

62. FARMAKOLOGICKÉ DNI

**Program
a
Zborník abstraktov**

Košice, 25. – 27. júna 2012

Editori

prof. MVDr. Ján Mojžiš, CSc.

MVDr. Martina Pilátová, PhD.

RNDr. Lenka Varinská, PhD.

Za obsahovú a jazykovú správnosť textov sú zodpovední autori.

Venované pamiatke

prof. MUDr. Andreja Nicáka, DrSc.,

a

prof. MUDr. Antona Kohúta, DrSc.

*a všetkým ostatným, ktorí nám nezištne a priateľsky pomáhali pri našej,
neraz neľahkej, ceste vedou.*

Usporiadatelia 62. Česko-slovenských farmakologických dní

Slovenská farmakologická spoločnosť

**Česká společnost pro experimentální a klinickou farmakologii a
toxikologii České lékařské společnosti J. E. Purkyně**

Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach

Lekárska fakulta UPJŠ

Ústav farmakológie LF UPJŠ

PROGRAM

Pondelok 25. júna 2012

12.00 – 17.00

Registrácia účastníkov v priestoroch Ges Club, Námestie L. Novomeského 13, Košice

Obed 12.30-14.00

14.00 – 14.30 Slávnostné otvorenie 62. FD

14.45 – 16.00 Vyžiadané prednášky

predsedníctvo: prof. MVDr. Ján Mojžiš, CSc.

14.45 doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc.: Niektoré vybrané problémy geriatrickej
onkológie

15.15 prof. MUDr. Ivan Tkáč, PhD.: Farmakogenetika liečby orálnymi antidiabetikami.

15.45 prof. MVDr. Ján Mojžiš, CSc.: Vybraná téma

16.00 – 16.30 Občerstvenie

16.30 – 17.45 Farmakológia respiračného systému

predsedníctvo: prof. MUDr. Radoslav Nosál, DrSc., RNDr. Zdeněk Zídek, DrSc.

16.30 Fraňová a kol.: Ovplyvnenie alergického zápalu dýchacích ciest látkami zo skupiny
polyfenolov

16.45 Mokrý a kol.: Inhibícia fosfodiesteráz pri alergickom zápale dýchacích ciest

17.00 Šutovská a kol.: CRAC kanály a alergický zápal dýchacích ciest – vplyv dlhodobej
liečby

17.15 Antošová a kol.: Interakcia glutamátergického a nitrergického systému pri
hyperreaktivite dýchacích ciest

17.30 Jošková a kol.: Analýza frekvencie kmitania cílií respiračného traktu v
experimentálnych podmienkach

17.45-18.45 Diskusia pri posteroch

Utorok 26. júna 2012

8.00 – 16.00 Registrácia

8.45– 10.15 Varia

predsedníctvo: doc. RNDr. Soňa Fraňová, PhD., doc. RNDr. Eva Kmoníčková, CSc.

08.45 Plachá a kol.: Hypoxicko-ischemické poškodenie neonatálneho mozgu: štúdium etio-patogenetických mechanizmov a možnosti ich ovplyvnenia

09.00 Juránek: Biologické paradoxy voľno-radikálových procesov: je možné ovplyvniť oxidačný stres exogénnymi antioxidantami?

09.15 Dingová a kol.: Vplyv ellmanovho činidla na aktivitu cholínesteráz

09.30 Poništ a kol.: Terapeutický efekt karnozínu v experimentálnej artritíde a jeho protektívny účinok na primárnu bunkovú kultúru chondrocytov

09.45 Baňasová a kol.: Protection of high-molar-mass hyaluronan degradation by buccillamine and its disulfide derivative.

10.00 Nosál' a kol.: Porovnanie účinku H1 a H4 antihistaminík na oxidatívne vzplanutie neutrofilov

10.15 – 10.45 Občerstvenie

10.45 – 13.00 Farmakológia kardiovaskulárneho systému

predsedníctvo: doc. MUDr. Juraj Mokřý, PhD. doc. MVDr. Pavel Suchý, PhD.

10.45 Maťuš a kol.: Cholinergný systém v rozvoji srdcového zlyhania

11.00 Musil a kol.: Nasmerovanie multipotentných kmeňových buniek k metabolizmu svalových buniek

11.15 Mladěnka a kol.: Diastolic dysfunction is the initial pathophysiological feature of the isoprenaline cardiotoxicity

11.30 Rajtík a kol.: Pleiotropné pôsobenie simvastatínu na mitochondriálnu apoptickú dráhu a post-ischemické obnovenie kontraktility

11.45 Kučera a kol.: Vplyv absencie vybraných molekulových foriem cholínesteráz na hladiny muskarínových a β -adrenergných receptorov v srdci

12.00 Mlynárová a kol.: Expresia transkripčných faktorov v epikardiálnom tuku pri ischemickej chorobe srdca a srdcovom zlyhávaní

12.15 Dóka a kol.: Importance of cardiac myosin isoforms in human end-stage heart failure

12.30 Mrvová a kol.: Vplyv absencie $\alpha 7$ nikotínovej podjednotky na základné hemodynamické parametre srdca

12.45 Mrvová a kol.: Dynamika exprese génov regulujúcich Ca^{2+} homeostázu a kontraktilitu myokardu počas rozvoja dysfunkcie ľavej komory navodenej beta adrenergickou stimuláciou

13.00 – 14.15 Obed

14.15 – 15.45 Farmakológia v onkológii

predsedníctvo: RNDr. Ladislava Bartošová, PhD., doc. RNDr. Magdaléna Kuželová, CSc.

14.15 Ivanová a kol.: Antiproliferative effect of newly synthesized cyclic chalcone analogue KRP6: an *in vitro* study in HUVECS

14.30 Pilátová a kol.: Antiproliferatívne účinky indolových fytoalexínov: vzťah štruktúra a účinok

14.45 Varinská a kol.: Úloha galektínov v tumorigenéze

15.00 Mesárošová a kol.: Skrining génov podieľajúcich sa na procesoch angiogenézy svetlobunkového karcinómu obličiek.

15.15 Čižmáriková a kol.: Vzťah vybraných jednonukleotidových polymorfizmov k liečebnej odpovedi na neoadjuvantnú liečbu karcinómu prsníka

15.30 Šarišský a kol.: Relationships between genetic abnormalities, immunophenotype and response to therapy in chronic lymphocytic leukemia.

15.45 Janočková a kol.: Väzbové vlastnosti pyridínových oxímov s DNA a ich topoizomerázová inhibícia

16.00 – 16.30 Občerstvenie

16.30 – 17.30 Diskusia pri posteroch

17.30– 18.15 Plenárne zasadnutie Slovenskej farmakologickej spoločnosti a České společnosti pro experimentální a klinickou farmakologii a toxikologii České lékařské společnosti J. E. Purkyně

19.00 Spoločenský večer

Streda 27. júna 2012

9.00 – 10.00 Posterové prezentácie

predsedníctvo: doc. PharmDr. Ján Klimas, PhD., doc. Ing. Kamil Kuča, PhD.,

Ahmadimoghaddam a kol.: Transfer of metformin across rat term placenta

Bludovská a kol.: Pleurotus ostreatus and pleuran may potentiate toxic and prooxidant effects of chromium(VI) in rats

Fleskova a kol.: Utilization of bioactive plant polysaccharides in therapy of cough and influencing airways reactivity

Gasparova a kol.: Neurodegeneration induced by trimethyltin in male wistar rat hippocampus: electrophysiological and morphological aspects

Hofman a kol.: Substrate affinity of olomoucine II and purvalanol A for ABCG2 and ABCB1 transporters *in vitro* and *in situ*

Jančinová a kol.: Farmakologická inhibícia prozápalovej aktivity neutrofilov

Jirkovský a kol.: Kardioprotektívny účinok dexrazoxanu na experimentálnom modeli chronickej antracyklinovej kardiotoxicity – význam schématu podání

Kolmanová a kol.: Vliv změny v chemické struktuře nově syntetizovaných betalytik na její farmakologický účinek

10.00 – 10.30 Občerstvenie

10.30 – 12.00 Posterové prezentácie

predsedníctvo: prof. MUDr. Ladislav Mirošsay, DrSc., prof. MUDr. Ján Mojžiš, CSc.

Cihalova a kol.: Inhibition of p-glycoprotein efflux activity by cyclin-dependent kinase inhibitors

Čížeková a kol.: Ovlivňuje rezistencia nádorových buniek fotocytostatický účinok proflavínových derivátov?

Kolorz a kol.: Nový přístup k detekci klinicky významných variantních alel TPMT metodou založenou na real-time PCR.

Kráľová a kol.: Vplyv metformínu a karvedilolu na disperziu QT a QTc intervalu u diabetických a hypertenzno-diabetických potkanov

Kuca a kol.: Bisquaternary cholinesterase inhibitors as prophylaxis against nerve agents

Sotníková a kol.: Kyselina rozmarínová zabraňuje cievnej dysfunkcii vyvolanej experimentálnym diabetom u potkanov

Šepsová a Kassa.: *In vivo* testování nových reaktivátorů na tabunem intoxikovaných

potkanech

Zachařová a kol.: Silybin increased expression of AcylCo-A oxidase 1 in HHTG rats

12.00 Záver 62. farmakologických dní

12.30 - 13.30 Obed

Zoznam posterov

1. TRANSFER OF METFORMIN ACROSS RAT TERM PLACENTA

Ahmadimoghaddam D., Neumanova Z., Cervený L., Ceckova M., Staud, F.:
Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Czech Republic

2. EXPRESSION PROFILE AND FETUS PROTECTIVE ROLE OF MULTIDRUG AND TOXIN EXTRUSION TRANSPORTER 1 (MATE1/SLC47A1) AND ORGANIC CATION TRANSPORTER 3 (OCT3/SLC22A3) AT DIFFERENT STAGES OF GESTATION IN RAT

Ahmadimoghaddam D., Zemankova L., Neumanova Z., Nachtigal P., Dolezelova E., Cervený L., Ceckova M., Micuda S., Staud F.
Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Czech Republic

3. ZMENY HLADINY EXHALOVANÉHO A NAZÁLNEHO OXIDU DUSNATÉHO U PACIENTOV S ALERGICKOU RINITÍDOU

Antošová M., Benčová A., Rozborilová E.
Ústav farmakológie, JLF UK Martin

4. ANTIHYPERTENZÍVNÝ A NEGATÍVNÝ CHRONOTROPNÝ EFEKT NOVÝCH DERIVÁTOV ARYLOXYAMINOPROPANOLU

Badó O., Frydrych M., Tengler J., Bartošová L.
Ústav humánnej farmakológie a toxikológie, FaF, VFU Brno, ČR,

5. IDENTIFIKÁCIA A RIEŠENIE FARMAKOTERAPEUTICKÝCH PROBLÉMOV U PACIENTOV S DYSLIPIDÉMIAMI

Balážová M., Kuželová M.
Katedra farmakológie a toxikológie FaFUK, Bratislava

6. BENZOTHIAZOLEUREA ANALOGUES AS INHIBITORS OF Aβ-AB INTERACTION IN ALZHEIMER'S DISEASE

Benek O., Musilek K., Kuca K., Korabecny J., Spilovska K., Gunn-Moore F.
Department of Toxicology, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Kralove, Czech Republic

7. PLEUROTUS OSTREATUS AND PLEURAN MAY POTENTIATE TOXIC AND PROOXIDANT EFFECTS OF CHROMIUM(VI) IN RATS

Bludovská M., Kotyzová D., Eybl V
Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Medicine in Pilsen, Czech Republic

8. INHIBITION OF P-GLYCOPROTEIN EFFLUX ACTIVITY BY CYCLIN-DEPENDENT KINASE INHIBITORS

Cíhalova D., Hofman J., Ceckova M., Staud F.
Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Pharmacology and Toxicology, Hradec Kralove, Czech Republic

9. OVPLYVŇUJE REZISTENCIA NÁDOROVÝCH BUNIEK FOTOCYTOSTATICKÝ ÚČINOK PROFLAVÍNŮVÝCH DERIVÁTOV?

Čížeková L., Grolmusová A., Vantová Z., Paulíková H.
Ústav biochémie, výživy a ochrany zdravia, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Bratislava

10. SÚ ZA ROZDIELY V LIEČEBNEJ ODPOVEDI NA GLUKOKORTIKOIDY U PACIENTOV S IDIOPATICKÝM NEFROTICKÝM SYNDRÓMOM ZODPOVEDNÉ POLYMORFIZMY GÉNU *MDR1*?

Čizmaríková M., Podracká L., Klimčáková L., Mojžiš J., Mirossay L.
Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, UPJŠ Košice

11. ÚČINOK SYNTETICKÝCH DERIVÁTOV PRÍRODNÝCH POLYFENOLOV NA AKTIVITU ĽUDSKÝCH NEUTROFILOV

Drábiková K., Perečko T., Nosál R., Harmatha J., Šmidrkal J., ¹ančinová V.
Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava, SR,

12. ANTIPROLIFERATÍVNY ÚČINOK SYNTETICKÝCH DERIVÁTOV CHALKÓNOV

Drutovič D., Pilátová M., Chripková M., Perjési P., Mikeš J., Mojžiš J.
Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach

13. NOVEL MATHEMATICAL APPROACHES FOR CALCULATION OF IRON-CHELATOR COMPLEX STOICHIOMETRY BY THE USE OF DIRECT UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

Filipský T., Říha M., Mladěnka P., Macáková K., Hrdina R.
Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Czech Republic

14. UTILIZATION OF BIOACTIVE PLANT POLYSACCHARIDES IN THERAPY OF COUGH AND INFLUENCING AIRWAYS REACTIVITY

Fleskova D., Nosalova G., Sinha S., Bandyopadhyay S.S., Ray B., Jurecek L.
Department of Pharmacology, Jessenius Faculty of Medicine, Martin

15. NEURODEGENERATION INDUCED BY TRIMETHYLTIN IN MALE WISTAR RAT HIPPOCAMPUS: ELECTROPHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS

Gasparova Z., Janega P., Stara V., Ujhazy E.
Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia

16. SYNTÉZA A ACETYLCHOLÍNESTERÁZOVÁ INHIBIČNÁ AKTIVITA NOVÝCH DERIVÁTOV TAKRINU A TAKRIN-KUMARÍNOVÝCH HETERODIMÉROV

Hamuľáková S., Janovec L., Hrabínová M., Kristian P., Špilovská K., Kuča K., Imrich J.
Ústav chemických vied, Katedra organickej chémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity P. J. Šafárika, Košice, SR

17. SUBSTRATE AFFINITY OF OLOMOUCINE II AND PURVALANOL A FOR ABCG2 AND ABCB1 TRANSPORTERS *IN VITRO* AND *IN SITU*

Hofman J., Cihalova D., Kucera R., Klimes J., Ceckova M., Staud F.
Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic,

18. POROVNÁNÍ ÚČINNOSTI LOKÁLNÍCH HEMOSTATIK NA MODELU PARCIÁLNÍ NEFREKTOMIE LABORATORNÍHO POTKANA

Chalupová M., Pražanová G., Kollár P., Sopuch T., Suchý P.
Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

19. SYNTETICKÉ DERIVÁTY BRASINÍNU A ICH ANTIPROLIFERATÍVNY ÚČINOK

Chripková M., Pilátová M., Drutovič D., Kutschy P., Mirossay L., Mojžiš J.
Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach

20. FARMAKOLOGICKÁ INHIBÍCIA PROZÁPALOVEJ AKTIVITY NEUTROFILOV

Jančinová V., Drábiková K., Perečko T., Nosál R., Svitek K.
Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava

21. KARDIOPROTEKTIVNÍ ÚČINEK DEXRAZOXANU NA EXPERIMENTÁLNÍM MODELU CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY – VÝZNAM SCHÉMATU PODÁNÍ

Jirkovský E., Popelová O., Hroch M., Adamcová M., Mičuda S., Geršl V., Štěrbá M.
Ústav farmakologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, UK v Praze

22. REMOVAL OF LIPOPOLYSACCHARIDE AND OTHER BACTERIAL CONTAMINANTS FROM SAMPLES OF PHARMACOLOGICAL INTEREST

Kmoníčková E., Zídek Z.
Institute of Experimental Medicine, Department of Pharmacology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague 4, Czech Republic

23. INVOLVEMENT OF POTASSIUM ION CHANNELS IN ALLERGIC AIRWAYS INFLAMMATION IN GUINEA PIGS

Kocmálová M., Marcinek J., Kalman M., Fraňová S., Šutovská M.
Department of Pharmacology, JLF UK, Martin

24. VLIV ZMĚNY V CHEMICKÉ STRUKTUŘE NOVĚ SYNTETIZOVANÝCH BETALYTIK NA JEJÍ FARMAKOLOGICKÝ ÚČINEK

Kolmanová E., Bartošová L., Prášková V., Veselá M., Suchý P.
Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, VFU Brno

25. NOVÝ PŘÍSTUP K DETEKCI KLINICKY VÝZNAMNÝCH VARIANTNÍCH ALEL TPMT METODOU ZALOŽENOU NA REAL-TIME PCR.

Kolorz M., Wróblková K., Uličný B., Bartošová L., Bartoš M.
Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, VFU Brno, ČR,

26. RELATIVE BIOAVAILABILITY OF TWO ENALAPRIL FORMULATIONS IN HEALTHY VOLUNTEERS

Kopecký J., Kholová D., Vybíralová Z., Zoulová J., Chládek J., Macek K., Květina J.
Institute of Experimental Biopharmaceutics, Joint Research Centre of PRO.MED.CS Praha a.s. and Academy of Sciences of the Czech Republic, Hradec Králové, Czech Republic

27. SYNTHESIS, BIOLOGICAL ASSESSMENT AND MOLECULAR MODELING OF NOVEL TACRINE-7-METHOXYTACRINE HETERODIMERS FOR ALZHEIMER DISEASE TREATMENT

Korabecny J., Hamuláková S., Gazova Z., Siposova K., Kassa J., Kuca K.
Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Czech Republic

28. LIEČBA AKÚTNEJ BOLESTI NA ODDelení TRAUMATOLÓGIE

Kováčová B., Foltánová T., Kónya Š., Ďurišová A.
Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave,

29. VPLYV METFORMÍNU A KARVEDILOLU NA DISPERZIU QT a QTc INTERVALU U DIABETICKÝCH A HYPERTENZNO-DIABETICKÝCH POTKANOV

Kráľová, E., Jankyová, S., Grešáková, E., Stankovičová, T.
Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

30. BISQUATERNARY CHOLINESTERASE INHIBITORS AS PROPHYLAXIS AGAINST NERVE AGENTS

Kuca K., Musilek K., Komloova M., Horova A., Soukup O., Zdarova-Karasova J., Kassa J.
University of Defence, Faculty of Military Health Sciences, Department of Toxicology, Centre of Advanced Studies and Department of Public Health, Hradec Kralove, Czech Republic,

31. PROBIOTIC STRAIN *ESCHERICHIA COLI* NISSLE 1917 AND ITS EFFECT ON BACTERIOGINOGENY AND MORPHOMETRIC PARAMETERS OF GASTROINTESTINAL WALL IN EXPERIMENTAL PIGS

Kuneš M., Bureš J., Šmajš J., Pejchal J., Šmarda J., Förstl M., Lesná J., Tláskalová-Hogenová H., Květina J.
Institute of Experimental Biopharmaceutics, Joint Research Centre of PRO.MED.CS Praha a.s. and the Czech Academy of Sciences, Hradec Králové,

32. INTERACTION OF ANTIVIRAL AGENT PMEG WITH SLC TRANSPORTERS

Mandíková J., Volková M., Nový Z., Pávek P., Janeba Z., Trejtnar F.
Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmacology and Toxicology, Czech Republic

33. APLIKÁCIA FARMAKOLOGICKY OVPLYVNENÝCH HUMÁNNYCH HEMATOPOETICKÝCH KMEŇOVÝCH BUNIEK DO SRDCA WISTAR POTKANA *IN VIVO*

Menšíková L., Musil P., Stahlová K., Mlynárová J., Gažová A., Kyselovič J.
Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie,

34. HODNOTENIE LÁTKO S ANTIOXIDAČNÝMI VLASTNOSTAMI A ANTIREUMATIKA - METOTREXÁTU ŠTUDOVANÁ NA MODELI ADJUVANTNEJ ARTRITÍDY

Mihalová D., Bauerová K., Dráfi F., Kuncířová V., Poništ S., Fedorová T., Harmatha J., Nosál R.
Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava, SR,

35. HODNOTENIE ÚČINKU DIMETYLSULFOXIDU NA ZÁPALOVÉ A OXIDAČNÉ PARAMETRE PRI EXPERIMENTÁLNOH MODELE ALERGICKEJ ASTMY

Mikolka P., Mokrá D., Drgová A., Petráš M., Mokřý J.
Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského, Martin

36. 2-CHLORO-1,4-NAFTOCHINÓNOVÝ DERIVÁT KVERCETÍNU AKO POTENCIÁLNE LIEČIVO DIABETICKÝCH KOMPLIKÁCIÍ: PREDKLINICKÉ TESTY *IN VITRO*

Miláčková I., Prnová M., Kováčiková L., Májeková M., Veverka M., Štefek M.
Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV, Bratislava,

37. HODNOCENÍ A POROVNÁNÍ BIOLOGICKÝCH EFEKTŮ STRUKTURÁLNĚ PŘÍBUZNÝCH LÁTEK IZOLOVANÝCH Z *MORUS ALBA L.*

Müller Závalová V., Bárta T., Šmejkal K., Souček K., Kollár P.
Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno, Česká Republika

38. PYCNOGENOL® NORMALIZUJE KOMOROVÚ DEPOLARIZÁCIU U DIABETICKEJ KARDIOMYOPATIE BEZ OVPLYVNENIA ZVÝŠENEJ EXPRESIE KONEXÍNU 43

Nemčeková V., Jankyová S., Černecká H., Potůček P., Dóka G., Kyselovič J., Křenek P., Babál P., Klimas J.
Katedra farmakológie a toxikológie, FaF UK v Bratislave

**39. INTOXIKÁCIE CITALOPRAMOM, ESCITALOPRAMOM A SERTRALÍNOM
KONZULTOVANÉ S NÁRODNÝM TOXIKOLOGICKÝM INFORMAČNÝM CENTROM
V ROKOCH 2007-2011**

Ondriašová E., Fabianová D., Cagáňová B., Plačková S.

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava

**40. NON-COMPLIANCE PACIENTOV SO SKLERÓZOU MULTIPLEX PRI
IMUNOMODULAČNEJ LIEČBE**

Pankuchová I., Procházková Ľ., Čorejová A.

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava,

41. DERIVÁTY STILBÉNU INDUKUJÚ APOPTÓZU ĽUDSKÝCH NEUTROFILOV

Perečko T., Drábiková K., Nosál R., Harmatha J., Jančinová V.

Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV Bratislava, SR

**42. DYNAMIKA EXPRESIE GÉNOV REGULUJÚCICH Ca^{2+} HOMEOSTÁZU
A KONTRAKTILITU MYOKARDU POČAS ROZVOJA DYSFUNKCIE ĽAVEJ KOMORY
NAVODENEJ BETA ADRENERGICKOU STIMULÁCIOU**

Piváčková L., Černecká H., Klimas J., Kyselovič J., Křenek P.

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

43. REZISTENCIA NA ANTITUBERKULOTIKÁ V SR

Porvazník I., Mokry J., Solovič I.

Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy

**44. L-ARGINÍN ZLEPŠUJE FUNKCIU ĽAVEJ KOMORY BEZ VPLYVU NA OSTATNÉ
ZMENY U IZOPRENALÍNOM INDUKOVANÉHO POŠKODENIA SRDCA**

Potůček P., Kráľová E., Černecká H., Nemčeková V., Dóka G., Piváčková L., Kyselovič J.,
Křenek P., Klimas J.

Katedra farmakológie a toxikológie, FaF UK v Bratislave, UK v Bratislave

**45. AKTIVITA CRAC IÓNOVÝCH KANÁLOV V HUMÁNNOM GRAVIDNOM MYOMETRIU
MATERNICE**

Sadloňová V., Dókuš K., Jošková M., Šutovská M., Fraňová S.

Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

**46. IN VIVO TESTOVÁNÍ NOVÝCH REAKTIVÁTORŮ NA TABUNEM INTOXIKOVANÝCH
POTKANECH**

Šepsová V., Kassa J.

*Katedra toxikologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové,
Česká republika*

**47. ZMENY KARDIOVASKULÁRNEHO RIZIKA PODĽA SCORE SYSTÉMU
U DLHODOBO LIEČENÝCH DIABETIKOV**

Sklenárová J., Jankyová S., Mašlonková V., Foltánová T.

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

**48. ANALÝZA OFF-LABEL POUŽÍVANÝCH LIEKOV V TERAPII HOSPITALIZOVANÝCH
PEDIATRICKÝCH PACIENTOV**

Slažneva J., Kákošová V., Kovács L., Kuželová M.

Katedra farmakológie a toxikológie FaFUK, Bratislava

49. KYSELINA ROZMARÍNOVÁ ZABRAŇUJE CIEVNEJ DYSFUNKCII VYVOLANEJ EXPERIMENTÁLNYM DIABETOM U POTKANOV

Sotníková R., Okruhlicová Ľ., Piváčková L., Fialová S., Navarová J., Vlkovičová J., Křenek P.
Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava

50. NOVEL CLASS OF DUAL BINDING SITE CHOLINESTERASE INHIBITORS BASED ON 7-METHOXYTACRINE AND ADAMANTYLAMINE MOIETIES IN ALZHEIMER'S DISEASE THERAPY

Spilovska K., Korabecny J., Musilek K., Horova A., Benek O., Kuca K.
Department of Toxicology, Faculty of Military Health Sciences, Hradec Kralove, Czech Republic

51. XENOTRANSPLANTÁCIA MEZENCHYMÁLNYCH KMEŇOVÝCH BUNIEK

Stahlová, K., Menšíková, L., Mlynárová, J., Musil, P., Gažová, A., Goncalvesova, E., Kyselovič, J.
Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie

52. STUDY ON RENAL EXCRETION MECHANISM OF AMPHOTERICIN B AT ORGAN AND CELLULAR LEVELS

Trejtner F., Mandíková J., Volková M., Maixnerová J.
Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Hradec Kralove, Czech Republic

53. SYNTÉZA DERIVÁTOV AKRIDÍNU AKO POTENCIONÁLNYCH INTERKALÁTOROV DNA KVADRUPLXU

Vojtičková M., Janovec L., Imrich J.
Katedra organickej chémie, Ústav chemických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice

54. ODLIŠNÉ OPTIMÁLNE MODELOVÉ CHARAKTERISTIKY V ANALÝZE REAKTIVITY SEGMENTOV A. RENALIS KONTROLNÝCH A DIABETICKÝCH POTKANOV

Vojtko R., Villaris R., Petrová M., Kristová V.
Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, Lekárska fakulta UK, Bratislava

55. RECEPTOR MEDIATED ENDOCYTOSIS OF ALBUMIN IN DIFFERENT EPITHELIAL KIDNEY CELL LINES COMPARED TO CERVICAL CANCER CELL LINE

Volková M., Mandíková J., Trejtner F.
Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Czech Republic

56. HAPLOTYPY HLA-DQ2, HLA-DQ8 A HLA-DRB1*04 JAKO GENETICKÉ MARKERY CELIAKIE

Wróblová K., Kolorz M., Vystrčilová P., Páv I., Bartošová L.
Ústav humánní farmakologie a toxikologie, VFU Brno

57. SILYBIN INCREASED EXPRESSION OF AcylCo-A OXIDASE 1 IN HHTg RATS

Zacharová A., Šiller M., Matušková Z., Večeřa R., Anzenbacher P.
Institute of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic

58. SYSTÉMOVÁ PREMEDIKACE METAMFETAMINEM ZRYCHLUJE METABOLISMUS ETHANOLU U POTKANA

Zendulka O., Sabová M., Juřica J., Machalíček M., Švéda P., Farková M., Šulcová A.
Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita v Brně,

59. PYRIMIDINE ANALOGUES AS PROSPECTIVE ANTI-INFLAMMATORY COMPOUNDS

Zídek Z., Jansa P., Janeba Z., Kostecká P., Kmoníčková E.

Institute of Experimental Medicine, Department of Pharmacology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague 4, Czech Republic

Poznámka: Pracoviská spoluautorov sú uvedené v abstraktovej časti zborníka.

ABSTRAKTY PRÍSPEVKOV

Poznámka: Príspevky sú zoradené abecedne podľa prvého autora

TRANSFER OF METFORMIN ACROSS RAT TERM PLACENTA

Ahmadimoghaddam D., Neumanova Z., Cervený L., Cecková M., Staud, F.

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

Metformin is a highly polar positively charged compound that is occasionally used during pregnancy. Therefore, detailed knowledge of its transplacental passage is of a great importance for optimizing therapy of pregnant women with diabetes. However, the exact mechanism(s) by which metformin crosses the placenta is not fully understood.

The aim of the present study was to investigate the role of Multidrug and Toxin Extrusion Transporter 1 (Mate1/SLC47A1) and Organic Cation Transporter 3 (Oct3/SLC22A3) in placental transfer of metformin.

Using the model of dually perfused rat term placenta, transplacental passage of metformin was studied in both directions - maternal-to-fetal and fetal-to-maternal.

We observed dose-dependent asymmetry of metformin transplacental clearances in favor of fetal-to-maternal one suggesting involvement of placental transport mechanism(s). Changing pH on the maternal side of the placenta, we observed that the oppositely directed H^+ -gradient can drive the secretion of metformin from placenta to mother, confirming metformin elimination from placenta by Mate1. Using MPP⁺ as a common inhibitor of both Oct3 and Mate1, the transport of metformin from fetal circulation was completely suppressed.

Our results thus indicate that the transport of metformin across the rat placenta is mediated by placental Oct3/Mate1 eliminatory pathway as observed in the case of other cations (Ahmadimoghaddam et al., Toxicological Sciences 2012).

This work was supported by Grants GAUK 137010/C/2011, SVV/2011/263-003.

EXPRESSION PROFILE AND FETUS PROTECTIVE ROLE OF MULTIDRUG AND TOXIN EXTRUSION TRANSPORTER 1 (MATE1/SLC47A1) AND ORGANIC CATION TRANSPORTER 3 (OCT3/SLC22A3) AT DIFFERENT STAGES OF GESTATION IN RAT

¹Ahmadimoghaddam D., ²Zemankova L., ¹Neumanova Z., ²Nachtigal P., ²Dolezelova E.,
¹Cervený L., ¹Ceckova M., ³Micuda S., ¹Staud F.

