

FOLIA

PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

Vedecký časopis
UNIVERZITY VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA
A FARMÁCIE V KOŠICIACH

ISSN 2585-9609



2

II • 2020



FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA je vedecký časopis vydávaný Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. Časopis je vydávaný štvrtročne s príspevkami v slovenskom, českom alebo anglickom jazyku s abstraktom v angličtine.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA is a scientific journal issued by the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, the Slovak Republic. The journal is published quarterly with articles in English, or Slovak or Czech with English abstracts.

Šéfredaktorka/Editor-in-Chief:

Výkonná redaktorka/Deputy/Managing Editor:

Redakčná rada/Editorial Board:

Jana Mojžišová

Zita Faixová

Abu-Darwish, M. S. (Shoubak, Jordan), Boknik, P. (Münster, Germany), Castejon, A. M. (Fort Lauderdale, Florida, USA), Csöllei, J. (Brno, Czech Republic), Deelman, L. E. (Groningen, Netherlands), Devinyak, O. (Uzhhorod, Ukraine), El Naggat, El M. B. A. (Damanhour, Egypt), Getova, D. (Plovdiv, Bulgaria), Kyselovič, J. (Bratislava, Slovak Republic), Leddy, J. J. (Ottawa, Canada), Mojžiš, J. (Košice, Slovak Republic), Mučaji, P. (Bratislava, Slovak Republic), Opatřilová, R. (Brno, Czech Republic), Pirník, Z. (Košice, Slovak Republic), Pistl, J. (Košice, Slovak Republic), Šekeroğlu, N., (Turkey, Kilis), Šimůnek, T. (Hradec Králové, Czech Republic), Zitterl, K. (Vienna, Austria)

Vydavateľ/Publisher:

© Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2019

Adresa redakcie/Editor Address:

Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, e-mail: folia.pharma@uvlf.sk

Technická redaktorka/Technical Editor:

Holečková, Z., tel.: +421 917 729 873, e-mail: zuzana.holeckova@uvlf.sk

Grafická úprava/graphic design:

Báštiová, I.

ISSN: 2585-9609

EVC: EV 5741/18

IČO: 00 397 474

On-line verzia časopisu sa nachádza na web sídle Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach:
<http://www.uvlf.sk/univerzitne-casopisy/folia-pharmaceutica-cassoviensia-vytlacky>.

Máj 2020

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

VYDÁVA
UNIVERZITA VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA A FARMÁCIE V KOŠICIACH
SLOVAKIA



FOLIA
PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA
II., 2, 2020

PUBLISHED BY
THE UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE AND PHARMACY IN KOŠICE
2020



EDITORIÁL

Milí čitatelia,

Spoločne sa nachádzame v situácii, s ktorou nemáme žiadne skúsenosti. Celý segment zdravotníctva, ale aj celú našu spoločnosť postihla kríza. Nový typ koronavírusu, ktorý vedci pomenovali COVID-19 sa rozšíril za niekoľko mesiacov z Číny do celého sveta. Doteraz sa ním nakazilo viac ako 4 700 000 ľudí a ochorenie si vyžiadalo okolo 315 000 obetí na ľudských životoch. Na druhej strane, podľa štatistických údajov, sa z neho vyliečilo už viac ako 1 700 000 ľudí. Na Slovensku ho prvýkrát potvrdili 6. marca. Hoci globálne epidémie sú staré ako ľudstvo samo, pandémie koronavírusu nás zastihla nepripravených. Napriek tomu, to zatiaľ zvládame celkom úspešne a môžeme sa z tejto krízy poučiť do budúcnosti. V skutočnosti nám pandémia COVID-19 priniesla aj možnosť prehodnotiť svoje priority, keďže skutočné hodnoty sa ukážu vtedy, ak ide o to najvzácnejšie, o ľudský život.

V tomto čísle časopisu *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* sa oboznámite s analýzou vplyvu antiparkinsoník na poruchy kontroly impulzov zisťovaných pomocou metódy samohodnotenia pacientmi, so súčasnými možnosťami liečby alopecie a ich efektívnosťou, s terapiou zápalov močových ciest a analýzou farmakoterapie a výskytom peptickej vredovej choroby gastroduodena. V ďalších príspevkoch sa dočítate o psoriáze a jej terapeutických alternatívach.

Pravidelne Vám prinášame aj príspevky o látkach prírodného pôvodu. V najnovšom vydaní uvádzame štúdie o nežiadúcich a vedľajších účinkoch pri užívaní niektorých liečivých rastlín s obsahom hypericínu, o silymaríne a jeho nehepatoprotektívnych účinkoch, o zelenom jačmeni a jeho terapeutických potenciáloch a o bioteste na *Artemia franciscana* s toxicitou zistenou na *Daphnia magna* udávanou výrobcom a o biologicky významných látkach v liečivých hubách rodu *Cordyceps* (Fr.) link.

„*Bona valetudo melior est quam maximae divitiae.*“ Dobré zdravie stojí viac ako najväčšie bohatstvo.

Zaželajme si spoločne veľa zdravia a energie,

prof. MVDr. Zita Faixová, PhD.
výkonná redaktorka



EDITORIAL

Dear readers,

together we happened to be in a situation we have no experience with. The whole segment of health service, but also our whole society, was affected by a crisis. A new type of coronavirus, which the scientists named COVID-19, had spread from China all over the world in a couple of months. Till now, more than 4.700.000 people have got infected and the disease has suffered about 315.000 casualties. On the other hand, according to the statistics more than 1.700.000 people have already cured. The first case of the disease in Slovakia was confirmed on March 6, 2020. Though the global epidemics are as old as the mankind itself, the coronavirus pandemics caught us unprepared. Nevertheless, we have managed to cope with it quite successfully, and can take this crisis as a lesson for the future. In fact, the COVID-19 pandemics also brought us a chance to reconsider our priorities, as the true values show in times in which we fight for something the most precious – a human life.

In this issue of *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* journal you can learn about the analysis of the influence of antiparkinsonian drugs on impulse control disorders measured by the patient's self-evaluation method, the current options for the treatment of alopecia and their effectiveness, therapy of the urinary tract infections or the analysis of pharmacotherapy and incidence of the peptic ulcer disease of the gastroduodenum. In the following articles you can read about psoriasis and its therapeutic alternatives.

Regularly, we also bring you articles focused on substances of the natural origin. In our newest issue we introduce studies on the adverse and side effects of using medical plants containing hypericine, sylimarin and its non-hepatoprotective effects, barley grass and its therapeutical potential and the biotest on *Artemia franciscana* with the toxicity on *Daphnia magna* declared by the producer, and on biologically significant substances in the *Cordyceps* (Fr.) link medicinal mushrooms.

„*Bona valetudo melior est quam maximae divitiae.*“ Good health costs more than the greatest wealth.

Let us wish together a lot of health and energy,

Prof. Zita FAIXOVÁ, DVM, PhD.
Managing Editor

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, II., 2, 2020

O B S A H

Bohušová, Veronika; Necpál, Ján:

ANALÝZA VPLYVU ANTIPARKINSONÍK NA PORUCHY KONTROLY IMPULZOV ZISŤOVANÝCH POMOCOU METÓDY SAMOHODNOTENIA PACIENTMI ANALYSIS OF INFLUENCE OF ANTIPARKINSONIAN DRUGS ON IMPULSE CONTROL DISORDERS MEASURED BY PATIENT'S SELF-EVALUATION METHOD.....	7
---	---

Szilvásiová, Katarína; Váci, Peter:

SÚČASNÉ MOŽNOSTI LIEČBY ALOPÉCIE A ICH EFEKTIVITA CURRENT THERAPEUTIC OPTIONS FOR ALOPECIA AND THEIR EFFECTIVENESS.....	18
--	----

Bocková, Martina; Bačkorová, Miriam:

TERAPIA ZÁPALOV MOČOVÝCH CIEST THERAPY OF URINARY TRACT INFECTIONS	24
---	----

Jakabová, Lýdia; Maková, Zuzana:

PSORIÁZA A JEJ TERAPEUTICKÉ ALTERNATÍVY PSORIASIS AND ITS THERAPEUTIC ALTERNATIVES.....	33
--	----

Košuthová, Hedviga; Barteková, Zuzana:

SILYMARÍN A JEHO NEHEPATOPROTEKTÍVNE ÚČINKY (PREHLADOVÝ ČLÁNOK) SILYMARIN AND ITS NON-HEPATOPROTECTIVE EFFECTS (REVIEW)	42
--	----

Brédová, Michaela; Čonková, Eva:

ANALÝZA FARMAKOTERAPIE A VÝSKYTU PEPTICKEJ VREDOVEJ CHOROBY GASTRODUODENA ANALYSIS OF PHARMACOTHERAPY AND INCIDENCE OF PEPTIC ULCER DISEASE OF GASTRODUODENUM	55
--	----

Šoganičová, Anna; Špalková, Michaela:

POROVNANIE TOXICITY LEVOFLOXACÍNU POMOCOU BIOTESTU NA <i>ARTEMIA FRANCISCANA</i> S TOXICITOU ZISTENOU NA <i>DAPHNIA MAGNA</i> UDÁVANOU VÝROBCOM COMPARISON OF LEVOFLOXACIN TOXICITY BY MEANS OF BIOTEST ON <i>ARTEMIA</i> <i>FRANCISCANA</i> WITH THE TOXICITY ON <i>DAPHNIA MAGNA</i> DECLARED BY THE LEVOFLOXACIN PRODUCER	861
--	-----

Zacharová, Jana; Ungvarská Maľučká, Lucia:

BIOLOGICKY VÝZNAMNÉ LÁTKY V LIEČIVÝCH HUBÁCH RODU <i>CORDYCEPS</i> (FR.) LINK BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN <i>CORDYCEPS</i> (FR.) LINK MEDICINAL MUSHROOMS.....	70
--	----

Bojko, Michal; Eftimová, Jarmila:

NEŽIADUCE A VEDĽAJŠIE ÚČINKY PRI UŽÍVANÍ NIEKTORÝCH LIEČIVÝCH RASTLÍN S OBSAHOM HYPERICÍNU ADVERSE AND SIDE EFFECTS OF MEDICAL PLANTS CONTAINING HYPERICINE.....	79
--	----

Berkyová, Terézia; Petrovová, Eva; Bačkorová, Miriam:

STANOVENIE ANTIOXIDAČNEJ AKTIVITY V ZELENOM JAČMENI A JEHO TERAPEUTICKÝ POTENCIÁL DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY IN BARLEY GRASS AND ITS THERAPEUTICAL POTENTIAL	87
--	----

Pokyny pre autorov	96
--------------------------	----



ANALÝZA VPLYVU ANTIPARKINSONÍK NA PORUCHY KONTROLY IMPULZOV ZISŤOVANÝCH POMOCOU METÓDY SAMOHODNOTENIA PACIENTMI

ANALYSIS OF INFLUENCE OF ANTIPARKINSONIAN DRUGS ON IMPULSE CONTROL DISORDERS MEASURED BY PATIENT'S SELF-EVALUATION METHOD

Bohušová, Veronika¹; Necpál, Ján^{2,3}

¹Katedra farmakológie a toxikológie

Ústav humánnej a klinickej farmakológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

²Neurologické oddelenie, Nemocnica, a. s. Zvolen

Kuzmányho nábrežie 28, 960 01 Zvolen

³Centrum pre diagnostiku a liečbu extrapyramídových ochorení, Neurologická klinika

Univerzitná nemocnica Martin, Kollárova 4248/2, 036 01 Martin

necpal.neuro@gmail.com

ABSTRAKT

Parkinsonova choroba (PCH) môže byť sprevádzaná manifestáciou behaviorálnych príznakov, ako sú poruchy kontroly impulzov (ICD) – patologické hráčstvo, hypersexualita, kompulzívne nakupovanie, kompulzívne jedenie, punding a dopamín dysregulačný syndróm. Príčinou týchto porúch je porucha systému odmeny navodená neuroadaptačnými zmenami a hypersenzitizáciou striatálnych dopamínerných neurónov spoločne s dlhodobou liečbou dopamínernými preparátmi. Cieľom tejto štúdie bol skríning behaviorálnych komplikácií dopamínergnej terapie u 70-tich pacientov

pomocou špecializovaného validovaného dotazníka pre impulzívno-kompulzívne ochorenia pri PCH (Questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders, QUIP), metódou samohodnotenia pacientmi. Na základe údajov z QUIP dotazníkov a retrospektívnej analýzy demografických a klinických informácií sme zistili vysokú prevalenciu behaviorálnych porúch (44,3 % pacientov). K tomu 45,7 % pacientov malo subsyndromálne prejavy ICD. Pacienti s ICD (ICD+) mali oproti ICD negatívnym (ICD-) pacientom nižší vek (69,9 oproti 72,9 rokov), vyššie denné ekvivalentné dávky levodopy (LEDD) (795,1 oproti 596,6 mg) a priemernú dĺžku užívania antiparkinsoník (4,9 oproti 4,3 roka pri levodope;

3,3 oproti 2,4 roka pri dopamínových agonistoch). ICD boli častejšie u mužov (53,8 %). Najčastejšími ICD boli punding (52,8 %), dopamín dysregulačný syndróm – DDS (30 %) a kompulzívne jedenie – CE (20 %). Domnievame sa, že vysoká prevalencia syndromálnych a subsyndromálnych ICD zistená metódou samohodnotenia pacientmi v porovnaní s profesionálom vedeným skríningom pravdepodobne vyplýva z otvorenejšieho prístupu pacienta a nadhodnotenia svojich ťažkostí.

Kľúčové slová: antiparkinsoniká; Parkinsonova choroba; poruchy kontroly impulzov; samohodnotenie; subsyndromálne poruchy kontroly impulzov; QUIP dotazník

ABSTRACT

Parkinson's disease may be accompanied by manifestations of behavioral symptoms such as impulse control disorders – pathological gambling, hypersexuality, compulsive shopping, compulsive eating, punding and dopamine dysregulation syndrome. The disorder of the reward system induced by neuroadaptive changes and hypersensitization of striatal dopaminergic neurons together with long-term treatment with dopaminergic agents is the cause of these disorders. The aim of this study was to screen behavioral complications of dopaminergic therapy in 70 patients using a specialized validated questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders (QUIP) by the method of patient's self-evaluation. Based on the data from QUIP questionnaires and retrospective analysis of demographic and clinical data we found surprisingly high prevalence of behavioral problems (44,3 % of the patients). Moreover, 45,7 % of the patients had subsyndromal ICD. In contrast to ICD negative (ICD-) patients, patients with ICD (ICD+) had lower age (69,9 against 72,9 years), higher levodopa equivalent

daily doses (LEDD) (795,1 against 596,6 mg) and higher mean length of medication use (4,9 against 4,3 years for levodopa; 3,3 against 2,4 years for dopamine agonists). ICD were more common in men (53,8 %). The most common ICD were punding (52,8 %), dopamine dysregulation syndrome (30 %) and compulsive eating (CE) (20 %). We hypothesize that such high prevalence of both syndromal and subsyndromal ICD measured by patient's self-evaluation method in contrast to professional-guided screening possibly resulted from more comfortable patient's approach and overinterpretation of their complaints.

Key words: antiparkinsonian drugs; impulse control disorder; Parkinson's disease; self-evaluation; subsyndromal impulse control disorder; QUIP questionnaire

ÚVOD

Parkinsonova choroba (PCH) je neurodegeneratívne ochorenie prejavujúce sa motorickými, ale aj kognitívnymi, autonómnymi a rôznymi ďalšími nemotorickými príznakmi. Jej príčinou a patologickým korelátom je preferenčná degenerácia neurónov obsahujúcich neuromelanín v *pars compacta substantiae nigrae* (SNc), čo má za následok zníženie funkcie dopamínergnej nigrostriálnej dráhy a koncentrácie dopamínu (DA) v striáte (Forno, 1996). Tradičným prístupom k zvládnutiu ochorenia je farmakologická liečba, ktorá priamo alebo nepriamo zvyšuje hladinu dopamínu. Dopamínerná substitučná terapia, účinná najmä pri kontrole motorických príznakov, sa spája s radom motorických, ale aj psychických komplikácií (psychotické a behaviorálne prejavy).

Behaviorálne vedľajšie účinky dopamínergnej liečby priťahujú v poslednom období stále väčšiu pozornosť. Patria medzi ne rôzne poruchy kontroly impulzov (impulse control disorders, ICD) a kompulzívne užívanie medikácie, tzv. dopamín

dysregulačný syndróm (DDS). ICD tvoria skupinu komplexných behaviorálnych prejavov, pre ktoré je súhrnne typická impulzivita prejavujúca sa nepremysleným, predčasným, neprimerane riskantným alebo nevhodným správaním bez ohľadu na danú situáciu, čo často vedie k negatívnym nežiaducim dôsledkom jednak pre pacienta, ale aj jeho okolie (Evenden, 1999). Medzi jednotlivé ICD zaraďujeme patologické hráčstvo (pathological gambling, PG), kompulzívne nakupovanie (compulsive shopping, CS), prejedanie sa (compulsive eating, CE), hypersexualitu (HS) a tzv. punding. Termínom punding označujeme komplexné repetitívne bezúčelné a stereotypné správanie typické intenzívnym zaoberaním sa, manipuláciou, skúmaním a triedením rôznych predmetov, ale aj napríklad nadmerným a neúčelným šoférováním, cestovaním (walkabout) alebo angažovaním sa v rôznych sociálnych aktivitách či iných činnostiach (hobbyzmus) (Voon a kol., 2011). DDS sa vyznačuje užívaním omnoho vyšších dávok dopamínerných liečiv ako je nevyhnutné pre optimálnu kontrolu motorických príznakov. Dochádza tak k rozvoju motorických komplikácií a poruchám správania. Prítomná býva nervozita, hyperaktivita, agresivita, hypománia, dysfória, anhedónia a podráždenosť pri redukcii dávok. Pacienti majú silnú túžbu po ďalšej dávke dopamínergnej medicíny, čo pripomína klasickú liekovú závislosť (Giovannoni a kol., 2010).

Existuje päť subtypov dopamínových receptorov, ktoré sú tradične rozdelené do dvoch rodín, známych ako D1-like (D1 a D5) a D2-like (D2, D3 a D4) (Seeman, 1980). Na tieto receptory pôsobia dopamínerné neuróny rôznych dráh. Okrem nigrostriálnej dráhy, ktorá sa ovplyvňovaním činnosti bazálnych ganglií podieľa na regulácii motoriky, existuje aj dráha mezokortikálna, ktorá ovplyvňuje kognitívne procesy, motiváciu a emočné reakcie, a napokon dráha mezolimbická, ktorá má v súvislosti s ICD najväčší význam. Táto dráha spája ventrálnu tegmentálnu oblasť (VTA) v strednom mozgu s ventrálным striatom, ktorého súčasťou

je jadro nazývané *nucleus accumbens* (NAC). Deregulácia tejto dráhy a jej výstupných neurónov NAC hrá významnú úlohu pri vývoji a udržiavaní závislosti. Zúčastňuje sa regulácie behaviorálnych funkcií, ako napríklad vnímanie príjemných pocitov a eufórie po aplikácii rôznych podnetov (Malenka a kol., 2009). Táto dráha úzko súvisí s neurobiologickým systémom zabezpečujúcim prežitie a rozmnožovanie, nazývaným systém odmeny. Jeho podkladom je súbor neuroanatomických štruktúr v limbickej oblasti mozgu (Vetulani, 2001) a jeho funkciou je identifikovať biologicky dôležitý podnet, prideliť mu výšku hodnoty odmeny, asociovať podnet s hodnotou, predikovať odmenu a nakoniec spustiť behaviorálnu odpoveď. Medzi hlavné prírodné stimuly pre systém odmeny patrí hlavne jedlo, voda a sex (Kalivas a Volkow, 2005).

Dysfunkcia mezolimbickej dráhy a polymorfizmy D3 a D4-receptorov môžu zvýšiť citlivosť jedinca na vývoj ICD (Weintraub a kol., 2010). V patofyziológii vzniku ICD pri PCH hrá dôležitú úlohu nerovnomerná distribúcia DA receptorov v rôznych oblastiach mozgu. D1 a D2 receptory sú hojne zastúpené v dorzálnom striáte, pričom D3 receptory sa vyskytujú nadmerne vo ventrálnom striáte. Kým účinok DA v dorzálnom striáte môže zlepšiť motorické príznaky PCH, aktivácia D3-receptorov ventrálneho striata môže vyvolať impulzívne správanie (Gurevich a Joyce, 1999; Holden, 2001). Tzv. teória predávkovania hovorí, že pri PCH je ventrálny striatálny DA systém na rozdiel od dorzálného motorického systému relatívne intaktný, a tak dopamínerná liečba s cieľom zmierniť motorický dorzálny striatálny deficit môže viesť k nadmernej expozícii DA vo ventrálnych kortikostriatálnych kognitívnych a limbických dráhach (Béreau a kol., 2019).

Vo vzťahu k vzniku ICD pri PCH bolo identifikovaných niekoľko rizikových faktorov. Kľúčovým faktorom je dopamínerná terapia, najmä liečba DA agonistami. Všeobecné relatívne riziko ICD je nasledujúce: pramipexol > ropinirol > rotigotín > apomorfín, pričom dôležitá je najmä afinita k D3

Tab.1: Hodnotenie porúch ICD podľa výsledkov skóre v QUIP dotazníku

Behaviorálne komplikácie	QUIP skóre		
	rozsah	subsyndromálne	syndromálne
celkové ICD skóre	0 – 64	1 – 9	≥ 10
CS	0 – 16	1 – 9	≥ 9
HS	0 – 16	1 – 9	≥ 9
CE	0 – 16	1 – 8	≥ 8
PG	0 – 16	1 – 6	≥ 6
punding/hobbyzmus	0 – 16	1 – 10	≥ 10
DDS	0 – 16	1 – 7	≥ 7

PG – patologické hráčstvo, CS – kompulzívne nakupovanie, HS – hypersexualita, CE – kompulzívne jedenie, DDS – dopamín dysregulačný syndróm

receptorom (Seeman, 2015). K ďalším rizikovým faktorom patrí tzv. novelty-seeking správanie (vyhľadávanie nového), mužské pohlavie, mladší vek vzniku PCH a závislosť od alkoholu (Pontone a kol., 2006; Dagher a Robbins, 2009).

METÓDY

Štúdia bola realizovaná na špecializovanej ambulancii pre extrapyramídové ochorenia vo Zvolene od júla 2018 do júna 2019. Skupina 70-tich pacientov s diagnostikovanou idiopatickou PCH (31 žien a 39 mužov; priemerný vek 71,6 rokov) bola s ich informovaným súhlasom testovaná na prítomnosť ICD formou špecializovaného skríningového dotazníka pre impulzívno-kompulzívne ochorenia pri PCH nazývaného QUIP (Questionnaire for impulsive compulsive disorders in Parkinson's disease). Štandardizovaný dotazník QUIP-RS (RS – rating scale) bol odvodený od QUIP s cieľom vytvoriť hodnotiacu stupnicu, ktorá hodnotí závažnosť a zmenu ICD príznakov. Na otázky môže pacient odpovedať sám alebo pomocou inej osoby. QUIP-RS obsahuje štyri základné otázky týkajúce sa štyroch konkrétnych ICD (PG, CS, CE, HS) a tri otázky cielené na ďalšie tri príbuzné poruchy ICD (DDS, punding a hobbyzmus). Na meranie frekvencie výskytu daného správania sa používa 5-bodová

Likertova stupnica (skóre 0 – 4 pre každú ICD: 0 – nikdy, 1 – zriedka, 2 – niekedy, 3 – často, 4 – veľmi často). Probandi sú inštruovaní, aby odpovedali na otázky založené na správaní, ktoré sa vyskytlo iba počas predchádzajúcich štyroch týždňov. Skóre pre každé ICD a súvisiace poruchy sú v rozsahu od 0 do 16. Z dôvodu klinického prekryvania sa hobbyzmus a punding kombinovali v procese validácie tak, aby sa vytvorila jediná diagnóza (punding/hobbyzmus) s celkovým skóre od 0 do 32 pre kombinovanú poruchu. Celkové ICD skóre (PG, HS, CS a CE) je v rozpätí od 0 do 64 a celkové skóre QUIP-RS pre všetky kombinované ICD vrátane príbuzných porúch (punding, hobbyzmus a DDS) od 0 do 112 bodov (viď tab. 1).

Zo zdravotnej dokumentácie pacientov sme chronologicky zisťovali liekovú anamnézu a presné dávkovanie dopamínerných liečiv vrátane klinických údajov o sledovaných nežiaducich účinkoch. Mieru pokročilosti PCH u každého pacienta sme hodnotili pomocou štádií podľa Hoehnovej a Yahra (H-Y) (Hoehn a Yahr, 1967). Dávky dopamínerných liečiv sme prepočítali na ekvivalentné denné dávky levodopy (levodopa equivalent daily dose, LEDD). Ide o dávky s rovnakým účinkom ako 100 mg levodopy s okamžitým uvoľňovaním. Pre každého pacienta sme vypočítali LEDD pre všetky užívané dopamínerné liečivá a ich súčtom sme získali celkovú ekvivalentnú

Tab.2: Demografická a klinická charakteristika pacientov s PCH

Sledovaný údaj	Pacienti (n – 70)	ICD+ (n – 31)	ICD- (n – 39)
vek	71,6	69,9	72,9
ženy (%)	44,3	32,3	67,7
muži (%)	55,7	53,8	46,2
kofeinizmus (%)	87,1	45,9	54,1
nikotinizmus (%)	37,1	50,0	50,0
slobodní (%)	2,8	100	0
rozvedení (%)	7,1	80,0	20
ovdovení (%)	20,0	28,6	71,4
zosobášení/spolužijúci (%)	70,0	43,7	56,3
štádium podľa H-Y	2,22	2,4	2,08

H-Y- Hoehn-Yahrovej štádium, n – počet

dennú dávku levodopy v miligramoch (total LEDD).

Okrem samotného QUIP a farmakologickej anamnézy sme anamnestickým dotazníkom u všetkých pacientov zisťovali základné demografické údaje (vek, pohlavie), ich rodinný stav a údaje o fajčení a pití kávy. Všetky dotazníky boli vyplňané samotnými pacientmi alebo s pomocou ich rodinných príslušníkov či opatrovateľov, a teda na základe subjektívneho vnímania ich stavu.

Podľa odpovedí v dotazníku QUIP sme vypočítali skóre pre jednotlivé ICD u každého pacienta, ale aj celkové ICD skóre a QUIP-RS skóre. V súlade s výsledkami QUIP-RS skóre sme pacientov rozdelili do troch skupín: na syndromálnych, subsyndromálnych (tých, ktorí ešte nespĺňajú formálne diagnostické kritériá pre jednotlivé ICD) a bezpríznakových (viď tab. 1). Porovnali sme LEDD v závislosti od získaného skóre v dotazníku QUIP.

VÝSLEDKY

Na základe výsledkov QUIP dotazníkov získaných od pacientov s PCH sme pacientov rozdelili na dve skupiny: na tých, u ktorých sa ICD vyskytovali

(ICD+) a tých, u ktorých sa nevyskytovali (ICD-).

Priemerné štádium PCH podľa H-Y u všetkých pacientov bolo 2,22; pričom ICD+ pacienti mali len nepatrne pokročilejšie ochorenie oproti ICD- (2,4 oproti 2,08). V ICD+ skupine sme zistili nižší priemerný vek pacientov v porovnaní s ICD- (69,9 oproti 72,9 rokov) a vyššiu prevalenciu ICD u mužov v porovnaní so ženami (53,8 % oproti 32,3 %). Vzhľadom na možný negatívny dopad ICD na rodinnú situáciu (dôsledky PG, HS a pod.) sme podrobnejšie preverovali rodinnú situáciu pacientov. Hoci zo všetkých pacientov bolo iba 7,1% rozvedených, až v 4/5 prípadov sa jednalo o ICD+ pacientov. Významnejšie rozdiely v pití kávy a fajčení medzi oboma skupinami sme nenašli (viď tab. 2).

