase of elderly adults, which leads to renal ageing. Renal ageing is associated with incidence of end stage renal disease and poor performance of renal transplants. Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) catalyzes breakdown of tryptophan (trp) to kynurenine (kyn). IDO plays a crucial role in immune tolerance and some studies propose its involvement in ageing. In our previous study, we have observed that trp metabolism predicts long-term outcome of human kidney transplantation (tx).

Aims: In current study, we investigated whether IDO/trp degradation along kyn pathway contributed to the poor renal outcome after renal tx in the elderly patients.

Methods: Using HPLC we analyzed trp, kyn and 3-OH-kyn levels in urine and serum samples of elderly patients (age 50 - 65 yrs) as well as younger individuals (age 30 – 50 yrs) after renal tx with acute rejection (AR) and chronic transplant dysfunction (CTD). Furthermore we calculated kyn/trp ratio as estimated IDO activity and performed correlation analyses with the age of the patients.

Results and Discussion: We observed that urine kyn/trp ratio in elderly patients after renal tx with acute rejection and CTD was significantly increased in comparison with younger patients with acute rejection and CTD. However, no difference was found in the urine kyn/trp ratio in elderly and younger patients without graft rejection. We found out furthermore that urine trp level as well as kyn and 3-OH-kyn levels significantly correlated with age in elderly patients after renal tx with acute rejection and CTD, while no such correlation was found in elderly without graft rejection. Hereby we documented for the first time clearly the link between IDO/trp metabolism along kyn pathway, renal graft rejection and ageing. Based on our pilot analyses we pointed out connection between IDO metabolism and age in patients who underwent renal transplantation and suffered from acute rejection or CTD.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by projects VEGA 1/0667/14 and VEGA 1/0223/15.

ROLE OF NUCLEOSIDE TRANSPORTERS IN TRANSPLACENTAL PERMEATION OF NUCLEOSIDE DERIVED ANTIVIRALS

Lukáš Červený, Zuzana Ptáčková, Sára Karbanová, Lucie Jirásková, Martina Čečková, František Štaud

Department of Pharmacology and Toxicology Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

E-mail: cervenyl@faf.cuni.cz

Introduction: Transplacental permeation of antivirals is required to prevent mother to child transmission of HIV, HBV and/or HCV. As most antivirals are molecules derived from nucleosides it can be hypothesized that their cellular uptake might be mediated by nucleoside transporters.

Aims: In our study we aimed to investigate whether equilibrative nucleoside transporters (SLC29A) and/or concentrative nucleoside transporters (SLC28A) participate in transplacental permeation of anti-HIV drugs (abacavir, zidovudine, and emtricitabine) and/or anti-HCV drug (ribavirin).

Methods: For purpose of this project we used *in vitro* (accumulation in placental choriocarcinoma derived BeWo cells), *ex vivo* (accumulation in fresh villous fragments and microvillous membrane vesicles isolated from human placenta), and *in situ* (dual perfusion of rat term placenta) experimental approaches and qRT-PCR to quantify levels of gene expression.

Results and Discussion: We demonstrated that transplacental passage of ribavirin is strictly dependent on nucleoside transporters. Both nucleoside transporters and passive diffusion are needed for abacavir to overcome transplacental barrier. On the other hand in the case of zidovudine and emtricitabine we did not observe any involvement of nucleoside transporters in transplacental pharmacokinetics. Moreover, we investigated that expression of some nucleoside transporters (CNT2) may be gestation stage-dependent and are likely to certain extent modulated by epigenetic or differentiation affecting agents. In conclusion our findings are of importance when assessing fetal antiviral exposure during gestation. We also suggest that fetal exposure to ribavirin or abacavir might be affected by drug-drug interactions with concomitantly administered medications.

ACKNOWLEDGMENT

This research was financially supported by Czech Science Foundation (GACRP303/120850), by GAUK 812216/C/2016 and SVV/2016/260-293 and by GAUK 324215/C/2015 and SVV/2016/260-293

PALBOCICLIB (PD 0332991) REVERSES ABCB1 AND ABCG2 TRANSPORTER-MEDIATED MULTIDRUG RESISTANCE

Daniela Číhalová, Aleš Šorf, Martina Čečková, František Štaud

Dpt. of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, Hradec Králové 500 05

E-mail: cihad6aa@faf.cuni.cz, martina.ceckova@faf.cuni.cz

Introduction: Palbociclib is a cyclin-dependent kinase inhibitor recently approved for the treatment of advanced breast cancer. ABC efflux transporters play an important role in drug disposition and their overexpression can confer multidrug resistance (MDR) to various agents in cancer cells.

Aims: The main aim of this study was to elucidate interactions of palbociclib with ABCB1, ABCG2 and ABCC1 transporters and to address whether the ABC transporters are causative of MDR to palbociclib and whether palbociclib can reverse MDR of cancer cells to conventional chemotherapeutics and potentiate their cytotoxic effect through modulation of ABC transporters *in vitro*.

Methods: Using XTT cell proliferation, ATPase and intracellular accumulation assays, we investigated interactions between palbociclib and ABC transporters in MDCKII cell lines overexpressing ABCB1, ABCG2 and ABCC1. Combination index analysis was also employed to identify synergistic interactions between palbociclib and conventional antineoplastic drugs in MDCKII and cancer cells.

Results and Discussion: Palbociclib inhibited the proliferation of parental, ABCB1-, ABCG2- and ABCC1-overexpressing MDCKII cells to a similar extent suggesting that none of the ABC transporters confer resistance to this compound. Palbociclib significantly inhibited ABCB1- and ABCG2-mediated effluxes of daunorubicin and mitoxantrone in MDCKII-ABCB1 and MDCKII-ABCG2 cells, respectively, with no effect on the accumulation in MDCKII-ABCC1 and parental cells. Moreover, palbociclib enhanced the sensitivity of ABCB1- and ABCG2-overexpressing cells to ABCB1 and ABCG2 substrates, respectively, and its application with other chemotherapeutic drugs led to a significant synergy in MCF-7 breast cancer cell line, which could be attributable to the inhibitory activity of palbociclib toward ABCB1 and ABCG2. In conclusion, ABCB1, ABCG2 and ABCC1 do not confer cellular resistance to palbociclib. Palbociclib, however, can modulate ABCB1- and ABCG2-mediated MDR by inhibiting the efflux of the transporters' substrates which leads to synergistic antiproliferative effects. Therefore, palbociclib represents a promising approach for the reversal of ABCB1- and ABCG2-mediated MDR.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by GACR project No. 16-26849S.

BRAIN DOPAMINERGIC AND NORADRENERGIC SYSTEMS AS CENTERS REGULATING LIVER CYTOCHROME P450 IN THE RAT

Władysława Anna Daniel

Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, Smeżna Street 12, 31-343 Kraków, Poland

E-mail: nfdaniel@cyf-kr.edu.pl

Cytochrome P450 is an enzyme important to psychopharmacology and therapy, since it metabolizes psychotropic drugs and endogenous neuroactive substrates involved in the action of psychotropic drugs (neurosteroids, dopamine and serotonin precursors) in both the liver and brain. Moreover, psychotropic drugs affect cytochrome P450, which may be partly connected with their pharmacological action in the brain.

Recent studies indicate that monoaminergic systems of the brain (dopaminergic, noradrenergic and serotonergic) may contribute to the physiological regulation of cytochrome P450 expression by engaging neuroendocrine mechanisms. These systems innervate the hypothalamic structures (the paraventricular nuclei, arcuate nuclei, median eminence) connected with regulation of pituitary hormone secretion, which leads to changes in the levels of blood hormones (growth hormone, corticosterone, thyroid hormones) regulating liver cytochrome P450 via their respective membrane or cytosolic/nuclear receptors. In general, brain catecholaminergic systems (dopaminergic and noradrenergic) produce a stimulatory effect on rat CYP2C11, CYP3A and CYP2B, and an inhibitory action on CYP1A. On the other hand, the brain serotonergic system seems to exert predominantly an opposite effect on cytochrome P450 compared to the catecholaminergic ones.

Our research into local intracerebral injections of specific neurotoxins (to produce lesion) or agonists (to stimulate particular pathways/receptors) showed that the action of individual brain systems on the endocrine regulation of cytochrome P450 was pathway- or structure-dependent. Hence the dopaminergic tuberoinfundibular pathway (which increased growth hormone and decreased T3 levels) stimulated the expression and activity of CYP2C11, CYP2B and CYP3A, but inhibited that of CYP1A. The dopaminergic mesolimbic pathway that engages the nucleus accumbens (which increased corticosterone and decreased T3 levels) stimulated CYP3A expression and inhibited CYP1A one. The observed effects proceeded via D2 receptors located in the pituitary or nucleus accumbens, respectively. The dopaminergic nigrostriatal pathway did not affect cytochrome P450.

Similar effects on cytochrome P450 were produced by the brain noradrenergic system, yet the brain pathways and mechanisms involved were different. A general lesion of the brain

noradrenergic system (which decreased growth hormone and testosterone levels, increased corticosterone level and regulated thyroid hormone levels) increased the expression and activity of CYP1A, but diminished those of CYP2C11, CYP3A, and tended to do so in the case of CYP2B. The observed negative effect of the general noradrenergic lesion on CYP2/3 isoforms may be due to the damage to noradrenergic innervation of the arcuate nuclei (producing a growth hormone release factor) and, possibly, also of the median eminence (releasing noradrenaline to hypothalamo-pituitary circulation). On the other hand, lesion of the dorsal noradrenergic pathway innervating the paraventricular nuclei (i.e. neurons that produce somatostatin, a growth hormone inhibitory factor) led to an opposite effect on the investigated CYP isoforms. The effect of stimulation of specific noradrenergic receptor types/subtypes (α_1 , α_2 , β_1 , β_2) engaged in the observed central neuroendocrine regulation of CYP enzymes is currently under study.

The obtained data indicate that drugs acting on central catecholaminergic systems, such as neuroleptics or antidepressants, may affect liver cytochrome P450 not only by their action in the periphery (e.g. at the level of the liver or peripheral glands), but also via their interaction with brain neurotransmission which affects the central neuroendocrine regulation of enzyme expression. Hence the effect of neuroactive drugs on liver cytochrome P450 should be studied *in vivo* to elucidate any possible physiological mechanisms of enzyme regulation including these involving the brain neuroendocrine system.

VÝVOJ LÉČIVÉHO PŘÍPRAVKU SOMATOBUNĚČNÉ TERAPIE U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S VYSOCE RIZIKOVÝMI SOLIDNÍMI NÁDORY

Regina Demlová^{1,2}, Peter Múdry³, Lenka Zdražilová-Dubská^{1,2}, Jaroslav Šterba³, Eva Matoulková^{1,2}, Dalibor Valík^{1,2}

1) Farmakologický ústav LF MU, Brno

2) Masarykův onkologický ústav, Brno

3) Klinika dětské onkologie, FN Brno

E-mail: demlova@med.muni.cz

Poznání klíčové role dendritických buněk v procesu zahájení imunitní reakce a možnost jejich přípravy ve velkém množství in vitro vedly k úvahám o jejich využití v imunoterapii nádorových onemocnění. V principu jde o to, že monocyty periferní krve pacientů vybraných pro imunoterapii se získávají v průběhu leukaferézy. Z monocytů se pak připraví velké množství nezralých dendritických buněk v přítomnosti cytokinů GM-CSF a IL-4. V další fázi dojde k diferenciaci monocytů v nezralé dendritické buňky. Další postup závisí na typu nádorového antigenu, který je pro imunoterapii zvažován. Při použití usmrcených nádorových buněk jako zdroje celého spektra nádorových antigenů je prvním krokem inkubace dendritických buněk s nádorovými buňkami. Po pohlcení nádorových buněk jsou následně dendritické buňky aktivovány a zralé dendritické buňky jsou poté jako protinádorová vakcína podány zpět pacientovi. Dosavadní zkušenosti z publikovaných studií ukazují dobrou toleranci léčby a navýšení imunitní odpovědi. Tento typ vyvíjeného léčivého přípravku patří mezi tzv. léčiva pro moderní terapie – Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP) s náročnými regulačními požadavky na vývoj a výrobu v režimu GMP (Správné výrobní praxe).

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně cestou Farmakologického ústavu je držitelem oprávnění k výrobě protinádorových vakcín z autologních dendritických buněk v rámci svých čistých prostor ACIU, které jsou certifikovány SÚKLEM. V rámci nutnosti dodržení legislativních požadavků jsou takto vysoce inovativní léčebné postupy připravovány pouze omezeném počtu pracovišť v České republice, z nichž Lékařská fakulta MU je jediným pracovištěm akademickým.

Ve spolupráci s Klinikou dětské onkologie FN Brno jsme v září 2015 iniciovali zahájení klinické studie fáze I u dětských pacientů s high-risk solidními nádory. Zadavatelem klinické studie je LF MU v Brně a podporu provádění klinické studie realizujeme cestou CZECRIN (Czech Clinical Research Infrastructure Network). Léčebným principem, který je v této studii navržen a hodnocen, je zvýšení imunitní odpovědi stimulací cytotoxických Th-lymfocytů. Hlavními cíly studie jsou prokázání bezpečnosti a získání pilotních dat o předběžné účinnosti.

Kritickou podmínkou k zařazení do této studie je odběr vitální nádorové tkáně která je zpracovávána spolu s autologně leukafereticky získanými leukocyty, produktem je pak vlastní autologní vakcína jako léčivý přípravek moderní somatobuněčné terapie. V současné chvíli je do studie zařazeno 17 pacientů, aplikace proběhla u prvních 5 dětských pacientů, další detailnější pilotní data budou prezentována během ústního sdělení.

PODĚKOVÁNÍ

Práce je podpořena projekty velkých infrastruktur Lékařské fakulty Masarykovy univerzity ACIU LM 2011017 a CZECRIN LM2015090.

28-DAY HESPERIDIN TREATMENT IMPROVED ENDOTHELIUM-DEPENDENT VASODILATION IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

Lukáš Dobiaš, *Miriam Petrová*, Róbert Vojtko, Viera Kristová

Dpt. of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine, Comenius University, Sasinkova 4, 81372 Bratislava

E-mail: lukas.dobias@fmed.uniba.sk

Introduction: Hesperidin is the most common flavonoid found in citrus fruits and is expected to exert relevant vasodilation benefits. The underlying physiological actions are not yet satisfactorily explained.

Aims: The present study aimed to explore the effect of hesperidin on the vascular responses in normotensive and hypertensive rats and the involvement of NO synthase and K_v channels.

Methods: 15 week old Wistar and spontaneously hypertensive rats (SHR) were randomized to orally receive either hesperidin (50 mg/kg/day) or a corresponding volume of the water for 28 days. Femoral arteries with intact endothelium were collected immediately following sacrifice and placed into modified Krebs-Ringer solution (NaCl 119 mmol.l^{-1} , KCl 4.7 mmol.l^{-1} , MgSO_4 25 mmol.l^{-1} , KH_2PO_4 1.2 mmol.l^{-1} , glucose 11.1 mmol.l^{-1} , CaCl_2 2.5 mmol.l^{-1} , EDTA 0.03 mmol.l^{-1} , gassed with 95% O_2 and 5% CO_2). Femoral arteries free of surrounding tissue were cut into 2 mm long rings and mounted in the chamber of Mulvany Halpern isometric myograph. Vascular responses of isolated femoral arteries were measured in control conditions and during inhibition of NO synthase (L-NNA) and inhibition of K_v channels (4-AP).

Results and discussion: Endothelium-dependent vasodilation in SHR was significantly improved by the treatment with hesperidin. The contraction responses after L-NNA were increased in all groups of rats. The inhibition of K_v channels significantly reduced endothelium-dependent vasodilation only in SHR treated with hesperidin. The results of our experiment indicate, that hesperidin might improve the endothelial function in hypertension possibly through the enhancement of K_v channel activity.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by project Grant UK/330/2014.

IZOFORMY ŤAŽKÝCH REŤAZCOV MYOZÍNU VO VZŤAHU K SRDCOVÉMU ZLYHÁVANIU RÔZNEJ ETIOLÓGIE

Gabriel Dóka¹, Jana Mlynárová¹, Peter Křenek¹, Eva Goncalvesová², Ján Kyselovič¹, Ján Klimas¹

1) Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Odbojárov 10, 83232, Bratislava

2) Oddelenie zlyhávania a transplantácie srdca, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Pod Krásnou hôrkou 1, 83348 Bratislava

E-mail: doka@fpharm.uniba.sk

Úvod: Srdcové zlyhávanie je syndróm a záverečná etapa mnohých srdcových ochorení s rozličnou etiológiou. Aj z toho dôvodu nie je jeho liečba kauzálna, doposiaľ sa nepodarilo jednoznačne identifikovať od etiológie nezávislé faktory, ktoré by priamo ovplyvňovali vývrhovú funkciu srdca.

Ciele: Izoformy ťažkých reťazcov myozínu a konkrétne ich pomerné zastúpenie v myokarde srdca by mohlo byť vo vzťahu k veľkosti vývrhovej funkcie srdca a pritom by ich expresia mohla byť nezávislá od príčiny srdcového zlyhávania.

Metódy: Analyzovali sme expresiu dominantných izoforiem ťažkých reťazcov myozínu MYH6 a MYH7 v explantovaných ľudských srdciach pacientov s terminálnym štádiom srdcového zlyhávania ako aj v ľavých komorách zvieracích modelov srdcového poškodenia – izoprenalínom navodenej hypertrofie srdca a daunorubicínom navodenej subchronickej kardiotoxicity u potkanov.

Výsledky a diskusia: Percentuálne zastúpenie izoformy MYH6 v ľavých komorách bolo konzistentne nižšie pri srdcovom poškodení nezávisle od etiológie, pohlavia a veku, u ľudí aj u experimentálnych zvierat. Hodnoty percentuálneho zastúpenia MYH6 pozitívne korelovali s tlakom v ľavej komore ($R^2 = 0,99$) a kontraktilnou funkciou srdca ($+dP/dt \max$; $R^2 = 0,89$) u zvierat. U pacientov so terminálnym štádiom srdcového zlyhávania sme zaznamenali, že tí s najvyšším percentuálnym zastúpením MYH6 mali aj najvyššie hodnoty diagnosticky a klinicky významných parametrov NT-proBNP, LVEDD a naopak najnižšie hodnoty glomerulárnej filtrácie (eGFR) a majú teda najvyššie riziko kardio-renálneho syndrómu a úmrtia. Pritom dlhodobá farmakoterapia betablokátormi percentuálne zastúpenie MYH6 mierne zlepšovala ($p < 0,05$). Výsledky indikujú, že srdcové izoformy ťažkých reťazcov myozínu MYH6 a MYH7 by mohli byť od etiológie srdcového poškodenia nezávislým farmakoterapeutickým cieľom pre ďalší výskum a liečbu srdcového zlyhávania.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená grantmi VEGA 1/0981/12, VEGA 1/0564/13, APVV-0887-11.

ANALÝZA REGULÁCIE EXPRESIE GALEKTÍNU-8 V ĽUDSKÝCH ENDOTELOVÝCH BUNKÁCH

Lenka Fáber¹, Ladislav Mirossay¹, Lenka Varinská^{1, 2}

1) Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Trieda SNP č. 1, 040 11 Košice, Slovenská republika

2) Úsek pre biomedicínsky výskum, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a.s., Ondavská 8, 040 11 Košice, Slovenská republika

E-mail: lenka.faber@yahoo.com

Úvod: Galektíny patria do rodiny proteínov schopných rozpoznať a viazať cukrové zbytky s vysokou afinitou pre β -galaktozidy na bunkovom povrchu a extracelulárne glykoproteíny a glykolipidy. Vzhľadom na rozmanitú lokalizáciu galektínov a ich schopnosť tvorby oligomérov, nie je prekvapujúce, že sú zahrnuté v mnohých biologických procesoch ako je prežívanie, rast a transformácia bunky. Okrem fyziologických procesov sú zapojené do patogenézy viacerých ochorení, medzi ktoré patria aj nádorové ochorenia. Ich úloha bola zistená v nádorovej transformácii, metastázovaní, úniku imunitnej reakcie organizmu a v nádorovej angiogenéze. Doposiaľ bolo identifikovaných 19 druhov galektínov, pričom v endotelových bunkách boli detekované štyri z nich, galektín-1, -3, -8 a -9, ktoré patria v súčasnej dobe medzi najviac študované galektíny v súvislosti s nádorovým rastom, pričom najmenej poznatkov je získaných o galektíne-8.

Ciele: Súčasné štúdie preukázali, že galektín-8 je zapojený v procese tvorby nových ciev, v migrácii a bunkovej adhézii. Cieľom našej práce bola analýza regulácie expresie tohto glykán-viažuceho proteínu v endotelových bunkách izolovaných z ľudskej umbilikálnej vény.

Metódy: Na detekciu expresie študovaného lektínu sme využili analytickú metódu Western blot a prietokovú cytometriu.

Výsledky a diskusia: V štúdiách sa doposiaľ uvádza, že prítomnosť séra neovplyvňuje expresiu galektínu-8. Nami získané výsledky preukazujú, že v prítomnosti ľudského séra a rastových faktorov dochádza k zvýšeniu expresie tohto lektínu. Bola pozorovaná koncentračná závislosť ľudského séra na expresiu galektínu-8. V prípade absencie ľudského séra je viditeľný pokles expresie galektínu-8. V prítomnosti rastových faktorov ako je vaskulárny endotelový rastový faktor a bazálny fibroblastový rastový faktor je pozorované zvýšenie expresie glykán-viažuceho lektínu. Výsledky naznačujú, že ľudské sérum ako aj prítomnosť rastových faktorov ovplyvňujú expresiu galektínu-8 v endotelových bunkách.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola finančne podporená grantom APVV-0408-12 a APVV-14-0731.

PROBIOTIKÁ VO VETERINÁRNEJ MEDICÍNE

Monika Fedorová¹, Mária Banasová¹, Dana Marcinčáková²

1) Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice

2) Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

E-mail: monika.fedorova@wlf.sk

Úvod: Probiotiká sú živé organizmy, ktoré ak sú podávané v adekvátnom množstve, majú prospešný vplyv na hostiteľa. Vyznačujú sa svojim pozitívnymi účinkami pri prevencii a liečbe ochorení tráviaceho traktu, ako aj mnohých chorôb ľudí i zvierat. Mnohými štúdiami bol dokázaný ich podporný efekt na celkové zdravie, odolnosť a úžitkovosť zvierat. Ako látky prírodného pôvodu predstavujú prirodzenú alternatívu voči používaniu antibiotík ako stimulátorov rastu.

Ciele: V práci sme sa zamerali na charakteristiku a zhodnotenie veterinárnych prípravkov obsahujúcich probiotiká, ktoré sú schválené a dostupné v Slovenskej Republike (SR).

Metódy: Zisťovali sme, ktoré probiotické bakteriálne kmene sa v týchto prípravkoch najčastejšie vyskytujú, pre ktoré cieľové skupiny zvierat sú určené a aké sú najčastejšie indikácie na ich podávanie. Zistené údaje boli vyhodnotené a spracované graficky.

Výsledky a diskusia: Celkový počet schválených veterinárnych probiotických prípravkov v SR je 47. Najpoužívanejším probiotickým kmeňom je *Enterococcus faecium*, okrem neho sa v prípravkoch často vyskytujú aj rody *Lactobacillus* sp. a *Bacillus* sp. Medzi prípravkami výrazne prevažujú jednozložkové preparáty, v ktorých sa nachádza len jeden kmeň, resp. druh probiotických baktérií. V kombinácii s probiotikami sa v prípravkoch najčastejšie vyskytujú vitamíny, maltodextrín, prebiotiká a minerálne látky. Najviac prípravkov je určených pre prežúvavce, najmä pre teľatá, a ošipané, u ktorých sa indikujú hlavne pri hnačkách a iných tráviacich poruchách, a po liečbe chemoterapeutikami. Väčšina veterinárnych probiotických prípravkov sa pre jednoduchšiu aplikáciu vyskytuje vo forme práškov určených na rozpustenie alebo primiešanie do krmiva. Prínos tejto práce pre veterinárnych lekárov, spočíva v získaní podrobných informácií o veterinárnych probiotikách, čím vytvára predpoklady pre správne používanie a pre poskytovanie kvalitných odborných informácií a rád pri používaní probiotických veterinárnych prípravkov.

EFFECT OF HIGH FAT DIET ON NEURONAL FUNCTION IN HIPPOCAMPUS OF HYPERTRIGLYCERIDEMIC RATS

Zdenka Gáspárová¹, Barbara Kaprinay^{1,2}, Boris Lipták^{1,2}, Ružena Sotníková¹

1) Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

2) Dpt. of Pharmacology, Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University, Martin

E-mail: zdenka.gasparova@savba.sk

Introduction: Metabolic syndrome (MS) has a negative influence on cognitive abilities and increases the risk of dementia. Coincidence of MS risk factors and impairment of cognitive functions with degenerative or vascular origin starts to be identified as metabolic cognitive syndrome (MCS).

Aims: We studied the effect of 8-week high fat diet (HFD) enriched with 1% of cholesterol and 7.5% of lard on neurotransmission in the hippocampus of hypertriglyceridemic rats (HTG) compared to HTG and Wistar rats on standard diet (SD).

Methods: Wistar+SD ($n=10$), HTG+SD ($n=10$) and HTG+HFD ($n=10$) rats were fed *ad libitum* and the amount of consumed chow was registered. The rats were weighed once a week. On the day of termination, the hippocampus, liver and kidney were separated. The hippocampus was cut to 400 μm slices for electrophysiological extracellular recordings. Input-output measurements were registered in the CA3-CA1 synapse of the hippocampus. Liver and kidney weight were recorded.

Results and Discussion: HTG+HFD rats consumed a significantly high amount of chow during the first week and over this time they significantly increased their body weight gain compared to HTG+SD and Wistar+SD rats. The liver weight significantly increased in HTG+HFD compared to both experimental groups with SD. The kidney weight was significantly lower in both HTG groups, without effect of HFD. In the *stratum pyramidale*, the amplitude of population spike did not differ among the three groups of rats, while the presynaptic fiber volley registered in the *stratum radiatum* significantly increased in HTG+HFD rats. The presented results showed the effect of HFD on the presynaptic component of electrically evoked dendritic response in the hippocampus. Further studies have to be done to elucidate the mechanism of neuronal function changes and putative association with MCS.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by project VEGA 2/0054/15.

ANALYSIS OF MICRORNA IN PLASMA CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER (ASD)

Andrea Gažová¹, Jaroslava Durdiaková², Gabriela Repiská², Jordan Ashley Spaw³, Ana M. Castejon³, Ostatníková Daniela², Kyselovič Ján

1) Institute of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine in Bratislava, Comenius University

2) Institute of Physiology, Faculty of Medicine in Bratislava, Comenius University

3) Department of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy Nova Southeastern University, USA

4) Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy in Bratislava, Comenius University

E-mail: andrea.gazova@fmed.uniba.sk

Background: Autism spectrum disorder (ASD) comprise a group of chronic neurodevelopmental disorders characterized by social and language impairments and restricted and repetitive interests and behaviours (Huang *et al.*, 2015) and including development delay, as well as genetic and psychosocial factors (Čorejová *et al.*, 2014). New studies find that adults with autism are at higher risk for a slew of health problems ranging from diabetes and obesity to heart failure. MicroRNAs (microRNAs) have recently emerged as prominent epigenetic regulators of a variety of cellular processes, including differentiation, apoptosis and metabolism and could identified as potential markers of this process. Therefore we examined the plasma expression profiles of microRNAs - 1, 133a, 499, 29b, 208a and 208b in autism ASD children plasma.

Aims: We aim to determine the potential cardiac-specific microRNAs in plasma levels children with ASD and compare it with plasma levels children without ASD.

Methods: Total microRNAs were extracted from the blood samples of 4 children with ASD from autism centre, (NOVA University Florida), as well as 4 children from ACVA (Slovak) and 4 children without ASD. We analysed plasma levels of microRNAs with real-time polymerase chain reaction (PCR).

Results and Discussion: In our laboratory we analysed 6 plasma microRNAs as potential markers of cardiac pathophysiology in oncology and cardiac patients. In the plasma all three groups (with ASD, without ASD) were absent microRNAs 499, 29b, 208a and 208b. We determinate higher relative quantification microRNAs 1 and 133a in the plasma ASD children compared with children without ASD. We identified in plasma Florida children with ASD significant higher relative quantification microRNAs 1 and 133a compared with Slovak children with ASD. The differentially expressed microRNAs 1 and 133a in plasma children with ASD may be used as diagnostic markers possible cardiovascular pathology in ASD children.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by project APVV-14-0416.

MECHANIZMUS ANTIPROLIFERATÍVNEHO ÚČINKU HOMOSPISULOSÍNU

Gabriela Gönciová¹, Alexandra Nagyová¹, Martin Kello¹, Miroslava Martinková², Kvetoslava Stanková, Ladislav Mirossay¹, Martina Bago Pilátová¹

1) Ústav Farmakológie LF UPJŠ, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

2) Katedra organickej chémie PF UPJŠ; Moyzesova 11, 040 11 Košice

E-mail: martina.pilatova@upjs.sk

Úvod: Napriek pokroku a vývoju nových liečebných postupov, je v súčasnej dobe používa chemoterapia stále spojená s vysokou toxicitou čo má za následok zníženú kvalitu života pacienta. Prírodné zlúčeniny zohrajú dôležitú úlohu v liečbe a prevencii ochorenia po tisíce rokov. Cieľom vedeckých skupín po celom svete je hľadať nové látky s potenciálnym v protinádorovým účinkom, pričom prírodné zlúčeniny predstavujú zdroj s obrovskou štruktúrnou rozmanitosťou. Homospisulosín je syntetickým analógom prírodného spisulosínu izolovaného z morskej jedlej mušle *Spisula polynyma*, ktorý vykazoval v predklinických štúdiách *in vitro* aj *in vivo* protinádorovú aktivitu. V I. fáze klinických skúšok, kde sa použil na terapiu pokročilých solídnych nádorov, však zlyhal v dôsledku hepato- a neurotoxicity, ktorá nebola závislá od dávky. O homospisulosíne je zatiaľ iba veľmi málo dostupných informácií. Tie však postačujú na to, aby nás motivovali k preštudovaniu jeho cytotoxického účinku. V našich predošlých experimentoch na Jurkat bunkách sme zistili hodnotu $IC_{50} < 10 \mu M$ a analýzou bunkového cyklu nárast sub-G₁ frakcie, ktorá je považovaná za apoptickú.

Ciele: Cieľom tejto práce bolo potvrdiť proapoptotický účinok homospisulosínu.

Metódy: Proapoptotický účinok sme sledovali flowcytometrickou analýzou.

Výsledky a diskusia: Proapoptotický účinok homospisulosínu bol potvrdený pomocou farbenia annexinom, ktorým sa v skoršej fáze apoptózy detekuje externalizovaný fosfatidylserín. S narastajúcou dobou inkubácie buniek s testovanou látkou narastal aj počet annexin pozitívnych buniek. Sledovaním zmien mitochondriálneho potenciálu pomocou TMRE sondy sme spozorovali zvyšovanie počtu buniek so zníženým membránovým potenciálom s narastajúcou dobou inkubácie. To viedlo k zvýšeniu hladiny Bcl-2 v cytoplazme. Analýzou Bcl-2 sme zistili, že Bcl-2 je vo fosforylovanej a teda neaktívnej forme a nemôže tak sprostredkovať svoj antiapoptotický účinok.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla za finančnej podpory grantovej agentúry MŠ SR (No. 1/0168/15, No. 1/0322/14; No. 1/0398/14; 1/0546/16) a realizáciou projektu Medicínsky univerzitný park

v Košiciach (MediPark, Košice) ITMS:26220220185 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.

NOVÉ ANTIMIKROBNÍ PŘÍPRAVKY V ĚŘE MIKROBIÁLNÍ REZISTENCE

Markéta Hanslianová

Oddělení klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Brno

E-mail: m.hanslianova@seznam.cz

Antibiotika jsou léčivé přípravky užívané k profylaxi a terapii infekčních nemocí již téměř 100 let. Za tuto dobu došlo k vývoji celé řady skupin antibiotik, jejichž používáním se z mnoha infekčních chorob s vysokou úmrtností stala onemocnění dobře léčitelná, bez fatálních následků. Současně s používáním antibiotik se rozvíjely mechanismy rezistence bakterií k těmto látkám. Mnohdy nevhodným zacházením s antibiotiky a podceněním možností šíření rezistence mezi bakteriálními kmeny čelíme na počátku nového století a tisíciletí situaci, kdy mnohé antimikrobní přípravky ztrácejí účinnost a je opět poptávka po nových antiinfektivech.