¹*Department of Pharmacology and Toxicology and* ²*Department of Biological and Medical sciences, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Czech Republic; and* ³*Institute of Pharmacology, Charles University in Prague, Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Czech Republic*

During gestation, transporter proteins localized in the placenta and/or fetal tissues are of high importance since they are crucially responsible for fetus ontogeny. Detailed knowledge of all transporters involved in fetal protection, regulation of their expression, and their interactions with xenobiotics is deeply required for predicting the risk of treatment during gestation.

The aim of the present study was to investigate the expression and localization of Multidrug and Toxin Extrusion Transporter 1 (Mate1/SLC47A1) and Organic Cation Transporter 3 (Oct3/SLC22A3) in the rat placenta and fetal tissues at different stages of pregnancy using qRT-PCR, western blot analysis and immunohistochemistry. Using infusion of 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺), a well-established substrate of both Mate1 and Oct3, we also studied functional changes of both transporters in the placenta at different gestation days (gds).

We observed significantly higher expression of Mate1 and Oct3 mRNA in the placenta compared to the maternal kidney; their mRNA and protein levels increased towards the end of gestation. Regarding fetal tissues, the highest levels of both transporters were observed in the kidney, brain and intestine on gd 21. Immunohistochemical visualization revealed preferential localization of Oct3 on the fetal side; on the other hand, Mate1 was shown to be localized preferentially towards the maternal circulation in the placenta. Functional tests with MPP⁺ showed highest fetal exposure on gd 12 compared to gds 15, 18 and 21. In conclusion we suggest that throughout gestation both the placenta and fetus express Mate1 and Oct3 in a dynamic manner resulting higher degree of fetal protection.

This work was supported by Grants GAUK 137010/C/2011, SVV/2011/263-003.

ZMENY HLADINY EXHALOVANÉHO A NAZÁLNEHO OXIDU DUSNATÉHO U PACIENTOV S ALERGICKOU RINITÍDOU

¹Antošová M., ²Benčová A, ²Rozborilová E.

¹Ústav farmakológie, ²Klinika pneumológie a ftizeológie, JLF UK Martin

Oxid dusnatý (NO) je endogénnym mediátorom, ktorý participuje na udržiavaní homeostázy v dýchacích cestách. Zmeny jeho hladiny je možné monitorovať vo vydychovanom vzduchu (FeNO), pričom tieto aktívne stúpajú aj pri alergickej rinitíde (AR). V tejto súvislosti sa preto uvažuje aj o monitoringu nazálneho NO (nNO), ktorý by reflektoval zmeny priamo na úrovni nosovej dutiny. Hladiny FeNO a nNO reagujú napr. na protizápalovú terapiu kortikosteroidmi, čo je možné využiť pri individualizovanom nastavení terapie pre konkrétneho pacienta.

Nás zaujímalo, či hladiny FeNO u vybranej skupiny pacientov s AR korelujú s hladinami nNO a ako sa tieto hladiny menia vplyvom indikovanej antialergickej farmakoterapie (lokálnej alebo celkovej).

Celkovo sme vyšetrili 52 respondentov (38 žien a 13 mužov) starších ako 18 rokov, s potvrdenou AR, bez subjektívnych a objektívnych príznakov bronchiálnej astmy, nefajčiarov. Vyšetrenia boli realizované opakovane, pred začiatkom peľovej sezóny a v peľovej sezóne, kedy sme zisťovali hodnoty pred a 3 týždne po užití farmakoterapie. Pacienti užívali hlavne antihistaminiká a kortikosteroidy. Analýzu FeNO a nNO sme realizovali s pomocou prístroja NIOX (Aerocrine®, Švédsko). Výsledky sme štatisticky spracovali s využitím programu SPSS 20.

Zistili sme, že hodnoty eNO a nNO sú signifikantne vyššie v peľovej sezóne pred začatím terapie v porovnaní s hodnotami nameranými mimo peľovej sezóny. Farmakoterapia znížila hodnoty nNO a FeNO, nie však na úroveň hodnôt, ktoré boli namerané pred začatím peľovej sezóny. Výsledky boli závislé od typu terapie, pričom najvýznamnejšie zmeny sme zaznamenali po kortikosteroidnej liečbe.

Naše výsledky naznačujú, že sledovanie FeNO a nNO má pre alergickú rinitídu svoje opodstatnenie. Môže byť užitočné pri ďalšom štúdiu zápalových zmien prebiehajúcich v nosovej dutine a taktiež pri sledovaní odpovede na farmakoterapiu.

Práca vznikla za podpory grantu MZ SR 2007/UK-46-11 a s podporou projektu Dobudovanie Centra experimentálnej a klinickej respirológie (CEKR II) - „Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov ES“ – ERDF – Európskeho fondu regionálneho rozvoja

INTERAKCIA GLUTAMÁTERGICKÉHO A NITRERGICKÉHO SYSTÉMU PRI HYPERREAKTIVITE DÝCHACÍCH CIEST

Antošová M., Strapková A.

Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin

Funkcie respiračného systému vo fyziologických i patologických podmienkach sú pod kontrolou rôznych neurotransmiterov. V literatúre je len veľmi málo informácií o možnej interakcii glutamátergickej a nitrergickej neurotransmisie pri hyperraktivite dýchacích ciest.

V práci sme preto sledovali, či zásah do homeostázy oboch systémov ovplyvní na jednej strane experimentálnu hyperreaktivitu hladkého svalu dýchacích ciest morčiat vyvolanú ovalbumínom a na strane druhej hladinu vydychovaného oxidu dusnatého (eNO).

Z agonistov NMDA receptorov sme použili kyselinu N-metyl-D-aspartovú (NMDA) a glutamát sodný (MSG), z antagonistov NMDA receptorov selektívny kompetitívny (kyselina DL-2-amino-5-phosphonovalerová – AP-5) a selektívny nekompetitívny (dizocilpín - MK-801). Taktiež sme použili nešpecifický inhibitor NO syntáz - metylester N^o-nitro-L-arginínu (L-NAME). Reaktivitu hladkých svalov dýchacích ciest na histamín alebo acetylcholín sme sledovali v podmienkach *in vitro*.

Aplikácia NMDA zvýšila odpoveď tracheálneho hladkého svalu na acetylcholín u zvierat s hyperreaktivitou dýchacích ciest. Účinok MSG bol menej výrazný. MK-801 ako aj AP-5 vyvolali zníženie reaktivity tracheálneho hladkého svalu najmä na acetylcholín. Tendencia poklesu u oboch látok bola vcelku podobná, výraznejší efekt však prejavil MK-801. Odpoveď hladkého svalu trachey bola výraznejšia v porovnaní s hladkým svalom pľúcneho tkaniva. Zaznamenali sme aj zmeny hladín eNO. Aktivácia NMDA receptorov prostredníctvom NMDA alebo MSG zvýšila hodnoty eNO. Inhibícia NO syntáz podaním L-NAME vyvolala pokles hladín eNO. MK-801 preukázal počas senzitivizácie výraznejší efekt na zmenu hladín eNO v porovnaní s AP-5.

Získané výsledky prinášajú vcelku nový pohľad na možný vzťah glutamátergického a nitrergickeho systému pri hyperraktivite dýchacích ciest ako jedného z príznakov respiračných zápalových ochorení, ktorý doposiaľ nebol jednoznačne objasnený.

Práca vznikla v rámci Centra experimentálnej a klinickej respirológie „Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov ES“ – ERDF – Európskeho fondu regionálneho rozvoja a za podpory grantu VEGA 1/0010/10.

ANTIHYPERTENZÍVNY A NEGATÍVNY CHRONOTROPNÝ EFEKT NOVÝCH DERIVÁTOV ARYLOXYAMINOPROPANOLU

¹ Baďo O., ¹ Frydrych M., ² Tengler J., ¹ Bartošová L.

¹Ústav humánnej farmakológie a toxikológie, FaF, VFU Brno, ČR, ²Ústav chemických liečiv, FaF, VFU Brno, ČR

K testovaniu boli použité nové deriváty aryloxyaminopropanolu s pracovným označením 2MC2a a 2MC2b. Látky boli syntetizované na Ústave chemických liečiv VFU Brno ako nové potenciálne ultrakrátko pôsobiace β -adrenergne blokátory.

Éterická skupina bola nahradená skupinou esterovou, aromatická časť bola v polohe para substituovaná metyl a etyl esterom kyseliny karbámovej. Bazickú časť predstavuje 2-fenoxyetylamin obsahujúci v polohe orto metoxy skupinu. K zvýšeniu afinity k β -receptorom slúži objemný substituent (2-metoxy-fenyloxy skupina) v alifatickej časti molekuly.¹ Chemická štruktúra obsahuje opticky aktívne centrum, ale látky boli vo forme racemátov.

Cieľom práce bolo sledovať účinky novo syntetizovaných látok, liečiv s potenciálnym ultrakrátkym β -antagonizujúcim efektom, na systolický krvný tlak a tepovú frekvenciu u laboratórneho potkana. Po intravenózne aplikácii invazívnou metódou pozorovať a vyhodnotiť zmeny systolického krvného tlaku a tepovej frekvencie.

Zvieratá boli rozdelené do 6 skupín. 1. a 2. skupine bola aplikovaná látka 2MC2a v dávke 6 mg.kg⁻¹ a boli pozorované zmeny krvného tlaku a tepovej frekvencie. 3. a 4. skupine bola aplikovaná látka 2MC2b v rovnakej dávke. Posledné 2 skupiny slúžili ako kontrola. Testované látky boli vpravené do vena jugularis a následne bol invazívne sledovaný krvný tlak na prístroji HSE UNIPER UP-100 alebo sledovaná tepová frekvencia pomocou EKG pre veterinárne účely.

Látka 2MC2a štatisticky významne znížila tlak od 0,5-8,5 min a tepovú frekvenciu od 0,5-3 min. Látka 2MC2b rovnako pôsobila na tlak od 0,5-8,5 min, tepovú frekvenciu znižovala od 0,5-10 min.

IDENTIFIKÁCIA A RIEŠENIE FARMAKOTERAPEUTICKÝCH PROBLÉMOV U PACIENTOV S DYSLIPIDÉMIAMI

Balážová M., Kuželová M.

Katedra farmakológie a toxikológie FaFUK, Bratislava

Dyslipidémie patria medzi chronické ochorenia s vysokou prevalenciou, ktorých výskyt je spojený so zvýšením celkového kardiovaskulárneho rizika.

Napriek dokázanej účinnosti farmakologickej liečby dyslipidemií, pacienti často nedosahujú jej plný benefit. Liečba hypolipidemikami býva sprevádzaná výskytom rôznych farmakoterapeutických problémov (DRPs – Drug-Related Problems). Ich identifikácia a riešenie je kľúčovým bodom úspechu terapie a prevenciou komplikácií dyslipidemií. Lekárne sú ideálnym miestom prevencie a monitorovania liečby týchto ochorení, ako aj riešenia problémov súvisiacich s hypolipidemickou terapiou.

Práca má za cieľ identifikovať farmakoterapeutické problémy u pacientov s dyslipidémiami a navrhnúť možnosti ich riešenia.

Na zistenie hladiny lipidov v krvi bola použitá metóda suchej biochémie – PoCT (Point-of-Care Testing). Pacienti zároveň vyplnili dotazník, v ktorom uviedli demografické údaje, zdravotný stav a užívané lieky. Na základe rozhovoru s pacientom a zistených údajov sme zaznamenali výskyt DRPs, klasifikovali sme ich pomocou PCNE (The Pharmaceutical Care Network Europe) klasifikácie V 6.2 a navrhli sme možnosti ich riešenia.

Z celkového počtu 54 pacientov (priemerný vek 67,5 rokov), ktorí absolvovali uvedené vyšetrenie v období 11/2011 až 3/2012, sme zaznamenali vyššiu než optimálnu hladinu celkového cholesterolu a/alebo triacylglycerolov v krvi u 34 (63,0 %) pacientov, pričom 26 (48,1 %) z nich nepodstupovalo v tom čase žiadnu hypolipidemickú terapiu a 8 (14,8 %) pacienti užívali hypolipidemiká. Identifikovali sme celkovo 38 DRPs. Najčastejším problémom bol v 26 (48,1 %) prípadoch výskyt neliečenej indikácie, v 8 (14,8 %) prípadoch nedostatočne účinná terapia a v 4 (7,4 %) prípadoch výskyt nežiaducich účinkov, konkrétne bolesti svalov. Konzultácia a edukácia – 38 (100 %) prípadov a odporúčenie návštevy lekára u 25 (46,3 %) prípadov boli najčastejšou intervenciou. Táto štúdia identifikovala najčastejšie farmakoterapeutické problémy a poukázala na možnosti farmaceuta pri ich riešení.

Tento projekt bol financovaný s podporou Grantu UK/37/2012.

PROTECTION OF HIGH-MOLAR-MASS HYALURONAN DEGRADATION BY BUCILLAMINE AND ITS DISULFIDE DERIVATIVE

¹ Baňasová M., ¹ Valachová K., ² Juránek I., ¹ Šoltés L.¹

*Laboratory of Bioorganic Chemistry of Drugs; ² Department of Biochemical Pharmacology
Institute of Experimental Pharmacology & Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava*

High-molar-mass hyaluronan (HA) is an essential component of extracellular matrix. It is quite susceptible to free-radical mediated degradation resulting in a variety of physiological and pathological consequences.

The aim of the present study was to test bucillamine, a disease-modifying anti-rheumatic drug, and its disulfide derivative, for their ability to protect high-molar-mass HA from its oxidative degradation *in vitro*.

We applied rotational viscometry (RV) to record time-dependent changes in dynamic viscosity of the HA solution. The decrease of HA dynamic viscosity basically reflected a decrease of HA molar mass and thus its fragmentation. The oxidative degradation of high-molar-mass HA was initiated by the Weissberger system comprising Cu(II) and ascorbate (1 μ M and 100 μ M, respectively). Free radical scavenging activity of the two compounds was primarily determined by ABTS and DPPH assays. Previously, we have shown that the stage I of the oxidative HA degradation was mediated predominantly by hydroxyl radicals, whereas the stage II by peroxy-type radicals.

In the present study, RV revealed a significant ability of bucillamine to protect high-molar-mass HA from its oxidative degradation in both the stage I and II. This implies that bucillamine may possess a certain scavenging activity towards hydroxyl- and peroxy-type radicals. On the contrary, disulfide derivative exerted no protective effect against the hydroxyl- and peroxy-type radicals mediated HA degradation. Values of IC₅₀ obtained from ABTS and DPPH assays revealed a high free radical scavenging activity of bucillamine while those of disulfide derivate were not detectable.

In conclusion, our results suggest that the *in vivo* beneficial effect of the disease-modifying anti-rheumatic drug bucillamine may partly occur due to its ability to protect the synovial joint high-molar-mass HA from the oxidative degradation, specifically due to its free radical scavenging ability

Supported by the VEGA grants 2/0011/11, 2/0149/12, APVV 0351-10.

BENZOTHAIAZOLEUREA ANALOGUES AS INHIBITORS OF ABAD- $A\beta$ INTERACTION IN ALZHEIMER'S DISEASE

¹ Benek O., ² Musilek K., ¹ Kuca K., ¹ Korabecny J., ¹ Spilovska K., ³ Gunn-Moore F.

¹Department of Toxicology, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Kralove, Czech Republic, ²Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic, ³Medical and Biological Sciences Building, School of Biology, University of St. Andrews, North Haugh, United Kingdom

Alzheimer's disease (AD) is the main cause of dementia in the elderly and is characterized by progressive cognitive and memory impairment. Despite the intense research on AD, there is not an effective treatment for this disease, because the pathogenic mechanisms underlying the early stages of the disease are not completely understood.

Although the aetiology of AD is still unknown, the build-up of amyloid β -peptide ($A\beta$) is considered to play a central role in the pathogenesis of the disease. It is well established that the intracellular accumulation of $A\beta$ is associated with AD and increasing evidence suggests that mitochondria may be an important target for intracellular $A\beta$ to exert its neurotoxic effects.

Amyloid-binding alcohol dehydrogenase (ABAD) is to date the most characterized $A\beta$ -binding intracellular protein. Direct interaction of this mitochondrial enzyme with $A\beta$ was confirmed by many different methods. $A\beta$ binding to ABAD triggers a series of events leading to mitochondrial dysfunction characteristic for AD. Thus this interaction may represent a novel target for treatment strategy against AD.

Series of benzothiazole urea analogues related to known immunosuppressant frentizole, will be synthesized and *in vitro* evaluated for its capability to inhibit interaction between ABAD and $A\beta$.

Acknowledgement: Authors appreciate the support of the Grant Agency of the Czech Republic (No. P303/11/1907) and the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (No. SV/FVZ201201).

PLEUROTUS OSTREATUS AND PLEURAN MAY POTENTIATE TOXIC AND PROOXIDANT EFFECTS OF CHROMIUM(VI) IN RATS

Bludovská M., Kotyzová D., Eybl V.

Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Medicine in Pilsen, Czech Republic

β -Glucans (polysaccharides that occur in the cell walls of mushrooms, some microorganisms or cereals) are used as nutritional supplements for their immunomodulatory effects and have been shown to enhance defence against infections, lower cholesterol and to have antitumor, anticoagulant, antioxidant and hepatoprotective properties.

The study was designed to evaluate the effects of mushroom *Pleurotus ostreatus* (p.o.) and pleuran (β -(1,3/1,6) glucan from P.o.) on the toxic and oxidative effects of Cr(VI) in rats.

Wistar albino male rats were divided into four groups: control, Cr, Cr + P.o and Cr + β -glucan. Finely powdered P.o. (500 mg/kg/day) and β -glucan (250 mg/kg/day) were administered in a form of suspension via gavage for 10 consecutive days. Cr ($K_2Cr_2O_7$, 40 mg/kg/day) was administered i.p. as a single dose on the eighth day of the experiment. 48 hours after the administration of Cr lipid peroxidation (LP), reduced glutathione (GSH) and activities of glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR) and Cr content were estimated in liver, kidney and brain homogenates, the activity of catalase (CAT) was measured in liver homogenates and ALT, AST and GLDH were determined in serum.

P.o. and β -glucan reversed some of the effects induced by Cr: GPx activity that was reduced by Cr in kidneys was restored by P.o. P.o. and β -glucan increased GSH in liver. The activity of liver GPx was increased by Cr; P.o. and β -glucan decreased it to control levels.

Importantly P.o. and β -glucan potentiated some effects of Cr: The combination of P.o. or β -glucan with Cr significantly decreased brain GSH compared to Cr group. Cr-induced increase of LP in liver was even further increased by P.o. or β -glucan (not significantly different from Cr group). P.o. and β -glucan significantly potentiated Cr-induced increase of activities of ALT, AST and GLDH (both in GLDH, glucan in ALT and AST) and both influenced distribution of Cr: increased its content in liver and P.o. also in kidneys.

The results demonstrate that *Pleurotus* and pleuran can potentiate some prooxidant and toxic effects of Cr and worsen acute hepatic injury induced by Cr administration.

This study was supported by the research grant MSM 0021620819 of the Ministry of Education of the Czech Republic

INHIBITION OF P-GLYCOPROTEIN EFFLUX ACTIVITY BY CYCLIN-DEPENDENT KINASE INHIBITORS

Cihalova D., Hofman J., Ceckova M., Staud F.

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

Inhibition of cyclin-dependent kinases (CDKs) has become a novel approach in cancer therapeutics and many of these compounds are undergoing preclinical and clinical trials. To date, it has not been clearly described, whether, and to what extent, CDK inhibiting drugs influence the function of membrane transport systems. P-glycoprotein (P-gp/ABCB1) is one of the best described drug efflux transporters playing an important role in pharmacokinetics and causing multidrug resistance of cancer cells.

The aim of this study was to investigate the effect of selected CDK inhibitors (purvalanol A, olomoucine II, roscovitine, flavopiridol and SNS-032) on the efflux activity of P-gp at various concentrations.

Accumulation and efflux studies were performed using stably transfected MDCKII-MDR1 cells expressing P-gp and parent MDCKII cell line as control. Transport of the fluorescent P-gp substrate, Hoechst 33342, in the presence or absence of potential and known inhibitors was examined and fluorescence intensities were recorded for 30 min. LY335979 (0.1 μ M), a specific P-gp inhibitor, was used as a positive control.

We observed that all CDK inhibitors tested significantly increased the intracellular accumulation of Hoechst 33342 in the MDCK-MDR1 cells reflecting an inhibitory effect on P-gp in all experiments. The inhibitory potency was highest in purvalanol A, reaching that of LY335979, followed by roscovitine > olomoucine II > flavopiridol > SNS-032.

We conclude that the inhibition of P-gp by the CDK inhibitors could favorably affect the pharmacokinetic behavior of ABCB1 substrates, including anticancer drugs, leading thereby to more effective anticancer therapy.

This work was supported by a grant 700912/C/2012 of the Grant Agency of Charles University in Prague and SVV 265 003.

OVPLYVŇUJE REZISTENCIA NÁDOROVÝCH BUNIEK FOTOCYTOSTATICKÝ ÚČINOK PROFLAVÍNŮVÝCH DERIVÁTOV?

Čížeková L., Grolmusová A., Vantová Z., Paulíková H.

Ústav biochémie, výživy a ochrany zdravia, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Bratislava

Proflavínové deriváty sú atraktívnou skupinou zlúčenín pre fotodynamickú terapiu (PDT). Problematické je aplikovanie PDT pri vzniku rezistencie na chemoterapeutikum.

Opakovaná liečba nádorových buniek ovariálneho karcinómu cisplatinou vedie k chemorezistencii. Rezistentná línia buniek A2780/CP má v porovnaní so senzitívnou 3-násobne vyššiu hladinu glutatiónu (GSH) a zmeny v expresii génov súvisiacich s inhibíciou apoptózy, odpoveďou na stres, homeostázou Ca^{2+} .

Cieľom nášho výskumu bolo porovnať fotocytostatický účinok proflavínových derivátov (1',1''-(akridín-3,6-diyl)-3',3''-dialkylditiomočovín – AkrDTM) na senzitívnu bunkovú líniu ľudského ovariálneho karcinómu A2780 a jej rezistentnú sublíniu A2780/CP, následne zvýšiť pôsobenie AkrDTM modulovaním hladiny GSH v bunkách.

Cytotoxické/cytostatické pôsobenie AkrDTM po ožiarení buniek ($1,05 \text{ J.cm}^{-2}$) bolo sledované MTT testom a farbením buniek trypanovou modrou. GSH bol určovaný HPLC metódou, na inhibíciu syntézy GSH sa použil L-butionín sulfoximín (BSO).

Fotocytostatický efekt propyl-AkrDTM bol na senzitívnu líniu vyšší, jeho IC_{50} pre A2780/CP bola v porovnaní s hodnotou IC_{50} pre senzitívnu líniu 20-krát vyššia. Po 6 h preinkubácii rezistentnej sublínie so $100 \mu\text{M}$ BSO (hladina GSH klesla o 90%) bol k bunkám pridaný $0,25 \mu\text{M}$ propyl-AkrDTM, po následnom ožiarení klesla viabilita buniek (72 h) na 26 % (v rovnakom pokuse bez BSO bola viabilita 67 %). Po znížení hladiny GSH je možné využiť AkrDTM ako fotosenzibilizátor aj pre rezistentnú sublíniu A2780/CP.

Táto práca bola podporovaná štrukturálnym projektom EÚ: 26240220071.

SÚ ZA ROZDIELY V LIEČEBNEJ ODPOVEDI NA GLUKOKORTIKOIDY U PACIENTOV S IDIOPATICKÝM NEFROTICKÝM SYNDRÓMOM ZODPOVEDNÉ POLYMORFIZMY GÉNU *MDR1*?

¹ Čižmáriková M., ² Podracká Ľ., ³ Klimčáková L., ¹ Mojžiš J., ¹ Mirossay L.

¹Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, UPJŠ Košice; ²1.Klinika detí a dorastu, Lekárska fakulta, UPJŠ Košice; ³Ústav lekárskej biológie, Lekárska fakulta, UPJŠ Košice

Gén *MDR1* kóduje P-glykoproteín (P-gp), ktorý je zodpovedný za eflux širokého spektra endogénnych a exogénnych zlúčenín. Z liečiv medzi jeho substráty zaraďujeme tiež glukokortikoidy (GK), ktoré sú používané pri mnohých zápalových ochoreniach. V literatúre sa popisuje súvis hladín a funkcie P-gp s niekoľkými jednonukleotidovými polymorfizmami (SNP) génu *MDR1*.

Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť vzťah troch SNP génu *MDR1* (C3435T, G2677T a C1236T) k liečebnej odpovedi na GK u pediatrických pacientov s idiopatickým nefrotickým syndrómom (INS) (32 pacientov s minimálnymi zmenami glomerulov (MCD) a 11 pacientov s fokálnou segmentálnou glomerulosklerózou (FSGS)).

Na genotypizáciu sa využívala metóda polymerázovej reťazovej reakcie s následnou analýzou polymorfizmov dĺžky reštrikčných fragmentov (PCR-RFLP). Podľa liečebnej odpovede na iniciálnu liečbu GK boli pacienti rozdelení na respondérov (kortikosenzitívni a kortikodependentní jedinci) a nonrespondérov (kortikorezistentní jedinci).

Podľa našich predbežných výsledkov nie sú jednotlivé polymorfizmy génu *MDR1* hlavným faktorom zodpovedným za zlyhanie iniciálnej liečby kortikoidmi u detí s INS. Pri porovnávaní alelových a genotypových distribúcií jednotlivých SNP medzi respondérmi a nonrespondérmi na GK sme ani v jednom prípade nezaznamenali signifikantný rozdiel ($p > 0,05$). Na interindividuálnych rozdieloch v LO sa nespoluoddeľovalo ani pohlavie pacientov. Signifikantné rozdiely v LO na GK však boli zaznamenané pri porovnávaní histologických typov INS, kedy zlyhanie liečby bolo signifikantne častejšie pozorované u pacientov s FSGS ($p=0,004$ (OR=18,67; 95% CI=3,44-101,30)).

Publikovaná práca vznikla za podpory grantu VEGA 1/0805/08, EEA Financial Mechanism and the Norwegian Financial Mechanism SK0017 a VVGS 5/10-11 a projektu SEPO II (ITMS 26220120039).

VZŤAH VYBRANÝCH JEDNONUKLEOTIDOVÝCH POLYMORFIZMOV K LIEČEBNEJ ODPOVEDI NA NEOADJUVANTNÚ LIEČBU KARCINÓMU PRSNÍKA

¹ Čižmáriková M., ² Wagnerová M., ³ Habalová V., ¹ Mirossay L., ¹ Mojžiš J.

¹Ústav farmakológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice; ²Východoslovenský onkologický ústav, Košice; ³Ústav lekárskej biológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice

Odpoveď ľudského organizmu na liečivo môžeme chápať ako fenotypický znak, ktorý je výsledkom vzájomného pôsobenia viacerých činiteľov. Výsledky nedávnych štúdií poukázali, že za významnú časť interindividuálnych rozdielov v liečebnej odpovedi (LO) na cytostatiká by mohli byť zodpovedné jednonukleotidové polymorfizmy (SNP) v génoch membránových transportérov, metabolizujúcich enzýmov i proteínov zodpovedných za opravy DNA.

Cieľom našej práce bolo hodnotenie troch potenciálnych farmakogenetických markerov vo vzťahu k neoadjuvantnej liečbe na báze antracyklínov a alkylačnej látky u pacientok s karcinómom prsníka. Išlo o stanovenie SNP v géne pre mnohopočetnú liekovú rezistenciu (*MDR1* C3435T), proteín X-žiarenie reparujúcej cross-komplementujúcej skupiny 1 (*XRCC1* Arg399Gln) a v géne pre glutatión S-transferázu P1 (*GSTP1* Ile105Val).

Genómová DNA bola získavaná izoláciou z periférnej venóznej krvi. Na genotypizáciu sa využívala metóda polymerázovej reťazovej reakcie s následnou analýzou polymorfizmov dĺžky reštrikčných fragmentov (PCR-RFLP). Liečebná odpoveď bola hodnotená klinickým onkológom na základe kritérii RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors).

Výsledky našej práce poukázali na možný vzťah polymorfizmu *MDR1* C3435T k interindividuálnym rozdielom v LO. Signifikantne vyšší výskyt kompletných a parciálnych odpovedí (RECIST) bol pozorovaný u nositeliek genotypu *MDR1* CC3435 [CC:TT: p=0,02; OR=28,60; 95%CI 1,12-732,1; CC:CT+TT: p=0,02; OR=16,70; 95%CI 0,85-327,6 (Fisherov exaktný test)]. Pri ďalších dvoch SNP sme signifikantný rozdiel v LO nezaznamenali.

Publikovaná práca vznikla za podpory grantu MZ SR 2005/46-VOUKE-01 a projektu SEPO II (ITMS 26220120039).

VPLYV ELLMANOVHO ČINIDLA NA AKTIVITU CHOLÍNESTERÁZ

Dingová D., Hrabovská A.

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Ellmanova kolorimetrická metóda patrí medzi najčastejšie využívané metódy na stanovovanie aktivity cholínesteráz. V klinickej praxi je preferovaná najmä pre jej jednoduchosť, rýchlosť či spoľahlivosť. V snahe o rozšírenie využitia tejto metódy, bolo navrhnutých niekoľko modifikácií, ktoré sa zameriavali najmä na minimalizáciu limitujúcich faktorov Ellmanovho činidla. V priebehu našich experimentov sme zaznamenali, že práve samotné Ellmanovo činidlo (DTNB) vykazuje inhibičný efekt na aktivitu cholínesteráz.

Na základe tohto objavu sme študovali inhibičný vplyv DTNB na aktivitu cholínesteráz a následne modifikovali Ellmanovu metódu s cieľom vyhnúť sa neželanej inhibícii.

Inhibičný vplyv DTNB (0 - 4 mmol/l) na ľudskú butyrylcholínesterázu a myšiacu acetylcholínesterázu sme vyhodnotili na základe fluorescencie (385nm excitačné, 485nm emisné) v prítomnosti substrátu indoxylacetát (1 mmol/l). Reakčná zmes v Ellmanovej metóde pozostávala z ľudskej butyrylcholínesterázy, DTNB (0,5 mmol/l), tlmivého roztoku HEPES (5 mmol/l) a substrátu jodid butyryltiocholínu (1 mmol/l). Na inhibíciu cholínesterázovej aktivity sme použili neostigmínom (300 μ mol/l).

Potvrdili sme inhibičný vplyv DTNB na aktivitu cholínesteráz. Zaznamenali sme 50% -nú inhibíciu aktivity pri bežne používanej koncentrácii činidla (0,5 mmol/l). V štandardne vykonanej Ellmanovej metóde, pri ktorej enzýmová hydrolýza prebieha v prítomnosti DTNB, je nameraná aktivita výrazne nižšia ako v prípade sledovania aktivity modifikovanou metódou, ktorej princíp spočíva v pridaní činidla až po zastavení reakcie. Nami navrhnutá modifikácia zvyšuje presnosť a spoľahlivosť Ellmanovej metódy pri meraní malých aktivít cholínesteráz, ako aj sledovanie aktivity cholínesteráz v biologických vzorkách.