Priemerná LEDD samostatne pre levodopu bola v ICD+ skupine 605,8 mg; kým v ICD- skupine bola iba 482,9 mg; pre DA agonistov v ICD+ skupine 84,4 mg a v ICD- 78,5 mg. Total LEDD v ICD+ skupine bola 795,1 mg; v ICD- skupine 596,6 mg.

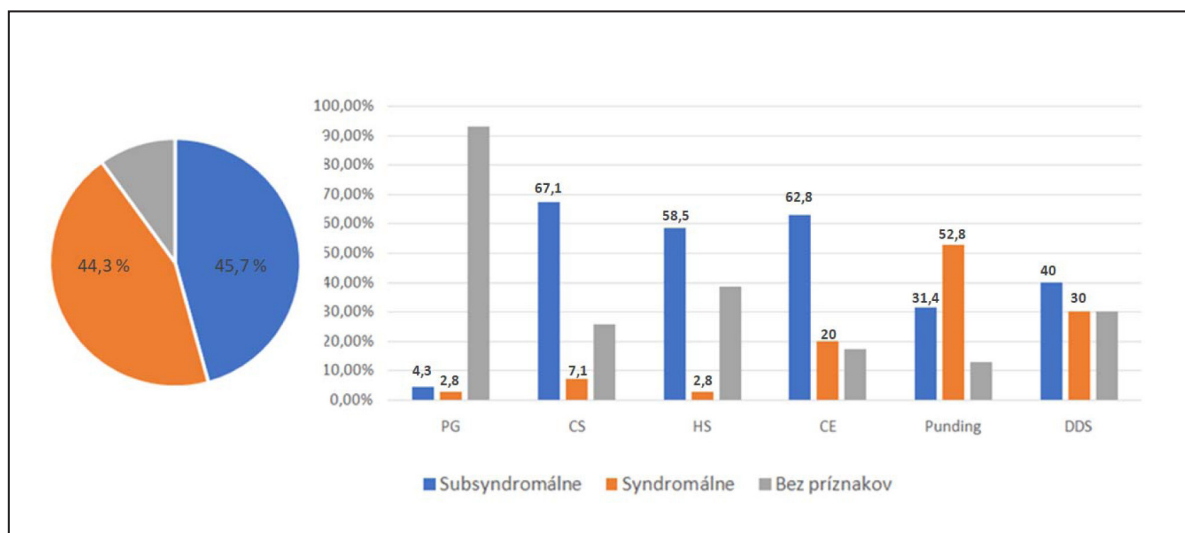
Osobitne sme vyhodnocovali prevalenciu ICD u levodopy a jednotlivých DA agonistov (pramipexol, ropinirol a rotigotín). Všeobecne možno povedať, že LEDD u všetkých jednotlivých liečiv bola vyššia a

Tab.3: Charakteristika užívania antiparkinsoník v súbore pacientov

Sledovaný údaj	pacienti (n – 70)	ICD+ (n – 31)	ICD- (n – 39)
LEDD pre levodopu (mg)	537,3	605,8	482,9
dĺžka užívania levodopy (roky)	4,6	4,9	4,3
LEDD pre DA agonistov (mg)	82,6	84,4	78,5
LEDD pre pramipexol (mg)	15,7	21,5	8,4
LEDD pre ropinirol (mg)	51,4	51,3	51,6
LEDD pre rotigotín (mg)	15,4	11,6	18,5
dĺžka užívania DA agonistov (roky)	2,8	3,3	2,4
total LEDD (mg)	684,5	795,1	596,6

LEDD – denná ekvivalentná dávka levodopy, DA agonisty – dopamínové agonisty, n – počet

Graf 1: Prevalencia ICD pomocou samohodnotenia dotazníka QUIP*



*Celková (vľavo) a individuálna (vpravo) prevalencia ICD v hodnotenom súbore pacientov (v %).

PG – patologické hráčstvo, CS – kompulzívne nakupovanie, HS – hypersexualita, CE – kompulzívne jedenie, DDS – dopamín dysregulačný syndróm

priemerná dĺžka užívania antiparkinsoník dlhšia v skupine ICD+ v porovnaní s ICD- pacientmi (viď tab. 3).

Na základe údajov z QUIP dotazníkov, ktoré vyplnili pacienti, sme vypočítali skóre pre jednotlivé ICD, ako aj celkové ICD skóre a QUIP-RS skóre. Na základe výsledných hodnôt celkového ICD skóre sme pre každého pacienta zvlášť vyhodnotili tri kategórie behaviorálnych komplikácií: bezpríznako-

vé (10 % pacientov), subsyndromálne (45,7 % pacientov) a syndromálne (44,3 % pacientov).

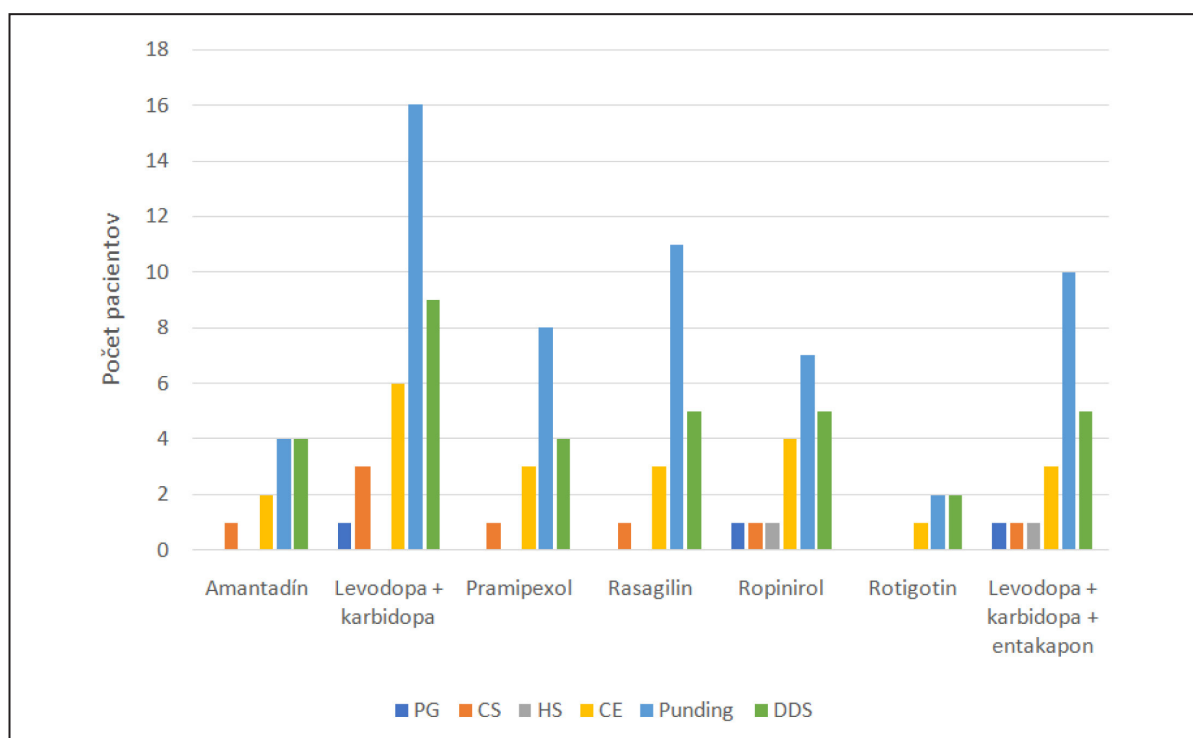
V našom súbore sme zistili prevalenciu jednotlivých ICD. PG bolo prítomné iba u 2,8 % (subsindromálne PG u 4,3 %) pacientov, CS u 7,1 % pacientov (subsindromálne však až u 67,1 % pacientov), HS u 2,8 % (subsindromálna HS u 58,5 %) pacientov, CE u 20 % (subsindromálne u 62,8 %) pacientov, punding u 52,8 % (subsindromálny u 31,4

Tab. 4: Porovnanie pacientov podľa prítomnosti ICD

štádium ICD	H-Y	trvanie PCH (roky)	užívanie DA agonistov (roky)	užívanie levodopy (roky)	total LEDD (mg)	vek (roky)
bezpríznakové	1,92	3,67	2,00	1,67	439,5	74,7
subsyndromálne	2,08	6,25	2,34	4,59	638,0	72,6
syndromálne	2,40	6,36	3,36	4,97	795,1	69,9

H-Y – Hoehn-Yahrovej štádium, PCH – Parkinsonova choroba, DA agonisty – dopamínové agonisty, total LEDD – celková denná ekvivalentná dávka levodopy

Graf 2: Prevalencia jednotlivých ICD vzhľadom na užívanú medikáciu



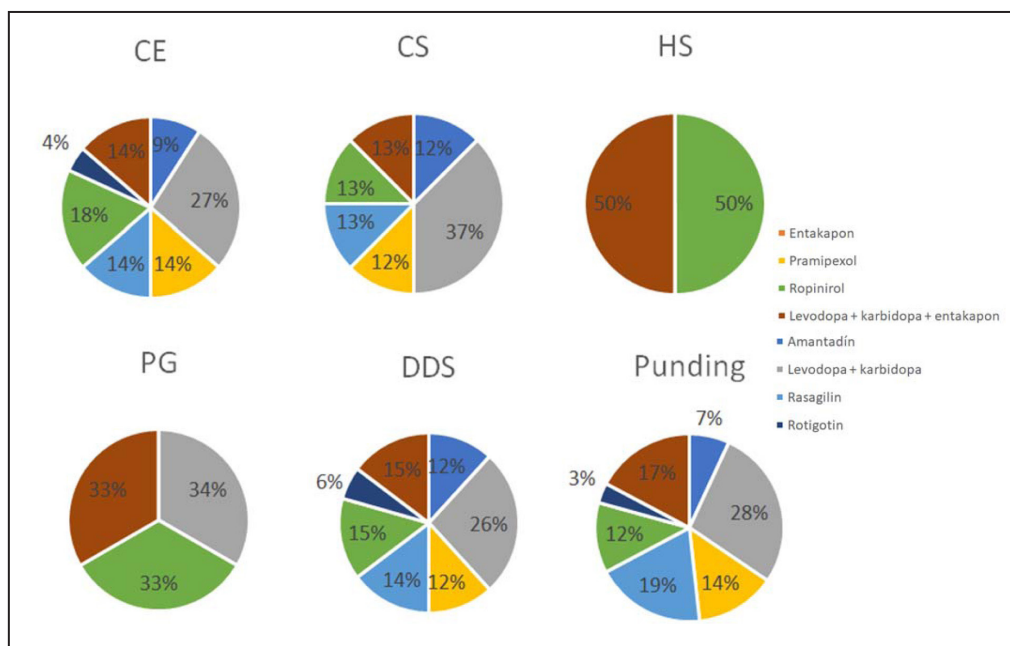
PG – patologické hráčstvo, CS – kompulzívne nakupovanie, HS – hypersexualita, CE – kompulzívne jedenie, DDS – dopamín dysregulačný syndróm

%) pacientov a DDS u 30 % (subsyndromálny u 40 %) pacientov (viď graf 1).

Pacienti so syndromálnymi ICD mali v porovnaní so subsyndromálnymi a bezpríznakovými pokročilejšie štádium PCH (podľa H-Y), dlhšie trvanie ochorenia, dlhší čas užívania a vyššie dávky dopamínergnej medikácie a nižší vek. Podľa získaných hodnôt subsyndromálnych ICD vidieť, že ide pravdepodobne o prechod k syndromálnym štádiám, resp. ľahšiemu štádiu ICD (viď tab. 4).

Ďalej sme sledovali vzťah rôznych antiparkinsoník k jednotlivým ICD. Užívanie levodopy malo najväčší vzťah k vzniku pundingu a DDS. Tieto dve poruchy sa vyskytovali prakticky najčastejšie, preto prevládali aj u iných ICD. Okrem toho sa v našej vzorke pramipexol spájal so vznikom CE a CS, ropinirol so vznikom CE CS, PG a HS a rotigotín s CE. Amantadín a rasagilín sa spájal takisto najmä s pundingom a DDS (viď graf 2).

Graf 3: Vplyv antiparkinsoník na vznik jednotlivých ICD



PG – patologické hráčstvo, CS – kompulzívne nakupovanie, HS – hypersexualita, CE – kompulzívne jedenie, DDS – dopamín dysregulačný syndróm

U 31 pacientov tvoriacich syndromálnu ICD+ skupinu bolo CE prítomné u 20 %. Títo pacienti najčastejšie užívali levodopu/karbidopu (27 %) a ropinirol (18 %).

Punding sa vyskytoval u 52,8 % pacientov. V tejto skupine sa najvýznamnejšie ukázalo užívanie levodopy (levodopa/karbidopa 28 %, levodopa/karbidopa/entakapon 14 %).

Dvaja pacienti mali prítomné PG a traja vykazovali jeho subsyndromálnu úroveň. Všetci títo pacienti boli muži a najvýznamnejšia sa ukázala asociácia s užívaním levodopy (levodopa/karbidopa 34 %, levodopa/karbidopa/entakapon 33 %) a ropinirolu (33 %).

CS bolo syndromálne u 7,1 % pacientov. Najčastejším užívaným liečivom bola levodopa (všetky preparáty levodopy celkovo 50 %), ropinirol a rasagilín (oba 13 %).

HS bola zistená iba u 2 pacientov. Obaja boli muži a HS bola u nich asociovaná s užívaním ropinirolu.

DDS bol syndromálny u 30 % všetkých pacientov. Spájal sa najmä s terapiou levodopy (všetky preparáty levodopy celkovo 40 %) (viď graf 3).

DISKUSIA

Prevalencia ICD a príbuzných behaviorálnych porúch (punding, DDS) je v literatúre rôzna. V štúdií Antoniniho sa prevalencia udáva 30 % (Antonini a kol., 2017), pri validizácii dotazníka QUIP to bolo 31,2 % (Weintraub a kol., 2009), v slovenskej štúdií s použitím dotazníku BADOPA 31,75 % (Martinková a kol., 2010) a v štúdií podľa Garcia-Ruiza dokonca 39,1 % (Garcia-Ruiz a kol., 2014). Tieto rozdiely môžu byť spôsobené demografickými, sociálnymi a ekonomickými faktormi, alebo tiež citlivosťou testovania. Pri klinickom rozhovore spontánne uvádza príznaky ICD iba 12 % pacientov (Garcia-Ruiz a kol., 2014). V recentnej štúdií malo okrem klasických syndromálnych prípadov ICD až 33 % pacientov subsyndromálne ICD. Hoci sa stále presne nevie, či túto skupinu zaradiť medzi ICD a ako ju presne interpretovať, v tejto štúdií až 24 % subsyndromálnych ICD pacientov konvertovalo v priebehu 18 mesiacov do syndromálnych ICD (Baig a kol., 2019).

V našej vzorke 70-tich pacientov s idiopatickou

PCH sme pomocou QUIP dotazníka zaznamenali vysokú prevalenciu behaviorálnych porúch (44,3 %), z toho až 35,7 % pacientov malo kombináciu minimálne dvoch typov ICD. Až 45,7 % pacientov malo podľa našej metódy subsyndromálne prejavy ICD. Najdôležitejšie výsledky štúdie môžeme krátko zhrnúť do nasledujúcich bodov:

1. Pacienti s ICD mali mierne pokročilejšie ochorenie oproti pacientom bez ICD (H-Y štádium 2,4 oproti 2,08).
2. Pacienti s ICD mali nižší priemerný vek (69,9 oproti 72,9 rokov).
3. U mužov sa vyskytovali ICD častejšie (53,8 % oproti 32,3 %).
4. Pacienti s ICD mali vyššiu celkovú LEDD a priemernú dĺžku užívania antiparkinsoník oproti pacientom bez ICD.
5. Najčastejšími behaviorálnymi poruchami boli punding (52,8 %), DDS (30 %) a CE (20 %).
6. Na základe štádia ochorenia, dĺžky užívania a dávok antiparkinsoník možno konštatovať, že subsyndromálne ICD sú zrejme ľahšou formou, resp. predštádiom klasických, teda syndromálnych ICD.
7. Užívanie levodopy malo najväčší vzťah k vzniku pundingu a DDS, pričom užívanie DA agonistov sa spájal so vznikom CE CS, PG a HS.

Pacienti vyplňali dotazník samostatne alebo s pomocou blízkej tretej osoby a nie na základe rozhovoru so zaškoleným zdravotníckym pracovníkom. Takéto testovanie teda môžeme označiť za subjektívne. Táto značne vysoká prevalencia (vyššia k tomu ešte o dáta subsyndromálnych ICD) potvrdzuje našu hypotézu, že v anonymnom dotazníku sú pacienti otvorenejší ako v diskusii s lekárom alebo iným zdravotníckym pracovníkom. Dalším a veľmi pravdepodobným faktorom je možné nadhodnocovanie svojich príznakov. Pacienti dosiahli najvyššie skóre v otázkach o pundingu, resp. hobbyzme a naopak, najnižšie pre PG a HS

(prevalencia iba 2,8 %). V tomto prípade považujeme túto nízku prevalenciu za poddiagnostikovanú vzhľadom na tabuizáciu a citlivosť týchto tém. Lekár sa o nich dozvedá väčšinou až od partnera v čase, keď je problém už rozbehnutý a negatívne ovplyvňuje rodinnú situáciu.

ZÁVER

Naša štúdia ukázala, že prevalencia behaviorálnych porúch indukovaných dopamínernou terapiou u pacientov s PCH je pomerne vysoká. V extrémnych prípadoch nie je ťažké ICD odhaliť, avšak väčšina zachytených abnormalít je mierneho stupňa. Tie však tiež môžu zhoršovať kvalitu života pacienta a jeho príbuzných. Skrining behaviorálnych porúch cieľnou anamnézou za pomoci špecializovaného dotazníka je efektívna diagnostická metóda, časovo nenáročná, ktorá môže pomôcť k rozpoznaní nežiaducich účinkov dopamínernej terapie. V porovnaní s dátami z literatúry vidieť, že použitie samohodnotenia QUIP dotazníka samotnými pacientmi spôsobuje nárast očakávanej prevalence ICD. Výsledky práce spejú najmä k dvom otázkam: 1. Ako správne testovať pacientov s ICD pomocou skriningového dotazníka? Jedným z možných prístupov je testovať pacientov najprv metódou samohodnotenia (čo uľahčí vyšetrenie aj z časového hľadiska v podmienkach bežnej klinickej praxe) a až v prípade pozitívneho skriningu viesť anamnézu cielene odborníkom, ideálne za prítomnosti príbuzného pacienta. 2. Čo znamenajú v praxi subsyndromálne ICD príznaky? Odhliadnuc od ich presného zadefinovania je potrebné takýchto pacientov longitudinálne sledovať a snažiť sa identifikovať ich konverziu do syndromálnych štádií ICD. Otázkou zostáva, či už v tomto štádiu netreba pristupovať k zmenám medikácie, aby sa tak takejto konverzii do budúcnosti zabránilo. Podobných úvah sa môže čítať ešte viac a zatiaľ na ich zodpovedanie nenachádzame v literatúre jasné odpovede.

ZOZNAM LITERATÚRY

Antonini, A., Barone, P., Bonuccelli, U., Annoni, K., Asgharnejad, M., Stanzione, P.: ICARUS study: prevalence and clinical features of impulse control disorders in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2017, 88 (4), 317 – 324.

Baig, F., Kelly, M. J., Lawton, M. A., Ruffmann, C., Rolinski, M., Klein, J. C., Barber, T., Lo, C., Ben-Shlomo, Y., Okai, D., Hu, M. T.: Impulse control disorders in Parkinson and RBD: A longitudinal study of severity. *Neurology*, 2019, 93 (7), e675 – e687. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31311842>. Accessed March 4, 2020.

Béreau, M., Krack, P., Brüggemann, N., Münte, T. F.: Neurobiology and clinical features of impulse control failure in Parkinson's disease. *Neurol. Res. Pract.*, 2019, 1, 9.

Dagher, R. a Robbins, T. W.: Personality, addiction, dopamine: insights from Parkinson's disease. *Neuron*, 2009, 61 (4), 502 – 510.

Evenden, J.: Impulsivity: a discussion of clinical and experimental findings. *J. Psychopharmacol.*, 1999, 13 (2), 180 – 192.

Forno, L. S.: Neuropathology of Parkinson's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 1996, 55, 259 – 272.

Garcia-Ruiz, P. J., Martinez Castrillo, J. C., Alonso-Canovas, A., Herranz Barcenas, A., Vela, L., Sanchez Alonso, P., Mata, M., Olmedilla Gonzalez, N., Mahillo Fernandez, I.: Impulse control disorder in patients with Parkinson's disease under dopamine agonist therapy: a multicentre study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2014, 85 (8), 840 – 844.

Giovannoni, G., O'Sullivan, J. D., Turner K., Manson, A., Lees, A.: Hedonistic homeostatic dysregulation in patients with Parkinson's disease on dopamine replacement therapies. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2000, 68 (4), 423 – 428.

Gurevich, E. V. a Joyce, J. N.: Distribution of dopamine D3 receptor expressing neurons in the human forebrain comparison with D2 receptor expressing neurons. *Neuropsychopharmacology*,

1999, 20 (1), 60 – 80.

Hoehn, M. M. a Yahr, M. D.: Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*, 1967, 17, 427 – 442.

Holden, C.: 'Behavioral' addictions: do they exist? *Science*, 2001, 294 (5544), 980 – 982.

Kalivas, P. W. a Volkow, N. D.: The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am. J. Psychiatry*, 2005, 162 (8), 1403 – 1413.

Malenka, R. C., Nestler, E. J., Hyman, S. E.: *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience*. 2nd edn., New York: McGraw-Hill Professional, 2009, 249.

Martinková, J., Valkovič, P., Benetín, J.: Behaviorálne poruchy u pacientov s Parkinsonovou chorobou – anamnestický skrining za pomoci špecializovaného dotazníka [Behavioral disorders in patients with Parkinson's disease – anamnestic screening by a specialized questionnaire]. *Cesk. Slov. Neurol. N.*, 2010, 5, 534 – 537.

Pontone, G., Williams, J. R., Bassett, S. S., Marsh, L.: Clinical features associated with impulse control disorders in Parkinson disease. *Neurology*, 2006, 67 (7), 1258 – 1261.

Seeman, P.: Brain dopamine receptors. *Pharmacol. Rev.*, 1980, 32 (3), 229 – 313.

Seeman, P.: Parkinson's disease treatment may cause impulse-control disorder via dopamine D3 receptors. *Synapse*, 2015, 69 (4), 183–189.

Vetulani, J.: Drug addiction, part II. Neurobiology of addiction. *Pol. J. Pharmacol.*, 2001, 53 (4), 303 – 317.

Voon, V., Mehta, A. R., Hallett, M.: Impulse control disorders in Parkinson's disease: recent advances. *Curr. Opin. Neurol.*, 2011, 24 (4), 324 – 330.

Weintraub, D., Mamikonyan E., Papay, K., Shea, J. A., Xie, S. X., Siderowf, A. D.: Questionnaire for impulsive-compulsive disorders in Parkinson's disease-rating scale. *Mov. Disord.*, 2012, 27 (2), 242 – 247.

Weintraub, D., Hoops, S., Shea, J. A., Lyons, K. E., Pahwa, R., Driver-Dunkley, E. D., Adler, C.

H., Potenza, M. N., Miyasaki, J., Siderowf, A. D., Duda, J. E., Hurtig, H. I., Colcher, A., Horn, S. S., Stern, M. B., Voon, V.: Validation of the questionnaire for impulsive-compulsive disorders in Parkinson's disease (QUIP). *Mov. Disord.*, 2009, 24 (10), 1461 – 1467.

Weintraub, D., Koester, J., Potenza, M. N., Siderowf, A. D., Stacy, M. N., Voon, V., Whetteckey, J., Wunderlich, G. R., Lang, A. E.: Impulse control disorders in Parkinson disease: a cross-sectional study of 3090 patients. *Arch. Neurol.*, 2010, 67 (5), 589 – 595.



SÚČASNÉ MOŽNOSTI LIEČBY ALOPÉCIE A ICH EFEKTIVITA

CURRENT THERAPEUTIC OPTIONS FOR ALOPECIA AND THEIR EFFECTIVENESS

Szilvásiová, Katarína; Váczi, Peter

Katedra farmakológie a toxikológie
Ústav farmakológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

katarina.szilvasiova@gmail.com

ABSTRAKT

Alopécia je kožné ochorenie postihujúce mužov aj ženy. Existuje mnoho foriem, ktoré môžeme rozlíšiť na základe klinickej manifestácie. Najčastejším typom alopécie je telogénne efluvium, u mužov je to androgénna alopécia. Súčasné možnosti terapie ponúkajú liečivé prípravky s rôznym mechanizmom účinku a neinvazívne, resp. tzv. mini-invazívne metódy na zastavenie vypadávania vlasov a obnovy rastu vlasov s rôznou mierou účinnosti. Cieľom štúdie bolo priblížiť problematiku alopécie, predstaviť súčasné možnosti liečby na Slovensku aj v zahraničí a prakticky zhodnotiť používanie jednotlivých prípravkov, metód a ich kombinácií na rôznych dermatologických pracoviskách. Reálne terapeutické postupy lekárov so špecializáciou dermatológ, resp. dermatovenerológ sme predostreli formou 3 prípadových štúdií, kde sme sa zamerali aj na rodinnú anamnézu, sprievodné a

prekonané ochorenia, priebeh a výsledky liečby u pacientov s rôznym typom alopécie a rozličných vekových kategórií.

Na východnom Slovensku dermatológovia najviac odporúčajú lokálnu aplikáciu prípravkov s obsahom kortikosteroidov, individuálne pripravované lieky s obsahom aminokyseliny metionín a intraleziálne injekcie kortikosteroidov. Najvýhodnejšie je kombinovať jednotlivé liečivé prípravky. Úspešnosť liečby závisí od druhu a stavu alopécie a tiež od prístupu pacienta k odporúčanej liečbe.

Kľúčové slová: *alopecia areata*; liečba; rast vlasov; vlas

ABSTRACT

Alopecia is skin disease affecting both men and women. There are many forms that can be distinguished on the basis of clinical manifestation.

The most common type of alopecia is telogenic effluvium, in men it is androgenic alopecia. The current possibilities of therapy are offered by medicinal products with different mechanism of action and non-invasive methods to stop hair loss and restore hair growth with varying degrees of effectiveness.

The aim of the study was to describe the problem of alopecia from the theoretical point of view, present current possibilities of treatment both in Slovakia and abroad, and practically evaluate the use of individual medicinal preparations, treatment methods and their combinations in various dermatological clinics. Real therapeutic procedures of doctors specializing in dermatology were presented in the form of 3 case studies, in which we also focused on family history, concomitant and past diseases, course and results of the treatment in patients with different types of alopecia and different age categories.

In Eastern Slovakia, dermatologists most frequently recommend topical corticosteroid preparations, individually prepared methionine capsules and intralesional injections of corticosteroids. To combine the individual medicaments is the most preferred. The success of the treatment depends on the state of alopecia and also on the patient's access to the treatment.

Key words: *alopecia areata*; hair; hair growth; treatment

ÚVOD

Alopécia je pomerne častým problémom postihujúcim až 50 % mužov a žien. V širšom zmysle je klasifikovaná na difúznu, androgénnu a ložiskovú alopéciu. Podľa iného kritéria ju môžeme deliť na jazviace a nejazviace formy (Poonia a kol., 2018).

Ložisková alopécia (*alopecia areata*) patrí medzi chronické autoimunitné ochorenia s rôznym, typicky recidivujúcim alebo ustupujúcim priebehom.