Jedním z nových antibiotik přicházejících na český trh je dalbavancin (Xydalba). Jde o lipoglykopeptid s účinností vůči G⁺ mikroorganismům, a to včetně rezistentních kmenů (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* – MRSA, rezistentní *Streptococcus pneumoniae*). Patří mezi antibiotika baktericidní, mechanismem účinku je blokáda syntézy buněčné stěny a je indikován k terapii akutních bakteriálních infekcí kůže a kožních struktur (ABSSSI) u dospělých. Jeho nespornou výhodou a tím, co jej odlišuje od antibiotik s podobným spektrem a indikacemi, je dlouhý biologický poločas umožňující dávkování 1x týdně (1000 mg a za týden 500 mg) nebo 1x za 14 dní (1 500 mg v jedné infúzi). Infúzní aplikace trvá 30 minut a jednotýdenní podání nevyžaduje zavádění centrálního katétru. Dalbavancin vytváří vysoké koncentrace v kůži, měkkých tkáních i kostech. Experimentální a pilotní studie v indikacích jako jsou infekční endokarditidy nebo osteomyelitidy naznačují možnosti dalšího využití v budoucnu. Ani po podávání 1x týdně po dobu až 8 týdnů nebyla u zdravých dospělých zjištěna žádná kumulace. Ve studii sledující farmakokinetiku a bezpečnost u dospívajících (12 – 17 let) byla s úspěchem užitá dávka 15 mg/kg. Dalbavancin není metabolizován cytochromem P450, neovlivňuje ani efluxní transportéry či další cíle, které by byly zdrojem interakcí. Dávku je nutné redukovat jen u pacientů s kreatininovou clearance <30 ml/min. Doposud nebyla zaznamenána oto- ani nefrotoxicita; s souvislostí s *i.v.* podáním byl zaznamenán „red-man syndrom“; vzácně anafylaxe. V současné době, kdy nozokomiální infekce citelně zasahují do kvality života pacientů i do ekonomiky nemocnic, je možnost podávání antibiotika v systému OPAT (Outpatient Parenteral Antimicrobial Therapy) velmi žádoucí.

STUDIUM ANTIPROLIFERAČNÍCH ÚČINKŮ PRENYLOVANÝCH FLAVONOIDŮ Z *PAULOWNIA TOMENTOSA* U LIDSKÉ NÁDOROVÉ BUNĚČNÉ LINIE

*Lucie Holaňová*¹, *Kristýna Hvězdová*¹, *Zuzana Hanáková*², *Peter Kollár*¹

1) Ústav Humánní Farmakologie a Toxikologie, Farmaceutická Fakulta, Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno, Palackého 1946/1, 612 42, Brno

2) Ústav Přírodních Léčiv, Farmaceutická Fakulta, Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno, Palackého 1946/1, 612 42, Brno

E-mail: lucieholanova9@gmail.com

Úvod: *Paulownia tomentosa*, strom hojně využívaný v tradiční čínské medicíně, je bohatým zdrojem sekundárních metabolitů, zejména flavonoidů, které se v rostlině vyskytují často modifikované. V poslední době se pozornost upíná především k prenylovaným flavonoidům vykazujícím řadu biologických aktivit. Například tomentodiplakon B *in vitro* inhibuje proliferaci lidské monocytární leukemie blokadou přechodu z G1 do S fáze buněčného cyklu, u dalších byla prokázána také antibakteriální či protizánětlivá aktivita.

Cíle: Na Ústavu přírodních léčiv FaF VFU bylo izolováno 20 prenylovaných flavonoidů z plodů *Paulownia tomentosa*, jejichž biologické účinky jsou v současné době testovány na ÚHFT FaF VFU za účelem porovnání antiproliferační a cytotoxické aktivity vůči buněčné linii THP-1 (lidská monocytární leukemie) a vytipování látek s potenciálním cytostatickým účinkem.

Metody: Za účelem analýzy buněčné proliferace a viability po expozici testovaným látkám v různých časových úsecích bylo provedeno hemocytometrické stanovení, WST-1 analýza a LDH analýza.

Výsledky a diskuse: Z 20 testovaných prenylovaných flavonoidů vykázaly nejvýznamnější antiproliferační účinky 4 látky: 3'-O-methyl-5'-hydroxydiplakon ($IC_{50(24hod)} = 9,23 \pm 0,53 \mu\text{mol/l}$, $LD_{50(24hod)} = 21,56 \pm 1,56 \mu\text{mol/l}$), 3'-O-methyl-5'-methoxydiplakon ($IC_{50(24hod)} = 15,32 \pm 1,76 \mu\text{mol/l}$, $LD_{50(24hod)} = 29,93 \pm 0,80 \mu\text{mol/l}$), 3',4'-O-dimethyl-5'-hydroxydiplakon ($IC_{50(24hod)} = 15,85 \pm 0,80 \mu\text{mol/l}$, $LD_{50(24hod)} = 36,02 \pm 1,23 \mu\text{mol/l}$) a 3'-O-methyldiplakon ($IC_{50(24hod)} = 42,99 \pm 1,46 \mu\text{mol/l}$, $LD_{50(24hod)} = \sim 450 \mu\text{mol/l}$). U těchto látek budou dále provedeny analýzy jejich vlivu na buněčný cyklus a detailněji bude studován mechanismus jejich účinku na molekulární úrovni.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena z projektu 328/2016/FaF IGA VFU.

SYNDROM Z ODNĚTÍ, FARMAKOGENETIKA A ANALGOSEDACE NA DĚTSKÉ JEDNOTCE INTENZIVNÍ PÉČE

Karolína Hronová^{1,2}, Pavla Pokorná^{1,2}, Lenka Posch², Ondřej Slanař¹

1) Farmakologický ústav 1. lékařské fakulty, Univerzity Karlovy v Praze, Albertov 4, 128 00, Praha 2

2) Klinika dětského a dorostového lékařství Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Ke Karlovu 2, 121 00, Praha 2

E-mail: karolina.hronova@lf1.cuni.cz

Úvod: Kumulativní dávka fentanylu nebo midazolamu a prolongovaná analgosedace jsou prokázané rizikové faktory syndromu z odnětí na dětské jednotce intenzivní péče, zatímco vliv polymorfismu nebyl u kriticky nemocných dětí dosud studován.

Cíle: Cílem této studie bylo hodnocení vlivu genetických polymorfismů na farmakodynamické parametry léků užívaných v analgosedaci, dále také na vznik syndromu z odnětí v této populaci.

Metody: Od ledna 2010 do září 2013 bylo prospektivně přijato do observační studie celkem 39 ventilovaných pacientů, léčených sufentanilem, tramadolem nebo midazolamem, novorozenců ($n = 30$) a dětí starších 3 měsíců ($n = 19$). U všech subjektů bylo průběžně hodnoceno COMFORT a SOS skóre, doba léčby (h) a kumulativní dávky sufentanilu (mg/kg), midazolamu (mg/kg) a tramadolu (mg/kg). Dále byla provedena genotypizace *CYP2D6*, *CYP3A5*, *COMT*, *MDR1*, *OPRM1* a *PXR* polymorfismy (PCR/RFLP). Výsledky byly hodnoceny pomocí Mann-Whitneyho testu a χ^2 testu, s hladinou významnosti $P < 0.05$.

Výsledky a diskuze: Medián (rozmezí) COMFORT skóre byl u novorozenců 11 (2 - 26), u dětí 16 (8 - 31). SOS skóre bylo 1 (0 - 11) u novorozenců a 2 (0 - 12) u dětí. Byla zjištěna statisticky významná souvislost mezi syndromem z odnětí (7 novorozenců, 9 dětí) a dobou léčby a kumulativní dávkou midazolamu [184 h (105 - 625) vs. 82 h (7 - 219); 20.38 mg/kg (10.63 - 51.25) vs. 10.57 mg/kg (2.12 - 49.83), $P < 0.01$], a také mezi dobou léčby a kumulativní dávkou sufentanilu [378 h (177 - 790) vs. 88.5 h (0 - 211); 81.58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (33.83 - 208.4) vs. 20.55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (5.1 - 162.29), $P < 0.01$] u novorozenců. U dětí byla tato spojitost signifikantní pouze pro sufentanil [234 h (136 - 885) vs. 142 h (22 - 184); 95.61 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (20.21 - 918,52) vs. 34.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (4.5 - 91.69), $P = 0,02$]. Vliv polymorfismu na účinek analgosedace, včetně incidence syndromu z odnětí, prokázán nebyl. Lze konstatovat, že kumulativní dávka a doba léčby sufentanilem významně zvyšuje riziko vzniku abstinčního syndromu u kriticky nemocných novorozenců a dětí, v souladu s pozorováními popsányými u jiných opioidních léčiv.

ÚČAST GHRELINU VE FENTANYLEM NAVOZENÝCH ÚČINCÍCH V *NUCLEUS ACCUMBENS* U POTKANŮ

Charalambous Chrysostomos¹, Pushkina Nina¹, Lapka Marek², Šustková-Fišerová Magdalena²

1) Klinika adiktologie 1. LF UK a VFN v Praze, Apolinářská 4, 12800 Praha

2) Ústav farmakologie, 3. LF UK v Praze, Ruska 87, 10000 Praha

E-mail: nina.pushkina@vfn.cz

Úvod: Naše předchozí studie u potkanů doložily zapojení centrálních mechanismů orexigenního peptidu ghrelinu v morfinem indukovaném uvolňování dopaminu i endokanabinoidů v nucleus accumbens shell (NACSh), tedy ve struktuře důležité pro pocíťování odměny a následné podmiňovací adaptační změny, resp. pro rozvoj závislosti.

Cíle: Cílem prezentované studie bylo zjistit, zda antagonistu receptoru pro ghrelin (GHS-R1A), látka JMV2959, ovlivní také účinky fentanylu (specifičtějšího agonisty μ -opioidních receptorů) na extracelulární hladiny dopaminu, anandamidu (N-arachidonylethanolamin, AEA) a 2-arachidonoylglycerolu (2-AG) v NACSh u potkanů a jestli jsou tyto efekty navozené působením na GHS-R1A ve ventrální tegmentální oblasti (VTA). Opioidy vyvolaný nárůst dopaminu a AEA v NACSh se pravděpodobně významně podílí na opioidní odměně.

Metody: Použili jsme metodu mikrodialýza „in vivo“ u potkanů, a testovali jsme účinky JMV 2959 ve dvou aplikačních schématech: (i) akutní dávka fentanylu (40 μ g / kg s.c.) s a bez JMV2959 (3 mg /kg) premedikace intraperitoneálně, (ii) akutní dávka fentanylu (30 μ g / kg s.c.), s a bez JMV2959 premedikace (2 a 10 μ g / kg) aplikované do VTA.

Výsledky a diskuze: Aplikace ghrelinového antagonisty vyvolala signifikantní a na dávce závislé snížení fentanylem indukovaného vyplavení dopaminu a zároveň také významný a na dávce závislý zvrát fentanylem navozeného nárůstu anandamidu v NACSh v obou způsobech aplikace. Fentanylem indukovaný pokles koncentrací 2-AG v NACSh byl při premedikaci ghrelinovým antagonistou v závislosti na dávce významně prohlouben. Naše výsledky dokládají významné zapojení ghrelinu do dopaminergních a endokanabinoidních změn v NACSh vyvolaných fentanylem ovlivněním GHS-R1A ve VTA. Výsledky podporují další výzkum potenciálního využití ghrelinového antagonismu k prevenci opioidního relapsu.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za finanční podpory grantů: GAUK748216, GAUK742214, PRVOUK 34/LF1/7, 260277/SVV/2016.

POHLAVNÉ ROZDIELY V KOGNITÍVNYCH FUNKCIÁCH U POTKANOV PO AKÚTNEJ INHIBÍCII DEGRADAČNÉHO ENZÝMU ENDOKANABINOIDOV

Magdaléna Chmelová, Agneša Csánová, Veronika Danevová, Daniela Ježová, Nataša Hlaváčová

Laboratórium farmakologickej neuroendokrinológie, Ústav experimentálnej endokrinológie, BMC SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

E-mail: magdalena.chmelova@gmail.com

Úvod: Endokanabinoidný systém je okrem iného zapojený do regulácie správania a kognitívnych funkcií. Endokanabinoidná signalizácia v mozgu je limitovaná účinnými degradačnými procesmi. Hlavným degradačným enzýmom endokanabinoidu anandamidu je hydroláza amidu mastných kyselín (FAAH). Doterajšie názory na vplyv endokanabinoidného systému na kognitívne funkcie sú rozporuplné. Okrem toho bolo dokázané, že pohlavný dimorfizmus existuje takmer vo všetkých komponentoch endokanabinoidného systému. Doposiaľ však nie sú známe žiadne údaje o pohlavných rozdieloch po inhibícii FAAH vo vzťahu ku kognitívnym funkciám.

Ciele: Cieľom našej štúdie bolo overiť hypotézu, že akútna inhibícia degradačného enzýmu endokanabinoidov FAAH prostredníctvom podania látky URB597, zlepši kognitívne funkcie u potkanov a zároveň vyšetriť možné pohlavné rozdiely.

Metódy: V tejto štúdii bolo použitých 16 samcov a 16 samíc potkanov kmeňa Sprague-Dawley. Zvieratám bola jednorázovo intraperitoneálne podaná látka URB597 v dávke 0,3 mg/kg alebo placebo. Kognitívne funkcie boli hodnotené prostredníctvom testu rozpoznávania nového predmetu (NOR test) počas aktívnej fázy zvierat 40 minút po farmakologickom ovplyvnení. V tomto teste bol za ukazovateľa kognitívnych funkcií považovaný čas, ktorý zviera strávilo exploračiou nového predmetu. Štatistické hodnotenie jednotlivých ukazovateľov v NOR teste bolo vykonané prostredníctvom dvojcestnej ANOVA pre faktory farmakologické ovplyvnenie a pohlavie.

Výsledky a diskusia: Pohlavie ani podanie URB597 nemalo vplyv na prejdenú vzdialenosť a exploračiu familárneho objektu v NOR teste, čo poukazuje na to, že celková motorická aktivita nebola ovplyvnená ani jedným z faktorov. Pohlavie aj podanie URB597 signifikantne ovplyvnili čas strávený exploračiou nového predmetu. Samce potkanov, ktorým bolo podané URB597 explorovali nový predmet signifikantne dlhšie v porovnaní s kontrolnými samcami a tiež v porovnaní so samicami, ktorým bolo podané URB597. Podanie URB597 zvýšilo čas strávený exploračiou nového predmetu, avšak iba u samcov, u samíc tento vplyv nebol pozorovaný. Preukázali sme pohlavný dimorfizmus akútnej inhibície FAAH, ktorá viedla k lepšiemu kognitívnemu výkonu u samcov, nie však u samíc. Záverom, samce boli

senzitivnejšie na moduláciu endokanabinoidného systému, ktorá ovplyvňuje kognitívne funkcie. Naše výsledky zároveň poukazujú na dôležitosť zohľadňovania pohlavia pri vykonávaní experimentov zameraných na sledovanie kognitívnych funkcií.

POĎAKOVANIE

Podporené grantom VEGA 2/0057/15 a APVV-14-0840.

PROTINÁDOROVÝ ÚČINOK LÁTOK IZOLOVANÝCH Z KAPUSTOVITÝCH RASTLÍN

Martina Chripková¹, Viera Tischlerová¹, František Zigo², Natália Antoliková³

1) Ústav farmakológie, Lekárska fakulta UPJŠ Košice

2) Ústav chovu zvierat, UVLF Košice

3) Ústav humánnej a klinickej farmakológie, UVL Košice

E-mail: chripkova.martina@gmail.com

Úvod: Výsledky mnohých epidemiologických a klinických štúdií v posledných rokoch preukázali, že častá konzumácia kapustovitej zeleniny je spojená so zníženým rizikom vzniku nádorových ochorení. Rastliny z čeľade kapustovité (*Brassicaceae*) tvoria špecifické sekundárne metabolity glukozinoláty. Medzi významné produkty hydrolýzy glukozinolátov s protinádorovými účinkami patria izotiokyanáty, indoly a indolové fytoalexíny. Indolové fytoalexíny zohrávajú významnú úlohu pri obrane kapustovitých rastlín pred vonkajšími fytopatogénnymi vplyvmi, vykazujú antimikrobiálne, antifungálne a antiproliferatívne účinky. Medzi najvýznamnejšie patria brasinín, cyklobrasinín a 1-metoxybrasinín.

Ciele: Cieľom práce bolo študovať antiproliferatívny účinok 1-metoxybrasinínu na ľudských nádorových bunkových líniiach.

Metódy: Pomocou skriningového MTS testu a inkorporáciou BrdU sme stanovili antiproliferatívny efekt študovanej látky a sledovali inhibíciu tvorby kolónii analýzou klonogénneho rastu. Potenciálny mechanizmus účinku bol študovaný pomocou real-time qRT-PCR, Western blotu a prietokovej cytometrie.

Výsledky a diskusia: 1-metoxybrasinín vykazoval najvýraznejšie inhibičné účinky na rast buniek Caco-2 (IC 50 = 8,2 μ m). Proliferačná aktivita tejto látky bola potvrdená aj inkorporáciou BrdU do genomickej DNA počas rastu. Po 10 dňovej inkubácii Caco-2 buniek s 1-metoxybrasinínom v rôznych koncentráciách došlo k inhibícii formovania kolónii a k poklesu relatívneho počtu buniek. Analýza bunkového cyklu po inkubácii s 1-metoxybrasinínom poukázala na redistribúciu bunkového obsahu do sub-G0/G1 frakcie, ktorá je považovaná za marker apoptózy. Schopnosť 1-metoxybrasinínu indukovať apoptózu buniek Caco-2 je spojená so zmenami v rovnováhe medzi pro- a antiapoptotickými zástupcami proteínov Bcl-2 rodiny a aktiváciou kaspázy-3. Nárast hladiny ROS, redukcia MMP a zníženie hladiny GSH v bunkách Caco-2 po pôsobení 1-metoxybrasinínu pravdepodobne taktiež prispieva k spusteniu apoptotickej kaskády. Potenciál tejto látky, vyvolať depléciu GSH v nádorových bunkách, by mohol byť využitý na zvýšenie ich citlivosti voči chemoterapeutikám.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporovaná grantom VEGA 1/0103/16.

DEPRESSIVE MODE: THE ROLE OF CYTOCHROME P450s

Magnus Ingelman-Sundberg

Karolinska Institutet, Department of Physiology and Pharmacology, Stockholm, Sweden

E-mail: magnus.ingelman-sundberg@ki.se

Psychotropic drug metabolizing enzymes, including cytochrome P450s, are present in the brain where they not only could contribute to local drug metabolism but also affect local biochemical homeostasis. CYPs, especially CYP2D6 and CYP2C19, are suggested to be involved in the transformation and metabolism of many endogenous substances including neurotransmitters and neurosteroids. Liver and brain levels of CYPs are highly dependent on genetic polymorphism which causes interindividual differences in drug levels and response. However, interindividual differences in local brain expression of these enzymes might also explain the reported associations between genetic polymorphism of e.g. CYP2D6 and CYP2C19 and personality traits, affective behavior, and vulnerability to neuropsychiatric disorders. For example, overexpression of CYP2C19 in mouse brain during fetal life display complete callosal agenesis and a severely underdeveloped hippocampus. Mice with higher fetal CYP2C19 expression show a behavioral phenotype in adult life, with increased stress sensitivity and increased anxiety-like behavior. Stressful life events and stress sensitivity are major risk factors for psychiatric disease making this model highly interesting for investigating systems that are involved in regulating the stress response. The CYP2C19 transgenic mice furthermore showed a hippocampal phenotype as adults, with a smaller and more stress sensitive hippocampal formation that furthermore contained a drastically reduced number of immature (double-cortin positive) neurons. In two different very big human cohorts we have found less depressed mode and bigger hippocampus in subjects who do not express CYP2C19. The maturation and formation of new neurons within the hippocampus has been shown to be critical for normal hippocampal function and the disturbances seen in the mouse model could be the explanation for the displayed smaller hippocampus. In the lecture the endobiotic interactions with the brain CYPs will be reviewed and discussed in relation to human brain diseases. The relation between polymorphism of cytochrome P450 and neuropsychiatric disorders will be summarized.

COMPARISON OF SELECTED METHODS FOR RADIOLABELING OF MONOCLONAL ANTIBODY RAMUCIRUMAB

Jiří Janoušek¹, Pavel Bárta², Lucie Navrátilová¹, František Trejtnar¹

1) Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Charles University

2) Department of Biophysics and Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University

E-mail: janousj2@faf.cuni.cz

Introduction: Vascular endothelial growth factor (VEGF) is one of the most important regulator of angiogenesis, including tumor neovascularization. VEGF receptor 2 (VEGFR2) is a key receptor in tumor neoangiogenesis. Ramucirumab (RAM) is a novel therapeutic anti-VEGFR2 monoclonal antibody (MAb) directed against the extracellular domain of VEGFR2 that inhibits binding of its natural ligand VEGF. Several types of cancer (e.g. gastric, pancreatic, lung or breast cancer) are known for their overexpression of VEGFR2. The MAb RAM labeled with appropriate radionuclides could be potentially used for scintigraphic imaging and targeted radiotherapy of oncological diseases.

Aims: The aim of this work was to develop convenient radiolabeling method for selected radionuclides and to evaluate radiochemical purity and stability of radiolabeled products.

Methods: Two methods of RAM radiolabeling were evaluated in experiments. The first tested method was the optimization of the direct labeling with ^{99m}Tc based on the reduction of disulfide bridges in RAM molecule with 2-mercaptoethanol. The second method was radioiodination (¹³¹I) according to chloramine-T protocol. The radiochemical purity of the prepared antibody was tested by instant thin layer chromatography on silica gel (ITLC) immediately after labeling. To evaluate the stability, the samples were analyzed on various times by size-exclusion high-performance liquid chromatography (SE-HPLC) with radiometric detection. The preparations were incubated 8-24 h at 4°C.

Results and Discussion: The introduced methods enabled effective labeling of RAM with either ^{99m}Tc or ¹³¹I. The obtained radiolabeled preparations exhibited sufficiently high stability. Radioiodination method provided slightly higher radiochemical purity after labeling. However, we observed higher stability provided by direct labeling method with ^{99m}Tc under the used conditions. The tested methods are convenient for radiolabeling of RAM. The developed radiolabeled preparations may be used in further preclinical studies to evaluate biological behavior of labeled RAM *in vitro* or *in vivo*.

ACKNOWLEDGMENT

This project was supported by Charles University: GAUK (998216/C/2016), SVV (260293) and PRVOUK P40.

LEVEL OF NUCLEOSIDE TRANSPORTERS EXPRESSION IN HUMAN CHORIOCARCINOMA DERIVED BEWO CELLS IS MODULATED BY DIFFERENTIATION AND EPIGENOME AFFECTING COMPOUNDS

Lucie Jirásková, Lukáš Červený, František Štaud

Department of Pharmacology and Toxicology Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

E-mail: jiraskl2@faf.cuni.cz

Introduction: Nucleoside transporters (NTs) participate in nucleoside uptake by the placenta and transplacental permeation of nucleoside derived drugs. Mechanisms of regulation of NTs expression have not been thoroughly described yet.

Aims: Therefore, we aimed to analyze effect of differentiation (forskolin and all-trans retinoic acid) or epigenome (sodium butyrate, sodium valproate and 5-azacytidine) affecting compounds on expression of genes encoding NTs; i.e. equilibrative (ENT1, ENT2) and concentrative nucleoside transporters (CNT2, CNT3) in human choriocarcinoma derived BeWo cell line.

Methods and Results: Using qRT-PCR we observed that exposure of BeWo cells to sodium butyrate, sodium valproate, 5-azacytidine or all-trans retinoic acid resulted in moderate changes (\approx 2-fold) in expression of NTs. On the other hand treatment with placentation inducing cAMP-dependent protein kinase A (PKA) activator, forskolin (100 μ M, 48 and 72 hours), caused more pronounced increase of *CNT2* expression (\approx 25 fold). This upregulation of *CNT2* was partly reversed by simultaneous application of a model PKA inhibitor, KT5720 (5 μ M). To elucidate mechanism of *CNT2* upregulation in more details, pilot study with other compounds suggested to increase PKA activity, isoprenaline, caffeine and theophylline, showed no upregulation of *CNT2*. Forskolin-triggered upregulation of *CNT2* was further confirmed at functional level using uptake study with adenosine (17.4nM), a model substrate of *CNT2*. Direct association of increased levels of *CNT2* with syncytiotrophoblast formation was confirmed by mRNA analysis of specific marker of trophoblast differentiation (syncytin-1). Importantly higher level of *CNT2* was observed in the third- trimester compared to first-trimester human placenta.

Discussion: In conclusion we propose that placental NTs might be regulated by inhibition of histone deacetylases (sodium butyrate, sodium valproate), by demethylation (5-azacytidine) or by activation of retinoic acid receptor. Besides these mechanisms we suggest that expression/function of *CNT2* is higher in more differentiated cells and is associated to PKA activity. Higher *CNT2* expression in the more differentiated third-trimester human placenta

might thus be required due to escalated demand of the placenta for exogenous supply of pyrimidine nucleosides as gestation is advancing. In accordance with this finding it can also be predicted that transplacental permeation of nucleoside-derived xenobiotics that are CNT2 substrates increases during gestation.

ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by GAUK 812216/C/2016 and SVV/ 2016/260-293.

FARMAKOKINETICKÝ ŘÍZENÁ STUDIE KARDIOPROTEKTIVNÍCH VLASTNOSTÍ DOMNĚLÉHO AKTIVNÍHO METABOLITU DEXRAZOXANU (ADR-925) PROTI ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITĚ

Eduard Jirkovský¹, Olga Lenčová¹, Anna Jirkovská², Zuzana Pokorná¹, Jaroslav Chládek¹, Petra Brázdová¹, Petra Kovaříková³, Michaela Adamcová⁴, Yvona Mazurová⁵, Tomáš Šimůnek², Martin Štěrba¹

1) Ústav farmakologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové

2) Katedra biochemických věd, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

3) Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

4) Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové

5) Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Šimkova 870, 500 38 Univerzita Karlova

E-mail: jirkovskye@lfhk.cuni.cz

Úvod: Dexrazoxan (DEX) představuje doposud jediné léčivo s jasně prokázanými účinky proti antracyklinové (ANT) kardiotoxicitě jak v experimentálních studiích, ale hlavně v klinické praxi. Přestože je mechanismus účinku DEX tradičně vysvětlován prostřednictvím jeho železo-chelatujícího metabolitu ADR-925, který by měl bránit rozvoji oxidačního poškození v myokardu vyvolaného ANT, přímé důkazy o kardioprotektivní účinnosti ADR-925 či o jeho farmakokinetickém profilu v organismu chybí.

Cíle: Cílem této práce je studium farmakokinetiky ADR-925 a jeho roli v kardioprotektivních účincích DEX *in vitro* a *in vivo*.

Metody: Spontánně bijící neonatální potkaní kardiomyocyty (NVCM) byly použity pro studium metabolizace DEX na ADR-925 a stanovení profilu jeho koncentrací uvnitř buněk, schopnosti ADR-925 pronikat z media do buněk a pro posouzení schopností ADR-925 ochránit NVCM před poškozením ANT. V *in vivo* studii byl DEX podáván králíkům v kardioprotektivním schématu (60 mg/kg, *i.p.*); ADR-925 byl podáván shodně ve stejné dávce 30min infuzí a v další skupině navíc se subkutánním bolusem ve 150. min (60 mg/kg). Koncentrace DEX a ADR-925 v plazmě a myokardu byly stanoveny pomocí validované HPLC/MS metody. Kardioprotektivní účinky byly následně studovány při podání ADR-925 králíkům 45 min před každou dávkou ANT na zavedeném modelu ANT kardiotoxicity (DAU; 3 mg/kg/týdně *i.v.* po 10 týdnů).

Výsledky a diskuze: Exogenně podávaný ADR-925 je schopen pronikat přímo do NVCM i myokardu a dosahovat tam signifikantní expozice a vyšších koncentrací, než jakých bylo dosaženo po podání samotného DEX. Toto zjištění umožnilo přímé hodnocení kardioprotektivního účinku domnělého aktivního metabolitu. Navíc farmakokinetická analýza ukázala na významnou podobnost králičího modelu s klinickými daty. Výsledky

kardioprotektivní studie pak jasně ukázaly, že na rozdíl od DEX, podání metabolitu není schopné navodit významnou ochranu NVCM ani myokardu proti ANT kardiotoxicitě. K tomuto závěru vedlo vyšetření funkčních, morfologických a molekulárních parametrů (např. index kontraktility LK či plazmatické koncentrace srdečního troponinu T). Z našich výsledků vyplývá, že ADR-925, domnělý aktivní metabolit DEX, není zodpovědný za kardioprotektivní účinky DEX proti poškození ANT u NVCM buněk, ani proti chronické ANT kardiotoxicitě u králíka. Kardioprotektivní účinek je tedy patrně spojen s parentní látkou DEX a jinými mechanismy.

PODĚKOVÁNÍ

Podpořeno granty GAČR 13-15008S a PRVOUK 37/05.

MODULAČNÝ VPLYV ANESTÉZY NA KINEMATIKU CÍLIÍ V DÝCHACÍCH CESTÁCH

Marta Jošková¹, Peter Ďurdík², Dušan Koniar³, Libor Hargaš³, Peter Bánovčín², Soňa Fraňová¹

1) Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK a BioMed, Martin, Malá Hora 4C 11161, 036 01 Martin

2) Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta UK a UNM Martin, Kollárova 2, 036 01 Martin

3) Katedra mechatroniky a elektroniky, Žilinská Univerzita, Univerzitná 1, 010 26 Žilina

E-mail: joskova@jfmf.uniba.sk

Úvod: S cieľom diferenciálnej diagnostiky chronických ochorení dýchacích ciest (DC) detskí pacienti často podstupujú bronchoskopické vyšetrenie vyžadujúce si celkovú anestézu, počas ktorého je možné realizovať aj odber biologického materiálu. Objektivizácia kinematických parametrov riasiniek v DC je okrem stanovenia nazálneho NO, štrukturálnych abnormalít riasiniek, ako aj špecifických génových mutácií jednou z pomocných diagnostických metód primárnej ciliárnej dyskinézy.

Ciele: Experimentálna štúdia za pomoci svetelnej mikroskopie analyzuje vplyv štandardných anestetík (sufentanyl, propofol, midazolam) na frekvenciu kmitania cílií (CBF) v DC morčiat. Výber vhodného anestetika bez vplyvu na kinematické parametre cílií umožňuje vylúčiť falošne pozitívne výsledky, ktoré by mohli viesť k nesprávnej diagnostike ochorenia.

Metódy: V experimente bola polovica počtu morčiat kmeňa Trik predliečená intraperitoneálnym podaním midazolamu, druhej polovici bol podaný fyziologický roztok. V podmienkach *in vitro* bol všetkým morčatám realizovaný ster sliznice trachey brushingovou metodikou. Biologický materiál bol nanášaný do živného média na podložné sklíčko za účelom prípravy mikroskopického preparátu. Pohyb cílií bol zaznamenávaný vysokorýchlostnou kamerou napojenou na svetelný mikroskop a počítač po lokálnej aplikácii sufentanylu alebo propofolu v stúpajúcich koncentráciách. Softvér Ciliary analysis bol použitý na analýzu CBF.

Výsledky a diskusia: V prípade použitia sufentanylu u morčiat predliečených midazolamom došlo k signifikantnému spomaleniu CBF. Štatisticky významné zmeny v rýchlosti pohybu cílií neboli zaznamenané v ostatných skupinách. Vzájomná kombinácia anestetík midazolam a sufentanyl z dôvodu cilioinhibičného účinku sa tak javí nevhodná u detských pacientov, ak v rámci diferenciálnej diagnostiky zvažujeme podozrenie na primárnu ciliárnu dyskinézu. Avšak na potvrdenie farmakodynamickej interakcie midazolamu s opiátmi je nutné realizovať ďalšie experimenty.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená nasledujúcimi projektami a grantami: Meranie kinetiky cilií respiračného traktu; VEGA 1/0165/14; MZ 2012/35-UK MA-12; APVV-0305-12; BioMed Martin (ITMS 26220220187); CEKRII.

FARMAKOMETABOLOMIKA V PSYCHIATRII

Jan Juřica^{1,2}

1) Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 62500, Brno

2) Biochemický ústav Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 62500, Brno

E-mail: jurica@med.muni.cz

Metabolomika je relativně mladým, avšak velmi dynamicky se rozvíjejícím oborem. Ve své podstatě je metabolomika komplexní analýza celého souboru všech nízkomolekulárních metabolitů v biologických tekutinách nebo tkáních (tedy metabolom) za dané sady podmínek, tj. ve zdraví, nemoci nebo po podání léčiv. Metabolomika využívá pro svůj výzkum celou řadu analytických metod a už z důvodu odlišné povahy jednotlivých metabolitů je musí kombinovat. Jedná se o (semi)kvantitativní analýzu metabolitů pomocí tzv. “high-throughput-metod, tedy metod schopných zpracovat v krátkém čase velké množství vzorků, a obvykle vyhodnotit velké množství metabolitů, avšak nikoli nutně identifikovat a všechny analyty kvantifikovat. Metabolomika přemostňuje mezeru mezi genotypem a fenotypem. Farmakometabolomika pak využívá metody metabolomiky k identifikaci působků umožňujících včas rozpoznat respondéry od nonrespondérů, variace v odpovědi na léčiva, popř. pomoci objasnit mechanismy účinků léčiv nebo predikovat rozvoj nežádoucích účinků u určitých skupin pacientů. Doposud byla v psychiatrii provedena celá řada studií, které ovšem mají své limitace jako např. malé a heterogenní kohorty pacientů, špatně kontrolované spektrum diagnóz a podmínky odběru vzorků, nedostatečně prověřené korelace hladin metabolitů v séru a cerebrospinální tekutině, vliv dalších průvodních onemocnění atd. Některé závěry studií jsou ovšem společné – např. u psychotických a depresivních onemocnění se zdá být patrný metabolický podpis charakteristický posunem k anaerobnímu metabolismu, zvýšenou hladinou glukózy, sníženou aktivitou glykolytické dráhy, inzulinovou rezistencí, hyperinzulinémií a zvýšením větvených aminokyselin v séru. Naopak je patrný pokles některých mastných kyselin a zejména u demencí snížení omega-3 nenasycených mastných kyselin oproti kontrolním subjektům.