Táto práca vznikla za podpory grantu APVV grant SK-CZ-0028-09 a SK-FR-0031-09, SK-FR-0048-11, VEGA 1/1139/12.

IMPORTANCE OF CARDIAC MYOSIN ISOFORMS IN HUMAN END-STAGE HEART FAILURE

¹Dóka G., ¹Křenek P., ¹Musil, P., ¹Klímas J., ²Gonçalvesová E., ¹Kyselovič J.

¹*Comenius University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology and Toxicology, Bratislava,* ²*The National Institute of Cardiovascular Diseases, Bratislava*

Heart failure syndrome is a serious health issue that affects 2-3% of population. Identification of responsible regulatory mechanisms which may contribute to development or progression of the disease is highly challenging with respect to developments of novel therapeutic strategies. Myosin is the molecular motor of contraction. In the heart, three distinct myosin heavy chain isoforms coexist in delicate balance. As has been recently shown, the shift from one myosin isoform to other may be one of key factors causing heart failure. In this study we aimed to analyze gene expression of myosin heavy chain isoforms in failing hearts.

We examined samples from left ventricles of 30 patients with end-stage heart failure indicated for heart transplantation. We used quantitative RT-PCR to measure mRNA levels of cardiac myosin heavy chain isoforms (MYH6, MYH7, MYH7B), related transcription factors (GATA4, SRF, NKX-2.5, YY1) and microRNAs (miR-1, -133a, -208a, -208b, -499, -29b), based on bioinformatic predictions and databases.

In adult human failing hearts, we found the slow-twitch myosin heavy chain MYH7 (~98%) to be the predominantly expressed isoform whereas fast-twitch MYH6 isoform constitutes just about 1% of all myosin isoforms. This excessive expression of MYH7 is regulated by several transcription factors and microRNA, which expression is also altered. Conclusively, dysregulated gene expression of myosin heavy chains resulting in MYH7 upregulation and MYH6 downregulation might be an adaptation in heart failure and interesting target for future pharmacotherapy.

Support: VEGA 1/0981/12, VEGA 1/0786/11, BIOMAKRO 2 - ITMS 26240120027, FaF UK/37/2012

ÚČINOK SYNTETICKÝCH DERIVÁTOV PRÍRODNÝCH POLYFENOLOV NA AKTIVITU ĽUDSKÝCH NEUTROFILOV

¹ Drábiková K., ¹ Perečko T., ¹ Nosál R., ² Harmatha J., ³ Šmidrkal J., ¹ Jančinová V.

¹Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava, SR, ²Ústav organickej chemie a biochemie AVČR, v.v.i., Praha 6, ČR, ³Ústav technológie mléka a tuků, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha 6, ČR

Regulácia aktivity neutrofilov predstavuje jeden z dôležitých faktorov v rozvoji resp. ukončení zápalovej reakcie. V súčasnosti sa venuje veľká pozornosť polyfenolickým látkam prírodného pôvodu, nakoľko mnohé z nich majú účinky, ktoré by sa dali využiť v prevencii a podpornej liečbe chronických zápalových ochorení.

Cieľom práce bolo otestovať účinok syntetických derivátov prírodných polyfenolov (resveratrol, pterostilbén, pinosylvín, N-feruloyl-serotonín) z hľadiska ich schopnosti ovplyvniť aktivitu neutrofilov.

V experimentoch sme používali izolované ľudské neutrofily stimulované PMA (phorbol myristate acetate), testované látky sme pridávali v koncentráciách 0,01-100 $\mu\text{mol/l}$. Ako parameter aktivity neutrofilov sme sledovali tvorbu reaktívnych foriem kyslíka (RFK) - luminometricky. Metódou elektroforézy, western blotu a imunodetekcie sme sledovali fosforyláciu jednotlivých izoformiem proteínkinázy C (PKC alfa a beta II), ktoré sa podieľajú na aktivácii NADPH-oxidázy a tvorbe RFK.

Inhibičný účinok na produkciu oxidantov v ľudských neutrofiloch sme pozorovali u všetkých testovaných látok, pričom pôsobili extracelulárne (poradie účinnosti podľa hodnôt IC_{50} : resveratrol > N-feruloylserotonín > pterostilbén > pinosylvín), ako aj intracelulárne (poradie účinnosti podľa hodnôt IC_{50} : pinosylvín > resveratrol > N-feruloylserotonín > pterostilbén). Ďalej sme zistili, že pinosylvín, resveratrol a N-feruloyl-serotonín znižovali fosforyláciu izoformiem PKC alfa a beta II.

Z výsledkov vyplýva, že resveratrol, pterostilbén, pinosylvín a N-feruloyl-serotonín sú účinnými inhibítormi aktivity neutrofilov. Predpokladáme, že u testovaných látok (s výnimkou pterostilbénu) súvisí schopnosť redukovať produkciu oxidantov v neutrofiloch s inhibíciou aktivity NADPH oxidázy, zásahom na úrovni aktivácie PKC.

Práca vznikla za podpory grantov: VEGA 2/0003/10, APVV-0052-10, APVV-0315-07

ANTIPROLIFERATÍVNY ÚČINOK SYNTETICKÝCH DERIVÁTOV CHALKÓNOV

¹ Drutovič D., ¹ Pilátová M., ¹ Chripková M., ² Perjési P., ³ Mikeš J., ¹ Mojžiš J.

¹ Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, ² Katedra farmaceutickej chémie, Lekárska fakulta, Univerzita v Pécsi, ³ Ústav biologických a ekologických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach

Prírodnými látkami sa v súčasnosti liečia mnohé ochorenia, vrátane rakoviny, keďže tieto látky majú preukázanú schopnosť inhibovať rast nádorových buniek a indukovať apoptózu. Využívajú sa aj v chemoprevencii.

Chalkóny sú prírodné látky patriace medzi polyfenolové zlúčeniny. Sú prekursorami v syntéze flavonoidov a esenciálnymi sekundárnymi metabolitmi v mnohých rastlinách. Chalkóny majú antiproliferatívne, protinádorové, protizápalové a antiangiogénne účinky. Vďaka ich biologickým účinkom a jednoduchšej syntéze sú potenciálnym zdrojom nových protinádorových liečiv, vhodné sú aj na použitie v chemoprevencii.

Cieľom práce bolo študovať antiproliferatívny účinok novosyntetizovaných derivátov chalkónov na nádorových bunkových líniach vhodnou skriningovou metódou a u najúčinnjších látok sledovať schopnosť indukovať apoptózu a ovplyvnenie bunkového cyklu.

Antiproliferatívny účinok testovaných derivátov sme sledovali pomocou kolorimetrického MTT testu, elektroforézou na agározovom géli sme analyzovali fragmentáciu DNA a prietokovou cytometriou zmeny bunkového cyklu buniek po inkubácii s testovanými látkami.

Najúčinnjšími testovanými derivátmi boli E-2-(4'-metoxybenzylidén)-1-benzosuberón s hodnotou IC_{50} 0,44 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (bunková línia Caco2) a 0,69 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (HCT-116) a E-2-(2',4'-dimetoxybenzylidén)-1-tetralón s hodnotami IC_{50} 5,03 (Caco2) a 3,44 (HCT-116). Po 24 hodinovej inkubácii oboch bunkových línií s týmito derivátmi bola pozorovaná viditeľná fragmentácia DNA. E-2-(4'-metoxybenzylidén)-1-benzosuberón spôsobil zastavenie bunkového cyklu, u bunkovej línie Caco2 pri koncentrácii 1 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ sme pozorovali výrazný nárast počtu buniek v G2/M fáze už po 24-hodinovej inkubácii.

Práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0325-07, VEGA grantom 1/0302/10, LABMED a SEPO (ITMS kód: 26220120024).

NOVEL MATHEMATICAL APPROACHES FOR CALCULATION OF IRON-CHELATOR COMPLEX STOICHIOMETRY BY THE USE OF DIRECT UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

¹Filipský T., ¹Říha M., ¹Mladěnka P., ²Macáková K., ¹Hrdina R.

*Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Czech Republic,
¹Department of Pharmacology and Toxicology, ²Department of Pharmaceutical Botany and Ecology*

Iron plays due to its redox properties an essential role in many biochemical processes in humans. However, its redox ability may be disadvantageous under certain pathophysiological circumstances and hence the concentration of free iron is almost negligible in physiological conditions. Various pathophysiological states disrupt the physiological pH and may lead to increased release of free iron from the cells. The low pHs markedly change the chelating properties of iron chelators. Especially, at lower stoichiometry, iron may not be tightly bound and may catalyse the Fenton reaction.

In our study, we evaluated a stoichiometry of several iron-chelating agents by the use of the direct UV-VIS spectrophotometry at different pathophysiological relevant pH conditions (4.5, 5.5, 6.8 and 7.5). Several mathematical approaches for calculation of the stoichiometry, including standard Job's method, were employed.

Considering the different approaches, the Job's method and methods comparing the measured absorbance with the theoretical absorption curves calculated by molar absorption coefficients were shown to be superior over the other methods based on the absorbance at the maximum absorption of the tested compound/complex or symmetric character of the absorption maximum. But in several cases, the Job's method, as well as the other analytical approaches, failed. Particularly, the absorption lines mimicking the absorption of the tested compound were more suitable for analysis of higher chelation stoichiometry (3:1) while the absorption lines mimicking absorption of the complex may assess both lower and higher chelation ratios (1:1, 2:1, 3:1).

Conclusively, different approaches should be employed in order to obtain the correct chelation ratio.

This study was supported by grants of the Charles University in Prague (SVV 265 003/2012 and 605712C).

UTILIZATION OF BIOACTIVE PLANT POLYSACCHARIDES IN THERAPY OF COUGH AND INFLUENCING AIRWAYS REACTIVITY

¹ Fleskova D., ¹ Nosalova G., ² Sinha S., ² Bandyopadhyay S.S., ² Ray B., ¹ Jurecek L.

¹Department of Pharmacology, Jessenius Faculty of Medicine, Martin

²Natural Products Laboratory, Department of Chemistry, The University of Burdwan, India

Antitussive drugs are amongst the most widely used medications worldwide; however no new class of drugs has been introduced into the market for many years. Natural compounds offer interesting pharmacological perspectives for antitussive drug development. Therefore, the subject of our interest became plant polysaccharides isolated from *Adhatoda vasica*, *Glycyrrhiza glabra* and *Withania somnifera*.

The experiments were carried out on the conscious male Trik guinea pigs weighing 200-350g. Conscious animals were individually placed in a double chambers bodyplethysmograph box for small laboratory animals consisting of head and body chambers. The plant substances were applied to guinea pigs perorally in the dose of 50 mg.kg⁻¹ b.w. The cough reflex was evoked by citric acid in a concentration 0,3M. The citric acid induced cough and specific airway resistance were registered without any agent application and after that in 30, 60, 120 and 300 min intervals.

The results of antitussive test showed that peroral administration of our observed polysaccharides significantly decreased cough reflex. The antitussive effect of all polysaccharides was the same or even quantitatively higher than that of codeine. The highest suppressive activity provided application of polymeric fraction from *Glycyrrhiza glabra*. All applied polysaccharides did not significantly change the values of specific airway resistance. We did not reported any signs of toxicity or adverse effects during the experiments.

Our results supported our previous findings that several naturally occurring polysaccharides possess antitussive activity. This study represents the first account *in vivo* antitussive activity of the water extracted polymeric fractions isolated of all polysaccharides that we selected.

Work supported by Grant LPP-0317-09 and Center of experimental and clinical respirology.

OVPLYVNENIE ALERGICKÉHO ZÁPALU DÝCHACÍCH CIEST LÁTKAMI ZO SKUPINY POLYFENOLOV

¹ Fraňová S., ¹ Jošková M., ¹ Pavelčíková D., ² Pecháňová O., ¹ Šutovská M.

¹Ústav farmakológie JLF UK v Martine, ²Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava

Experimentálne a klinické štúdie orientujúce sa na farmakoterapiu astmy neustále hľadajú nové zdroje látok, ktoré by sa vyznačovali bronchodilatačným a zároveň protizápalovým účinkom.

Cieľom experimentálnej štúdie bolo sledovanie účinnosti zmesi polyfenolických látok izolovaných z červeného vína (Provinol®) na obranné reflexy dýchacích ciest a na stupeň zápalu v podmienkach experimentálne vyvolanej alergickej astmy. Účinok Provinolu bol porovnávaný s klinicky používanými antiastmatikami. Zároveň bola sledovaná možnosť ovplyvnenia účinku budesonidu a teofylínu kombináciou s Provinolom.

Zmeny obranných reflexov dýchacích ciest boli vyšetrované u morčiat senzibilizovaných ovalbumínom a liečených Provinolom (20mg/kg, p.o.), budesonidom (1mM inhalačne), teofylínom (10 mg/kg p.o.) a ich kombináciou v polovičnej dávke, po 7, 14 a 21 dňoch. Kašľový reflex bol indukovaný inhaláciou 0,3 M kyseliny citrónovej. Reaktivita hladkej svaloviny dýchacích ciest bola sledovaná metódou in vitro na histamín. Zmena špecifického odporu dýchacích ciest (sRaW) bola vyšetrovaná po inhalácii histamínu (10^{-6} mol/l). Stupeň zápalu bol definovaný stanovením hladín zápalových cytokínov v bronchoalveolárnej laváži (BAL) a vyšetrením expresie NOS v pľúcnom homogenáte.

Výsledky experimentov preukázali, že podávanie Provinolu morčatám s alergickou astmou signifikantne znížilo: sRaW po inhalácii histamínu; amplitúdu kontrakcie tracheálnej hladkej svaloviny na histamín v podmienkach in vitro; parametre chemicky vyvolaného kašľa. Antitusický a bronchodilatačný účinok Provinolu bol porovnateľný s účinkom budesonidu a teofylínu. Navyše kombinácia Provinolu s uvedenými antiastmatikami v polovičnej dávke dosiahla signifikantnejší účinok. Protizápalový účinok Provinolu bol potvrdený znížením hladín IL-4, IL-5 v BAL a stimuláciou cNOS.

Zároveň možno konštatovať, že polyfenolické látky predstavujú nové zdroje liečiv, ktoré by sa mohli uplatniť v liečbe alergickej astmy.

Práca vznikla za podpory Centra experimentálnej a klinickej respirológie II., financovaného zo zdrojov EU a grantu VEGA 1//0020/11.

NEURODEGENERATION INDUCED BY TRIMETHYLTIN IN MALE WISTAR RAT HIPPOCAMPUS: ELECTROPHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS

¹ Gasparova Z., ^{2,3} Janega P., ¹ Stara V., ¹ Ujhazy E.

¹*Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences,*

²*Department of Pathology, Faculty of Medicine, Comenius University,* ³*Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences - Bratislava, Slovakia*

Trimethyltin (TMT) is a potent neurotoxicant. Current interest in TMT relates to the opportunity to use it as important research aid for the study of brain function. TMT elicits neuronal death in both human and animal limbic system and causes severe damage particularly in hippocampus. It has been found useful as an experimental model in the study of Alzheimer-like diseases.

By reason of recently found species-specific and strain-specific differences in TMT intoxication, the aim of this work was to characterize the TMT model during early (1-3rd day) and late (22-24th day) stage of neurodegeneration in the rat hippocampus of the Wistar strain. One single dose of TMT (7 mg/kg; *i.p.*) was administered to rats. Neuronal transmission and long-term potentiation (LTP), induced by a single train (100 Hz, 1s), were measured extracellularly in hippocampal slices. Morphometrical and immuno-histochemical parameters were determined in stained hippocampal sections.

Reduced basal neurotransmission at the CA1-CA3 synapse coincidences with the finding of the reduced neuronal cell number and reduced width of the CA1 pyramidal cell layer at the late stage of TMT intoxication. The LTP magnitude of excitatory postsynaptic potential recorded in the *striatum radiatum* did not differ comparing to control rats obtaining saline. The activation of the pro-apoptotic caspase-3 during the late stage of TMT action suggests involvement of apoptosis in neuronal cell death.

In summary, TMT-induced neuronal impairment was characterized by functional, morphometrical and immuno-histochemical parameters, which may serve as appropriate indicators of neurodegeneration in this model at the Wistar rat hippocampus, and might be utilize in further study of the mechanism of action of new prospective neuroprotective compounds intent on treatment of Alzheimer-like diseases. Induction as well as maintenance of LTP recorded 1 h after train stimulation was not impaired due to the dose of TMT tested at the CA3-CA1 synapse in the Wistar rat hippocampus.

The study was supported by grants VEGA 2/0048/11 and VEGA 2/0081/11.

SYNTÉZA A ACETYLCHOLÍNESTERÁZOVÁ INHIBIČNÁ AKTIVITA NOVÝCH DERIVÁTOV TAKRINU A TAKRIN-KUMARÍNOVÝCH HETERODIMÉROV

¹ Hamuľáková S., ¹ Janovec L., ² Hrabínová M., ¹ Kristian P., ¹ Špilovská K., ^{2,3} Kuča K., ¹ Imrich J.

¹ Ústav chemických vied, Katedra organickej chémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity P. J. Šafárika, 04167 Košice, SR, ² Centrum pre pokročilé štúdiá, Fakulta vojenského zdravotníctva Univerzity obrany, 500 01 Hradec Králové, ČR, ³ Centrum pre biomedicínsky výskum, Fakultná nemocnica, 500 01 Hradec Králové, ČR

Alzheimerova choroba (AD) je progresívne, chronické, neurodegeneratívne ochorenie mozgu charakterizované stratou pamäte a kognitívnych funkcií. Typickými neuropatologickými zmenami v mozgu je prítomnosť senilných amyloidných β -peptidov (A β) plakov, neurofibrilárnych spletenčov (NFT), strata synapsí, degenerácia a zánik neurónov.

V našej práci sme sa zamerali na syntézu nových derivátov takrinu a takrin-kumarínových heterodimérov ako potenciálnych inhibítorov cholinesteráz. Na stanovenie terapeutického potenciálu tejto novej série ligandov pre liečbu AD, bola stanovená ich inhibičná účinnosť voči acetylcholinesteráze (AChE) a butyrylcholinesteráze (BuChE) Elmanovou metódou, použitím takrinu (9-amino-1,2,3,4-tetrahydroakridín) a 7-MEOTY (7-hydroxy-9-amino-1,2,3,4-tetrahydroakridín) ako štandardných látok. Z hodnôt IC_{50} bol stanovený index selektivity (SI) pre AChE, ktorý je definovaný ako pomer $IC_{50}(BuChE)/IC_{50}(AChE)$.

Novopripravené deriváty vykazovali anti-AChE a anti-BuChE aktivitu s hodnotami IC_{50} v μ M koncentráciách. Takrin-kumarínový derivát s najvyššou inhibičnou účinnosťou voči AChE ($IC_{50} = 0.0154 \mu$ M) vykazoval 32× vyššiu účinnosť ako takrin a 974× vyššiu účinnosť ako 7-MEOTA.

Táto práca vznikla za podpory grantovej agentúry VEGA (1/0672/11 a 1/0179/11), štátneho programu NMR (grant č. 2003SP200280203) a Českej grantovej agentúry, grant P303/11/1907.

SUBSTRATE AFFINITY OF OLOMOUCINE II AND PURVALANOL A FOR ABCG2 AND ABCB1 TRANSPORTERS *IN VITRO* AND *IN SITU*

¹ Hofman J., ¹ Cihalova D., ² Kucera R., ² Klimes J., ¹ Ceckova M., ¹ Staud F.

¹Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Pharmacology and Toxicology, Hradec Kralove, Czech Republic, ²Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Hradec Kralove, Czech Republic

Inhibition of cyclin-dependent kinases by specific small molecules, purine cyclin-dependent kinase inhibitors (CDKi), has become a promising strategy for cancer treatment. While pharmacodynamic properties of purine CDKi are well understood, their pharmacokinetic behavior, especially interactions with ABC transporters, have not been addressed in detail. Breast cancer resistance protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1) are drug efflux transporters that pump lipophilic substrates out of the cells and thereby play an important role in drug disposition, drug-drug interactions and multidrug resistance. Recently, we have reported the inhibitory effect of two purine CDKi olomoucine II and purvalanol A on the efflux activity of ABCG2 transporter. In our current study we investigated ABCG2 and ABCB1 substrate properties of olomoucine II and purvalanol A using *in vitro* and *in situ* methods.

Using *in vitro* transport studies across cell monolayer of MDCKII cell lines transduced with human ABCG2 or ABCB1, we demonstrated that olomoucine II is a low-affinity substrate of ABCG2 and high-affinity substrate of ABCB1. Purvalanol A was shown to be very low-affinity substrate for both transporters. Furthermore, we employed dual perfusions of the rat term placenta to confirm our *in vitro* results at organ level. Similarly to *in vitro* experiments, we demonstrated olomoucine II to be a low-affinity substrate of Abcg2 and high-affinity substrate of Abcb1. Purvalanol A was found to be actively transported through the placental barrier but neither Abcg2 nor Abcb1 play significant roles in its transport and its transporter specificity remains to be elucidated. All interactions described above should be kept in mind when introducing these prospective compounds into the clinical area since they might give rise to drug-drug interactions.

This work was supported by grants GAUK 700912/C/2012 and SVV 265 003.

POROVNÁNÍ ÚČINNOSTI LOKÁLNÍCH HEMOSTATIK NA MODELU PARCIÁLNÍ NEFREKTOMIE LABORATORNÍHO POTKANA

¹Chalupová M., ¹Pražanová G., ¹Kollár P., ²Sopuch T., ¹Suchý P.

¹Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ²Holzbecher spol. s.r.o. Zlích

Nové chirurgické techniky vyžadují rychlou a účinnou hemostázu, jíž nelze vždy dosáhnout fyzikálními metodami, proto jsou používána lokální hemostatika, která napomáhají zástavě krvácení, a tím tak zlepšují regeneraci poškozené tkáně. Pro své vlastnosti však nemají vždy univerzální použití, a jsou tedy vyvíjeny nové deriváty, které je nutno před zavedením do klinické praxe otestovat na animálních modelech.

Ke srovnání byly použity tři nové formy modifikované celulózy, komerčně označené jako Hcel (pH 4,6), Hcel NaT (neutrální) a Hcel ZnT (1 % Zn) (Holzbecher spol. s.r.o. Zlích). Do experimentu bylo zařazeno 30 laboratorních potkanů kmene Wistar. Zvířata byla rozdělena do 3 skupin po 10 kusech, byla provedena parciální nefrektomie kaudálního pólu levé ledviny (cca 10 % objemu) a přímo na krvácející ránu aplikována testovaná hemostatika. Byl sledován čas do úplné hemostázy (s) a množství spotřebovaného hemostatika (cm²). Po 72 hodinách od provedení zákroku byla polovina experimentálních zvířat utracena, druhá polovina pak po 30 dnech od zahájení pokusu. Při následné nekropsii byl aspekci hodnocen stav dutiny břišní a byl proveden odběr levé ledviny pro patohistologická vyšetření. Histopatologické změny renální tkáně byly hodnoceny semikvantitativně, na stupnici od 0 (žádné změny) do 5 (maximum změn). Celkové poškození udávalo destruction score.

Čas do zástavy krvácení byl u Hcel 64 ± 26,9 s, u Hcel NaT 47 ± 16,3 s a u Hcel ZnT 49 ± 16,4 s, spotřeba hemostatika pak byla u Hcel 13,6 ± 3,67 cm², u Hcel NaT 5,6 ± 1,69 cm² a u Hcel ZnT 6,9 ± 6,43 cm².

Hemostatická účinnost látek Hcel a Hcel NaT byla srovnatelná, u látky Hcel ZnT byly zaznamenány horší výsledky, a to zejména v parametru spotřeby látky, která byla statisticky vysoce signifikantně vyšší oproti ostatním látkám. Stupeň poškození renální tkáně na základě destruction score se u všech testovaných látek pohyboval ve třetině zvoleného rozmezí. U žádné z testovaných látek nelze na základě provedeného experimentu po 30 dnech předpokládat významnou biodegradaci.

Projekt byl podpořen grantem TA ČR č. TA01010244.

SYNTETICKÉ DERIVÁTY BRASINÍNU A ICH ANTIPROLIFERATÍVNY ÚČINOK

¹ Chripková M., ¹ Pilátová M., ¹ Drutovič D., ² Kutschy P., ¹ Mirossay L., ¹ Mojžiš J.

¹ Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach

² Katedra organickej chémie Prírodovedeckej fakulty Univerzity P. J. Šafárika, Košice

Napriek veľkým pokrokom v diagnostikovaní a liečbe zhubných nádorov, stále neexistuje optimálny spôsob terapie týchto ochorení. Pri výskume protinádorových liečiv je v súčasnosti značná pozornosť venovaná prírodným látkam, ktoré by mohli mať potenciálne chemopreventívne a chemoterapeutické účinky.

Indolové fytoalexíny, ktoré majú významnú úlohu pri obrane kapustovitých rastlín pred vonkajšími fytopatogénnymi vplyvmi, vykazujú antimikrobiálne, antifungálne a antiproliferatívne účinky. Brasinín patrí medzi najvýznamnejšie a prvé izolované indolové fytoalexíny.

Cieľom práce bolo zistiť možný antiproliferatívny účinok testovaných derivátov brasinínu na nádorových bunkových líniách a zaoberať sa štúdiom potenciálneho mechanizmu účinku najúčinnnejšej látky.

Pomocou kolorimetrického MTT testu sme stanovili antiproliferatívny efekt študovaných látok, na zistenie potenciálneho mechanizmu účinku najefektívnejšej látky sme analyzovali fragmentáciu DNA pomocou gélovej elektroforézy a sledovali zmeny expresie proteínov, ktoré sú kľúčovými komponentmi mitotického vretienka, pomocou real-time qRT-PCR.

Spomedzi testovaných derivátov brasinínu vykazoval najvyššiu antiproliferatívnu aktivitu 1-metoxybrasinín na nádorových bunkových líniách Caco-2 (IC_{50} 5,1 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) a HepG2 (IC_{50} 5,5 $\mu\text{mol.l}^{-1}$). Po 24 h inkubácii nádorových buniek s 1-metoxybrasinínom došlo k viditeľnej fragmentácii DNA a zníženej expresii α - a α_1 -tubulínov, β_5 -tubulínu a MTRP.

Práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0325-07, VEGA grantom 1/0302/10; 1/0304/10 SEPO II (ITMS kód: 26220120039) a SEPO (ITMS kód: 26220120024).

ANTIPROLIFERATIVE EFFECT OF NEWLY SYNTHESIZED CYCLIC CHALCONE ANALOGUE KRP6: AN *IN VITRO* STUDY IN HUVECS

¹ Ivanova L., ¹ Varinska ., ¹ Pilatova M., ^{2,3,4} Gal P., ⁵ Solar P., ⁶ Perjesi P., ⁷ Smetana K. Jr.,
¹ Mojzis J.

¹Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, P.J. Safarik University, Kosice, Slovak Republic, ²Institute of Histology and Embryology, ^{1st} Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, ³Department for Biomedical Research, East-Slovak Institute of Cardiovascular Diseases, Kosice, Slovak Republic, ⁴Department of Pathological Anatomy, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic, ⁵Institute of Biology and Ecology, Faculty of Science, P.J. Safarik University, Kosice, Slovak Republic, ⁶Institute of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Medicine, University of Pecs, Pecs, Hungary, ⁷Institute of Anatomy, ^{1st} Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Chalcones are naturally occurring compounds acting as intermediates in the biosynthesis of flavonoids, which are of high interest due to their wide range of biological activities.

In this *in vitro* study, we investigated the antiproliferative properties of newly-synthesized chemical analogues of naturally occurring chalcones.

Among 14 tested compounds, chalcone KRP6 exhibited the most potent activity with IC₅₀ 19 µM in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). Moreover, HUVECs exhibited divergent, even opposing concentration-dependent responses to KRP6. KRP6 stimulated proliferation activity of HUVECs including extracellular matrix (ECM) formation (fibronectin and collagen IV) at low concentrations (1-10 µM). In contrast, KRP6 was the most potent inhibitor of cell proliferation and ECM formation at higher concentration (20-50 µM). KRP6 was able to modulate vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase ERK1/2, suggesting a role of this pathway in cell proliferation.

Accordingly, further *in vitro* research should be performed to elucidate the detailed mechanism of action.

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-0325-07, SEPO II (ITMS 26220120039) and VVGS 31/10-11.

FARMAKOLOGICKÁ INHIBÍCIA PROZÁPALOVEJ AKTIVITY NEUTROFILOV

¹ Jančinová V., ¹ Drábiková K., ¹ Perečko T., ¹ Nosál' R., ² Svitekova K.

¹Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava, ²Národná transfúzna služba SR, Bratislava

Neutrofily (neutrofilné polymorfonukleárne leukocyty) sú nielen dôležitými bunkami imunitného systému, ale aj aktívnymi účastníkmi pri vzniku a rozvoji viacerých patologických stavov ako artritída, nádorové ochorenia alebo alergie. Tieto stavy sú spojené s pretrvávajúcou nadmernou aktiváciou a oneskorenou apoptózou neutrofilov, ktoré vedú k poškodeniu tkanív a bránia resolúcii – prirodzenému ukončeniu zápalu. Farmakologický zásah zameraný na elimináciu zápalovej reakcie spôsobenej neutrofilmi by mohol významne potencovať účinnosť a redukovať nežiaduce účinky terapie chronických zápalových ochorení.

Cieľom tejto práce bolo analyzovať prírodné polyfenoly piceatannol a kurkumín z hľadiska ich schopnosti inhibovať aktivitu a urýchľovať spontánnu apoptózu ľudských neutrofilov.

Aktivitu neutrofilov sme sledovali na základe produkcie reaktívnych foriem kyslíka chemiluminiscenčnou metódou; podiel neutrofilov v štádiu skorej a neskorej apoptózy sme stanovili prietokovou cytometriou, na základe externalizácie fosfatidylserínu a interkalácie propídium jodidu.

Piceatannol a kurkumín (0,1 – 10 $\mu\text{mol/l}$) znižovali množstvo oxidantov produkovaných neutrofilmi tak do extracelulárneho prostredia, ako aj intracelulárne, pričom oxidanty uvoľnené z neutrofilov (t.j. potenciálne nebezpečné pre okolité tkanivá) boli znížené výraznejšie. Podiel apoptických neutrofilov vzrástol v prítomnosti kurkumínu (10 a 100 $\mu\text{mol/l}$) z kontrolných 12% na 26% a 36%; piceatannol pôsobil v koncentrácii 100 $\mu\text{mol/l}$ a vyvolal apoptózu u 30% buniek.