Najčastejšie sa prejavuje malými okrúhlymi alebo oválnymi ložiskami vypadaných vlasov obyčajne na vlasatej časti hlavy, ktoré môžu prejsť až do úplnej straty vlasov (*alopecia totalis*), alebo do úplnej straty vlasov aj chlpov na celom tele (*alopecia universalis*). Alopecia areata postihuje približne 2 % populácie (Pratt a kol., 2017).

Difúzna alopécia je výsledkom narušenia jednej z fáz vlasového cyklu. Rozličné klinické typy difúznej alopécie sú akútne a chronické telogénne effluvium, anagénne effluvium, ženská difúzna alopécia a difúzna *alopecia areata* (Poonia a kol., 2018). Najčastejšou príčinou straty vlasov u mužov je androgénna alopécia (Sennett a kol., 2019). Hlavnou príčinou androgénnej alopécie je geneticky daná zvýšená senzitivita vlasových folikulov na androgény (Bernárdez a kol., 2015). Terapii alopécie predchádza dôkladná diagnostika.

Alopecia areata patrí medzi nevyliciteľné ochorenia. Pri izolovaných ložiskách sú viac menej účinné topické kortikosteroidy alebo intralezionálne injekcie. V pokročilých štádiách ochorenia sa niekedy používajú systémové kortikosteroidy. Ďalšie metódy liečby zahŕňajú imunoterapiu (kontaktná senzibilizácia), fototerapiu, topický minoxidil a perorálne izoprinosín a cyklosporín. Perorálne a topické Janus kinázové inhibítory sú predmetom ďalšieho vývoja a skúšania (Marks a Miller, 2018).

Liekom 1. voľby pri androgénnej alopécii pre obe pohlavia je minoxidil (Stoehr a kol., 2019). Liekmi 2. voľby sú antiandrogény (finasterid, dutasterid) a spironolaktón (Kožuchová, 2015). Finasterid a dutasterid patria medzi inhibítory 5-alfa reduktázy a majú mnoho nežiaducich účinkov, preto rastlinné výťažky (saw palmetto, tekvicové semienka, rozmarín lekársky a. i.) môžu poskytnúť prospešnú alternatívnu liečbu (Dhariwala, 2019). Medzi ďalšie metódy liečby patria mezoterapia, microneedling, terapia laserom nízkej intenzity, podávanie plazmy bohatej na doštičky a v konečnom dôsledku aj transplantácia vlasov.

Cieľom štúdie bolo priblížiť problematiku alopécie z teoretického hľadiska, predstaviť súčasné

možnosti liečby a prakticky zhodnotiť používanie jednotlivých prípravkov, liečebných metód a ich kombinácií v rôznych dermatologických ambulanciách na východnom Slovensku.

MATERIÁL A METÓDY

Údaje o pacientoch trpiacich alopeciou a metódach liečby sme získali po konzultáciách s viacerými odborníkmi – dermatovenerológmi, ktorí sa danej problematike venujú a riešia ju denne v ambulantnej praxi. Zisťovali sme postupy liečby, metódy liečby, farmakoterapiu a dosiahnutý terapeutický efekt. Zaujímali sme sa o názor jednotlivých lekárov, ktoré metódy sú podľa ich odborných znalostí najúčinnnejšie, s ktorými liekmi (resp. výživovými doplnkami a kozmetickými prípravkami) majú najlepšie skúsenosti, ktoré metódy liečby najviac praktizujú a čo odporúčajú pacientom. Pri každej ambulancii sme sa zamerali na jednu prípadovú štúdiu – kazuistiku, ktorú sme analyzovali.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V dermatovenerologickej ambulancii vo Veľkých Kapušanoch majú pacienti najčastejšie problémy s difúznym vypadávaním vlasov, menej často s ložiskovou alopeciou. Najviac predpisovaným liečivým prípravkom je Alpicort F roztok. Pri ženskej difúznej alopecii sa predpisuje aminokyselina metionín ako individuálne pripravovaný liek. U pacientov s areátnou alopeciou s 1 až 2 ložiskami sa praktizuje subkutánne podávanie injekčnej suspenzie Diprophos. Veľmi zriedkavo sa aplikuje aj systémová liečba kortikosteroidmi v nízkych dávkach (Prednison 20 mg tbl.) a vo veľmi vážnych prípadoch sa podáva liek s účinnou látkou cyklosporín. V minulosti sa praktizovala kryolýza tekutým dusíkom. Ako doplnkovú liečbu pri všetkých formách aloécie pani doktorka odporúča zinok, liečivé prípravky s minoxidilom a rôzne kozmetické produkty.

Jediná topická účinná látka na liečbu aloécie

s dokázaným účinkom podloženým klinickými štúdiami je minoxidil, ktorý na Slovensku nie je hrađený z verejného zdravotného poistenia. Minoxidil patrí k liečivám, ktoré sú používané na lokálnu liečbu už desiatky rokov. Price (1987) uvádza, že v dvojito zaslepenej štúdii bol pozorovaný opätovný rast vlasov u 63,6 % pacientov ošetrovaných 3 % roztokom minoxidilu a iba u 35,7 % pacientov, ktorým bolo aplikované placebo. Fiedler-Weiss (1987) popisuje vo svojej štúdii podávanie minoxidilu v 2 koncentráciách – 1 % (48 respondentov) a 5 % (47 respondentov), pričom chcel dokázať od dávky závislý účinok minoxidilu. Opätovný rast vlasov sa dosiahol u 38 % pacientov liečených 1 % roztokom minoxidilu a u 81 % pacientov liečených 5 % minoxidilom.

V kazuistike č. 1 sa u 42-ročnej pacientky objavili problémy s vypadávaním vlasov v roku 2012. Prvýkrát bola liečená v dermatovenerologickej ambulancii v Košiciach, kde bola neskôr aj hospitalizovaná za účelom vyšetrenia a liečby aloécie. Rodinná anamnéza neudáva žiadne kožné ochorenia. Vykonané gynekologické, neurologické, infekčné a RTG vyšetrenia boli v norme a taktiež krvný obraz bol bez patologických zmien. V roku 2012 histologické vyšetrenie potvrdilo diagnózu – ložisková alopecia. U pacientky sa objavili aj depresívne stavy následkom rozvoja aloécie, ktoré však neboli liečené. Počas hospitalizácie bola nasadená liečba systémovými kortikoidmi, cyklosporínom a dapsónom. Po hospitalizácii liečba pokračovala ambulantne až kým sa neobnovil porast vlasov. Neskôr v roku 2017 sa znova objavilo zvýšené difúzne vypadávanie vlasov trvajúce niekoľko týždňov. V januári 2018 bola v dermatovenerologickej ambulancii vo Veľkých Kapušanoch pacientke nasadená liečba Prednisonom v dávke 20 mg/deň. Vo februári pre nedostatočnú odpoveď na liečbu prednizónom sa pridružil liek Equoral v dávke 100 mg cyklosporínu/deň a Alpicort F na lokálne použitie 1-krát denne. Od mája do októbra 2018 pacientka užívala Prednison 10 mg/deň, Equoral 100 mg/deň a lokálne Locoid Lipocream

1-krát denne. Účinok liečby bol minimálny, vlasový porast sa neobnovoval. Na niektorých miestach rástli slabé lanugózne vlasy. V októbri 2018 na žiadosť pacientky kvôli nežiaducim účinkom sa lieky Prednison a Equoral vysadili. V štúdii z roku 2007 so 139 pacientmi liečenými pulznou kortikosteroidnou terapiou sa zistilo, že 59,4 % pacientov s ložiskovou alopeciou s dĺžkou trvania do 6 mesiacov a 15,8 % pacientov s dĺžkou trvania viac ako 6 mesiacov malo dobrú odpoveď na liečbu. *Alopecia totalis* a *alopecia universalis* sú oveľa menej reagujúce na takúto liečbu (Alsantali, 2011). Úspešnosť systémovej terapie cyklosporínom pri ložiskovej alopecii je podľa Kim a kol. (2008) 25 – 76,6 %.

V trebišovskej ambulancii sa v lokálnej liečbe pri všetkých formách alopecie u mužov aj žien používa dermálny roztok Alpicort a Alpicort F. U pacientov trpiacich seboroickou dermatitídou a prítomnosťou šupín v kapilíciu sa používa Belosalic roztok. Pri androgénnej alopecii sa odporúča Neocapil roztok s účinnou látkou minoxidil 2 %. Intrakutánne sa podáva kortikosteroid dexametazón (Dexamed sol inj.) do ložísk pri areátnej alopecii a taktiež aj pri difúznej alopecii rovnomerne do celého kapilícia. Pri ťažších formách ložiskovej alopecie a pri úplnej alopecii sa podáva cyklosporín v dávke 2,5 mg/kg telesnej hmotnosti počas niekoľkých mesiacov. Z individuálne pripravovaných liekov sa predpisuje aminokyselina metionín 0,3 g podávaná 1-krát denne a *Zinci sulphas* 0,1 g 1-krát denne po dobu 30 dní. Po mesiaci sa podávanie preruší na 30 dní a opäť sa môže pokračovať v liečbe. Magistraliter lieky sú uprednostňované, pretože obsahujú vyššie dávky aminokyselín ako komerčne dostupné výživové doplnky. Ako ďalšia terapeutická možnosť sa v tomto zariadení využíva Dermalight UV hrebeňový žiarič s UVB žiarením s biostimulačným účinkom. Odporúča sa 5 – 10 sedení podľa stavu a individuálnych potrieb pacienta. Podpornou terapiou sú lekárkou odporúčané rôzne kozmetické prípravky. Najlepšie skúsenosti v ambulancii majú s intrakutánnym podávaním kortikosteroidov. Počas liečby sa pozoruje zvýšený rast vlasov a pokles

vypadávania, nežiaduce účinky nie sú časté.

V kazuistike č. 2 pacientka vo veku 35 rokov bola v roku 2009 hospitalizovaná v nemocnici Trebišov za účelom vyšetrenia a terapie androgénnej alopecie. Od septembra 2008 udávala zvýšené vypadávanie vlasov. Z anamnézy sme zistili, že pacientka v detstve podstúpila apendektómiu, tonzilektómiu a operáciu prínosových dutín kvôli prítomnosti cysty. V rodine sa alopecia nevyskytla. Pacientka v období aktívnej alopecie nefajčila, alkohol užívala len príležitostne a pracovala v relatívne pokojnom prostredí ako sekretárka bez kontaktu s infekčnými ochoreniami. V tom čase sa liečila na glaukóm a užívala 6 mesiacov antiandrogénnu antikoncepciu Diane-35 bez terapeutického efektu. Pred hospitalizáciou bola vyšetrená na ORL a gynekologickej ambulancii bez fokálnej infekcie. Z voľnopredajných liekov užívala Revalid kapsule a z kozmetických produktov Vichy Dercos kúru proti vypadávaniu vlasov. Počas hospitalizácie mala pacientka základný laboratórny skrining v norme, tyroidný status v norme, zinok v norme, špecifické aj nešpecifické treponemové testy negatívne a zvýšené IgG protilátky voči *Helicobacter pylori*. V rámci terapie mala intrafokálne aplikovaný kortikosteroidný prípravok a podstúpila kryoterapiu tekutým dusíkom. Po liečbe sa pozoroval ústup vypadávania vlasov, kapilícium bolo bez erytému a jaziev. Pacientku po 14 dňoch hospitalizácie prepustili do ambulantnej starostlivosti v zlepšenom stave. V novembri 2009 pacientka podstúpila ešte ďalšie vyšetrenia na neurologickej a endokrinologickej ambulancii. Magnetickou rezonanciou sa vylúčil adenóm nadobličky a záverom endokrinologického vyšetrenia bola normofunkčná štítia žľaza a normálne hladiny androgénov. Amirnia a kol. (2015) porovnávali účinnosť intralezionálnej terapie kortikosteroidmi s kryoterapiou, kde 83,3 % úspešnosť bola pri liečbe kortikosteroidmi a 56,7 % úspešnosť s kryoterapiou.

V nemocničnej kožnej ambulancii v Michalovciach sa najčastejšie objavujú pacienti s difúznym typom alopecie, a to ženy po pôrode alebo po menopauze. U detí je častá ložisková alopecia

pri výskyte atopického ekzému. Pri všetkých formách ochorenia sa najviac predpisuje aminokyselina metionín ako individuálne pripravovaný liek. Pre dospelých je dávka 0,5 g a pre deti do 12 rokov 0,25 g 2-krát denne po dobu 30 dní. Nasleduje pauza jeden až dva mesiace a následne sa môže ďalej pokračovať v liečbe. Z lokálne používaných liekov sa predpisuje dermálny roztok Alpicort a roztoky kortikoidov buď samotné alebo v kombinácii s individuálne pripravovaným liekom (kyselina salicylová s kyselinou boritou v liehu). Medzi kortikosteroidné prípravky predpisované dospelým patria Beloderm a Elocorn roztok a deťom sa predpisuje Locoid Crelo dermálna emulzia. Pacienti uprednostňujú najmä individuálne pripravovaný liek hlavne kvôli cene. U pacientov s ložiskovou alopiáciou sa zriedkavo pristúpi k liečbe celkovými kortikosteroidmi (lieky Prednison a Medrol) alebo sa skúša aplikácia lokálnych prípravkov (Protopic masť, Elidel krém). Z ďalších metód liečby sa v tejto ambulancii využíva kryoterapia vo forme ľahkého pílingu. Aplikuje sa oxid uhličitý v kombinácii s acetónom najčastejšie pri ložiskovej alopiácii. Z voľnopredajných prípravkov pani doktorka odporúča prípravky Revalid, šampón Plantur, Ducray Anaphase, Vichy Dercos a vitamíny a minerály od rôznych výrobcov.

V kazuistike č. 3 je pacientka ženského pohlavia vo veku 11 rokov. S liečbou začala v nemocničnej dermatovenerologickej ambulancii v Michalovciach v októbri 2018. Pacientke v relatívne mladom veku bolo diagnostikované difúzne padanie vlasov nejasnej príčiny. Z dermatovenerologickej ambulancie bola odporučená na krčné, hematologické a endokrinologické vyšetrenie, kde všetky výsledky mala v poriadku. Krvný obraz bol bez patologických zmien, výtery z nosa a úst boli bez nálezov. V predškolskom veku prekonala bežné detské ochorenia a mala aj časté zápalové horných dýchacích ciest. V minulosti pacientka užívala liek Euthyrox na štítnu žľazu a mala problémy aj s pečeňou. Aktuálne nie je dispenzarizovaná v žiadnej z vyššie spomenutých ambulancií. Prvé problémy s alopiáciou sa objavili v roku 2018. V októbri 2018

bola pacientke predpísaná liečba s IPL prípravkom metionínom v dávke 0,25 g 2-krát denne po dobu 3 mesiacov. Na lokálnu liečbu dostala taktiež IPL prípravok v kombinácii s dermálnou emulziou Locoid Crelo s dávkovaním 1-krát denne. V novembri 2018 bola pacientka preliečená na parazity. Vo februári 2019 sa pacientka vrátila na ambulanciu s pretrvávajúcim problémom padania vlasov. Pokračovalo sa v liečbe IPL prípravkom metionínom v dávke 0,25 g 2-krát denne po dobu 3 mesiacov. Po uplynutí doby liečby bola odporučená minimálne mesačná pauza, aby sa predišlo gastrointestinálnym nežiaducim účinkom a poškodeniu pečene. V septembri 2019 sa pacientka po krátkej remisii ochorenia opäť sťažovala na zvýšené difúzne padanie vlasov. K príznakom sa pridružila aj šupinatá pokožka hlavy. Na základe pozitívnej odozvy na liečbu metionínom bol pacientke znova predpísaný IPL prípravok metionín v dávke 0,25 g 2-krát denne po dobu 3 mesiacov a na lokálne podávanie dermálna emulzia Locoid Crelo s dávkovaním 1-krát denne. Castelo-Soccio (2014) uvádza, že u detí, takisto ako u dospelých, sa môže vyskytnúť telogénne efluvium ako následok prekonaných vírusov, vysokých horúčok, nutričnej deficiencie alebo po liečbe niektorými liekmi. Prognóza je výborná, u väčšiny pacientov dôjde ku obnove hustoty vlasov za 6 až 12 mesiacov.

ZÁVER

Autoimunitné ochorenie, dedičnosť, nerovnováha hormónov, pôrod, negatívne vplyvy vonkajšieho prostredia a ďalšie iné faktory môžu vyvolať vypadávanie vlasov a následne rozvoj alopiecie. Alopecia nepatrí medzi život ohrozujúce ochorenia, ale vypadávanie vlasov môže byť veľmi stresujúca záležitosť, hlavne u žien, u ktorých sa vlasy pokladajú za korunu krásy.

Liečba alopiecie by sa mala začať čo najskôr. Je dôležité vylúčiť endokrinologické, gynekologické, hematologické a i. ochorenia, ktoré by mohli byť príčinou alopiecie. V terapii sa nikdy nevyužíva iba

jeden liek, ale je to kombinácia lokálne aplikovaného liečivého prípravku, vitamínov, minerálnych látok, kozmetických výrobkov (šampóny, toniká) a v rámci možnosti aj ďalších metód. Liečba alopecie je dlhodobá a náročná. Vo väčšine prípadov je terapia úspešná a v určitej miere sa obnoví porast vlasov, no pri niektorých diagnózach je stav vypadávania vlasov nezvratný a nezastaviteľný ani dôkladnou liečbou.

ZOZNAM LITERATÚRY

Alsantali, A.: Alopecia areata: a new treatment plan. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, 2011, 4, 107 – 115.

Amirnia, M., Mahmoudi, S. S., Karkon-Shayan, F., Alikhah, H., Piri, R., Naghavi-Behzad, M., Ranjkesh, M. R.: Comparative study of intralesional steroid injection and cryotherapy in alopecia areata. *Niger. Med. J.*, 2015, 56 (4), 249 – 252.

Bernárdez, C., Molina-Ruiz, A. M., Requena, L.: Histologic features of alopecias: Part II: scarring alopecias. *Actas Dermosifiliogr.*, 2015, 106, 260 – 270.

Castelo-Soccio, L.: Diagnosis and management of alopecia in children. *Pediatr. Clin. North Am.*, 2014, 61 (2), 427 – 442.

Dhariwala, M. a Ravikumar, P.: An overview of herbal alternatives in androgenetic alopecia. *J. Cosmet. Dermatol.*, 2019, 18 (4), 966 – 975.

Fiedler-Weiss, V. C.: Topical minoxidil solution (1 % and 5 %) in the treatment of alopecia areata. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, 16 (3), 745 – 748.

Kim, B. J., Min, S. U., Park, K. Y., Choi, J. W., Park, S. W., Youn, S. W., Park, K. C., Huh, C. H.: Combination therapy of cyclosporine and methylprednisolone on severe alopecia areata. *J. Dermatolog. Treat.*, 2008, 19 (4), 216 – 220.

Kožuchová, Z.: Androgenetická alopecia a súčasné možnosti liečby [Androgenetic alopecia and the current treatment options]. *Dermatológia pre prax*, 2015, 9 (4), 147 – 149.

Marks, J. a Miller, J.: *Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology*. 6th edn. Elsevier Inc., 2018. 263 – 276.

Poonia, K., Thami, G. P., Bhalla, M., Jaiswal, S., Sandhu, J.: Nonscarring diffuse hair loss in women: a clinico-etiological study from tertiary care center in North-West India. *J. Cosmet. Dermatol.*, 2018, 18 (1), 401 – 407.

Pratt, Ch., King, L. E. Jr., Messenger, A. G., Christiano, A. M., Sundberg, J. P.: Alopecia areata. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2017, 3, 1 – 17.

Price, V. H.: Double-blind, placebo-controlled evaluation of topical minoxidil in extensive alopecia areata. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, 16 (3), 730 – 736.

Sennett, R. a Garza, L.: Androgenetic alopecia. In *Alopecia*. 1st edn. Miami: Elsevier, 2018. s. 328.

Stoeck, J., Choi, J. N., Colavincenzo, M. Vanderweil, S.: Off-label use of topical minoxidil in alopecia: a review. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2019, 20 (2), 237 – 250.



TERAPIA ZÁPALOV MOČOVÝCH CIEST

THERAPY OF URINARY TRACT INFECTIONS

Bocková, Martina; Bačkorová, Miriam

Katedra farmakognózie a botaniky
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

miriam.backorova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Infekcie močových ciest (IMC) sú druhým najčastejším infekčným ochorením. Ide o patologický stav, pri ktorom sú prítomné patogénne mikroorganizmy v moči alebo v tkanivách močového ústrojenstva. Hlavnými patogénmi, ktoré sa podieľajú na vzniku infekcií v močovom trakte, sú baktérie. V 70 – 90 % miere spôsobuje IMC G-baktéria *Escherichia coli*. IMC postihuje všetky vekové kategórie, no častejšie ženy ako mužov. Predložená štúdia sa zaoberá možnosťami antimikrobiálnej terapie IMC vyhodnotenej na základe analýzy liečiv, ktoré sa používajú pri ochoreniach močového ústrojenstva. Z analýzy preskripcie vyplýva, že najčastejšie sa vyskytujúcim IMC je cystitída (91,4 %). Nefritída bola diagnostikovaná 4,6 % pacientom a prostatitída 4 % pacientom. Liekom prvej voľby pri cystitíde a prostatitíde bol ciprofloxacín.

Na terapiu nefritídy bol zvolený SMX/TMP. Správny výber antimikrobiotík a dĺžka terapie sú dôležité nielen v boji proti ochoreniu, ale aj v boji proti narastajúcej rezistencii voči antimikrobiálnym látkam.

Kľúčové slová: cystitída; farmakoterapia; infekcie močových ciest; nefritída

ABSTRACT

Urinary tract infections (IMCs) are the second most common infectious diseases. It is a pathological condition in which pathogenic microorganisms are present in the urine or urinary tract tissues. The main pathogens involved in the development of urinary tract infections are bacteria. *Escherichia coli* causes GC to 70 – 90 %. IMC affects all ages, but women more often

than men. The presented study deals with the possibilities of antimicrobial therapy of IMC, based on the analysis of drugs used in urinary tract diseases. The prescription analysis showed that the most common IMC was cystitis (91.4 %). Nephritis was diagnosed in 4.6 % and prostatitis in 4 % of patients. The cure of the first choice for cystitis and prostatitis was ciprofloxacin. SMX/TMP was chosen for nephritis therapy. The right choice of antimicrobial drugs and duration of the therapy are important not only in the fight against the disease but also because of the increasing resistance to antimicrobials.

Key words: cystitis; pharmacotherapy; urinary tract infections; nefritis

ÚVOD

V ľudskej populácii patria infekcie močových ciest (IMC) medzi druhé najčastejšie sa vyskytujúce infekčné ochorenia. Ide o patologický stav, pri ktorom sú prítomné patogénne mikroorganizmy v moči alebo v tkanivách močového ústrojenstva (Terlizzi a kol., 2017). Medzi hlavné patogény, ktoré sa podieľajú na vzniku infekcií v močovom trakte v 70 – 90 % miere, patrí G- baktéria *Escherichia coli* z čeľade *Enterobacteriaceae*. Zvyšok predstavujú patogény ako *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus saprophyticus*, a *Enterococcus* spp. Najčastejšími pôvodcami spomedzi nozokomiálnych kmeňov sú *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp. a *Staphylococcus* spp. (Flores-Mireles a kol., 2015).

ICM zahŕňa široké spektrum ochorení od asymptomatickej bakteriúrie až po akútnu pyelonefritídu a urosepsu (Krčméry, 2005). Klinickými príznakmi sú dyzúria, polakizúria, močová inkontinencia, bolesť v boku, horúčka a zakalený moč, ktoré negatívne ovplyvňujú život každého pacienta. Samotná diagnostika IMC by mala byť potvrdená kultivačným vyšetrením moču s testom citlivosti na antimikrobiálne liečivá (Marenčák, 2017). Medzi

rizikové faktory patrí v prvom rade ženské pohlavie. IMC postihuje všetky vekové kategórie, no častejšie ženy ako mužov. Príčinou je kratšia vzdialenosť medzi konečníkom a močovou rúrou, vyššia vlhkosť okolo uretry a v postmenopauzálnom období zmena zloženia vaginálnej tekutiny so zníženou koncentráciou laktobacilov. Medzi ďalšie faktory patrí genetická predispozícia. Vo všeobecnosti rozlišujeme nekomplikovanú IMC a komplikovanú IMC (Krčméry, 2005). Komplikovaná IMC vzniká v dôsledku anatomickej či funkčnej abnormality močového traktu (nádor, reflux moču) alebo základnej choroby, ktorá zvyšuje riziko získania infekcie (*diabetes mellitus*, neurologické ochorenia). Nekomplikované uroinfekcie sa vyskytujú aj u zdravých pacientov so štrukturálne i funkčne normálnym močovým ústrojenstvom (Kolombo a kol., 2007).

Podľa lokalizácie môžeme IMC rozdeliť na infekcie horných močových ciest (pyelonefritída) a infekcie dolných močových ciest (cystitída, uretritída a prostatitída). Pyelonefritída je zápalové ochorenie obličiek spôsobené baktériami. Môže byť akútna alebo chronická. Charakteristické symptómy pre akútnu pyelonefritídu sú horúčka s následnou zimnicou, nauzea, vracanie, hnačka a bolesti v boku, ktoré sú výsledkom prekážky v odtoku moču z renálneho zberného systému. V prípade, že došlo k vzostupu infekcie z dolných močových ciest, príznaky ochorenia sprevádzajú symptómy, ktoré sú charakteristické pre cystitídu a uretritídu. Chronická pyelonefritída je forma chronickej tubulointersticiálnej nefritídy. Vyznačuje sa opakujúcimi sa infekciami obličiek, po ktorých dochádza k trvalému zjazveniu parenchýmu s následnou poruchou funkcií obličiek. Na liečbu je vhodná antimikrobiálna terapia (Cattrall a kol., 2018).

Zápal sliznice močového mechúra je prejavom akútnej cystitídy, kedy sú v moči prítomne leukocyty a v mnohých prípadoch aj elementy červeného rádu. Liečba spočíva v krátkodobom perorálnom užívaní antibiotík. Dĺžka perorálnej liečby by mala trvať 3 – 5 dní. Na liečbu jednou dávkou sú vhodné

dlhopôsobiace fluorochinolóny (Ko a kol., 2018).

Uretritída je zápal močovej rúry, ktorý sa vyskytuje spolu s cystitídou alebo samostatne ako sexuálne prenosné ochorenie. Primárnu uretritídu môžu vyvolať uropatogénne baktérie a stafylokoky. U pacientov s príznakmi uretritídy, ktorí majú anamnézu nechráneného pohlavného styku, je potrebné určiť pôvodcu ochorenia kultiváciou výteru z močovej rúry, prípadne kultiváciu moču. Z dôvodu častej kombinovanej infekcie *Neisseria gonorrhoeae* a *Chlamydia trachomatis* je potrebné k liečbe gonokokovej infekcie pridať aj antichlamýdióvu terapiu (Hoffman a kol., 2007).

Prostatitída je akútny alebo chronický zápal prostaty, ktorý vyvolávajú baktérie. Pri diagnostike sa využíva mikroskopické a kultivačné vyšetrenie moču. Odporúča sa aj USG vyšetrenie. Liečba bakteriálnej prostatitídy je dlhodobá, trvá 2 až 4 týždne. Vo väčšine prípadov sa odporúča parenterálna liečba baktericídnymi antibiotikami. Po stabilizácii stavu sa môže prejsť na perorálnu antibiotickú liečbu. Z dôvodu zvýšenej antimikrobiálnej rezistencie patogénov urogenitálneho traktu narastá počet recidivujúcich prípadov. Tie spôsobujú nadmernú ekonomickú a medicínsku záťaž (Švihovec a kol., 2018).