Metabolomiku čeká jistě bouřlivý vývoj a budoucnost ukáže, zda jsou její závěry využitelné v praxi a může se stát užitečným nástrojem personalizace farmakoterapie. Do té doby jistě metabolomika ujde dlouhou cestu a bude muset obhájit výsledky pilotních studií s využitím větších kohort pacientů/kontrol, ověřit korelaci analytů v moči/plazmě/CSF, lépe subklasifikovat pacienty ve studiích a lépe kontrolovat vlivy jiných faktorů než jen podání léčiv na metabolom.

PODĚKOVÁNÍ

Popořeno grantem GAČR GA16-06106S a grantem „Experimentální farmakologický vývoj v neuropsychiatrii a onkologii“ číslo MUNI/A/1284/2015 z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2016.

ENDOCANNABINOID SYSTEM AND PHARMACOKINETICS OF PSYCHOTROPIC DRUGS

Jan Juřica, Michaela Sabová, Gabriela Dovrtělová, Kristýna Nosková, Ondřej Zendulka

Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 62500, Brno

E-mail: jurica@med.muni.cz

There are several aspects of interaction between endocannabinoid system (ES) and pharmacokinetics of psychotropic drugs. First, endocannabinoids are converted to various metabolites with varying level of cannabimimetic activity by means of fatty acid amide hydrolase, epoxide hydrolase, cyclooxygenase, lipoxygenase, and cytochrome P450 enzymes (CYP), being the most important biotransformation pathways of drugs. Thus, any influencing of CYP enzymatic activity may be reflected in the effects of endocannabinoids. Second, either endogenous or exogenous cannabinoid ligands are able to affect CYP enzymatic activity and thus potentially effects of most of psychotropics. Third, there is well known and proved concept of interconnection between ES and dopaminergic pathways. Moreover, the influence of ES on serotonin and norepinephrine release evoked by GABA-mediated disinhibition is described, too. Recently, it was also proved that tuberoinfundibular and mesolimbic dopaminergic pathways are enrolled in the regulation of hepatal CYP activity. There is also possibility of ES involvement in the regulation of hepatal CYP content and metabolic activity via dopamine. Our results suggest that this hypothesis may be valid and rat hepatal CYP1A2 metabolic activity may be influenced by central effects of CB agonist O2545 administered intracerebrally. We have also observed competitive inhibitory effect of oleamide (endogenous CB1 agonist) on rat CYP2C6 in RLM system.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the grant of Grant agency of Czech Republic No. GA16-06106S and written at Masaryk university as a part of the project „Experimental pharmacological development in neuropsychopharmacology and oncology“ number MUNI/A/1284/2015 with the support of the Specific University Research Grant, as provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year 2016.

HYPERTRIGLYCERIDEMIC RAT FED HIGH FAT DIET AS A MODEL OF NON-OBESE METABOLIC SYNDROME

Barbara Kaprinay^{1,2}, Boris Lipták^{1,2}, Lukáš Slovák^{1,2}, Karol Švík¹, Vladimír Knezl¹, Ružena Sotníková¹, Zdenka Gáspárová¹

1) Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

2) Dpt. of Pharmacology, Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University, Martin

E-mail: barbara.kaprinay@savba.sk

Introduction: The manifestations of metabolic syndrome (MS) are dyslipidemia, insulin resistance, glucose intolerance or diabetes mellitus II, central obesity, hypertension, atherosclerosis, inflammatory reactions, endothelial dysfunction and prothrombotic state. These symptoms are the main risk factors for cardiovascular diseases.

Aims: The aim of the work was to investigate whether high fat diet administered to hereditary hypertriglyceridemic rats (HTG) can induce signs of non-obese MS.

Methods: HTG rats were divided into two groups: fed standard diet (HTG) and fed high fat diet (HTGch). Wistar (W) rats served as a control group. The high fat diet contained 1% cholesterol and 7.5% lard and was given over 8 weeks. At the end of the experiment, glucose tolerance test (GTT) was evaluated and blood pressure was measured by tail-cuff plethysmography. Levels of blood lipids and levels of TBARS as well as activity of N-acetyl-D-glucosaminidase (NAGA) were assessed in serum. The endothelium-dependent relaxation of isolated aortic rings induced by acetylcholine was evaluated under isometric conditions.

Results and Discussion: Increased blood levels of triacylglycerols and decreased levels of HDL-C were found in HTG compared to W and high fat diet did not further influence these changes. Levels of total cholesterol and LDL-C were significantly increased in HTGch rats due to diet. Increased TBARS levels in cortex and liver of HTGch rats and increased activity of NAGA in liver, kidney and serum in HTG and HTGch groups indicate presence of oxidative stress in both groups. The GTT test showed a significant defect in glucose metabolism in HTG and HTGch groups. However, we did not observe any changes in aortic endothelium-dependent relaxation, thus the function of the endothelium was preserved. We assume that the model used is suitable for the study of MS. Prolonging the duration and addition of fructose to the high fat diet might have a major impact on all parameters tested, especially on vascular endothelial function.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by project VEGA 2/0054/15.

ROLE OF EQUILBRATIVE AND CONCENTRATIVE NUCLEOSIDE TRANSPORTERS IN TRANSPLACENTAL PERMEATION OF RIBAVIRIN

Sára Karbanová, Lukáš Červený, Zuzana Ptáčková, František Štaud

Dpt. of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové

E-mail: karbanos@faf.cuni.cz

Introduction: Ribavirin is frequently used drug currently recommended for combination therapy of hepatitis C virus (HCV). Due to teratogenicity observed during preclinical studies and yet insufficient safety data in humans, ribavirin is strictly contraindicated in pregnancy. As ribavirin is hydrophilic nucleoside-derived agent its distribution seems to be dependent on equilibrative nucleoside transporters (ENTs, *SLC29A*) mediating facilitative diffusion and active concentrative nucleoside transporters (CNTs, *SLC28A*). ENTs have two important representatives that can be distinguished by sensitivity to NBMPR – their specific inhibitor. On the other hand CNTs require co-transport of Na⁺ cation.

Aims: In our study we aimed to determine whether ENTs and CNTs localized in the placenta participate in transplacental passage of ribavirin, tested at low non-saturating concentrations.

Methods: For this purpose we employed i) an *in vitro* model of accumulation in BeWo cells ii) an *ex vivo* uptake experiment in fragments of fresh villous tissue isolated from the human placenta iii) an *in situ* dually perfused rat term placenta model, analyzing transplacental clearances of ribavirin on the level of intact organ.

Results and Discussion: The results obtained from BeWo uptake assay showed significant declines in presence of inhibitors (100 μM NBMPR, 5mM uridine) and in absence of Na⁺ cations. In dual perfusion studies we observed low levels of ribavirin transplacental permeation showing clearances 0.06 ml/min/g in M-F and 0.14 ml/min/g in F-M direction, with negligible placental accumulation (≤ 2 % of the ribavirin dose). Application of NBMPR (100 μM) decreased ribavirin M-F and F-M clearances by ≈ 50 % while NBMPR (0.1 μM) showed same 50 % decrease in F-M direction but only ≈ 20 % reduction in M-F clearances. When performing studies on fresh villous fragments of the human placenta NBMPR (100 μM) or depletion of Na⁺ decreased ribavirin accumulation by ≈ 20 and 50 %, respectively. In summary we propose, ENTs and CNTs are required for ribavirin accumulation in the placenta and/or for placental permeation. However, its passage across placental barrier and intraplacental accumulation can be considered as very low. Our data provide first evidence about ribavirin transplacental kinetics. Additional investigation is needed to elucidate this issue in humans.

ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by GAUK 324215/C/2015 and SVV/ 2016/260-293.

A COMPARISON OF THE REACTIVATING AND THERAPEUTIC EFFICACY OF TWO NOVEL BISPYRIDINIUM OXIMES (K305, K307) WITH THE OXIME K203 AND TRIMEDOXIME IN TABUN-POISONED RATS AND MICE

Jiri Kassa, Vendula Sepsova, Anna Horova, Kamil Musilek

Dpt. of Toxicology and Military Pharmacy, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Trebesska 1575, 500 01 Hradec Kralove

E-mail: kassa@pmfhk.cz

Introduction: The efficacy of the antidotal treatment of acute poisoning with highly toxic organophosphorus compounds such as tabun is limited. One approach how to increase its effectiveness is the development of novel reactivators of acetylcholinesterase (oximes) with higher reactivating a therapeutic efficacy.

Aims: The aim of this study was to compare the reactivating and therapeutic efficacy of two newly developed oximes (K305, K307) with the oxime K203 and trimedoxime against tabun using *in vivo* methods.

Methods: The reactivating efficacy of oximes was evaluated by the determination of acetylcholinesterase activity using a spectrophotometric method in diaphragm and brain at 60 min following tabun poisoning of rats at a dose corresponding to its LD₅₀ value. The therapeutic efficacy of oximes against lethal toxic effects of tabun in mice was determined by the evaluation of the LD₅₀ values and their 95% confidence limit using probit-logarithmical analysis of death occurring within 24 h following tabun poisoning. The oximes studied in combination with atropine were administered i.m. at 1 min after tabun poisoning.

Results and Discussion: The study showed that the reactivating efficacy of both newly developed oximes (K305, K307) is lower compared to the reactivating potency of the oxime K203 and trimedoxime. The therapeutic efficacy of all oximes studied roughly corresponds to their reactivating efficacy. While the potency of the oxime K305 to reduce acute toxicity of tabun in mice is approaching to the therapeutic efficacy of trimedoxime, the ability of another novel bispyridinium oxime K307 to reduce acute toxicity of tabun is significantly lower compared to trimedoxime and the oxime K203. Based on the results obtained, we can conclude that the reactivating and therapeutic potency of both newly developed oximes does not prevail the effectiveness of the oxime K203 and trimedoxime and, therefore, they are not suitable for their replacement of commonly used oximes for the treatment of acute tabun poisoning.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by a grant of Ministry of Defence of the Czech Republic – „Long-term organization development plan 1011“.

PK/PD TARGET ATTAINMENT OF BETA-LACTAM ANTIBIOTICS IN CRITICALLY ILL PATIENTS

Milan Kaška¹, Jiřina Martínková², Eduard Havel², Manu L. N. G. Malbrain³, Iva Selke-Krulichova¹, Petr Šafránek², Jan Bezouška¹

1) Academic Department of Surgery and Surgical Department, Medical Faculty, Charles University, Sokolska 581, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic

2) Surgical Department, University Hospital, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic

3) Intensive Care Unit and High Care Burn Unit, Ziekenhuis Netwerk Antwerpen, ZNA Stuivenberg, Lange Beeldekensstraat 267, 2060 Antwerpen, Belgium

E-mail: martinkova.jir@gmail.com

Introduction: Critically ill patients treated empirically with hydrosoluble piperacillin/tazobactam or meropenem are at risk for sub-therapeutic plasma concentrations. This can be a result of non-attainment of PK/PD targets principal for time-dependent antimicrobial action due to pathophysiological factors.

Aims: The aim of this study is to assess the role of two factors – creatinine clearance and fluid balance on PK/PD attainment within 10 days of admission.

Methods: In this prospective observational pharmacokinetic study, 20 critically ill patients admitted in Surgical Intensive Care Unit (ICU) and treated with piperacillin/tazobactam and meropenem were enrolled. Administration of antibiotics was started on day of admission, antibiotic monitoring was started on day 2, its duration was dependent on patient's ICU stay. On sample pre-dose and 3-4 post-dose samples were obtained on day 2(3), 4(5), 6(7), or 8(9). Urine was collected during 24h of monitoring. Drug concentration was measured using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), pharmacokinetic parameters and urinary dose recovery were calculated. Fluid therapy was assessed using cumulative fluid balance (CFB) as a difference between daily fluid intake and loss. The PK/PD target was defined as $100\%fT > MIC$ ($16\mu\text{g/mL}$ for piperacillin and $2\mu\text{g/mL}$ for meropenem – breakpoints given by EUCAST).

Results and Discussion: 10 multiple - trauma patients suffering from systemic inflammatory response were treated with piperacillin/tazobactam (4.0g/0.5 g in 1-h IV infusion every 8 h), and 10 patients with symptoms of peritonitis were given meropenem (1-2 g in 3-h IV infusion every 6-8 h). In total, 8/20 patients (40%) manifested augmented creatinine clearance (ARC) $> 130 \text{ ml/min/1.73m}^2$, 7 in the piperacillin /tazobactam and one in the meropenem group. None of the subjects with ARC treated with piperacillin, attained the target $100\%fT > MIC$. Two of them did not even reach $50\%fT > MIC$. In contrast, one patient on meropenem experienced ARC but attained $100\%fT > MIC$ like all non-ARC subjects of this group. Four of them even achieved 50% or 100 % $fT > 4MIC$. Three subjects were overdosed. Changes in

both distribution (CFB) and renal function (ARC) can result in continuous not-achieving of PK/PD target of β -lactam antibiotics. This may require a higher initial loading dose and continuous dosing re-evaluation based on therapeutic drug monitoring.

ACKNOWLEDGMENT

Authors are grateful to the Internal Grand Agency (IGA) of Ministry of Health, Czech Republic, Project No. NT 14089-3/2013.

ANTIPROLIFERATIVE AND PRO-APOPTOTIC EFFECT OF NOVEL NITRO-SUBSTITUTED 3-HYDROXYNAPHTHALENE-2-CARBOXANILIDES ON THP-1 HUMAN MONOCYTIC LEUKEMIA CELLS

Tereza Kauerová¹, Josef Jampilek², Jiří Kos², Peter Kollár¹

1) Department of Human Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno, Czech Republic

2) Department of Chemical Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno, Czech Republic

E-mail: kauerovat@vfu.cz

Introduction: Salicylanilide derivatives were recently found to possess promising anticancer properties, thus their structure became an interesting model moiety for the design of new potent antitumor agents.

Aims: Three newly designed nitro-substituted 3-hydroxynaphthalene-2-carboxanilides (**1–3**) as the salicylanilide derivatives were selected for the assessment of antiproliferative and pro-apoptotic effects in THP-1 cancer cells.

Methods: Antiproliferative activity was determined using WST-1 assay and cytotoxicity was evaluated by dye exclusion test. Cell cycle analysis and detection of apoptosis using Annexin V-FITC/PI assay were performed by flow cytometry. Levels of selected proteins were assessed by Western blotting.

Results and Discussion: Results of our study showed that the antiproliferative effect of 3-hydroxynaphthalene-2-carboxanilide derivatives (**1–3**) in THP-1 cells correlated with the shift of the nitro group from *ortho*- to *para*-position on the anilide moiety, IC₅₀ values of the compounds increased as follows: **1** < **2** < **3**. Additionally, compounds **1** and **2** did not affect the proliferation of nontumor cell line 3T3-L1, while **3** exerted growth inhibition of 3T3-L1 cells dose-dependently. Observed accumulation of THP-1 cells in G1 phase after the 24h exposure to **2** was found to be accompanied by the dose-dependent reduction of cyclin E1 levels, while protein levels of cyclin B1 remained unchanged. Flow cytometric analysis of DNA content also revealed the increase of the sub-G1 peak in THP-1 cells treated by **2**. Correspondingly, **2** was found to induce a dose-dependent increase in the percentage of cells stained positively for Annexin V-FITC where the proportion of late apoptotic/secondary necrotic cells prevailed the cells in early apoptotic stages at all three incubation time-points (12, 18 and 24 h). **2** also induced cleavage of pro-caspase 3 and it similarly increased the level of the active caspase 3 in THP-1 cells. Moreover, the elevation of cleaved caspase 9 levels was detected while the level of active caspase 8 was not changed. Thus, it could be suggested that **2** exerted antiproliferative and pro-apoptotic effects in THP-1 cells and we could presume

that the apoptosis is most likely induced by activating the intrinsic apoptotic pathway, however further detailed analyses are necessary to prove such specificity.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by IGA VFU Brno 323/2015/FaF.

SYZYGIUM AROMATICUM FLOWER BUDS EXTRACT INDUCE APOPTOSIS VIA MITOCHONDRIAL PATHWAYS IN BREAST CANCER MODEL IN VITRO

Martin Kello, Viera Tischlerová, Ján Mojžiš

Dpt. of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of P.J. Šafárik, Trieda SNP 1, 04011 Košice

E-mail: kellomartin@yahoo.com

Introduction: Plant extracts are easily accessible source of substances with different potential effects including anticancer. Plants from genus *Syzygium* represent a source of several phytochemicals with antibacterial, antifungal and anticancer properties. Presently a little is known about mechanisms of antiproliferative and cytotoxic effects in different cancer cell lines after *Syzygium* extract administration.

Aims: The aim of our research was to evaluate antiproliferative effects of *Syzygium* extract in breast cancer model in vitro and to describe form of cell death and activated apoptotic pathways in this model.

Methods: Antiproliferative properties of *Syzygium* extract on breast cancer MCF-7 cells were studied by MTT test and BrdU incorporation followed by several flow cytometric and cell imaging methods. We used flow cytometry to study apoptosis induction, cell cycle progression, caspase activation, mitochondrial proteins affiliation to apoptosis and DNA damage.

Results and Discussion: *Syzygium aromaticum* flower buds extract clearly showed strong antiproliferative effects on breast cancer cell line MCF-7. Evaluation of cell cycle showed significant accumulation of cells in S phase shortly after 24 h. On the other hand significant occurrence of cells in sub-G0/G1 fraction was observed after 48 and 72 h. Analysis of annexin V positivity, as a marker of programmed death induction, showed significant dose-dependent phosphatidyl serine externalization after 24, 48 and 72 h. Caspase-dependent form of cell death in MCF-7 cells was confirmed after analysis of caspase-7 activation after 72 h. Moreover, time-dependent depletion of MMP and release of anti-apoptotic Bcl-2 protein complexes from mitochondria to cytosol occurred. Our experiment also showed significant DNA damage as a result of apoptosis progression.

VÝVOJ METÓDY NA STANOVENIE TEOFYLÍNU V PLAZME POMOCOU UHPLC-MS/MS U OVALBUMÍNOM SENZIBILIZOVANÝCH MORČIAT

Martin Kertys, Anna Urbanová, Ivana Medved'ová, Juraj Mokry

Ústav farmakológie a Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine

E-mail: Martin.Kertys@fmed.uniba.sk

Úvod: Pri liečbe chronických respiračných ochorení ako sú astma a chronická obštrukčná choroba pľúc (CHOCOP) sa využívajú aj neselektívne inhibítory fosfodiesteráz, medzi ktoré radíme aj metylxantíny. Typickým predstaviteľom je teofylín, ktorý pôsobí aj antagonisticky na adenzínových A₁ receptoroch a aktivuje histón deacetylázu. Metylxantíny však môžu vo vysokých dávkach spôsobovať závažné nežiaduce účinky (nauzea, zvracanie, arytmie, stimulácia CNS a iné), ktorým ale vieme zabrániť vhodným dávkovaním, resp. monitorovaním plazmatických hladín teofylínu. Presné a správne meranie spolu s náležitou interpretáciou koncentrácie liečiva môžu významne zlepšiť manažment liečby pacientov. Ultra účinná kvapalinová chromatografia (UHPLC) s tandemovou hmotnostnou detekciou (MS/MS) patrí medzi najcitlivejšie separačné techniky určené ku kvantitatívnej analýze, a v súčasnosti zaznamenáva v praxi terapeutického monitorovania liečiv (TDM) stále väčšiu popularitu.

Ciele: Cieľom tejto práce bol vývoj a validácia rýchlej, selektívnej a robustnej metódy na kvantitatívne stanovenie teofylínu v plazme morčiat pomocou tandemovej hmotnostnej spektrometrie v spojení s ultra účinnou kvapalinovou chromatografiou.

Metódy: V tomto experimente sme použili dospelé samce morčiat kmeňa TRIK, ktoré boli senzibilizované ovalbumínom za účelom navodenia alergického zápalu dýchacích ciest, a následne im bol intraperitoneálne aplikovaný teofylín v rôznych koncentráciách jednorázovo, resp. po dobu 7 dní. Ihneď po usmrtení bola krv odobraná do antikoagulačných skúmaviek (K₃EDTA), scentrifugovaná a plazma zamrozená na - 80 °C. Predúprava vzoriek pred samotnou analýzou bola vykonaná použitím Ostro plateTM (Waters, USA), čím sme odstránili nežiaduce fosfolipidy a bielkoviny z plazmy. Vývoj metódy a analýzu vzoriek sme vykonali na hmotnostnom spektrometri na báze trojitého kvadrupólu XEVO TQ-STM (Waters, USA) s pripojeným analytickým 2D UHPLC kvapalinovým chromatografom Acquity UPLCTM (Waters, USA). Na vyhodnocovanie dát sme použili softvér MassLynx 4.1TM (Waters, USA).

Výsledky a diskusia: Vyvinuli a zoptimalizovali sme kvantitatívnu analytickú metódu pre stanovenie teofylínu v plazme morčiat, ktorá bola následne zvalidovaná podľa Európskej

liekovej agentúry (EMA). Metóda pokrýva plazmatické koncentrácie dávkovaného teofylínu od 5 mg/kg až po 50 mg/kg podávaného jednorazovo, resp. po dobu 7 dní. Namerané hodnoty budú použité na koreláciu nameraných parametrov reaktivity dýchacích ciest u ovalbumínom senzibilizovaných morčiat.

POĎAKOVANIE

Práca vznikla za podpory grantu APVV-0305-12, Grantu_MZ_2012/35-UKMA-12 a grantu VEGA_1/0260/14. Podporené projektom Bio-med (ITMS 26220220187).

EARLY AND PROGRESSIVE BRAIN MICROSTRUCTURAL CHANGES IN MICE OVEREXPRESSING HUMAN A-SYN DETECTED BY THE DIFFUSION KURTOSIS IMAGING

*Amit Khairnar*¹, *Jana Ruda-Kucerova*², *Eva Drazanova*^{2,3}, *Nikoletta Szabó*⁴, *Anas Arab*², *Peter Latta*⁵, *Birgit Hutter-Paier*⁶, *Joerg Neddens*⁶, *Zenon Starcuk Jr.*^{3,5}, *Irena Rektorova*¹

1) *Applied Neuroscience Research Group, CEITEC - Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic*

2) *Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic*

3) *Institute of Scientific Instruments, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic*

4) *Department of Neurology, Faculty of Medicine, Albert Szent-Györgyi Clinical Centre, University of Szeged, Szeged, Hungary*

5) *Multimodal and Functional Imaging Laboratory, CEITEC - Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic*

6) *QPS Austria GmbH, Grambach, Austria*

E-mail: amitkhairnar520@gmail.com

Introduction: Current challenge in Parkinson's disease (PD) is to develop non-invasive and widely available imaging biomarker which may diagnose PD patients at early stage and may help in development of neuroprotective drug. Recent studies with diffusion kurtosis imaging (DKI) in PD patients have reported that kurtosis imaging is a sensitive method for early diagnosis and disease evaluation in PD. In our previous studies we reported DKI is very sensitive in detecting α -Syn accumulation induced microstructural changes at late stage of the pathology.

Aims: The aim of the present study was to perform DKI in TNWT-61 mice overexpressing α -Syn at very early stage when α -Syn just starts to accumulate and to compare the imaging results with behavioral studies of motor and memory impairment and with immunohistochemistry of α -Syn.

Methods: TNWT-61 and wild type (WT) mice underwent behavioural studies to detect motor and memory impairment and DKI scanning using 9.4 T MRI Bruker system in vivo. After DKI scanning immunohistochemistry was performed to detect α -Syn accumulation.

Results and Discussion: TNWT-61 mice showed significant progressive impairment of motor coordination compared to WT at both time points while memory impairment was present only at 6 months which accords with temporal evolution of clinical symptoms in PD patients. Region of interest analysis found significant increases mainly in mean kurtosis in the striatum, thalamus at 3 months and in substantia nigra at 6 months in TNWT-61 mice compare to WT. Tract based spatial statistics analysis of white matter showed kurtosis increases and diffusivity parameters decreases only at 6 months mainly in the anterior commissure, internal and external capsule, and mamillothalamic tract. Immunohistochemistry results in TNWT-61 mice showed significant increase in human α -Syn accumulation in SN,

striatum, hippocampus, sensorimotor cortex and thalamus. The current study provides evidence that DKI is sensitive for early in vivo detection of the microstructural changes in TNWT-61 mice induced by α -Syn accumulation.

ACKNOWLEDGMENT

The project is financed from the SoMoPro II Programme, co-financed by the European Union and the South-Moravian Region.

VNÍMANIE BEZPEČNOSTI FARMAKOTERAPIE ADOLESCENTMI A ICH POZNATKY O LIEKOKH

Zuzana Klimaszová¹, Tomáš Fazekaš², Magdaléna Kuželová¹

1) Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie, Bratislava, Slovenská republika

2) Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra fyzikálnej teórie liečiv, Bratislava, Slovenská republika

E-mail: zuzanaklimaszova@gmail.com

Úvod: Adolescenti sa často sami liečia a užívajú lieky bez dozoru rodičov. Nedostatok skúseností a vedomostí o liekoch u tejto vekovej skupina detí vedie nezriedka k nesprávnemu užívaniu liekov a ku klinickým prejavom nežiaducich účinkov liekov. Údaje o užívaní liekov u slovenských adolescentov a ich vedomosti o liekoch neboli doteraz publikované. Preto sme sa zamerali na výskum tohto problému.

Ciele: Zistiť vedomosti adolescentov o liekoch z hľadiska účinnosti a bezpečnosti terapie a analyzovať aké lieky užíva táto veková skupina detí najčastejšie a aké sú postoje adolescentov k liečbe aj vo vzťahu k rodičom.

Metódy: Pre výskum sme použili dotazníkovú metódu. Dotazník sme navrhli a pripravili v spolupráci s tromi expertmi pôsobiacimi v odboroch farmácia, detská psychológia a štatistika. Dotazník obsahuje 23 multidimenzionálnych položiek s uzavretými a otvorenými otázkami, ktoré boli zamerané na charakteristiku zdravotného stavu adolescentov, informácie o užívaných liekoch, užívanie liekov vo vzťahu k rodičom, vedomosti a vnímanie rizika liekov adolescentmi. Distribuovali sme 930 validovaných dotazníkov na stredné školy a gymnáziá vo všetkých krajoch Slovenskej republiky. Návratnosť dotazníkov bola 70,6 %.

Výsledky a diskusia: V analyzovanom súbore sa liečilo na chronické ochorenie 40,8 % adolescentov. Najčastejšie sa u nich vyskytovali alergie (25,0 %) a kožné ochorenia (6,8 %). 81,3 % adolescentov uprednostnilo samoliečenie bez návštevy lekára. 73,5 % adolescentov užilo za posledný polrok lieky bez lekárskeho predpisu. Zistili sme, že 58,1 % adolescentov užíva lieky bez lekárskeho predpisu samostatne bez dohľadu rodičov. 14,9 % adolescentov si sami kúpili lieky v lekárni. Zaujímavé je, že 48,4 % adolescentov neužíva lieky podľa odporúčaní. 56,6% adolescentov si myslí, že má dostatok vedomostí o liekoch, ktoré užíva. 51,4 % resp. 49,6 % adolescentov si myslí, že lieky na lekársky predpis resp. lieky bez predpisu sú bezpečné. Dotazníková analýza poukázala aj na to, že nie všetci slovenskí adolescenti majú dostatok vedomostí o liekoch. Práca poskytuje nové údaje z oblasti vnímania rizika farmakoterapie a vedomostí o liekoch adolescentov v Slovenskej republike a poukazuje na oblasti, na ktoré je potrebné sa v ďalšom období sústrediť z hľadiska edukácie

adolescentov. Táto aktivita by prispela k zníženiu farmakoterapeutického rizika a k zlepšeniu efektivity užívania liekov pediatrickými pacientmi.

POĎAKOVANIE

Práca bola realizovaná s podporou grantu FaF UK/18/2016.

VPLYV PROTEÍNOV NO SIGNALIZÁCIE NA ROZVOJ EXPERIMENTÁLNEJ PĽÚCNEJ HYPERTENZIE NAVODENEJ MONOKROTALÍNOM

Zuzana Kmecová, Eva Malíková, Eva Kráľová, Peter Křenek, Ján Klimas

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

E-mail: zuzanak90@gmail.com

Úvod: Oxid dusnatý hrá významnú úlohu v patogenéze pľúcnej artériovej hypertenzie. Zmeny v expresii enzýmov, ktoré NO produkujú, môžu mať vplyv na rozvoj ochorenia, alebo môžu byť kompenzačným mechanizmom, ktorým sa organizmus snaží priebeh ochorenia zmierniť.

Ciele: Zistiť proteínovú expresiu eNOS, pSer1177eNOS a Hsp90, a mRNA expresiu eNOS, iNOS a nNOS v pľúcach, pravej a ľavej komore.

Metódy: Potkanom kmeňa Wistar sme subkutánne aplikovali monokrotalín v dávke 60mg/kg (MON). Kontrolám sme podali vehikulum (KON) a v štvrtom týždni sme obe skupiny utratili. Hladiny eNOS, pSer1177eNOS a Hsp90 sme stanovovali metódou Western blot a mRNA expresiu eNOS, iNOS a nNOS sme stanovovali pomocou metódy qRT-PCR.

Výsledky a diskusia: U monokrotalínovej skupiny sme zaznamenali signifikantne zníženú hmotnosť tela a signifikantne zvýšenú hmotnosť pravej komory a pľúc. Hmotnosť ľavej komory, predsiení a obličiek sa nezmenila. Z vitálnych funkcií sme u monokrotalínovej skupiny sledovali signifikantné zníženie saturácie krvi kyslíkom a signifikantné zvýšenie dychovej frekvencie. Tepová frekvencia sa oproti kontrolám signifikantne nezmenila. Hladiny eNOS a pSer1177eNOS sa v žiadnom sledovanom orgáne signifikantne nezmenili, pri Hsp90 sme u monokrotalínových zvierat zaznamenali signifikantné zvýšenie len v pravej komore. V monokrotalínovej skupine sa génová expresia eNOS signifikantne znížila v pravej komore, génová expresia iNOS sa signifikantne znížila v pravej aj ľavej komore a génová expresia nNOS sa signifikantne zvýšila v pľúcach. Naše výsledky naznačujú, že zmeny v expresii proteínov ovplyvňujúcich vznik NO by mohli mať kľúčový význam v patogenéze experimentálnej monokrotalínom indukovanej pľúcnej hypertenzii.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola vypracovaná ako súčasť projektu podporeného grantom VEGA 1/0294/15.

THE ALLERGIC INFLAMMATION-INDUCED CHANGES IN THE REGULATION OF THE AIRWAYS DEFENCE MECHANISMS BY VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNELS

Michaela Kocmalova¹, Marta Joskova¹, Sona Franova¹, Peter Banovcin², Martina Sutovska¹

1) BioMed Martin, Department of Pharmacology, Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University

2) Department of Children and Adolescents, Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin and Martin University Hospital, Slovakia

E-mail: kocmalova@jfmed.uniba.sk

Introduction: The motor and sensory innervation of the airways and the lungs are mediated by the vagal nerves, the dysfunction or dysregulation of which contributes to pathogenesis of asthma and chronic obstructive pulmonary diseases with bronchial smooth muscle contraction, cough, and greater mucus secretion. Airways sensory neurons express Na_v 1.7, 1.8, 1.9, and these are not expressed to any great extent in either part of the CNS, cardiac or skeletal muscles. For cough initiation and airways smooth muscle (ASM) reactivity is crucial Na_v 1.7 and 1.8 activation cause initiation and plateau of action potential but if they influence ciliary beating is unknown. Besides, airways inflammation, e.g. in asthma, changes reflex and non-reflex defence mechanisms control.

Aims: Current study evaluated therapeutic potency of Na_v 1.8 (substance A803467) and Na_v 1.7 (carbamazepine) blockers acute administration in healthy animals and in experimental animal asthma model.

Methods: Airways allergic asthma was induced by ovalbumine on guinea pigs during 21 days. Effect of blockers after acute administration was observed on ASM reactivity changes in vivo, number of cough efforts and cilia beat frequency (CBF).

Results and Discussion: ASM reactivity in vivo, number of coughs and CBF were significantly decreased after acute administration of carbamazepine during physiological conditions. Otherwise blocker of Na_v 1.8 relieved clinical symptoms of asthma with high efficiency without adversely affecting CBF. Presented data confirmed that selective blockers of Na_v 1.8 would have positive effect on clinical asthma symptoms with no effect on CBF.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the project "Centre of Experimental and Clinical Respiriology II" co-financed from EC sources, Gran MZ 2012/35-UKMA-12, APVV-0305-12, Measurement of Respiratory Epithelium Cilium Kinematics, BioMed Martin (ITMS 26220220187) and Grants VEGA No 1/0165/14. Authors want to thank Ms Katarina Jesenska for technical support.