Výsledky naznačujú, že piceatannol a kurkumín sú schopné, okrem inhibície procesov vzniku a rozvoja zápalu, aj podporovať ukončenie zápalovej reakcie a to prostredníctvom zníženej aktivity a zvýšenej apoptózy neutrofilov.

Podporené projektmi APVV- 0052-10, APVV-0315-07 a VEGA 2/0003/10.

VÄZBOVÉ VLASTNOSTI PYRIDÍNOVÝCH OXÍMOV S DNA A ICH TOPOIZOMERÁZOVÁ INHIBÍCIA

¹ Janočková J., ¹ Plšíková J., ¹ Guľašová Z., ² Musilek K., ³ Kuča K., ¹ Kožurková M.

¹Katedra biochémie, Ústav chemických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita P. J.

Šafárika, Košice, ²Katedra chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Hradec Králové

³Centrum pokročilých štúdií, Fakulta vojenského zdravotníctva, Univerzita obrany, Hradec Králové

Oximové deriváty majú rôzne uplatnenie vo farmaceutickom priemysle. Zaraďujeme k nim deriváty pyridínových a cholínových oxímov, ktoré vystupujú ako látky s vysokým pozitívnym účinkom na kardiovaskulárny systém. Sú charakterizované aj protizápalovou, antivirálnou a bakteriocídnou aktivitou. Ich uplatnenie je aj v poľnohospodárstve, kde sa používajú ako herbicídy, pesticídy a fungicídy.

Táto práca sa zaoberá štúdiom väzbových vlastností novosyntetizovaných derivátov pyridínových oxímov s DNA (1-5). Nukleové kyseliny vystupujú často ako cieľové miesta pre rôzne liečivá. Štruktúra týchto oxímových derivátov umožňuje ich viazanie do molekuly DNA. Liečivo s DNA interaguje buď interkalačne alebo sa viaže do žliabku DNA. Proces interkalácie sa často spája s topoizomerázovou inhibíciou. Topoizomerázy sa podieľajú na tvorbe superhelixov molekúl DNA, regulujú konformačné zmeny v topológii DNA a zohrávajú dôležitú úlohu pri procesoch replikácie a transkripcie DNA. Liečivá dokážu s topoizomerázami buď priamo interagovať a cielene ich inhibovať alebo s nimi vytvárajú prechodné ternárne komplexy, ktoré bránia spätnej religácii.

Väzbové vlastnosti derivátov pyridínových oxímov boli študované použitím spektrálnych (UV-Vis, fluorescenčná spektroskopia, kruhový dichroizmus) a elektroforetických metód. Z UV-Vis titrácií boli vypočítané väzbové konštanty komplexov ligandov s DNA ($K = 3,5 \cdot 10^4 - 2,9 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$). Metódou kruhového dichroizmu bol stanovený typ spôsobu viazania sa látok do molekuly DNA. Elektroforetickou metódou sme sledovali vplyv derivátov pyridínových oxímov na topoizomerázovú aktivitu.

Táto práca bola podporovaná grantami VVGS 40/12-13, VVGS-PF-2012-16.

KARDIOPROTEKTIVNÍ ÚČINEK DEXRAZOXANU NA EXPERIMENTÁLNÍM MODELU CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY – VÝZNAM SCHÉMATU PODÁNÍ

¹Jirkovský E., ¹Popelová O., ¹Hroch M., ²Adamcová M., ¹Mičuda S., ¹Geršl V., ¹Štěrbá M.

¹Ústav farmakologie a ²Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, UK v Praze

Nejzávažnější limitací použití antracyklinů (ANT) v terapii malignit je riziko rozvoje chronické ANT kardiotoxicity. Dexrazoxan (DEX) je jediným kardioprotektivem schváleným před ANT kardiotoxicitou v klinické praxi. V současnosti je ovšem doporučeno podávat DEX pouze pacientům, u kterých je překročena kumulativní dávka ANT 300 mg/m².

V této studii jsme se proto zaměřili na porovnání kardioprotektivního účinku DEX na zavedeném modelu ANT kardiotoxicity u králíka při jeho podání spolu s každou dávkou ANT, nebo až od doporučené kumulativní dávky ANT.

Chronická ANT kardiotoxicita byla navozena podáváním daunorubicinu u králíka (DAU, 3 mg/kg týdně, *i.v.*, po 10 týdnů). DEX (60 mg/kg, 30 min před DAU) byl podáván od 1. dávky DAU (DD₁) nebo od 7. dávky (DAU ~300 mg/m², DD₇). Týden po poslední dávce DAU byla část zvířat ukončena a zbylá část sledována dalších 11 týdnů („*follow up*“ – FU).

Podávání DAU vedlo k 20% mortalitě v průběhu podávání a během FU muselo být až 80 % zvířat předčasně ukončeno dle protokolu studie. Všechna zvířata dostávající DEX v kombinaci s DAU přežila do konce experimentu. Podání DEX od první dávky DAU také kompletně zabránilo signifikantnímu poklesu systolické srdeční funkce levé komory (LK), a to i v období FU. Ve skupině DD₇ byl však zaznamenán signifikantní pokles systolické srdeční funkce a nárůst srdečního troponinu T v plazmě. Podávání DEX nevedlo k významnému snížení hodnot markeru lipoperoxidace v LK na konci podávání DAU, nicméně významný rozdíl byl zjištěn ve FU u skupiny DD₁. Studovaná schémata podávání DEX spolu s DAU se také významně lišila v protekci před DAU navozenými změnami exprese MnSOD, HO-1, mtCK a markerů morfologických změn (desmin, kolagen I a III) v myokardu LK.

Pozorované změny naznačují, že ačkoli podávání DEX od doporučené kumulativní dávky DAU 300 mg/m² je schopno poskytnout významný kardioprotektivní účinek, úspěšnost této kardioprotektivní intervence je však významně nižší než při podávání DEX od první dávky DAU.

Práce byla podpořena granty GAČR 305/09/0416, SVV-2012-264901 a UNCE 33/2012.

ANALÝZA FREKVENCIE KMITANIA CÍLIÍ RESPIRAČNÉHO TRAKTU V EXPERIMENTÁLNYCH PODMIENKACH

¹ Jošková M., ¹ Sadloňová V., ² Koniar D., ² Hargaš L., ² Štofan S., ² Hrianka M., ¹ Fraňová S.

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, ²Katedra mechatroniky a elektroniky, Žilinská univerzita, Žilina

Mukociliárny transport, ktorý patrí k obranným mechanizmom dýchacích ciest, sa mení v priebehu respiračných ochorení. Môže ísť o abnormality týkajúce sa nielen tvorby a sekrécie hlienu, ale aj o poškodenie funkcie cílií, ktoré uľahčujú odstraňovanie hlienu z dýchacích ciest.

Cieľom experimentálnej štúdie bolo zistiť rozdiely medzi kinematikou cílií respiračného traktu u zdravých morčiat (kontrola) a morčiat s alergickým zápalom dýchacích ciest a pokúsiť sa o farmakologickú moduláciu frekvencie kmitania cílií antitusickou terapiou (kodeín) v skupine zdravých zvierat, ako aj polyfenolmi (Provinol) v skupine alergénom senzibilizovaných morčiat.

Experiment bol realizovaný v *in vitro* podmienkach „brushingovou“ metodikou. Zo získaného epitelu trachey morčiat bol pripravený mikroskopický preparát. Svetelný mikroskop napojený na Basler 504KC kameru bol použitý na zaznamenanie 10 sekundových videosekvencií funkčných cílií. Pomocou počítačového softvéru Ciliary analysis bola analyzovaná frekvencia kmitania cílií (Hz).

V patologických podmienkach alergického zápalu dýchacích ciest došlo k signifikantnému zvýšeniu frekvencie kmitania riasiniek oproti kontrole. Polyfenoly redukovali pohyb cílií v porovnaní so senzibilizovanou skupinou. Kodeín nesignifikantne zvýšil kinematiku cílií v porovnaní s kontrolou.

Patologické zvýšenie frekvencie kmitania cílií v experimentálnych podmienkach alergickej astmy bolo čiastočne normalizované podávaním polyfenolov Provinolu. Útlm pohybu riasiniek nebol pozorovaný po podaní kodeínu.

Práca bola podporená nasledovnými projektami: „Dobudovanie centra experimentálnej a klinickej respirológie II“, „Meranie kinetiky cílií respiračného traktu“ a „Podpora rozvoja ľudských zdrojov s využitím najmodernejších postupov a foriem vzdelávania na JLF UK v Martine“ podporené EU a ESF.

BIOLOGICKÉ PARADOXY VOĽNO-RADIKÁLOVÝCH PROCESOV: JE MOŽNÉ OVPLYVNIŤ OXIDAČNÝ STRES EXOGÉNNYMI ANTIOXIDANTAMI?

Juránek I.

Department of Biochemical Pharmacology, Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

Problematika voľných kyslíkových radikálov je mimoriadne atraktívnou témou súčasnej biomedicíny. Údaje o možnej účasti reaktívnych foriem kyslíka (RFK) nielen v obranných, ale aj v patologických procesoch v ľudskom, zvieracom aj rastlinnom organizme vyvolávajú diskusie o ich úlohe v etiológii a patogenéze rôznych ochorení. Akú skutočnú úlohu zohrávajú RFK v poškodení tkanív, či sú príčinou početných, často diametrálne odlišných ochorení, alebo je ich tvorba iba prejavom pochodov typických pre bunkové a tkanivové poškodenia, sú doteraz nevyjasnené otázky. Podľa klasickej predstavy zohrávajú RFK významnú úlohu v etio-patogenéze tzv. *voľnoradikálových ochorení*. Od polovice 70. rokov minulého storočia rastie počet publikácií naznačujúcich, že peroxidácia lipidov, oxidácia proteínov a nukleových kyselín *in vivo*, môžu byť zodpovedné za poškodenie tkanív. Avšak látky s antioxidačnými účinkami, ktoré efektívne ochraňujú tieto makromolekuly pred oxidatívnou degradáciou *in vitro*, často zlyhávajú v podmienkach *in vivo*, tj. pri prevencii a liečbe *voľnoradikálových ochorení*. A to aj v prípadoch, keď sa primárne predpokladala kauzálna úloha RFK. Na druhej strane, od konca 90. rokov významne narastá počet publikácií poukazujúcich na dôležitú fyziologickú úlohu RFK. Na rozdiel od klasickej voľnoradikálovej teórie, ktorá považuje zvýšenú tvorbu RFK počas poškodení tkanív za dôkaz kauzálnej úlohy RFK v týchto poškodeniach, táto práca prezentuje hypotézu, že podobne ako iné tkanivové mediátory môžu RFK zohrávať dôležitú úlohu vo vnútrobunkovej a medzibunkovej signálizácii. Tento nový koncept je však v zjavnom nesúlade s klasickou predstavou o RFK ako poškodzujúcich agens považovaných za príčinu *voľnoradikálových ochorení*; RFK by mohli zohrávať dôležitú úlohu nie v procese poškodenia ale hojenia. Skutočne, v mnoha prípadoch nemusia byť RFK príčinou poškodení, ale sa generujú *sekundárne*, tj. ako dôsledok týchto poškodení. Signálnu úlohu RFK môžeme považovať primárne za fyziologickú, nakoľko slúži k udržaniu bunkovej homeostázy, avšak v situáciach, keď dochádza k zlyhaniu mechanizmov autoregulácie, môžu RFK zohrávať negatívnu úlohu, tj. zhoršovať poškodenie.

Supported in part by the VEGA (2/0048/11 and 2/0149/12).

REMOVAL OF LIPOPOLYSACCHARIDE AND OTHER BACTERIAL CONTAMINANTS FROM SAMPLES OF PHARMACOLOGICAL INTEREST

Kmoníčková E., Zídek Z.

Institute of Experimental Medicine, Department of Pharmacology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague 4, Czech Republic

Bacteria and/or their products may be a significant source of impurities of test samples. The best recognized of the complex molecules of Gram-negative bacteria is lipopolysaccharide (LPS). The major biologically active molecules of Gram-positive bacteria are peptidoglycans (PGN) and lipoteichoic acid (LTA).

While the control of LPS contamination is usually respected in pharmacological and immunological experiments, possible consequences of contamination with products of Gram-positive bacteria are only scarcely taken in account in interpreting the experimental data. All of them activate distinct receptor systems and signaling pathways determining their pleiotropic biological properties. Evaluation of pharmacological and toxicological experiments may thus be seriously biased if the presence of bacterial contaminants is not ruled out.

A commonly used method to eliminate effects of LPS is its neutralization by polymyxin B (PMX). The aim of our experiments was to establish a universal method removing not only LPS but also PGN and LTA. For this purpose, the Amicon® Ultra 0.5 mL centrifugal devices with the 3 kDa to 100 kDa cutoff filter membranes were used. The decontamination efficacy was monitored by the kinetic chromogenic Limulus amoebocyte lysate (LAL) and functional *in vitro* nitric oxide (NO) assays. Concentration of nitrite in supernatants of rat peritoneal cells (2×10^6 /mL) was determined by Griess reagent at the interval of 24 h of culture. If required, the samples were incubated with PMX at RT for 2 h, the concentration ratio of PMX:bacterial products being 10,000:1.

Our results prove that all LPS, PGN and LTA are potent activators of the high output NO production. Besides, all of them are positive in the LAL assay. PMX completely abrogates both the LAL and NO responses of LPS. In sharp contrast, neither the NO production nor the positive LAL response of PGN and LTA can be suppressed by the PMX treatment. We have found that the centrifugal microfiltration completely removes even high amounts of all LPS, LTA and PGN. It has been proved by the negative LAL response of the samples and by their failure to stimulate NO production. The 100 kDa cutoff filters are fully effective.

In summary, the centrifugal cutoff microfiltration may be suggested a highly advantageous alternative to the hitherto broadly used PMX method, which is selective for LPS solely.

Acknowledgements. The research was supported by grant no. CZ:GA ČR:303/12/0535 from the Grant Agency of the Czech Republic.

INVOLVMENT OF POTASSIUM ION CHANNELS IN ALLERGIC AIRWAYS INFLAMMATION IN GUINEA PIGS

¹Kocmálová M., ²Marcinek J., ²Kalman M., ¹Fraňová S., ¹Šutovská M.

¹*Department of Pharmacology, JLF UK, Martin, ²Institute of Pathological Anatomy, JLF UK, Martin*

Ion channels have been the centre of many studies aiming to understand asthma pathophysiological mechanisms to indentify therapeutic target for better control of the disease. Ion channels regulate many key functions of the cells implicated in asthma pathophysiology. It is generally accepted that potassium ion channel activation prevents the development of action potentials in smooth muscles. Several types of potassium channels have been reported to produce smooth muscle relaxation and relieve the cough.

The aim of presented studies was to prove whether openers of potassium ion channels, K_{ATP} - pinacidil and BK_{Ca} – NS 1619, inhibit the cough reflex and modulate the airway smooth muscle (ASM) reactivity in conditions of experimental allergic inflammation of the airways in guinea pigs.

Presented studies were carried out in 4 partial experimental procedures with unsensitized guinea pigs and animal on 7th, 14th and 21st day of sensitization. Allergic inflammation of airways was induced by repetitive exposure of guinea pigs to ovalbumine and the degree of allergic inflammation was determined by histological analysis of tracheal and pulmonary samples. The cough reflex was induced by 0.3 M citric acid aerosol for 3 min interval, in which total number of coughs was counted. ASM reactivity *in vivo* was expressed as values of specific airway resistance (sRaw) calculated by Pennock.

Pinacidil suppressed sRaw values of both, unsensitized as well as sensitized animals, more significantly than salbutamol. In unsensitized guinea pigs, NS 1619 significantly reduced sRaw values, but allergic inflammation attenuated its bronchodilatory activity on 7th and 14th days. Histological analysis of specimens showed increasing signs of allergic inflammation during sensitization procedure as well as significant proinflammatory effect of pinacidil and NS 1619.

This work was supported partly by grant VEGA 1/0020/11, VEGA 1/0062/11, Grant UK/231/2012 and Center of Experimental and Clinical Respiriology II co-financed from EU sources.

VLIV ZMĚNY V CHEMICKÉ STRUKTUŘE NOVĚ SYNTETIZOVANÝCH BETALYTIK NA JEJÍ FARMAKOLOGICKÝ ÚČINEK

Kolmanová E., Bartošová L., Prášková V., Veselá M., Suchý P.
Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, VFU Brno

Vztah mezi chemickou strukturou látky a jejím biologickým účinkem je v popředí zájmu farmaceutických chemiků i farmakologů řadu let. Naše pracoviště se dlouhodobě zabývá přípravou a preklinickým testováním látek s betalytickým účinkem.

Cílem předložené práce bylo ověřit účinek látky s pracovním názvem BL4412 na srdeční frekvenci laboratorního potkana a porovnat jej s již dříve testovanou látkou 44Bu. Obě látky se liší pouze povahou chemické vazby ve spojovacím řetězci molekuly. Látka 44Bu obsahuje esterovou funkční skupinu, látka BL4412 skupinu etherovou. Sledovali jsme, nakolik se tato záměna projeví na nástupu, délce a velikosti bradykardického účinku. Porovnáván byl rovněž účinek stereoizomerů a racemátů daných látek. Testování probíhalo *in vivo* na laboratorních potkanech kmene Wistar, u nichž byla vyvolána tachykardie subkutánně podaným isoprenalinem. Látka BL4412 byla aplikována intravenózně v dávce 1,5mg/kg. Srdeční frekvence byla odečítána ze záznamů EKG ve stanovených časových intervalech. Ke statistické analýze byly použity neparametrické testy (Wilcoxonův a Mann-Whitney test).

Největší rozdíl ve vlivu obou látek na srdeční frekvenci byl sledován u racemátů, a to v průměru o 7 %. Rozdíly mezi R- izomery a S- izomery obou látek byly menší - činily 1,6 %. Celkově lze říci, že bradykardický účinek všech variant látky 44Bu byl vyšší než bradykardický účinek všech variant látky BL4412, zjištěné rozdíly však nebyly statisticky významné. U látky 44Bu působí na snížení srdeční frekvence nejefektivněji racemát. U látky BL4412 byl na počátku experimentu nejúčinnější R-izomer, od 15. minuty po podání vykazoval největší bradykardický efekt racemát.

Závěrem lze říci, že látka BL4412 má v porovnání s látkou 44Bu nižší velikost bradykardického účinku, zpomalený nástup tohoto účinku a jeho prodloužené trvání.

Zatímco zpomalený nástup a prolongaci bradykardického účinku lze vysvětlit změnou charakteru vazby, snížení velikosti tohoto účinku nikoliv, neboť existuje řada betalytik s obdobnou etherovou funkční skupinou. Lze se domnívat, že ztrátou esterové vazby přišla látka o schopnost inhibovat iontové membránové proudy, což mohlo vést ke snížení jejího bradykardického vlivu.

NOVÝ PŘÍSTUP K DETEKCI KLINICKY VÝZNAMNÝCH VARIANTNÍCH ALEL TPMT METODOU ZALOŽENOU NA REAL-TIME PCR.

¹Kolorz M, ¹Wróblková K, ²Uličný B, ¹Bartošová L, ³Bartoš M.

¹Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, VFU Brno, ČR, ²YBUX Ltd., Brno, ČR, ³Ústav přírodních léčiv, Farmaceutická fakulta, VFU Brno, ČR

Metody molekulární biologie nacházejí stále častěji své uplatnění na poli diagnostiky a optimalizace farmakoterapie. Byla prokázána řada genetických markerů, které umožňují predikovat výskyt nežádoucích účinků, efektivitu terapie i optimální dávkování. Vztahy mezi genotypem a farmakoterapií se zabývá vědní obor farmakogenomika. Příkladem aplikace výsledků výzkumu do klinické praxe je vyšetřování variantních alel genu pro thiopurin S-methyltransferázu (TPMT) v souvislosti s terapií azathioprinem. Ačkoliv je tato léčba velmi efektivní, u 10-28 % pacientů vede ke vzniku nežádoucích účinků. Nejzávažnějším z nich, který se vyskytuje u 2-5 % pacientů je leukopenie, související s nedostatečnou schopností organismu biotransformovat aktivní deriváty azathioprinu. Majoritní cestou metabolizace tohoto léčiva je metylace, která je katalyzována enzymem TPMT. Gen, který kóduje tento enzym, se vyskytuje v několika alelových variantách, z nichž některé úzce korelují s výskytem leukopenie. U nositelů těchto alel je katalytická aktivita TPMT snížena a dochází tak ke kumulaci aktivních metabolitů. Z hlediska klinického dopadu jsou v kavkazské populaci nejdůležitějšími variantními alelami TPMT*3A (charakterizována nukleotidovou substitucí 460G>A a 719A>G), TPMT*3B (460G>A), TPMT*3C (719A>G), a TPMT*2 (238G>C). Na základě genotypu pacienta je možné určit rizikové jedince, u kterých je potřeba zvolit nižší dávku léčiva a zároveň mnohem pečlivěji monitorovat krevní obraz.

Cílem této práce bylo vyvinout jednoduchou metodiku genotypizace pacientů na přítomnost variantních alel TPMT (*3A, *3B, *3C a TPMT*2) využívající metodu real time PCR a validovat ji porovnáním s jinými metodickými postupy genotypizace.

Na základě sekvencí genu pro TPMT v oblasti výskytu sledovaných polymorfizmů byly navrženy specifické primery a sekvence duálně značených sond. Reakční podmínky byly navrženy a optimalizovány tak, aby detekce všech polymorfizmů mohla probíhat ve stejném čase, v režimu paralelní reakce. Syntézou plasmidů byl také vytvořen systém pozitivních kontrol umožňující jednoznačnou interpretaci výsledků. Celá souprava pak byla testována na vzorcích DNA od 188 pacientů léčených azathioprinem.

Námi navržený metodický postup představuje rychlý, manipulačně jednoduchý způsob detekce klinicky významných alel genu pro TPMT. Získané výsledky jsou jednoduše interpretovatelné a nezaměnitelné díky systému pozitivních kontrol. Validita metody byla ověřena 100% shodou s výsledky genotypizace 188 vzorků DNA, u nichž bylo stanovení alel TPMT provedeno i jinou metodou.

Tato práce je podporována grantovým projektem FR-TI2/075 – Ministerstva průmyslu a obchodu ČR.

RELATIVE BIOAVAILABILITY OF TWO ENALAPRIL FORMULATIONS IN HEALTHY VOLUNTEERS

Kopecký J., Kholová D., Vybíralová Z., Zoulová J., Chládek J., *Macek K., Kvěšina J.

Institute of Experimental Biopharmaceutics, Joint Research Centre of PRO.MED.CS Praha a.s. and Academy of Sciences of the Czech Republic, Hradec Králové, Czech Republic

**2nd Department of Internal Medicine, University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic*

The aim of the open-label, single dose, randomized, crossover (2-sequence, 2-period), clinical study was to compare bioavailability of two oral tablet enalapril formulations (A and B).

Thirty healthy male volunteers (18-48 years, body mass index 21.1-24.9 kg/m²) received twice a single 20 mg oral dose of enalapril with a washout period of 14-21 days. Blood samples (9 ml) were taken 0-72 hours after drug administration for the measurement of serum concentrations of enalapril and its active metabolite enalaprilat (using LC-MS/MS method). Pharmacokinetic parameters were estimated using non-compartmental methods. For their statistical evaluation, ANOVA, two one-sided tests procedure and estimations of 90% confidence intervals (90% CI) were used.

The results of the study are presented in the following Table:

Parameter		Formulation A	Formulation B	Point estimate	90% CI
enalapril					
AUC _{0-t}	[pmol.h/ml]	613 ± 133	602 ± 118	101.6 %	95.8 – 107.9 %
AUC _{0-inf}	[pmol.h/ml]	616 ± 133	605 ± 118	101.6 %	95.9 – 107.8 %
C _{max}	[pmol/ml]	423 ± 104	395 ± 103	107.3 %	100.1 – 115.0 %
t _{max}	[h]	0.89 ± 0.29	0.84 ± 0.21	0 h	0.0 to +0.125 h
t _{1/2}	[h]	4.18 ± 5.30	3.83 ± 5.45	-	-
enalaprilat					
AUC _{0-t}	[pmol.h/ml]	1792 ± 447	1798 ± 413	99.4 %	94.0 – 105.1 %
AUC _{0-inf}	[pmol.h/ml]	1884 ± 457	1889 ± 416	99.4 %	94.1 – 105.1 %
C _{max}	[pmol/ml]	203 ± 71	200 ± 59	99.9 %	91.8 – 108.9 %
t _{max}	[h]	3.38 ± 0.65	3.37 ± 0.73	0 h	-0.25 to +0.25 h
t _{1/2}	[h]	31.2 ± 10.5	29.5 ± 12.2	-	-

Pharmacokinetic parameters are expressed as arithmetic mean ±s.d.

Bioequivalence of the two compared enalapril formulations was proven for all bioavailability parameters (in the acceptance range 80-125 %).

SYNTHESIS, BIOLOGICAL ASSESSMENT AND MOLECULAR MODELING OF NOVEL TACRINE-7-METHOXYTACRINE HETERODIMERS FOR ALZHEIMER DISEASE TREATMENT

^{1,2} Korabecny J., ³ Hamuľakova S., ⁴ Gazova Z., ⁴ Siposova K., ² Kassa J., ⁵ Kuca K.

¹Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Czech Republic, ²Department of Toxicology, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Kralove, Czech Republic, ³Department of Organic Chemistry, Institute of Chemistry, Faculty of Science, P.J. Safarik University, Kosice, Slovak Republic, ⁴Institute of Experimental Physics, Slovak Academy of Sciences, Slovak Republic, ⁵Centre of Advanced Studies, Faculty of Military Health Sciences, Hradec Kralove, Czech Republic

Alzheimer disease (AD) is an irreversible, progressive neurodegenerative disorder associated with a global impairment of higher mental function that represents a deterioration of memory as the cardinal symptom. Early studies based on pharmacologic interference with cholinergic function suggested close relationship between acetylcholine-mediated neurotransmission and cognitive function. Acetylcholinesterase (AChE; EC 3.1.1.7) is an enzyme decomposing acetylcholine neurotransmitter to acetate group and choline. Inhibition of AChE by reversibly acting AChE inhibitors (AChEIs) is leading therapeutic approach in AD treatment leading to improvement of cognitive functions. Within our contribution we are presenting synthesis, biological evaluation and molecular modeling in the novel series of tacrine-7-methoxytacrine heterodimers as possible anti-AD agents. As resulted several candidates reached promising results comparable with those obtained for standard AD drug tacrine. Selected chemical structures will be in the future leading structures for in vivo toxicity studies.

Authors appreciate the support of the Grant Agency of the Czech Republic (No. P303/11/1907), grant of Ministry of Defense – A long-term organization development plan 1011 and the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (No. SVV 265 001). Financial support from the Slovak Grant Agency VEGA (No. 1/0672/11) is also gratefully acknowledged.

LIEČBA AKÚTNEJ BOLESTI NA ODDELENÍ TRAUMATOLÓGIE

¹ Kováčová B., ¹ Foltánová T., ² Kónya Š., ³ Ďurišová A.

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie, ²Klinika úrazovej chirurgie a ortopédie Fakultnej nemocnice, Nitra, ³Klinika novorodencov, detí a dorastu Fakultnej nemocnice, Nitra

Polyfarmácia je častou charakteristikou hospitalizovaných pacientov, príčinou zhoršovania zdravotného stavu pacienta, prípadne príčinou samotnej hospitalizácie. Liečba bolesti akútnej aj chronickej je kombinovaná. Kombinácia liečiv zvyšuje riziko liekových interakcií a nežiaducich účinkov, na druhej strane je nízka kontrola bolesti v populácii. Výber vhodného analgetika je výrazne sťažený v prípade polymorbidného alebo geriatrického pacienta a situácia je komplikovaná aj rozličnou subjektívnou vnímavosťou voči algickým podnetom a odozve na terapiu.

Cieľom práce je poukázať na súčasné možnosti v liečbe bolesti u hospitalizovaných pacientov na oddelení traumatológie a prínos farmaceuta pri identifikovaní nežiaducich reakcií a interakcií.

Retrospektívna analýza farmakoterapie u hospitalizovaných pacientov na oddelení traumatológie vo Fakultnej nemocnici v Nitre. Informácie o farmakoterapii pacientov sme získali z elektronickej databázy a chorobopisov pacientov hospitalizovaných na tomto oddelení. Zdrojom informácií o liekoch bolo aktuálne platné SPC, zoznam liekových interakcií v publikácii Drug Interaction Facts 2012 a odborné články.

Sledovali sme diagnózu, farmakoterapiu bolesti, možné klinické interakcie a kontrolu bolesti. Naše výsledky prispievajú k identifikácii rizikových faktorov v liečbe bolesti a prípadnej úprave analgetickej terapie na oddelení traumatológie.

VPLYV METFORMÍNU A KARVEDILOLU NA DISPERZIU QT a QTc INTERVALU U DIABETICKÝCH A HYPERTENZNO-DIABETICKÝCH POTKANOV

Kráľová, E., Jankyová, S., Grešáková, E., Stankovičová, T.

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

Diabetes mellitus (DM) je ochorenie často sa vyskytujúce v kombinácii s hypertenziou. Kombinácia týchto ochorení vedie nielen k poruchám čerpacej funkcia srdca, ale aj k zmenenej elektrickej aktivite, ktorá sa môže prejavíť predĺžením QT intervalu. Aktuálne sa uvažuje o disperzii QT (QTd) a QTc (QTcd) intervalu ako o neinvazívnom markere nehomogénnej repolarizácie myokardu.

Sledovali sme teda vplyv DM (vyvolanom streptozotocínom v dávke 3 x 25 mg i.p.) na disperziu QTd aj QTcd intervalu na 12 zvodovom EKG a výskyt dysrytmí na izolovanom srdci u SHR zvierat (HD). U diabetických neliečených potkanov (D) sme zaznamenali vyššiu frekvenciu srdca, zvýšenie QTd a QTcd a zvýšený výskyt dysrytmí, v porovnaní s kontrolou (vehikulum, 0,5ml/kg, n=6, p.o.). Podobné zmeny len vo vyššej intenzite sme pozorovali v skupine HD.

Karvedilol je β – blokátor s antioxidačným a vazodilatačným účinkom, ktorý v dávkovaní 0,09 mg/kg p.o. (DK, HDK n=6) spomalil frekvenciu srdca, potlačil disperziu QT aj QTc intervalu a znížil počet dysrytmí v porovnaní s D a HD zvieratami. Metformín je najčastejšie používané antidiabetikum, ktoré v dávke 12,1 mg/kg, p.o. malo tendenciu k predĺženiu QT intervalu, disperzie QT aj QTc intervalu a vyššej incidencii dysrytmí v porovnaní s D aj HD skupinou (DM n=5, HDM n=6).