Základnou podmienkou prevencie recidívy IMC je dodržiavanie preventívnych opatrení a efektívna liečba každého IMC. Pri prevencii IMC je potrebné dodržiavať tieto základné opatrenia: prísna osobná hygiena, nosenie bavlneného oblečenia, dostatočný príjem tekutín, u žien vymočenie tesne po pohlavnom styku, ochrana pred prechladnutím. Ďalšou možnosťou prevencie recidivujúcej IMC sú: antimikrobiálna kontinuálna profylaxia, imunoterapia, autovakcína, hormonálna substitúcia estrogénov v postmenopauzálnom období. Medzi pacientami je obľúbená napríklad brusnicová kúra (Zakiyanov a kol., 2018).

Predložená štúdia sa zaoberá možnosťami antimikrobiálnej terapie IMC vyhodnotenej z hľadiska liečiv, ktoré sa používajú pri ochoreniach močového ústrojenstva. V rámci IMC boli analyzovaní

pacienti podľa diagnózy, veku, pohlavia, liečiva a dĺžky liečby.

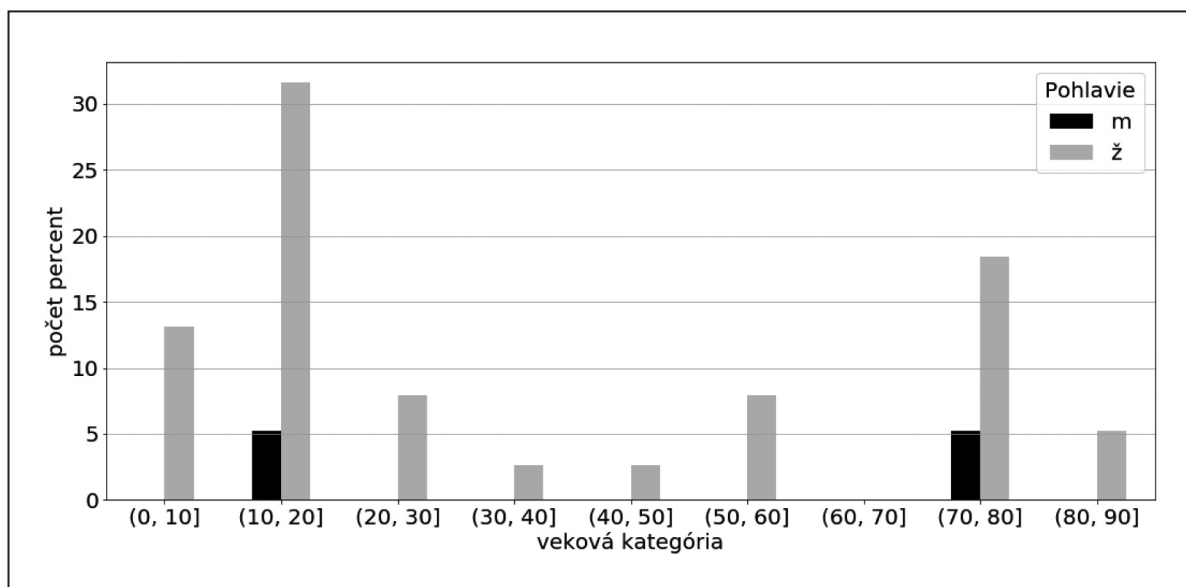
METODIKA

Preskripcia antimikrobiálnych liečiv používaných pri IMC bola monitorovaná vo verejnej lekární lokalizovanej pri poliklinike v Moldave nad Bodvou. Lekárske predpisy boli vyhodnotené pomocou počítačového programu Jupyter. Prostredníctvom počítačového programu boli vyfiltrované recepty za obdobie jedného roka od 1.10.2017 do 30.09.2018. IMC predstavoval 818 lekárskech receptov z celkového počtu 109 213 lekárskech predpisov. Z toho 748 receptov (91,4 %) zahrňovali cystitídy, 38 predpisov (4,6 %) sa týkalo zápalov obličiek (nefritída) a 32 (4 %) receptov bolo zameraných na terapiu prostatitídy. Tie boli následne vyhodnotené na základe pohlavia a veku pacientov, diagnózy, liečiva a dĺžky terapie. Analýza farmakoterapie IMC bola vykonaná v rozsahu diagnóz klasifikovaných podľa slovenskej verzie desiatej revízie Medzinárodnej klasifikácie chorôb (MKCH-10), ktorá zahŕňa N10 (akútna tubulointersticiálna nefritída), N11 (chronická tubulointersticiálna nefritída), N30 (cystitída) a N41 (zápalové choroby prostaty) (ICD – 10 Version: 2016). Výsledky boli spracované v počítačovom programe Microsoft Excel.

VÝSLEDKY

Nefritída bola indikovaná vo verejnej lekární v Moldave nad Bodvou spolu 38 (4,6 %) pacientom. K nefritíde boli zahrnutí aj pacienti, ktorým bola indikovaná diagnóza N15.9 Tubulointersticiálna choroba obličiek bližšie neurčená a N28.8 Iné špecifikované choroby obličiek a močovodov, pretože obe diagnózy súviseli s ochorením obličiek. Z lekárskech predpisov vyplýva, že najviac prípadov akútnej a chronickej nefritídy sa vyskytlo u žien. V najväčšej miere bolo tomuto ochoreniu vystavené 31,5 % žien vo vekovej kategórii 10 – 20 rokov (viď graf 1). Vo vekovej skupine 70 – 80

Graf 1: Percentuálne zastúpenie pacientov s diagnózou N10 (Akútna tubulointerstiálna nefritída) a N11 (Chronická tubulointerstiálna nefritída)



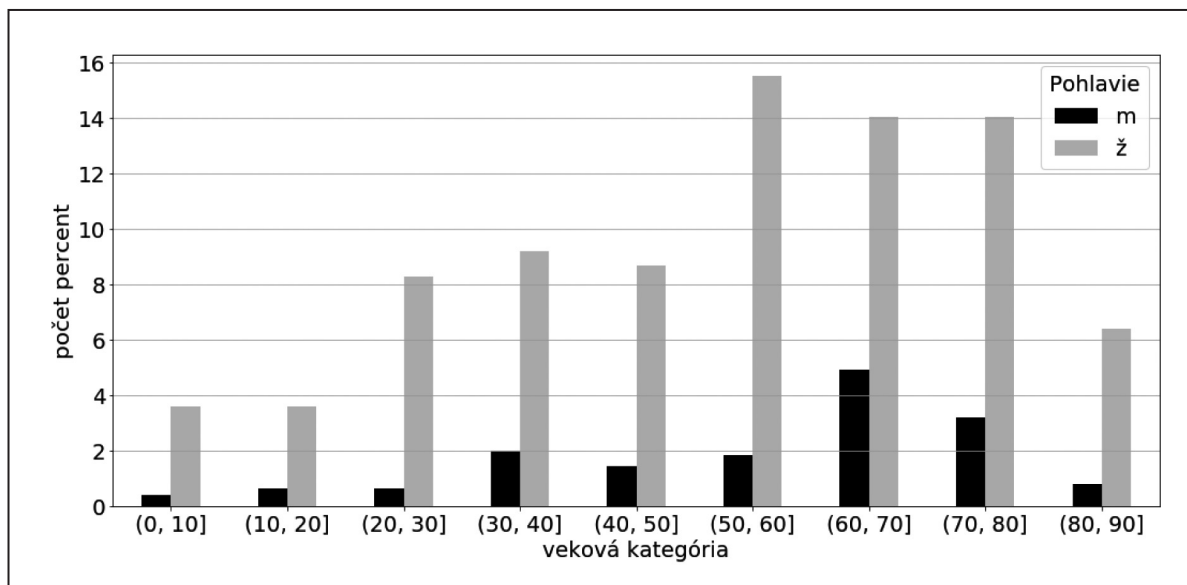
rokov bolo ohrozených 18,4 % žien. Nefritída bola diagnostikovaná 5,1 % mužom vo vekovej skupine 10 – 20 rokov a rovnako aj vo vekovej kategórii 70 – 80 rokov. Na terapiu infekcie horných močových ciest bol indikovaný 34,2 % pacientom kombinovaný sulfametoxazol/trimetoprim (SMX/TMP) (viď tab. 1). Mechanizmus účinku tejto dvojkombinácie liečiv je založený na inhibícii syntézy kyseliny listovej (Švihovec a kol., 2018). Druhým najčastejšie podaným liečivom pri nefritíde 18,5 % pacientom bol cefuroxím a ciprofloxacín. Cefuroxím sa radí do skupiny cefalosporínových antibiotík II. generácie. Vyznačuje sa rovnakou účinnosťou voči G+ a G- baktériám a vyššou odolnosťou voči β -laktamázam. Celkovo sa cefalosporínové antibiotiká radia medzi najmenej toxické, a preto sú vhodné v čase gravidity a laktácie. Celková dĺžka terapie nefritídy trvala 5 dní a podstúpilo ju 15 (42,1 %) pacientov. Liečba nefritídy trvá spravidla 10 až 14 dní, preto viac ako dvojtýždňové liečenie podstúpilo 7 (18,5 %) pacientov.

V priebehu roka 2017/2018 bola cystitída evidovaná u 748 (91,4 %) pacientov. Rozdelenie diagnózy

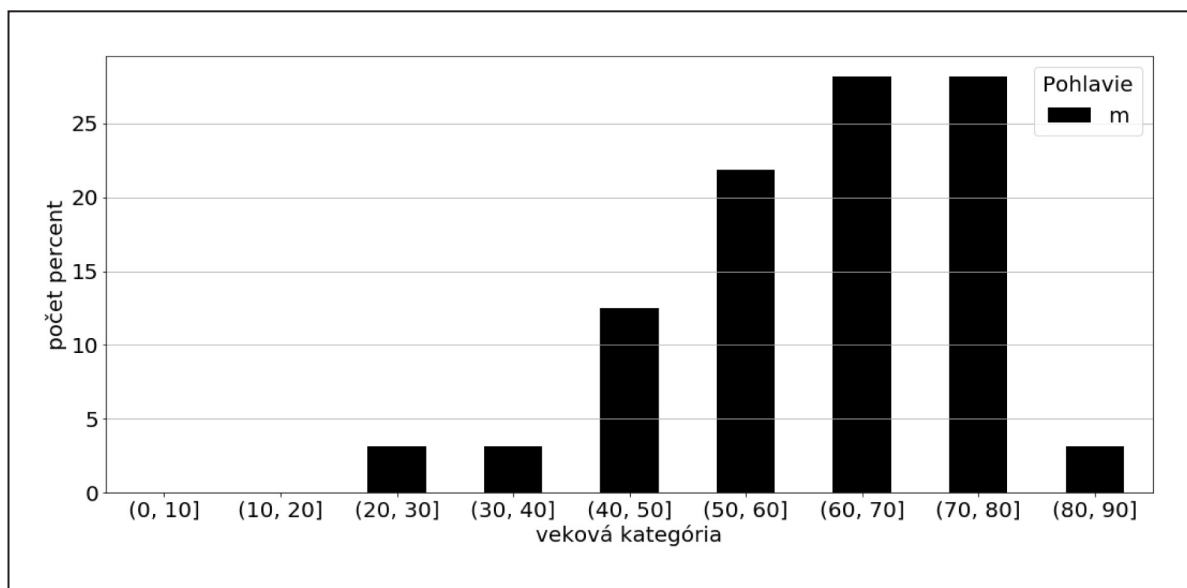
N30 podľa pohlavia znázorňuje graf 2, pričom 84 % žien a 16 % mužom bola indikovaná cystitída. Najviac prípadov sa vyskytovalo v ženskej populácii vo vekovej skupine 50 – 60 rokov a v mužskej populácii vo vekovej kategórii 60 – 70 rokov. Najčastejšie predpisovaným liečivom na terapiu cystitídy bol ciprofloxacín, ktorý užívalo až 52,4 % pacientov (viď tab. 1). Kombinovaný prípravok sulfametoxazol/trimetoprim (SMX/TMP) bol indikovaný 14,7 % pacientom. Jednodňová aplikácia fosfomycínu bola podaná 9,2 % pacientom. Jeho účinok je založený na inhibícii syntézy bunkovej steny baktérií, špecificky inhibuje enzým UDP-N-acetylglukozamín-3-enolpyruvyltransferázu (Švihovec a kol., 2018). Päťdňovú terapiu pri cystitíde podstúpilo 353 (47,3 %) pacientov a desaťdňová liečba sa stala účinnou pre 145 (19,4 %) pacientov. Krátkodobá liečba podaním jednorazovej dávky bola zvolená v 48 (6,5 %) prípadoch. Z receptov je zrejmé, že profylaktickú liečbu, ktorá trvala viac ako dva týždne, podstúpilo iba 59 (0,79 %) pacientov.

Z celkového počtu všetkých pacientov s ochorením IMC bola prostatitída N41 diagnostikovaná 32

Graf 2: Percentuálne zastúpenie pacientov s diagnózou N30 (Cystitída)



Graf 3: Percentuálne zastúpenie pacientov s diagnózou N41 (Zápalové choroby prostaty)



(4 %) mužom (viď graf 3). Prostatitída bola rovnako indikovaná mužom v dvoch vekových skupinách, a to vo veku 60 – 70 rokov a 70 – 80 rokov. Počet ochorení predstavoval v oboch kategóriách 28,1 %. Pri liečbe prostatitídy bol liekom prvej voľby fluorochinolón ciprofloxacín, ktorý užívalo 56,3 % pacientov (viď tab. 1). Tetracyklínové antibiotikum druhej generácie doxycyklín užívalo 25 % pacientov. Jeho mechanizmus účinku spočíva v tlmení syntézy proteínov v ribozómoch blokovaním väzobného

miesta pre aminoacyl-tRNA na 30S podjednotke ribozómu, čím dochádza k prerušeniu elongácie peptidového reťazca. Dĺžka liečby závisí od viacerých faktorov. Pomocou fluorochinolónov sa liečilo 12 (37,5 %) pacientov počas 10 dní. Perorálna antibiotická liečba pri liečbe bakteriálnej prostatitídy by mala trvať 4 až 6 týždňov. Preskripcia preukázala, že 4 (12,5 %) muži sa liečili antibiotikami počas 20 dní.

Tab. 1: Prehľad farmakoterapie pri infekciách močových ciest

Liečivo	Nefritída		Cystitída		Prostatitída	
	Počet pacientov	Počet percent	Počet pacientov	Počet percent	Počet pacientov	Počet percent
Ciprofloxacín	7	18,4	392	52,4	18	56,3
SMX/TMP	13	34,2	110	14,7	–	–
Fosfomycín	–	–	69	9,2	–	–
Nifuratel	–	–	44	5,9	–	–
Cefuroxím	7	18,4	49	6,6	–	–
Cefixím	5	13,2	44	5,9	3	9,4
Ofloxacín	–	–	14	1,9	1	3,1
Doxycyklín	6	15,8	10	1,3	8	25,0
Sultamicilín	–	–	5	0,7	–	–
Cefprozil	–	–	4	0,5	–	–
Amoxicilín*	–	–	2	0,3	–	–
Norfloxacín	–	–	2	0,3	2	6,2
Azitromycín	–	–	1	0,1	–	–
Flukonazol	–	–	1	0,1	–	–
Klindamycín	–	–	1	0,1	–	–
Spolu	38	100,0	748	100,0	32	100,0

SMX/TMP – sulfametoxazol/trimetoprim, Amoxicilín* – Amoxicilín/kyselina klavulánová

DISKUSIA

Infekcie močových ciest (IMC) vo všeobecnosti predstavujú závažný, celosvetový, medicínsky, ale aj ekonomický problém. Vo väčšine prípadov sa tieto infekčné bakteriálne ochorenia môžu vyskytnúť v ktorejkoľvek časti močového traktu, ako je močový mechúr, močová trubica, močovody, obličky. Sú tiež jednou z najbežnejších príčin hospitalizácií starších pacientov v nemocničných zariadeniach. Z klinického hľadiska sú IMC rozdelené na infekcie horných močových ciest, kam patrí pyelonefritída, a infekcie dolných močových ciest, medzi ktoré patrí cystitída, prostatitída a uretritída. Podľa závažnosti sa IMC ďalej delia na komplikované a nekomplikované a podľa stavu na akútne a chronické (Marenčák, 2017).

Akútna pyelonefritída patrí do skupiny tubulo-intersticiálnych nefritíd. Vyznačuje sa rýchlym

nástupom infekcie a intenzívnymi prejavmi, akými je triaška, horúčka, bolesť v lumbálnej oblasti, nauzea, zvracanie. Jej výskyt sa líši v závislosti od pohlavia a veku. Odhaduje sa, že počet ambulantných pyelonefritíd u žien je 12 – 13 prípadov na 10 000 obyvateľov ročne. Veľmi často sa prejavuje aj v detskej populácii (Kolombo a kol., 2007). Na základe analýzy preskripcie pacientov s diagnózou N10 a N11 vo verejnej lekární v Moldave nad Bodvou je zrejmé, že najviac pacientov pochádzalo z pediatrickej ambulancie (50 %). Nefritída bola diagnostikovaná 31,5 % detským pacientom (dievčatám) vo vekovej kategórii 10 – 20 rokov. Na terapiu nefritídy bol indikovaný 34,2 % pacientom sulfametoxazol/trimetoprim (SMX/TMP). Mechanizmus účinku sulfónamidov spočíva v kompetitívnej inhibícii enzýmu dihydropteroát syntetázy, ktorý sprostredkuje premenu kyseliny para-aminobenzoovej na kyselinu

dihydroolistovú. Tým je vyvolaný baktériostatický účinok. Na dosiahnutie baktericídneho účinku sa kombinuje SMX s TMP. Ten inhibuje enzým dihydrofolát reduktázu v druhom stupni syntézy kyseliny tetrahydrofolovej (Švihovec a kol., 2018). Klinické štúdie preukázali, že symptomatickými liečivami pri liečbe nefritídy je perorálne užívanie ciprofloxacínu, levofloxacínu a sulfametoxazol/trimetoprim (SMX/TMP) (Catrall a kol., 2018). Samotný trimetoprim pri profylaktickej liečbe nie je taký účinný ako kombinácia dvoch antimikrobiálnych liečiv SMX/TMP. Na druhej strane má nižší počet nežiaducich účinkov v porovnaní s SMX/TMP. Medzi nežiaduce účinky patria alergické reakcie, hematologické komplikácie ako leukopénia, hemolytická anémia alebo trombocytopénia. Dĺžka liečby závisí od viacerých faktorov. Pri nefritíde trvala u 42,10 % pacientov 5 dní. Pri dlhodobej profylaxii sa môže prejaviť bakteriálna rezistencia. Štúdia podľa Talana a kol. (2000) porovnávala účinnosť a bezpečnosť 7-dňového ciprofloxacínového režimu a 14-denného SMX/TMP režimu pri liečbe akútnej pyelonefritídy. Do analýzy bolo zahrnutých 255 pacientiek vo veku nad 18 rokov s klinickou diagnózou akútnej nekomplikovanej pyelonefritídy. Výsledok preukázal, že 7-dňový režim ciprofloxacínu bol spojený s vyššou mierou bakteriologického a klinického vyliečenia ako 14-dňový režim trimetoprim-sulfametoxazol, najmä u pacientov, ktorí boli infikovaní kmeňmi rezistentnými na trimetoprim-sulfametoxazol.

K infekciám dolných močových ciest, predovšetkým močového mechúra, patrí akútna cystitída. Ochorenie postihuje 30-krát častejšie ženy ako mužov. Výskyt cystitídy u mužov je zriedkavý, najčastejšie sa vyskytuje u novorodencov, detí a mužov starších ako 50 rokov. Primárnym dôvodom infekcie sú baktérie (napr. *Escherichia coli* v 80 – 90 % prípadoch), ktoré sa nachádzajú v pošve, v konečníku a v močovej rúre. Na diagnostiku cystitídy je potrebné vyšetrenie moču na prítomnosť krvi, bielkovín, leukocytárnej esterázy ako produktu rozpadu leukocytov (Kladenský, 2018). Okrem

toho sa pomocou papierikovej metódy zisťuje prítomnosť močových nitritov ako degradačného produktu G- baktérií (Hoffman a kol., 2007). Liečba cystitídy spočíva v krátkodobom perorálnom užívaní antibiotík. Liekom prvej voľby sú fluorochinolóny. Ich mechanizmus účinku spočíva v inhibícii DNA topoizomerázy II. Flurochinolóny pôsobia baktericídne, preto sú vhodné na kombinovanú terapiu, čím sa prejavuje aditívny účinok. Hlavnou obavou, ktorá sa týka používania fluorochinolónov pri akútnej cystitíde, je možný vznik rezistencie nielen medzi uropatogénmi, ale aj ďalšími mikroorganizmami, ktoré spôsobujú vážnejšie a ťažko liečiteľné infekcie na iných miestach (Ko a kol., 2018). Na terapiu cystitídy bol liekom prvej voľby fluorochinolón ciprofloxacín, ktorý užívalo 392 (52,4 %) pacientov. Druhým najčastejšie indikovaným liečivom bol SMX/TMP, ktorý bol účinný pre 110 (14,7 %) pacientov. V skúmanej štúdii bol na liečbu cystitídy diagnostikovaný jednodňový preparát fosfomycín. Európska urologická asociácia (EUA) odporúča tento preparát na jednodňovú liečbu. Fosfomycín v jednorazovej dávke je vysoko účinný v terapii cystitídy u žien, vzhľadom k jeho vysokej citlivosti k uropatogénom. Úroveň jeho rezistencie sa pohybuje okolo 3 %. Výhodou sú vysoké terapeutické koncentrácie fosfomycínu v moči, prítomné minimálne 36 hodín (Kladenský, 2018). Vedecké výskumy preukázali, že pri liečbe cystitídy došlo u 22 % pacientov v priebehu 24 hodín k zmierneniu priebehu ochorenia pridaním NSAID k ich liečbe. 63 % pacientov hlásilo zlepšenie symptómov až po tretej dávke antimikrobiálnych liečiv bez NSAIS, preto sa odporúča ich kombinácia (Ko a kol., 2018). Pri liečbe mykotických cystitíd, ktorých pôvodcom je *Candida albicans*, sa používajú tiazolové antimykotiká ako je flukonazol, itrakonazol, posakonazol a v súčasnosti vorikonazol. Pôsobia na úrovni cytochrómu P450 a blokujú enzymatické systémy mykotických buniek, čím dochádza k zastaveniu bunkového delenia. Ich účinok je fungistatický až fungicídny. V súhrnnej skupine pacientov s diagnózou cystitída trpela ochorením

mykotickej cystitídy 1 (0,1 %) pacientka, ktorá užívala flukonazol. no súčasne užívala aj prípravky s obsahom *Lactobacillus acidophilus*. Ketokonazol sa neodporúča podávať nielen pre riziko vzniku hepatotoxicity, ale aj kvôli nedosiahnutiu účinných koncentrácií v močových cestách (Kladenský, 2018).

Prostatitída je bakteriálna infekcia a na jej terapiu je nutné vybrať antimikrobiálne liečivá s dobrou penetráciou do tkaniva prostaty. Väčšina urológov lieči prostatitídu empiricky s použitím širokospektrálnych liečiv, ktoré sú účinné voči G- aj G+ baktériám. Jednými z nich sú chinolóny, ktoré sa považujú za vysoko účinné v dôsledku ich širokospektrálnej aktivity a výraznej akumulácii v prostate. Zhang a kol. (2012) vo svojej štúdii porovnali účinok a bezpečnosť levofloxacinu s ciprofloxacínom na liečbu chronickej bakteriálnej prostatitídy. 408 pacientov bolo rozdelených do dvoch skupín. Prvá skupina užívala 500 mg levofloxacinu 1 x denne a druhá 500 mg ciprofloxacínu 2 x denne počas 4 týždňov. Klinická účinnosť bola výrazne vyššia a mikrobiologická recidíva bola nižšia v skupine pacientov, ktorí boli liečení levofloxacínom. V skúmanej skupine bolo 15 (46,87 %) pacientov s diagnózou N41.9 nešpecifikované zápalové choroby prostaty. Akútna prostatitída bola indikovaná 11 (31,3 %) pacientom a chronická prostatitída 6 (18,8 %) pacientom. Liekom prvej voľby bol fluorochinolón ciprofloxacín. Vo všeobecnosti sa pri liečbe akútnej bakteriálnej prostatitídy odporúča užívanie fluorochinolónov počas 2 – 4 týždňov. V rámci prevencie prechodu do chronického štádia sa odporúča 6 – 8-týždňová terapia. V prípade chronickej prostatitídy sa môžu okrem už spomenutých liečiv pri podozrení na intracelulárne patogény užívať tetracyklíny a makrolidy. Doxycyklín je širokospektrálne tetracyklínové antibiotikum s vyššou antibakteriálnou účinnosťou ako tetracyklín. Významný je jeho účinok najmä na chlamýdie *Chlamydia trachomatis* a gonokoky *Neisseria gonorrhoeae*. Odporúčaná dĺžka liečby sa uvádza 4 až 6 týždňov (Poršová a kol., 2018). V skupine s diagnózou prostatitídy užívalo doxycyklín 8 (25 %) pacientov. Dlhodobé užívanie antibiotík je spojené so

vznikom vážnych nežiaducich účinkov.

V súčasnosti sa veľká pozornosť venuje hľadaniu účinných terapeutických látok so zanedbateľnými nepriaznivými účinkami. Zvýšil sa záujem o prírodné látky, ktoré sa nachádzajú v rastlinách. Silné antimikrobiálne účinky voči baktériám, ktoré spôsobujú IMC, majú rastliny z čeľade *Ericaceae* (medvedica lekárska, brusnica veľkoplodá, brusnica pravá, brusnica čučoriedková). Vedecké štúdie preukázali, že pravidelné užívanie extraktov z týchto rastlín znižuje riziko opakujúcich sa epizód IMC (Nabavi a kol., 2017).

ZÁVER

IMC sú bežné infekčné choroby, ktoré sa môžu vyskytnúť v ktorejkoľvek časti močového traktu, ako je močový mechúr, obličky, močovody a močová trubica. Z analýzy lekárskeho predpisov v priebehu obdobia jedného roka vyplýva, že cystitída bola indikovaná až 91,4 % pacientom, nefritída 4,6 % pacientom a prostatitída 4 % pacientom. Ochorením IMC trpelo až 80,8 % žien a iba 19,2 % mužov. Na terapiu nefritídy bol zvolený SMX/TMP, pri cystitíde a prostatitíde bol indikovaný fluorochinolón ciprofloxacín. Empiricky je ciprofloxacín volený ako liek prvej voľby v prípade nekomplikovanej cystitídy. Podľa klinických štúdií by sa mal predpisovať iba v prípade, keď iné antimikrobiálne látky na terapiu IMC nie sú vhodné. Dĺžka liečby u pacientov, ktorým bola diagnostikovaná nefritída, trvala 5 dní (42,1 %). Pacienti, ktorým bola indikovaná cystitída, sa liečili v priemere 5 dní (47,3 %). Dĺžka liečby pri akútnej prostatitíde trvala priemerne 10 dní (37,5 %).

ZOZNAM LITERATÚRY

Cattrall, J. W. S., Robinson, A. V., Kirby, A.: A systematic review of randomised clinical trials for oral antibiotic treatment of acute pyelonephritis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2018, 37 (12), 2285 – 2291.

Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon,

M., Hultgren, S. J.: Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature reviews microbiology*, 2015, 13 (5), 269 – 284.

Hoffmann, J., Blaško, M., Hladík, M., Kertes, P.: Infekcie dolných močových ciest. [Lower urinary tract infections]. *Via Practica*, 2007, 4 (9), 400 – 406.

International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10 Version:2016). <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>. Accessed October 27, 2016.

Kladenský, J.: Nekomplikované infekcie dolných močových ciest u žien, možnosti liečby a prevencie [Uncomplicated lower urinary tract infections in women, options of therapy and prevention] *Medicína pro praxi*, 2018, 15 (1), 9 – 14.