BEHAVIORAL SCREENING OF ANTIDEPRESSANT PROPERTIES OF THE NEW PYRIDONINDOLE DERIVATIVE IN THE RAT MODEL OF CHRONIC MILD STRESS

Romana Koprdoová^{1,2}, Natália Sedláčková¹, Eduard Ujházy¹, Magdaléna Májeková¹, Mojmír Mach¹

1) Dept. of Developmental and Behavioral Toxicology, Institute of Experimental Pharmacology & Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 84104 Bratislava, Slovakia

2) Dept. of Pharmacology, Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University Bratislava, BioMed, Martin, Slovakia

E-mail: romana.koprdova@savba.sk

Introduction: According to the US Centers for Disease Prevention and Control (CDC), 8% of people over the age of 12 years has depression in any two-week period. The World Health Organization puts depression at the top of the list - it is the most common illness worldwide and the leading cause of disability. The organization estimates that 350 million people around the world are affected by depression. The side effects, withdrawal or length to take effect of most common used antidepressants leads to the need of searching for new promising compounds with antidepressant action with no toxicity and the potential to achieve symptom's remission in most patients. Applying molecular design of active enantiomer of the neuroleptic drug Carbidine[®], the new pyridoindole derivatives were synthesized.

Aims: The aim of this study was to assess anxiolytic and antidepressant properties of the new pyridoindole derivative PIMeOMe 144 with or without chronic mild stress conditions (CMS).

Methods: Following behavioral methods were used to estimate motor activity, cognition, anxiety- and depression like behavior (Open field, Elevated plus maze, Forced swim test, Stress-induced hyperthermia, Light/dark test and Y maze). Psychopharmacological properties of this derivative were compared to clinically used antidepressant venlafaxine and anxiolytic

Results and Discussion: We did not see adverse effects of the administration up to highest dose tested (25 mg/kg). In the non-stress model the high dose of PIMeOMe 144 (25 mg/kg) indicated potential antidepressant properties whether the low dose (5 mg/kg) were comparable to diazepam. CMS significantly influenced control group's behavior and the effect of the drugs was mild with no statistically significant changes compared to control. Our results indicate that CMS has substantial effect on the following behavioral outputs interfering with drug testing.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the grant VEGA 2/0166/16.

METABOLICKÝ SYNDROM JAKO KOMORBIDITA SCHIZOFRENIE – JAKOU ROLI HRAJÍ ADIPOKINY?

Hana Kotolová^{1,2}, Kateřina Horská^{1,2}, Jiří Procházka¹, Karolína Sochorová¹, Petra Pokrivčáková¹, Libor Ustohal³, Michaela Mayerová³, Tomáš Kašpárek³, Michal Karpíšek⁴

1) Ústav humánní farmakologie a toxikologie, FaF VFU Brno, Brno, Česká republika

2) Nemocniční lékárna – úsek klinické farmacie, FN Brno, Brno, Česká republika

3) Psychiatrická klinika LF MU a FN Brno, Brno, Česká republika

4) Biovendor[®] laboratorní medicína, Brno, Česká republika

E-mail: kotolovah@vfu.cz

Úvod: Atypická antipsychotika (AAP), základní pilíř terapie schizofrenie, psychotických poruch, přináší vedle vyšší účinnosti a lepší snášenlivosti i významné nežádoucí metabolické účinky. Prevalence metabolického syndromu je vyšší i v populaci drug-naïve pacientů a riziko kardiometabolických komplikací se dále zvyšuje s délkou trvání onemocnění. V poslední době se také intenzivně studuje hypotéza, že samotná patofyziologie schizofrenie je spojena s rozvojem metabolického syndromu, výzkum naznačuje společný základ subchronického zánětu a dysbalanci sekrece adipokinů. Tyto patofyziologické predispozice pro rozvoj složek metabolického syndromu jsou dále posíleny antipsychotickou medikací.

Cíle: Sledovat dynamiku změn biochemických a tělesných parametrů v prvních týdnech léčby u pacientů s první epizodou schizofrenie a jejich porovnání se zdravými dobrovolníky.

Metody: Soubor drug-naïve pacientů s první epizodou schizofrenie jsme sledovali během prvních týdnů léčby, pacienti byli léčeni olanazapinem, nebo risperidonem, pacienti neužívali žádná jiná farmaka, které by mohli mít vliv na vzestup hmotnosti. Základní tělesné parametry byly měřeny pomocí lékařské váhy OMRON BF511-T s monitorem skladby lidského těla. Biochemické parametry (celkový cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceridy, glukóza) byly stanoveny na automatickém analyzátoru Dimension Xpand Plus sety firmy Siemens. Hladiny adipokinů (leptin, adiponektin, rezistin, omentin a FGF 21) byly stanoveny metodou ELISA sety firmy BioVendor[®]. Hodnoty laboratorních parametrů jsme sledovali v týdenních intervalech, dále jsme hladiny porovnali se spárovaným souborem zdravých dobrovolníků.

Výsledky a diskuze: Zjistili jsme signifikantní rozdíl v hladině celkového cholesterolu a LDL cholesterolu na začátku léčby a po 4 týdnech léčby. Zjistili jsme signifikantní rozdíl v hladině rezistinu a FGF 21 u drug-naïve pacientů v porovnání se zdravými dobrovolníky. V průběhu léčby jsme zaznamenali iniciální peak plasma c leptinu a adipokinů v druhém týdnu od nasazení atypického antipsychotika, nezaznamenali jsme signifikantní změny v hladinách rezistinu, omentinu a FGF 21 v prvních týdnech léčby. AAP prokazující nejvyšší klinickou

účinnost jsou asociována s největší manifestací nežádoucích metabolických účinků. Mechanismy, jakými AAP indukují zvýšení tělesné hmotnosti a rozvoj kardiometabolických komplikací, dosud nejsou plně objasněny. Jedná se o mechanismy centrální, i periferní zahrnující alteraci endokrinní funkce tukové tkáně, dysregulaci sekrece relevantních adipokinů.

THE IMPACT OF ENANTIOSPECIFIC INTERACTIONS OF BENIDIPINE WITH HUMAN CYTOCHROME P450 *IN VITRO*

Kristyna Krasulova^{1,2}, *Zdenek Dvorak*³, *Pavel Anzenbacher*^{1,2}

1) Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc, Czech Republic

2) Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine, Palacky University at Olomouc, Hnevotinska 5, 775 15 Olomouc, Czech Republic

3) Department of Cell Biology and Genetics, Faculty of Science, Palacky University, Olomouc, Czech Republic

E-mail: kkrasulova@seznam.cz

Introduction: Benidipine, a dihydropyridine calcium channel antagonist (CCB), is drug for the treatment of hypertension and ischemic heart disease. Benidipine has two chiral atoms in the molecule allowing formation of four enantiomers; (+)- α -; (-)- α -; (+)- β - and (-)- β -isomer. Therapeutically used formulation is a racemate of alpha isomers (approved in China 2008, sold as Coniel, Caritec). The hypotensive activity of (+)- α -benidipine was 30 to 100 times stronger than that of (-)- α -benidipine in spontaneously hypertensive rats.

Aims: Benidipine was reported as the CYP3A4, CYP1A1, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 inhibitor in human liver microsomes. The aim of this study was to examine the difference in the inhibitory potency of individual benidipine alpha isomers towards activity of cytochrome P450s.

Methods: The following microsomal CYP activities were assayed: CYP1A2 7-ethoxyresorufin O-deethylation; CYP2A6 coumarin 7-hydroxylation; CYP2B6 7-ethoxy-4-(trifluoromethyl)coumarin 7-deethylation; CYP2C9 diclofenac 4'-hydroxylation; CYP2C8 paclitaxel 6-hydroxylation; CYP2C19 S-mephenytoin 4'-hydroxylation CYP2D6 bufuralolol 1'-hydroxylation; and CYP3A4 testosterone 6 β -hydroxylation, midazolam 1'-hydroxylation and CYP2E1 activity was assessed by chlorzoxazone 6-hydroxylation.

Results and Discussion: Benidipine enantiomers strongly inhibited CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6. The activities of CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8 and CYP2E1 were inhibited faintly, with IC₅₀ exceeding 50 μ M. The inhibition of CYP3A4 was stereospecific, where (+)- benidipine was stronger inhibitor as compared to (-)-benidipine. In contrast, (-)-benidipine was stronger inhibitor of CYP2C9 as compared to (+)-benidipine. There was no significant difference in inhibition of CYP2C19 by (+)-benidipine and the (-)-benidipine. The inhibition of CYP2D6 was moderate and enantiospecific. Interaction of benidipine alpha isomers with especially other CYP3A4 and CYP2C19 substrates cannot be excluded and the use of only one enantiomer might be beneficial.

ACKNOWLEDGMENT

Financial support from Czech Science Agency GACR 13-01809S project and IGA UPOL_LF_2016_006 is acknowledged.

VLIV NIKOTINU NA KONSTITUTIVNĚ AKTIVNÍ SLOŽKU *INWARD RECTIFIER* DRASLÍKOVÉHO PROUDU CITLIVÉHO NA ACETYLCHOLIN: SROVNÁNÍ S PŮSOBENÍM ETANOLU A JEHO PRIMÁRNÍHO METABOLITU ACETALDEHYDU

Roman Kula, Adam Vejmělek, Petr Matějovič, Olga Švecová, Markéta Bébarová

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno

E-mail: roman-kula@hotmail.com

Úvod: Fibrilace síní (FS) je dominantně se vyskytující supraventrikulární arytmie navozená kouřením či konzumací alkoholu, a to i u zdravých jedinců. Často se jedná o paroxysmální FS se spontánním odezněním, kterým předchází kumulativní dávka nikotinu či etanolu. Je tedy pravděpodobný přímý vliv těchto látek na elektrofyzilogii síňového myokardu. V patogenezi FS hraje významnou roli mimo jiné i konstitutivně aktivní složka *inward rectifier* draslíkového proudu citlivého na acetylcholin $I_{K(Ach)}$.

Cíle: Cílem naší práce bylo prostudovat změny konstitutivně aktivní složky $I_{K(Ach)}$ v přítomnosti nikotinu a srovnat vliv nikotinu s vlivem etanolu a jeho primárního metabolitu acetaldehydu.

Metody: Měření byla provedena pomocí metody *whole cell patch clamp* (v režimu vnuceného napětí) na enzymaticky izolovaných síňových buňkách potkana kmene Wistar. Konstitutivně aktivní složka $I_{K(Ach)}$ byla měřena jako proud citlivý na specifický inhibitor $I_{K(Ach)}$ kanálů tertiapin-Q (300 nM). Všechny studované látky byly aplikovány v klinicky relevantních koncentracích: nikotin 400 nM, etanol 20 mM a acetaldehyd 3 μ M.

Výsledky a diskuze: Vlivem 400 nM nikotinu došlo k signifikantnímu navýšení konstitutivně aktivní složky $I_{K(Ach)}$ v průměru o $112,5 \pm 34,7$ % při -110 mV a o $90,7 \pm 17,8$ % při -50 mV. Obdobné změny konstitutivně aktivní složky $I_{K(Ach)}$ jsme pozorovali i v přítomnosti 20 mM etanolu, který tento proud statisticky významně aktivoval o $102,5 \pm 23,0$ % při -110 mV a o $46,5 \pm 9,3$ % při -50 mV. V přítomnosti 3 μ M acetaldehydu byly změny měřeného proudu duální – u některých buněk došlo k aktivaci a u jiných naopak k inhibici konstitutivně aktivní složky $I_{K(Ach)}$; v průměru opět došlo k navýšení proudu, a to o $23,7 \pm 21,0$ % při -110 mV a o $23,0 \pm 23,3$ % při -50 mV. Ve všech případech byly pozorované změny proudu nezávislé na membránovém napětí. Lze uzavřít, že všechny studované látky, konkrétně nikotin, etanol a acetaldehyd, v klinicky relevantních koncentracích navýšily konstitutivně aktivní složku $I_{K(Ach)}$. V případě nikotinu a etanolu byl proud přibližně zdvojnásoben v porovnání s kontrolními podmínkami. Dokumentovaná aktivace proudu by mohla vést k významnému

zkrácení akčního napětí a tedy i refrakterní periody síňových srdečních buněk, což by cestou fenoménu *reentry* mohlo vyústit ve vznik fibrilace síní.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu Masarykovy univerzity MUNI/A/1365/2015.

EXPERIMENTAL PIGS: PHARMACOKINETICS AND ORGAN DISTRIBUTION OF ACETYLCHOLINESTERASE REACTIVATORS K027 AND K203

J. Květina^{1,3}, J. Ždárová-Karasová², K. Musílek², M. Kuneš¹, K. Kuča², J. Bureš¹

1) 2nd Depart. of Internal Medicine - Gastroenterology, Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Kradec Králové, Czech Republic

2) Depart. of Toxicology and Military Pharmacy, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Králové, Czech Republic

3) Depart. of Human Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Veterinary and Pharmaceutical University, Brno, Czech Republic

PERSPEKTÍVY LIEČBY ASTMY BRONCHIALE, SÚČASNOSŤ A BUDÚCNOSŤ

Monika Laššánová¹, Jana Tisoňová¹, Andrea Gažová¹, Štefan Laššán²

1) Ústav farmakológie a klinickej farmakológie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava

2) Klinika pneumológie, ftizeológie a funkčnej diagnostiky Lekárskej fakulty SZU a Univerzitetnej nemocnice, Ružinovská 6, 826 06 Bratislava

E-mail: monika.lassanova@fmed.uniba.sk

Úvod: Astma bronchiale (AB) je chronické zápalové ochorenie dýchacích ciest, v ktorom zohrávajú úlohu viaceré bunky a ich pôsobky. Hlavnými cieľmi manažmentu AB je aktuálna kontrola symptómov ochorenia a redukcia budúcich rizík. Odporúčania GINA využívajú na kontrolu symptómov a minimalizáciu budúceho rizika tzv. krokovú schému liečby, s využitím vyššieho kroku pri nedostatočnej kontrole AB (step-up) a naopak pri aspoň 3oj mesačnom dobre kontrolovanom ochorení krok nižšie (step-down) na intenzitu liečbu, ktorá zabezpečí udržanie tejto kontroly.

V prvom kroku pacienti užívajú pri symptómoch uvoľňovač, krátko pôsobiace beta2-mimetikum (SABA) podľa potreby, už tu možno zvážiť u rizikovejšieho pacienta nízku dávku inhalačného kortikosteroidu (ICS). **V kroku dva** je prednostným kontrolórom nízka dávka ICS, alternatívou sú leukotriénoví antagonisti (LTRA), alebo nízka dávka teofylínu s riadeným uvoľňovaním (rTEO). **V kroku tri** sa preferuje nízka dávka ICS najlepšie vo fixnej kombinácii s dlho pôsobiacim beta2-mimetikom (LABA), ako alternatíva môže slúžiť stredne vysoká až vysoká dávka ICS v monoterapii, alebo kombinácia nízkej dávky ICS s LTRA či rTEO. **Krok štyri** umožňuje podanie stredne vysokej až vysokej dávky kombinácie LABA+ICS; vysoké dávky ICS s LTRA alebo rTEO. **Krok päť** je určený pre pacientov s ťažkou AB, ktorí po splnení indikačných kritérií môžu významne profitovať z biologickej liečby monoklonálnou protilátkou proti IgE – omalizumabom. V prípade, že omalizumab nie je možné podať z akýchkoľvek dôvodov, alebo ak ani liečba s omalizumabom s plnou predchádzajúcou liečbou (krok 4+) nie je dostatočne účinná, možno pridať aj systémové kortikoidy v dlhodobej, pravidelnej liečbe. Anti-IL-5 monoklonálne protilátky ako mepolizumab, benralizumab a reslizumab preukázali potenciál v redukcii exacerbácií, kortikoidy-šetriaci efekt a zlepšenie pľúcnych funkcií. Anti-IL-13 monoklonálne protilátky lebrikizumab, tralokinumab resp. blokátor väzby IL-4/13 na IL-4R α pitrakinra alebo solubilná forma α podjednotky IL-4 receptora altrakincept, môže predstavovať vhodnú alternatívu pre pacientov s Th2-dominantným zápalovým fenotypom so súčasne zvýšenou hladinou periostínu a počtom eozinofilov v periférnej krvi. V oblasti liečby AB s prevahou

neutrofilového zápalu sú vo vývoji antagonisty IL-8, CXCR2, leukotriénu B4 či zástupcovia novej triedy protizápalových liekov – imunolidov. Pri astme so zníženou snezivitou na kortikosteroidy môže predstavovať prínos nasadenie p38MAPK inhibítorov. Ďalšími perspektívnymi cieľmi pri liečbe refraktérnej, ťažko liečiteľnej AB sú napríklad patofyziologické pochody mediované IL-17 (blokujúca monoklonálna protilátka secukinumab).

Záver: Spoločnou črtou nových farmakologických stratégií zasahujúcich do kaskády zápalových dejov je možnosť modifikovať prirodzený priebeh ochorenia v kontexte tzv. Disease-modifying-asthma-therapies (DMAT). DMAT by popri zmiernení symptómov a rizika exacerbácií mali pôsobiť preventívne proti akcelerovanému poklesu pľúcnych funkcií a progresii do ťažkej astmy – to všetko na úrovni štruktúry dýchacích ciest a imunitnej odpovede.

BIODISTRIBUTION AND PHARMACOKINETICS OF IRON OXIDE NANOPARTICLES IN RATS

Milan Lázníček¹, Martina Pospíšilová², Vojtěch Zápotocký², Alice Lázníčková¹, Vladimír Velebný²

1) Faculty of Pharmacy, Charles University, Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové (FaF)

2) Contipro Pharma a.s., Dolní Dobrouč 401, 56102 Dolní Dobrouč

E-mail: Laznicek@faf.cuni.cz

Introduction: Iron oxide nanoparticles hold potential for the development of exquisitely sensitive diagnostics and organ/tumor-targeted therapies. Their pharmacokinetics generally depends on multiple factors, including size, surface charge, surface modification, opsonization including protein corona formation, and others. For this reason, it is essential to determine the biological fate of nanoparticles that may be used for *in vivo* applications.

Aims: Purpose of the present research was to evaluate biological distribution of iron oxide nanoparticles radiolabeled with ⁵⁹Fe after intravenous administration to rats.

Methods: Iron oxide nanoparticles (hydrodynamic diameter 90 nm) were radiolabeled with ⁵⁹Fe. For biological experiments, male Wistar rats were used.

Results and Discussion: The study revealed rapid disappearance of ⁵⁹Fe-radioactivity from the central distribution compartment in the initial time intervals (up to 60 minutes). High and long-term uptake of radioactivity determined in the liver, lungs and spleen verify that iron oxide nanoparticles were directed to well irrigated organs rich in mononuclear phagocyte system that has a major role in removing foreign colloidal nanoparticles from the blood circulation. The study suggests that high and long term ⁵⁹Fe-radioactivity accumulation in the liver and spleen persisted over long periods of time and time-radioactivity escape was very slow; on the other hand, ⁵⁹Fe-radioactivity uptake in the lungs in longer time intervals (from 2 hours after dosing) gradually decreased and simultaneously increased blood radioactivity. ⁵⁹Fe-radioactivity elimination rate from the body was very slow, with only 0.65±0.31% ID eliminated after 7 days by urinary excretion and 1.13±0.06% ID via the feces.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by the research contract D99-105 between Contipro Pharma and FaF.

NILOTINIB INDUCES ROS, ER STRESS AND APOPTOSIS IN H9C2 CELLS

Denis Lekeš¹, Ivan Szadvári¹, Olga Križanová^{1,2}, Marie Nováková^{1,3}, Zuzana Nováková¹, Tomáš Parák⁴, Petr Babula^{1,3}

1) Dpt. of Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 5, 625 00, Brno, Czech Republic

2) Institute of Clinical and Translational Research, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Dubravska cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovakia

3) International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno, 656 91 Brno, Czech Republic

4) Dpt. of Human Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackeho 1946/1, 612 42, Brno, Czech Republic

E-mail: babula@med.muni.cz

Introduction: BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors (TKi) represent relatively novel class of anticancer drugs targeted on pathological cellular pathways overexpressed in certain types of tumours. Imatinib was the first TKi introduced for the treatment of chronic myeloid leukaemia (CML). The most important TKi of the second generation are nilotinib, dasatinib, and bosutinib. Affecting of multiple signalling pathways by TKi may results in various haematological and non-haematological side effects, such as cardiotoxicity manifested in a broad range of signs connected with deprivation of heart function and alteration of its structure.

Aims: The aim of this study was to determine cardiotoxicity of TKi nilotinib and its possible mechanisms at *in vitro* level using suitable cell model (H9c2 cells).

Methods: H9c2 cells were cultured as monolayers according to protocol used at Dpt. of Physiology, Faculty of Medicine. The cells were treated with nilotinib (Abcam, UK; concentration range 0-15.0 μ M) or DMSO (used as a solvent), for 24 h or 48 h. Cell viability and proliferation, cell morphology and lipid formation, ROS and NO generation, markers of ER stress, changes in mitochondrial potential, activation of caspase 3/7 and markers of apoptosis were evaluated using a wide range of different methods.

Results and Discussion: We determined ability of nilotinib to affect all monitored parameters at both time- and concentration dependent manners. Interestingly, experiments on H9c2 cells treated with nilotinib itself and nilotinib in pre-treatment with L-NAME (100 μ M, an analogue of arginine that inhibits NO production) or sodium nitroprusside (2 mM, SNP, a donor of NO) showed an ability of nilotinib to increase NO and ROS productions. Pre-treatment with L-NAME had unambiguously protective effect. On the other hand, pre-treatment with SNP deteriorated toxic effect of nilotinib. In terms of cell viability and other parameters, nilotinib itself reduced cell viability significantly; protective effect of L-NAME in pre-treatment was well evident; in addition, while nilotinib was able to induce ER stress, pre-treatment with L-NAME prevented it. Whereas possible cardiotoxicity of nilotinib has been

described in literature, its mechanisms remain almost unknown. Using a multi-parameter approach, we revealed the possible role of NO in the cardiotoxicity of nilotinib.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the project no. LQ1605 from the National Program of Sustainability II (MEYS CR) and MUNI/A/1365/2015.

INCREASE IN MALIGN HEART ARRHYTHMIA IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF THE METABOLIC SYNDROME

Boris Lipták^{1,2}, Barbara Kaprinay^{1,2}, Vladimír Knezl¹, Zdenka Gáspárová¹

1) Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovak Republic.

2) Department of Pharmacology, Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, BioMed, Malá Hora 4C, 036 01 Martin, Slovak Republic.

E-mail: liptaq.b@gmail.com

Introduction: Diet represents a key factor that substantially influences our health, development of disease and its potential consequences. High-fat diet can potentially lead to expression of the metabolic syndrome (MS) and cardiovascular disease (CVD). These negative effects can affect the heart and substantially condition patient's survival and future prognosis.

Aims: We hypothesised that high-fat diet administered to Prague spontaneous hypertriglyceridemic (HTG) rats would develop MS and negatively influence the heart with decreased ischemic-reperfusion recovery, impaired heart contractility (+dP/dt) and relaxation (-dP/dt), increased end diastolic left ventricular pressure (EDLVP), increase in spontaneously benign and malign arrhythmias, and increase the heart propensity to induced left ventricular fibrillation (VF) or severe left ventricular tachycardia (VT).

Methods: Male Wistar (W) and HTG rats were fed standard or high-fat diet (including 7.5% lard and 1% cholesterol for eight weeks). Perfusion of the heart according to Langendorff was selected as the method. The heart was perfused under the constant pressure. After the *in situ* isolation the heart was stabilised for 15 min and continued with 20 min ischemia and 20 min reperfusion. At the end of the protocol the heart was stimulated for sustained malign arrhythmias.

Results and Discussion: MS developed in both HTG groups independent from the diet. Wistar rats (fed standard diet only) did not develop sings of MS. MS was characterised with increased triacylglycerides (TGR), decreased in high density lipoprotein cholesterol (HDL-CH), impaired glucose tolerance and increased systolic blood pressure. High-fat diet improved the recovery of the left ventricular pressure (LVP) in HTG group after 20 min ischemia while the heart rate remained similar for all three groups. Increased coronary flow was recorded in both HTG groups. Alternations in ventricular contraction and relaxation were not observed comparing the three groups. Significant increase in EDLVP was observed in HTG group with standard diet. This increase in EDLVP was observed both in ischemia and reperfusion. Abundant spontaneous heart arrhythmias developed in HTG group both with

standard and high-fat diet in reperfusion in comparison to Wistar group. All HTG rats fed high-fat diet developed sustained malign arrhythmia (40% in reperfusion and 60% in cardio-stimulation). HTG rat hearts were more sensitive to cardio-stimulation, reacting with sustained arrhythmia at lower stimulation impulses. High-fat diet in HTG rats predisposes the heart to malign arrhythmias, thus chronic consumption of high-fat meals may condition negative changes in the heart leading to heart arrhythmias in patients with MS or CVD.

ACKNOWLEDGMENT

This study was financially supported by VEGA 2/0054/15.

TRIOGANOTIN COMPOUNDS – RETINOID X RECEPTOR LIGANDS – BIOLOGICAL EFFECTS IN BREAST CANCER CELL LINES

Macejova D., Bialesova L., Toporova L., Brtko J.

Institute of Experimental Endocrinology, BMC SAS, Dúbravská cesta 9, 84505 Bratislava, Slovakia

E-mail: ueenmace@savba.sk

Introduction: Retinoid X receptor (RXR)-selective retinoids (“rexinoids”) are useful candidate therapeutic agents of cancer, as they may display less toxicity than retinoic acid receptor (RAR)-selective retinoids. Triorganotins, organic compounds widely produced in industry as antifouling agents in paints, repellents against insect and rodents, as well as agricultural fungicides, are considered to be high-affinity ligands for nuclear retinoid X receptors acting predominantly in agonistic manner.

Aims: The aim of the present study was to investigate RXR binding characteristics of selected triphenyl-/tributyl- substituted organotin compounds in rat liver and the *in vitro* effects of selected organotin compounds (100 nM; 48 h) on gene expression of RAR and RXR subtypes and selected genes involved in regulation of apoptosis, differentiation and cell proliferation in estrogen receptor positive (MCF-7) and estrogen receptor negative breast cancer cell line (MDA-MB-231) using real-time PCR analysis.

Methods: In our laboratory, we have established the radioligand binding assay for accurate determination of nuclear retinoid X receptors (Toporova *et al.*, 2016). We demonstrated one type of high affinity and limited capacity RXR specific binding sites with the K_a value ranging from 1.011 to 1.727×10^9 l/mol and the B_{max} value ranging from 0.346 to 0.567 pmol/mg. These data based on radioligand binding assay has clearly confirmed the property of TBT-Cl, TPT-Cl and several other TBTs or TPTs to bind to a high affinity and limited capacity RXR binding sites.

Results and Discussion: We have already shown that all-*trans* retinoic acid (1 μ M), tributyltin chloride (TBT-Cl) and tributyltin bromide significantly reduced expression of anti-apoptotic Bcl2 mRNA in estrogen receptor positive breast cancer MCF-7 cells. However, the results of this study on MDA-MB-231 cells indicate that TBT-Cl, tributyltin hydride and selected triphenyltin derivatives significantly increased expression of Bcl2 mRNA. Moreover, these organotin derivatives increased expression of RXR α , RAR α and RAR γ , while RXR β and BAX mRNA remained unaffected.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by APVV-15-0372, APVV-0160-11 and Vega 2/0171/14 grants.

ZINOK A POŠKODENIE OBLIČIEK

Dana Marcincáková¹, Tomáš Csank², Marcel Falis¹, Monika Fedorová³, Jaroslav Legáth¹

1) Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 04181 Košice

2) Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 04181 Košice

3) Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská republika

E-mail: dana.marcincakova@uvlf.sk

Úvod: Zinok je dôležitý esenciálny stopový prvok, ktorý je nevyhnutný pre zdravie organizmu. Vyskytuje sa v bunkách celého tela, je nutný pre správne fungovanie obranného (imunitného) systému, je dôležitou súčasťou mnohých enzýmov. Je nevyhnutný pre normálny rast buniek, ich vývoj a diferenciáciu, pre syntézu DNA, transkripciu RNA a delenie buniek. Nedostatok zinku sa môže prejaviť viacerými spôsobmi, napr. ochoreniami pečene, kožnými léziami, zhoršeným hojením rán, narušenie funkcie imunitného systému. Po konzumácii potravín alebo nápojov kontaminovaných zinkom, uvoľneného z pozinkovaných nádob môže dôjsť k príznakom toxicity, ako je bolesť brucha, hnačka, nevoľnosť, zvracanie. Pre organizmus je nebezpečný nedostatok, ale aj prebytok zinku.

Ciele: Cieľom práce bolo monitorovanie cytotoxického vplyvu zinku ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ síran zinočnatý) na modelovú bunkovú líniu králičích obličkových buniek RK13 v reálnom čase a stanoviť hodnotu IC50.

Metódy: Monitorovanie bunkovej odpovede po ošetrovaní zinkom bolo vykonané pomocou xCELLigence systému. Hodnoty bunkových zmien boli zaznamenané ako bunkový index (CI), na základe ktorého bolo možné vypočítať percento proliferácie buniek po expozícii a pomocou xCELLigence softvéru stanoviť hodnotu IC50.

Výsledky a diskusia: Odporúčané denné dávky zinku sú dané podľa pohlavia a vekových skupín. Za maximálnu dávku možno považovať 100 mg denne. Po vystavení buniek účinkom zinku došlo k náhlemu zastaveniu ich rastu buniek došlo po pridaní zinku v koncentrácii 200 mg/l, už v prvých 24 hodinách. Avšak, pri koncentrácii zinku 100 mg/l začali bunky po počiatočnom poklese opäť rásť a po 48 hodinách od pridanej látky dosiahli dokonca vyšší bunkový index, v porovnaní s kontrolou ($P < 0,05$). U ostatných testovaných koncentrácií 1, 10, 50 mg/l boli hodnoty zmien bunkového indexu porovnateľné s kontrolou ($P > 0,05$). Hodnota IC50 bola vyjadrená ako závislosť koncentrácie testovanej látky a bunkového indexu v danom čase (192,67 mg/l). Zinok teda preukázal nefrotoxické účinky s rastúcou koncentráciou.

POĎAKOVANIE

*Práca bola pripravená s podporou Národného referenčného laboratória pre pesticídy
Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach.*

OPTIMIZATION OF *IN VITRO* AND *EX VIVO* METHODS TO STUDY ROLE OF DRUG TRANSPORTERS FOR INTESTINAL ABSORPTION

Ondřej Martinec, Lukáš Červený, Ivan Vokřál, František Štaud

Dpt. Of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Charles University in Prague

E-mail: martinon@faf.cuni.cz

Introduction: A lot of drugs are administered orally and to get to the systematic circulation they have to pass through the intestinal barrier. Absorption of these drugs can be lowered by drug efflux ATP-binding cassette (ABC) transporters. It has been well documented that drug-drug interactions (DDIs) on two widely expressed intestinal ABC transporters, P-glycoprotein (ABCB1) and breast cancer resistance protein (ABCG2) may result in inadequate levels of plasma concentrations thus threatening efficacy of pharmacotherapy. As direct involvement of both transporters cannot be easily investigated in human body, it is always essential to collect experimental data using complex portfolio of suitably chosen surrogate techniques.

Aims: Aim of our study was to optimize *in vitro* and *ex vivo* techniques to investigate DDIs on intestinal ABC transporters.

Methods: As an *in vitro* model, we used well established model of intestinal barrier Caco-2 cell line. We employed tenofovir disoproxil fumarate (TDF) as a clinically relevant substrate of ABCB1/ABCG2 to test its DDIs observing that model ABCB1/ABCG2 dual inhibitor elacridar and antiretroviral drug lopinavir abolished the efflux activity of these proteins. Moreover, unique *ex vivo* model based on accumulation of tested compound in precision cut slices resected from rat intestine was optimized using rhodamine123 (10 μ M) reaching efflux ratio \approx 2. Application of elacridar again blocked ABCB1/ABCG2 activity and increased intestinal rhodamine uptake. Pilot study to describe activity of both proteins in particular segments of the intestine was performed. We did not observe segment dependent differences.

Results and Discussion: In conclusion we further confirmed TDF as a substrate of ABCB1/ABCG2 suggesting DDIs with lopinavir on these transporters. Accumulation studies in rat intestinal slices have been optimized and first experiments focused on potential DDIs tested on this mini-model of vital tissue may be initiated. To increase complexity of our research we plan to employ the technique compound accumulation in precision cut slices of human intestine.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by SVV/2016/260-293.

VPLYV MODIFIKÁCIE POVRCHU NA ADHERENCIU BUNIEK V IMUNOFLUORESCENČNEJ MIKROSKOPII

Adam Matejovič^{1,2}, Lenka Piváčková¹, Ondrej Sprušanský¹, Andrea Gažová³, Simona Valášková¹, Jana Mlynárová¹, Peter Musil¹, Ján Kyselovič¹

1) Kat. farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

2) Ústav humánnej a klinickej farmakológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice

3) Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Špitalská 24, Bratislava, 813 72

E-mail: matejovic8@uniba.sk

Úvod: Imunofluorescencia v mikroskopii ako jediná technika vizualizácie buniek využíva protilátky na zvýraznenie antigénu cieľovej oblasti bunky pomocou fluorescenčného farbiva a tým umožňuje jej vizualizáciu. Pre identifikáciu bunkových línií mezenchymálnych buniek a fibroblastov sme použili protilátku proti vimentínu spolu s DAPI pre vizualizáciu bunkových jadier. Charakteristickou vlastnosťou mezenchymálnych buniek je adherencia na plastové povrchy. Výsledky experimentov v našom laboratóriu neprezentovali štandardnú mikroskopiu, preto sme skúsili ďalšie metódy úpravy povrchu sklíčka pre zlepšenie adherencie mezenchymálnych buniek.