Zdá sa teda, že analýza disperzie intervalu QT a QTc je vhodným prediktorom zvýšenej náchylnosti myokardu voči elektrickej nestabilite a tendencii k zvýšenej incidencii dysrytmí. Karvedilol je účinnejší v úprave elektrickej aktivity srdca v porovnaní s metformínom.

Práca bola podporená grantami VEGA SR 1/1342/12 a FaFUK13/2011.

BISQUATERNARY CHOLINESTERASE INHIBITORS AS PROPHYLAXIS AGAINST NERVE AGENTS

¹⁻² Kuca K., ¹⁻³ Musilek K., ⁴ Komloova M., ¹ Horova A., ¹⁻² Soukup O., ¹⁻² Zdarova-Karasova J.,
¹ Kassa J.

¹University of Defence, Faculty of Military Health Sciences, Department of Toxicology, Centre of Advanced Studies and Department of Public Health, Hradec Kralove, Czech Republic,

²Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Hradec Kralove, Czech Republic, ³University of Hradec Kralove, Faculty of Science, Department of Chemistry, Hradec Kralove, Czech Republic, ⁴University Hospital, Hradec Kralove, Czech Republic

Cholinesterase inhibitors are currently considered as promising prophylaxis against nerve agents (huperzine, galantamine, SAD-128, etc.). Among them, quaternary cholinesterase inhibitors are well investigated because of their “only” peripheral action.

Recently, novel (bispyridinium, bisquinolinium and bisisoquinolinium) analogues were synthesized by our group. They showed non-competitive inhibitory ability towards hAChE *in vitro* that was further rationalized by molecular modeling studies. Furthermore, acute toxicity (LD₅₀) of selected candidates was tested. For several less toxic compounds, protective ratio against soman induced toxicity was determined.

All results obtained during the development of these prophylactic means based on quaternary cholinesterase inhibitors indicate that this approach should be more thoroughly investigated to reach the most promising drug candidates able to replace current prophylactic treatment.

VPLYV ABSENCIE VYBRANÝCH MOLEKULOVÝCH FORIEM CHOLÍNESTERÁZ NA HLADINY MUSKARÍNOVÝCH A β -ADRENERGNÝCH RECEPTOROV V SRDCI

¹ Kučera M., ² Farár V., ² Mysliveček J., ¹ Hrabovská A.

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SR, ²Fyziologický ústav, 1. Lekárskej fakulty, Karlovej Univerzity, Praha, ČR

Neuronálna regulácia srdcovej činnosti je zabezpečovaná vegetatívnym nervovým systémom. Sympatikus pôsobí na srdce prostredníctvom β -adrenergných receptorov (β -AR) zatiaľ čo parasympatikus prostredníctvom muskarínových receptorov (MR).

U myší s absenciou acetylcholinesterázy (AChE) dochádza v pľúcach k poklesu hladín MR a β -AR. Pričom tento pokles je pripisovaný adaptačným zmenám organizmu na vysoké hladiny acetylcholínu v tkanive. O cholinesterázach v srdci a o vplyve absencie ich molekulových foriem na hladiny receptorov v srdci nie sú známe takmer žiadne informácie.

Cieľom tejto práce bolo sledovať hladiny celkových MR a β -AR v srdciach myší s absenciou jednotlivých molekulových foriem cholinesteráz.

Priamymi rádioligandovými väzbovými štúdiami sme stanovili hladiny celkových MR a celkových β -AR v ľavej komore, pravej komore a v medzikomorovom septe u rôznych genotypov myší. Konkrétne sa jednalo o myši s absenciou cholinesteráz kotvených proteínom ColQ (ColQ^{-/-}) a PRiMA (PRiMA^{-/-}), s absenciou butyrylcholinesterázy (BChE^{-/-}), s absenciou všetkých kotvených molekulových foriem AChE (Del E 5+6^{-/-}), s absenciou AChE v kostrovom svalu (Del i1RR^{-/-}) a u divokého kmeňa.

Pozorovali sme signifikantne vyššie hladiny MR v ľavej komore samíc PRiMA^{-/-}, Del E5+6^{-/-}, a BChE^{-/-} myší, v pravej komore samíc BChE^{-/-} myší a v septe samíc BChE^{-/-} a Del E5+6^{-/-} myší v porovnaní s divokým kmeňom. U samcov sme nepozorovali žiadne rozdiely medzi jednotlivými genotypmi. Hladiny β -AR nevykazovali žiadne výrazné rozdiely medzi jednotlivými genotypmi u žiadneho z pohlaví.

Môžeme konštatovať, že adaptačné zmeny na chýbanie rôznych molekulových foriem cholinesteráz sa líšia na úrovni pohlavia. Naše výsledky dokladujú vyššiu adaptačnú schopnosť samíc na zmeny v organizme. To je koniec koncov v súlade so súčasnými poznatkami uvádzanými v literatúre, ktoré poukazujú na rozdiely v cholinergnej inervácii medzi pohlaviami.

Práca bola podporená grantami: FaF UK/49/2012, APVV SK-FR-0031-09, SK-FR-0048-11, SK-CZ-0028-09 and VEGA 1/1139/12 2012-2014

PROBIOTIC STRAIN *ESCHERICHIA COLI* NISSLE 1917 AND ITS EFFECT ON BACTERIOGINOGENY AND MORPHOMETRIC PARAMETERS OF GASTROINTESTINAL WALL IN EXPERIMENTAL PIGS

^{1,2}Kuneš M., ³Bureš J., ⁴Šmajš J., ⁵Pejchal J., ⁴Šmarda J., ⁶Förstl M., ⁶Lesná J.,
⁷Tláskalová-Hogenová H., ^{1,2}Květina J.

¹*Institute of Experimental Biopharmaceutics, Joint Research Centre of PRO.MED.CS Praha a.s. and the Czech Academy of Sciences, Hradec Králové,* ²*Department of Human Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno,* ³*2nd Department of Medicine, University Teaching Hospital, Hradec Králové,* ⁴*Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University Brno* ⁵*Centre of Advanced Studies, Faculty of Military Health Sciences in Hradec Králové, University of Defence Brno,* ⁶*Institute of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine at Hradec Králové, Charles University in Prague,* ⁷*Institute of Microbiology, the Czech Academy of Sciences, Prague*

The bacteriocinogenic strain *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) is widely used as an efficient probiotic in therapy and prevention of human gastrointestinal disorders and infectious diseases.

Aim of this study (as part of experiments examining the impact of probiotics on intestinal drug absorption) was to evaluate bacteriocins production (as one of probiotic's mode of action) and morphometric parameters of gastrointestinal (GIT) wall in short-term high-dose indomethacin (as an inducer of GIT lesions) administration with or without probiotic bacteria EcN in an experimental porcine model.

Twenty-four pigs entered the study: Group A (controls), Group B (probiotics alone), Group C (indomethacin alone), Group D (probiotics and indomethacin). EcN (3.5×10^{10} CFUs/day for 14 days) and/or indomethacin (15 mg/kg per day for 10 days) were administered orally. Anal smears and smears from small and large intestine were taken during autopsy from all animals. Bacteriocin production was determined with 6 different indicator strains; all strains were PCR tested for the presence of 29 bacteriocin-encoding determinants. There was a difference in bacteriocinogeny between control group A (52/149, 35%) and groups with treatment at the end of the study: B: 31/122 (25%, $P=0.120$); C: 43/155 (28%, $P=0.222$); D: 29/134 (22%, $P=0.020$). Specimens of the stomach, small and large bowel were routinely processed for microscopic examination. Three basic parameters were evaluated: the height of glandular mucosa, the height and width of interfoveolar spaces, villi and basement size of epithelial cells. Altogether 18,240 morphometric measurements were accomplished. The indomethacin & probiotics group demonstrated a significantly lower height of cryptal mucosa and colonocytes and widening of the basement size of colonocytes compared to controls ($p=0.004$; $p<0.001$; $p=0.025$). The height of cryptal mucosa was significantly higher in the EcN group compared to controls ($p=0.001$). Indomethacin alone decreased values of all measured parameters of the gastric mucosa. EcN alone provided a significant favourable trophic effect on the colonic mucosa. However, indomethacin & probiotics administered together comprise the worst impact on all porcine stomach, small and large bowel and also an impact on bacteriocin production.

Supported by research project MZO00179906 from the Ministry of Health of the Czech Republic, by institutional support from the Czech Republic (MSM0021622415) and by research grants GAČR 305/08/0535 and NS9665-4/2008 (Ministry of Health of the Czech Republic)

INTERACTION OF ANTIVIRAL AGENT PMEG WITH SLC TRANSPORTERS

¹Mandíková J., ¹Volková M., ¹Nový Z., ¹Pávek P., ²Janeba Z., ¹Trejtnar F.

¹Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmacology and Toxicology, Czech Republic, ²Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR, v.v.i., Prague, Czech Republic

Acyclic nucleoside phosphonate 9-[(2-phosphonomethoxy)ethyl]guanine (PMEG) shows significant antiviral and antitumor activities. The agent is eliminated predominantly by the kidney. Although acyclic nucleoside phosphonates are known to be substrates for the human organic anion transporter 1 (hOAT1), there is no information regarding other SLC transporters abundantly expressed in the kidney such as organic cation transporters (OCTs) or nucleoside transporters (NTs).

The purpose of our study was to investigate the affinity of PMEG to selected human SLC transporters (hOAT1, hOCT2, hCNT2 and hCNT3) in an appropriate cellular *in vitro* model. Human cervical cancer cell line (HeLa) transiently transfected with hOAT1 and Madin-Darby Canine Kidney II cells (MDCKII) transiently transfected with hOCT2, hCNT2 or hCNT3 were used for the experiments.

In functional accumulation studies, all used cellular models (HeLa^{hOAT1}, MDCKII^{hOCT2}, MDCKII^{hCNT2} or MDCKII^{hCNT3}) showed a strong uptake of specific substrates compared with control cells transiently transfected with empty vector. These findings confirmed proper function of our cellular models. In the affinity transport studies, the rate of inhibition of intracellular accumulation of [³H]-labeled prototypical substrate was induced by gradually increasing concentration of the tested compound.

The performed affinity transport studies confirmed the interaction of PMEG with hOAT1. We did not observe any significant interaction of PMEG with hOCT2, hCNT2 and hCNT3 transporters in the used cellular models. The results suggested that PMEG is transported in the renal tubules only by OAT1 and the other tested SLC transporters seem to play insignificant role in its renal excretion.

The study was supported by Charles University in Prague (Project SVV 265003), grant GAUK No. 360811/FaF/C-LEK and grant IGA MZ No. NT12398-4/2011.

CHOLINERGNÝ SYSTÉM V ROZVOJI SRDCOVÉHO ZLYHANIA

Máťuš M., Piváčková L., Černecká H., Gajdáčová B., Klimas J., Hrabovská A., Kyselovič J., Křenek P.

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Srdcové zlyhanie (SZ) patrí medzi závažné ochorenia súčasnej spoločnosti a napriek intenzívnemu výskumu je jeho terapia nedostatočná a mortalita pacientov stále vysoká. Za základný patogenetický faktor sa považuje chronická aktivácia fyziologických regulačných mechanizmov, predovšetkým sympatiku a renín-angiotenzín-aldosterónového systému. Až v poslednej dobe sa prisudzuje stále vyššia dôležitosť parasimpatikovej časti vegetatívneho systému (PAS), i keď zmeny jej funkcie a úloha v rozvoji srdcového zlyhanie je nedostatočne charakterizovaná. Aktivita PAS je v pokročilých štádiách SZ popisovaná ako abnormálne znížená. Ako hlavná zmena na molekulárnej úrovni sa údava nízka aktivácia nikotínového N_N receptoru, spôsobená nefyziologickou kombináciou jeho podjednotiek. Regulácia cholinergného prenosu pritom môže prebiehať na ďalších úrovniach: ovplyvnením syntézy alebo metabolizmu acetylcholínu (ACh). Hlavnými enzýmami zodpovednými za syntézu ACh sú cholínacetyltransferáza (ChAT) a karnitínacetyltransferáza (CarAT). Degradácia ACh je katalyzovaná acetylcholinesterázou. Tento enzým je v myokarde lokalizovaný predovšetkým prostredníctvom špecifickej kolagénovej kotvy ColQ.

V našej práci sme sledovali expresiu ChAT, CarAT a ColQ v priebehu rozvoja srdcového zlyhanie vyvolaného chronickou β -adrenergickou stimuláciou. Potkanom Wistar bol aplikovaný každých 24 hodín izoprenalín (i.p., 5mg/kg). Zvieratá boli usmrtené v rôznych časových intervaloch po aplikácii prvej dávky: 30 minút, 1, 2, 4 a 8 hodín, 1, 2, 4 a 8 dní ($n=6$). Z myokardu bola izolovaná celková RNA a použitá na meranie relatívnej expresie uvedených génov. Ako kontrolná skupina slúžili potkany neovplyvnené izoprenalínom.

V priebehu rozvoja SZ sme v myokarde zaznamenali postupné zníženie expresie ChAT, od 4 hodín po aplikácii až do konca sledovaného obdobia signifikantné na približne 19% ($p<0,05$). Toto zníženie bolo sprevádzané prechodným nárastom expresie CarAT so signifikantným maximom 202% po 1 hodine. Expresia CarAT následne klesala až na signifikantne znížené hodnoty v 4 a 8 dňoch. Hladina mRNA pre ColQ postupne klesala a v rozmedzí 2 až 24 hodín bola znížená. Naše výsledky naznačujú, že v už v prvých štádiách SZ dochádza zmenám v syntéze a metabolizme ACh, ktoré pravdepodobne prispievajú k popísaným poruchám cholinergnej transmisie.

Grantová podpora: VEGA 1/0923/12; VEGA 1/0981/12; UK/449/2012

APLIKÁCIA FARMAKOLOGICKY OVPLYVNENÝCH HUMÁNNYCH HEMATOPOETICKÝCH KMEŇOVÝCH BUNIEK DO SRDCA WISTAR POTKANA *IN VIVO*

¹ Menšíková L., ¹ Musil P., ¹ Stahlová K., ¹ Mlynárová J., ² Gažová A., ¹ Kyselovič J.

¹ *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie,* ² *Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta*

Kmeňové bunky ako potenciálny terapeutický prostriedok regeneratívnej medicíny sa využívajú aj v kardiológii, kde sa tieto bunky v rámci doplňujúcej liečby ochorení ako koronárna chobora, infarkt myokardu, aplikujú pacientom do myokardiálnej svaloviny.

Cieľom práce bolo zistiť zápalovú odpoveď potkana na intramyokardiálne aplikované ľudské hematopoetické kmeňové bunky a jej farmakologické ovplyvnenie kyselinou acetylsalicylovou.

Potkanom kmeňa Wistar sme intramyokardiálne aplikovali humánne hematopoetické kmeňové bunky kostnej drene (4.3×10^4 buniek v aplikovanom objeme 0,4 ml) inkubované v roztoku aspirínu, resp. aspirínový roztok. Potkany sme utratili v CO₂ sedem dní po aplikácii buniek, pričom sme odobrali orgány na histologickú analýzu a na Western Blot a PCR analýzu a krv, z ktorej sme centrifugáciou získali plazmu na určenie zápalových markerov.

Nízka hladina C reaktívneho proteínu indikuje, že aplikácia ľudských hematopoetických kmeňových buniek inkubovaných v roztoku aspirínu alebo aspirínového roztoku do srdca potkana nevedie k zápalu. Neprítomnosť zápalu alebo jeho možné potlačenie kyselinou acetylsalicylovou vyžaduje ďalšie analýzy.

Transplantácia kmeňových buniek môže indukovať zápalovú odpoveď organizmu expresiou prozápalových cytokínov a prostaglandínov. Kyselina acetylsalicylová inhibuje aktivitu cyklooxygenázy, čím znižuje produkciu prostaglandínov a taktiež je schopná znížiť aktivitu transkripčného faktora NF- κ B, čo môže prispievať k jej protizápalovému pôsobeniu a aj preto môže byť kyselina acetylsalicylová účinná v protizápalovej terapii.

Práca bola podporená BIOMAKRO 2, ITMS 26240120027, VEGA 1/0786/11 a Grantom FaF UK/35/2012.

SKRÍNING GÉNOV PODIEĽAJÚCICH SA NA PROCESOCH ANGIOGENÉZY SVETLOBUNKOVÉHO KARCINÓMU OBLIČIEK.

¹ Mésarošová L., ¹ Fraňová S., ² Švihra J., ³ Kyselovič J., ³ Křenek P., ³ Klimas J., ³

Ochodnický P.

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, ²Urologická klinika, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, ³Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava

Adenokarcinóm obličiek patrí medzi veľmi závažné nádorové ochorenie, ktorého biologická aktivita sa líši od ostatných malígnych ochorení. Jednou z vlastností je, že sa prejavuje veľkou rezistentnosťou na rádioterapiu a imunoterapiu. Práca je zameraná na sledovanie expresie génov podieľajúcich sa na procesoch angiogenézy, ktoré by mohli prispieť k zlepšeniu diagnostiky a k zefektívneniu liečby pacientov s diagnostikovaným svetlobunkovým RCC.

Pacienti s diagnózou adenokarcinómu obličiek podstúpili radikálnu vo Fakultnej nemocnici JLF UK v Martine na Urologickej klinike. Počas chirurgického zákroku boli odbraté tumorové a kontrolné tkanivá (zdravo sa javiace tkanivá), ktoré boli uskladnené pri teplote - 80°C. Metódou RT-PCR, v ktorej bola použitá komerčne pripravená platnička, sme sledovali zmeny v expresii génov podieľajúcich sa na procesoch angiogenézy.

Z celkového počtu génov (n = 84) sme v prípade 17 génov zaznamenali signifikantne vyššiu expresiu, v prípade 13 génov pokles expresie a u 59 génov sme nezaznamenali žiadne zmeny v expresii. Na základe rozptylu CT hodnôt sme z pôvodných sedemnástich génov, v ktorých bola sledovaná vysoká expresia vyseletovali sedem (ANGPTL4, CXCL10, CXCL9, CDH5, S1PR1, VEGFA, PTGS1) a z pôvodných trinástich génov, u ktorých bola expresia znížená sme vyseletovali štyri gény, ktoré boli signifikatne down-regulované (ANGPTL3, COL4A3, EGF, PLG).

Na záver môžeme konštatovať, že naša práca ponúka prehľad génov, ktoré sa podieľajú na regulácii angiogenézy. Zároveň podáva informácie o ďalších možných biologických markeroch nádorového ochorenia obličiek, ako aj ich možné využitie vo farmakoterapii svetlobunkového RCC.

Táto práca vznikla za podpory grantu VEGA 1/0103/09, VEGA 1/0707/09 a OPV - 26110230031/07/D/2010.

HODNOTENIE LÁTOK S ANTIOXIDAČNÝMI VLASTNOSTAMI A ANTIREUMATIKA - METOTREXÁTU ŠTUDOVANÁ NA MODELI ADJUVANTNEJ ARTRITÍDY

¹ Mihalová D., ¹ Bauerová K., ¹ Dráfi F., ¹ Kuncírová V., ¹ Poništ S., ² Fedorová T., ³ Harmatha J., ¹ Nosál R.

¹ Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava, SR, ² Výskumný ústav neurológie, Ruská akadémia medicínskych vied, Moskva, Ruská Federácia ³ Ústav organické chemie a biochemie AV, Praha, ČR

Reumatoidná artritída (RA) je často sa vyskytujúcim závažným civilizačným ochorením kĺbov. Zníženie oxidačného stresu, ktorý je dôležitým faktorom patogenézy RA, môže byť novou významnou stratégiou v liečbe chronických zápalových ochorení, ku ktorým patrí aj RA.

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť efekt: (a) podávania pinosylvínu (PIN) a karnozínu (KARN) v monoterapii a (b) kombinácie KARN s metotrexátom (MTX) na adjuvantnú artritídu (AA) potkanov.

AA bola indukovaná intradermálnou injekciou suspenzie inaktivovaných *Mycobacterium butyricum* v nekompletnom Freundovom adjuvans potkanom kmeňa Lewis. Experiment zahŕňal zdravé kontrolné zvieratá, artritické zvieratá bez liečby, artritické zvieratá liečené PIN v dennej *p.o.* dávke 30 mg/kg hmotnosti, artritické zvieratá liečené KARN v dennej *p.o.* dávke 150 mg/kg hmotnosti, artritické zvieratá liečené MTX 2-krát týždenne *p.o.* dávkou 0.3 mg/kg hmotnosti a artritické zvieratá liečené kombináciou KARN+MTX. Stanovili sa nasledovné parametre: zmena objemu zadnej končatiny, artritické skóre pomocou artrogramu, aktivita bunkovej γ -glutamyltransferázy v slezine a kĺbe, časový interval nástupu Fe^{2+} -indukovanej oxidácie lipidov v plazme a homogenáte mozgu, plazmatické hladiny CRP a TBARS.

Podávanie KARN bolo účinnejšie ako podávanie PIN v redukcii väčšiny sledovaných ukazovateľov ochorenia. Osvedčila sa aj kombinácia KARN s MTX, ktorá bola účinnejšia v terapeutickom ovplyvnení priebehu AA ako MTX v monoterapii. Podávanie KARN môže zvýšiť účinnosť terapie založenej na použití choroby modifikujúcich antireumatík.

Podakovanie: VEGA 2/0045/11, APVV-0315-07, APVV-0052-10 a bilaterálny projekt SAS-RAMS 2010-2012: "Regulation of cytokine synthesis during inflammation development in brain and other tissues."

HODNOTENIE ÚČINKU DIMETYLSULFOXIDU NA ZÁPALOVÉ A OXIDAČNÉ PARAMETRE PRI EXPERIMENTÁLNOH MODELE ALERGICKEJ ASTMY

¹ Mikolka P., ¹ Mokrá D., ² Drgová A., ² Petráš M., ³ Mokrá J.

¹Ústav fyziológie, ²Ústav lekárskej biochémie, ³Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska
fakulta Univerzity Komenského, Martin

Použitie protizápalových látok v liečbe astmy je často limitované ich nerozpustnosťou vo vode, preto sa pri testovaní ich účinnosti používajú rozpúšťadlá, ako napr. dimetylsulfoxid (DMSO). Nakoľko sa nedávno zistilo, že DMSO môže vykazovať aj antioxidačné vlastnosti, cieľom našej štúdie bolo overiť, či u morčiat senzibilizovaných ovalbumínom (OVA) DMSO v 10 % koncentrácii ovplyvní mobilizáciu leukocytov do pľúc, ich aktiváciu a tvorbu voľných radikálov.

Morčatá sme rozdelili na OVA-senzibilizované a nesenzibilizované. Jednej skupine OVA-senzibilizovaných a jednej skupine nesenzibilizovaných morčiat sme podali 10 % DMSO, ostatným dvom skupinám sme podali fyziologický roztok. Po usmrtení zvierat sme odobrali vzorky krvi a stanovili celkový antioxidačný stav (TAS) v plazme. Ľavé pľúca sme lavážovali fyziologickým roztokom a stanovili celkový a diferenciálny počet leukocytov. Pravé pľúca sme homogenizovali a stanovili koncentrácie TAS a markerov oxidácie lipidov a proteínov v homogenáte a v izolovanej mitochondriálnej frakcii.

OVA-senzibilizácia zvýšila celkový počet buniek a zastúpenie eozinofilov a neutrofilov v lavážnej tekutine, zvýšila oxidáciu lipidov a proteínov v pľúcnom homogenáte i v mitochondriách a znížila TAS v pľúchach i v plazme v porovnaní s nesenzibilizovanými kontrolami. Podanie 10% DMSO nevedlo k štatisticky významným zmenám zápalových a oxidačných parametrov v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Senzibilizácia ovalbumínom zvyšuje mobilizáciu leukocytov do pľúc a tvorbu voľných radikálov u morčiat. 10% DMSO nemalo vplyv na zápalové a oxidačné parametre a jeho použitie ako rozpúšťadla neskresľuje protizápalové a antioxidačné účinky liečiva v ňom rozpusteného.

Podporené projektom "Dobudovanie Centra centra experimentálnej a klinickej respirológie CEKR II" a Grantom VEGA č. 1/0030/11.

2-CHLORO-1,4-NAFTOCHINÓNOVÝ DERIVÁT KVERCETÍNU AKO POTENCIÁLNE LIEČIVO DIABETICKÝCH KOMPLIKÁCIÍ: PREDKLINICKÉ TESTY *IN VITRO*

¹ Miláčková I., ¹ Prnová M., ¹ Kováčiková L., ¹ Májeková M., ² Veverka M., ¹ Štefek M.

¹ Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV, Bratislava, ² Bel/Novamann Intc. Ltd., Bratislava

Na patogenéze diabetických komplikácií sa podieľajú viaceré biochemické mechanizmy, z ktorých kľúčová úloha sa prisudzuje oxidačnému stresu a polyolovej dráhe odbúravania nadbytočnej glukózy na osmoticky aktívny sorbitol, pomocou enzýmu aldózareduktáza (ALR2). Pri prevencii diabetických komplikácií je žiadúce ovplyvniť oba mechanizmy. Firmou Bel/Novamann bol nasyntetizovaný nový derivát kvercetínu: 3,7-bis-hydroxy-2-(3'-hydroxy-4'-(2-chloro-1,4-naftochinón-3-oxy)fenyl)-5-hydroxy-chromén-4-ón.

Cieľom tejto práce bolo charakterizovať nový derivát z hľadiska jeho antioxidačnej aktivity (AA) a inhibičnej účinnosti na enzým ALR2 v podmienkach *in vitro*.

AA derivátu sme študovali pomocou chemického DPPH testu. Merali sme počiatočnú rýchlosť reakcie vychytávania voľného radikálu DPPH v etanolovom roztoku. Stechiometriu tejto reakcie sme stanovili spektrofotometrickou titráciou konštantnej koncentrácie DPPH rastúcimi koncentraciami študovaného derivátu. Pri stanovení inhibičnej účinnosti derivátu sme použili enzým ALR2 izolovaný z očných šošoviek potkana. Selektivita inhibície sa stanovila vzhľadom k aldehydreduktáze (ALR1) izolovanej z obličiek potkana. Enzýmové reakcie sme sledovali spektrofotometricky prostredníctvom poklesu kofaktora NADPH.

Zistili sme, že AA nového derivátu je porovnateľná s účinkom štandardu troloxu. Inhibícia enzýmu ALR2 bola charakterizovaná hodnotou $IC(50) = 2,09 \pm 0,57 \mu M$. Kinetická analýza enzýmovej reakcie preukázala nekompetitívny typ inhibície. Metódou molekulového modelovania sa identifikovali kľúčové interakcie inhibítora so špecifickými aminokyselinami inhibičného väzobného miesta enzýmu. Afinita derivátu k príbuznej reduktáze ALR1 bola charakterizovaná hodnotou $IC(50) = 11,1 \pm 1,1 \mu M$, čomu zodpovedá faktor selektivity ~ 5 .

Získané výsledky a súbor fyzikálno-chemických vlastností, ktoré vyhovujú Lipinského kritériám, predurčujú študovaný derivát na ďalší výskum ako potenciálneho liečiva diabetických komplikácií.

Táto práca vznikla za podpory Agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR pre štrukturálne fondy EÚ, operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja realizovaním projektu „Hodnotenie prírodných látok a ich výber pre prevenciu a liečbu civilizačných ochorení“ (ITMS 26240220040).

DIASTOLIC DYSFUNCTION IS THE INITIAL PATHOPHYSIOLOGICAL FEATURE OF THE ISOPRENALINE CARDIOTOXICITY

Mladěňka P., Filipský T., Hrdina, R.

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

Although a synthetic catecholamine isoprenaline (ISO) has been often used for the induction of experimental acute myocardial infarction in rodents, the early haemodynamic changes have not been examined in detail yet. The main aim of this work was to study continuously the acute haemodynamic changes after administration of a necrogenic dose of ISO.

Male Wistar:Han rats received ISO (100 mg/kg, s.c.) or water for inj (s.c.). In order to elucidate the involvement of β_2 -adrenoreceptores, salbutamol (an equimolar dose to ISO, i.e. 116 mg/kg.s.c.) was administered to additional rats. Various haemodynamic parameters were measured continuously for 2 hours using PowerLab apparatus (AdInstruments, Australia) equipped with Millar catheters (Millar Instruments, USA.)

The administration of ISO caused within 30 seconds decreases in arterial blood pressures and stroke volume and an increase in heart rate. Ejection fraction did not reduce, rather a tendency for an increase was observed. Indeed, analysis of contractility showed a peaked increase within the first 30 seconds which was followed by a decrease but the contractility appeared to remain elevated within the whole 2 hours period. In contrast, relaxation expressed as dP/dt_{min} was apparently impaired after ISO administration and remained depressed within the whole experiment. Salbutamol caused a rapid drop in arterial blood pressures but its influence on the other mentioned parameters was transient, slow or insignificant.

Diastolic dysfunction seems to be the initial feature of isoprenaline cardiotoxicity and is not primarily dependent on β_2 -adrenoreceptors stimulation.

This work was supported by the Charles University in Prague (grant No. 605712 C and project No. 265 003/2012).

EXPRESIA TRANSKRIPČNÝCH FAKTOROV V EPIKARDIÁLNO M TUKU PRI ISCHEMICKEJ CHOROBE SRDCA A SRDCOVOM ZLYHÁVANÍ

¹ Mlynárová J., ² Hulman M., ² Hudec V., ² Demešová E., ¹ Musil P., ² Gonçalvesová E.,
¹ Kyselovič J.

¹ Farmaceutická fakulta UK v Bratislave, ² Národný ústav srdcových a cievnych chorôb v Bratislave

Epikardiálny tuk (ET) je viscerálny tuk v tesnej blízkosti myokardu. Záujem o štúdium jeho úlohy má stúpajúci charakter iba v posledných ôsmich rokoch. Epikardiálny tuk sa spája s koronárnou chorobou, metabolickým syndrómom a s atriálnou fibriláciou.

Wilms tumor 1 (WT1), T-box 18 (TBX18), Snail homolog 1 (SNAIL) a Snail homolog 2 (SLUG) sú transkripčné faktory, ktoré hrajú úlohu pri vývine srdca. Nukleárny faktor aktivovaných T buniek (NFAT3) a kalcineurín (CALN) hrajú dôležitú úlohu pri hypertrofii myokardu.

Práca je zameraná na sledovanie miery expresie vybratých transkripčných faktorov v ET u pacientov s ischemickou chorobou srdca (ICHS) a so zlyhávajúcim srdcom (ZS) a na sledovanie závislosti tejto expresie s klinickými údajmi pacientov.