Kolombo, I., Hanuš, T., Porš, J., Poršová, M., Pabišta, R.: *Infekcie močových ciest pro praktické lékaře a specialisty* [Urinary tract infections for general practitioners and specialists]. Praha: Galén, 2007, 281 s.

Ko, K., Lee, W. K., Oh, C. J., Lee, S. H., Cho, S. T.: Is A Combination of antibiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs more beneficial than antibiotic monotherapy for the treatment of female acute uncomplicated cystitis? A randomized controlled pilot study. *Urology journal*, 2018, 15 (6), 365 – 369.

Krčméry, S.: Antibiotická liečba infekcií dolných močových ciest [Antibiotic treatment of lower urinary tract infections]. *Via Practica*, 2005, 2 (10), 386 – 388.

Marenčák, J.: Recidivujúce zápaly močových ciest [Recurrent urinary tract inflammation]. *Via Practica*, 2017, 5 (14), 244 – 249.

Nabavi, F. S., Sureda, S., Daglia, M., Izadi, M., Nabavi, S. M.: Cranberry for urinary tract infection: from bench to bedside. *Current topics in medicinal chemistry*, 2017, 17 (3), 331 – 339.

Poršová, M., Kolombo, I., Porš, M.: Prostatitidy – praktické poznámky k diagnostice a liečbe [Prostatitis – practical comments on diagnostics and treatment]. *Urologie pro Praxi*, 2018, 19 (2), 86 – 88.

Švihovec, J., Bultas, J., Anzenbacher, P., Chládek, J., Příborský, J., Slíva, J., Votava, M.: *Farmakologie* [Pharmacology]. Praha: Grada Publishing, a. s., 2018, 701 – 756.

Talan, D. A., Stam, W. E., Hooton, T. M., Morgan, G. J., Bukre, T.: Comparison of ciprofloxacin (7days) and trimetoprim-sulfametoxazol (14 days) for acute uncomplicated pyelonephritis in women: a randomized trial. *The Journal of the American Medical Association*, 2000, 283 (12), 1583 – 1590.

Terlizzi, M. E.; Gribaudo, G.; Maffei, M. E.: UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8, s. 1566.

Zakiyanov, O. a Tesař, V.: *Průvodce klinickou nefrologií a dialýzou pro internisty* [Guide to clinical nephrology and dialysis for internists]. Praha: Mladá fronta, 2018. s. 148.

Zhang, Z. CH., Jin, F. S., Shen, Z. J., Sun, Y. H., Guo, Y. I.: Safety and efficacy of levofloxacin versus ciprofloxacin for the treatment of chronic bacterial prostatitis in Chinese patients. *Asian Journal of Andrology*, 2012, 14 (6), 870 – 874.



PSORIÁZA A JEJ TERAPEUTICKÉ ALTERNATÍVY

PSORIASIS AND ITS THERAPEUTIC ALTERNATIVES

Jakabová, Lýdia; Maková, Zuzana

Katedra patologickej anatómie a patologickej fyziológie
Ústav patologickej fyziológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

zuzana.makova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Psoriáza je chronické dermatologické ochorenie, ktoré značne narúša kvalitu života pacienta. Je dôležitá včasná diagnóza a následné určenie terapie, ktoré je náročné najmä na rozmanitosť a rozsah príznakov u pacientov. Približne 2 – 3 % svetovej populácie trpí týmto ochorením a počet pacientov stále narastá. V súčasnosti sa pri závažných prípadoch do popredia častejšie dostáva terapia biologickou liečbou, ktorá je účinnejšia, s viditeľnými výsledkami v pomerne krátkom čase. Je bezpečnejšia oproti iným systémovým liečivám, u ktorých sa častejšie vyskytujú nežiaduce účinky a v porovnaní s ňou majú aj nižšiu účinnosť.

Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť preskripciu lokálnych, celkových a biologických liečiv používaných v terapii psoriázy vo vybranej lekární v Košiciach, ktorá spolupracuje s dermatologickou klinikou UNLP v Košiciach. Na základe

výsledkov poukazujúcich na nárast preskripcie biologík bolo vybraných šesť klinických prípadov.

Zo zistených výsledkov môžeme skonštatovať, že po aplikovaní biologickej liečby sa v pomerne krátkom čase výrazne zlepšil stav pacientov. Z predloženej štúdie vyplýva, že liečba psoriázy je časovo náročná a je nevyhnutné hľadať nové a účinnejšie riešenia v terapii tohto ochorenia.

Kľúčové slová: adalimumab; biologická liečba; etanercept; farmakoterapia; monoklonálne protilátky; psoriáza

ABSTRACT

Psoriasis is a chronic dermatological disease that severely disrupts the patient's quality of life. Early diagnosis and subsequent determination of therapy, which is particularly demanding because of the variety and extent of symptoms in patients,

is important. 2 – 3 % of the world population is affected by this disease and the number of patients is still increasing. Nowadays, in severe cases, more often the biological therapy is coming to the forefront; it is more effective with visible results in a relatively short time. It is also safer compared to other systemic drugs having more frequent adverse reactions and lower efficacy.

The aim of this study was to evaluate the prescription of local, total and biological drugs used in the treatment of psoriasis in a selected pharmacy in Košice, which cooperates with the UNLP dermatological clinic in Košice. Six clinical cases were selected based on results suggesting an increase in prescription of biological drugs.

Based on the results, we can conclude that after the application of biological therapy in a relatively short time, the condition of the patients improved significantly. The study shows that the treatment of psoriasis is time consuming and it is necessary to seek new and more effective solutions in the treatment of this disease.

Key words: adalimumab; biological treatment; etanercept; pharmacotherapy; monoclonal antibodies; psoriasis

ÚVOD

Psoriáza alebo ľudovo povedané lupienka je najčastejšie definovaná ako chronické zápalové ochorenie kože s epidermálnou proliferáciou, čo sa klinicky prejavuje zápalovými ložiskami pokrytými striebřistými šupinkami. Iná definícia popisuje psoriázu ako primárnu zápalovú dermatózu na multigénnom podklade, teda ochorenie multifaktoriálne a komplexné (Braun-Falco a kol., 2001).

Psoriáza postihuje približne 2 – 3 % svetovej populácie. Incidencia je nízka, približne 60 prípadov na 100-tisíc obyvateľov. Najvyššiu prevalenciu nájdeme v západných krajinách ako je Nórsko alebo Veľká Británia. Posledná štatistika z roku 2015

odhaduje, že na Slovensku je približne 200-tisíc psoriatikov. Toto ochorenie postihuje človeka v akomkoľvek veku a nerozlišuje ani medzi pohlavím. Pri nástupe psoriázy je dôležité rozlíšiť dva typy:

- psoriáza typu I – s výskytom do 40. roku života, spojená so streptokokovými infekciami a s HLA Cw6 (human leukocyt antigen)
- psoriáza typu II – s výskytom nad 40 rokov s nie tak silnými asociáciami ako pri prvom type.

Keďže psoriázu vyvoláva mnoho faktorov, nedá sa jednoznačne definovať jej patogenéza. Je dokázané, že sa na nej podieľajú prvky imunitného systému a genetika, ide o multifaktoriálne ochorenie, ktoré sa prejaví po pôsobení spúšťacích faktorov vonkajšieho prostredia (trauma, infekcia, lieky, metabolické faktory, psychické faktory, alkohol a fajčenie) (Leonardi a kol., 2005). Úlohu v genetickej predispozícii zohrávajú tzv. gény závažnosti choroby, ktoré majú pod kontrolou závažnosť zápalového procesu a imunitných odpovedí a tzv. gény vnímavosti, typické pre psoriázu. Imunitnú časť vzniku psoriázy spôsobujú najmä T-lymfocyty (Th1 a Tc1 lymfocyty).

Psoriáza sa vyskytuje v dvoch formách. Akútna psoriáza, ktorá vzniká najčastejšie ako prejav po infekcii horných dýchacích ciest. Ložiská sa objavujú po celom tele v podobe bodiek, kvapiek alebo až v rozmeroch mince. Výsev môže sprevádzať pocit svrbenia, má nižší prah bolestivosti a preto treba byť opatrný pri ošetrovaní (Šimaljaková, 2008). Druhou formou je chronická psoriáza, pri ktorej rozoznávame jednotlivé typy podľa miesta ložiska a závažnosti prejavov (*psoriasis vulgaris chronica*, *palmoplantaris*, *inversa*, *erythrodermia psoriatica*, *unquium*, *arthropathica* a iné) (Benáková a kol., 2007).

Po diagnostike psoriázy je pacientovi nasadená liečba. Ľahšie formy ustupujú aj po aplikácii lokálnej liečby. Najčastejšie používanými lokálnymi antipsoriatikami sú kortikosteridy (dexametazón, metylprednizolón, hydrokortizón, triamcinolón,

butametazón, klobetazón a iné). Ďalšími látkami, ktoré sa používajú najmä ako podporná liečba sú emolienciá, keratolytiká, retinoidy, cignolín, dechty, ichtamol a balneoterapia. Osobitnú časť lokálnej terapie tvorí fototerapia a fotochemoterapia. Najčastejšie sa používa kombinácia UVA žiarenia s fotosenzibilizátormi – psoralénmi (PUVA). Psoralén sa viaže na DNA, kde po ožiarení vyvolá imunomodulačný a supresívny účinok (Benáková a kol., 2007).

Systémová terapia celkovo pôsobiacimi liečivami sa používa u pacientov so stredne ťažkou psoriázou, u ktorých už nezaberá liečba lokálne aplikovanými liekmi. Najčastejšie používanými sú metotrexát, cyklosporín a acitretín (Benáková a kol., 2007).

Najnovšou skupinou látok používaných na liečbu psoriázy sú biologické preparáty. Základné rozdelenie biologických látok je podľa miesta ich pôsobenia. Prvou skupinou sú látky blokujúce TNF α (etanercept, infliximab, adalimumab) a druhou skupinou sú látky blokujúce aktiváciu T-lymfocytov alebo eliminujúce patologické T-lymfocyty (efalizumab a alefacept) (Benáková a kol., 2007). Hlavnou indikáciou pre užívanie biologickej liečby je stredne ťažká a ťažká ložisková psoriáza u dospelých s kožnými prejavmi najmenej na 10 % tela alebo index závažnosti plochy psoriázy (PASI – psoriasis area and severity index) je aspoň 12 (Dubertret a kol., 2006). Aplikácia biologickej liečby sa zhodnocuje u pacienta, u ktorého nezaúčinkovala iná liečba alebo nemôže pokračovať v pôvodnej liečbe pre prejav vedľajších nežiaducich účinkov (Benáková a kol., 2007). Biologiká sa podávajú samostatne alebo v kombinácii s lokálne pôsobiacimi liečivami. Sú dobre znášané pacientom, zvyčajne sa u nich neprejavujú nežiaduce účinky. Ak sa aj vyskytnú, môže ísť o infekciu respiračného traktu alebo reakciu v mieste vpichu (Benáková a kol., 2007). Najpoužívannejšie biologiká sú adalimumab, etanercept, sekukinumab, ixekizumab, ustekinumab, apremilast a efalizumab.

MATERIÁL A METÓDY

V spolupráci s vybranou lekárnou v Košiciach, ktorá spolupracuje s dermatologickým oddelením UNLP v Košiciach, boli vyhodnotené záznamy z receptov s liečivami používanými na liečbu psoriázy počas obdobia 22 mesiacov. Ako prvé boli zosumarizované najčastejšie používané lokálne liečivá (emolienca a kortikosteroidy). Druhou skupinou boli celkovo aplikované liečivá (metotrexát a cyklosporín). Acitretín, patriaci do tejto druhej skupiny, sa síce tiež aplikuje pacientom s ťažšou formou psoriázy, ale čoraz menej, a preto do našej sumarizácie nebol zahrnutý pre jeho veľmi nízku preskripciu lekármi. Poslednou skupinou boli biologické antipsoriatiká, ktorým bola v práci venovaná prioritná pozornosť (sekukinumab, adalimumab, apremilast, ustekinumab a ixekizumab). Vyhodnotená bola tendencia preskripcie jednotlivých skupín liečiv používaných v liečbe psoriázy.

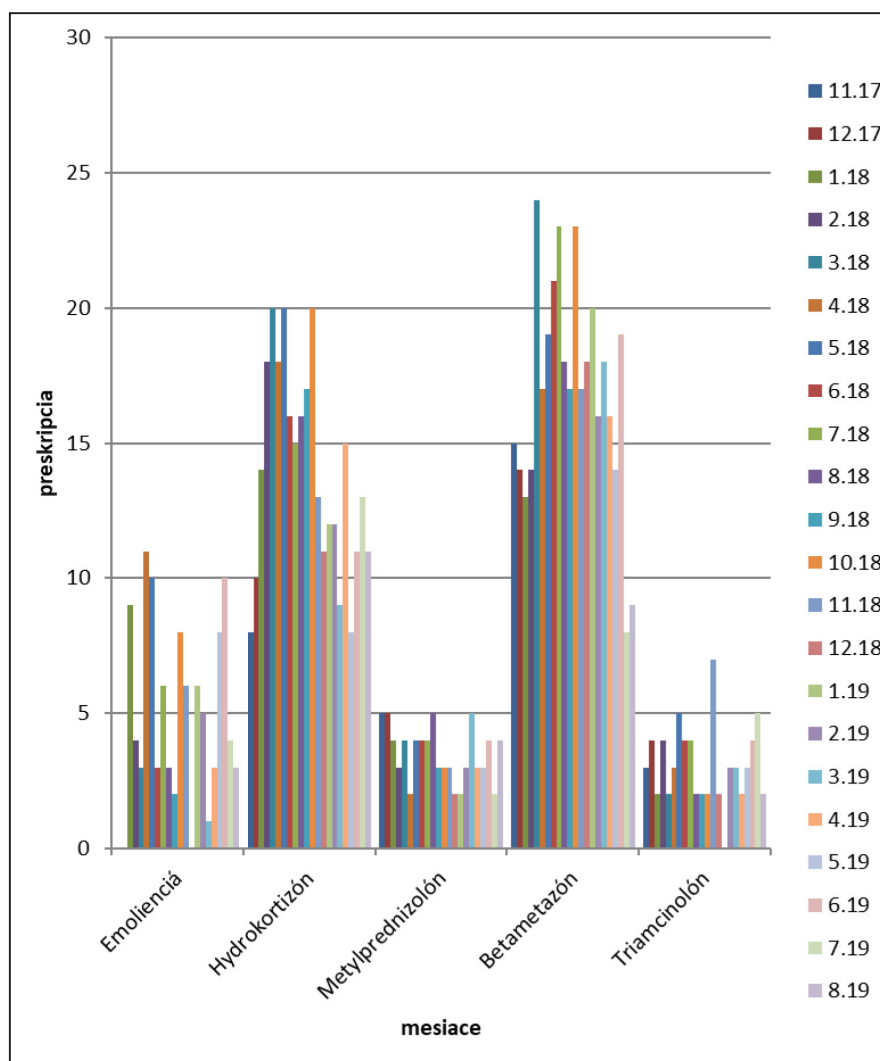
Na podloženie tvrdení o efektívite biologickej liečby bolo so spomínanou dermatovenerologickou ambulanciou konzultovaných a následne vybraných 6 klinických prípadov – pacientov, ktorí boli liečení biologickými liečivami. Každý pacient splnil podmienky indikačného obmedzenia a dostal súhlas revízneho lekára zdravotnej poisťovne na úhradu. Medzi pacientami boli štyri ženy a dvaja muži vo veku od 32 do 74 rokov. Pri spracovaní klinických prípadov boli dodržané všetky pravidlá ochrany osobných údajov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Preskripcia lokálne pôsobiacich liečiv (emolienca, hydrokortizón, metylprednizolón, betametazón a triamcinolón) je spojená predovšetkým s liečbou ľahkých foriem psoriázy a v prípade stredne ťažkých a ťažkých foriem v kombinácii s celkovou liečbou. Za obdobie 22 mesiacov mala preskripcia týchto lokálnych liečiv klesajúcu tendenciu (viď graf 1).

Preskripcia celkovo pôsobiacich liečiv v terapii psoriázy (metotrexát a cyklosporín), mala

Graf 1: Vývoj preskripcie lokálne aplikovaných liečiv



tiež klesajúcu tendenciu (viď graf 2). Pri celkovo používaných liečivách sa pomerne často vyskytujú nežiaduce účinky a neefektívnosť ich aplikovania (Mikhaylov a kol., 2019). Na druhej strane v kombinácii s biologickými liečivami sa ukázali ako veľmi efektívne s pomerne rýchlym nástupom účinku (Armstrong a kol., 2015).

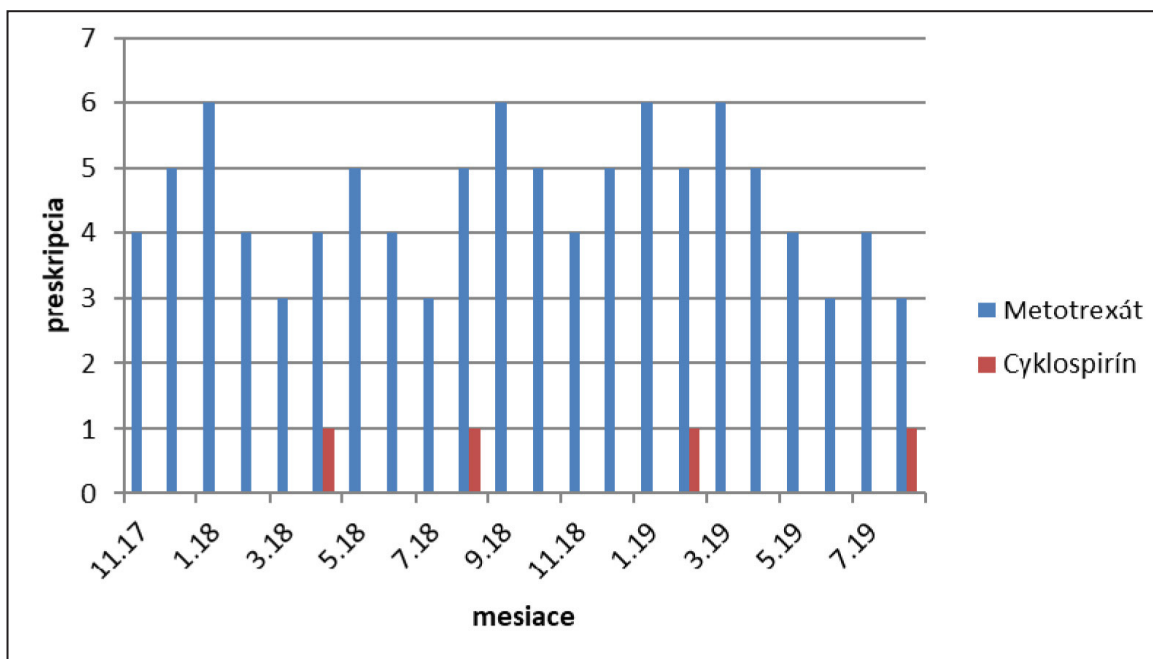
Naopak, preskripcia biologických preparátov (adalimumab, sekukinumab, apremilast, ustekinumab a ixekizumab) za 22 mesiacov, teda v pomerne krátkom čase, mala stúpajúcu tendenciu (viď graf 3).

Nárast preskripcie biologických liečiv dokazujú aj najnovšie štatistické údaje vydané organizáciou IPC (International Psoriasis Council), ktoré zaza-

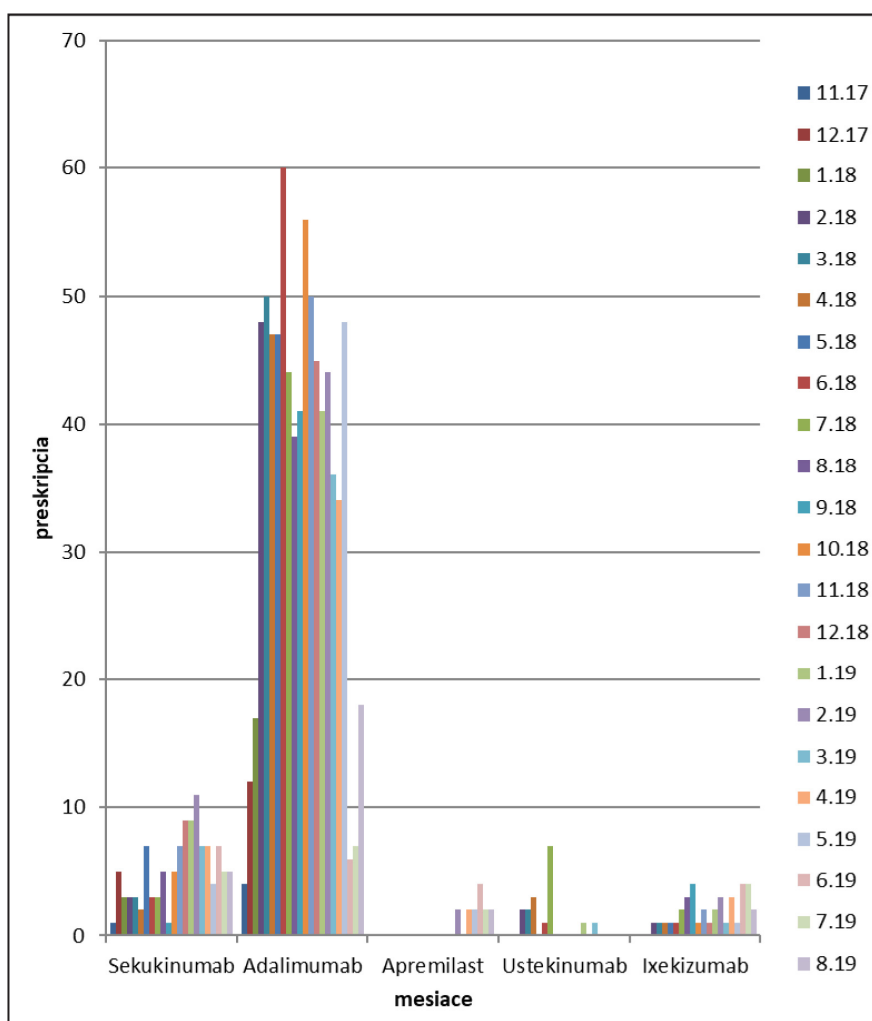
menávajú stúpajúcu frekvenciu preskripcie biologík najmä vo vyspelých krajinách ako je Nórsko, Dánsko a Veľká Británia (Cohen a kol., 2019). V ostatných častiach Európy sa len pomaly dostávajú do popredia. Tento fakt môže byť dôsledkom indikačného obmedzenia pri predpisovaní a ich pomerne vysokej ceny a následnej úhrady zdravotnými poisťovňami.

Na základe výsledkov preskripcie bolo vybraných 6 klinických prípadov. Každému pacientovi bola diagnostikovaná psoriáza a naordinovaná liečba. Každá liečba začínala podávaním lokálnych antipsoriatických liečiv. Boli im aplikované emolenciá a kortikosteroidy, podobne ako v záznamoch preskrip-

Graf 2: Vývoj preskripcie celkovo používaných liečiv



Graf 3: Vývoj preskripcie biologických preparátov



cie z lekárne. Tieto lieky majú dobrý účinok pri ľahkých formách ochorenia, ale u našich pacientov nemali dostatočný efekt. U kortikosteroidov bolo dokázané, že pri nedostatočnom poučení pacienta a pri nedbalej aplikácii sa u nich pomerne často vyskytujú nežiaduce účinky (Gabros a Zito, 2019). Po nedostatočnom účinku lokálne pôsobiacich liečiv sa pacientom podávali celkové lieky a fototerapia (PUVA). Celkové liečivá (metotrexát, cyklosporín a acitretín) sa podávali v rôznom poradí v závislosti od konkrétneho pacienta a jeho stavu. Acitretín patriaci medzi celkové retinoidy bol u pacientov vynechaný z dôvodu neefektívnosti alebo pre nežiaduce vedľajšie účinky. Bolo vedecky dokázané, že acitretín zvyšuje hladinu triglyceridov a cholesterolu a znižuje hodnoty HDL. Pri vyšších dávkach (50 – 75 mg) sa môžu vyskytnúť nežiaduce účinky v podobe vypadávania vlasov, suchosti slizníc v ústach a kože, vyrážok alebo paronychie (Varadraj a kol., 2019). Po vysadení retinoidov bol pacientom podávaný cyklosporín. U väčšiny sledovaných pacientov sa objavil zvýšený krvný tlak. V štúdií zameranej na riziká cyklosporínu bolo dokázané, že negatívne ovplyvňuje kardiovaskulárne ochorenia (Ahlehoff a kol., 2015), zvyšuje arteriálny krvný tlak (Gisondi a kol., 2016), hladiny triglyceridov a je rizikovým faktorom pre vznik *diabetes mellitus* u psoriatickov (Mikhaylov a kol., 2019). Treťou možnosťou z celkovo pôsobiacich antipsoriatických je podávanie metotrexátu. Štúdia z roku 2005 poukázala na zníženie výskytu cerebrovaskulárnych ochorení, aterosklerózy a reumatoidnej artritídy pri aplikácii nízkych dávok metotrexátu (Prodanowich a kol., 2005). Novšia štúdia spája užívanie metotrexátu so zvýšením triglyceridov a znížením hodnoty HDL (Owczarczyk-Saczonek a kol., 2018). U našej skupiny pacientov bol metotrexát vynechaný pre prejavenie nežiaduceho účinku v podobe vytvárania nových psoriatických ložísk. Tie môžu byť spôsobené toxicitou metotrexátu pri aplikácii vyšších dávok v ťažších štádiách psoriázy (Gupta a kol., 2018). Každému z vybraných pacientov bola aplikovaná

fotochemoterapia, konkrétne PUVA, ktorá pozostávala z kombinácie fotosenzibilizujúcich liečiv (psoralénov) a ultrafialového žiarenia. V súčasnosti sa dermatológovia prikláňajú viac k aplikácii UVB žiarenia namiesto PUVA. V porovnaní s iným druhom žiarenia majú PUVA a UVB výhodu vo veľkom rozsahu radiácie, nízkej cene a bezpečnosti (Zhang a Wu, 2018). Aplikácia fotochemoterapie však nebola efektívna.

Po zamietnutí spomínaných možností liečby bola pacientom odsúhlasená liečba biologickými liečivami. Aj napriek tomu, že adalimumab má všeobecne vysokú preskripciu (viď graf 3), v našich prípadoch boli pacienti liečení etanerceptom, s ktorým má dermatovenerologická ambulancia dobré skúsenosti a jeho výsledky v liečbe sú viditeľné po veľmi krátkom čase. Pacientom bol aplikovaný etanercept inj. 50 mg 1-krát týždenne. V prípade pacienta na obrázku 1 boli po šiestich mesiacoch aplikácie viditeľné pozitívne výsledky liečby (viď obr. 1 a 2).

Etanercept aj adalimumab patria do rovnakej skupiny inhibítorov TNF-2. U pacientov liečených etanerceptom bolo pozorované zníženie rizika infarktu myokardu (Mikhaylov a kol., 2019). Obe biologiká znižujú hodnoty glukózy v krvi u diabetických psoriatickov (Costa a kol., 2014). Počas štúdie v roku 2006 bol zistený ich účinok na zmiernenie depresí u pacientov, pri liečbe etanerceptom sa znížila únava psoriatických pacientov (Tyring a kol., 2006). Ako sme spomínali, pri preskripcii môže zoväzť aj cena lieku a je len na zvážení lekára, ktorý preparát si vyberie pre konkrétneho pacienta. Biologiká majú rovnaké účinky, sú pacientmi dobre tolerované, nemajú časté nežiaduce účinky a aj naďalej sa uskutočňujú rôzne štúdie na preukázanie bezpečnosti a účinnosti ich použitia pri liečbe psoriázy.