Ciele: Vypracovať protokol modifikácie povrchu sklíčok s cieľom zlepšiť adherenciu bunkových línií a aplikovať najvhodnejšiu metódu ošetrenia krycích sklíčok pre imunohistochemické pozorovanie.

Metódy: Na štandardné krycie sklíčka bez modifikácie povrchu (12 mm Poly-D-Lysine) sme v 12-jamkovej platničke aplikovali suspenziu bunkovej kultúry na stred krycieho sklíčka s cieľom pokryť celý povrch. Po uplynutí 45 minút sme povrch sklíčka doplnili 1,5 ml kultivačného média. V skupine modifikovaných sklíčok sme povrch potiahli roztokom želatíny (gelatine coated cover slides). 1% roztok želatíny sme následne po 4 hodinách aspirovali, na sklíčka inokulovali 1,5 ml bunkovej suspenzie a nechali 24 hodín v inkubátore. Pre mikroskopické zobrazenie sme použili mikroskop Nikon ECLIPSE Ni-U so 40-násobným zväčšením. Na identifikáciu vimentínu sme použili Vimentin (D21H3) XP® Rabbit mAb (#5741) ako primárnu protilátku a farbivo Alexa Fluor® 488 Goat Anti-Mouse IgG (H+L) (#A-11001) ako sekundárnu protilátku. Pre identifikáciu bunkových jadier sme použili fluorescenčné farbivo DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole). Použité bunkové línie: adherentné bunky izolované z kostnej drene pacientov s kritickou ischémiou dolných končatín, fibroblasty izolované z tukového tkaniva pacientov po liposukcii.

Výsledky a diskusia: Na jednotlivých mikroskopických preparátoch so štandardnými kryciami sklíčkami bez modifikácie sme pozorovali len sporadicky sa

vyskytujúce a slabo porastené zhluky buniek (bunky kostnej drene i fibroblasty) s guľovitým tvarom. Na druhej strane, na sklíčkach potiahnutých želatínou bol vyšší počet adherovaných buniek oboch línií s pozorovanou typickou morfológiou pre daný bunkový typ. Pre lepšiu adhérenciu buniek na imunofluorescenčné mikroskopické zobrazenie sa ako vhodnejší a účinnejší spôsob preukázalo potiahnutie povrchu sklíčok roztokom želatíny.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená grantom FaF UK/23/2016 a VEGA 1/0905/14.

THE EFFECT OF SILYMARIN ON THE EXPRESSION OF PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTORS IN HYPERTRIGLYCERIDEMIC RATS

Zuzana Matušková¹, Martin Poruba¹, Ludmila Kazdová², Rostislav Večeřa¹

1) Dpt. of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Hněvotinská 3, 775 15 Olomouc, Czech Republic

2) Center for Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic, Vídeňská 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic

E-mail: zuzu.Matuskova@seznam.cz

Introduction: Natural extract of *Silybum marianum*, silymarin, is a complex of compounds where a major component is silybin with antioxidant and anti-inflammatory properties. Hypertriglyceridemia is one of the risks factors of the atherosclerosis. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) play important role in the transcriptional pathway where some abnormalities can also lead to the atherosclerosis.

Aims: Our aim of the study was to find out whether silymarin has an effect on the expression of PPARs in the hereditary hypertriglyceridemic (HHTg) rats. These rats have a developed hypertriglyceridemia and represent an accepted model of metabolic syndrome.

Methods: In our experiment, HHTg rats were fed on a 1% of silymarin (w/w) or 0.5 % of silybin in standard laboratory diet. Control HHTg rats were fed with standard laboratory diet alone. The diet was administered *ad libitum* and took four weeks. After the experiment, the expression of PPAR α mRNA and PPAR γ mRNA were determined in rat liver by RT-PCR.

Results and Discussion: The results show that the PPAR α mRNA expression was significantly increased ($p < 0.01$) in liver from rats with silymarin diet in comparison to liver from control rats. In addition, silybin caused a significant increase ($p < 0.05$) in liver PPAR α mRNA expression in comparison to control as well. On the other hand, there was no change in the expression of PPAR γ mRNA. This study shows that silymarin and also its major component silybin have an important effect on the expression of PPAR α mRNA. This receptor is a regulator of fatty acid metabolism, energy balance, and inflammation. Its increased expression can have a positive effect in the treatment of hypertriglyceridemia. On the other hand, the expression of PPAR γ mRNA, that has an effect on glucose tolerance and insulin sensitivity, was not changed in our experiment.

ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by grant P303/13-10813S from the Czech Science Foundation.

SYSTEMIC ADMINISTRATION OF MIRNA-MIMICS BY LIPOSOMAL DELIVERY SYSTEM IN ANIMAL MODEL OF COLORECTAL CARCINOMA

Jana Merhautová^{1,2}, Petra Vychytilová¹, Regina Demlová², Ondřej Slabý¹

1) Molecular Oncology II – Solid Cancer, CEITEC Masaryk University, Kamenice 5, 62500 Brno

2) Dpt. of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 5, 62500 Brno

E-mail: jmerhaut@med.muni.cz

Introduction: Dysregulation of miRNA network is linked with various pathological states, including solid tumors. MiRNAs are important post-transcriptional regulators of gene expression and miR-215 has been identified as tumor suppressor in colorectal cancer (CRC). *In vitro*, miR-215 inhibits proliferation and migration, and induces apoptosis of CRC cells. *In vivo*, we have previously proved that overexpression of miR-215 in stably transfected cells leads to the decrease of tumor volume in animal model of CRC.

Aims: The aim of this project was to study the possibility of increasing the level of miR-215 in tumor by systemic administration of miRNA-mimics in liposomal delivery system *in vivo*.

Methods: All experiments were performed in accordance with the animal welfare legislation. Colorectal cancer cells HCT-116 (2.5×10^6) were administered subcutaneously to 12 NSG mice. On Day 7 i.v. administration of a) miRNA-mimics in liposomes, b) control (scrambled) oligonucleotide in liposomes, or c) saline *via* tail-vein was initiated. Commercially available miR-215-mimics and neutral lipid emulsion were used in accordance with the manufacturers' protocols. Two different doses of miRNA-mimics were tested (20 and 40 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) and administrations were repeated four times. Animals were sacrificed 24 h after the last dose, tumor were dissected and measured by a caliper. Tumor tissue, lungs and liver were stored in RNAlater. The expression of miR-215 was measured by qRT-PCR.

Results and Discussion: There was no significant differences in tumor volume and miR-215 expression between all three treatment groups (Kruskal-Wallis test, $p > 0,05$ for both doses). The increase of intratumoral miR-215 levels and thus decrease in tumor proliferation was not achieved by systemic administration of miRNA-mimics in liposomes. One of the possible explanations is extratumoral accumulation of liposomes. Expression of miR-215 was higher in lungs than in the tumor site in miRNA-mimic-treated animals. Pulmonary levels were also significantly higher in miRNA-mimics-treated than in control- or saline-treated animals. As was shown *in vitro* and *in vivo*, miR-215 is a promising therapeutic target in CRC, but the issue of a proper delivery system still remains challenging.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by internal projects MUNI/11/InGA09/2014, MUNI/A/1116/2014 and MUNI/A/1284/2015, and by the project GA16-18257S of The Grant Agency of Czech Republic.

THE ARTICHOKE LEAVES EXTRACT DECREASES NF-KAPPA B PROBABLY VIA INHIBITION AKR1B1 IN HUMAN LEUKEMIC CELLS

Ivana Miláčková¹, Kristína Kapustová¹, Pavel Mučaji¹, Jan Hošek²

1) Dpt. of Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava, Odbojárov 10, 83232 Bratislava

2) Dpt. of Molecular Biology and Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého 1, 61242 Brno

E-mail: imilackova@gmail.com

Introduction: The AKR1B1 intracellular enzyme belongs to aldose reductase superfamily. It reduces also lipid peroxidation originated aldehydes following some extracellular proinflammatory agent. The AKR1B1-aldehydes reduction is a part of intracellular inflammatory pathway leading to activation of NF-kappa B and expression of pro-inflammatory genes.

Aims:

- determination of inhibition of AKR1B1 by artichoke leaves extract
- the testing of cytotoxicity of artichoke leaves extract and some compounds isolated from it on human leukemic cell line THP-1
- the effect of artichoke leaves extract and some participating compounds on expression of AKR1B1, COX-2 and MMP-2 proteins in human leukemic cell line THP-1
- the ability of the samples to modulate LPS-induced NF-kappa B activation in the cells
- the intracellular oxidant effect of the samples after incubation with LPS

Methods: Consumption of NADPH cofactor of AKR1B1- enzymatic reaction was detected spectrophotometrically. For determination of cytotoxicity WST-1 assay was provided. After incubation of the cells (THP-1 or THP-1 X Blue) with the samples the determination of proteins by Western blot, determination of NF-kappa B by spectrophotometrical assay and determination of intracellular reactive oxygen species by DCFH-DA fluorimetric method were provided.

Results and Discussion: The artichoke leaves extract inhibits the AKR1B1 enzyme in the low $\mu\text{g/ml}$ level. After LPS stimulus the artichoke extract decreases the NF-kappa B level comparing to the control in the cells, but no changes in the AKR1B1, COX-2 and MMP-2 protein expression by the extract were recorded. The extract significantly decreased the intracellular reactive oxygen species after 35 min LPS incubation.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by VEGA-1/0646/14.

VILDAGLIPTIN PREVENTS REACTIVE OXYGEN SPECIES-INDUCED VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELL SENESCENCE VIA ACTION OF GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1

Svetozár Mišúth, Diana Čepcová, Ján Klimas, Diana Vavrincova-Yaghi, Peter Vavrinec

Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovakia

E-mail: vavrinec@fpharm.uniba.sk

Introduction: Stress induced premature senescence (SIPS) of vascular cells is associated with decreased vascular function in various models. Vascular smooth muscle cells that undergo SIPS lose relaxatory function and shifts to senescence associate secretory phenotype (SASP). Recent studies showed that inhibition of dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) plays a role in cardiovascular protection, independently of plasma glucose control. Some studies suggest that this protective effect is mediated via attenuation of SIPS.

Aims: Therefore we sought to test this hypothesis on doxorubicin rat model and on cultured vascular smooth muscle cells (VSMCs).

Methods: Rats were injected with doxorubicin and treated with DPP-IV inhibitor vildagliptin. Six weeks thereafter rats were sacrificed; aorta was removed and prepared for vascular measurements and for RNA isolation. Additionally, VSMCs were isolated from aortas of healthy rats and cultured under standard conditions. In order to induce SIPS cells from 7th passage of cultured VSMCs were exposed to either doxorubicin or hydrogen peroxide and treated with GLP-1. SIPS in VSMCs was detected with senescence-associated beta-galactosidase (SA- β -Gal) activity assay and in both VSMCs and aortas by presence of mRNA for p16^{Ink4A}, p27^{Kip1} and p53.

Results and Discussion: Aortic rings isolated from rats that received doxorubicin had impaired relaxation to sodium nitroprusid and vildagliptin treatment restored impaired relaxation. Furthermore aortas isolated from doxorubicin rats had higher amount of mRNA markers of senescence p16^{Ink4A}, p27^{Kip1}, p53 and vildagliptin decreased the expression. Additionally, VSMCs exposed to hydrogen peroxide showed higher SA- β -Gal activity and treatment with GLP-1 decreased the activity. Cells treated with hydrogen peroxide had higher amounts of mRNA for p16^{Ink4A}, p27^{Kip1} and p53 and treatment with GLP-1 led to improvement of increased expression. Finally vildagliptin treatment of rats and GLP-1 treatment of VSMCs also decreased mRNA for SASP IL-6 and IL-8. Based on this data we conclude that vildagliptine has protective role on doxorubicin stress induced premature vascular smooth muscle cell senescence via action of glucagon-like peptide-1.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by projects VEGA 1/0667/14 and VEGA 1/0223/15.

OPTIMIZATION OF FLOW CYTOMETRY ANALYSIS FOR IDENTIFICATION OF MSCS IN BONE MARROW CONCENTRATE IN PATIENTS WITH CRITICAL LIMB ISCHEMIA

Jana Mlynárová¹, Simona Valášková¹, Andrea Gažová², Juraj Maďarič³, Ján Kyselovič¹

1) Dpt. of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava

2) Institute of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine in Bratislava, Comenius University

3) Dpt. of Cardiology and Angiology, The National Institute of Cardiovascular Disease, Bratislava

E-mail: jnmlynarova@gmail.com

Introduction: Identification of mesenchymal stem cells (MSCs) is a complex and still not resolved area. Currently, MSCs are identified mostly by the criteria proposed by the International Society for Cellular Therapy (ISCT) in 2006 which are based on the positivity to CD73, CD90, and CD105 and negativity to CD14 or CD11b, CD19 or CD79 α , CD34, CD45, and HLA class II. CD271 is also used for isolation and identification of MSCs from bone marrow along with other markers.

Aims: Our aim was to optimize MSC identification in bone marrow concentrate (BMC) in patients with critical limb ischemia (CLI) by creating suitable instrument settings and comparing two existing kits for MSC identification: MSC Phenotyping kit, based on the ISCT criteria, and MSC Enumeration kit, based on CD271⁺MSCA-1⁺ selection.

Methods: BMC of mononuclear cells was obtained by gradient density centrifugation (SmartPreP2 Bone Marrow Aspirate Concentrate System; Harvest, Plymouth, MA, USA) of fresh bone marrow aspirate from iliac crest and processed for flow cytometry (MACSQuant analyzer, Miltenyi Biotec, Germany). Anti-CD45 antibodies conjugated to APC, FITC, PE, PerCP or VioBlue and MSC Phenotyping kit (Miltenyi Biotec, Germany) were titrated to test the staining protocol. MSC Phenotyping kit consists of antibodies against CD14-PerCP, CD20-PerCP, CD34-PerCP, CD45-PerCP, CD73-APC, CD90-FITC, CD105-PE, and isotype controls. MSC Enumeration kit (Miltenyi Biotec, Germany) staining protocol was performed according to manufacturers' instructions and contains antibodies against CD45-FITC, CD235a-VioBlue, CD271-PE, MSCA-1-APC, and Mouse-IgG1-APC.

Results and Discussion: In our previous experiments, we identified MSCs in cultured adherent cells isolated from BMC using the tested MSC phenotyping kit (data not shown). In BMC, we performed fluorescence compensation with dilutions of CD45 antibodies based on previous antibody titration. We identified from $4.1 \times 10^6/\text{ml}$ to $5.8 \times 10^6/\text{ml}$ viable cells corresponding to 98-99% viability in 3 different staining protocols. We were able to identify 0.002% of MSCs only using the antibody dilution according to manufacturers' instructions.

On the other hand, we identified 0.03% of cells from the total of 4.3×10^7 /ml viable cells as MSCs (CD271⁺MSCA-1⁺) using the MSC Enumeration kit. We can conclude that MSC Enumeration kit is more suitable for MSC identification in BMC in patients with CLI.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by project APVV-14-0416.

OBRAZOVÁ ANALÝZA KARDIOMYOCYTOV V EXPLANTOVANÝCH HUMÁNNYCH VZORKÁCH

Musil P.¹, Gažová A.², Matejovič A.¹, Varga I.⁴, Hulman M.³, Kyselovič J.¹

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

2) Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

3) Klinika kardiochirurgie, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Bratislava

4) Ústav histológie a embryológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

E-mail: musil1@uniba.sk

Úvod: Chronické srdcové zlyhanie sa popisuje ako zložitý stav, pri ktorom nedochádza iba k zmenám hemodynamických parametrov, ale aj k neurohumorálnym zmenám, ktoré majú vplyv na remodeláciu tkaniva myokardu.

Ciele: Sledovať hrúbku kardiomyocytov v jednotlivých častiach srdcového svalu a percentuálne zastúpenie kardiomyocytov a jadier na histologických preparátov (farbenie HE) z troch explantovaných vzoriek srdca, odobratých pacientom v časovom období 7.11.2013-21.5.2014 a zistiť morfológické rozdiely medzi jednotlivými humánnymi vzorkami.

Metódy: Z explantovaného srdca sme odobrali vzorku na histologickú analýzu (farbenie HE). Mikroskopické rezy sme vyšetrovali použitím svetelného mikroskopu Nikon ECLIPSE Ni-U, so softwérom NIS-ELEMENTS BR 4.13.03 64bit a PROMICRA QuickPHOTO INDUSTRIAL 3.1.

Výsledky a diskusia: Na jednotlivých histologických rezoch sme pozorovali viditeľne odlišnú skladbu tkaniva myokardu u jednotlivých preparátov. Pacient 4738 mal priemernú hrúbku kardiomyocytu v ĽK $126,05 \pm 29,51 \mu\text{m}$, ktoré zaberali $81,53 \mu\text{m}^2$, $10,15\%$ plochy myokardu. V PK mal identickú priemernú hrúbku kardiomyocytu, ktoré však zaberali signifikantne vyšší podiel plochy v porovnaní s hrúbkou a plochou kardiomyocytov v ĽK. Pacient 4740 mal priemernú hrúbku kardiomyocytu signifikantne väčšiu v ĽK ($128,72 \pm 29,81$) v porovnaní s PK ($105,31 \pm 43,85$). Pri stanovení percentuálneho podielu kardiomyocytov sme identifikovali signifikantne vyšší percentuálny podiel kardiomyocytov a jadier v PK v porovnaní s ĽK. U pacienta 4741 sme našli signifikantne vyššiu hrúbku kardiomyocytu v PK ($137,96 \pm 21,5$) v porovnaní s priemernou hrúbkou kardiomyocytu v ĽK ($129,29 \pm 44,22$), ale zaznamenali sme signifikantne nižší podiel kardiomyocytov na plochu v PK ($63,29 \pm 8,58$) v porovnaní s ĽK ($72,43 \pm 12,43$). Tým, že ľavá komora vykonáva čerpaciu funkciu srdca, môžeme predpokladať, že po objavení sa patologických zmien na myokarde, sa to najskôr prejaví práve na štruktúre a výkonnosti ĽK. Túto myšlienku podopiera aj fakt, že v explantovaných srdciach sme v dvoch prípadoch identifikovali signifikantne väčšiu plochu

kardiomyocytov v PK v porovnaní s ĽK, napriek nezmenenej alebo menšej hrúbke samotného kardiomyocytu.

POĎAKOVANIE

Podporené grantom VEGA 1/0949/15, APVV-14-0416 a APVV-12-0434.

ANTIPROLIFERATÍVNY ÚČINOK FURÁNOVÝCH ANALÓGOV JASPÍNU B

Alexandra Nagyová¹, Gabriela Gönciová¹, Martin Kello¹, Miroslava Martinková², Eva Mezeiová², Jozef Gonda², Ľubica Horňáková³, Martina Bago Pilátová¹

1) Ústav Farmakológie LF UPJŠ, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

2) Katedra organickej chémie PF UPJŠ; Moyzesova 11, 040 11 Košice

3) Klinika malých zvierat UVLF, Komenského 73, 041 81 Košice

E-mail: martina.pilatova@upjs.sk

Úvod: V dnešnej dobe používaná chemoterapia nádorových ochorení je často limitovaná nežiaducimi účinkami. Z toho dôvodu sa vedecká obec stále zaoberá hľadáním nových látok, ktoré by vykazovali vyššiu účinnosť a nižšiu toxicitu. Morský ekosystém je mimoriadne bohatým rezervoárom biologicky aktívnych zlúčenín so silnými protinádorovými a cytotoxickými vlastnosťami. Tieto prírodné látky disponujú veľkou flexibilitou a poskytujú tak priestor pre vznik stále nových konformácií. Ich biologické účinky sú ovplyvnené charakterom, umiestnením a počtom substituentov, čo je možné využiť pri syntéze aktívnejších derivátov. Medzi zlúčeniny so silným antineoplastickým potenciálom patrí aj jaspín B (pachastrissamín), ktorý vykazuje cytotoxický účinok proti celej rade nádorových bunkových línií.

Ciele: Cieľom našej práce bolo sledovať antiproliferatívne účinky furánových analógov jaspínu B ako aj vzájomný vzťah medzi ich štruktúrou a účinkom.

Metódy: Antiproliferatívne účinky furánových analógov jaspínu B sme sledovali pomocou kolorimetrického MTT testu.

Výsledky a diskusia: Naša práca demonštruje antiproliferatívny potenciál syntetických analógov jaspínu B na nádorových bunkových líniách. Najvyššia antiproliferatívna aktivita bola pozorovaná pri zlúčenine č. 209 [(2*S*,3*S*,4*S*)-4-amino-2-tetradecyltetrahydrofurán-3-ol hydrochlorid] s IC_{50} 0,14 $\mu\text{mol/L}$ na bunkovej línii A-2780 a s IC_{50} 0,21 $\mu\text{mol/L}$ na línii SKOV3. Výsledky sledovania vzájomného vzťahu štruktúry a účinku naznačujú, že prítomnosť alifatického reťazca v štruktúre jaspínu B je esenciálna pre zachovanie jeho aktivity.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla za finančnej podpory grantovej agentúry MŠ SR (No. 1/0168/15, No. 1/0322/14; No. 1/0398/14; 1/0546/16) a realizáciou projektu Medicínsky univerzitný park v Košiciach (MediPark, Košice) ITMS: 26220220185 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.

COMPARISON OF ROSUVASTATIN UPTAKE VIA INTESTINAL OATP TRANSPORTERS

Lucie Navrátilová¹, Kateřina Lněničková², Jana Ramos Mandíková¹, Jiří Janoušek¹, František Trejtnar¹

1) Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

2) Department of Biochemical Sciences, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

E-mail: navratl2@faf.cuni.cz

Introduction: Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) represent the first-choice therapy for hypercholesterolemia. They are orally administered and therefore for their effect the absorption from the intestine is essential. The absorption of statins from the human intestine includes transport by the organic anion-transporting polypeptides (OATPs). The most important isoform of hOATPs for intestinal transport seems to be hOATP2B1, then hOATP1A2. Both transporters are localized in the apical membrane of enterocytes. As a representative compound for studying the intestinal transport via the hOATPs, one of the most clinically important statin was selected.

Aims: The aims of this *in vitro* study were to confirm the active uptake of rosuvastatin into the enterocytes, determine the potential role of hOATP2B1 and hOATP1A2 transporters in its cellular uptake and determine the inhibitory potency of rosuvastatin towards the intestinal hOATP transporters.

Methods: Precision-cut intestinal slices prepared from the rat ileum were used for evaluation of the active transport of rosuvastatin. For this purpose the uptake of rosuvastatin in the slices was compared at 37 °C and 4 °C. The MDCKII cells transiently transfected with hOATP2B1 and the HEK293 cell transiently transfected with hOATP1A2 were used for studying rosuvastatin uptake by OATPs and its inhibitory potency. The formerly demonstrated OATP inhibitor galangin was exploited to confirm the specificity of rosuvastatin uptake. The inhibition of hOATP2B1 and hOATP1A2 by rosuvastatin was tested using a standard OATP substrate ([³H]-estrone 3-sulfate).

Results and Discussion: We verified the active transport of the rosuvastatin into enterocytes since significantly higher accumulation of the drug into the rat intestinal slices had been found at 37 °C compared to the low incubation temperature inhibiting energy-dependent transport processes. Both hOATP2B1 and hOATP1A2 seem to be able to transport rosuvastatin into the cells. Effectiveness of the transport via both transporters is much lower in comparison with the standard substrate estrone 3-sulfate. Rosuvastatin was able to inhibit both hOATP2B1 and

hOATP1A2 but with significantly higher potency towards hOATP1A2. The found results confirmed the potential role of the studied OATPs in the transport of rosuvastatin into the cells and documented significant inhibitory potency of rosuvastatin towards the OATPs.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by Grant Agency of Charles University (GAUK) no. 30216/C/2016, grant of the Czech Science Foundation (GAČR) no. P303/12/G163 and by Charles University in Prague (SVV 260293).

THE EFFECT OF (-) LINALOOL ON THE METABOLIC ACTIVITY OF LIVER CYP ENZYMES IN RATS

K. Nosková¹, G. Dovrtělová¹, O. Zendulka¹, R. Řemínek², J. Juřica^{1,2}

1) Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 5, Brno, Czech Republic

2) Department of Biochemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Kamenice 5, Brno, Czech Republic

E-mail: noskova@med.muni.cz

Introduction: (-)-Linalool is monoterpenic alcohol which is the major floral scent occurring in families *Lamiaceae*, *Lauraceae* and *Rutaceae*. (-)-Linalool is often used in a traditional medicine to treat anxiety or mild depression, however its effect on drug metabolizing enzymes and the consequent drug-drug interactions has not been studied yet.

Aims: The aim of this study was to reveal the influence of subchronic systemic treatment with (-)-linalool on the metabolic activity of selected CYP enzymes in rat liver. The second aim was to reveal possible inhibitory effect of (-)-linalool on CYP2C6 *in vitro*.

Methods: (-)-Linalool was administered intragastrically to male Wistar albino rats for 13 consecutive days at the doses of 40, 120, and 360 mg/kg/day. The control group was treated with vehicle (5% glucose + 1% Tween 20) in an appropriate volume 1 ml/kg. The rat liver microsomal fraction (RLM) was isolated by differential centrifugation and the total protein and CYP content were assessed. CYP metabolic activities were evaluated as a CYP-specific hydroxylation of testosterone and diclofenac with use of HPLC methods and expressed as pmol/ml/min/mg of total microsomal protein. Inhibitory potency of (-)-linalool on CYP2C6 metabolic activity was evaluated in RLM incubated with diclofenac after 10 minutes of pre-incubation with (-)-linalool.

Results and Discussion: Neither total protein content nor CYP content in RLM were affected by any of treatment regimes. (-)-Linalool showed dose-dependent effect on the rate of testosterone-7 α (CYP2A), 2 β - (CYP2B), 6 β - (CYP3A), and 16 β -hydroxylation (CYP2C11) but only dose 360 mg/kg exhibited statistically significant increase in the rate of 7 α -hydroxylation of testosterone. (-)-Linalool exhibited also dose-dependent trend on the rate of 4-hydroxylation of diclofenac (CYP2C6) which did not reach statistical significance at any of treatment regimes. Within 10 nM – 1 mM (-)-linalool exhibited weak competitive inhibition of CYP2C6, with IC₅₀ of 293 μ M. In this study we have evaluated the influence of subchronic administration of (-)-linalool on the metabolic activity of CYP2A, 2B, 2C11, 3A and 2C6 with use of testosterone and diclofenac as specific probe substrates. The dose 360 mg/kg showed statistically significant increase of metabolic activity of CYP2A. According to elsewhere published studies, the dose of 160 mg/day showed anxiolytic effect in patients. The

doses tested by ours were much higher and therefore we assume that possible influence of linalool on drug metabolizing enzymes is not clinically relevant and therefore could be considered as safe anxiolytic/antidepressant adjuvant to conventional treatment in the light of drug-drug interactions.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the grant of Grant agency of Czech republic No. GA16-06106S and written at Masaryk university as a part of the project „Experimental pharmacological development in neuropsychopharmacology and oncology“ number MUNI/A/1284/2015 with the support of the Specific University Research Grant, as provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year 2016.

SLEDOVANIE KLINICKÉHO PRIEBEHU INTOXIKÁCIÍ ANTIDEPRESÍVAMI

Elena Ondriašová¹, Lucia Matúšková¹, Blažena Cagáňová², Silvia Plačková², Magdaléna Kuželová¹

1) Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Odbojárov 10, 83232 Bratislava

2) Národné toxikologické informačné centrum, KPLaT, Univerzitná nemocnica Bratislava, Limbová 5, 83305 Bratislava

E-mail: ondriasova@fpharm.uniba.sk

Úvod: Národné toxikologické informačné centrum (NTIC) v Bratislave poskytuje odborné konzultácie pri akútnych intoxikáciách liekmi, chemikáliami, hubami, rastlinami, drogami a živočíšnymi toxínmi zdravotníckym pracovníkom aj laikom. Liekové intoxikácie tvoria takmer polovicu zo všetkých konzultovaných prípadov. Z liekov predstavujú psychofarmaká najčastejšie konzultované noxy. V rokoch 2010 – 2014 bolo s NTIC konzultovaných 9 229 akútnych liekových intoxikácií, z toho 1 030 (11 %) tvorili antidepresíva.

Ciele: Analyzovať akútne intoxikácie antidepresívami u hospitalizovaných pacientov, ku ktorým boli zaslané prepúšťacie správy, t.j. 310 prípadov, za 5 ročné obdobie 2010 – 2014. Zamerali sme sa hlavne na klinické prejavy intoxikácií jednotlivými antidepresívami a skupinami antidepresív.

Výsledky a diskusia: Najviac intoxikácií (86 %) bolo spôsobených v zostupnom poradí: venlafaxínom, escitalopramom, trazodónom, citalopramom, sertralínom, mirtazapínom, dosulepínom a tianeptínom. Prevládali intoxikácie so suicidálnym úmyslom (93 %). Intoxikácie u žien (68 %) prevažovali nad intoxikáciami u mužov. Vysoký počet intoxikácií bol zaznamenaný vo veku 11 – 20 rokov (22 %) a 31 – 40 rokov (19 %). Najčastejšie (56 %) išlo o intoxikácie s miernymi, prechodnými a spontánne odznievajúcimi príznakmi, t.j. stupeň závažnosti 1. Stupeň závažnosti 4, t.j. letálnu intoxikáciu sme zaznamenali v 6 (2 %) prípadoch, po kombinovaných liekových intoxikáciách, so suicidálnym úmyslom. Liečivá používané pri kombinovaných intoxikáciách boli hlavne benzodiazepíny (75 %) a antipsychotiká (61 %). Kombinovaných intoxikácií s alkoholom bolo 26 %. Mono intoxikácií jediným antidepresívom bolo 16 % a v tomto súbore pacientov boli sledované klinické prejavy intoxikácií antidepresívami. Najzávažnejšie aj najpočetnejšie boli kardiovaskulárne symptómy ako tachykardia, hypertenzia, hypotenzia a rozšírenie QRS komplexu. Ďalšie prejavy intoxikácií boli somnolencia, tras, kŕče, nauzea, vracanie a dezorientácia. V terapii bolo použité aktívne uhlie (85 %), laxatíva (37 %), žalúdočná laváž (20 %); dôležitá bola podporná a symptomatická liečba. Vzhľadom k riziku suicídia u pacientov trpiacich depresiou by mali byť títo pacienti starostlivo sledovaní, predovšetkým na začiatku liečby.

ODKAZ ALBERTA SZENT-GYÖRGIHO SOUČASNÉ FARMAKOLOGII

Zoltán Paluch

Farmakologický ústav 2. LF UK, Praha

E-mail: zoltan.paluch@lfmotol.cuni.cz

Albert Szent-Györgyi de Nagyrápolt (16. 9. 1893 Budapešť, Maďarsko – 22. 10. 1986 Hole Woods, Massachusetts, USA), držitel **Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu** z roku 1937, patřil k významným osobnostem lékařské vědy. Ve své práci se spoléhal na intuitivní řešení problémů a striktně odmítal přizpůsobovat se požadavkům různých stipendií. Byl obdařen uměním správně klást otázky vedoucí k řešení problematiky. Názory jiných dovedl odůvodněně odmítnout, všechny teorie ověřoval osobně. V průběhu své vědecké dráhy působil i na území Čech a Slovenska. Zpočátku pracoval jako asistent farmakologického ústavu Univerzity svaté Alžběty v Bratislavě u prof. Mansfelda, a zde také vznikla jeho doživotní spolupráce a přátelství s pozdějším laureátem Nobelovy ceny Carlem. F. Corim (1896 – 1984; Nobelova cena 1947). Poté působil v Praze u prof. Tschermaka a následně v Berlíně u prof. Leonora Michaelise. Podobně jako akademičtí a výzkumní pracovníci současnosti, Albert Szent-Györgyi také zažil kruté existenční problémy, ale též slávu laureáta Nobelovy ceny. Byl nadšencem pro výzkum a vědu a současně i revolučním a protiválečným bojovníkem. V tomto směru se jeho dílo Bláznivá opice v mnohém podobá Čapkově Bílé nemoci. Jeho hlavním životním posláním však zůstala věda a vědecký výzkum. Nedostatek finančních prostředků ho vedl ke geniální myšlence „laboratoří bez zdí“, což by mohlo být inspirativní i pro současnou českou farmakologii.

VPLYV AKÚTNEHO A CHRONICKÉHO PODANIA ERDOSTEÍNU NA OBRANNÉ MECHANIZMY DÝCHACÍCH CIEST V EXPERIMENTÁLNYCH PODMIENKACH

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

Ústav farmakológie, Jesseniová lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Biomed, Martin

E-mail: Lenka.Pappova@jfmed.uniba.sk

Úvod: Klírens hlienu, sprostredkovaný mukociliárnym transportom a kašľovým reflexom, patrí medzi základné obranné mechanizmy dýchacích ciest. Jeden z farmakologických postupov modulácie klírensu hlienu zahŕňa používanie mukolytických liečiv ako je erdosteín, ktoré znižujú viskozitu hlienu a uľahčujú jeho vylúčenie z dýchacích ciest.

Ciele: Cieľom experimentálnej štúdie bolo zistiť, či sa erdosteín môže aj priamo podieľať na ovplyvnení klírensu hlienu, sledovaním jeho akútneho a chronického účinku na ciliárnu kinematiku a kašľový reflex a zároveň zhodnotiť jeho účinok na reaktivitu hladkého svalstva dýchacích ciest.