Vzorky ET boli odobraté od 3 pacientov s ICHS podstupujúcich aortokoronárny bypass a z explantovaných srdc 20 pacientov podstupujúcich transplantáciu srdca. Expresia transkripčných faktorov bola sledovaná pomocou RT-PCR metódy.

V ET pacientov s ZS mali TBX18 a NFAT3 signifikantne vyššiu expresiu ($p < 0,05$ resp. $p < 0,01$) a SNAIL signifikantne nižšiu expresiu ($p < 0,05$) v porovnaní s pacientami s ICHS. Boli pozorované korelácie mRNA transkripčných faktorov s hemodynamickými parametrami (WT1 vs. TPG $r = 0,5534$, $p < 0,05$; WT1 vs. PVR $r = 0,4795$, $p < 0,05$; SLUG vs. CI $r = 0,4714$, $p < 0,05$). CALN mRNA korelovala s LVEDD (mm) $r = -0,4684$, $p < 0,05$ a SNAIL mRNA korelovala s QRS complex (s) $r = -0,6398$, $p < 0,01$. Výsledky práce poukazujú na možnú úlohu vybratých transkripčných faktorov pri sledovaných ochoreniach srdca.

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a vývoj pre projekt BIOMAKRO 2, ITMS 26240120027 a Vybudovanie kompetenčného centra, ITMS: 26240220177, spolufinancované zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja; VEGA 1/0786/11 a UK/473/2012.

INHIBÍCIA FOSFODIESTERÁZ PRI ALERGICKOM ZÁPALE DÝCHACÍCH CIEST

¹ Mokrá J., ¹ Nosáľová G., ² Mokrá D.¹Ústav farmakológie, ²Ústav fyziológie JLF UK, Martin

Fosfodiesterázy predstavujú skupinu 11 rodín fosfohydroláz, enzýmov zodpovedných za štiepenie cAMP a cGMP. Expresia rozličných izoenzýmov v rozličných tkanivách má za následok ovplyvňovanie rôznych procesov, ktoré jednotlivé izoenzýmy spôsobujú. Využitie ich selektívnych inhibítorov je preto skúmané v rôznych oblastiach medicíny. Z hľadiska ovplyvnenia zápalu sa za najvýznamnejšie považujú selektívne inhibítory PDE4, prípadne PDE7. Súvisí to priamo s expresiou týchto izoenzýmov v zápalových bunkách ako sú neutrofily, eozinofily, monocyty, ale aj T-lymfocyty.

Protizápalové pôsobenie selektívnych inhibítorov fosfodiesteráz sme sledovali v podmienkach experimentálne navodeného alergického zápalu opakovanou expozíciou ovalbumínu u morčiat. Postupne sme sa zamerali jednak na funkčné zmeny (*in vivo* a *in vitro* reaktivita dýchacích ciest) ako aj na bunkové a biochemické zápalové parametre.

Selektívna inhibícia PDE4 a PDE7 spôsobila potlačenie hyperreaktivity dýchacích ciest u morčiat s experimentálne navodeným alergickým zápalom, a to ako v podmienkach *in vivo*, tak aj *in vitro*. Okrem toho došlo k významnému ovplyvneniu zastúpenia zápalových buniek v krvi i v bronchoalveolárnej laváži, ako aj k ovplyvneniu biochemických markerov zápalu, čo naznačuje uplatnenie selektívnych inhibítorov PDE ako protizápalová liečba najmä pri chronických zápalových ochoreniach dýchacích ciest.

Podporené grantom VEGA č. 1/0030/11. Práca bola podporená projektom "Dobudovanie Centra experimentálnej a klinickej respirológie – CEKR2" spolufinancovaným zo zdrojov ES.

VPLYV ABSENCIE $\alpha 7$ NIKOTÍNOVEJ PODJEDNOTKY NA ZÁKLADNÉ HEMODYNAMICKÉ PARAMETRE SRDCA

Mrvová K., Hrabovská A.

Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Prenos nervového vzruchu v autonómnom gangliu je sprostredkovaný neurotransmitterom acetylcholínom (ACh), ktorý sa viaže na nikotínové receptory. Nikotínový receptor je zložený z piatich podjednotiek ($\alpha 2$ - $\alpha 10$, $\beta 2$ - $\beta 4$), pričom môže tvoriť homo- alebo hetero-pentaméry. V súčasnosti je známe, že nikotínové receptory obsahujúce $\alpha 7$ podjednotku sú lokalizované presynapticky, ale aj postsynapticky a teda sprostredkujú rýchly prenos nervového vzruchu v gangliu a zároveň zvýšené uvoľňovanie ACh.

Cieľom nášho projektu bolo sledovať zmeny základných fyziologických parametrov srdca u myší divokého kmeňa a $\alpha 7$ -deficientných myší pri stimulácii srdca pomocou sympatomimetika dobutamínu a pri zachovaní reflexných a kompenzačných mechanizmov.

$\alpha 7$ -deficientné myši a myši divokého kmeňa sme podaním 2,5%-ného roztoku tribromoetanolu uviedli do anestézy a po dosiahnutí chirurgického štádia zmerali EKG. Následne sme vypreparovali pravú *arteria carotis*, do ktorej sme zaviedli katéter, zaznamenali hemodynamickú krivku a odčítali z nej hodnoty systolického a diastolického arteriálneho tlaku a srdcovú frekvenciu. S katétrom sme pokračovali až do ľavej komory, kde sme opäť zaznamenali hodnoty systolického, diastolického, systolicko-diastolického ľavokomorového tlaku, údaje o rýchlosti kontrakcie (+dp/dt) a relaxácie ľavej komory (-dp/dt). Do ľavej *vena jugularis* sme podávali dobutamín vo forme kumulatívnej dávky a sledovali sme zmeny v hemodynamických parametroch ľavej komory.

Základné bazálne hodnoty arteriálneho a ľavokomorového tlaku sa medzi jednotlivými genotypmi nelíšili. Po podávaní kumulatívnej dávky dobutamínu sme u $\alpha 7$ -deficientných jedincov zaznamenali signifikatne nižší nárast ľavokomorového systolického, systolicko-diastolického tlaku ako u divokého kmeňa myší. Ostatné hemodynamické parametre namerané v ľavej komore sa počas aplikácie nelíšili.

Na základe našich výsledkov možno konštatovať, že nikotínové receptory tvorené podjednotkou $\alpha 7$ hrajú dôležitú úlohu v regulácii fyziológie srdca sprostredkovanej sympatikom a parasympatikom.

Táto práca vznikla za podpory grantu APVV grant SK-CZ-0028-09, SK-FR-0031-09, SK-FR-0048-11, VEGA 1/1139/12.

HODNOCENÍ A POROVNÁNÍ BIOLOGICKÝCH EFEKTŮ STRUKTURÁLNĚ PŘÍBUZNÝCH LÁTEK IZOLOVANÝCH Z *MORUS ALBA L.*

¹ Müller Závalová V., ² Bárta T., ³ Šmejkal K., ⁴ Souček K., ¹ Kollár P.

¹Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno, Česká Republika; ²Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká Republika; ³Ústav přírodních léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno, Česká Republika; ⁴Oddělení cytokinetiky, Biofyzikální ústav, Akademie věd České republiky, v.v.i., Brno, Česká Republika

Preklinické hodnocení potenciálně účinných látek, získaných ze syntetických nebo přírodních zdrojů, je nutnou součástí vývoje nového léku. Flavonoidy představují velmi širokou paletu rostlinných metabolitů s významnými farmakologickými účinky. Tato práce představuje možný postup hodnocení účinků neznámých látek od stanovení efektu na nižších morfologických úrovních přes ověření koncentrací pro následující *in vivo* experimenty a predikce potenciálního mechanismu působení na základě pilotních výsledků.

Cílem této práce bylo na látkách izolovaných z *Morus alba L.* charakterizovat postup pro hodnocení cytotoxicity a biologických účinků nově identifikovaných potencionálních léčiv.

V práci byly použity následující metody: hemocytometr (hodnocení viability a kinetiky buněčného růstu), WST-1 (stanovení buněčné proliferace), průtoková cytometrie (analýza buněčného cyklu), NBT (hodnocení cytodiferenčního účinku), imunocytochemické barvení.

Výsledky hodnocení provedených experimentů ukázaly vliv modifikace chemické struktury prenylovaných flavanonů izolovaných z *Morus alba L.* na rozdílné spektrum účinků. Po 24 hodinách byl zaznamenán u jedné ze tří testovaných látek výrazný antiproliferační účinek na úrovni inhibice přesunu buněk z G1 do S-fáze buněčného cyklu, který byl potvrzen na několika typech buněčných linií. Tento efekt je pravděpodobně způsoben vazbou hydroxy skupiny a geranylového řetězce na B kruh struktury flavonoidů. Chemická příbuznost dalších dvou látek, lišících se metylací v *ortho* poloze, znamená posun od statisticky nevýznamného vlivu na kinetiku buněčného růstu až k cytotoxicitě. Metylovaný derivát vykazoval jako jediný schopnost indukovat diferenciaci nádorových buněk do terminálního vývojového stádia a to i v porovnání s *all-trans* retinovou kyselinou, která je v klinické praxi lékem volby nádorových onemocnění myelocytární řady.

Realizace této práce byla umožněna díky grantové podpoře projektů IGA VFU Brno (3/2010/FaF, 62/2011/FaF).

NASMEROVANIE MULTIPOTENTNÝCH KMEŇOVÝCH BUNIEK K METABOLIZMU SVALOVÝCH BUNIEK

Musil, P., Sioti K., Mlynárová J., Menšíková L., Stahlová K., Křenek, P., Kyselovič, J.

Farmaceutická fakulta UK v Bratislave

Bunková terapia je jedným z najdiskutovanejších terapeutických prístupov v posledných rokoch. V centre záujmu sú predovšetkým dve hľadiská - možnosť vytvorenia nového orgánu *de novo* a záchrana poškodenej časti orgánového systému. V publikovanom experimente sme zisťovali možnosti diferenciacie kmeňových buniek po inkubácii vybranými aktívnymi liečivami.

Vstupná hypotéza je, že kmeňové bunky sa môžu diferencovať do kardiomyocytov alebo hladko-svalových buniek pod vplyvom kyseliny acetylsalicylovej alebo hydrokortizón sukcinátu sodného, a tak by mohli byť účinnejšie použiteľné na terapiu chorôb srdca.

Kostná dreň bola odobratá z hrebeňa bedrovej kosti hospitalizovaných pacientov NUSCH. Kvalita kmeňových buniek bola určená prietokovou cytometriou (MACSQuant). V 1 ml bunkovej suspenzie sme detegovali 39% viabilných buniek aj po rozmrazení. Na vytvorenie zodpovedajúceho prostredia na inkubáciu po dobu 2, 8 a 24 hodín bol spolu s ďalšími substanciami použitý objem 1 ml kmeňových buniek. Na detekciu špecifických receptorov pre kardiomyocyty a hladko-svalové bunky boli použité zodpovedajúce primery RT PCR.

Po inkubácii sme našli zmenu množstva mRNA nasledujúcich proteínov: ryanodínový receptor 2 (RYR2), vimentín (VIM), aktín hladkej svaloviny (ACTA2) a srdcovo-špecifický aktín (ACTC1). Ďalej sme našli zmenu metabolickej aktivity smerujúcej k vzniku srdcových a hladko-svalových buniek.

Pozorovali sme, že inkubácia kyselinou acetylsalicylovou alebo hydrokortizónom mohla naštartovať génovú expresiu smerom k srdcovým a hladko-svalovým bunkám. Z tohto dôvodu sú potrebné ďalšie experimenty na identifikovanie podstaty a mechanizmov týchto zmien.

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a vývoj pre projekt Biomakro 2, ITMS 26240120027, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

PYCNOGENOL® NORMALIZUJE KOMOROVÚ DEPOLARIZÁCIU U DIABETICKEJ KARDIOMYOPATIE BEZ OVPLYVNENIA ZVÝŠENEJ EXPRESIE KONEXÍNU 43

¹Nemčeková V., ¹Jankyová S., ¹Černecká H., ¹Potúček P., ¹Dóka G., ¹Kyselovič J.,
¹Křenek P., ²Babál P., ¹Klimas J.

¹*Katedra farmakológie a toxikológie, FaF UK v Bratislave,* ²*Ústav patologickej anatómie LF UK v Bratislave*

V modeli streptozotocínom (STZ) indukovaného diabetu mellitus (DM) boli popísané významné zmeny v expresii konexínu 43 (Cx43), ktoré by mohli súvisieť s EKG abnormalitami. V tejto práci sme testovali možnosti Pycnogenol®-u (PYC) ovplyvňovať vďaka redukcii hyperglykémie EKG abnormality a s tým spojené zmeny expresie Cx43.

Použili sme potkanov Wistar, u ktorým sme aplikovali streptozotocín (3-krát 25 mg/kg/d, *i.p.*). Dva týždne potom sme jednu skupinu zvierat liečili PYC v pitnej vode (50 mg/kg/d) po dobu ďalších ôsmich týždňov. Kontroly dostávali vehikulum (CON). Registrovali sme 12-zvodové EKG u zvierat v tribrómetanolovej anestézii (15 ml/kg, *i.p.*). Zvieratám bola meraná hladina preprandiálnej glukózy vo venóznej krvi. Po utratení boli vzorky ľavej komory analyzované histologicky aj pomocou metódy western blot na stanovenie expresie Cx43.

Experimentálny DM bol charakterizovaný signifikantnou preprandiálnou hyperglykémiou ($28,8 \pm 1,4$ mmol/l, $p < 0,05$ vs. CON), ktorý PYC dokázal signifikantne redukovat' ($12,9 \pm 1,1$ mmol/l, $p < 0,05$ vs STZ), ale nie normalizovať (CON: $5,6 \pm 0,2$ mmol/l). Diabetická kardiomyopatia sa prejavila edémom myokardu, hypotrofiou kardiomyocytov (-29% hrúbky buniek, $p < 0,05$ vs. CON), ale bez známok apoptózy alebo reparatívnej fibrózy. Žiadnu z týchto abnormalít PYC neovplyvnil. PYC redukoval abnormálny nárast veľkosti a trvania QRS komplexu, ale nemenil predĺženie QT intervalu. Zároveň nemal vplyv ani na signifikantný nárast expresie Cx43 u diabetických sŕdc (STZ: +83%, $p < 0,05$ vs. CON).

PYC v našej práci normalizoval komorovú depolarizáciu, ale nie repolarizáciu u diabetických potkanov. Predpokladáme, že stabilná nadexpresia Cx43 by mohla súvisieť s týmto nálezom.

S podporou grantov VEGA 1/0981/12 a 1/1253/12.

POROVNANIE ÚČINKU H_1 A H_4 ANTIHISTAMINÍK NA OXIDATÍVNE VZPLANUTIE NEUTROFILOV

¹Nosál R., ¹Drábiková K., ¹Jančinová V., ¹Perečko T., ²Lojek A., ²Číž M., ²Králová J.

¹Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV Bratislava, ²Biofyzikální ústav AV ČR
Brno

Profesionálne fagocytárne bunky zohrávajú kľúčovú úlohu v eliminácii mikroorganizmov, imunitných reakciách a patologických stavoch, akými sú zápal, ischemia-reperfúzia, neoplázia a iné.

Zistili a publikovali sme výsledky, s inhibičným účinkom H_1 antihistaminík (AH) na oxidatívne vzplanutie profesionálnych fagocytov v závislosti od ich chemickej štruktúry a fyzikálno-chemických vlastností. H_4 AH predstavujú novú skupinu perspektívnych látok s využitím ich protizápalového a imunomodulačného účinku. V nadväznosti, v tejto štúdii sme porovnali účinok H_1 a H_4 AH na oxidatívne vzplanutie ľudskej krvi a izolovaných neutrofilov pomocou luminolom a/alebo izoluminolom zosilnenej chemiluminiscencie (ChL) *in vitro*. Celkovo sme analyzovali účinok 13 H_1 AH prvej a druhej generácie a látky JNJ7777120, JNJ10191584 a thioperamidu zo skupiny H_3/H_4 AH.

Väčšina testovaných látok zo skupiny H_1 AH inhibovala stimulovanú ChL generovanú neutrofilmi v plnej krvi v koncentračnej závislosti. H_1 AH inhibovali ChL izolovaných neutrofilov ako na extra- tak aj intracelulárnej úrovni. Histamín bol účinný len extracelulárne. Predpokladá sa nereceptorové pôsobenie H_1 AH. Látka JNJ7777 inhibovala ChL plnej krvi stimulovanú PMA(forbol-myristát-acetát) a spolu s JNJ10191584 stimuláciu po OpZ (opsonizovaný zymosan). Na druhej strane potencovala ChL po stimulácii A23187 (vápnikový jonofor). Thioperamid bol neúčinný. V izolovaných neutrofiloch látka JNJ 7777 potlačila ChL stimulovanú PMA na extra- aj intracelulárnej úrovni. Thioperamid a JNJ1019 neovplyvnil extracelulárnu ChL.

Rozdielnosť v pôsobení H_1 a H_4 AH na oxidatívne vzplanutie ľudských neutrofilov vyžaduje ďalšie, detailné štúdie na bunkovej a molekulárnej úrovni. Kým účinok H_1 AH (terapeuticky používaných) na ChL môže súvisieť s ovplyvnením intracelulárnych regulačných mechanizmov neutrofilov (inhibícia proteinkinázy C po dithiadene), mechanizmus pôsobenia H_4 AH môže súvisieť s aktiváciou membránových receptorov v prítomnosti extracelulárnych kofaktorov podieľajúcich sa na degranulácii neutrofilov.

Práca vznikla s podporou projektov COST Action BM0806, VEGA 2/0003/10, APVV-052-10, a -0315-07.

**INTOXIKÁCIE CITALOPRAMOM, ESCITALOPRAMOM A SERTRALÍNOM
KONZULTOVANÉ S NÁRODNÝM TOXIKOLOGICKÝM INFORMAČNÝM CENTROM
V ROKOCH 2007-2011**

¹ Ondriašová E., ¹ Fabianová D., ² Cagáňová B., ² Plačková S.

¹ *Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava,* ² *Národné toxikologické informačné centrum, Klinika pracovného lekárstva a toxikológie, Univerzitná nemocnica Bratislava*

Národné toxikologické informačné centrum (NTIC) v Bratislave poskytuje telefonické konzultácie lekárom aj neodbornej verejnosti pri akútnych intoxikáciách liekmi, chemikáliami, hubami, rastlinami, drogami a živočíšnymi toxínmi. Za päťročné obdobie 2007-2011 bolo hlásených 15 755 intoxikácií, z toho 7 482 spôsobených liekmi. Hlásených intoxikácií antidepresívami bolo 854, pričom najčastejšie boli konzultované citalopram, escitalopram a sertralín zo skupiny selektívnych inhibítorov spätného vychytávania serotonínu (SSRI), trazodon a mirtazapín.

V práci sú analyzované otravy vybranou trojicou antidepresív z hľadiska pohlavia, veku, príčiny, stupňa závažnosti, symptómov a terapeutických postupov. Počas päťročného obdobia bolo zaznamenaných 363 intoxikácií (citalopram – 167, escitalopram – 100, sertralín – 96), prevažne u žien (64,5 %) a prevažne vo veku od 19 do 50 rokov. Náhodné otravy sa vyskytovali len ojedinele; výrazne prevládali intoxikácie so suicidálnym úmyslom (95,3 %). Z analyzovaných otráv bolo 17,6 % monointoxikácií (citalopram – 22, escitalopram – 15, sertralín – 27) a 82,4 % kombinovaných intoxikácií. Najčastejšie zneužívané liečivá pri kombinovaných intoxikáciách boli benzodiazepíny (134), antipsychotiká (80) a iné antidepresíva (68). V 84 prípadoch bol súčasne požitý alkohol. Symptómy intoxikácií samotnými analyzovanými antidepresívami boli prevažne somnolencia (34 %), vracanie (13 %), tachykardia, tremor, mydriáza (po 11 %). Zo všetkých analyzovaných intoxikácií bolo 72 % len s miernymi, reverzibilnými, spontánne odznievajúcimi príznakmi. Zaznamenaná bola 1 letálna intoxikácia citalopramom a risperidonom u oslabenej polymorbídnej pacientky. V terapii otráv prevládalo podanie aktívneho uhlia, v menšej miere boli použité laxatíva, žalúdočná laváž a forsírovaná diuréza.

Výsledky práce potvrdili, že SSRI sú omnoho bezpečnejšie v porovnaní s tricyklickými antidepresívami, majú vyšší terapeutický index a závažné intoxikácie spôsobujú až po mnohonásobnom prekročení terapeutической dávky.

NON-COMPLIANCE PACIENTOV SO SKLERÓZOU MULTIPLEX PRI IMUNOMODULAČNEJ LIEČBE

Pankuchová I., ¹ Procházková L., Čorejová A.

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava, ¹Univerzitná nemocnica ak. L. Déreza LF UK, II. Neurologická klinika, Bratislava

Podávanie imunomodulačnej terapie u pacientov so sklerózou multiplex napomáha procesu ochrany myelínu axónov a je liečbou voľby u nás aj v zahraničí. Imunomodulačná liečba slúži na oddialenie progresii ochorenia a zníženie počtu relapsov (zmierňuje postihnutie a zmenšenie zápalu mozgu), avšak už počas prvých šiestich mesiacoch tejto liečby sa u 45% pacientov objavuje non-compliance z dôvodu nežiaducich účinkov. Mnohí pacienti so sklerózou multiplex sa nedokážu vyrovnať nielen s neliečiteľnosťou tohto ochorenia, ale aj s injekčným spôsobom aplikácie liečiva.

Cieľom našej práce bolo spracovať údaje o imunomodulačnej liečbe (interferónovej aj neinterferónovej) z hľadiska spokojnosti s jej injekčnou aplikáciou, prítomnosti súvisiacich nežiaducich účinkov a dôvodov, ktoré viedli u niektorých pacientov k zmene typu imunomodulačnej liečby. Údaje od 62 pacientov s relaps – remitujúcou formou sklerózy multiplex diagnostikovanou lekárom na základe McDonaldových kritérií a Kurtzkého škály, boli zozbierané formou dotazníka. Podmienkou pre vyplnenie dotazníka bolo užívanie interferónovej (interferónu β -1a, interferónu β -1b) alebo neinterferónovej (glatirameracetát, natalizumab) imunomodulačnej liečby minimálne 1 rok. Subjektívne zlepšenie zdravotného stavu pri užívaní imunomodulačnej terapie uviedlo 85% pacientov a 71% pacientov bolo spokojných z hľadiska prítomnosti nežiaducich účinkov. Kožná reakcia ako nežiaduci účinok bola najčastejšie zaznamenaná pri s.c. podávaní interferónu β a glatirameracetátu. U pacientov, pri ktorých došlo k zmene typu imunomodulačnej terapie, bol najčastejší dôvod zhoršenie zdravotného stavu potvrdený neurológom na základe výsledku magnetickej rezonancie. Aj napriek spokojnosti s injekčnou formou imunomodulačnej liečby z hľadiska subjektívneho zlepšenia stavu pacientov s relaps – remitujúcou formou sklerózy multiplex a výskytu zvládnuteľných nežiaducich účinkov až 64,5% pacientov by uvítalo perorálne podávanie imunomodulačnej liečby.

DERIVÁTY STILBÉNU INDUKUJÚ APOPTÓZU ĽUDSKÝCH NEUTROFILOV

¹ Perečko T., ¹ Drábiková K., ¹ Nosál R., ² Harmatha J., ¹ Jančinová V.

¹ *Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV Bratislava, SR, ²Ústav organickej chémie a biochémie, AV České republiky v.v.i., Praha, ČR*

Chronické zápalové ochorenie ako napr. reumatoidná artritída alebo cystická fibróza, sú charakteristické infiltráciou neutrofilov do zápalových ložísk. Aktivované neutrofily produkujú reaktívne metabolity kyslíka a dusíka a vyznačujú sa dlhším prežívaním, čo môže prispieť k patogenéze daného ochorenia. Deriváty stilbénov sú známe svojim proapoptickým pôsobením na rôzne typy bunkových línií a nádorových buniek. V tejto práci sme testovali vybrané deriváty stilbénu na apoptózu ľudských neutrofilov.

Izolované ľudské neutrofily od zdravých dobrovoľníkov sme inkubovali in vitro s resveratrolom, pterostilbénom, pinosylvínom alebo piceatanolom (1 – 100 $\mu\text{mol/l}$). Luminometricky sme stanovili cytotoxicitu daných derivátov a pomocou prietokovej cytometrie (annexín/propídium jodid) sme sledovali ich proapoptický účinok na neutrofily. Zvýšenie alebo zníženie aktivity ľudskej rekombinantnej kaspázy-3 sme merali pomocou luminometrie.

Ani jedna z testovaných látok nezvyšovala uvoľnenie ATP z buniek a teda nepôsobila cytotoxicky. Resveratrol a piceatanol (100 $\mu\text{mol/l}$) signifikantne zvýšili počet apoptických neutrofilov v porovnaní s kontrolou. Pterostilbén a pinosylvín v koncentrácii 1 $\mu\text{mol/l}$ zvyšovali aktivitu kaspázy-3. Na druhej strane, všetky testované látky v koncentrácii 100 $\mu\text{mol/l}$ inhibovali aktivitu kaspázy-3.

Z výsledkov našej práce vyplýva, že štruktúra derivátov stilbénu má vplyv na proapoptické pôsobenie týchto látok na ľudské neutrofily a aktivitu kaspázy-3. Tento enzým je zodpovedný za exekučnú fázu apoptózy v ľudských neutrofiloch. Keďže resveratrol a piceatanol pôsobili proapopticky na neutrofily, ale inhibovali aktivitu kaspázy-3, predpokladáme, že dané látky indukujú apoptózu nezávisle od kaspázy-3.

Grantová podpora: VEGA 2/0003/10, APVV 0315-07 a APVV 0052-10.

ANTIPROLIFERATÍVNE ÚČINKY INDOLOVÝCH FYTOALEXÍNOV: VZŤAH ŠTRUKTÚRA A ÚČINOK

¹ Pilátová M, ² Kutschy P, ¹ Chripková M, ¹ Drutovič D, ³ Mojžišová G, ¹ Mojžiš J.

¹ Ústav farmakológie, LF UPJŠ Košice, ² Katedra organickej chémie, PF LF UPJŠ Košice

³ Ústav experimentálnej medicíny, LF UPJŠ Košice

Zhubné nádory predstavujú podielom 20-25% na všetkých úmrtiach vo väčšine vyspelých krajín. Množstvo dôležitých protinádorových liečiv bolo získaných modifikáciou štruktúry prírodných látok, alebo syntézou nových látok dizajnovaných podľa nich. Indolové fytoalexíny sa prirodzene vyskytujú v kapustovitej zelenine, ktorej zvýšená konzumácia sa dáva do súvislosti so zníženým rizikom vzniku nádorových ochorení.

Cieľom práce bolo sledovanie vzťahu medzi štruktúrou vybraných indolových fytoalexínov a antiproliferatívnym účinkom v *in vitro* podmienkach.

Charakteristickým štruktúrnym znakom indolových fytoalexínov je prítomnosť indolového kruhu a postranného reťazca, alebo iného heterocyklu, obsahujúceho atóm dusíka a jeden alebo dva atómy síry. V našich *in vitro* experimentoch na bunkovej línii Jurkat sme spozorovali, že metoxylácia indolových fytoalexínov obsahujúcich aromatické substituenty (spirobrasinín, spirobrasinín) vedie k zníženiu ich antiproliferatívnych účinkov a naopak, u indolových fytoalexínov, ktoré vo svojej štruktúre neobsahujú aromatické substituenty (brasinín, brasitín, brasenín A, brasenín B), naviazanie metoxyskupiny na indolové jadro má za následok zvýšenie ich cytotoxického účinku.

Sledovaním vplyvu glyoxylovej skupiny na antiproliferatívnu aktivitu prirodzene sa vyskytujúcich indolových fytoalexínov brasinínu, 1-metoxybrasinínu, brasitínu, 1-metoxybrasitínu a 1-metoxybrasinínu sme spozorovali, že prítomnosť tejto skupiny u analógov brasinínu a brasitínu viedla k vzniku neaktívnych látok. Na druhej strane, prítomnosť glyoxylovej skupiny u derivátov 1-metoxybrasinínu, ktorý je S-metylovým derivátom brasinínu, mala za následok zvýšenie cytotoxického účinku.

Výsledky tejto práce poukazujú na opodstatnenosť výskumu zaoberajúceho sa testovaním nových látok prírodného pôvodu a ich syntetických derivátov a sledovaním vzťahov medzi účinkom a štruktúrou a ich možným využitím v protinádorovej terapii.

Práca vznikla za podpory agentúry MŠ pre štrukturálne fondy EÚ, číslo projektu ITMS: 26220120039 a grantu Slovenskej vedeckej grantovej agentúry VEGA č. 1/0751/12.

**DYNAMIKA EXPRESIE GÉNOV REGULUJÚCICH Ca^{2+} HOMEOSTÁZU
A KONTRAKTILITU MYOKARDU POČAS ROZVOJA DYSFUNKCIE ĽAVEJ KOMORY
NAVODENEJ BETA ADRENERGICKOU STIMULÁCIU**

Piváčková L., Černecká H., Klimas J., Kyselovič J., Křenek P.

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

Srdcové zlyhávanie je spojené s neurohumorálnou aktiváciou, downreguláciou Ca^{2+} -izoformy ťažkého reťazca myozínu (MYH6) a zmenami v Ca^{2+} homeostáze v kardiomyocytoch, čo môže prispievať k dysfunkcii ľavej komory a dysrýmiám.

Cieľom práce bolo porovnať dynamiku zmien expresie SERCA2a, ryanodínového receptora 2 (RYR2), Ca^{2+} podjednotky L-typu Ca^{2+} kanála (CACNA1c), MYH6 a MYH7 so zmenami vo funkcii ľavej komory pri izoprenalínom navodenej hypertrofii myokardu.

20-týždňovým potkanom kmeňa Wistar ($n=50$) bol podávaný izoprenalín (IZO) v dávke 5 mg/kg, i.p. raz denne po dobu 1, 2, 4 a 8 dní, zvieratá boli utratené v CO_2 . Pomocou qRT-PCR boli stanovené hladiny mRNA pre RYR2, SERCA2a, CACNA1c, MYH6, MYH7 a atriálny nátriuretický peptid (ANP) v tkanive ľavej komory. Na ďalšej skupine zvierat ($n=75$), ktoré dostávali IZO podľa rovnakého protokolu, boli katetrizáciou merané funkčné parametre ľavej komory.