ZÁVER

Psoriáza je závažné chronické ochorenie, ktoré znepríjemňuje život pacienta po fyzickej, psychickej a sociálnej stránke. V štúdií bola zosumarizovaná

Obr. 1: Rozsah ochorenia pred aplikáciou biologickej liečby



Obr. 2: Rozsah ochorenia po aplikácii biologickej liečby



preskripcia a účinnosť pomerne novej biologickej liečby u pacientov so psoriázou.

Z vyhodnotených záznamov od novembra 2017 do augusta 2019 je evidentný nárast preskripcie biologík a postupný pokles preskripcie celkových liečiv v ťažkých prípadoch psoriázy.

V každom z vybraných klinických prípadov bolo pozorované výrazné zlepšenie stavu ochorenia v pomerne krátkom časovom rozpätí (od 3 do 9 mesiacov). Aj títo pacienti ako mnoho iných, ktorí sa zúčastnili rôznych štúdií, sú dôkazom účinnosti biologickej liečby aj v ťažkých prípadoch psoriázy. Môžeme skonštatovať, že biologická liečba je bezpečná, efektívna, s rýchlym nástupom viditeľných výsledkov. Veríme, že tento nárast aplikácie biologík bude aj naďalej napredovať a biologická liečba sa dostane viac do povedomia ako lekárov, tak aj pacientov.

ZOZNAM LITERATÚRY

Ahlehoff, O., Skov, L., Gislasen, G., Gniadecki, R., Iversen, L., Bryld, L. E., Lasthein, S., Lindharsen, J., Kristensen, S. L., Torp-Pedersen, C., Hansen, P. R.: Cardiovascular outcomes and systemic anti-inflammatory drugs in patients with severe psoriasis: 5-years follow-up of Danish nationwide cohort. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2015, 29 (6), 1128 – 1134.

Armstrong, A. W., Bagel, J., Van Voorhees, A. S.: Combining biologic therapies with other systemic treatments in psoriasis. *JAMA Dermatol.*, 2015, 151 (4), 432 – 438.

Benáková, N., Ettler, K., Štork, J., Vašku, V.: *Psoriáza nejen pro praxi* [Psoriasis not only for the practice]. 1. vyd. Praha: Triton, 2007. 190 s.

Braun-Falco, O., Plewig, G., Wolff, H.: *Dermatológia a venerológia* [Dermatologie und Venerologie] 1. vyd. Martin: Osveta, 2001. 1475 s.

Cohen, A. D.: Biosimilars for psoriasis – Experience from Europe. *Current Dermatology Reports*, 2019, 8, 26 – 34.

Costa, L., Caso, F., Atteno, M., Del Puente,

A., Darda, M. A., Caso, P., Ortolan, A., Fiocco, U., Ramonda, R., Punzi, L., Scarpa, R.: Impact of 24-month treatment with etanercept, adalimumab, or methotrexate on metabolic syndrome components in a cohort of 210 psoriatic arthritis patients. *Clinical Rheumatology*, 2014, 33 (6), 833 – 839.

Dubertret, L., Sterry, W., Bos, J. D., Chimenti, S., Shumack, S., Larsen, C. G., Shear, N. H., Papp, K. A.: Clinical experience acquired with efalizumab (Raptiva®) trial in patients with moderate-to-severe plaque psoriasis: results from a phase III international randomised, placebo-controlled trial. *Br. J. Dermatol.*, 2006, 155 (1), 170 – 181.

Gabros, S. a Zito, P. M.: Topical Corticosteroids. *StatPearls Page*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532940/?fbclid=IwAR0cYH-IsPSkG_d8S7M-sSjNLnusW1042Un0kj2X83d5vpj4iauUp-BD5pI>. Updated January 10, 2019. Accessed November 6, 2019.

Gisondi, P., Del Giglio, M., Girolomoni, G.: Considerations for systemic treatment of psoriasis in obese patients. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2016, 17 (6), 609 – 615.

Gupta, A., Sardana, K., Bhardwaj, M., Singh, A.: Methotrexate cutaneous toxicity following a single dose of 10 mg in a case of chronic plaque psoriasis: a possible idiosyncratic reaction. *Indian Dermatology*, 2018, 9 (5), 328 – 330.

Leonardi, C. L., Papp, K. A., Gordon, K. B., Menter, A., Feldman, S. R., Caro, I., Walicke, P. A., Compton, P. G., Gottlieb, A. B.: Extended efalizumab therapy improves chronic plaque psoriasis: results from randomized phase III trial. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2005, 52, 425 – 433.

Mikhaylov, D., Hashim, P. W., Nektalova, T., Goldenberg, G.: Systemic psoriasis therapies and comorbid disease in patients with psoriasis: A review of potential risks and benefits. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, 2019, 12 (6), 46 – 54.

Owczarczyk-Saczonek, A., Drozdowski, M., Miciejewska-Radomska, A., Choroszcz, D., Placek, W.: The effect of subcutaneous methotrexate on markers of metabolic syndrome in psoriatic patients

– preliminary report. *Postepy. Dermatol. Alergol.*, 2018, 1, 53 – 59.

Prodanowich, S., Ma, F., Taylor, J. R., Pezon, C., Fasihi, T., Kirsner, R. S.: Methotrexate reduces incidence of vascular disease in veterans with psoriasis or rheumatoid arthritis. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2005, 52 (2), 262 – 267.

Šimaljaková, M.: Psoriáza – etipatogenéza, klinický obraz a súčasné možnosti terapie [Psoriasis – etiopathogenesis, clinical picture and current treatment options]. *Dermatol. Prax.*, 2008, 2, 50 – 55.

Tyring, S., Gottlieb, A., Papp K., Gordon, K., Leonardi, C., Wang, A., Lalla, D., Woolley, M., Jahreis, A., Zitnik, R., Cella, D., Krishnan,

R.: Etanercept and clinical outcomes, fatigue, and depression in psoriasis: double-blind placebo-controlled randomised phase III trial. *Lancet*, 2006, 367 (9504), 29 – 35.

Varadraj, V. P., Diksha, P., Pankaj, S., Krupeksha, N.: Fixed tapering dosage of acitretin in patients with psoriasis: a short-term analysis of clinical efficacy and its effects on biochemical parameters. *Indian Journal of Dermatology*, 2019, 64 (3), 213 – 216.

Zhang, P., a Wu, M. X.: A clinical review of phototherapy for psoriasis. *Lasers Med. Sci.*, 2018, 33 (1), 173 – 180.



SILYMARÍN A JEHO NEHEPATOPROTEKTÍVNE ÚČINKY (PREHLADOVÝ ČLÁNOK)

SILYMARIN AND ITS NON-HEPATOPROTECTIVE EFFECTS (REVIEW)

Košuthová, Hedviga; Barteková, Zuzana

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

hedviga.kosuthova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Silymarín je zmes flavonolignanov izolovaná z plodov pšestca mariánskeho (*Silybum marianum* L. Geartn.) prejavujúca biologickú aktivitu. Silymarín je známy predovšetkým ako hepatoprotektívum využívané pri chronických ochoreniach pečene a akútnych otravách. Široké spektrum mechanizmov jeho účinku mu však dáva potenciál pre oveľa širšie využitie. Dôkazom toho sú stále častejšie sa vyskytujúce publikácie o experimentálnom či klinickom testovaní tejto zmesi s rôznym zameraním. Silymarín má vplyv na laktáciu, prejavuje kardioprotektívnu aj neuroprotektívnu aktivitu, má antikancerogénne účinky a zvyšuje efektívnosť onkologickej liečby. V našom článku sme zosumarizovali viac ako 50 publikácií zaoberajúcich sa iným ako hepatoprotektívnym využitím silymarínu a jeho zložiek.

Kľúčové slová: silybinín; *Silybum marianum*; silymarín

ABSTRACT

Silymarin, the common name for mixture of flavonolignans extracted from the fruits of milk thistle (*Silybum marianum* L. Geartn.), shows several biological activities. Silymarin is well known mainly as a hepatoprotective agent used to treat chronic liver diseases and acute intoxication. Broad spectrum of different mechanisms of action enlarges its drug-power for more extensive application. This is demonstrated by the increasing number of publications dealing with experimental or clinical tests of this compound at different areas of action. Silymarin influences lactation, shows cardioprotective and neuroprotective activities, possesses antitumoral effects, has a synergic effect with anti-tumoral drugs and protective

effect during oncological therapy. Our review summarizes the results of more than 50 scientific publications concerned with non-hepatoprotective application of silymarin and its compounds.

Key words: silibinin; *Silybum marianum*; silymarin

ÚVOD

Zdrojom silymarínu sú plody – nažky pestreca mariánskeho (*Silybum marianum* L. Geartn.), známeho pod ľudovým označením mliečny bodliak. Pestrec mariánsky bol využívaný v ľudovom liečiteľstve pri otravách a ochoreniach pečene a žľazy už v období antiky. Aj v súčasnosti je celosvetovo jednou z najpopulárnejších liečivých rastlín, známou najmä svojou hepatoprotektívnou aktivitou (Abenavoli a kol., 2018). Pre farmaceutické účely je *S. marianum* pestovaný predovšetkým v Stredovýchodnej Európe (Poľsko, Česká republika, Slovensko, Bulharsko) a Ázii (Irán, Čína, India) (Martinelli a kol., 2015). Prvá úspešná izolácia aktívnej zložky z plodov mliečneho bodliaka bola uskutočnená tímom vedcov z Mníchovskej univerzity pod vedením prof. Wagnera v roku 1968, izolát bol pomenovaný jednoslovne silymarín (Tůmová a Gallová, 2006). S rozvojom separačných metód bolo následne preukázané, že je to zmes flavonolignanových izomérov so spoločným sumárnym vzorcom $C_{25}H_{22}O_{10}$. Silymarín, resp. silymarínový komplex sa koncentruje vo vrchných vrstvách osemenia a oplodia (Madrid a Corchete, 2010). Tvorí 1,5 % – 4,3 % sušiny. Jeho zložkami sú jednotlivé flavonolignány: silybín, izosilybín, silychristín a silydianín, ktoré sa s výnimkou silydianínu delia ešte na A a B diastereoizoméry (Corchete, 2008). Silybinín (nazývaný tiež silibinin, resp. silybín) tvorí 50 až 70 % silymarínového extraktu a je mu pripisovaná najväčšia biologická aktivita (Abenavoli a kol., 2010).

Podľa Slovenského farmaceutického kódexu je rastlinnou drogou *Cardui mariae fructus* – plod pestreca mariánskeho, musí obsahovať najmenej

1,0 % silymarínu. Európsky liekopis uvádza *Silybi mariani fructus* s obsahom silymarínu minimálne 1,5 %, ako aj *Silybi mariani extractum siccum raffinatum et normatum* – suchý čistený a štandardizovaný extrakt z plodu *Silybum marianum* L. Geartn. s nominálnym obsahom silymarínu 30 – 65 % (Habán a kol., 2015). Na Slovensku sú registrované 3 lieky s účinnou látkou silymarín (resp. suchý extrakt z plodu *S. marianum*), všetky patria do indikačnej skupiny Hepatica – A05B hepatoprotektíva, lipotropné liečivá. Ich terapeutickými indikáciami sú: pomocná liečba toxických poškodení pečene, chronických zápalových ochorení pečene a pečenevej cirhózy (www.sukl.sk).

Na bunkovej úrovni silymarín chráni membrány pred poškodením xenobiotikami (Faixová a Mudroňová, 2019). Udržiava príjem vody a transport iónov draslíka vo fyziologických hraniciach. Silymarín má inhibičný účinok na aktivitu fosfodiesterázy a syntézu fosfatidylcholínu a fosfatidyletanolamínu. Výsledkom je zvýšená membránová integrita brániaca prieniku toxínov pri zachovaní fluidity membrán (Serviddio a kol., 2014). Silymarín má aj významné antioxidačné účinky, napríklad bráni formovaniu voľných radikálov inhibíciou enzýmov zodpovedných za ich tvorbu. Zachováva redoxnú rovnováhu bunky aktiváciou antioxidačných enzýmov aj neenzymatických antioxidantov, predovšetkým cestou aktivácie Nrf2 (Nuclear factor like 2 – transkripčný faktor regulujúci expresiu antioxidačných proteínov). Silymarín tlmí zápalové odpovede inhibíciou ciest NF- κ B (nukleárny faktor kappa B, transkripčný faktor, ktorý ovplyvňuje expresiu génov dôležitých pre imunitu, odpoveď na stres, zápal, bunkovú smrť a ďalšie významné procesy) (Surai, 2015). Experimentálne bolo dokázané, že silybinín zabraňuje NLRP3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors pyrin domain 3; kľúčový komponent vrodenej imunity aktivujúci sa v odpovedi na infekciu a poškodenie bunky) inflamazómovej aktivácii (Zhang a kol., 2018). Inhibícia syntézy cholesterolu silymarínom je spojená s poklesom mikrozomál-

nej hydroxyl-metylglutaryl-CoA-reduktázy. Silymarín ako imunomodulátor tlmí funkciu T-lymfocytov (Abenavoli a kol., 2018), v úvodných štádiách procesu fibrotizácie je schopný inhibovať fibrogenetické mechanizmy (Clichici a kol., 2016) a moduluje expresiu génov zohrávajúcich úlohu v organizácii cytoskeletu (Li a kol., 2012).

Podľa vedeckej dozornej rady German Commission E je silymarín bezpečné liečivo bez vedľajších účinkov pri dodržiavaní odporúčanej dávky (160 – 600 mg/deň v 3 dávkach), pričom ani pri dávke 1200 mg/deň nemal toxický efekt. Pri dávke nad 1500 mg/deň, sa zriedkavo vyskytlo pálenie záhy, hnačka, plynatosť a poruchy trávenia. Užívanie silymarínu je bezpečné aj počas tehotenstva (560 mg/deň), u detí (20 – 50 mg *i.v.*) aj seniorov (420 mg/deň). Bola potvrdená dobrá tolerancia aj dlhodobého užívania (Post-White a kol., 2007). Vzácné sa môžu vyskytnúť alergické reakcie. Jedna staršia publikácia (Geier, 1990) popisuje anafylaktický šok po použití extraktu *S. marianum* u pacienta so silnou alergiou na kivi. Aj novšie štúdie vylučujú orgánovú toxicitu a významnejšie vedľajšie účinky silymarínu a jeho zložiek (Polyak, 2013; Momeni a kol., 2015).

Silymarín je vďaka širokej škále mechanizmov účinku a dobrej tolerancii užívania vhodným kandidátom na rozšírenie jeho využitia do viacerých terapeutických oblastí. Výskumu s týmto zameraním sa venuje viacero vedeckých tímov. V našom článku sme zosumarizovali ich doterajšie zistenia.

MATERIÁL A METÓDY

Pre vyhľadávanie vedeckých publikácií sme využívali databázy PubMed, Scopus, Web of Science, Solen a ScienceDirect.

VÝSLEDKY

Silymarín a laktácia

Silymarín bol viacerými vedeckými tímami testovaný u dojníc počas obdobia peripartu, čo je obdobie okolo pôrodu, počas ktorého sú dojnice

vystavené subklinickému stukovateniu pečene. V štúdiu Tedesco a kol. (2004) bol silymarín zvieratám denne podávaný vo forme vodnej suspenzie *per os* v množstve 10 g. Počas experimentálneho obdobia (10 dní pred a 15 dní po otelení) bola sledovaná produkcia mlieka, analyzované vzorky kolostra, mlieka a krvi. U ošetrovaných zvierat bol vrchol produkcie mlieka 1 týždeň pred kontrolnou skupinou. Priemerná aj celková produkcia mlieka bola v liečenej skupine signifikantne vyššia. Zloženie mlieka nebolo počas liečby ovplyvnené. V kolostre a všetkých vzorkách mlieka neboli zistené žiadne zvyšky silymarínu. Glukóza, močovina, triglyceridy (TG), celkový cholesterol, β -hydroxybutyrát a γ -glutamyltransferáza (GGT) v plazme neboli ošetrovaním ovplyvnené. V nadväzujúcej štúdiu bol preukázaný pozitívny vplyv kombinácie silymarínu (7,7 g/deň; *p.o.*) a lykopénu (1,27 g/deň; *p.o.*) podávaného posledný týždeň gravidity a prvé dva týždne po pôrode na stukovatenú pečeň aj produkciu mlieka dojníc. Okrem produkcie mlieka stúpol aj podiel tukov v ňom. Bolo zaznamenané signifikantné zníženie TBARS (thiobarbituric acid reactive substances – vedľajší produkt lipidovej peroxidácie) (Garavaglia a kol., 2015). V ďalšom experimente zameranom na dojnice v období peripartu bola tiež preukázaná zvýšená produkcia mlieka a zlepšená schopnosť metabolickej adaptácie zvierat pri podávaní silymarínu (20 g/deň; *p.o.*, posledných 21 dní pred pôrodom) (Ulger a kol., 2017).

Farmer a kol. (2014) podávali extrakt silymarínu (8 g/deň; *p.o.*) gravidným prasniciam počas 20 ostatných dní gravidity, čo signifikantne zvýšilo koncentráciu prolaktínu v ich sére. Zvýšené sérové hladiny prolaktínu v závislosti na dávke silymarínu (25 – 200 mg/kg; *p.o.*), v podobe mikronizovaného štandardizovaného extraktu *S. marianum* (Silymarin BIO-C® = Piùlatte®), boli zaznamenané aj v práci Capasso a kol. (2009) u samíc potkanov. Po 66-dňovom prerušení liečby boli hladiny prolaktínu stále výrazne zvýšené, aj keď bola pozorovaná tendencia k poklesu. V tejto štúdiu bol zároveň vyslovený predpoklad, že účinok silymarínu súvisí

aspoň čiastočne s receptormi dopamínu D2, ktorých ovplyvnenie agonistom bromokriptínom viedlo k zníženiu hladiny sérového prolaktínu aj prolaktínu indukovaného Silymarin BIO-C® (Capasso a kol., 2009).

Úloha mikronizovaného silymarínu ako galaktogóga bola skúmaná aj v klinickom výskume. Randomizovanej jednoducho zaslepenej štúdie sa zúčastnilo 50 zdravých žien počas laktácie. Perorálne im bol podávaný mikronizovaný silymarín (420 mg/deň) a jeho efekt bol porovnaný s efektom placeba. Ošetrovanie prebiehalo 63 dní. Došlo až k 85,94 % dennému nárastu produkcie mlieka v pokusnej skupine (placebo: + 32,09 %). Nebol zaznamenaný pokles laktácie ani nežiaduce účinky. Compliance a tolerovateľnosť boli tiež veľmi dobré (Pierro a kol., 2008). Výsledky nadväzujúcej štúdie (Peila a kol., 2015), však už neboli rovnako pozitívne. V dvojito zaslepenej randomizovanej štúdii bol matkám predčasne narodených detí (do 32. týždňa) podávaný silymarín (420 mg/deň; *p.o.*) bohužiaľ bez výraznejšieho efektu na zvýšenie produkcie mlieka. Treba však pripomenúť, že celý experiment trval iba 4 týždne, pričom ženy porodili aspoň 8 týždňov pred plánovaným termínom, čo mohlo veľmi výrazne ovplyvniť ich schopnosť laktácie.

Kardioprotektívne účinky silymarínu

Silymarín a jeho izolované zložky majú schopnosť chrániť kardiomyocyty pred oxidačným stresom a fibrózou vďaka ich stabilizačným účinkom na bunkovú membránu a schopnosti vychytávať voľné radikály (Zholobenko a Modriansky, 2014; Vilahur a kol., 2018). Tento efekt bol experimentálne dokázaný napríklad na modeli izolovaných srdiec potkanov *in vitro* v práci Rajinder a kol. (2015). Kardioprotektívny efekt bol stanovený na základe objemu infarktom postihnutého tkaniva ako aj produkcie laktát dehydrogenázy a kreatín fosfokinázy (markery infarktom postihnutého myokardu) v čase infarktu aj 30 min po reperfúzii. Silymarín (10 mg.l⁻¹) znížil ischemicko-reperfúzne poškodenie vo všetkých sledovaných parametroch významnejšie

ako alopurinol vo vyššej koncentrácii (50 mg.l⁻¹), pričom alopurinol je dobre známy vychytávač voľných radikálov s kardioprotektívnym účinkom. Najlepšie výsledky boli v každom meraní dosiahnuté pri kombinácii silymarínu (10 mg.l⁻¹) a alopurinolu (50 mg.l⁻¹). Vilahur a kol. (2018) sledovali kardioprotektívny efekt silymarínu počas akútnej fázy infarktu myokardu aj počas remodelačnej post-infarktovej fázy. V prvej fáze experimentu bol prasatám 10 dní pred navodením infarktu myokardu podávaný silymarín (15 mg/kg/deň; *p.o.*). V skupine došlo k zníženiu hladiny oxidačného stresu a xantín oxidázy v porovnaní s kontrolou. Mitochondrie srdcového svalu si vo významne vyššej miere zachovali svoju funkciu a štatisticky významne sa zvýšila aj celková obnova myokardu. V druhej fáze experimentu bol sledovaný vplyv podávania silymarínu nie len pred (10 dní, 15 mg/kg/deň; *p.o.*), ale aj po infarkte (3 týždne, 15 mg/kg/deň; *p.o.*). Zvieratá, ktoré podstúpili liečbu silymarínom po infarkte, vykazovali významne menšie remodelačné zmeny ľavej srdcovej komory, čo bolo spojené s útlmom TGFβ/TβRs/SMAD2/3 signalizácie. Okrajová reverzibilná zóna ich myokardu vykazovala signifikantne nižší podiel kolagénu a myofibroblastovej transdiferenciácie v porovnaní s kontrolnou skupinou. Významná bola aj zvýšená miera zachovania kontraktility srdca. Súčasťou experimentu bola aj skupina zvierat dlhodobo užívajúca silymarín, u ktorej nebol navodený infarkt myokardu. Chronická suplementácia silymarínom nemala negatívny vplyv na srdcia zdravých experimentálnych zvierat (Vilahur a kol., 2018).

Ďalšou možnosťou využitia kardioprotektívnych účinkov silymarínu je jeho využitie počas terapie kardiotoxickými liečivami. Napríklad použitie doxorubicínu je obmedzené pre jeho kardiotoxicitu, ktorá je sprostredkovaná aj oxidačným stresom a indukciou apoptózy. Využitiu silymarínu/silybinínu ako podpornej liečby pri užívaní doxorubicínu sa už experimentálne venovalo viacero kolektívov autorov. Z experimentu Raškovič a kol. (2011) vyplynulo, že podávanie silymarínu v dávke 60 mg/kg/deň

(*p.o.*) zabránilo zvýšeniu excitability myokardu potkanov, ktorú spôsobuje doxorubicín. Silymarín zároveň významne znížil aj prooxidačné účinky doxorubicínu a významne eliminoval histologické zmeny v srdcovom tkanive experimentálnej skupiny zvierat v porovnaní so zvieratami liečenými výlučne doxorubicínom. Cecen a kol. (2011) preukázali, že silymarín (100 mg/kg/deň; *i.p.*) významne obmedzil histopatologické prejavy poškodenia myokardu spôsobené doxorubicínom. Attia a kol. (2017) taktiež potvrdili vplyv silymarínu (60 mg/kg/deň; *i.p.*) na znižovanie kardiotoxicity vyvolanej doxorubicínom u potkanov. Doxorubicín podávaný samostatne spôsoboval stratu myofibríl, hemorágiu, zvýšenie obsahu kolagénu, VEGF-A (cievny endotelový rastový faktor), iNOS (indukovateľná syntáza oxidu dusnatého) a kaspázy-3, čo sú faktory svedčiace o angiogenéze a remodelácii myokardu. V tejto skupine boli zaznamenané aj zvýšené hladiny laktát dehydrogenázy, kreatín fosfokinázy a aspartát transaminázy pri znížených hodnotách glutatiónu, čo sú tiež faktory poškodenia myokardu a zvýšeného oxidačného stresu. Na úrovni ultraštruktúry bola pozorovaná početná degradácia mitochondrií. V skupine, kde bola liečba suplementovaná silymarínom, neboli pozorované tieto negatívne zmeny (Attia a kol., 2017). Využitie silymarínu pri liečbe doxorubicínom je už aj predmetom klinických skúšok. Hagag a kol. (2019) sledovali vplyv silymarínu u detských pacientov s akútnou lymfoblastickou leukémiou liečených doxorubicínom. Popri terapii doxorubicínom bol 40 pacientom podávaný silymarín (420 mg/deň; *i.v.*), druhá skupina dostávala placebo. Skupina, v ktorej bola liečba obohatená silymarínom vykazovala po terapii signifikantne lepšiu úroveň komorových systolických funkcií, ktoré boli pôsobením doxorubicínu redukované. V sére oboch skupín síce došlo po terapii k nárastu troponínu – bielkoviny, ktorá sa uvoľňuje z poškodeného srdcového svalu, nárast obsahu troponínu bol však v skupine, ktorej bol podávaný silymarín, podstatne menej výrazný (Hagag a kol., 2019).

Využitie silymarínu pri podpornej liečbe *Diabetes mellitus*

Diabetická nefropatia predstavuje poškodenie glomerulárnej filtračnej bariéry v dôsledku vysokých hladín glukózy v krvi, zápalu a oxidačného stresu. V štúdií na potkanoch s diabetom navodeným pomocou alloxanu sledovali autori Soto a kol. (2010) vplyv liečby silymarínom (9 týždňov; 200 mg/kg/deň; *p.o.*) na aktivitu antioxidantných enzýmov: kataláza, glutatión peroxidáza a superoxid-dismutáza. Aktivita a expresia všetkých sledovaných enzýmov bola po liečbe silymarínom obnovená na/nad úroveň aktivity enzýmov kontrolných zvierat (Soto a kol., 2010). Vessal a kol. (2010) testovali počas 4 týždňov na modeli experimentálnych potkanov s navodeným diabetom (pomocou streptozotocínu) vplyv silymarínu (100 mg/kg/deň; *p.o.*), aj efekt používania alkoholového extraktu z plodov mliečneho bodliaka (1,2 g/kg/deň). Liečba nemala vplyv na hladinu glukózy a kreatinínu v sére, ale signifikantne znižovala hladinu urey v sére a proteínov v moči, ako aj tvorbu TBARS. Na rozdiel od predchádzajúcej publikácie z antioxidantných enzýmov liečba pozitívne ovplyvnila iba produkciu katalázy. Je však potrebné pripomenúť, že liečba bola o polovicu kratšia a boli použité polovičné denné dávky v porovnaní s experimentom Soto a kol. (2010). Aj výsledky práce Sheela a kol. (2013) poukazujú na nevyhnutnosť vyššieho dávkovania. Experimentálnym objektom boli potkany s indukovanou diabetickou nefropatiou (pomocou streptozotocínu a nikotínamidu). Liečba silymarínom v množstve 60, resp. 120 mg/kg/deň trvala 60 dní. Silymarínom liečené zvieratá vykazovali signifikantné zníženie hladiny glukózy v krvi, glykozylovaného hemoglobínu, močového albumínu a celkového objemu moču, sérového kreatinínu a kyseliny močovej. Histopatologické hodnotenie odhalilo zachovanie tubulárneho epitelu a zníženie intertubulárneho krvácania. Všetky sledované zmeny boli výraznejšie pri vyššej dávke podávaného silymarínu (Sheela a kol., 2013). V ďalšom modeli (de Souza Santos a kol., 2019)

s využitím experimentálnych potkanov bola nefropatia indukovaná pomocou rádiokontrastnej látky. Silymarín bol potkanom podávaný 5 dní pred indukovaním nefropatie v dávkach 50; 200; 500 mg/kg/deň. Silymarín vo všetkých testovaných dávkach signifikantne zmiernil nárast hladiny urey, kreatinínu a cystatínu C v sére. Hladiny reaktívnych foriem kyslíka v krvi zachoval na úrovni kontrol a ukazovatele oxidačného stresu v obličkách významne redukoval. Pri použití dávky 500 mg/kg/deň bolo signifikantné aj zníženie hladín proteínových produktov oxidácie. Jeho výrazný priaznivý účinok bol preukázaný aj na histologickej úrovni (de Souza Santos a kol., 2019). Randomizovaná, dvojito zaslepená, placebom kontrolovaná štúdia bola vykonaná na 60 pacientoch s *Diabetes mellitus* typu 2 s pretrvávajúcou makroalbuminúriou. U pacientov liečených silymarínom (3 mesiace; 3-krát denne po 140 mg; *p.o.*) bol zaznamenaný významne priaznivejší pomer albumínu a kreatinínu v moči a nižšie hladiny močového TNF- α a malondialdehydu v sére v porovnaní s placebom (Fallahzadeh a kol., 2012).