Metódy: Experiment bol vykonaný na zdravých morčatách, ktoré podstúpili jednorazovú a chronickú terapiu (7 dní) erdosteínom v dávke 10 mg/kg perorálne. V in vivo podmienkach bol hodnotený vplyv erdosteínu na kašľový reflex stimulovaný inhaláciou kyseliny citrónovej (0,3M) a reaktivitu hladkého svalstva dýchacích ciest vyvolanú aerosólom histamínu (10^{-6} M). V in vitro podmienkach, využitím vysokorýchlostnej kamery sa zaznamenávala frekvencia kmitania cilií ciliárneho tkaniva získaného „brushing“ metódou a prostredníctvom metódy orgánových kúpeľov sa sledovali zmeny v kontraktilite izolovaných preparátov hladkého svalstva trachey na kumulatívne dávky histamínu a acetylcholínu.

Výsledky a diskusia: V experimente sme nezaznamenali významný akútny ani chronický účinok erdosteínu na kašľový reflex či reaktivitu dýchacích ciest sledovanú v podmienkach in vivo. Akútne i chronicky podaný erdosteín v in vitro podmienkach preukázal ciliostimulačné a bronchodilatačné vlastnosti, pričom štatisticky významné zvýšenie kmitania cilií ako aj redukcia in vitro kontrakcie hladkého svalstva trachey na histamín bola zaznamenaná po chronickom podaní erdosteínu. Záverom môžeme konštatovať, že erdosteín preukázal priamy stimulačný účinok na klírens hlienu prostredníctvom zvýšenia ciliárnej frekvencie. Keďže štatisticky významné výsledky sme dosiahli po opakovanom podaní erdosteínu, pozorované účinky pripisujeme zvýšenej tvorbe aktívnych metabolitov erdosteínu. Vzhľadom na stimuláciu mukociliárneho transportu nie je potrebné zvýšenie kašľového reflexu, ktorý erdosteín neovplyvnil, avšak pozorovaný bronchodilatačný účinok erdosteínu môže prispievať k zvýšeniu efektivity kašľového klírensu.

POĎAKOVANIE

Podporené grantom APVV 0305-12, VEGA 1/0165/14 a MZ 2012/35- UK, CERK II, UK/62/2016. Táto práca bola podporená projektom „Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin)“, ITMS kód: 26220220187. „Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ“.

THERAPEUTIC DRUG MONITORING IN PSYCHIATRY – HELPING TO ENSURE THERAPEUTIC EFFICACY AND PATIENT’S SAFETY

Michael Paulzen

Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik, Uniklinik RWTH Aachen, Pauwelsstraße 30, 52074 Aachen

E-mail: mpaulzen@ukaachen.de

In psychiatry, therapeutic drug monitoring (TDM) is established to improve the efficacy and safety of pharmacotherapies. Since potential benefits of TDM for optimization of pharmacotherapy can only be reaped if the method is adequately integrated into the clinical treatment process and current TDM use in psychiatric and neurologic care is far from optimal, the TDM expert group of the Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie (AGNP) issued consensus guidelines for best practice of TDM in psychiatry.

The presentation will provide an overview on TDM in psychiatry and will be guided by clinical examples that underscore the importance of TDM. Data from imaging studies such as positron emission tomography (PET) studies that enable determination of drug concentrations in blood in relation to target structure occupancy in the brain will show the basics of brain kinetics of psychotropic drugs.

Furthermore, the talk shows data about the analysis of pharmacokinetic interactions based on large TDM databases such as Konbest, a web based laboratory information system that provide important information about clinically relevant interactions among psychotropic drugs and between psychotropic drugs and others.

THE PREGNANE X RECEPTOR DOWN-REGULATES ORGANIC CATION TRANSPORTER 1 (SLC22A1) IN HUMAN HEPATOCYTES: NEW PARADIGM IN DETOXIFICATION GENES REGULATION?

Petr Pavek, Lucie Hyrsova, Tomas Smutny, Alejandro Carazo, Stefan Moravcik, Jana Mandikova, Frantisek Trejtnar, Sabine Gerbal-Chaloin

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Heyrovského 1203, Hradec Kralove, 500 05 Hradec Kralove

E-mail: pavek@faf.cuni.cz

Introduction: The organic cation transporter 1 (OCT1, SLC22A1) transports organic cationic drugs into hepatocytes. The high hepatic expression of OCT1 is controlled by the HNF4 α and USF transcription factors. The pregnane X receptor (PXR), a ligand-dependent nuclear receptor, mediates the induction of principal xenobiotic metabolizing enzymes and drug transporters in the liver. No xenobiotic handling gene, however, has as of yet been systematically described to be down-regulated through PXR activation.

Aims and Methods: The study examines the regulation of OCT1 transporter expression by activation of PXR in hepatocyte cells.

Results and Discussion: The significant down-regulation of OCT1 mRNA in human hepatocytes along with reduced [³H]MPP⁺ accumulation in differentiated HepaRG cells after treatment with rifampicin was found. PXR ligands rifampicin and hyperforin as well as the constitutively active PXR mutant T248D significantly suppressed the activity of the 1.8 kb OCT1 promoter construct in gene reporter assays. The silencing of both PXR and HNF4 α in HepaRG cells abrogated the PXR ligand-mediated down-regulation of OCT1 expression. The mutation of HNF4 α and USF1 (E-box) responsive elements reversed the PXR-mediated inhibition in gene reporter assays. Chromatin immunoprecipitation assays indicate that PXR activation sequesters the SRC-1 coactivator from the HNF4 α response element and E-box of the OCT1 promoter. Consistently, the exogenous overexpression of the SCR-1, but not the PGC1 α , coactivator relieved the PXR-mediated repressive effect on OCT1 transactivation. It can be concluded that PXR ligands reduce the HNF4 α - and USF-mediated transactivation of OCT1 gene expression by squelching the SRC-1 coactivator and decrease delivery of model OCT1 substrate into hepatocyte cells. We therefore propose novel molecular mechanism of PXR-mediated drug handling gene regulation and we hypothesize that in this manner PXR might down-regulate also other hepatic genes to orchestrate drug detoxification.

POTENCIÁLNA ÚLOHA OSI SDF-1/CXCR4 V EXPERIMENTÁLNO MODELI IZOPRENALÍNOM VYVOLANÉHO POŠKODENIA MYOKARDU U POTKANA

Lenka Piváčková, Jasna Šrankova, Michal Radik, Peter Křenek

Kat. farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

E-mail: pivackova1@uniba.sk

Úvod: Experimentálny model izoprenalínom navodeného poškodenia myokardu je spojený s masívnou ischémiou, hypoxiou a úbytkom kardiomyocytov. Tkanivová hypoxia je stimulom pre upreguláciu chemokínu SDF-1 (Ceradini *et al.*, 2004), ktorý je silný chemoatraktant pre rozličné kmeňové bunky a umožňuje ich adhéziu, migráciu a uchytenie v poškodenom tkanive. SDF-1 pôsobí prostredníctvom CXCR4 receptora, ktorý sa nachádza na hematopoetických kmeňových bunkách, endotelových progenitorových bunkách a srdcových progenitorových bunkách. V srdci sa CXCR4 nachádza aj na kardiomyocytoch a jeho aktivácia pôsobí antiapoptoticky. Za fyziologických podmienok je SDF-1 inaktivovaný štiepením dipeptylpeptidázou-4 (DPP-4).

Ciele: Cieľom našej práce bolo stanoviť dynamiku expresie SDF-1, CXCR4 a DPP-4 v tkanive ľavej srdcovej komory počas rozvoja ischemického srdcového poškodenia navodeného izoprenalínom u potkana.

Metódy: Potkanom kmeňa Wistar (n=7/skupina) bol podávaný izoprenalín (IZO) v dávke 5 mg/kg, i.p. Zvieratá boli utratené v časoch 0,5, 1, 2, 4, 8 a 24 h po podaní alebo po 1, 2, 4 a 8 dňoch podávania izoprenalínu 1x denne. V tkanive ľavej komory srdca sme metódou RT-qPCR stanovili expresiu mRNA pre SDF-1, CXCR4, DPP-4 a átriálny nátriuretický peptid (ANP) ako marker srdcového poškodenia.

Výsledky a diskusia: Podávanie izoprenalínu bolo schopné navodiť srdcové poškodenie, čo sa prejavilo ako perzistentný nárast expresie ANP už 24 h po podaní. Avšak expresia SDF-1 v tkanive ľavej komory dočasne klesla na polovicu počas prvých 8 h po podaní, v čase 24 h sa vrátila na kontrolnú úroveň a ďalej sa nemenila. Expresia CXCR4 kopírovala zmeny pozorované pri SDF-1, k maximálnemu poklesu prišlo 2 h po podaní IZO. DPP-4 bola prechodne downregulovaná počas prvých 4 h, jej expresia začala opäť klesať na 2. deň a zostala znížená až do konca experimentu. Tieto výsledky nenaznačujú aktiváciu osi SDF-1/CXCR4 pri ischemickom poškodení myokardu navodenom izoprenalínom a teda ani aktiváciu regeneračnej schopnosti kmeňových buniek.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená grantom VEGA 1/0294/15.

FARMAKOKINETIKA FENOBARBITALU U KRITICKY NEMOCNÝCH NOVOROZENCŮ A DĚTÍ LÉČENÝCH POMOCÍ EXTRAKORPORÁLNÍ MEMBRÁNOVÉ OXYGENACE

Pavla Pokorná^{1,2,3}, Martin Šíma¹, Lenka Posch², Ondřej Slanář¹

1) Farmakologický ústav, 1. LF UK v Praze a VFN v Praze

2) Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. LF UK v Praze a VFN v Praze

3) Intensive Care and Department of Pediatric Surgery, Erasmus MC – Sophia Children's Hospital, Rotterdam, the Netherlands

E-mail: pokorna.pavla@vfn.cz

Úvod: Extrakorporální membránová oxygenace (ECMO) je způsob vysoce specializované podpory u novorozenců a dětí s respiračním a oběhovým selháním. U pacientů na ECMO jsou popsány změny ve farmakokinetice (FK) i farmakodynamice (FD) léčiv. Obecně je známo, že u většiny léčiv ECMO systém zvyšuje distribuční objem (Vd) a snižuje clearance (CL).

Cíle: Primárním cílem prospektivní studie je zhodnocení farmakokinetiky fenobarbitalu, který se používá v sedaci u kriticky nemocných novorozenců a dětí, kteří jsou léčeni pro respirační a/nebo oběhové selhání pomocí ECMO. Sekundárním cílem je analyzovat význam terapeutického monitorování léčiv (TDM fenobarbitalu) u pacientů na ECMO.

Metody: Do studie byli zařazeni novorozenci a děti na ECMO podpoře (n=14), kteří byli léčeni fenobarbitalem. Z naměřených plazmatických koncentrací fenobarbitalu byl pomocí jednokompartimentového modelu simulován průběh plazmatických koncentrací v čase a byly vypočítány individuální farmakokinetické parametry (distribuční objem – Vd, clearance – CL a biologický poločas – T1/2). Ke statistické analýze byl použit Studentův dvouvýběrový t-test, U test Mann-Whitney pro porovnání mediánu, Leveneův test shody rozptylů, Welchova alternativa t-testu pro nehomogenní rozptyly na hladině významnosti $\alpha=0.05$ a intervalu CI (0,95).

Výsledky a diskuze: Do studie bylo zařazeno 7 novorozenců a 7 dětí (z toho 5 chlapců a 9 dívek s aktuální hmotností 2,4 – 13,0 kg). Průměr (směrodatná odchylka) Vd, CL a T1/2 fenobarbitalu byly 0,30 (0,27) L.kg⁻¹; 0,0071 (0,0054) L.h⁻¹.kg⁻¹ a 31.50 (19,41) h. Pro skupinu novorozenců nebyl prokázán statisticky významný rozdíl pro Vd, CL ani T1/2 v porovnání s dětmi (P=0,253; 0,459 a 0,1483). S využitím TDM bylo standardní dávkování fenobarbitalu upraveno u 12/14 (87,7 %) % pacientů na ECMO podpoře.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena projektem Univerzity Karlovy PRVOUK P25/LF1/2 a projektem VFN Praha RV - projekt (64-165/2012).

VLIV PROTEASOMOVÝCH INHIBITORŮ BORTEZOMIBU A KARFILZOMIBU NA ROZVOJ CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY

Pokorná Z.¹, Jirkovská A.², Jirkovský E.¹, Lenčová O.¹, Adamcová M.³, Mazurová Y.⁴, Brázdová P.¹, Šimůnek T.², Štěrba M.¹

1) Ústav farmakologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Šimkova 870, 50038 Hradec Králové

2) Katedra biochemických věd, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové

3) Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Šimkova 870, 50038 Hradec Králové

4) Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Šimkova 870, 50038 Univerzita Karlova

E-mail: pokornzu@lfhk.cuni.cz

Úvod: Antracyklinová (ANT) kardiotoxicita byla opakovaně spojována s poruchou funkce ubikvitin-proteasomového systému, nicméně skutečný význam tohoto mechanismu v patogenezi kardiotoxicity zůstává nejasný. Inhibitory proteasomu (IP) jsou biologicky cílená léčiva užívaná při léčbě mnohočetného myelomu. Tato léčiva jsou také podezřívána z určitého rizika navození srdeční dysfunkce, což by mohlo být důležité s ohledem na zavádění kombinačních režimů s ANT. Kardiovaskulární bezpečnost dlouhodobého kombinačního podání ANT s IP je prozatím nejistá.

Cíle: Cílem této práce bylo prostudovat vliv IP (reverzibilního bortezomibu a ireverzibilního karfilzomibu) na rozvoj chronické ANT kardiotoxicity *in vivo* na modelu králíka.

Metody: ANT kardiotoxicita byla navozena u králíka podáváním daunorubicinu (DAU; 50 mg/m² i.v., 1x týdně po 10 týdnů). Kombinačním skupinám (BD a KD) byly podávány bortezomib (B, 0,75 mg/m²) a karfilzomib (K, 17 mg/m²) i.p. v nejvyšší tolerovatelné dávce v kombinaci s DAU (1 h před DAU). Dalším skupinám byl ve stejném schématu podáván samotný bortezomib a karfilzomib, fyziologický roztok či vehikulum. Týden po poslední aplikaci bylo provedeno invazivní vyšetření funkce levé komory (LK) a odebrány vzorky LK pro následné analýzy.

Výsledky a diskuze: Opakované podání samotných IP bylo dobře tolerováno a nebyl zaznamenán významný vzestup srdečního troponinu T v plazmě, porucha funkce levé komory, histologické či molekulární změny v myokardu. Kombinační podání karfilzomibu s DAU vedlo k mírnému zvýšení mortality, zatímco samotné podání bortezomibu vykazovalo spíše opačný trend (mortalita 11 % vs. 27 %). Podání nejvyšších dlouhodobě tolerovaných dávek IP ale nevedlo k zhoršení morfologických ani molekulárních markerů ANT kardiotoxicity (včetně stanovení polyubikvitinace proteinů v LK či kaskády reagující na "Unfolded protein response"). Žádný významný rozdíl mezi skupinami nebyl nalezen ani u plazmatických koncentrací srdečního troponinu T. Výsledky invazivních funkčních vyšetření nesvědčí pro významný potenciál těchto látek pro prohloubení srdeční dysfunkce navozené

podáním DAU. Výsledky ukazují na poměrně nízkou kardiotoxicitu samotných IP *in vivo*, bez významných rozdílů mezi jednotlivými léčivy. Inhibice proteasomu pomocí reverzibilního a ireverzibilního IP výrazně nezhoršuje chronickou ANT kardiotoxicitu u králíka. Uvedená kombinace protinádorových léčiv se z hlediska kardiovaskulárního rizika jeví jako relativně perspektivní.

PODĚKOVÁNÍ

Podpořeno grantem PRVOUK P37/5 a GAUK č. 680216.

VLIV KOMBINACE SILYMARINU A POLYENENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN NA EXPRESI JATERNÍCH TRANSPORTÉRŮ ABCA1, ABCG5 A ABCG8 U MODELU METABOLICKÉHO SYNDROMU

Martin Poruba¹, Ludmila Kazdová², Zuzana Matušková¹, Rostislav Večeřa¹

1) Ústav farmakologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc

2) Oddělení metabolismu diabetu, IKEM, Praha

E-mail: martin.poruba@upol.cz

Úvod: ABCG5 a ABCG8 transportéry se podílejí na eliminaci cholesterolu z organismu. Jejich absence případně snížené množství může vést ke kumulaci cholesterolu v organismu a projevům jeho nadbytku, např. ateroskleróza a její důsledky. Naopak jejich zvýšené množství v játrech by mohlo zvyšovat exkreci cholesterolu cestou žluče. Silymarin je extrakt ze semen ostropestřce mariánského a v našich předchozích studiích prokázal příznivé účinky na lipidové spektrum u modelů metabolického syndromu. Dieta obohacená o polynenasycené mastné kyseliny má taktéž příznivé účinky na cholesterolémii. ABCA1 transportér má významnou úlohu v reverzním transportu cholesterolu z periferie do jater. Pro studium účinků byli zvoleni hereditárně hypertriglyceridemičtí potkani (HHTg).

Cíle: Ověřit vliv diety silymarinu, polynenasycených mastných kyselin, nebo jejich kombinace na expresi jaterních ABC transportérů (ABCA1, ABCG5 a ABCG8). Současně poodhalit mechanismus hypolipidemického účinku silymarinu.

Metody: Celkem 23 samci HHTg potkana byli rozděleni do čtyř skupin ($N \geq 5$). Všem byla podávána standardní laboratorní dieta (STD) a v případě experimentálních skupin obohacená o 1% mikronizovaný silymarin (w/w), polynenasycené mastné kyseliny (300 mg/kg t. hm. /den), nebo jejich kombinaci. Z odebraných vzorků jater byla izolována mRNA, přepsána do cDNA a následně byly detekovány změny v expresi pomocí metody RT-PCR.

Výsledky a diskuze: Naše předběžné výsledky naznačují významný vzestup množství stanovované mRNA u genů *Abcg5* a *Abcg8*. K nejvýznamnějšímu ovlivnění došlo u kombinace silymarinu s polynenasycenými mastnými kyselinami. U sledovaného genu *Abca1* nedošlo k významným změnám v množství mRNA.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou ČR GAČR P303/13-10813S a IGA_LF_2016_006.

ANTI-OXIDATIVE AND IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF 6-GINGEROL BUT NOT 8- AND 10-GINGEROL DERIVATIVES: *IN VIVO* AND *IN VITRO* STUDY

Ivana Potočová, Veronika Soukupová, Michal Jirásko, Jan Jedlička, Eva Kmoníčková, Dana Kotyzová, Monika Bludovská

Institute of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University in Prague, alej Svobody 76, 32300 Pilsen

E-mail: monika.bludovska@lfp.cuni.cz

Introduction: *Zingiber officinale* Roscoe commonly known as ginger, has been frequently used as a spice and in traditional medicine. The major component in fresh ginger rhizome is 6-gingerol. At present, ginger extracts or isolated gingerols are extensively studied for their contribution to human health and nutrition.

Aims: The aim of this study was to examine biological activities of three phenolic derivatives 6-, 8- and 10-gingerol under inflammatory and oxidative damage conditions.

Methods: Resident peritoneal cells isolated from Wistar rats were cultured (2×10^6 /ml) 24 h in the presence of test compounds in RPMI-1640 medium. Supernatants of cells were analysed for NO (nitric oxide) production (Griess reagent). Concentrations of cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6) were determined by ELISA kits. Cytotoxicity of gingerols (0.01-100 μ M) was evaluated (0.25×10^6 cells/ml) by tetrazolium-based chromogenic WST-1 assay. Compounds, i.e. 6-, 8- and 10-gingerols were obtained from Sigma-Aldrich. For *in vivo* experiments, NaAsO₂ (As^{III}) was employed as model of acute oxidative liver damage in mice (ICR, Velaz, CZ). 6-gingerol (Cayman Pharma, 30 mg/kg, in 0.5% methylcellulose) or curcumin (40 mg/kg) were applied p.o. twice (24h and 1h) before As^{III}. The parameters of oxidative stress in the liver, i.e. lipid peroxidation (LP), reduced glutathione (GSH) and glutathione reductase activity (GR) were measured at 24 h after As^{III} administration.

Results and Discussion: We found differences in cytotoxicity between individual gingerols. The viability of rat macrophages was strongly inhibited by 10-gingerol (concentrations > 10 μ M). Also 8-gingerol decreased viability of cells at higher concentrations (> 40 μ M). On the other hand, 6-gingerol was not cytotoxic. In LPS-stimulated macrophages, NO production and cytokine IL-6, TNF- α and IL-1 β secretion were significantly reduced by 0.1-1.0 μ M 6-gingerol. Pilot results with 8-gingerol indicated mild cytokine inhibition in rat macrophages stimulated by LPS (1 μ g/ml). The acute As^{III} intoxication resulted in significant increase of hepatic lipid peroxidation and decrease in GSH level. The depletion of GSH was accompanied by enhanced GR activity. 6-gingerol significantly improved oxidative damage induced by As^{III}. In conclusion, 6-gingerol possesses anti-oxidative and anti-inflammatory

activities and lacks cytotoxicity. 8-and 10-gingerols are more cytotoxic and seem to be better candidates for anticancer treatment.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by projects Charles University/SVV 260 174 (2015) and 260 284 (2016).

ROZDIEL V ÚČINNOSTI KOMBINOVANEJ LIEČBY VALSARTANOM A AMLODIPÍNOM V ZÁVISLOSTI OD ČASU PODANIA V EXPERIMENTÁLNOH MODELH HYPERTENZIE U POTKANOV

Peter Potúček¹, Michal Radik¹, Eva Kráľová¹, Peter Křenek¹, Ján Klimas¹

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

E-mail: michal.radik@icloud.com

Úvod: Rytmus krvného tlaku u normotenzných aj hypertenzných jedincov vykazuje cirkadiálny charakter podmienený komplexným systémom endogénnych faktorov. Pri liečbe hypertenzie boli zaznamenané rozdiely v účinnosti v závislosti od času podania farmakologickej liečby. Zatiaľ čo v oblasti monoterapie bolo publikovaných množstvo prác, údaje o kombinovanej liečbe sú nedostatočné a protichodné.

Ciele: Cieľom tejto práce je porovnať rozdiely v účinnosti medzi ranným a večerným podaním kombinácie valsartanu a amlodipínu v krátkodobej a dlhodobej liečbe hypertenzie.

Metódy: Spontánne hypertenzným potkanom vo veku 8-10 týždňov bol perorálne žalúdočnou sondou jedenkrát denne aplikovaný valsartan v dávke 10 mg/kg a amlodipín v dávke 4 mg/kg, buď večer alebo ráno, s dĺžkou trvania experimentov 1 a 6 týždňov. Pre každú liečenú skupinu bola vytvorená kontrolná skupina, ktorej bolo podávané placebo. Na konci experimentu sa u bdelych zvierat meral na chvostoch arteriálny tlak krvi (TK) a tep, po usmrtení bola odobratá krv, a vzorky srdca.

Výsledky a diskusia: Po 1-týždňovej liečbe sa u zvierat s rannou liečbou v porovnaní s večernou liečbou pozorovalo štatisticky významné zníženie celkovej hmotnosti srdca a pravej komory (3,82 vs. 4,06; $p < 0,05$ a 0,63 vs. 0,74; $p < 0,05$ v uvedenom poradí). Hodnoty TK a hmotnosti ľavej komory boli porovnateľné, pri rannej liečbe bol pozorovaný nevýznamný trend v znížení tepovej frekvencie. Oproti kontrolnej skupine s placebom iba ranná liečba dosiahla významné zníženie TK a tepovej frekvencie (170,8 vs. 195,8; $p < 0,05$ a 371,8 vs. 416,2; $p < 0,05$ v uvedenom poradí). Pri večernej liečbe sa oproti kontrolnej skupine s placebom nezaznamenali významné rozdiely. Po 6-týždňovej sa už nepozoroval významný rozdiel medzi rannou a večernou liečbou, naopak v porovnaní s kontrolnými skupinami sa pri rannej aj večernej liečbe zaznamenal významný rozdiel. Ranná liečba bola účinnejšia v znížení celkovej hmotnosti srdca a TK (4,29 vs. 4,54; $p < 0,05$ a 183,1 vs. 229,5; $p < 0,001$ v uvedenom poradí) a večerná liečba v znížení TK a tepovej frekvencie (177,8 vs. 218,9; $p < 0,001$ and 422,1 vs. 452,7; $p < 0,05$ v uvedenom poradí). Pri krátkodobej liečbe hypertenzie kombináciou liečiv amlodipín a valsartan bolo preukázané, že u potkanov je

ranná liečba v porovnaní s večerným podávaním účinnejšia. Pri dlhodobej liečbe už rozdiel medzi ranným a večerným podaním nebol preukázaný.

ZMENY EXPRESIE CIRKADIÁNNYCH REGULÁTOROV V RANNEJ A VEČERNEJ KOMBINOVAanej TERAPII HYPERTENZIE U POTKANOV

Michal Radik, Peter Potúček, Gabriel Dóka, Lenka Piváčková, Eva Kráľová, Peter Křenek, Ján Klimas

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

E-mail: michal.radik@icloud.com

Úvod: Cirkadiánný rytmus krvného tlaku zohráva v terapii hypertenzie dôležitú úlohu, nakoľko jeho hodnoty v priebehu dňa nevykazujú stále hodnoty. Prevalencia tohto ochorenia má stúpajúcu tendenciu a efektívnejšia regulácia tlaku krvi vzhľadom na rytmus biologických hodín je v terapii žiaduca. Určenie rozdielov v rannej a večernej kombinovanej terapii hypertenzie na úrovni génovej expresie môže prispieť k objasneniu molekulárnych mechanizmov v tejto etiológii a presnejšiemu načasovaniu vhodnej individuálnej farmakoterapie, nevyhnutnej pre zlepšenie morbidity a mortality tohto ochorenia.

Ciele: Cieľom tejto práce je objasniť zmeny génovej expresie cirkadiánnych regulátorov v kardiovaskulárnom systéme vzhľadom na čas podania kombinovanej antihypertenznej terapie.

Metódy: Spontánne hypertenzným potkanom vo veku 8-10 týždňov bola perorálne žalúdočnou sondou raz denne aplikovaná kombinácia valsartanu (10 mg/kg) a amlodipínu (4 mg/kg) buď ráno, alebo večer s dĺžkou trvania experimentov 1 a 6 týždňov. Pre každú liečnú skupinu bola vytvorená kontrolná skupina, ktorej bolo podávané vehikulum. Vzorky oboch srdcových komôr, aort a obličiek boli analyzované pomocou RT-qPCR metodiky na mRNA úrovni a expresia jednotlivých génov bola štatisticky spracovaná.

Výsledky a diskusia: Analýzou experimentov bol zaznamenaný terapeutický efekt na expresiu oboch hodinových génov, kde takmer vo všetkých prípadoch večernej terapie nastali štatisticky významné zmeny ($p < 0,05$) v ich expresii oproti kontrolným skupinám. Účinnosť terapie potvrdzuje aj charakteristické zníženie expresie atriálneho nátriuretického peptidu (Anp) v ľavých komorách srdca a zvýšenie expresie renínu (Ren) v obličkách liečených skupín oproti kontrolným. Expresia L-typu vápnikového kanála (Cacna1c) a AT1 receptora (Agtr1a) ostala v aortách jednotlivých skupín nezmenená. V oboch experimentoch nastalo vo všetkých sledovaných kompartmentoch signifikantné zvýšenie expresie Per2 a zníženie expresie Arntl vo večerných skupinách oproti ranným skupinám. Expresia analyzovaných hodinových génov Per2 a Arntl vykazovala rytmické správanie vzhľadom na ich systém vzájomnej regulácie.

OPERANT SELF-ADMINISTRATION OF KETAMINE IN AN ANIMAL MODEL OF DEPRESSION

Jana Rudá-Kučerová, Zuzana Babinská

Dpt. of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 5, 62500 Brno

E-mail: jkucer@med.muni.cz

Introduction: Ketamine has been extensively studied for its antidepressant potentials with promising results in both preclinical and clinical studies. The main concern to clinical ketamine uses is its potential for abuse.

Aims: This study assessed the characteristics of operant intravenous (IV) ketamine self-administration and relapse-like behaviour in the olfactory bulbectomy (OBX) model of depression.

Methods: Twenty-five male Wistar rats were divided randomly into two groups; in one group the bilateral olfactory bulbectomy was performed while the other group was sham operated. Intravenous self-administration procedure was conducted under a fixed ratio 1 schedule of reinforcement, ketamine was available at 0.5 mg/kg/infusion. After stable drug intake was established, rats underwent a 14-day period of forced abstinence. A drug-free reinstatement session was then conducted in operant boxes. Forced swim test took place before the self-administration protocol and on the first day of abstinence.

Results and Discussion: Consistent with previous studies with other substances, OBX animals showed increased operant IV ketamine self-administration. In contrast ketamine-seeking behaviour in the OBX group was no different from SHAM animals during the reinstatement session; whereas, previous studies on other psychostimulants like methamphetamine and cocaine reported increases. Our findings suggest substantially different underlying neuroadaptations between chronic ketamine vs. psychostimulant exposure.

ACKNOWLEDGMENT

This study was written at Masaryk university as part of the project „Experimental pharmacological development in neuropsychopharmacology and oncology” number MUNI/A/1284/2015 with the support of the Specific University Research Grant, as provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year 2016 and funds from the Faculty of Medicine MU to junior researcher Jana Ruda-Kucerova.

ETRAVIRINE INFLUENCES TRANSPLACENTAL PASSAGE OF TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATE THROUGH INHIBITION OF BCRP DRUG TRANSPORTER

Řezníček Josef, Čěčková Martina, Štaud František

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Pharmacology and Toxicology, Heyrovského 1203, Hradec Kralove, Czech Republic

E-mail: reznj7ba@faf.cuni.cz

Introduction: All HIV positive pregnant women should receive combination antiretroviral therapy (cART) throughout gestation to prevent HIV mother-to-child transmission (MTCT) and thereby significantly reduce number of HIV infected newborns. WHO guidelines for prophylaxis of HIV MTCT recommend tenofovir disoproxil fumarate (TDF) and abacavir as preferred antiretroviral drug in pregnancy. Both compounds have been recently revealed as substrates of placental ABC efflux transporters P-glycoprotein (P-gp, ABCB1) and BCRP (ABCG2). Etravirine (TMC125) is a next-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) used in cART. The drug is not recommended for the pharmacotherapy of HIV positive pregnant women so far, however, current data indicate safety of etravirine in pregnancy. Before introducing the drug as a part of cART in pregnant women it is important to evaluate its possible interactions on placental transporters as these could lead to affected transplacental pharmacokinetics and fetal exposure to the drugs involved in cART.

Aims and Methods: The aim of our study was to evaluate whether etravirine can influence the transcellular transport of TDF and abacavir through inhibition of P-gp and/or BCRP. *In vitro* accumulation assays with model P-gp and BCRP substrate and concentration equilibrium transport experiments on cellular monolayers were employed. Furthermore, we aimed to address the effect of etravirine on the transplacental passage of TDF and abacavir employing dual perfusion of rat placenta in closed-circuit (recirculation) set up.

Results and Discussion: Significant inhibition of transporter-mediated efflux of hoechst 33342 by etravirine, was observed in MDCK-BCRP but not in MDCK-MDR1 or MDCK-parental cell lines. Employing concentration equilibrium method, etravirine totally blocked active transcellular transport of [³H]-TDF and [³H]-abacavir across MDCK-BCRP cells. Using dually perfused rat placenta, we observed significant reduction in fetal-to-maternal passage of TDF, when etravirine (10 μM) was present. Surprisingly, etravirine did not affect the transplacental passage of abacavir, which might be explained by lower affinity of abacavir to the placental BCRP transporter indicated in previous studies. In conclusion, etravirine is a very potent BCRP inhibitor able to affect transplacental pharmacokinetics of BCRP substrate

TDF. Our results should be considered when introducing etravirine into TDF containing cART of pregnant women as this combination can lead to drug-drug interaction affecting fetal exposure to TDF.

ACKNOWLEDGMENT

The study was financially supported by the Czech Science Foundation [GACR 303/13-31118P]; and SVV/2016/260-293.

VPLYV FYZICKEJ ZÁŤAŽE NA VYBRANÉ ELEKTROKARDIOGRAFICKÉ PARAMETRE MLADÝCH DOSPELÝCH

Adriana Samáková¹, Matej Vicen¹, Tatiana Stankovičová¹, Martina Tibenská²

1) Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Odbojárov 10, 83232 Bratislava

2) Katedra telesnej výchovy a športu, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Odbojárov 10, 83232 Bratislava

E-mail: a.samakova@azet.sk

Úvod: Pravidelná pohybová aktivita je nenahraditeľným prostriedkom udržania zdravia a prevenciou vzniku kardiovaskulárnych ochorení. Napriek tomu však u väčšiny obyvateľstva prevažuje nedostatok telesného pohybu, čo býva jedným z dôvodov zvýšeného výskytu kardiovaskulárnych ochorení v populácii.

Ciele: Analyzovať zmeny elektrofyziologických parametrov pred a po fyzickej záťaži u zdravých študentov farmaceutickej fakulty.