Hmotnosť srdca vzrástla už na 1. deň po podaní IZO ($p<0,05$) a rástla až do 8. dňa ($p<0,05$). Nárast sprevádzala upregulácia ANP ($p<0,01$). Hladiny SERCA2a mRNA boli znížené od 1. ($p<0,01$) po 8. deň ($p<0,05$). Expresia RYR2 klesla počas 2. ($p<0,05$) a 4. dňa ($p<0,05$), CACNA1c bola znížená v 4. dni ($p<0,05$). Pomer expresie MYH6:MYH7 bol znížený od 1. do 8. dňa ($p<0,05$), pričom za túto zmenu bola zodpovedná downregulácia MYH6, expresia MYH7 sa nemenila. Tepová frekvencia nebola zmenená, ľavokomorový tlak klesol už v 1. dni pokusu ($p<0,05$) a zostal znížený až do 8. dňa ($p<0,001$). $\text{dp/dt}_{\text{max}}$ aj $\text{dp/dt}_{\text{min}}$ boli znížené len na 4. deň ($p<0,05$).

Dysfunkcii ľavej komory predchádzala rýchla downregulácia fyziologického MYH6. Dysfunkcia koincidovala s downreguláciou SERCA2a. Zmeny v expresii ostatných génov súvisiacich s Ca^{2+} homeostázou sa môžu podieľať až na neskorších fázach rozvoja dysfunkcie ľavej komory po preťažení katecholamínmi.

Grantová podpora: VEGA 1/0981/12, UK/449/2012

HYPOXICKO-ISCHEMICKÉ POŠKODENIE NEONATÁLNEHO MOZGU: ŠTÚDIUM ETIO-PATOGENETICKÝCH MECHANIZMOV A MOŽNOSTI ICH OVPLYVNENIA

Plachá K., Bačiak L., Juránek I.

Department of Biochemical Pharmacology, Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

Hypoxicko-ischemická encefalopatia (HIE) je jednou z najzávažnejších novorodeneckých patológií. Pre HIE sú charakteristické problémy s dýchaním, znížený svalový tonus, utlmené šľachové reflexy, poruchy vedomia, kŕčové stavy. Atypická HIE môže prebiehať bez zjavných prejavov mozgového poškodenia; často však dochádza k závažným ireverzibilným poškodeniam, z nichž niektoré môžu byť nezlučiteľné so životom. Následky HIE sú rôzne, od úplného vyzdravenia cez poruchy učenia v neskoršom období, ľahkú mozgovú dysfunkciu až po závažné neurologické poruchy, typu mentálnej retardácie a detskej mozgovej obrny. Mechanizmy HIE nie sú zatiaľ celkom objasnené. Obmedzený prísun kyslíka do mozgu vedie k zmene oxidatívneho metabolismu na anaerobný s následnou acidózou. Primárne energetické zlyhanie má za následok akútny pokles hladín vysokoenergetických fosfátov. V priebehu 1-2 dní môže dojsť k sekundárnemu energetickému zlyhaniu, pre ktoré je charakteristická najmä apoptóza, porucha vychytávania glutamátu, nadmerná tvorba reaktívnych foriem kyslíka a dusíka, aktivácia zápalovej reakcie a i. Pre štúdium kľúčových etio-patogenetických mechanizmov HIE za účelom efektívneho terapeutického ovplyvnenia sa využíva celý rad *in vivo* modelov. Jedným z nich je model Rice-Vannucci, ktorý je kombináciou trvalej oklúzie *a. carotis communis sinistra* s následnou hypoxiou u 7-dňových mláďat potkana. K poškodeniu dochádza v ipsilaterálnej hemisfére a kontralaterálna slúži ako kontrola. Medzi neinvazívne vyšetrovacie metódy patrí zobrazovanie (MRI) a spektroskopia (MRS) pomocou magnetickej rezonancie; zvýšená hladina laktátu a pokles hladín vysokoenergetických fosfátov indikujú zlyhanie energetického metabolizmu v mozgu. V klinickej praxi absentuje efektívna liečba HIE novorodencov. Experimentálne štúdie sú zamerané na hypotermiu a optimálnu oxygeno-terapiu, resp. ich kombináciu. Potenciálnu farmakoterapiu možno rozdeliť podľa mechanizmu účinku na blokádu vstupu kalcia, inhibíciu glutamátu a jeho receptorov, inhibíciu oxidačného stresu a zápalovej kaskády, antiapoptotické pôsobenie a vplyv rastových faktorov. Práca sa zaoberá niektorými kľúčovými mechanizmami etiopatogenézy, problémami včasnej diagnostiky, neuroprotektívnej terapie a profylaxie závažných následkov HIE novorodencov.

Supported in part by the VEGA (2/0048/11 and 2/0149/12).

TERAPEUTICKÝ EFEKT KARNOZÍNU V EXPERIMENTÁLNEJ ARTRITÍDE A JEHO PROTEKTÍVNY ÚČINOK NA PRIMÁRNU BUNKOVÚ KULTÚRU CHONDROCYTOV

¹Poništ S., ¹Dráfi F., ¹Kuncírová V., ¹Mihalová D., ¹Račková L., ¹Ondrejčková O.,
²Tumová I., ³Trunova O., ³Fedorova T., ¹Bauerová K.

¹Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV, Bratislava, ²Farmaceutická fakulta, UK, Bratislava, ³Výskumný ústav neurológie, Ruská akadémia medicínskych vied, Moskva, Rusko

Pre karnozín (KA) sa zistili neuroprotektívne, antioxidačné, hepatoprotektívne a starnutie spomaľujúce účinky. Avšak, jeho potenciálne protizápalové účinky v systémových autoimunitných ochoreniach neboli doteraz veľmi prebádané.

Cieľom tejto komplexnej štúdie bolo overiť: 1) terapeutický efekt KA na adjuvantnú artritídu (AA) potkanov Lewis; 2) jeho protizápalové vlastnosti v modeli karagenínového opuchu zadných končatín potkana (KOK); 3) antioxidačné a protektívne vlastnosti KA na primárnu kultúru chondrocytov (PKCh).

Experimenty sme uskutočnili na zdravých kontrolných potkanoch, neliečených artritických potkanoch a artritických potkanoch, ktorým sa podával KA v *p.o.* dávke 150 mg/kg/deň počas 28 dní experimentu a tá istá dávka sa podala jednorázovo potkanom s KOK. KA sa aplikoval v troch koncentráciách - 0,1, 0,01 a 0,001 mmol/l na bunky PKCh, ktoré následne boli poškodené pridaním H₂O₂.

Po aplikácii KA sa zistilo výrazné zníženie množstva intracelulárnych oxidantov a čiastočné zachovanie viability chondrocytov poškodených H₂O₂. KA pozitívne ovplyvnil klinické parametre (opuch zadných končatín a zmenu hmotnosti) merané v časovom profile (14., 21. a 28. deň), signifikantne 14. deň. Biochemické a imunologické parametre sa stanovili 28. deň. Aktivita GGT v slezine a v kĺbe a taktiež ukazovatele oxidačného poškodenia v plazme (TBARS, karbonyly proteínov a oneskorenie Fe^{II}-indukovanej peroxidácie lipidov) sa benefične upravili podávaním KA. Zistili sme zvýšenie hladiny karbonylov proteínov a aktivity GR v mozgu potkanov s AA. Aj tieto zmeny sa signifikantne znížili podávaním KA. Imunologické parametre - IL-1α a MCP-1 v plazme, boli taktiež signifikantne znížené podávaním KA. Navyše KA znižoval opuchy aj v modeli KOK. Výsledky získané v dvoch zvieracích modeloch a na PKCh preukázali systémový protizápalový a antioxidačný účinok študovanej látky. KA by mohol byť dôležitým doplnkom terapie reumatoidných ochorení.

Podakovanie: VEGA 2/0045/11, SAS-RAMS 2010-2012: Regulation of cytokine synthesis during inflammation development in brain and other tissues.

REZISTENCIA NA ANTITUBERKULOTIKÁ V SR

¹ Porvazník I., ² Mokrá J., ¹ Solovič I.

¹Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy

²Ústav farmakológie JLF UK, Martin

Hoci tuberkulóza (TB) patrí v súčasnosti v Slovenskej republike k zriedkavejším respiračným ochoreniam a patríme ku krajinám s jej nízkym výskytom, v niektorých krajinách jej incidencia z roka na rok rastie. Oveľa závažnejšie je však skutočnosť, že sa u nás objavujú aj kmene mykobaktérií, ktoré sú rezistentné na rôzne antituberkulotiká (AT).

Cieľom tejto práce je poukázať na problém, ktorým sa stávajú kmene *Mycobacterium tuberculosis* s rezistenciou najmä na viaceré AT.

Podľa najnovších zistení viac ako 3 % všetkých nových prípadov na celom svete predstavujú multirezistentnú tuberkulózu (MDR-TB). V rámci SR bolo novo-identifikovaných v roku 2011 deväť prípadov MDR-TB, pričom bola zistená rezistencia na prvolíniové antituberkulotiká – izoniazid (9), rifampicín (9), streptomycín (5), pyrazínamid (5) a ethambutol (1) – ako aj druholíniové antituberkulotiká – kanamycín (5), ethionamid (3) a cykloserín (1). Vzhľadom na zachovanú citlivosť na fluorochinolóny a polypeptidové antibiotiká (kapreomycín) môžeme konštatovať, že na Slovensku nie je v súčasnosti diagnostikovaný ani jeden prípad tuberkulózy tzv. XDR-TB.

Napriek tomu, že v SR pozorujeme pokles výskytu TB, toto ochorenie predstavuje celosvetovú hrozbu a globalizácia zvyšuje riziká jej importu, a to najmä jej epidemiologicky závažnejších foriem (MDR a XDR). Aj preto je sledovanie účinnosti AT v individuálnych prípadoch nevyhnutné na hodnotenie stupňa rezistencie a výskytu multirezistentných kmeňov v rámci SR.

Práca bola podporená projektom "Dobudovanie Centra experimentálnej a klinickej respirológie – CEKR2" spolufinancovaným zo zdrojov ES.

L-ARGINÍN ZLEPŠUJE FUNKCIU ĽAVEJ KOMORY BEZ VPLYVU NA OSTATNÉ ZMENY U IZOPRENALÍNOM INDUKOVANÉHO POŠKODENIA SRDCA

Potúček P., Kráľová E., Černecká H., Nemčeková V., Dóka G., Piváčková L., Kyselovič J.,
Křenek P., Klimas J.

Katedra farmakológie a toxikológie, FaF UK v Bratislave, UK v Bratislave

V predchádzajúcich prácach sme ukázali úzky súvis medzi expresiou endotelovej NO syntázy (eNOS) a rozvojom zlyhania srdca, čo by mohlo potvrdzovať hypotézu o protektívnom účinku eNOS v srdci. V tejto práci sme sa zamerali na možnosti L-arginínu, ako substrátu pre eNOS, zabrániť, resp. zmierniť poškodenie srdca.

Použili sme potkanov Wistar, u ktorým sme indukovali poškodenie srdca aplikáciou izoprenalínu počas ôsmich dní (ISO, 5 mg/kg/d, *i.p.*). Skupina zvierat bola medikovaná L-arginínom v pitnej vode (ARG, ISO+ARG, 40 g/kg/d). Na konci sme merali funkciu ľavej komory v tribrómetanolovej anestézii (15 ml/kg, *i.p.*). Po utratení boli vzorky ľavej komory analyzované pomocou metódy western blot na stanovenie expresie proteínov NO-signálnej kaskády (eNOS, iNOS, hsp90, cav-1, cav-3).

Aplikácia ISO zvýšila signifikantne relatívnu masu komôr srdca o 33% ($p < 0,05$) a spôsobila celkovú mortalitu zvierat na úrovni 50%. L-arginín nemal vplyv na tento nález. Zaznamenali sme signifikantný pokles funkčných parametrov ľavej komory na úrovni rýchlosti kontrakcie ($dP/dt_{\max}$ -29%, $p < 0,05$) aj relaxácie ($dP/dt_{\min}$ -32%, $p < 0,05$), pričom L-arginín dokázal tento pokles redukovať. Na úrovni expresie proteínov v srdci sme zaznamenali nárast množstva eNOS u všetkých medikovaných skupín (ARG: +38%, ISO: +30%, ISO+ARG: +56%, $p < 0,05$) a signifikantný pokles cav-1 u skupiny ISO+ARG (-31%, $p < 0,05$).

L-arginín nemal vplyv na celkovú mortalitu po ISO, ale redukoval poškodenie mechanickej funkcie ľavej komory, pričom iba mierne potencoval zvýšenú komorovú expresiu eNOS indukovanú v tomto modeli. Signifikantný pokles cav-1, alosterického inhibítora eNOS, môže ďalej stimulovať produkciu NO z eNOS, čo môže prispievať k pozorovanému zlepšeniu funkcie srdca.

S podporou grantov VEGA 1/0981/12 a 1/1253/12.

PLEIOTROPNÉ PÔSOBENIE SIMVASTATÍNU NA MITOCHONDRIÁLNU APOPTICKÚ DRÁHU A POST-ISCHEMICKÉ OBNOVENIE KONTRAKTILITY

¹ Rajtík T., ¹ Meszárošová L., ¹ Szobi A., ¹ Maťúš M., ² Čarnická S., ¹ Švec P., ² Ravingerová T., ¹ Adameová A.

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava; ²Inštitút pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava

Je známe, že bunky myokardu vystavené ischemicko-reperfúznemu poškodeniu odumierajú aj vnútornou cestou apoptózy. Táto vnútorná mitochondriálna apoptická dráha je regulovaná systémom pro- a anti-apoptických proteínov. Okrem toho je známe, že statíny ako inhibítory HMG-CoA reduktázy, majú tzv. pleiotropné účinky, ktoré môžu byť zodpovedné za statínmi sprostredkovanú kardioprotekciu aj v procese bunkovej smrti.

V našej práci sme sledovali, či premedikácia simvastatínom v dávke 10mg/kg po dobu 7 dní ovplyvní expresiu pro-apoptických proteínov cytochrómu C, prokaspázy-3, Bax a antiapoptického Bcl-2 v srdciach potkanov vystavených ischémií a reperfúzií a či zmeny v expresii apoptických proteínov môžu súvisieť so zlepšením mechanickej práce srdca.

Zmeny v expresii apoptických proteínov boli sledované v srdciach perfundovaných podľa Langendroffa vystavených 30 minútovej globálnej ischémií a následnej 40 minútovej reperfúzií. Expresia proteínov bola stanovená metódami SDS-Page a Western blotting. Pre stanovenie spojitosti medzi post-ischemickým obnovením kontraktility a mierou apoptózy bolo zaznamenávané obnovenie tlaku vyvinutého ľavou komorou (LVDP), ktoré bolo vyjadrené v percentách oproti bazálnym pred-ischemickým hodnotám.

Premedikácia simvastatínom znižovala expresiu pro-apoptických proteínov cytochrómu C, prokaspázy-3 a Bax a zvyšovala expresiu antiapoptického Bcl-2. Vyjadrením pomeru Bcl-2/Bax sme zistili, že statínová terapia zvyšovala tento pomer v prospech antiapoptického Bcl-2 čo môže dokumentovať zníženú mieru apoptózy. Okrem toho, zlepšenie pomeru Bcl-2/Bax ko-existovalo so zlepšením post-ischemického obnovenia kontraktility.

Na záver môžeme povedať, že krátkodobá premedikácia simvastatínom môže znižovať mieru apoptózy po ischemicko-reperfúznom poškodení myokardu ovplyvnením mitochondriálnej dráhy apoptózy a zlepšovať mechanickú prácu srdca zvýšením post-ischemického obnovenia kontraktility.

Táto práca bola vypracovaná z finančnej podpory grantov VEGA 1/0620/10, 2/0054/11.

AKTIVITA CRAC IÓNOVÝCH KANÁLOV V HUMÁNNOM GRAVIDNOM MYOMETRIU MATERNICE

¹ Sadloňová V., ² Dókuš K., ¹ Jošková M., ¹ Šutovská M., ¹ Fraňová S.

¹ Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

² Gynekologicko-pôrodná klinika, Jesseniova lekárska fakulta UK a UNM, Martin

Aktivácia CRAC (calcium release-activated calcium channels) iónových kanálov, spojená so zvýšením plazmatickej koncentrácie Ca^{2+} iónov sa podieľa na mediácii celej rady bunkových odpovedí ako je sekrécia, metabolizmus, génová expresia, rast a bunková proliferácia. Je známe, že CRAC iónové kanály zohrávajú dôležitú úlohu v aktivácii lymfocytov, mastocytov a iných hematopoetických buniek. Menej poznatkov je o ich úlohe v kontrakcii buniek hladkej svaloviny vrátane myometriálnych, na povrchu ktorých sú tiež prítomné.

Cieľom našej práce bolo stanovenie aktivity kalciových CRAC iónových kanálov v humánnom gravidnom myometriu v experimentálnych podmienkach *in vitro*.

Vzorky myometria boli odobraté z operačnej rany maternice na Gynekologicko-pôrodnickej klinike JLF UK a MFN od zdravých gravidných žien v termíne pôrodu (38. - 42. t.t.), ktoré museli podstúpiť ukončenie gravidity cisárskym rezom. Štúdia bola schválená Etickou komisiou JLF UK. Všetky rodičky boli poučené o priebehu štúdie a podpísali informovaný súhlas. Na Ústave farmakológie JLF UK bola hodnotená aktivita CRAC iónových kanálov použitím špecifického antagonistu-zatvárača kalciových CRAC iónových kanálov kyseliny 3-fluoropyridín-4-karboxylovej prostredníctvom *in vitro* metódy.

Špecifický antagonista-zatvárač kalciových CRAC iónových kanálov (kyselina 3-fluoropyridín-4-karboxylová) znížil amplitúdu kontrakcie humánneho gravidného myometria v termíne pôrodu, vyvolanú oxytocínom v podmienkach *in vitro*, ale nie signifikantne.

Kalciové CRAC iónové kanály boli identifikované na bunkovej membráne ľudských, ako aj animálnych myometriálnych buniek, ale ich funkcia nie je zatiaľ dostatočne preskúmaná. Uvažuje sa, že by sa mohli výraznou mierou podieľať na kontrakčnej činnosti gravidného myometria maternice. V našej štúdii sme ich aktivitu v znížení kontrakčnej aktivity myometria nepotvrdili. Dôvodom by mohla byť ich zmenená alebo odlišná expresia v myometriu ku koncu tehotenstva, prípadne nízka nami použitá koncentrácia ich špecifického antagonistu.

Podakovanie: VEGA 1/0062/11

RELATIONSHIPS BETWEEN GENETIC ABNORMALITIES, IMMUNOPHENOTYPE AND RESPONSE TO THERAPY IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA.

¹ Sarissky M, ¹ Giertlova M, ¹ Hajikova M, ¹ Kafkova A, ¹ Tothova E

¹CLKC UF UPJS LF a Labmed, a.s., Kosice, SR, ²KHaOH UNLP a UPJS LF, Kosice, SR

The aim of the present work was to evaluate the prognostic impact of chromosomal abnormalities as detected by interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) in chronic lymphocytic leukemia (CLL) with emphasis on the response to therapy and treatment free interval (TFI). Moreover, we studied the immunophenotypical patterns of leukemic cells in relation to the adverse chromosomal abnormalities.

iFISH analysis was performed in 86 patients with confirmed diagnosis of CLL. Overall, 39 of 86 (45%) CLL cases studied displayed one (77%) or more (23%) chromosomal abnormalities, del13q (31%) being more frequently detected than trisomy 12 (19%) followed by del11q (17%), del17p (6%) and del(6q) (5%). Multiple abnormalities (2 and more) and del17p accumulated preferably in advanced Rai stages in contrast to low stages observed in cases with normal cytogenetics. Overall, significant differences were observed in the TFIs among individual cytogenetic subgroups with shortest mean TFIs in subgroups with del17p, del11q and trisomy 12 (10, 12 and 14 months, respectively) as compared to subgroups with either normal cytogenetics (38 months) or del13q (68 months). When response to the first line therapy was assessed, patients with normal cytogenetics manifested with a good response to therapy - 15 of 16 patients reached complete or at least partial remission. In contrast, del17p and del11q were associated with the highest tumor burden and disease activity as reflected by corresponding laboratory data. When expression of antigens was assessed by flow cytometry analysis, patients with 11q deletion displayed a significantly lower expression of a chemokine receptor 5 (CXCR5) and higher expression of cyBcl-2 as compared to cases with normal 11q status. The immunophenotype of patients with del17p was not significantly different from that of CLL cases with normal karyotypic findings. The tendency to a lower expression of CD79b and CD23 was however observed.

The present study confirms a high prognostic impact of chromosomal abnormalities as detected by iFISH in predicting prognosis and response to therapy in CLL patients what may enable a risk-adapted clinical management of these patients.

Acknowledgments: The work was supported by VEGA 1/0297/10 and VEGA 1/0905/12.

IN VIVO TESTOVÁNÍ NOVÝCH REAKTIVÁTORŮ NA TABUNEM INTOXIKOVANÝCH POTKANECH

Šepsová V., Kassa J.

Katedra toxikologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové, Česká republika

Tabun, na rozdíl od ostatních G látek, má ve své molekule nitrilovou a dimethylamidovou skupinu. Elektronová deficeience je eliminována volným elektronovým párem amidického dusíku a je tak tedy ztížen přístup reaktivátoru. Tabunem inhibovaná acetylcholinesteráza je obtížně reaktivovatelná standardně užívanými antidoty a proto se stále hledá nový, účinnější reaktivátor.

V této práci jsme se zaměřili na porovnání účinnosti trimedoximu a K 203 se třemi nově syntetizovanými kvartérními reaktivátory AChE (K 454, K 456, K 458) v kombinaci s atropinem na potkanech intoxikovaných tabunem (160 µg/kg i.m., 80 % LD₅₀). Pomocí Ellmanovy metody byla změřena aktivita AChE v krvi, bránice a mozku intoxikovaného potkana.

Výsledky ukazují, že reaktivační účinnost všech 3 nově vyvinutých reaktivátorů AChE je přibližně stejná, přičemž ani jeden z těchto oximů nedosahuje reaktivační účinnosti obou standardů jak v periferním tak centrálním kompartmentu. Bohužel žádný z testovaných reaktivátorů neobnovil aktivitu AChE v mozku na více než 30 % její původní aktivity. Nejvyššího reaktivačního účinku v mozku dosáhl reaktivátor K 203.

Práce vznikla za podpory grantu Ministerstva obrany: Dlouhodobý záměr rozvoje organizace „Zdravotnická problematika ZHN“

ZMENY KARDIOVASKULÁRNEHO RIZIKA PODĽA SCORE SYSTÉMU U DLHODOBO LIEČENÝCH DIABETIKOV

Sklenárová J., Jankyová S., Mašlonková V., Foltánová T.

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

Prítomnosť diabetes mellitus výrazne zvyšuje kardiovaskulárne riziko chorých. Na kvantifikáciu kardiovaskulárneho rizika sa v klinickej praxi používa viacero skórovacích systémov, najzaužívanejší je systém SCORE.

V práci retrospektívne analyzujeme dáta (012008-122009) dlhodobo liečených pacientov s diabetes mellitus 2 typu. Okrem základných demografických charakteristík sme sa zamerali aj na biochemické parametre lipidového spektra (LDL cholesterol, HDL cholesterol, celkový cholesterol) a biometrické parametre (výšku, váhu, tlak krvi). Tiež sme sledovali vybrané kardiovaskulárne rizikové faktory (fajčenie, komorbidity: artériovú hypertenziu, dyslipoproteínémiu, ischemickú chorobu srdca). Index telesnej hmotnosti sme vypočítali podľa Queteletovho vzorca. Pre zhodnotenie lipidového spektra a tlaku krvi sme použili Kritéria Svetovej zdravotníckej organizácie. Na výpočet kardiovaskulárneho rizika sme použili systém SCORE.

Sledovali sme skupinu 92 pacientov (M/Ž 41/59 %) s priemerným vekom $63,15 \pm 0,96$ [35-83] rokov. Počas sledovania sme zaznamenali signifikantný pokles kardiovaskulárneho rizika ($5,89 \pm 0,62$ % vs $4 \pm 0,42$ %, $p < 0,001$). Kým na začiatku sledovania bol modus 1 t. j. najviac pacientov 15,2 % pacientov malo SCORE do 1 % a 47, 8 % pacientov malo SCORE do 4 %. Na konci sledovania bol modus 2 % a až 60 % pacientov malo SCORE do 4 %. V práci prinášame podrobnú charakteristiku vývoja tlaku krvi, lipidového spektra, BMI ako aj celkového kardiovaskulárneho rizika podľa SCORE.

Táto práca bola podporená z grantu FaF UK/36/2011.

ANALÝZA OFF-LABEL POUŽÍVANÝCH LIEKOV V TERAPII HOSPITALIZOVANÝCH PEDIATRICKÝCH PACIENTOV

¹ Slažneva J., ² Kákošová V., ³ Kovács L., ¹ Kuželová M.

¹Katedra farmakológie a toxikológie FaFUK, Bratislava, ²Nemocničná lekáreň DFNSP, ³2. Detská klinika DFNSP, Bratislava

Lekári sú často v pediatrickej praxi nútení predpisovať a používať lieky registrované pre iné skupiny pacientov. V zahraničnej literatúre je takéto používanie liekov označované pojmom off-label. Slovenská republika dosiaľ neposkytla EMA žiadne údaje ohľadom off-label používania liekov v pediatrii (1).

Analýza farmakoterapie z pohľadu off-label používania liekov u hospitalizovaných detí predstavovala hlavný cieľ práce. Ďalším cieľom bolo určiť skupiny liekov s najvyšším podielom off-label použitých liekov.

Hospitalizovaní detskí pacienti prijatí počas dvoch mesiacov (október, november 2011) na Oddelenie dojčiat a detí predškolského veku 2. Detskej kliniky DFNSP v Bratislave boli zaradení do prierezovej štúdie. Pacienti museli spĺňať nasledovné inklúzne kritériá: vek < 18 rokov a terapia aspoň jedným liekom. Off-label použitie liekov bolo identifikované v prípade, že boli podané mimo vekového limitu, ktorý uvádzal aktuálne platný SPC.

Sledovaný súbor tvorilo 128 pediatrických pacientov s priemerným vekom 1,29 roka. K najčastejším dôvodom pre hospitalizáciu patrili ochorenia respiračného systému (31 %), choroby urogenitálneho traktu (15 %) a choroby tráviaceho systému (13 %). Pacientom v súbore bolo podaných celkovo 476 liekov. 18 % podaní liekov sme identifikovali ako off-label. Výskyt aspoň jedného off-label použitého lieku bol zistený u 40 % hospitalizovaných detí. Antiasmatiká predstavovali skupinu s najväčším podielom off-label použitých liekov vzhľadom k veku.

Výsledky analýzy potvrdili, že fenomén off-label používania liekov pri terapii hospitalizovaných detí je rozšírený a ani lekári v Slovenskej republike nemajú vždy možnosť liečiť pediatrických pacientov na základe „evidence based medicine“.

Práca vznikla za podpory Grantu Univerzity Komenského č.UK/369/2012.

KYSELINA ROZMARÍNOVÁ ZABRAŇUJE CIEVNEJ DYSFUNKCII VYVOLANEJ EXPERIMENTÁLNYM DIABETOM U POTKANOV

¹Sotníková R., ²Okruhlicová L., ³Piváčková L., ⁴Fialová S., ¹Navarová J., ²Vlkovičová J.,
³Křenek P.

¹Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, ²Ústav pre výskum srdca SAV
³Katedra farmakológie a toxikológie, ⁴Katedra farmakognózie a botaniky Farmaceutickej
fakulty UK, Bratislava

Oxidačný stres a zápalové procesy sa podieľajú na vzniku diabetických vaskulopatií, preto látky s antioxidantnými a protizápalovými účinkami by mohli ochrániť cievy alebo oddialiť nástup ich poškodenia spôsobeného dlhotrvajúcou hyperglykémiou. Cieľom práce bolo štúdium účinku kyseliny rozmarínovej, prírodného polyfenolického antioxidantu a protizápalovej látky, na modeli streptozotocínom (STZ) vyvolaného diabetu u potkanov.

Diabetes sa vyvolal opakovanou dávkou STZ 30 mg/kg 3 dni po sebe. Kyselina rozmarínová sa podávala v dennej dávke 50 mg/kg *p.o.* Po 10 týždňoch sa zvieratá usmrtili a aorta bola odobraná na funkčné a elektrónmikroskopické štúdie a na analýzu real time PCR.

Podanie STZ vyvolalo hyperglykémiu, charakteristické zmeny hmotnosti zvierat, dennej spotreby vody a vylučovania moču. Ďalej došlo k zníženiu relaxácie aorty závislej od endotelu a k poškodeniu ultraštruktúry aorty. Pozorovali sme adhéziu krvných buniek na endotel, extenziu interendoteliálnych spojení a iné abnormality v subendoteli a *tunica media*. Okrem toho sa v aorte viac ako dvojnásobne zvýšila expresia prozápalových cytokínov - IL-1 β a TNF- α . Podávanie kyseliny rozmarínovej nemalo vplyv na hladiny glukózy v krvi ani na ostatné prejavy diabetu, okrem dennej spotreby vody, ktorú znížilo. Významný protektívny vplyv kyseliny rozmarínovej sa prejavil na aorte, a to upravením relaxácie závislej od endotelu ku hodnotám kontrolných zvierat a úpravou ultraštruktúrnych abnormalít. Kyselina rozmarínová nemala vplyv na expresiu cytokínov v aorte kontrolných zvierat, ale úplne potlačila upreguláciu IL-1 β a TNF- α v aorte diabetických potkanov.

Na základe týchto výsledkov usudzujeme, že kyselina rozmarínová svojim protizápalovým účinkom zabraňuje poškodeniu ciev, ktoré sprevádza diabetes.

Táto práca vznikla za podpory Agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR pre štrukturálne fondy EÚ, operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja realizovaním projektu „Hodnotenie prírodných látok a ich výber pre prevenciu a liečbu civilizačných ochorení“ (ITMS 26240220040) a grantu VEGA 2/0108/10 a 1/0981/12.

NOVEL CLASS OF DUAL BINDING SITE CHOLINESTERASE INHIBITORS BASED ON 7-METHOXYTACRINE AND ADAMANTYLAMINE MOIETIES IN ALZHEIMER'S DISEASE THERAPY

¹ Spilovska K., ¹ Korabecny J., ² Musilek K., ¹ Horova A., ¹ Benek O., ¹ Kuca K.

¹*Department of Toxicology, Faculty of Military Health Sciences, Hradec Kralove, Czech Republic,* ²*Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic*

Alzheimer's disease (AD) is a devastating neurodegenerative disorder characterized by a severe, progressive loss of memory. Currently available drugs for AD are the cholinesterase inhibitors tacrine (THA), donepezil, rivastigmine, galantamine and the N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonist memantine. Tacrine was the first inhibitor of acetylcholinesterase (AChE; E.C. 3.1.1.7) to be approved by Food and Drug Administration (FDA). It was withdrawn for its hepatotoxicity. 7-methoxytacrine (7-MEOTA) was prepared as a pharmacologically equal active compound with lower toxicity compared to THA.