Silymarín by mohol byť využiteľný aj v terapii diabetickej retinopatie. Bolo preukázané, že silybinín významne bránil rozvoju obliterovaných sietnicových kapilár u potkanov s poklesom až o 50 % pri dávke 30 mg/kg/deň a 26 % pri dávke 15 mg/kg/deň po 22-týždňovom podávaní v porovnaní s liečbou vehikulom (Zhang a kol., 2014).

Neuroprotektívna aktivita silymarínu

V štúdií na potkanoch s indukovanou Parkinsonovou chorobou podávanie silymarínu (40 mg/kg, 9 týždňov) viedlo k podstatnému zvýšeniu hladín dopamínu a serotonínu v hipokampe a kortikálnych oblastiach mozgu (Singhal a kol., 2011), pričom neboli dokázané jeho vedľajšie účinky na aminový metabolizmus mozgu zdravých myší. Lokomočná aktivita liečených zvierat bola signifikantne lepšia v porovnaní so zvieratami bez liečby. Geed a kol. (2014) testovali neuroprotektívny vplyv silybinínu (50, 100 a 200 mg/kg)

na potkanoch s indukovanou dopamínernou neurotoxicitou. Dve väčšie dávky preukázali jednoznačný vplyv na ochranu hladiny dopamínu a zachovanie behaviorálnych, motorických a pamäťových schopností zvierat. Účinok silymarínu bol potvrdený aj na modelovom organizme *Caenorhabditis elegans* (Srivastava a kol., 2017). Silymarín zachovával hladinu dopamínu a chránil pred parkinsonizmom, redukoval hladinu α synukleínu, hladinu lipidovej akumulácie a oxidačného stresu. Mechanizmus vedúci k neuroprotektívnym účinkom silymarínu bol sledovaný aj v experimentoch *in vitro*. Vplyv silymarínu bol v práci de Oliveira a kol. (2015) sledovaný v homogenáte mozgov potkanov. Silymarín inhiboval MAO (mono-amin-oxidázu) nekompetitívnou cestou s väčším účinkom na MAO-B a aktivoval Na⁺/K⁺-ATPázu, potláčal peroxidáciu lipidov a zachovával aktivitu katalázy (de Oliveira a kol., 2015). Aj experimentálna práca ďalších autorov (Lee a kol., 2015) potvrdila neuroprotektívny efekt silybinínu, a to *in vitro* aj *in vivo*, proti MMP⁺ (1-metyl-4-fenylpyridín)⁺, toxickému metabolitu spôsobujúcemu stratu funkcií mitochondrií a selektívnu bunkovú smrť dopamínerných neurónov. Myšiam s indukovanou Parkinsonovou chorobou (pomocou MMP⁺) silybinín významne zlepšil motoriku a zmiernil stratu dopamínerných neurónov. V kultúre primárnych neurónov ovplyvnených MMP⁺ silybinín chránil neuróny pred disrupciou membrán a bunkovou smrťou (Lee a kol., 2015).

V beta-amyloid indukovanom zvieracom modeli Alzheimerovej choroby sa kognitívne abnormality, najmä poškodenie pamäti, významne zlepšili po podaní silybinínu (Lu a kol., 2009a; Lu a kol., 2009b). Laboratórne myši po navodení Alzheimerovej choroby boli v 3 experimentálnych skupinách 8 dní liečené silybinínom (2; 20 resp. 200 mg/kg/deň *p.o.*). Silybinín významne potlačil tvorbu nitrotyrozinu (marker bunkového poškodenia spájaného so stratou pamäti a schopnosti učenia) a MDA, a naopak indukoval zvýšenú tvorbu antioxidantu glutatiónu. RT-qPCR potvrdila po-

tlačenie nadmernej expresie iNOS aj TNF- α u liečených myší. Tieto výsledky korelovali s výsledkami pamäťových, lokomočných a kognitívnych testov na zvieratách. Výsledky boli dávkovo závislé (Lu a kol., 2009a; Lu a kol. 2009b). Aj v práci Song a kol. (2017) podávanie silybinínu výrazne zlepšilo reakcie potkanov s navodenou Alzheimerovou chorobou v Morrisovom vodnom labirinte aj rozpoznávacom teste. Liečené zvieratá mali zvýšenú hladinu glutatiónu a zníženú hladinu MDA. Silybinín mal aj anxiolytický účinok a vplyv na indukciu autofágie. Podľa autorov môže byť práve posilnenie autofágie spolu so znižovaním oxidačného stresu a zápalových reakcií hlavným mechanizmom vedúcim k potlačeniu Alzheimerovej choroby silymarínom (Song a kol., 2017). Silymarín tiež inhibuje tvorbu beta-amyloidových vlákien a agregátov, čo bolo preukázané *in vivo* aj *in vitro* (Murata a kol., 2010; Yaghmaeil a kol., 2014). Na experimentálnych myšiach s indukovanou Alzheimerovou chorobou bola pri dlhodobom 6-mesačnom podávaní silymarínu (tvoril 0,1 % ich stravy) pozorovaná významná obnova behaviorálnych funkcií bez preukázanej orgánovej toxicity. Liečené myši prejavovali menej úzkosti a boli u nich významne redukované depozity beta-amyloidu. Podobné výsledky autori získali aj z experimentu *in vitro*, kde bola modelom neuronálna bunková línia PC12. Silymarín spôsoboval potlačenie expresie beta-amyloidu (Murata a kol., 2010). Supresia génu pre beta-amyloid, potlačenie agregácie beta-amyloidu a obnova pamäťových a behaviorálnych funkcií boli výsledkami aj v experimente Yaghmaeil a kol. (2014), kde boli objektom potkany s indukovanou Alzheimerovou chorobou liečené silymarínom v dennej dávke 70 resp. 140 mg/kg po dobu 4 týždňov.

Neuroprotektívny efekt silymarínu by si mohol nájsť uplatnenie aj pri liečbe cerebrálnej ischémie. V experimentálnej štúdii na potkanoch liečba silymarínom (200 mg/kg) preukázala značné zníženie rozsahu cerebrálneho infarktu a straty neuronálnych buniek. V porovnaní s bežne

používanými antiischemickými liekmi, piracetamom a protokatechovou kyselinou, silymarín signifikantne zlepšil histochemické zmeny v mozgu spôsobené ischémiou a vo väčšej miere obnovil psychomotorické schopnosti zvierat (Muley a kol., 2012).

Silymarín v terapii onkologických ochorení

Priame protinádorové pôsobenie silymarínu je zatiaľ predmetom predovšetkým *in vitro* a *in vivo* experimentálnych štúdií. Keďže silymarín je hepatoprotektívum, veľká časť takýchto štúdií sa zaoberá nádorovými líniami hepatocelulárneho karcinómu, ale objavujú sa aj publikácie zamerané na nádorové bunkové línie prsníka, ovárií, pľúc, kože, prostaty, krčka maternice, močového mechúra, pečene či hrubého čreva. V štúdii Varghese a kol. (2005) zameranej na ľudské bunkové línie hepatocelulárneho karcinómu HepG2 a Hep3B bol testovaný vplyv silybinínu v množstve 100, 200 alebo 300 $\mu\text{mol/l}^{-1}$ na rast buniek, cytotoxicitu, indukciu apoptózy a bunkový cyklus. Silybinín inhiboval rast oboch bunkových línií dávkovo a časovo závislým spôsobom. Zastavenie bunkového cyklu v G1 fáze silybinínom bolo dokázané v HepG2 bunkách už po 12 hodinách liečby a zostalo štatisticky významné aj počas 24 a 48 hodín. V prípade buniek Hep3B liečba silybinínom viedla k zástave G1 a G2-M. Silybinín indukoval zvýšenie obsahu proteínu inhibujúceho delenie (Kip1/p27) a naopak znižoval hladinu proteínov asociovaných s proliferáciou (cyklínu D1, D3, cyklínu E, CDK-2 a CDK-4) v oboch líniiach (Varghese a kol., 2005). Podobná štúdia (Ramakrishnan a kol., 2009) skúmala účinky silymarínu na ľudskú hepatocelulárnu karcinómovú bunkovú líniu HepG2. Bunky boli ošetrované počas 24 h dávkou 50 alebo 75 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ silymarínu. Došlo k inhibícii rastu buniek hepatocelulárneho karcinómu dávkovo závislým spôsobom. Silymarín významne inhiboval proliferáciu a indukoval apoptózu HepG2. Výsledkom bolo aj významné zvýšenie expresie proapoptických proteínov (p53, Bax, APAF-1, kaspáza 3), výrazný pokles antiapoptických

proteínov (Bcl-2, survivín) a významný pokles proteínov asociovaných s proliferáciou (β -kateín, cyklín D1, c-Myc, PCNA) (Ramakrishnan a kol., 2009). V pľúcnych nádorových bunkových líniiach SKBR3 a BT474 je expresia proteínu pre transmembránový receptor CD44 spájaná so zlou prognózou a tvorbou metastáz. Kim a kol. (2011) preukázali vplyv silybinínu na zníženie expresie CD44 a MMP-9 (skupina enzýmov spájaná s remodeláciou extracelulárnej matrix) cestou supresie EGFR, rastového faktora zodpovedného za ich zvýšenú aktivitu. Navyše silybinín potláčal fosforyláciu EGFR a ERK 1/2, čo sú faktory bunkového delenia spájané aj s nádorovým rastom (Kim a kol., 2011). Antikancerogénna aktivita silymarínu bola demonštrovaná aj na nádorových bunkách HSC-4 s pôvodom v ústnej dutine, a to *in vitro* aj *in vivo* na modeli xenoštetu v organizme experimentálnych myší (Won a kol., 2018). Na bunkovú kultúru 24 hodín pôsobil silymarínový extrakt v 3 koncentráciách (40, 60 a 80 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Silymarín potláčal bunkovú viabilitu dávkovo závislým spôsobom a v signifikantnej miere spúšťal apoptózu kaspázovou cestou. V silymarínom indukovanej apoptóze bola potvrdená úloha DR5 (death receptor 5), a to pomocou „human apoptosis antibody array“, metódou Western blot, RT-PCR aj imunocytochemicky. Silymarín zvýšil hladinu štiepenej kaspázy 8 a skráteného proteínu Bid, čo viedlo k akumulácii cytochrómu c. V *in vivo* modeli xenoštetu potlačil silymarín po 35 dňoch podávania (200 mg/kg/deň) rast nádoru o 59 % bez prejavov renálnej či pečenej toxicity (Won a kol., 2018).

Oblasť zefektívnenia onkologickej liečby silymarínom pozostáva z časti venujúcej sa synergickému pôsobeniu silymarínu pri protinádorovej terapii a časti venujúcej sa zmierneniu nežiaducich účinkov onkologickej liečby.

Silymarín zlepšuje absorpciu a biologickú dostupnosť chemofarmák ako je daunomycín, vinblasín a doxorubicín v nádorových bunkách inhibíciou P-gp a MRP1, čo sú proteíny spojené s multilekovou rezistenciou (Gholamreza a kol., 2011). Mao a kol.

(2018) sa v svojom výskume zamerali na synergický účinok silybinínu a sorafenibu. V *in vitro* a *in vivo* štúdií použili viacero bunkových línii ľudského hepatocelulárneho karcinómu (SMMC-7721, Bel-7402, Bel-7404, HepG2, MHCC97H, MHCC97L a LM-3) a myšacie bunky (Hepa1-6 a H22) hepatocelulárneho karcinómu. Výsledky ukázali, že silybinín (100 a 200 μM) zlepšil signifikantne účinnosť sorafenibu (2,5; 5 a 10 μM) na všetky testované bunkové línie. Bola pozorovaná inhibícia proliferácie deaktiváciou dráhy STAT3/AKT/ERK. Pri použití podkožného xenoštetu Bel-7404 u myší bol u kontrolnej skupiny pozorovaný nárast nádoru na 1000 mm³ v priebehu 14 dní. Ošetrovanie samotným silybinínom (200 mg/kg/deň; *i.v.*) inhibovalo rast nádoru o 25 %. Sorafenib (10 mg/kg/deň; *i.g.*), inhiboval rast nádoru o 35 %. Ich kombinácia dokázala inhibovať nádorový rast až o 67 %. Nádorové tkanivo po kombinovanej liečbe obsahovalo menej proliferatívnych buniek a viac apoptických buniek ako skupiny so samostatne podaným silybinínom alebo sorafenibom (Mao a kol., 2018).

Ako hepatoprotektívum silymarín zmierňuje predovšetkým hepatotoxický dopad onkologickej liečby (Hagag a kol., 2016), ale bola preukázaná aj jeho kardioprotektívna (Hagag a kol., 2019) či rádioprotektívna aktivita (Son a kol., 2015). Pre mierny estrogénový účinok silybinínu (El-Shitany a kol., 2010) je kontroverzný vplyv silymarínu pri onkoterapii gynekologických nádorových ochorení. Aj keď v *in vitro* experimentálnej práci Rastegar a kol. (2013) silymarín pôsobil na bunkovú nádorovú líniu MCF-7 synergicky s doxorubicínom, výsledky autorov pracujúcich *in vivo* sú varovné. Malewicz a kol. (2006) pozorovali zvýšenie karcinogenity, nárast počtu mamárnych tumorov aj zvýšenú tvorbu metastáz na samiciach potkanov aj myší s indukovaným mamárnym tumorom spôsobené silymarínom. Problémom pri využití silymarínu/silybinínu v onkoterapii by mohol byť aj vplyv jeho antioxidantného pôsobenia, keďže protinádorová terapia často súvisí s elimináciou nádorového tkaniva práve pomocou voľných radikálov. V štúdií Son a

kol. (2015) na modeli experimentálnych myší sa však riziko zhoršenia efektu onkologickej liečby nepotvrdilo. Silybinín (100 mg/kg/deň) bol podávaný 7 dní po ožiarení (13 Gy) myšiam s nádorom pľúc aj bez neho. Silybinín zlepšil prežívanie ožiarených myší zmiernením hemorágie, zápalu a fibrózy pľúcneho tkaniva. Na druhej strane nijako nezmiernil dopad žiarenia na rast nádoru, čo je veľmi pozitívne. Pre aktuálnosť témy nádorových ochorení sa tejto oblasti využitia silymarínu venuje najväčšia pozornosť vedeckej komunity. Pre získanie ďalších informácií odporúčame okrem samotných experimentálnych diel aj prehľadové články venujúce sa tejto problematike komplexnejšie, napr. Frassová a Rudá-Kučerová (2017) alebo Hosseinabadi a kol. (2019).

ZÁVER

Silymarín by mohol mať v budúcnosti podstatne širšie terapeutické využitie. Experimentálne, predklinické aj klinické štúdie naznačujú jeho veľký potenciál vo viacerých terapeutických oblastiach. Výhodou silymarínu je jeho dobrá znášanlivosť bez významnejších vedľajších účinkov. Nevýhodou je naopak jeho komplexná povaha. Niektoré publikácie zdôrazňujú lepší efekt celkového extraktu v porovnaní s jeho jednotlivými zložkami. Napriek tomu predpokladáme do budúcnosti väčší podiel štúdií venujúcich sa predovšetkým silybinínu ako aj ďalším látkam silymarínového komplexu osobitne, čo by prinieslo exaktnejší pohľad na mechanizmus ich účinku a väčší predpoklad pre klinické využitie.

ZOZNAM LITERATÚRY

Abenavoli, L., Izzo, A. A., Milić, N., Cicala, C., Santini, A. Capasso, R.: Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases. *Phytother. Res.*, 2018, 32 (11), 2202 – 2213.

Abenavoli, L., Capasso, R., Milić, N., Capasso, F.: Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytother. Res.*, 2010, 24 (10), 1423 – 1432.

Attia, G. M., Elmansy, S. A., Algaidi, S. A.: Silymarin decreases the expression of VEGF-A, iNOS and caspase-3 and preserves the ultrastructure of cardiac cells in doxorubicin induced cardiotoxicity in rats: a possible protective role. *J. Clin. Exp. Med.*, 2017, 10 (2), 4158 – 4173.

Bernstein, M. P., Dworkin, J. P., Sandford, S. A., Cooper, G. W., Allamandola, L. J.: Racemic amino acids from the ultraviolet photolysis of interstellar ice analogues. *Nature*, 2002, 28, 401 – 403.

Capasso, R., Aviello, G., Capasso, F., Savino, F., Izzo, A. A., Lembo, F., Borrelli, F.: Silymarin BIO-C®, an extract from *Silybum marianum* fruits, induces hyperprolactinemia in intact female rats. *Phytomedicine*, 2009, 16 (9), 839 – 844.

Cecen, E., Dost, T., Culhaci, N., Karul, A., Ergur, B., Birincioglu, M.: Protective effects of silymarin against doxorubicin-induced toxicity. *Asian. Pac. J. Cancer. Prev.*, 2011, 12 (10), 2697 – 2704.

Clichici, S., Olteanu, D., Filip, A., Nagy A. L., Oros, A., Mircea, P. A.: Beneficial effects of silymarin after the discontinuation of CCl₄-induced liver fibrosis. *J. Med. Food.*, 2016, 19 (8), 789 – 797.

Corchete, P.: *Silybum marianum* (L.) Gaertn.: the source of silymarin. In: Ramawat, K., Merillon, J. (Eds). *Bioactive Molecules and Medicinal Plants*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2008. 123 – 148.

El-Shitany, N. A., El-Haggag, S., El-Desoky K.: Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, 46 (7), 2422 – 2428.

Faixová, D. a Mudroňová, D.: Antioxidačné účinky ostropestreca mariánskeho (*Silybum marianum*). [Antioxidant effects of *Silybum marianum*]. *Folia Pharmaceutica Cassoviensia*, 2019, 1 (3), 34 – 42.

Fallahzadeh, M. K., Dormanesh, B., Sagheb, M. M., Roozbeh, J., Vessal, G., Pakfetrat, M., Daneshbod, Y., Kamali-Sarvestani, E., Lankarani, K. B.: Effect of addition of silymarin to renin-angiotensin system inhibitors on proteinuria in

type 2 diabetic patients with overt nephropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am. J. Kidney Dis.*, 2012, 60 (6), 896 – 903.

Farmer, C., Lapointe, J., Palin, M. F.: Effects of the plant extract silymarin on prolactin concentrations, mammary gland development, and oxidative stress in gestating gilts. *J. Anim. Sci.*, 2014, 92 (7), 2922 – 2930.

Frassová, Z. a Rudá-Kučerová, J.: Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) jako podpůrný fytoterapeutický prostředek v onkologii. [Milk thistle (*Silybum marianum*) as the supportive phytotherapeutic agent in oncology]. *Klin Onkol.*, 2017, 30 (6), 426 – 432.

Garavaglia, L., Galletti, S., Tedesco, D.: Silymarin and lycopene administration in periparturient dairy cows: effects on milk production and oxidative status. *New Zeal. Vet. J.*, 2015, 63 (6), 313 – 318.

Geed, M., Garabadu, D., Ahmad, A., Krishnamurthy, S.: Silibinin pretreatment attenuates biochemical and behavioral changes induced by intrastriatal MPP⁺ injection in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2014, 117, 92 – 103.

Geier, J., Fuchs, T., Wahl, R.: Anaphylactic shock due to an extract of *Silybum marianum* in a patient with immediate-type allergy to kiwi fruit. *Allergologie*, 1990, 13 (10), 387 – 398.

Gholamreza, K., Vahabzadeh, M., Lari, P., Rashedinia, M., Moshiri, M.: „Silymarin“, promising pharmacological agent for treatment of diseases. *IJBMS*, 2011, 14 (4), 308 – 317.

Habán, M., Grančai, D., Luščáková, D.: Zaujímavé a menej známe rastlinné drogy v liekopisoch a farmaceutickom kódexe (7) – pestrec mariánsky. [Interesting and less known herbal drugs in pharmacopoeias and Pharmaceutical Code 7 – milk thistle] *Liečivé rastliny*, 2015, 1. <http://www.liecive.herba.sk/index.php/archiv/vsetky-cisla/324-liecive-rastliny-2015/liecive-rastliny-1-2015/1463-zaujiave-a-menej-zname-rastlinne-drogy-v-liekopise-pestrec-mariansky>. [cit. 2020-01-19].

Hagag, A. A., Elgamsy M. A., El-Asy, H.

M., Mabrouk M. M.: Protective role of silymarin on hepatic and renal toxicity induced by MTX based chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.*, 2016, 8 (1), e2016043.

Hagag, A. A., El Shehaby, W. A., El-Abasy, A. I., Mabrouk, M. M.: Protective role of silymarin in early doxorubicin-induced cardiac dysfunction in children with acute lymphoblastic leukemia. *Infect. Disord. Drug Targets.*, 2019, 19 (2), 133 – 140.

Hosseinabadi, T., Lorigooini, Z., Tabarzad, M., Salehi, B., Rodrigues, C. F., Martins, N., Sharifi-Rad, J.: Silymarin antiproliferative and apoptotic effects: Insights into its clinical impact in various types of cancer. *Phytoter. Res.*, 2019, 33 (11), 2849 – 2861.

Chtourou, Y., Fetoui, H., Garoui, M., Boudawara, T., Zeghal, N.: Improvement of cerebellum redox states and cholinergic functions contribute to the beneficial effects of silymarin against manganese-induced neurotoxicity. *Neurochem. Res.*, 2012, 37 (3), 469 – 479.

Kim, S., Han, J., Kim, J. S., Kim, J. H., Choe, J. H., Yang, J. H., Nam, S. J., Lee, J. E.: silibinin suppresses EGFR ligand-induced CD44 expression through inhibition of EGFR activity in breast cancer cells. *Anticancer Res.*, 2011, 31 (11), 3767 – 3773.

Lee, Y., Park, H. R., Chun, H. J., Lee, J.: Silibinin prevents dopaminergic neuronal loss in a mouse model of Parkinson's disease via mitochondrial stabilization. *J. Neurosci. Res.*, 2015, 93 (5), 755 – 765.

Li, C. C., Hsiang, C. Y., Wu, S. L., Ho, T. Y.: Identification of novel mechanisms of silymarin on the carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice by nuclear factor- κ B bioluminescent imaging-guided transcriptomic analysis. *Food Chem. Toxicol.*, 2012, 50 (5), 1568 – 1575.

Lu, P., Mamiya, T., Lu, L. L., Mouri, A., Niwa, M., Hiramatsu, M., Zou, L. B., Nagai, T., Ikejima, T., Nabeshima, T.: Silibinin attenuates amyloid beta (25–35) peptide-induced memory impairments: Implication of inducible nitric-oxide synthase and

tumor necrosis factor- α in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009a, 331 (1), 319 – 326.

Lu, P., Mamiya, T., Lu, L. L., Mouri, A., Zou, L., Nagai, T., Hiramatsu, M., Ikejima, T., Nabeshima, T.: Silibinin prevents amyloid beta peptide-induced memory impairment and oxidative stress in mice. *Br. J. Pharmacol.*, 2009b, 157 (7), 1270 – 1277.

Lu, P., Mamiya, T., Lu, L., Mouri, A., Niwa, M., Kim, H. C., Zou, L. B., Nagai, T., Yamada, K., Ikejima, T., Nabeshima, T.: Silibinin attenuates cognitive deficits and decreases of dopamine and serotonin induced by repeated methamphetamine treatment. *Behav. Brain. Res.*, 2010, 207 (2), 387 – 393.

Madrid, E. a Corchete, P.: Silymarin secretion and its elicitation by methyl jasmonate in cell cultures of *Silybum marianum* is mediated by phospholipase D-phosphatidic acid. *J. Exp. Bot.*, 2010, 61 (3), 747 – 754.

Malewicz, B., Wang, Z., Jiang, C., Guo, J., Cleary, M. P., Grande, J. P., Lü, J.: Enhancement of mammary carcinogenesis in two rodent models by silymarin dietary supplements. *Carcinogenesis*, 2006, 27 (9), 1739 – 1747.

Mao, J., Yang, H., Cui, T., Pan, P., Kabir, N., Chen, D., Ma, J., Chen, X., Chen, Y., Yang, Y.: Combined treatment with sorafenib and silibinin synergistically targets both HCC cells and cancer stem cells by enhanced inhibition of the phosphorylation of STAT3/ERK/AKT. *Eur. J. Pharmacol.*, 2018, 832, 39 – 49.

Martinelli, T., Andrzejewska, J., Salis, M., Sulas, L.: Phenological growth stages of *Silybum marianum* according to the extended BBCH scale. *Ann. Appl. Biol.*, 2015, 166 (1), 53 – 66.

Momeni, A., Hajigholami, A., Geshnizjani, S., Kheiri, S.: Effect of silymarin in the prevention of cisplatin nephrotoxicity, a clinical trial study. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2015, 9 (4), 11 – 13.

Muley, M. M., Thakare, V. N., Patil, R. R., Kshirsagar, A. D., Naik, S. R.: Silymarin improves the behavioural, biochemical and histoarchitecture alterations in focal ischemic rats: A comparative

evaluation with piracetam and protocatechuic acid. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2012, 102 (2), 286 – 293.

Murata, N., Murakami, K., Ozawa, Y., Kinoshita, N., Irie, K., Shirasawa, T., Shimizu, T.: Silymarin attenuated the amyloid- β plaque burden and improved behavioral abnormalities in an Alzheimers disease mouse model. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2010, 74 (11), 2299 – 2306.

de Oliveira, D. R., Finger-Schaffer, L. Busanello, A., Barbosa, C. P., Peroza, L. R., Freitas, C. M., Krum, B. N., Bressan, G. N., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Menezes, I. R. A., Fachinettoa, R.: Silymarin has antioxidant potential and changes the activity of Na⁺/K⁺-ATPase and monoamine oxidase *in vitro*. *Ind. Crop Prod.*, 2015, 70, 347 – 355.

Peila, Ch., Coscia, A., Tonetto, P., Spada, E., Milani, S., Moro, G., Fontana, C., Vagliano, L., Tortone, C., Di Bella, E., Bertino, E.: Evaluation of the galactagogue effect of silymarin on mothers of pretermnewborns (<32 weeks). *La Pediatria Medica e Chirurgica*, 2015, 37, 13 – 17.

Pierro, D., Callegari, A., Carotenuto, D., Tapia, M. M.: Clinical efficacy, safety and tolerability of BIO-C®. *Acta Biomed.*, 2008, 79 (3), 205 – 210.

Polyak, S. J., Ferenci, P., Pawlotsky, J. M.: Hepatoprotective and antiviral functions of silymarin components in hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 2013, 57 (3), 1262 – 1271.

Post-White, J., Ladas, E. J., Kelly, K. M.: Advances in the use of milk thistle (*Silybum marianum*). *Integr. Cancer. Ther.*, 2007, 6 (2), 104 – 109.

Rajinder, S., Amrinder, K., Barinderjit, K.: Cardio-protective effect of Silymarin and its combination with Allopurinol in ischemia reperfusion injury using isolated perfused rat hearts. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.*, 2015, 6 (3), 400 – 407.

Ramakrishnan, G., Lo Muzio, L., Elinos-Báez, C. M., Jagan, S., Augustine, T. A., Kamaraj, S., Anandakumar, P., Devaki, T.: Silymarin inhibited proliferation ad induced apoptosis in hepatic cancer cells. *Cell Prolif.*, 2009, 42 (2), 229 – 240.