Metódy: Meranie sme uskutočnili v skupine 67 zdravých študentov (27 mužov a 40 žien), ktorí sa podrobili vytrvalostnému člnkovému behu.

Výsledky a diskusia: Zaznamenali sme štatisticky významné zvýšenie srdcovej frekvencie u študentov ($p = 2,09 \cdot 10^{-15}$) aj u študentiek ($p = 9,49 \cdot 10^{-18}$) po fyzickej záťaži. Väčšina študentov však nedosiahla optimálnu srdcovú frekvenciu 149 úderov/min pre aeróbnú aktivitu. Nezaznamenali sme štatisticky významné odchýlky v trvaní QRS komplexu od pokojových hodnôt. Súčasne so zvyšujúcou sa srdcovou frekvenciou sme pozorovali významné skrátenie QT intervalu o 17% u študentov aj študentiek. Trvanie QTc intervalu bolo významne predĺžené po fyzickej záťaži u študentov ($p = 9,32 \cdot 10^{-4}$) a u študentiek ($p = 6,65 \cdot 10^{-4}$). Merania ukázali fyziologické zmeny elektrokardiografických parametrov po fyzickej záťaži. Poukazuje na dôležitosť motivácie testovaných osôb k dosiahnutiu maximálneho výkonu pri testovaní, a potrebu štandardizácie fyzickej záťaže používanej pri vyšetrení funkčného stavu kardiovaskulárneho systému.

POĎAKOVANIE

Tento projekt bol uskutočnený katedrou Telesnej výchovy a športu a schválený pod číslom 3/2014 a s finančnou podporou grantu VEGA 1/1342/12.

EFFECTS OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES ON FUNCTIONAL STATE AND OXIDATIVE STATUS OF CULTURED PORCINE OVARIAN GRANULOSA CELLS

Soňa Scsuková¹, Alžbeta Bujňáková Mlynarčíková¹, Alexander Kiss¹, Monika Dvořáková², Ingrid Žitňanová², Jozef Kollár³, Eva Rollerová⁴, Alexander Sirotkin^{5,6}

1) Institute of Experimental Endocrinology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovakia

2) Institute of Medical Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Comenius University, Špitálska 24, 813 72 Bratislava, Slovakia

3) Polymer Institute, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovakia

4) Dpt. of Toxicology, Faculty of Public Health, Slovak Medical University Bratislava, Limbova 14, 833 01 Bratislava 37, Slovakia

5) Dpt. of Zoology and Anthropology, Constantine the Philosopher University, Tr. A. Hlinku 1, 949 74 Nitra, Slovakia

6) National Agricultural and Food Centre Slovakia, Research Institute for Animal Production Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovakia

E-mail: sona.scsukova@hotmail.com

Introduction: In recent years, titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles (NPs) are manufactured worldwide in large quantities for use in a wide range of industrial and consumer product applications. Widespread use of TiO₂ NPs has caused a significant release of these NPs into the environment, increasing human exposure to TiO₂ NPs. The toxicity of TiO₂ NPs has been observed in diverse models, such as rodents, aquatic organisms, and human cells. Moreover, it has been suggested that NPs may pose risks to male and female reproductive health by altering normal ovarian structure, oogenesis, and follicle maturation and sex hormone levels. Ovarian granulosa cells (GCs) play a major role in maintaining ovarian function, health, and female fertility.

Aims: The aim of the present study was to investigate *in vitro* effects of TiO₂ NPs on functional state (hormone production, proliferation) and oxidative status of ovarian GCs.

Methods: GCs isolated from porcine ovarian follicles (3–5 mm in diameter) were cultured with TiO₂ NPs (0, 0.1, 1, 10, 50, 100 µg/ml) in the absence or presence of follicle-stimulating hormone (FSH, 1 µg/ml) for 72 h. Progesterone levels in culture media were measured by radioimmunoassay commercial kits. Gene (mRNA) expression of markers of proliferation (PCNA, cyclin B1) and apoptosis (bax, caspase-3), and enzymes involved in steroidogenesis (StAR, CYP11A1, HSD3B) were determined by qRT-PCR technique. Total antioxidant status was measured by TEAC method, concentration of protein carbonyls (markers of oxidative damage to proteins) and 8-isoprostanes (markers of oxidative damage to lipids) were detected by commercial kits.

Results and Discussion: Treatment of GCs with TiO₂ NPs induced a significant dose-dependent inhibition of progesterone secretion and mRNA expression of proliferation and

apoptosis markers. Exposure of GCs to TiO₂ NPs did not affect mRNA expression of enzymes involved in steroidogenesis. TiO₂ NPs significantly increased 8-isoprostane production (at all tested concentrations) by GCs. The obtained results indicates that *in vitro* exposure of ovarian GCs to TiO₂ NPs may alter their functional state and oxidative status.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract No APVV-0404-11, APVV-15-0296 and VEGA Grant 2/0172/14.

SEDATIVE EFFECTS OF INTRANASAL OXYTOCIN IN RHESUS MONKEYS

Jiri Sliva¹, Ladislav Hess³, Martin Votava², Jiri Malek⁴

1) Department of Pharmacology, 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Ruská 87, Prague 10, 10034 Czech Republic

2) Department of Pharmacology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, V Úvalu 84, Prague 5, 150 06 Czech Republic

3) Institute for Clinical and Experimental Medicine, Laboratory of Experimental Anaesthesiology, Prague, Czech Republic

4) Department of Anaesthesiology and Critical Care Medicine, 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Ruská 87, Prague 10, 10034 Czech Republic

E-mail: Jiri.Sliva@lf3.cuni.cz

Introduction: Oxytocin, as a hormone, is being therapeutically used mainly for its peripheral effects on pregnant uterus and breasts. However, additional central effects, i.e. anxiolytic effect, decreased level of social stress and increased empathy have been also observed.

The aim of our study was to evaluate if nasal oxytocin can be used as anxiolytic substance in rhesus monkeys and rabbits.

Methods: Twenty rhesus monkeys and twenty rabbits were employed in the study. Each animal species was administered oxytocin 5 I.U. either intranasally or intramuscularly. Behavioral changes (i.e. loss of aggressiveness in monkeys and loss of righting reflex in rabbits), mean arterial blood pressure, arterial oxygen saturation of hemoglobin and pulse rate were monitored in all the evaluated animals during 20 min after administration.

Results and Discussion: While rabbits lost righting reflex, monkeys developed dose-dependent loss of aggressiveness and/or anxiety as evaluated by behavioral methods (aggressive behavior was classified as non-sedated – sedated – strongly sedated). Only small changes in other evaluated parameters were recorded. Administration of oxytocin was associated with behavioral changes in both animal species without significant alteration of saturation and with minor cardiovascular changes only.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by PRVOUK P34 and grants VG 20102015014 and VG 20102015041 from the Czech Ministry of Health.

CRYOPRESERVATION AND PHENOTYPING OF ADHERENT CELLS DERIVED FROM BONE MARROW

Ondrej Sprušanský¹, Jana Mlynárová¹, Juraj Maďarič², Ján Kyselovič¹

1) Dpt. of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava

2) Dpt. of Cardiology and Angiology, National Institute of Cardiovascular Disease, Bratislava

E-mail: ondsprus@gmail.com

Introduction: Cardiovascular disease remains the most prevalent cause of morbidity and mortality in the Europe and United States. The difficulty in recuperating damaged myocardial tissue has driven researchers to examine the usage of embryonic and adult stem cells for cardiovascular repair. The cryopreservation of the stem cell populations is well defined technique with rather subtle evolving refinements. Special interest in research and clinical community has been concentrated to the mesenchymal stem cells (MSC) as a useful tool for regenerative medicine due to their differentiation capacity, immunosuppressive properties, secretome profile and migratory ability.

Aims: Our goal has been to select for and cultivate adherent cells from bone marrow. Furthermore phenotypic analysis and cryopreservation under different conditions was performed with subsequent analysis of viability and phenotype change.

Methods: Bone marrow concentrate was obtained by gradient density centrifugation of fresh bone marrow aspirate and cultivated in DMEM/F12 media under standard conditions while selecting for adherent cells. Two cryopreservatives DMSO and Glycerol and two modes of freezing slow and fast were used in our experimental setting. MSC Phenotyping kit was used in flow cytometry

Results and Discussion: We have isolated adherent cells from bone marrow and the cell population was phenotypically analyzed by the flow cytometry. Results of this analysis showed predominant population exhibiting MSC cell markers. Cryopreservation under all conditions decreased viability of cells and changed representation of cell subpopulations. Effective cryopreservation MSCs offers an opportunity to advance the potential use and implementation of these cells into clinical applications. Cryopreservation itself can affect differentiation capacity of stem cells It has long been known that the freezing rate and type of cryopreservative can affect the stem cell viability and functionality.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by grant VEGA 1/0905/14.

ROLE OF POLYMORPHIC CYP450 DRUG METABOLIZING ENZYMES IN BRAIN FUNCTION: IMPLICATIONS FOR AFFECTIVE DISORDERS AND DRUG THERAPY

Julia C. Stingl

Federal institute for drugs and medical devices and University of Bonn, Germany

E-mail: Julia.Stingl@bfarm.de

Cytochrome P450 enzymes (CYP), and especially the polymorphic enzymes CYP2D6 and CYP2C19 are involved in the metabolism of many psychoactive drugs. The metabolic capacity of individuals is strongly influenced by genetic polymorphisms, both in CYP2D6 and CYP2C19 leading to large differences in enzyme activity. While mainly active in the liver, CYP enzymes are also expressed in the brain with a possible role in defense of neurotoxic substances and brain homeostasis.

By studying variability between individuals, the role of the genetic polymorphisms in CYP2C19 and CYP2D6 for brain function and neuropsychiatric phenotypes can be studied. Reports on variability in personality, affective phenotypes, and suicidal intentions have been reported in different studies in the literature. Beside the role in adult brain physiological processes, embryonic CYP450 status may also have implications on adult phenotypes by influences on neurodevelopment differing with genotype. This could implicate polymorphisms in neurodevelopmental processes and structural brain phenotypes as has been reported for CYP2C19 and hippocampal volume.

For CYP2D6, the first evidence for differences in brain function are provided by imaging studies of brain perfusion and by functional neuroimaging studies of different tasks, suggesting involvement of a basic cognitive process such as alertness. To better identify the endophenotype that may be responsible for this effect and the associations with personality and suicide reported in the literature, we developed a battery of specific tasks assaying different dimensions of affective function. This battery such as anxiety traits, sensitivity to reward, and ability to select appetitive choices according to subjective preferences is capable of assaying function in number of key cortical and subcortical structures associated with affective function and dopaminergic activity, such as the amygdala, the ventral striatum, the ventral tegmental area/substantia nigra, the ventromedial/orbitofrontal cortex, and the posterior cingulus. These studies may contribute to identify the mechanistic endophenotypes through which genetic modulation of chemical homeostasis by metabolizing enzymes in the brain may affect affective function.

ANALYSIS OF DRUG-DRUG INTERACTIONS DURING HOSPITALISATION AT A UNIVERSITY HOSPITAL

Olga Svobodová^{1,2}, Miroslav Turjap¹

1) Dpt. of Clinical Pharmacy, University Hospital Ostrava, 17. listopadu 1790, 70852 Ostrava, Czech Republic

2) Dpt. of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 5, 62500 Brno, Czech Republic

E-mail: 403501@mail.muni.cz

Introduction: Adverse events caused by drug-drug interactions (DDIs) can significantly contribute to mortality/morbidity and extend the length of hospital stay. Understanding the mechanisms of DDIs, analyzing own data and adopting/optimizing preventive measures may help reduce the risk.

Aims: The aim of the analysis was to identify drug combinations most frequently involved in serious DDIs in our hospital, assess physicians' responses to DDI risk signals and compare the results in two consecutive time periods.

Methods: The analysis was performed at University Hospital Ostrava (1127 beds). Retrospective analysis of inpatient electronic medication records with built-in DDI software (Vademecum Infopharm, Prague, CZ) from January – June 2015 and July – December 2015 was performed. The DDI data from the records were electronically extracted, and the Top10 drug pairs/groups most frequently involved in serious DDIs were identified. Only DDIs with the highest overall risk rating (very serious or contraindicated) were taken into account. The risk rating by the trusted DDI tool (Lexi-Interact®) was also taken into consideration. Subsequently, all medical records with occurrence of one of the top 10 DDIs were manually reviewed for details. The proportion of real DDI risk and false positive DDI signals were calculated.

Results and Discussion: A total of 49331 hospitalization episodes were electronically analyzed and 1436 serious DDIs were identified, in both time periods. After cleaning the data, the Top10 most frequently involved DDIs represented 65 % of the DDIs identified in both periods. The top 10 most frequent drug pairs/combinations in first time period were (in descending order) rilmenidine + β -blockers, clopidogrel + omeprazole, propafenone + β -blockers, clarithromycin + atorvastatin/simvastatin, amiodarone + metronidazole, amiodarone + citalopram, warfarin + metronidazole, amiodarone + simvastatin/lovastatin, clopidogrel + clarithromycin and verapamil + simvastatin. The composition of the Top10 DDIs differs only slightly between the time periods. At least one serious DDI was identified approximately in 3 % of the hospitalization episodes. Physicians' responses to real and false DDIs signals (now

one of the inpatient pharmacotherapy quality indicators) and some more analyses are presented.

ACKNOWLEDGMENT

This publication was written at Masaryk university as part of the project „Experimental pharmacological development in neuropsychopharmacology and oncology“ number MUNI/A/1284/2015 with the support of the Specific University Research Grant, as provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year 2016.

FARMAKOKINETICKÉ PARAMETRY VANKOMYCINU U NOVOROZENCŮ SE SEPSÍ

Martin Šíma¹, Pavla Pokorná^{1,2,3}, Olga Černá², Ondřej Slanař¹

1) Farmakologický ústav, 1. LF UK v Praze a VFN v Praze, CZ

2) Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. LF UK v Praze a VFN v Praze, CZ

3) Intensive Care and Department of Pediatric Surgery, Erasmus MC - Sophia Children's Hospital, Rotterdam, NL

E-mail: martin.sima@lf1.cuni.cz

Úvod: Vankomycin je široce využívané antibiotikum v terapii novorozeneckých sepsí. V této specifické populační skupině lze očekávat značnou alteraci jeho farmakokinetických parametrů: ať už v důsledku nedokončeného vývoje eliminačních cest, nebo vlivem patofyziologických změn způsobených onemocněním.

Cíle: Cílem této studie bylo popsat farmakokinetické parametry vankomycinu u novorozenců se sepsí, prověřit zda jsou ovlivněny vybranými demografickými/klinickými parametry a zdokumentovat význam terapeutického monitorování léčiv (TDM) v této kohortě.

Metody: Do studie byli nabíráni septičtí novorozenci léčení vankomycinem. Z demografických a klinických dat a z naměřených plazmatických koncentrací vankomycinu byl pomocí jednodílného modelu simulován průběh plazmatických koncentrací v čase a byly spočítány individuální farmakokinetické parametry (distribuční objem – Vd, clearance – CL a biologický poločas – T1/2). Ke statistické analýze byla použita lineární regrese a Mann-Whitneyův test.

Výsledky a diskuze: Do studie bylo zařazeno 40 novorozenců (23 chlapců / 17 dívek; gestační týden 26 – 42; hmotnost 0,8 – 4,1 kg; sérový kreatinin 14 – 167 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). Průměr (směrodatná odchylka) Vd, CL a T1/2 vankomycinu byly 0,73 (0,31) L.kg^{-1} ; 0,05 (0,02) $\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$ a 11,2 (6,7) h. Byla prokázána statisticky významná závislost CL a T1/2 na gestačním stáří, hmotnosti a plazmatické hladině kreatininu a závislost Vd na gestačním stáří. Nebyl pozorován statisticky významný rozdíl ve velikosti denních normalizovaných dávek mezi pacienty, u nichž byly údobní koncentrace vankomycinu v průběhu terapie v doporučeném terapeutickém rozmezí (10 – 20 mg.L^{-1}), v porovnání s pacienty, u nichž se vyskytly koncentrace mimo toto rozmezí. Dávkovací režim vankomycinu byl v průběhu terapie upraven u 15/40 (37,5 %) novorozenců: zvýšen u 9/40 (22,5 %) a snížen u 6/40 (15 %) pacientů. Pro vysokou interindividuální variabilitu farmakokinetických parametrů (variační koeficient pro Vd, CL a T1/2 byl 42, 39 a 60 %) doporučujeme v populaci novorozenců rutinně provádět TDM vankomycinu.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena projektem Univerzity Karlovy PRVOUK P25/LF1/2 a projektem VFN Praha RV 64-165/2012.

RIBOCICLIB INTERACTS WITH ABC DRUG EFFLUX TRANSPORTERS CORRESPONDINGLY TO STRUCTURALLY RELATED CDK 4/6 INHIBITOR PALBOCICLIB

Aleš Šorf, Daniela Číhalová, František Štaud, Martina Čečková

Dpt. of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

E-mail: sorfal@faf.cuni.cz

Introduction: Cyclin-dependent kinase inhibitors (CDKI) represent a group of small molecule kinase inhibitors with anticancer activity and many of them have been clinically tested as anticancer chemotherapeutics over the past decade. In 2015 CDK 4/6 inhibitor palbociclib (PD-0332991) as the first CDKI received FDA approval for treatment of ER⁺/HER2⁻ advanced breast cancer. Ribociclib (LEE011) is a compound structurally similar to palbociclib also sharing its affinity to CDK 4/6 and a clinical indication. Our previous results showed the ability of palbociclib to interact with ATP-binding cassette (ABC) efflux transporters that are involved in multidrug resistance (MDR) to anticancer drugs.

Aims: The aim of our study was to determine the interactions of ribociclib with ABCB1, ABCG2 and ABCC1 transporters and to evaluate whether ribociclib and palbociclib share pharmacokinetic properties in terms of ABC transporter interactions.

Methods: To elucidate the inhibitory potential of ribociclib to ABC transporters, accumulation assays with fluorescent agents Hoechst 33342 and daunorubicin (DNR) as model substrates for ABCB1/ABCG2 and ABCC1, respectively, were performed in ABC transporter overexpressing MDCKII cells. Subsequently, we evaluated, whether addition of ribociclib affects the sensitivity of MDCKII-ABCB1 and MDCKII-ABCG2 cells to known anticancer substrates DNR and mitoxantrone (MIT), by employing XTT proliferation assay. The antiproliferative effect of ribociclib with concomitant addition of DNR and MIT was mathematically calculated using combination index method by Chou and Talalay to determine possible synergistic activity of the drugs.

Results and Discussion: Accumulation assays showed that ribociclib is able to inhibit efflux activity of ABCB1 and ABCG2 whereas it possess no inhibitory effect towards ABCC1. Addition of ribociclib to DNR and MIT resulted in decreases in antiproliferative IC₅₀ values by 5.2-fold and 3.1-fold, respectively. Combination index calculation confirmed synergism between ribociclib and DNR in MDCKII-ABCB1 cells and between ribociclib and MIT in MDCKII-ABCG2 cells. This feature might be advantageously exploited in the anticancer therapy of ABC transporter overexpressing tumors. All these results corresponded with those

we acquired for palbociclib indicating similar behavior of these drugs towards ABC transporters and also predicting similarities in possible ABC transporter-mediated drug-drug interactions when administering these CDKI to patients.

ACKNOWLEDGMENT

The work was supported by GAUK/C/344315, GACR 16-26849S and by SVV/2016/260-293.

VPLYV G-CSF A LINAGLIPTÍNU NA EXPRESIU CYTOKÍNOV A KOMPONENTOV HGF SYSTÉMU V SRDCI POTKANA S DAUNORUBICÍNOM-INDUKOVANOU KARDIOMYOPATIOU

Jasna Šrankova, Gabriel Dóka, Lenka Piváčková, Jana Vetešková, Ján Kyselovič, Ján Klimas, Peter Křenek

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave.

E-mail: srankova@fpharm.uniba.sk

Úvod: Daunorubicínová kardiomyopatia môže byť asociovaná s apoptózou srdcových progenitorových buniek, zníženou migráciou kmeňových buniek z kostnej drene a ich uchytením v srdci. Kmeňové bunky sa vyznačujú sekréciou kardioprotektívnych cytokínov, vrátane hepatocytového rastového faktora (Hgf). Ich migrácia a uchytenie by mohlo byť stimulované pomocou G-CSF a linagliptínu.

Ciele: Posúdiť či terapia G-CSF a/alebo linagliptínom ovplyvnila expresiu komponentov Hgf systému a ďalších cytokínov v srdci potkanov s DAU-kardiomyopatiou, s následným ovplyvnením expresie markerov kmeňových buniek.

Metódy: Samcom kmeňa Wistar sme aplikovali daunorubicín (DAU, 7.5 mg/kg, i.v.) alebo fyziologický roztok (KON). PEG-G-CSF (100 µg/kg, s.c.) bol podaný 24h po DAU/fyziologického roztoku (DAU+G-CSF/G-CSF). Linagliptín (5 mg/kg/deň) bol podávaný v krmive (DAU+LINA/LINA) po dobu 8 týždňov. Skupinám DAU+G-CSF+LINA a G-CSF+LINA bola podávaná kombinácia oboch látok. Po ôsmich týždňoch zvieratá boli utratené a vo vzorkách ľavej komory srdca bola stanovená expresia génov asociovaných so štruktúrou a poškodením srdca (Nppa, Myh6), komponentov Hgf systému (Hgf, c-met, Hai-1 a Hai-2) a ďalších cytokínov ovplyvňujúcich migráciu a uchytenie kmeňových buniek (Sdf-1, Scf, Vegf a Igf-1), markerov kmeňových buniek (Cxcr4, CD34, CD44, CD105, CD133, c-kit, Atxn-1 a Mdr1) na úrovni mRNA prostredníctvom qRT-PCR.

Výsledky a diskusia: Aplikácia DAU viedla k 55% mortalite ($P < 0,05$ DAU vs KON), podanie G-CSF zvýšilo prežívanie zvierat (o 25% pri DAU+G-CSF) a kombinovaná terapia úplne zabránila mortalite. Poškodenie ľavej komory srdca po podaní DAU sa prejavilo zvýšením Nppa a znížením Myh6, zatiaľ čo terapia nevedla k zmenám oproti DAU. Expresia chemoatrakčných cytokínov (Sdf-1, Scf, Vegf a Igf-1) bola downregulovaná v skupinách ovplyvnených DAU bez ohľadu na terapiu ($P < 0,05$ vs. KON), s výnimkou normalizácie expresie Hgf a Igf-1 v skupine DAU+G-CSF+LINA. V expresii c-met a Hai-2 neboli zaznamenané zmeny, zatiaľ čo expresia Hai-1 vplyvom linagliptínu (DAU+LINA, DAU+G-CSF+LINA) bola oproti KON zvýšená, čo môže viesť k zvýšenej inhibícii aktivácie HGF

alebo k zásobnému vyviazaniu aktívnej formy HGF. Expresia takmer všetkých markerov kmeňových buniek po podaní DAU bola downregulovaná (s výnimkou CD44 a Mdr1) bez ohľadu na terapiu. Predpokladáme, že terapia G-CSF a linagliptínom nemala vplyv na migráciu a uchytanie kmeňových buniek, avšak normalizovala expresiu Hgf a Igf-1, čo môže mať kardioprotektívny účinok na srdce potkana s DAU-kardiomyopatiou.

POĎAKOVANIE

Tento projekt bol financovaný vďaka grantovej podpore VEGA 1/0294/15, VEGA 1/0564/13, APVV-0887-11.

ENDOCANNABINOID SYSTEM AND SCHIZOPHRENIA: BEHAVIORAL AND MOLECULAR CHANGES IN NEURODEVELOPMENTAL ANIMAL MODEL

Tibor Štark¹, Jana Rudá-Kučerová¹, Zuzana Babinská¹, Vladimír Pekařík², Vincenzo Di Marzo³, Filippo Drago⁴, Alexandra Šulcová¹, Vincenzo Micalè^{1,4}

1) Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

2) Department of Physiology, Faculty of Medicine Masaryk University, Brno, Czech Republic

3) Endocannabinoid Research Group, Institute of Biomolecular Chemistry, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pozzuoli, Naples, Italy

4) Department of Clinical and Molecular Biomedicine, Section of Pharmacology and Biochemistry, University of Catania, Catania, Italy

E-mail: stark@med.muni.cz

Introduction: Numerous animal and human studies found dysregulation of the endocannabinoid system (in terms of both cannabinoid receptors and endocannabinoid ligands) in schizo-affective disorders (Kucerova *et al.*, 2014). Increasing evidence also suggests that prenatal insults (such as hypoxia, maternal infection, malnutrition) could be one of the causes of schizophrenia (SCZ), which leads to severe personal and social dysfunctions in adult age (Jones *et al.*, 2011).

Aims: The aim of this study was to assess the potential effects of prenatal administration of the mitotoxin methylazoxymethanol acetate (MAM) on early neurophenotypic presentations in rats on behavioral level and molecular level.

Methods: Sprague-Dawley pregnant rats were given MAM (22 mg/kg, i.p.) or saline on 17th gestational day. In offsprings, neonatal reflexes were evaluated from postnatal day 1 to 10 and battery of behavioral tests was performed in adulthood. We measured the brain expression of endocannabinoid receptors (CB1, CB2), metabolic enzymes (DAGL, FAAH and MAGL) and also the levels of endogenous cannabinoids anandamide (AEA) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG); both in neonatal age and adulthood.

Results and Discussion: At birth, neonatal reflexes had a delayed onset, as index of impaired brain maturation, which was correlated to decreased expression of FAAH and MAGL ($P < 0.05$) and with enhancement of anandamide and 2-AG levels ($P < 0.05$) in prenatally MAM-exposed rats. In adulthood, social ($P < 0.01$) and cognitive ($P < 0.05$) deficits manifested in the social interaction test and novel object recognition test, respectively. The behavioral alterations were correlated with changes in the expression levels of the ECS elements in different brain regions. These results suggest that behavioral alterations in the MAM model, which mimics a SCZ-like phenotype, could be due to abnormalities in the endocannabinoid signaling.

ACKNOWLEDGMENT

This work was financed from the SoMoPro II Programme, co-financed by European Union,

the South-Moravian Region and the specific research at the Masaryk University (MUNI/A/1284/2015). This publication reflects only the author's views and the Union is not liable for any use that may be made of the information contained therein.

DERIVÁTY INDOLOVÝCH FYTOALEXÍNŮV INDUKUJÚ APOPTÓZU V BUNKÁCH NÁDORU KRČKA MATERNICE

Viera Tischlerová¹, Martin Kello¹, Martina Chripková¹, Mariana Budovská², Ján Mojžiš¹

1) Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovenská republika

2) Katedra organickej chémie, Ústav chemických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovenská republika

E-mail: vierka.tischler@gmail.com

Úvod: Indolové fytoalexíny sú prírodné, síru obsahujúce indolové alkaloidy syntetizované rôznymi druhmi hospodársky významných kapustovitých rastlín (čeľaď *Brassicaceae* syn. *Cruciferae*) po pôsobení biotických a abiotických faktorov, predovšetkým rôznych druhov patogénov. Ich úlohou je ochrana rastlín pred pôsobením ďalších fytopatogénov, avšak bolo pri nich objavené aj pozoruhodné protinádorové pôsobenie. Viacerými štúdiami bolo potvrdené, že zvýšená konzumácia kapustovitých rastlín, ako je kapusta, karfiol či brokolica, môže znížiť riziko výskytu nádorových ochorení u ľudí.

Ciele: Cieľom práce bolo zistiť protinádorové a antiproliferatívne pôsobenie derivátov indolových fytoalexínov v *in vitro* podmienkach na ľudských nádorových bunkových líniiach.

Metódy: Antiproliferatívny účinok bol študovaný pomocou kolorimetrického MTS testu. Analýza bunkového cyklu, farbenie anexínom V/PI, analýza zmeny MMP, aktivácie kaspázy-3 a -9, štiepenia PARP, a analýza aktivácie proteínov Bcl-2 a Bad bola realizovaná pomocou prietokovej cytometrie.

Výsledky a diskusia: Z 30 testovaných zlúčenín najlepší účinok vykazovali dve zlúčeniny, (\pm)-*trans*-1,2-dimetoxy-2'-(3,5-bis-trifluórometylfenylamino)spiro{indolín-3,5'[4',5']dihydrothiazol} (K453) a (\pm)-1-metoxy-2'-(4-brómofenylamino)spiro{indolín-3,5'-[4',5']dihydrothiazol}-2-ón (K463) na ľudskej nádorovej línii karcinómu krčka maternice (HeLa) s $IC_{50} = 37 \mu M$, a následne boli zvolené na ďalšie štúdium. Analýza bunkového cyklu pomocou prietokového cytometra preukázala, že obe látky približne rovnako indukovali zastavenie bunkového cyklu v G_1 fáze na oboch bunkových líniiach. Súčasne bol pozorovaný nárast populácie buniek s obsahom sub- G_0/G_1 DNA, čo je považované za marker apoptózy. Prítomnosť apoptózy bola tiež potvrdená značením anexínom V/PI. Antiproliferatívny účinok zlúčenín bol spojený s nárastom buniek so zníženým mitochondriálnym membránovým potenciálom, ako aj aktiváciou kaspázy-3 a štiepením PARP. Obe látky indukovali vnútornú mitochondriálnu dráhu apoptózy, o čom svedčí aktivácia kaspázy-9 a zmeny na úrovni aktivácie pro-/anti-apoptotických proteínov rodiny Bcl-2. Naše výsledky preukazujú, že látky

K453 a K463 indukujú apoptózu na HeLa bunkách, a sú vhodné na ďalšie štúdium ich protinádorového účinku *in vitro*.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola finančne podporená projektom VEGA č. 1/0322/14 a 1/0103/16.

POHLAVNÉ ODLIŠNOSTI V KARDIOVASKULÁRNYCH ODPOVEDIACH NA PODANIE KOFEÍNU V PODMIENKACH STRESU

Tisoňová J.¹, Laššánová M.¹, Gažová A.¹, Raganová A.¹, Kriška M.¹, Ježová D.²

1) Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LFUK, Bratislava

2) Ústav experimentálnej endokrinológie BMC SAV

E-mail: jana.tisonova@fmed.uniba.sk

Úvod: Kofeín je široko používaná farmakologicky účinná látka, ktorá interaguje na viacerých úrovniach stresovej osi. Ovplyvňuje vagové a vazomotorické centrá v mozgovom kmeni, má celý rad účinkov na tkanivá cievneho riečiska a myokardu, ktoré sú sprostredkované viacerými mechanizmami: blokádou adenzínových receptorov, inhibíciou fosfodiesterázy a nepriamo tiež ovplyvnením renín angiotenzínového systému a moduláciou uvoľňovania katecholamínov z nervových zakončení. Podanie kofeínu spôsobuje podobné hemodynamické a neurohumorálne zmeny, aké sú pozorované pri emočnom a fyzickom strese. Výsledný farmakologický efekt kofeínu môže byť modulovaný celým radom sprievodných faktorov (dysfunkciou endotelu, hormonálnymi, chronobiologickými, farmakogenetickými a.i.) Len limitovaný počet štúdií sa zaoberal pohlavnými rozdielmi v účinku kofeínu na kardiovaskulárnu odpoveď počas stresu, ktoré navyše priniesli rozporuplné výsledky. Keďže muži a ženy majú odlišné fyziologické vzory kardiovaskulárnej stresovej odpovede („*fight or flight*“ versus „*tend and befriend*“), nemožno očakávať zhodné odpovede na podanie kofeínu.

Metódy: V našej práci sme sledovali efekt jednorazovej nízkej dávky kofeínu zodpovedajúcej dvom šálkam kávy (200 mg *coffeinum cum natrio benzoico* v štandardizovanom roztoku) na zmeny krvného tlaku (TK) a pulzu počas krátkeho submaximálneho cvičenia u 116 zdravých dobrovoľníkov vo veku od 20 do 25 rokov s vylúčením žien v luteálnej fáze menštruačného cyklu, tehotných a dojčiacich. Štúdia bola usporiadaná ako randomizovaná, dvojito slepá, placebo kontrolovaná. Merania sme uskotočnili oscilometricky na prístroji Dynamap.

Výsledky a diskusia: Kofeín vykazoval aditívny efekt k stresovému podnetu na hodnoty TK a pulzu, záťaž v priebehu času viedla k významne vyššiemu vzostupu pulzovej frekvencie a zmene nárastu systolického krvného tlaku u mužov v porovnaní so ženami vo folikulárnej fáze menštruačného cyklu. Uvedené výsledky svedčia o rozdielnej kardiovaskulárnej stresovej odpovedi u mužov a žien po podaní kofeínu, čiastočne pre odlišnosti miery vagotóniou sprostredkovaného spomalenia pulzovej frekvencie následkom baroreceptorického reflexu po náraste krvného tlaku a čiastočne inými, najmä hormonálnymi (ženy vo fertilnom veku majú zvyčajne nižšiu úroveň aktivácie osi hypotalamus-hypofýza-nadoblička v porovnaní s rovesníkmi mužmi). a metabolickými faktormi. Rozdiely v

kardiovaskulárnej odpovedi na stresové a farmakologické podnety u mužov a žien sa môžu podieľať na odlišnostiach kardiovaskulárnej morbidity a mortality.

POĎAKOVANIE

Podporené grantom APVV-1496-12 a VEGA 2/0057/15.