Memantine (1-aminoadamantane derivative) is an uncompetitive, moderate affinity antagonist of NMDA receptors that inhibits the pathological functions of NMDA receptors while physiological processes in learning and memory are unaffected. It has beneficial effects also in other CNS disorders e.g. Parkinson's disease, stroke, epilepsy. Amantadine (1-adamantylamine), a low-affinity NMDA-receptor blocker, is used in the treatment of Parkinson's disease and also has antiviral activity.

The synthesis of novel class based on 7-MEOTA and adamantylamine was synthesized and evaluated for their ability to inhibit both cholinesterase, AChE and butyrylcholinesterase (BChE, E.C. 3.1.1.8). These compounds could be effective in the treatment of complex disease such as AD with the respect of their ability to interact with the multiple targets. Within our contribution, synthesis, biological properties and molecular modeling studies of 7-MEOTA-amantadine series will be reported.

The work was supported by the specific research (SV/FVZ201201) and by the Grant Agency of the Czech Republic (No. P303/11/1907).

XENOTRANSPLANTÁCIA MEZENCHYMÁLNYCH KMEŇOVÝCH BUNIEK

¹Stahlová, K., ¹Menšíková, L., ¹Mlynárová, J., ¹Musil, P., ²Gažová, A., ³Goncalvesova, E.,
¹Kyselovič, J.

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie; ²Lekárska fakulta, Ústav farmakológie a klinickej farmakológie; ³Národný ústav srdcových a cievnych chorôb

Transplantácia mezenchymálnych kmeňových buniek je považovaná za jednu z možností regeneratívnej medicíny, v terapii rôznych ochorení, dokonca aj v liečbe ochorení kardiovaskulárneho systému. Najvýhodnejším riešením na efektívne využitie buniek je allogénna transplantácia, kedy prenášame bunky medzi dvomi jedincami toho istého druhu alebo xenotransplantácia medzi dvomi jedincami rôznych druhov. Tieto dve metódy však môžu mať negatívny dopad na príjemcu transplantovaných buniek a to v podobe imunitnej reakcie v jeho organizme.

Cieľom tejto práce bolo vylúčiť imunitnú odpoveď, ktorú by mohli transplantované kmeňové bunky vyvolať v príjemcovom organizme.

Potkanom kmeňa Wistar boli intramyokardiálne aplikované ľudské mezenchymálne kmeňové bunky získané z kostnej drene. Sedem dní po aplikácii buniek boli zvieratá utratené v CO₂, pričom boli odobraté orgány na histologickú analýzu a krv, z ktorej bola centrifugáciou získaná plazma na analýzu zápalového profilu.

Rozbor krvnej plazmy, metrická a histologická analýza odobratých orgánov nepotvrdila domnienku o vzniku imunitnej reakcie v organizme experimentálnych zvierat po intramyokardiálnej transplantácii ľudských kmeňových buniek. Štatistická analýza potvrdila tieto pozorovania, keďže neboli zaznamenané žiadne významné rozdiely v získaných údajoch medzi kontrolnou a experimentálnou skupinou zvierat.

Na základe uvedených výsledkov skúmaní xenotransplantácie medzi jedincami dvoch rôznych druhov, predpokladáme, že kmeňové bunky prenášané medzi jedincami toho istého druhu (alotransplantácia) nemusia vyvolať nežiadúcu reakciu, či patologickú komplikáciu v príjemcovom organizme, čo by mohlo priniesť potenciálny prospech nielen pre kardiologických pacientov.

Tento projekt vznikol vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a vývoj pre projekt BIOMAKRO 2, ITMS 26240120027 a tiež bol spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja, VEGA 1/0786/11 a grantu FaF UK/36/2012.

CRAC KANÁLY A ALERGICKÝ ZÁPÁL DÝCHACÍCH CIEST – VPLYV DLHODOBEJ LIEČBY

¹Šutovská M., ¹Kocmálová M., ²Adamkov M., ¹Frašňová S.

¹Ústav farmakológie, JLF UK, Martin, ²Ústav histológie a embryológie, JLF UK, Martin

Úloha CRAC kanálov v sekrečnej funkcii mastocytov, T buniek a eozinofilov je všeobecne známa. V predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že sa podieľajú na kontrakcii hladkej svaloviny dýchacích ciest (HSDC) a hrajú dôležitú úlohu v patofyziológii experimentálnej alergickej astmy u morčiat.

Vzhľadom na výsledky predchádzajúcich štúdií sme sa rozhodli na modeli alergickej astmy experimentálne overiť, či dlhodobo podávaný antagonist CRAC kanálov ovplyvní bronchiálnu hyperreaktivitu, patologický kašeľ a intenzitu zápalovej reakcie dýchacích ciest.

Alergický zápal dýchacích ciest sme u morčiat vyvolali opakovanou expozíciou ovalbumínu. Selektívny antagonist CRAC kanálov (kyselina 3-fluoropyridín-4-karboxylová) bol podávaný 14 dní intraperitoneálne v dávke 1.5 mg/kg a efekt liečby (a účinok kontrolných liečiv) bol vyhodnotený nasledovnými metodikami:

1. Sledovaním hodnôt sRaw, *in vivo* a kontrakcie izolovaných prúžkov HSDC, *in vitro*;
2. Hodnotením kašľového reflexu vyvolaného kyselinou citrónovou;
3. Meraním hladín vydychovaného NO (E_{NO});
4. Vyšetrením expresie izoforiem NO-syntázy;
5. Imunohistochemickou analýzou infiltrácie vzoriek HSDC mastocyty.

Dlhodobé podávanie antagonistu CRAC kanálov viedlo ku signifikantnému antitusickému efektu, bronchodilatácii v *in vivo* podmienkach a supresii kontrakčnej aktivity HSDC *in vitro*, ktoré prevyšovali efekt kontrolných liečiv salbutamolu a kodeínu. Hladiny E_{NO} a výsledky imunohistochemického vyšetrenia potvrdili protizápalový účinok CRAC antagonistu.

Výsledky experimentov potvrdili úlohu CRAC kanálov v patofyziológii a symptomatológii experimentálne vyvolanej alergickej astmy a pre svoj duálny bronchodilatačný a protizápalový účinok by mohli v budúcnosti rozšíriť možnosti liečby alebo zmeniť liečebnú stratégiu bronchiálnej astmy.

Prezentovaná práca vznikla vďaka podpore grantov VEGA 1/0020/11, VEGA 1/0062/11, UK/231/2012 a Centra experimentálnej a klinickej respirológie II spolufinancovaného zo zdrojov EÚ.

STUDY ON RENAL EXCRETION MECHANISM OF AMPHOTERICIN B AT ORGAN AND CELLULAR LEVELS

Trejtner F., Mandíková J., Volková M., Maixnerová J.

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Hradec Kralove, Czech Republic

Amphotericin B (AmB) is excreted via the renal excretion route. This excretion process may result in nephrotoxicity. However, no available information exists on renal excretion mechanisms of AmB and its interactions with renal membrane transporters. Since AmB contains in its molecule both acidic and basic structural components it could have a potential to interact with transporters for organic anions (OATs) or organic cations (OCTs).

The aim of the study was to analyze possible interaction of AmB with the renal transport systems mediating drug secretion in the renal tubules, OATs and OCTs, using perfused rat kidney and transiently transfected cellular models.

Rat kidney was perfused in situ in a recirculation regimen at a constant pressure. Excretion parameters of [^3H]AmB were determined in experiments without and with addition inhibitors of OATs or OCTs. Affinity of the studied drug to the typical renal transporters hOAT1 and hOCT2 was evaluated using inhibition affinity studies with standard substrates/inhibitors of these transporters. HeLa and MDCKII cells transiently transfected with hOAT1 or hOCT2 were used as the cellular models. Moreover, accumulation studies to evaluate specific uptake of [^3H]AmB by influx mediated by hOAT1 or hOCT2 were performed using the same cellular models.

The analysis of excretion parameters of AmB found in the perfused rat kidney showed a significant secretion of the drug in the renal tubules. However, AmB did not interact both with OAT1 and OCT2 in the transfected cells. Accumulation studies confirmed no significant participation of OAT1 and OCT2 on cellular uptake of AmB. In conclusion, the results show that secretion in the renal tubules significantly contributes to AmB renal excretion. However, the studied transporters are probably not involved in AmB renal excretion.

The study was supported by grant IGA MZ No. NT12398-4/2011, Charles University in Prague (Project SVV-2012-265003), and grant GAUK No. 360811/FaF/C-LEK.

ÚLOHA GALEKTÍNOV V TUMORIGENÉZE

¹Varinská L., ^{2,3,4}Gál P., ¹Mojžiš J.

¹Ústav farmakológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice, SR, ²Ústav pro histologii a embryologii, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, ČR, ³Úsek pro biomedicínský výzkum, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, Košice, SR, ⁴Katedra patologickej anatómie a patologickej fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, SR

Galektíny patria do rodiny proteínov schopných rozpoznať a viazať cukrové zvyšky s vysokou afinitou pre β -galaktozidy na bunkovom povrchu a extracelulárne glykoproteíny a glykolipidy. V súčasnosti bolo identifikovaných 15 cicavčích galektínov. Ich biologické funkcie sú rozmanité, zohrávajú úlohu v bunkových interakciách, proliferácii, migrácii, apoptóze alebo v zostrihu mRNA.

Galektíny zohrávajú tiež dôležitú úlohu vo viacerých krokoch tumorigenézy. Je stále viac dôkazov o tom, že galektíny exprimované nádorovými endotelovými bunkami prispievajú k progresii rastu nádoru a tvorbe metastáz. Nedávne štúdie odhalili tiež významnú úlohu galektínov v nádorovej angiogenéze. Angiogenéza je proces pozostávajúci z viacerých kľúčových krokov ovplyvnený početnými pozitívnymi a negatívnymi regulátormi, medzi ktoré, ako ukazujú najnovšie poznatky, patria aj galektíny.

Na druhej strane, presný mechanizmus ich angiogénneho účinku je vo veľkej miere neznámy. Detailné preskúmanie jednotlivých galektínov v procese nádorového bujnenia so zameraním sa na ich úlohu v procese angiogenézy ponúka následne sľubné možnosti na ich terapeutické ovplyvnenie. To otvára okno k príležitosti rozvoju novej stratégie liečby nádorov. Na pochopenie základných princípov regulačného účinku galektínov na jednotlivé kroky angiogenézy je nevyhnutné ich štúdium na bunkovej úrovni.

Z toho dôvodu je smerovanie nášho výskumu zamerané na štúdium interakcie galektínov a endotelových buniek v *in vitro* podmienkach.

Podporené grantom VVGS 10/12-13 a projektom SEPO-II (ITMS kód 26220120039).

SYNTÉZA DERIVÁTOV AKRIDÍNU AKO POTENCIONÁLNYCH INTERKALÁTOROV DNA KVADRUPLLEXU

Vojtičková M., Janovec L., Imrich J.

Katedra organickej chémie, Ústav chemických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice

Trisubstituované akridíny sú známe ako inhibítory telomerázy, ktorých princíp účinku je založený na nepriamej inhibícii cez ich selektívnu interakciu s DNA kvadruplexom.

Jedným z možných postupov, ktorý sa objavil v poslednej dekáde, je inhibícia enzýmu telomerázy, ktorý sa nachádza v 80 % všetkých rakovinových buniek, ale v zdravých somatických bunkách nie je prítomný.

Cieľom našej práce je syntéza nových 3,6,9-substituovaných akridínov ako potencionálnych interkalátorov telomerickéj qDNA so zámerom zlepšiť efektivitu syntézy a zvýšiť stabilitu finálnych produktov.

Syntéza vychádza z našich poznatkov o spájaní aromatických skeletov Ullmann-Jordanovou reakciou s možným využitím Buchwald-Hartwigovho couplingu. Nájdenie vhodných reakčných podmienok pre prípravu východzieho syntónu 3,6-diizotiokyanáto-9-benzylamino-akridínu predstavuje kľúčový syntetický krok. Príslušný diizotiokyanát sa následne použije na prípravu tiomočovínových, močovínových a guanidínových skeletov.

Takto nasyntetizované akridínové deriváty sa následne použijú na štúdium qDNA a ctDNA väzbových vlastností. V *in vitro* podmienkach budú stanovené biologické vlastnosti týchto derivátov na vybraných bunkových líniiach.

Práca bola finančne podporená agentúrou MŠ SR VEGA (grant č. 1/0097/10, 1/0672/11), štátnym programom NMR (grant č. 2003SP200280203) a grantovým programom UPJŠ-VVGS (grant č. 7/09-10).

ODLIŠNÉ OPTIMÁLNE MODELOVÉ CHARAKTERISTIKY V ANALÝZE REAKTIVITY SEGMENTOV A. RENALIS KONTROLNÝCH A DIABETICKÝCH POTKANOV

Vojtko R., Villaris R., Petrová M., Kristová V.

Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, Lekárska fakulta UK, Bratislava

Tradičné hodnotenie cievnej reaktivity perfundovaných segmentov deskriptívnymi metódami dovoľuje kalkulácie iba niekoľkých základných ukazovateľov kontrakčných a relaxačných odpovedí z grafických výstupov analógových záznamníkov, pričom výsledky skresľujú subjektívne nepresnosti hodnotiteľa. Počítačová analýza digitálnych záznamov odpovedí segmentov na vazoaktívne podnety naproti tomu umožňuje vyčíslenie širokej palety v minulosti nehodnotených parametrov a charakteristík.

Hodnotenie základných modelových charakteristík kontrakčných odpovedí segmentov a. renalis kontrolných a diabetických potkanov a určenie optimálnych typov modelov podľa Akaikeho informačných kritérií (AIC).

Sériu kontrakcií segmentov a. renalis kontrolnej a diabetickej skupiny potkanov zapojených v perfúznom systéme sme vyvolali postupne stúpajúcimi bolusovými dávkami noradrenalínu (0,1; 0,5; 1; 3; 6; 10 µg) a následne po indukcii prekontrakcie segmentov sme testovali ich relaxačnú odpoveď jednorazovou bolusovou dávkou acetylcholínu (20 µg). Digitálne záznamy kontrakčných odpovedí sme analyzovali počítačovým modelovaním s využitím Levyho metódy a metódy Monte Carlo.

Pri deskriptívnom hodnotení kontrakčných odpovedí segmentov sme nezistili významný rozdiel medzi skupinami ani pri jednej použitej dávke noradrenalínu, relaxačné odpovede segmentov diabetických potkanov preukázali významné zhoršenie voči kontrolnej skupine. Naproti tomu modelová analýza digitálnych záznamov kontrakcií odhalila štatisticky významné rozdiely medzi kontrolami a diabetickými zvieratami pri viacerých charakteristických parametroch odpovedí a viacerých použitých dávkach noradrenalínu. Hodnotenie AIC ako ukazovateľa vhodnosti a presnosti použitého typu modelu naznačilo ako najvhodnejší pre modelovanie odpovedí ciev zvierat z kontrolnej skupiny typ 1-4, zatiaľ čo pre arteriálne segmenty diabetických zvierat typy 2-5 a 3-5.

Počítačové modelovanie nám umožnilo zistiť rozdielne charakteristiky odpovedí ciev diabetických a kontrolných zvierat, nedostupné deskriptívnemu hodnoteniu. Tým o.i. naznačuje významný prínos novej metodiky, zdokonaľujúcej klasické postupy.

Táto práca vznikla s podporou grantov VEGA SR 1/0314/08 a 1/0501/11.

RECEPTOR MEDIATED ENDOCYTOSIS OF ALBUMIN IN DIFFERENT EPITHELIAL KIDNEY CELL LINES COMPARED TO CERVICAL CANCER CELL LINE

Volková M., Mandíková J., Trejtnar F.

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

We characterized binding of albumin, established ligand for the megalin-cubilin system, to the apical membrane of three epithelial kidney cell lines HK2, MDCK, LLC-PK1 and one human cervical cancer cell line HeLa, using fluorescein isothiocyanate (FITC)-albumin as substrate. The aim of this study was to elucidate the role of megalin/cubilin system in the transport of FITC-albumin into these four different cell lines and to understand deeper the mechanisms involved in this process.

The uptake of FITC-albumin was quantified by measuring fluorescence fluorimetrically. We studied the time development of the FITC-albumin uptake under normal conditions (37°C, 5% CO₂), under lower temperature (4°C) and with the present of various concentrations of unlabelled albumin. We examined the effect of metabolic inhibitors 2,4-dinitrophenol and sodium azide on FITC-albumin uptake and then we studied the characteristics of endocytic uptake using indomethacin-caveole mediated endocytosis inhibitor and chlorpromazine-clarithin mediated endocytosis inhibitor. We studied the effect of the EDTA-Ca²⁺ chelator and tried to influence the uptake by adding various concentrations of gentamicin, a megalin substrate.

There were only negligible differences between kidney epithelial cell lines in the uptake of FITC-albumin at 37°C compared to HeLa cells. This process was significantly inhibited by low temperature at all cell lines. The uptake of FITC-albumin was inhibited by the presence of unlabelled albumin in a concentration-dependent manner. Pre-treatment of the cells with either 2,4-dinitrophenol or sodium azide inhibited the uptake. We observed no inhibition for indomethacin, but the uptake was significantly inhibited by chlorpromazine. We observed significant reduction of uptake by the presence of EDTA in all studied cell lines. Gentamicin caused inhibition up to 5mM concentration, after that caused induction or no effect.

Our results indicate that the albumin uptake is mediated by receptor mediated endocytosis through clarithin coated pits. FITC-albumin uptake inhibition by native albumin is competitive, and Ca²⁺ ions are necessary for this process what point out the role of megalin. We didn't observed any differences in the uptake of FITC-albumin between tested kidney epithelial cell lines compared to human cervical cancer cell line HeLa.

The study was supported by GAUK 376411/FaF/C LEK and by SVV 265003.

HAPLOTYPY HLA-DQ2, HLA-DQ8 A HLA-DRB1*04 JAKO GENETICKÉ MARKERY CELIAKIE

¹Wróblová K., ¹Kolorz M., ¹Vystrčilová P., ²Páv I., ¹Bartošová L.

¹ Ústav humánní farmakologie a toxikologie, VFU Brno, ² Gastroenterologická klinika, FNŠP Bratislava - Petržalka

Celiakie neboli celiakální sprue (CS) je jedním z nejčastějších autoimunitních onemocnění, odhaduje se však, že pouhých 10 % nemocných je diagnostikováno a správně léčeno. Důvodem je velká variabilita klinických příznaků. U dospělých osob se mnohem častěji vyskytují příznaky atypické nepostihující gastrointestinální trakt. Neléčená celiakie může vést ke vzniku závažných komplikací, proto je důležité toto onemocnění včas identifikovat a zahájit bezlepkovou dietu. V patogenezi celiakie sehrává významnou roli genetická predispozice. Celiakie je asociována s haplotypem HLA-DQ2 (kódovaný alelami DQA1*0501/DQB1*0201 popř. DQB1*0202), HLA-DQ8 (DQA1*0301/DQB1*0302) případně HLA-DRB1*04 (DRB1*04).

Genetické testy se zdají být v diagnostice CS velmi perspektivní. Nejsou ovlivněny aktuálním zdravotním stavem, dodržováním bezlepkové diety a mohou sloužit k zachytu jedinců se zvýšeným rizikem rozvoje celiakie. Genotypizace má vysokou negativní predikční hodnotu. Nepřítomnost všech výše uvedených alel téměř s jistotou vylučuje diagnózu CS.

Cílem studie je vytvoření a optimalizace metodiky založené na PCR multiplex pro stanovení rizikových haplotypů HLA-DQ2, HLA-DQ8 a HLA-DRB1*04 a posouzení míry asociace těchto haplotypů s výskytem celiakie.

Ke dnešnímu dni bylo genotypizováno 117 pacientů s diagnózou celiakie, 81 dosud zdravých rodinných příslušníků celiaků 1. stupně a 40 zdravých dobrovolníků. Statistická analýza potvrdila signifikantní rozdíl ve výskytu haplotypu HLA-DQ2 a to mezi pacienty a zdravými dobrovolníky, pacienty a rodinnými příslušníky, rodinnými příslušníky a zdravými jedinci.

Nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v zastoupení haplotypu DQ8 a DRB1*04 mezi osobami s celiakií a zdravými jedinci, haplotyp HLA-DQ8 se však signifikantně častěji vyskytoval u celiaků, u nichž se nevyskytoval haplotyp HLA-DQ2. S alespoň jednou sledovanou genetickou variantou jsme se signifikantně častěji setkali u celiaků než u zdravých dobrovolníků.

Dosavadní výsledky poukazují na to, že hlavním genetickým faktorem predisponujícím ke vzniku celiakie je haplotyp HLA-DQ2. Vliv ostatních genetických variant je nutné upřesnit v dalších částech studie.

Tato práce je financována grantovým projektem IGA VFU 91/2012/FaF.

SILYBIN INCREASED EXPRESSION OF AcylCo-A OXIDASE 1 IN HHTg RATS

Zachařová A., Šiller M., Matušková Z., Večeřa R., Anzenbacher P.

Institute of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic

AcylCoA – oxidase 1 (ACOX 1) is one of the essential enzymes which is involved in peroxisomal β – oxidation of very long chain fatty acids and is target gene of nuclear receptor PPAR α . Silybin (silybinin) is the main active substance from silymarin, which is extract from medicinal plant *Silybum marianum* usually use as a hepatoprotectivum. The HHTg rat is a strain expressing hereditary hypertriglyceridemia, hyperinsulinemia and hypertension.

The aim of the study was to investigate whether silybin at a dose 0.5% (w/w) affects expression of rat AcylCo-A oxidase 1 in liver. Male HHTg rats were kept for 3 weeks on a standard laboratory diet (STD, *ad libitum*) or on an experimental high-cholesterol diet (HCD, *ad libitum*) prepared by adding 1% (w/w) of cholesterol and 10% (w/w) of lard fat to the STD. Silybin (0.5%, w/w) was administered as a dietary supplement to the HCD. Rats were then fasted overnight, i. m. anesthetized and their liver was removed and frozen. Expression of mRNA was examined by Real-Time PCR.

Results obtained confirmed that administration of HCD significantly decreased levels of AcylCo-A oxidase mRNA. Interestingly, the mRNA levels of this enzyme returned to normal values when HCD was co-administered with 0.5% of silybin.

Decrease or even lack of the AcylCo-A oxidase is known to cause an accumulation of very long chain fatty acids which can result in a toxic effect on hepatocytes. A reversal of this effect by silybin may contribute to an overall beneficial effect of this flavonolignan.

Acknowledgements: GAČR 303/09/H048, LF_2012_004

SYSTÉMOVÁ PREMDIKACE METAMFETAMINEM ZRYCHLUJE METABOLISMUS ETHANOLU U POTKANA

^{1,2} Zendulka O., ^{1,2} Sabová M., ^{1,2} Juřica J., ³ Machalíček M., ³ Švéda P., ³ Farková M.,
²Šulcová A.

¹ Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita v Brně, ²CEITEC –
Středoevropský technologický institut, ³Přírodovědecká fakulta, Ústav biochemie,
Masarykova univerzita v Brně

Psychostimulans metamfetamin je i přes veškerá restriktivní opatření často zneužívanou drogou v rámci Evropského společenství. Počty jeho uživatelů na rozdíl od jiných zneužívaných látek vyvolávajících závislost neklesají, ale udržují se na konstantní úrovni s nejvyšší prevalencí uživatelů v České republice. Vzhledem k běžné konzumaci alkoholu drogově závislími byl studován a popsán vliv ethanolu na metabolismus metamfetaminu. Dosud však nebyla publikována žádná práce popisující vliv metamfetaminu na biotransformaci ethanolu.

Cílem práce bylo stanovit vliv chronické aplikace metamfetaminu na metabolismus jednorázově podaného ethanolu ve zvířecím farmakokinetickém modelu.

V experimentu byli použiti potkaní samci kmene Wistar rozdělení do dvou skupin po 10 jedincích. Jedna skupina zvířat byla premedikována metamfetaminem v dávce 10 mg/kg/den ve formě i. p. injekcí po dobu 10 dní. Kontrolní skupina byla premedikována adekvátním objemem fyziologického roztoku. Současně s poslední aplikací metamfetaminu byl oběma skupinám intragastrickou sondou aplikován ethanol (v 5% glukóze) v dávce 2.0 g/kg. Vzorky krve byly zvířatům odebrány ve 40., 120., 240. a 300. minutě od aplikace ethanolu. Hladiny ethanolu v séru byly stanoveny metodou GC.

Premedikace metamfetaminem vedla k signifikantnímu zrychlení biotransformace ethanolu v intervalech 0. - 120. minuta. Ve 240. minutě byl zjištěn pokles v hladinách ethanolu u metamfetaminem premedikovaných zvířat na hranici statistické významnosti ($p=0,06$). V posledním odběrovém intervalu byly již koncentrace ethanolu na hranici citlivosti použité analytické metody bez statisticky významných rozdílů mezi skupinami.

Tato práce vznikla díky projektu "CEITEC - Středoevropský technologický institut" (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) z Evropského fondu regionálního rozvoje.

PYRIMIDINE ANALOGUES AS PROSPECTIVE ANTI-INFLAMMATORY COMPOUNDS

¹ Zídek Z., ² Jansa P., ² Janeba Z., ^{1,3} Kostecká P., ¹ Kmoníčková E.

¹ Institute of Experimental Medicine, Department of Pharmacology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4; ² Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo nám. 2, 166 10 Prague 4, Czech Republic; ³ 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

A series of novel analogues of 2,4-diamino-6-hydroxypyrimidine (DAHP) was synthesized and screened for immunobiological properties*. We analysed their interaction with the immune-activated biosynthesis of the pro-inflammatory mediators such as nitric oxide (NO) and prostaglandin E₂ (PGE₂). The activity was assayed under the *in vitro* conditions using mouse (C57BL6) peritoneal cells. The high output NO production was activated by interferon- γ plus lipopolysaccharide (LPS). Concentration of nitrite in supernatants was determined by Griess reagent at the interval of 24 h of culture. Production of PGE₂ was induced by LPS and determined using ELISA after 16 h of culture.

A number of derivatives showed remarkable inhibitory effects on production of both NO and PGE₂. Very tight dependence of the extent of inhibition on the structure of compounds was found. The most effective proved to be pyrimidines containing 2-(*N,N*-dimethylamino)methyleneamino group and pyrimidines containing 2-formamido group. They nearly completely inhibited formation of NO and substantially reduced production of PGE₂. Their IC₅₀s ranged within the interval of 2-10 μ M. Similar to DAHP, the pyrimidines containing 2-amino group had no significant effects on NO and PGE₂ production.

The underlying inhibitory modes of action of pyrimidine analogues are obviously due to multiple mechanisms. Suppression of PGE₂ production is influenced by the interference with both transcription and translation mechanisms of the cyclooxygenase-2 expression. While the inhibition of NO formation does not depend on the expression of iNOS (inducible NO synthase) mRNA, it results from the suppression of translation pathways leading to iNOS protein synthesis.

Acknowledgements. The research was supported by grant no. CZ:GA ČR:303/12/0172 from the Grant Agency of the Czech Republic.

* Patent pending.

Register autorov (podľa prvého autora)

- Ahmadimoghaddam D., 10, 18, 19
 Antošová M., 20, 21
 Baďo O., 10, 22
 Balážová M., 10, 23
 Baňasová M., 24
 Benek O., 10, 15, 25, 91
 Bludovská M., 10, 26
 Cihalova D., 10, 11, 27, 40
 Čížeková L., 10, 28
 Čižmáriková M., 29, 30
 Dingová D., 31
 Dóka G., 13, 14, 32, 73, 83
 Drábiková K., 11, 12, 14, 33, 44, 74, 77
 Drutovič D., 11, 34, 42
 Filipský T., 11, 35, 67
 Fleskova D., 11, 36
 Fraňová S., 12, 14, 37, 47, 50, 63, 85, 93
 Gasparova Z., 11, 38
 Hamuľáková S., 11, 39
 Hofman J., 10, 11, 27, 40
 Chalupová M., 11, 41
 Chripková M., 11, 34, 42
 Ivanova L., 43
 Jančinová V., 12, 14, 33, 44, 74, 77
 Janočková J., 45
 Jirkovský E., 12, 46
 Jošková M., 14, 37, 47, 85
 Juránek I., 24, 48, 80
 Kmoníčková E., 12, 16, 49, 102
 Kocmálová M., 12, 50, 93
 Kolmanová E., 12, 51
 Kolorz M., 15, 99
 Kopecký J., 12, 53
 Korabecny J., 10, 12, 15, 25, 54, 91
 Kováčová B., 12, 55
 Kráľová E., 14, 83
 Kuca K., 10, 12, 13, 15, 25, 54, 57, 91
 Kučera M., 58
 Kuneš M., 13, 59
 Mandíková J., 13, 15, 60, 94, 98
 Máťuš M., 61
 Menšíková L., 13, 62, 72
 Mésarošová L., 63
 Mihalová D., 13, 64, 81
 Mikolka P., 13, 65
 Miláčková I., 13, 66
 Mladěnka P., 11, 35, 67
 Mlynárová J., 13, 62, 68, 72
 Mokry J., 13, 14, 65, 69, 82
 Mrvová K., 70
 Müller Závalová V., 13, 71
 Musil P., 13, 62, 68
 Nemčeková V., 13, 14, 73, 83
 Nosál R., 11, 12, 13, 14, 33, 44, 64, 74, 77
 Ondriašová E., 14, 75
 Pankuchová I., 14, 76
 Perečko T., 11, 12, 14, 33, 44, 77
 Pilátová M., 11, 34, 42
 Piváčková L., 14, 15, 61, 79, 83, 90
 Plachá K., 80
 Poništ S., 13, 64, 81
 Porvazník I., 14, 82
 Potůček P., 13, 14, 73, 83
 Rajtík T., 84
 Sadloňová V., 14, 47, 85
 Sarissky M., 86
 Sklenárová J., 14, 88
 Slažneva J., 14, 89
 Sotníková R., 15, 90
 Spilovska K., 10, 15, 25, 91

Stahlová K., 13, 62, 72

Šepsová V., 14, 87

Šutovská M., 12, 14, 37, 50, 85, 93

Trejtmar F., 13, 15, 60, 94, 98

Varinská L., 95

Vojtičková M., 15, 96

Vojtko R., 15, 97

Volková M., 13, 15, 60, 94, 98

Wróblová K., 15, 99

Zachařová A., 15, 100

Zendulka O., 15, 101

Zídek Z., 12, 16, 49, 102