MARAVIROC DOES NOT INHIBIT ABC DRUG EFFLUX TRANSPORTERS ABCB1 AND ABCG2

Lenka Ťupová, Martina Čečková, František Štaud

Dpt. of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

E-mail: tupoval@faf.cuni.cz

Introduction: Maraviroc is a CCR5 receptor antagonist belonging to the group of HIV virus entry inhibitors and is therefore used in combination antiretroviral therapy (cART) of HIV infection. During concomitant administration of two or more drugs, eventual drug-drug interactions (DDI) must be taken into consideration as they might change pharmacokinetic behaviour, tissue concentrations and also effectivity of the pharmacotherapy. ATP-binding cassette (ABC) efflux transporters P-glycoprotein (ABCB1) and BCRP (ABCG2) are the transmembrane proteins considered as one of the essential sites causing clinically important DDI as they can transport high variety of structurally unrelated drugs and affect their absorption, distribution and elimination. Several first line antiretroviral drugs involved in cART have been revealed as substrates of ABCB1 and ABCG2 with high risk of forming transporter-mediated DDI with other drugs.

Aims: Inhibitory potential of maraviroc towards the ABC transporters has not been evaluated so far, therefore the aim of our study was to investigate whether the drug is able to affect efflux activity of ABCB1 and ABCG2 and cause DDI on these transporters by their inhibition.

Methods: We employed the *in vitro* accumulation assay in MDCKII cell lines stably expressing ABCB1 and ABCG2 and MDCKII parental cells using Hoechst 33342 as a model fluorescent ABCB1 and ABCG2 substrate. Maraviroc was added in a concentration range 1 μ M to 100 μ M and its effect on the Hoechst accumulation was compared to the effect of model ABCB1 inhibitor zosuquidar (1 μ M), ABCG2 inhibitor Ko143 (2 μ M) and common inhibitor for both transporters elacridar (2 μ M).

Results and Discussion: Our data showed that in contrast to the effect of control inhibitors maraviroc was not able to inhibit either ABCB1- or ABCG2-mediated efflux of Hoechst 33342 in MDCKII-ABCB1 and MDCKII-ABCG2 cells, respectively, suggesting no inhibition of ABCB1 and ABCG2. We therefore conclude that the risk of pharmacokinetic DDI caused by inhibitory activity of maraviroc to ABCB1 and/or ABCG2, when the drug is administered with ABCB1 and/or ABCG2 substrates in cART, is minimal.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by projects GAUK 616216/C/2016 and by SVV/2016/260-293.

BRONCHODILATAČNÉ A PROTIZÁPALOVÉ ÚČINKY PODMIENENÉ NESELEKTÍVNOU A SELEKTÍVNOU INHIBÍCIOU FOSFODIESTERÁZY V MODELI ALERGICKEJ ASTMY

Anna Urbanová¹, Ivana Medved'ová¹, Martin Kertys¹, Miroslava Šimeková², Daniela Mokrý³, Juraj Mokrý¹

1) Ústav farmakológie a Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine

2) Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta UK a Univerzitná nemocnica Martin

3) Ústav fyziológie a Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine

E-mail: Anna.Urbanova@ifmed.uniba.sk

Úvod: Teofylín sa štandardne používa pri liečbe obštrukčných ochorení dýchacích ciest (DC). Identifikácia a funkčná charakterizácia izoenzýmov fosfodiesteráz (PDE) viedla k rozvoju rôznych selektívnych inhibítorov testovaných v podmienkach bronchiálnej astmy. Pri liečbe respiračných ochorení sa skúmajú najmä selektívne inhibítory PDE3, PDE4, PDE5 a PDE7, ktoré vykazujú vysokú aktivitu hlavne v hladkej svalovine dýchacích ciest a v zápalových bunkách. Kvôli početným nežiaducim účinkom boli vyvinuté druhogeneračné selektívne inhibítory PDE4, ktoré majú vylepšený pomer medzi rizikom a prínosom. Do tejto skupiny patrí roflumilast, ktorý bol už schválený na liečbu závažnej chronickej obštrukčnej choroby pľúc.

Ciele: Cieľom tejto práce bolo porovnať účinky neselektívneho a selektívneho inhibítora PDE na reaktivitu DC v modeli experimentálne navodeného alergického zápalu u morčiat, pričom intraperitoneálne podané liečivá boli aplikované jednorazovo alebo dlhodobo. Ďalším cieľom bolo monitorovať plazmatické hladiny teofylínu kvôli jeho nežiaducim účinkom.

Metódy: Na navodenie hyperreaktivity a eozinofilového zápalu u morčiat kmeňa TRIK sa použila opakovaná expozícia ovalbumínu. Špecifický odpor DC ako marker *in vivo* reaktivity DC sa hodnotil použitím celotelového dvojkomorového pletyzmografu po aplikácii histamínu. *In vitro* reaktivita DC sa stanovovala prostredníctvom orgánových kúpeľov na stripoch tracheálneho a pľúcneho tkaniva po aplikácii kumulatívnych dávok bronchokonstrikčne pôsobiacich mediátorov histamínu a acetylcholínu. Teofylín v plazme sa stanovoval pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie.

Výsledky a diskusia: Neselektívna aj selektívna inhibícia PDE výrazne znižovala *in vivo* reaktivitu dýchacích ciest u morčiat s hyperreaktivitou DC navodenou ovalbumínom. V podmienkach *in vitro* došlo k poklesu reaktivity DC, pričom hladina významnosti sa dosiahla najmä pri nižších koncentráciách histamínu. Vyššia účinnosť po dlhodobom podávaní naznačuje prevahu protizápalového pôsobenia, ktoré sa môže nepriamo podieľať na ich bronchodilatačnom pôsobení. Terapeutický potenciál sa taktiež potvrdil stanovením počtu

eozinofilov typických pre astmatický zápal, ktorý bol po liečbe teofylínom aj roflumilastom významne znížený.

POĎAKOVANIE

Práca vznikla za podpory grantov APVV-0305-12, MZ 2012/35-UKMA-12, VEGA 1/0260/14 a BioMed Martin ITMS 26220220187.

POUŽÍVANIE AMINOGLYKOZIDOVÝCH ANTIBIOTÍK V SÚČASNEJ PRAXI

Váczi P., Cundrová M.

Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

E-mail: peter.vaczi@uvlf.sk

Úvod: Aminoglykozidové antibiotiká (AGA) predstavujú skupinu syntetických a polosyntetických baktericídnych liečiv, ktoré sú dodnes jedny z najsilnejších širokospektrálnych antibakteriík. Vďaka mimoriadne rýchlemu baktericídному účinku voči gramnegatívnym mikroorganizmom a tiež pri liečbe tuberkulózy sa AGA stali v minulom storočí liekom voľby v terapii infekčných ochorení. Slovensko bohužiaľ patrí ku krajinám s vysokou spotrebou antibiotík u detských ako aj dospelých pacientov. Dôvodom je nesprávne stanovenie liečby lekárom, ale aj rezistencia infekčného patogénu na podané antibiotikum. WHO koncom roka 2014 upozornila na fakt, že viaceré časti sveta bojujú s vysoko rezistentnými kmeňmi patogénov, ktoré sú zodpovedné za vznik infekčných ochorení ako sú meningitídy, kožné, renálne a krvné infekcie. Ináč to nie je ani na Slovensku, kde za posledných 5 rokov sa výskyt rezistencie na antibiotiká zdvojnásobil. Druhým nebezpečným faktorom obmedzenia užívania antibiotík je alergia alebo iné nežiaduce účinky. Aminoglykozidové antibiotiká sa vyznačujú hlavne nefrotoxicitou a ototoxicitou. Je to závažný faktor, ktorý je nevyhnutné pri určovaní terapie rešpektovať a u každého pacienta nastaviť dávkovacie režimy individuálne.

Ciele: Práca predkladá komplex informácií týkajúcich sa charakteristických vlastností AGA (štruktúra, klasifikácia, mechanizmus účinku, rezistencia, farmakokinetika, nežiaduce účinky a interakcie s inými liečivami). Obsahuje aj prehľad o hromadne vyrábaných liekoch s obsahom aminoglykozidových antibiotík registrovaných v Slovenskej republike a ich expedovaní vo vybraných lekárnach východného Slovenska počas jedného roka. Zo skupiny aminoglykozidov sú na Slovensku registrované HVL s obsahom gentamicínu, neomycínu, amikacínu, tobramycínu a kanamycínu; jedná sa o lieky určené prevažne na lokálnu a parenterálnu aplikáciu.

Metódy: So súhlasom vedúcich pracovníkov 8 vybraných lekární východného Slovenska boli použitím lekárenského programu WinLSS poskytnuté údaje na štatistické vyhodnotenie výdaja liekov s obsahom aminoglykozidových antibiotík za obdobie od 1.1.2015 – 31.12.2015.

Výsledky a diskusia: Z našich výsledkov vyplýva, že najviac vydávanými liekmi s obsahom AGA boli Pamycon plv. gtt. s obsahom neomycínu a bacitracínu (2582 ks), Framykoin ung. s obsahom neomycínu a bacitracínu (1515 ks), Tobradex int. opu. s obsahom tobramycínu a dexametazónu (937 ks) a Ophthalmo-Framykoin ung. oph. s obsahom neomycínu a bacitracínu (666 ks).

DIFERENCIÁCIA KOSTNEJ DRENE PRIETOKOVÝM CYTOMETROM

Valášková Simona¹, Gažová Andrea², Kyselovič Ján¹, Maďarič Juraj³

1) Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Odbojárov 10, 832 32, Bratislava

2) Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Špitálska 24, 813 72, Bratislava

3) Národný ústav srdcovo-cievnych chorôb, Pod Krásnou hôrkou 1, 833 48 Bratislava

E-mail: simmonka@gmail.com

Úvod: Kostná dreň sa už niekoľko desaťročí považuje za vhodný zdroj kmeňových buniek, hoci odber kostnej drene môže byť pre pacienta náročný a vyčerpávajúci. Kostná dreň sa stáva potenciálnym zdrojom pre bunkovú terapiu nielen v hematologických oblastiach. Za fyziologických podmienok generuje okrem všetkých hematopoetických buniek aj mezenchýmové stromálne bunky, ktoré sa môžu diferencovať do viacerých fenotypov ako sú osteocyty, myocyty, fibroblasty, endotelové bunky a adipocyty. Preto sa tieto bunky považujú za najvhodnejší typ pre bunkovú regeneratívnu terapiu. Podľa medzinárodných kritérií na bunkovú terapiu sa za bunkovú terapiu označuje taká zmes, ktoré obsahuje viac ako 95% buniek pozitívnych na CD 90, CD 105 a CD 73 a zároveň menej ako 2% buniek pozitívnych na CD 14, CD 20, CD 34 a CD 45. Autotransplantácia buniek kostnej drene sa uprednostňuje pred alotransplantáciou.

Ciele: V predkladanej práci sme sa zamerali na kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu BMC aspirátu kostnej drene, takzvaných non-option pacientov s chronickou ischémiou dolných končatín na NUSCH a.s. v Bratislave.

Metódy: Mononukleárne bunky (BMC) boli získané centrifugáciou hustotným gradientom (SmartPreP2, Plymouth, MA, USA) čerstvého aspirátu kostnej drene z lopaty bedrovej kosti a spracované pre prietokovú cytometriu (MACSQuant analyzátor, Miltenyi Biotec, Nemecko).

Výsledky a diskusia: V súbore 15 pacientov sme stanovili prietokovou cytometriou množstvo buniek pozitívnych na CD 90 (88,79% - 99,75% \pm 0,03), na CD105 (75,20% - 99,84% \pm 0,06) a na CD 73 (75,38% - 97,08% \pm 0,1). Pozitivitu na CD14, CD20, CD34 a CD45 sme v priemere stanovili na 22,27% \pm 0,23. U non-option pacientov s chronickou ischémiou dolných končatín, ktorí podstúpili bunkovú terapiu sme stanovili pozitivitu na CD 90, CD 105 a CD 73 na viac ako 94,09% a pozitivitu na CD14, CD20, CD34 a CD45 na 22,27%.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená grantom APVV-14-0416.

INHIBITION OF CYTOCHROME P450 3A4 ACTIVITIES BY RESVERATROL-LIKE COMPOUNDS

Alena Vanduchova¹, Eva Anzenbacherova², Pavel Anzenbacher¹

1) Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Hnevotinska 3, 775 15 Olomouc, Czech Republic

2) Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Hnevotinska 3, 775 15 Olomouc, Czech Republic

E-mail: Avand@centrum.cz

Introduction: Resveratrol and its derivatives belong to stilbenoids, which are polyphenols naturally occurring in variety of plants and are common part of human diet. Their main sources are wine, grapes, berries and they have been found also in peanuts and dark chocolate. Stilbenoids are known to be health benefit agents for human and they are in forefront of interest due to their anti-inflammatory, anti-asthmatic, anti-diabetes, hypolipidemic and anti-oxidant properties.

Aims: We investigated influence of resveratrol and its derivatives (dihydroresveratrol, oxyresveratrol, cis-resveratrol, trans-resveratrol, pinostilbene, pterostilbene, piceatannol and cis-piceatannol) on human liver cytochrome P450 3A4 activities. Final concentration of compounds examined was chosen in the range 0 – 100 micromolar in reaction mixture.

Methods: Individual CYP activities were measured according to established protocols. Microsomal CYP3A4 activities (testosterone 6 β -hydroxylation; midazolam 1'-hydroxylation) were assayed. High performance liquid chromatography analyses of metabolites formed (6 β -hydroxytestosterone and 1-hydroxymidazolam both for CYP3A4) were performed using the Prominence system (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Results and Discussion: All tested compounds exhibited pronounced inhibition effects on activities CYP3A4 enzyme (testosterone 6 β -hydroxylation) which was inhibited by all examined compounds (down to 1-3% of control at 100 μ M with IC₅₀ value lower than 20 μ M).

ACKNOWLEDGMENT

Financial support from Grant Agency of Czech Republic P303/12/G163 project and from IGA UPOL_LF_2016_006 is gratefully acknowledged.

ABCA1 TRANSPORTER EXPRESSION IN THE LIVER OF OVARIECTOMIZED RATS

Rostislav Večeřa¹, Zuzana Matušková¹, Ludmila Kazdová², Olena Oliyarnyk², Hana Malínská², Vojtěch Škop², Martin Poruba¹

1) Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Czech Republic

2) Center of Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

E-mail: vecera@seznam.cz

Introduction: Silymarin (standardized extract from the seeds of the *Silybum marianum*) has been used in the supportive therapy of liver diseases and its cytoprotective activity is believed to be based on antioxidant properties. Our previous studies have shown a hypolipidemic influence of silymarin, which was demonstrated by a decrease in total plasma cholesterol and cholesterol content in the liver, and an increase in the HDL/VLDL cholesterol ratio. The ATP-binding cassette (ABC) transporters are transmembrane proteins that utilize the energy from ATP (adenosine triphosphate) hydrolysis to transport substrates across the cell membrane. The ABC transporter ABCA1 plays a significant role in movement of cellular cholesterol to protective high density lipoproteins.

Aims: We investigated the possibility that silymarin affects the regulation of lipid metabolism via transporter ABCA1 using ovariectomised female of Wistar rats fed a diet with silymarin.

Methods: Ovariectomised female of Wistar rats were used as an accepted model of the postmenopausal metabolic syndrome. In this rats, a complex of symptoms typical of metabolic syndrome develops – lipid disorders, weight gain, hyperinsulinemia, insulin resistance, and hyperglycemia. The rats were fed *ad libitum* on a 1% of silymarin (w/w) in standard laboratory diet. Taqman primers/probes (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) was used for quantitative analyses of mRNA.

Results and Discussion: In ovariectomised female rats, the liver expression of ABCA1 mRNA was significantly increased after silymarin diet. ABCA1 transporter plays an important role in the formation of protective HDL (high density lipoproteins) in the liver. These lipid particles have a positive effect in the spectrum of pathologically altered lipoproteins especially in metabolic syndrome. This result suggests that silymarin positively affects the plasma lipoprotein profile via up-regulation of ABCA1 transporter.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by grant P303/13-10813S from the Czech Science Foundation, Czech Republic.

VLIV NIKOTINU A ETANOLU NA ACETYLCHOLINEM AKTIVOVANOU SLOŽKU *INWARD RECTIFIER* DRASLÍKOVÉHO PROUDU

Adam Vejmelek, Roman Kula, Peter Matejovič, Olga Švecová, Markéta Bébarová

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno

E-mail: adamvejmelek@gmail.com

Úvod: Kouření a konzumace alkoholu jsou asociovány s mnoha negativními zdravotními důsledky včetně vzniku arytmií, nejčastěji fibrilace síní (FS). V patogenezi FS hrají významnou roli mimo jiné i změny draslíkového *inward rectifier* proudu citlivého na acetylcholin $I_{K(Ach)}$, který se skládá z konstitutivně aktivní a acetylcholinem aktivované složky.

Cíle: Cílem práce byla analýza a porovnání změn acetylcholinem aktivované složky $I_{K(Ach)}$ v přítomnosti nikotinu a etanolu v klinicky relevantních koncentracích.

Metody: Měření proudu bylo prováděno metodou *whole cell patch clamp* (v režimu vnuceného napětí) na enzymaticky izolovaných síňových srdečních buňkách potkana kmene Wistar. Studovaný proud byl aktivován 3 μ M acetylcholinem.

Výsledky a diskuze: Nikotin byl aplikován ve dvou klinicky relevantních koncentracích 40 a 400 nM. V přítomnosti 400 nM nikotinu jsme pozorovali převážně inhibici acetylcholinem aktivované složky $I_{K(Ach)}$, v průměru o $28,9 \pm 12,8$ % při -110 mV a o $8,9 \pm 7,5$ % při -50 mV. Po aplikaci 40 nM vykazovaly změny studovaného proudu již jasně duální charakter. U části měřených buněk byla patrná inhibice proudu, konkrétně o $34,7 \pm 10,2$ % při -110 mV a o $17,7 \pm 6,7$ % při -50 mV, podobně jako u většiny buněk v přítomnosti 400 nM nikotinu. Zajímavé bylo, že inhibiční reakce nastávala u buněk s velkým proudem v kontrolních podmínkách. Naopak u buněk s malým proudem v kontrolních podmínkách docházelo k aktivaci proudu (o $13,9 \pm 2,1$ % při -110 mV a o $31,1 \pm 10,8$ % při -50 mV). Duální vliv obdobného charakteru (včetně závislosti reakce buňky na velikosti kontrolního proudu) byl pozorován i po aplikaci 20 mM (~0,9 ‰) etanolu: inhibice o $28,9 \pm 6,8$ % při -110 mV a o $21,5 \pm 9,8$ % při -50 mV, aktivace o $67,8 \pm 21,8$ % při -110 mV a o $81,7 \pm 31,0$ % při -50 mV. Získané výsledky ukazují, že nikotin i etanol v klinicky relevantních koncentracích ovlivňují acetylcholinem aktivovanou složku $I_{K(Ach)}$. Pozorovaný duální vliv těchto látek na studovaný proud by mohl přispívat ke změnám elektrofyzologie síňového myokardu po kouření a konzumaci alkoholu známým z klinické praxe.

PODĚKOVÁNÍ

*Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu Masarykovy univerzity
MUNI/A/1365/2015.*

VPLYV INHIBÍCIE BUTYRYLCHOLÍNESTERÁZY NA RELAXÁCIU AORTY NORMOTENZNÉHO A SPONTÁNNE HYPERTENZNÉHO POTKANA

Jana Vetešková, Lenka Piváčková, Jasna Šrankova, Kristína Szmiceková, Dominika Dingová, Zuzana Kiliánová, Ján Klimas, Anna Hrabovská, Peter Křenek

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

E-mail: veteskova.jana@gmail.com

Úvod: Acetylcholínom-indukovaná relaxácia ciev sa využíva pri hodnotení endotelovej funkcie. V súčasnosti narastá počet prác, ktoré za zdroj endogénneho acetylcholínu v cieve považujú neneuronálny cholinergický systém, avšak jeho funkcia v cieve nie je zatiaľ dobre objasnená. Jednou z významných zložiek sú cholínesterázy ako enzýmy podieľajúce sa na ukončení účinku acetylcholínu. V predchádzajúcich prácach sme zistili, že cholínesterázy sú v aorte potkana lokalizované v hladkom svale, s výraznou prevahou zastúpenia butyrylcholínesterázy oproti acetylcholínesteráze.

Ciele: Náš experiment bol preto zameraný na zistenie vplyvu inhibície butyrylcholínesterázy na acetylcholínom navodenú endotel-dependentnú relaxáciu izolovanej aorty u normotenzných a hypertenzných zvierat.

Metódy: V experimente boli použité Wistar (n= 6) a SHR (n=6) potkany vo veku 12 týždňov. Z torakálnej aorty sme pripravili 2 krúžky s intaktným endotelom, jeden slúžil ako kontrola a na druhý bol aplikovaný inhibítor butyrylcholínesterázy iso-OMPA (10^{-3} mol/l). Aorta bola prekontrahovaná fenylefrínom (10^{-6} mol/l) a následne bol aplikovaný acetylcholín so stúpajúcou koncentráciou od 10^{-9} po $3 \cdot 10^{-5}$ mol/l. Po opätovnej prekontrakcii sme hodnotili reaktivitu na donor NO, nitroprusid sodný od 10^{-9} po $3 \cdot 10^{-5}$ mol/l, v prítomnosti inhibítora NO syntáz L-NAME ($3 \cdot 10^{-4}$ mol/l).

Výsledky a diskusia: Pri sledovaní endotel-dependentnej relaxácie po aplikácii acetylcholínu dochádzalo pri Wistar aortách pod vplyvom iso-OMPA ku menšiemu poklesu zostávajúceho tonusu v porovnaní s kontrolou. Maximálna relaxácia v % zostávajúceho tonusu dosiahla hodnoty: iso-OMPA, $24.9 \pm 5.2\%$ vs kontrola, $8.3 \pm 2.2\%$, $P < 0.05$. Pri SHR potkanoch bola naopak úroveň relaxácie aorty inkubovanej s iso-OMPA porovnateľná alebo mierne vyššia (iso-OMPA, $11.6 \pm 2\%$ vs kontrola, $23.2 \pm 7\%$, $P = \text{NS}$). Iso-OMPA nemala vplyv na prekontrakcie indukované fenylefrínom, senzitivitu voči acetylcholínu, ani na relaxáciu ciev na nitroprusid sodný ani u Wistar, ani u SHR. Butyrylcholínesteráza môže u Wistar potkanov chrániť hladký sval aorty pred vazokonstrikciou navodenou acetylcholínom. Aktivita butyrylcholínesterázy diferenciálne ovplyvňuje stanovenie endotelovej funkcie pomocou acetylcholínu u Wistar a SHR potkanov.

POĎAKOVANIE

Tento projekt bol financovaný vďaka grantovej podpore VEGA 1/0294/15 a VEGA 1/0855/15.

COMPUTATIONAL MODELING AS A MODERN APPROACH FOR EVALUATION OF ARTERIAL SEGMENT REACTIVITY

Róbert Vojtko, Lukáš Dobiaš, Miriam Petrová, Viera Kristová

Dpt. of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine, Comenius University, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava

E-mail: robert.vojtko@fmed.uniba.sk

Introduction: Traditional evaluation of vascular reactivity of perfused arterial segments by descriptive methods allows the calculation of only a few basic parameters of contractile and relaxatory responses of graphic outputs obtained from analog recorders, such as amplitude of responses and area under the curve, and even these data are distorted by the subjective inaccuracy of evaluator. On the other hand, digital recording using new software enables computer-based analysis followed by calculation of a wide set of contractile response parameters, whose determination was previously completely unavailable by classical descriptive methods.

Aims: As the aims of our study we set the assessment of contractions and relaxations of rat renal arterial segments from healthy and diabetic animals by descriptive methods as well as the analysis of the contractile responses by computer-based modeling with calculations of key model characteristics and determination of the optimal model types for fitting of recorded response curves.

Methods: Segments of rat renal arteries from control and diabetic group were subjected to series of contractions induced by successively increasing bolus doses of noradrenaline (0,05; 0,1; 0,5; 1; 3; 6; 10 μ g) and in state of precontraction were subjected to final relaxation induced by single bolus dose of acetylcholine (20 μ g). The descriptive evaluation of analog records was followed by computer-based modeling of the digitally recorded contractile responses using methods Levy and Monte Carlo.

Results and Discussion: Relaxatory responses in the diabetic group clearly declined compared to controls. Evaluation of contractile responses by the descriptive methods did not reveal significant differences between groups at any used dose of noradrenaline. In contrast, modeling of the responses by the software procedures allows calculations of the characteristic parameters, such as vessel sensitivity, mean time of vasoconstrictor response and rate constant of relaxation. At each one of them our study revealed at least one significant difference between control and diabetic group. Akaike information criteria suggested as most matching model types 1-3, 1-4, 2-4 a 3-5. Our results and related studies suggest that computational

modeling represents a promising approach of search for subtle deviations of vascular reactivity caused by different pathogenesis, undetectable by routine descriptive methods.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by grants VEGA SR nr. 1/0886/14 and VEGA SR nr. 1/0186/16.

TRANSPORT MECHANISMS POTENTIALLY INVOLVED IN THE RENAL UPTAKE OF RADIOLABELED SOMATOSTATIN AND GASTRIN ANALOGS

Marie Volková¹, Alice Lázníčková², Milan Lázníček¹, František Trejtnar¹

1) Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

2) Department of Biophysics and Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

E-mail: trejtnarf@faf.cuni.cz

Introduction: Somatostatin and gastrin receptors overexpressed by a variety of cancers are potential target for receptor scintigraphy and targeted radionuclide therapy using radiolabeled receptor-specific peptides. However, the limiting factor for clinical use of promising radiopeptides is nephrotoxicity caused by reuptake of radioactivity in the proximal tubular cells. Several transport mechanisms, such as receptor-mediated endocytosis, transporters for organic anions (OATs), organic cations (OCTs) or fluid-phase endocytosis (FPE) may be involved in the transmembrane transport of radiopeptides into the tubular cells.

Aims: This study evaluated possible involvement of several transport mechanisms localized physiologically in the renal tubular cells to cellular uptake of two representative peptides from two groups of peptide analogues labeled with lutetium-177 (¹⁷⁷Lu). The cellular uptake of the radiopeptides via megalin endocytic receptor, OAT1, OCT2 and fluid-phase endocytosis was evaluated.

Methods: Pig kidney epithelial cells LLC-PK1 were affected by RAP as a competitive megalin inhibitor. Rottlerin was employed as specific inhibitor of FPE. HeLa cells transiently transfected with hOAT1 and MDCKII cells transfected with hOCT2 were used to reveal a possible contribution of the transporters to the cellular uptake. Incubation under low temperature (4°C) served to reveal the general role of active transport processes in the cellular uptake. Three model radiopeptides were tested: ¹⁷⁷Lu-DOTA-octreotate, ¹⁷⁷Lu-DOTA-NOC and ¹⁷⁷Lu-DOTA-sargastrin.

Results and Discussion: RAP decreased the accumulation of all the studied peptides but in a smaller range than with the incubation at 4°C. Preincubation with rottlerin resulted in the concentration dependent inhibition of the uptake. No significant differences between the control “mock” cells and those transfected with hOAT1 or hOCT2 were observed. The study showed that active transport mechanisms are decisive for the cellular accumulation in the tested ¹¹¹In-labeled somatostatin and gastrin analogs. Besides receptor-mediated endocytosis by megalin, FPE participates in this process. We concluded that the tested types of renal SLC transporters are not involved in the cellular uptake of the tested radiopeptides.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by Charles University in Prague (PRVOUK P40 and SVV 260293).

FARMAKOLOGICKÉ ÚČINKY MODULÁTORŮ AMPK V EXPERIMENTÁLNÍM MODELU HEPATOTOXICITY

Lea Wojnarová, Nikolina Kutinová Canová

Farmakologický ústav VFN a 1. LF UK v Praze, Albertov 4, 128 00 Praha 2

E-mail: lea.wojnarova@lf1.cuni.cz

Úvod: Onemocnění a polékové poškození jater se staly jednou z významných příčin morbidity a mortality u lidí po celém světě. Nejasnou úlohu v tomto procesu může hrát AMP-aktivovaná proteinová kináza (AMPK) s účinky přímo regulujícími energetický metabolismus, ale také s účinky modulujícími aktivitu řady molekul, mj. sirtuin 1 (SIRT1), které regulují buněčný cyklus, zánět a oxidativní stres.

Cíle: Cílem naší studie bylo detailnější objasnění úlohy AMPK v procesu experimentálně navozeného polékového poškození jaterních buněk.

Metody: Akutní hepatotoxicita byla navozena jednorázovým podáním paracetamolu (APAP) *in vivo* u potkanů kmene Wistar nebo *in vitro* na buněčných kulturách primárních hepatocytů. Některým skupinám byly aplikovány také látky modulující aktivitu AMPK nebo sirtuinu 1 (resveratrol, AICAR, Compound C, CAY10591, EX-527). Na konci experimentu byly odebrány vzorky plazmy a kultivačního média k biochemickému stanovení markerů hepatocytárního poškození (ALT, AST, bilirubin). Navíc byla vyhodnocena životnost hepatocytů pomocí histologického vyšetření *in vivo* a MTT testu *in vitro*. Aktivita a exprese AMPK byly stanoveny metodou Western blot.

Výsledky a diskuze: Hepatotoxické působení APAP bylo provázeno výrazným snížením aktivity AMPK v hepatocytech. Podání CAY10591, selektivního aktivátoru sirtuinu, vedlo ke zmírnění hepatotoxického působení APAP. Inhibitor AMPK, Compound C, navíc významně prohloubil hepatotoxické působení APAP. Modulace aktivity AMPK pomocí selektivních syntetických aktivátorů a inhibitorů o malé molekule tak může přispět k detailnějšímu objasnění úlohy AMPK při jaterním poškození a jeho léčbě.

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za podpory PRVOUK-P25/LF1/2 a GAUK 916314.

FARMAKOKINETICKÁ INTERAKCE METAMFETAMINU S ETANOLEM V PREKLINICKÉM EXPERIMENTU

Ondřej Zendulka¹, Jan Juřica¹, Michaela Sabová¹, Petr Švéda², Lucie Hýžová², Marta Farková²

1) Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 62500, Brno

2) Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 62500, Brno

E-mail: zendulka@med.muni.cz

Úvod: Metamfetamin a etanol patří mezi látky se závislostním potenciálem charakteristické pro region střední Evropy. Osoby s látkovou závislostí velmi často užívají mimo nezákonných látek včetně metamfetaminu i ty zákonem povolené, mezi které se řadí právě etanol. Je tedy velmi pravděpodobné, že u osob závislých na metamfetaminu může docházet ke konzumaci výše uvedených látek současně, což může vést k zajímavým změnám ve farmakologických účincích obou látek.

Cíl: Stanovit vliv opakovaného podání metamfetaminu na farmakokinetiku bolusové aplikace etanolu u potkana a zjistit vliv opakovaného podání kombinace metamfetaminu s etanolem na farmakokinetiku etanolu.

Metody: Metamfetamin byl aplikován potkaním samcům intraperitoneálně v dávkách 0,4; 2,0; nebo 10,0 mg/kg jednou denně po dobu 9 dnů a 10. den společně s bolusovou dávkou etanolu 2 g/kg ve formě 20% roztoku aplikovaného intragastricky. Sérové hladiny etanolu byly u zvířat stanoveny v čase 15, 60, 120 a 180 minut od jeho podání metodou plynové chromatografie. Od 11. dne byla zvířatům aplikována kombinace intraperitoneálně podávaného metamfetaminu (0,4; 2,0; nebo 10,0 mg/kg) s intragastricky aplikovaným etanolem (2 g/kg 20% roztok). 21. den experimentu byl zvířatům aplikován metamfetamin jako v předchozích dnech a etanol v dávce 3 g/kg ve formě 30% roztoku. Následně byly stanoveny koncentrace etanolu v séru v intervalech 15, 60, 120 a 180 minut od jeho aplikace. Pro statistickou analýzu byl použit Kruskal-Wallisův neparametrický test.

Výsledky a diskuse: U obou farmakokinetických stanovení byl průběh sérových koncentrací etanolu podobný. Všechna zvířata premedikovaná metamfetaminem vykazovala výrazně nižší sérové koncentrace etanolu ve srovnání s kontrolou. Nejvýraznější pokles v naměřených hodnotách etanolu byl zjištěn u zvířat premedikovaných metamfetaminem v dávce 2,0 mg/kg/den.

V dosud provedených preklinických i klinických studiích sledujících farmakokinetické interakce metamfetaminu a etanolu byla popsána inhibice biotransformace metamfetaminu vlivem etanolu. Naopak vliv metamfetaminu na biotransformaci etanolu byl sledován pouze ve dvou studiích s rozporuplnými výsledky. Naše práce jasně demonstruje, že premedikace

metamfetaminem, ale i výše uvedená kombinace látek vede ke snížení sérových hladin etanolu u potkana. Otázkou zůstává, jaký je přesný mechanismus popsaného efektu. Jako nejpravděpodobnější se jeví indukce biotransformačních enzymů vedoucí ke snížení biologické dostupnosti etanolu a/nebo zrychlení jeho eliminace.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu „Experimentální farmakologický vývoj v neuropsychiatrii a onkologii“ číslo MUNI/A/1284/2015 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2016.

PARTNEŘI KONFERENCE

Generální sponzor



Zlatý sponzor



Stříbrný sponzor



Partneři konference