- Rastegar, H., Ahmadi Ashtiani, H., Anjarani, S., Bokaei, S., Khaki, A., Javadi, L.: The role of milk thistle extract in breast carcinoma cell line (MCF-7) apoptosis with doxorubicin. *Acta. Med. Iran.*, 2013, 51 (9), 591 – 598.
- Rašković, A., Stilinović, N., Kolarović, J., Vasović, V., Vukmirović, S., Mikov, M.: The protective effects of silymarin against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Molecules*, 2011, 16 (10), 8601 – 8613.
- Riederer, P. a Laux, G.: MAO-inhibitors in Parkinson's disease. *Exp. Neurobiol.*, 2011, 20 (1), 1 – 17.
- Serviddio, G., Bellanti, F., Stanca, E., Lunetti, P., Blonda, M., Tamborra, R., Siculella, L., Vendemiale, G., Capobianco, L., Giudetti, A. M.: Silybin exerts antioxidant effects and induces mitochondrial biogenesis in liver of rat with secondary biliary cirrhosis. *Free Radical. Bio. Med.*, 2014, 73, 117 – 126.
- Sheela, N., Jose, M. A., Sathyamurthy, D., Kumar B. N.: Effect of silymarin on streptozotocin nicotinamide-induced type 2 diabetic nephropathy in rats. *Iran J. Kidney Dis.*, 2013, 7 (2), 117 – 123.
- Singhal, N. K., Srivastava, G., Patel, D. K., Jain, S. K., Singh, M. P.: Melatonin or Silymarin reduces maneb-and paraquat-induced Parkinson's disease phenotype in the mouse. *J. Pineal. Res.*, 2011, 50 (2), 97 – 109.
- Son, Y., Lee, H. J., Rho, J. K., Chung, S. Y., Lee, C. G., Yang, K., Kim, S. H., Lee, M., Shin, I. S., Kim, J. S.: The ameliorative effect of silibinin against radiation-induced lung injury: protection of normal tissue without decreasing therapeutic efficacy in lung cancer. *BMC Pulm. Med.*, 2015, 15, 68.
- Song, X., Zhou, B., Cui, L., Lei, D., Zhang, P., Yao, G., Xia, M., Hayashi, T., Hattori, S., Ushiki-Kaku, Y., Tashiro, S. I., Onodera, S., Ikejima, T.: Silibinin ameliorates A β 25-35-induced memory deficits in rats by modulating autophagy and attenuating neuroinflammation as well as oxidative stress. *Neurochem. Res.*, 2017, 42 (4), 1073 – 1083.
- Soto, C., Pérez, J., García, V., Uría, E., Vadillo, M., Raya, L.: Effect of silymarin on kidneys of rats suffering from alloxan-induced diabetes mellitus. *Phytomedicine*, 2010, 17 (14), 1090 – 1094.
- Srivastava, S., Sammi, S. J., Laxman, T. S., Pant, A., Nagar, A., Trivedi, S., Bhatta, R. S., Tandon, S., Pandey, R.: Silymarin promotes longevity and alleviates Parkinson's associated pathologies in *Caenorhabditis elegans*. *J. Functional Foods*, 2017, 31, 32 – 43.
- Surai, P. F.: Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives. *Antioxidants*, 2015, 4 (1), 204 – 247.
- Štátny ústav na kontrolu liečiv. https://www.sukl.sk/hlavna-stranka/slovenska-verzia/databazy-a-servis/vyhľadavanie-liekov-zdravotnickych-pomocok-a-zmien-v-liekovvej-databaze/vyhľadavanie-v-databaze-registrovaných-liekov?page_id=242&lie_nazov=&atc_nazov=silymarin&lie_kod=&atc_kod=&lie_rc=&drz_kod= [cit. 2020-01-08].
- Tedesco, D., Tava, A., Galletti, S., Tameni, M., Varisco, G., Costa, A., Steidler, S.: Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2004, 87 (7), 2239 – 2247.
- Tůmová, L. a Gallová, K.: Terapeutické účinky *Silybum marianum*. [Therapeutical effects of *Silybum marianum*]. *Praktické lékařství*, 2006, 2 (4), 185 – 187.
- Ulger, I., Ayasan, T., Onmaz, A. C.: Effects of Silymarin (*Silybum marianum*) supplementation on milk and blood parameters of dairy cattle. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 2017, 47 (6), 758 – 765.
- Varghese, L. Agarwal, C., Tyagi, A., Singh, R. P., Agarwal, R.: Silibinin efficacy against human hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2005, 11 (23), 8441 – 8448.
- Vessal, G., Akmal, M., Najafi, P., Moein M. R., Sagheb M. M.: Silymarin and milk thistle extract may prevent the progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Renal Failure*, 2010, 32 (6), 733 – 739.
- Vilahir, G., Casan, L., Peña, E., Crespo, J.,

Juan-Babot, O., Ben-Aicha, S., Mendieta, G., Béjar, M. T, Borrell, M., Badimon, L.: *Silybum marianum* provides cardioprotection and limits adverse remodeling post-myocardial infarction by mitigating oxidative stress and reactive fibrosis. *Int. J. Cardiol.*, 2018, 270, 28 – 35.

Won, D. H., Kim, L. H., Jang, B., Yang, I. H., Kwon, H. J., Jin, B., Oh, S. H., Kang, J. H., Hong, S. D., Shin, J. A., Cho, S. D.: *In vitro* and *in vivo* anti-cancer activity of silymarin on oral cancer. *Tumour Biol.*, 2018, 40, 1 – 11.

Yaghmaeil, P., Azarfar, K., Dezfulian, M., Ebrahim-Habibi, A.: Silymarin effect on amyloid- β plaque accumulation and gene expression of APP in an Alzheimer's disease rat model. *DARU J. Pharm. Sci.*, 2014, 22 (1), 24.

Zhang, B., Xu, D., She, L., Wang, Z., Yang, N., Sun, R., Zhang, Y., Yan, C., Wei, Q., Aa, J., Liu, B., Wang, G., Xie, Y.: Silybin inhibits NLRP3 inflammasome assembly through the NAD⁺ /SIRT2 pathway in mice with nonalcoholic fatty liver disease. *The FASEB Journal*, 2018, 32 (2), 757 – 767.

Zhu, X. X., Ding, Y. H., Wu, Y., Qian, L. Y., Zou, H., He, Q.: Silibinin: a potential old drug for cancer therapy. *Expert Rev. Clin. Phar.*, 2016, 18, 1 – 8.

Zholobenko, A. a Modriansky, M.: Silymarin and its constituents in cardiac preconditioning. *Fitoterapia*, 2014, 97, 122 – 132.



ANALÝZA FARMAKOTERAPIE A VÝSKYTU PEPTICKEJ VREDOVEJ CHOROBY GASTRODUODENA

ANALYSIS OF PHARMACOTHERAPY AND INCIDENCE OF PEPTIC ULCER DISEASE OF GASTRODUODENUM

Brédová, Michaela; Čonková, Eva

Katedra farmakológie a toxikológie
Ústav farmakológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

eva.conkova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Ochoreniam gastrointestinálneho traktu sa v súčasnosti celosvetovo venuje veľká pozornosť, najmä tým, ktoré sú zapríčinené baktériou *Helicobacter pylori* (HP). Prvé priečky v úmrtnosti na peptickú vredovú chorobu (PVCH) za rok obsadzujú v Európe Dánsko (4,2), Maďarsko (3,8) a Rusko (3,4); pričom Slovenská republika sa radí na ôsme miesto (3,1 na 100 000 obyvateľov, r. 2013) (Graphiq, 2013). Analýza lekárskeho predpisov ukázala, že PVCH sa vyskytuje častejšie u mužov (58,1 % – *Ulcus ventriculi*, resp. 69,4 % – *Ulcus duodeni*) ako u žien (41,9 %, resp. 30,6 %). Dominovala najmä PVCH dvanástnika (62,4 %) pred PVCH žalúdka (37,6 %). Najvyššia incidencia bola zaznamenaná na jeseň (27,6 %) a najnižšia v zime (19,3 %). Z dostupných dát o

vyexpedovaných liekoch môžeme skonštatovať, že farmakoterapia PVCH gastroduodena spočíva v preskripcii inhibítorov protónovej pumpy (PPI), hlavne na báze pantoprazolu (42,5 %) a omeprazolu (36,8 %) a antagonistoch histamínových receptorov, ako sú ranitidín (1,8 %) a famotidín (3,1 %). Eradikačná liečba v prípade pozitivity HP bola založená na kombinácii liečiv zahŕňajúcich blokátor protónovej pumpy (omeprazol, ezomeprazol, pantoprazol, resp. lanzoprazol) a antimikrobiálnu látku: klaritromycín a amoxicilín, prípadne klaritromycín a metronidazol, alebo amoxicilín a metronidazol.

Kľúčové slová: terapia; vred žalúdka a dvanástnika, výskyt

ABSTRACT

There is great attention given worldwide currently to gastrointestinal tract diseases, especially the problem caused by *Helicobacter pylori* (HP). According to annual mortality of peptic ulcer disease in Europe, the first place is taken by Denmark (4.2), then Hungary (3.8) and Russia (3.4). The Slovak republic occupies the eighth place (3.1 per 100.000 inhabitants, year 2013) (Graphiq, 2013). Monitoring of medical prescriptions showed that the disease is more dominant in men (58.1 % and 69.4 % respectively) than women (41.9 % and 30.6 % respectively). The duodenum was affected to a greater extent (62.4 %) than the stomach (37.6 %). Peptic ulcer disease of gastroduodenum occurs most frequently in autumn (27.6 %) and at least frequently in winter (19.3 %). On the basis of the available data, the therapy of peptic ulcer disease of gastroduodenum is based on proton pump inhibitors – PPI (most commonly prescribed pantoprazole – 42.5 % and omeprazole – 36.8 %) and H₂-antagonists (ranitidine – 1.8 % and famotidine – 3.1 %). HP treatment is based on a combination of drugs including proton pump inhibitor omeprazole, esomeprazole, pantoprazole, lansoprazole with antibiotics based on clarithromycin and amoxicillin, or clarithromycin and metronidazole, respectively amoxicillin and metronidazole.

Key words: gastric and duodenal ulcer; incidence; treatment

ÚVOD

V súčasnej dobe sa čoraz častejšie stretávame s problémami gastrointestinálneho traktu. V priebehu života ochore viac než polovica populácie vredovou chorobou žalúdka, dvanástnika alebo refluxnou chorobou pažeráka (Jungwirthová, 2008).

Peptický vred je erózia v sliznici gastro-

intestinálneho traktu, buď v žalúdku (žalúdočný vred) alebo v prednej časti dvanástnika (duodenálny vred), ktorá často preniká svalovou vrstvou (Vakil, 2020). Príčinou vzniku vredovej choroby gastroduodena je dysbalancia protektívnych (mucín, sekréty – sliny, alkalická pankreatická šťava, endogénne prostaglandíny, hormóny sekretín a somatostatín) a agresívnych faktorov (HCl, kofeín, teín, fajčenie, *H. pylori*, žľčové kyseliny, alkohol, stres, ulcerogénne lieky) (Masaryková a kol., 2015).

V závislosti od etiológie peptické vredové ochorenie je možné rozdeliť na primárne a sekundárne. Výskyt primárnych peptických vredov je najčastejšie výsledkom chronického zápalu spôsobeného infekciou *H. pylori*, ale radíme tu aj Zollinger-Ellisonov syndróm, hyperpláziu G-buniek, systémovú mastocytózu, či hyperparatyroidizmus. Príčinou vzniku sekundárneho vredového ochorenia (non *H. pylori*-pozitívne vredy) sú fyziologický stres, systémové ochorenia ako sepsa, popáleniny, *diabetes mellitus* 1. typu, systémový *Lupus erythematosus*, či ulcerogénne liečivá (nesteroidné antiflogistiká, kyselina acetylsalicylová, kortikosteroidy, valproát sodný, teofylín).

Za posledné desaťročie v západných krajinách došlo k výrazným zmenám, kedy sa podiel *H. pylori*-pozitívnych vredov znížil so zvýšením výskytu *H. pylori*-negatívnych vredov (Sullivan, 2010).

Gastroduodenálne vredy sa najčastejšie prejavujú epigastrickou bolesťou, ktorá je charakterizovaná pocitom pálenia krátko po jedle pri žalúdočnom vrede a 2 – 3 hodiny po jedle pri duodenálnom vrede (Anand, 2020). Prítomnosť gastroduodenálnych vredov je často sprevádzaná poruchami trávenia, stratou chuti do jedla, či úbytkom telesnej hmotnosti. Krv prítomná vo zvratkoch alebo stolici je dôsledkom perforácie cievnej steny vredom (Abrahams, 2005).

Pre nastolenie správnej terapie je dôležitá diagnostika ochorenia. V rámci anamnézy sa zisťuje výskyt vredovej choroby v rodine alebo u pacienta v minulosti. Potvrdiť, resp. vyvrátiť nález je možné až na základe gastroscopického vyšetrenia

(endoskopia). Endoskopia umožňuje nielen odber tkaniva, ktoré je potrebné k histologickému vyšetreniu, ale aj prítomný vred popísať a lokalizovať (Klucho, 2016). Na detekciu *Helicobacter pylori* sa využívajú špeciálne vyšetrenia. Pri invazívnej metóde sa na bioptickej vzorke sliznice žalúdka vykonáva ureázový test alebo sa *HP* diagnostikuje mikroskopicky, histologickými a imunohistochemickými metódami. Z neinvazívnych metód sa využívajú dychový test, založený na metabolizme urey mikroorganizmami, detekcia antigénu HP v stolici a sérologický dôkaz protilátok (Bézaiová, 2017).

Medikamentózna terapia peptickej vredovej choroby gastroduodena je zameraná na elimináciu agresívnych faktorov spôsobujúcich vznik vredov a na podporu protektívnych faktorov. Liečba *non H. pylori*-pozitívnych vredov spočíva v neposlednom rade aj v odstránení príčiny vyvolávajúcej ulceráciu a v regenerácii poškodenej sliznice. Liečba zahŕňa látky znižujúce sekréciu HCl, H_2 -antagonisty (ranitidín a famotidín), blokátory protónovej pumpy (omeprazol, lanzoprazol, pantoprazol, ezomeprazol), antagonisty M_1 -receptorov (pirenzepín) a prostaglandíny (misoprostol, enprostil). Ďalšiu farmakoterapeutickú skupinu predstavujú antacidá, ktoré znižujú aciditu žalúdka. V súčasnosti sa využívajú kombinácie hlinitých a horečnatých solí. Z cytoprotektívnych látok je pri duodenálnom vrede indikovaný sukralfát a pri žalúdočnom vrede sú predpisované bizmutité soli (Mirossay a kol., 2009). V prípade dokázanej infekcie *Helicobacter pylori* je nasadená eradikačná liečba pozostávajúca z prvej (trojkombinačná) či druhej (štvoorkombinačná) línie. Využíva sa kombinácia liečiv zo skupiny inhibítorov protónovej pumpy s dvomi antibakteriálne pôsobiacimi látkami (ATB – amoxicilín, tetracyklín, klaritromycín, azitromycín a chemoterapeutikum – metronidazol alebo soli bizmutu). Príčinná súvislosť *H. pylori* so žalúdočným vredom je 50 – 75 % a s vredom duodena až 95 % (Bézaiová, 2017).

Hlavným cieľom našej štúdie bolo na základe analýzy lekárskeho predpisu zistiť výskyt peptickej

vredovej choroby gastroduodena so zameraním sa na ich farmakoterapiu v praxi.

MATERIÁL A METÓDY

Analýza farmakoterapie PVCH gastroduodena bola vykonaná na základe sumarizácie údajov z lekárskeho predpisu, ktoré boli získané z verejnej lekáreň v Košiciach v blízkosti gastroenterologickej ambulancie. Lekárske predpisy s diagnózou K25 (*Ulcus ventriculi* – vred žalúdka) a K26 (*Ulcus duodeni* – dvanástnikový vred) boli spracované za obdobie od 1.1.2011 do 31.12.2016 pomocou počítačového programu WinLSS, ktorý lekáreň používa. Celkovo bolo vyselektovaných 508 lekárskeho predpisov zahŕňajúcich základné údaje o pacientoch (vek, pohlavie) a o predpísaných liekoch (účinné látky, obdobie preskripcie, línie eradikačnej terapie). Pri získavaní informácií a spracovaní výsledkov sa postupovalo v zmysle zákona o ochrane osobných údajov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Za obdobie od 1.1.2011 do 31.12.2016 sme z celkového počtu (508) lekárskeho predpisov evidovali 191 prípadov s diagnózou K25 – *Ulcus ventriculi*. Vred žalúdka sa vyskytoval častejšie u mužov (58,1 %) ako u žien (41,9 %). *Ulcus duodeni* (K26) bol zaznamenaný 317-krát, a rovnako postihoval prevažne mužov (69,4 %) ako ženy (30,6 %) (viď tabuľka 1).

Literárne údaje uvádzajú, že peptická vredová choroba dvanástnika má vyššiu frekvenciu výskytu ako žalúdočný vred, pričom duodenálny vred postihuje pacientov najmä medzi 30. – 40. rokom života a žalúdočný vred v rozmedzí 50. – 60. roku (Benacka, 2013). Analýza preskripcie však preukázala výskyt žalúdočných vredov najmä v staršej vekovej kategórii (60 – 74 rokov; 44 %). Výskyt duodenálneho vrodu bol takmer v rovnakom počte zistený u ľudí v staršej (43,9 %) a v strednej (43,5 %) vekovej kategórii (45 – 59 rokov) (viď tabuľka 1).

Tab. 1: Vek a pohlavie pacientov s diagnózou K25 a K26

Veková kategória	K25 – <i>Ulcus ventriculi</i>			K26 – <i>Ulcus duodeni</i>		
	Ženy n/%	Ženy n/%	Spolu n/%	Ženy n/%	Ženy n/%	Spolu n/%
0 – 14 rokov	0	0	0	0	0	0
15 – 29 rokov	3/3,7	1/0,9	4/2,1	1/1,0	0	1/0,3
30 – 44 rokov	3/3,7	22/19,8	25/13,1	6/6,2	18/8,2	24/7,6
45 – 59 rokov	19/23,8	23/20,7	42/22,0	41/42,3	97/44,1	138/43,5
60 – 74 rokov	36/45,0	48/43,3	84/44,0	40/41,2	99/45,0	139/43,9
75 – 89 rokov	19/23,8	17/15,3	36/18,8	9/9,3	6/2,7	15/4,7
> 90 rokov	0	0	0	0	0	0
Spolu	80/41,9	111/58,1	191/100	97/30,6	220/69,4	317/100

Tab. 2: Prevalencia ochorenia v závislosti od ročného obdobia

Ročné obdobie	K25 n/%	K26 n/%	Spolu n/%
jar	47/24,6	90/28,4	137/27,0
leto	44/23,0	89/28,1	133/26,1
jeseň	56/29,4	84/26,5	140/27,6
zima	44/23,0	54/17,0	98/19,3

Vredové ochorenie gastroduodena sa u pacientov objavuje predovšetkým na jar a jeseň a postihuje tri až štyrikrát častejšie mužov ako ženy (Benacka, 2013). Sezónnosť tohto ochorenia potvrdzujú aj naše zistenia. Peptické vredové ochorenie gastroduodena sa vyskytovalo hlavne na jeseň (27,6 %), s klesajúcou tendenciou na jar (27 %), v letnom období (26,1 %) a v zime (19,3 %). Minimálne rozdiely sme zaznamenali pri výskyte duodenálneho vredu u pacientov na jar (28,4 %), v lete (28,1 %) a na jeseň (26,5 %). Incidencia žalúdočného vredu dosahovala najvyššiu mieru na jeseň (29,4 %) (viď tabuľka 2).

V analyzovaných receptúrnych blanketách boli najčastejšie predpisované lieky zo skupiny PPI, pantoprazol (42,5 %) a omeprazol (36,8 %). V menšej miere sa vyskytovala S-forma omeprazolu, ezomeprazol (5,5 %) a lanzoprazol (2,7 %). V

súčasnosti sa z predstaviteľov antagonistov H₂ receptorov používajú ranitidín a famotidín (Mirossay a kol., 2009), čo potvrdzujú aj výsledky našej štúdie (famotidín – 3,1 % a ranitidín – 1,8 %). V prípadoch, keď pacienti trpia bolesťami, úzkosťou alebo nervozitou pri tráviacich problémoch, lekári im často predpisujú analgetiká, spazmolytiká, respektíve sedatíva (Overholt, 2018). V analyzovaných lekárskech predpisoch sme zaznamenali výskyt predpísaných látok: analgetikum metamizol (0,8 %) samostatné alebo v dvojkombinácii so spazmolytikom (metamizol/pitofenón; 1,2 %) a trojkombinácii (metamizol/pitofenón/fenpiverín) ako spazmoanalgetikum (0,2 %). V receptúrnych blanketách sme evidovali aj predpis liečiv zo skupiny anxiolytík (bromazepam, alprazolam) (viď tabuľka 3).

Tab. 3: Spotreba liekov na základe účinných látok vyexpedovaných pre pacientov s PVCH

Skupina/ liečivo	Diagnóza		
	K25 n/%	K26 n/%	Spolu n/%
<i>Inhibítory protónovej pumpy</i>			
Pantoprazol	107/56,0	109/34,4	216/42,5
Omeprazol	62/32,6	125/39,4	187/36,8
Lanzoprazol	1/0,5	13/4,1	14/2,7
Ezomeprazol	0	28/8,8	28/5,5
<i>Antagonisty H₂ receptorov</i>			
Ranitidín	6/3,2	3/1,0	9/1,8
Famotidín	2/1,0	14/4,4	16/3,1
<i>Iné</i>			
Domperidón	8/4,2	2/0,6	10/2,0
Mebeverín	0	1/0,3	1/0,2
Butylskopolamín	1/0,5	0	1/0,2
Itoprid	1/0,5	1/0,3	2/0,4
Fenpiverín, metamizol, pitofenón	1/0,5	0	1/0,2
Metamizol, pitofenón	1/0,5	5/1,6	6/1,2
Metamizol	0	4/1,3	4/0,8
Pankreatín	1/0,5	6/2,0	7/1,4
Fenoxymetylpencilín	0	1/0,3	1/0,2
Borneol, kamfén, mentol, mentón, pinén α , β	0	1/0,3	1/0,2
Etamsylát	0	1/0,3	1/0,2
Askorbát sodný, KCl, NaCl, vitamín C	0	1/0,3	1/0,2
Esenciálne fosfolipidy	0	1/0,3	1/0,2
Hydroxid hlinitý, horečnatý	0	1/0,3	1/0,2
Spolu	191/100	317/100	508/100

ZÁVER

Peptické vredové ochorenie gastroduodena je jedno z najčastejších sa vyskytujúcich civilizačných ochorení, pričom najrizikovejšou skupinou sú stredné a staršie vekové kategórie. Kým v minulosti sa PVCH liečila chirurgickou cestou, dnes je preferovaná farmakoterapia založená na inhibítoroch

protónovej pumpy a antagonistoch H₂ receptorov. V prípade ochorenia zapríčineného baktériou *H. pylori* sa pacient musí podrobiť eradikačnej liečbe pozostávajúcej z kombinácie inhibítorov protónovej pumpy s antibakteriálne pôsobiacimi látkami. K úspešnému vyliečeniu v neposlednom rade prispieva aj úprava stravy či vhodná fytoterapia.

ZOZNAM LITERATÚRY

- Abrahams, P.: Vredy žalúdka a dvanástnika. *Rodinná encyklopédia zdravia: Charakteristiky, príznaky, príčiny a prevencia najčastejších chorôb a porúch zdravia*. [The Family Medical Encyclopedia: The Essential Guide to More Than 120 Medical Conditions, Syndromes and Diseases]. Praha: Ottovo nakladatelství, 2005. 160 – 161.
- Anand, B. S.: *Peptic ulcer disease. Gastroenterology. Medscape*. <https://emedicine.medscape.com/article/181753-overview>. Accessed April 7, 2018.
- Benacka, R. A.: *Peptic Ulcer Disease (PUD)*. <http://patfyz.medic.upjs.sk/estudmat/DrBenacka-Ulcers.pdf>. Accessed April 12, 2018.
- Bézayová, T.: *Helicobacter pylori*. In *Vitro*, 2017, 121 – 129. https://issuu.com/alpha-medicalinvitro/docs/invitro-1-2017_issuu. Accessed April 5, 2018.
- Graphiq. HealthGrove. *Global-diseases, Pep-tic Ulcer Disease. Impact in Europe*. <http://global-diseases.healthgrove.com/l/150/Peptic-Ulcer-Disease>. Accessed March 25, 2018.
- Jungwirthová, A.: *Žaludeční vředy*. [Stomach ulcers]. https://www.egk.cz/www/cz/zaludecni_vredy.phtml?tid=1. Accessed April 7, 2018.
- Klucho, J.: *Vredová choroba – peptický vred* [Ulcer disease – peptic ulcer]. <https://www.gastroenterolog.com/index.php/21-choroby-v-gastroenterologii/choroby-zaludka-a-dvanastnika/59-pepticky-vred>. Accessed April 8, 2018.
- Kohút ,A., Mirossay, L., Mojžiš, J. a kol.: *Látky ovplyvňujúce gastrointestinálny systém. Základná farmakológia a farmakoterapia*. [The essential pharmacology and pharmacotherapy]. Košice: Equilibria, 2009. 146 – 150.
- Masaryková, L., Fulmeková, M., Lehocká, E., Gejdošová, H.: *Peptická vredová choroba* [Peptic ulcer disease]. *Praktické lekárnictvo*, 2015, 14 – 18.
- Overholt, B.: *Peptic Ulcer*. <http://www.gi-healthcare.com/peptic-ulcer/>. Accessed April 12, 2018.
- Sullivan, B.: *Peptic ulcer disease in children. Paediatrics and child health*, 2010, 20, 462 – 464.
- Vakil, N.: *Peptic Ulcer Disease. Gastrointestinal Disorders. MSD MANUAL Professional Version*. <https://www.msdmanuals.com/professional/gastrointestinal-disorders/gastritis-and-peptic-ulcer-disease/peptic-ulcer-disease>. Accessed April 7, 2018.



**POROVNANIE TOXICITY LEVOFLOXACÍNU POMOCOU BIOTESTU
NA *ARTEMIA FRANCISCANA* S TOXICITOU ZISTENOU NA *DAPHNIA MAGNA*
UDÁVANOU VÝROBCOM**

**COMPARISON OF LEVOFLOXACIN TOXICITY BY MEANS OF BIOTEST
ON *ARTEMIA FRANCISCANA* WITH THE TOXICITY ON *DAPHNIA MAGNA*
DECLARED BY THE LEVOFLOXACIN PRODUCER**

Šoganičová, Anna²; Špalková, Michaela¹

²Mirakl, spol. s r. o.

Rakovo 147, 038 42 Príbovce

¹Ústav biológie, zoológie a rádiobiológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice

Slovenská republika

michaela.spalkova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Cieľom tejto štúdie bolo stanoviť letálnu koncentráciu levofloxacínu metódou 96-hodinového biotestu na modelovom organizme *Artemia franciscana*. Test akútnej toxicity sme uskutočnili v dvoch fázach. V prvej fáze sme pracovali s kontrolnou skupinou a koncentraciami 1 mg.l⁻¹, 10 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹ a 1000 mg.l⁻¹. V druhej fáze sme postupovali rovnako, aby sme potvrdili získané hodnoty, keďže v prvej fáze hodnota LC₅₀ dosiahla viac než 1 g.l⁻¹. Zachytili sme niekoľko štatisticky významných údajov a na základe meraní sme vypočítali údaj o letalite. Nami získané hodnoty pre *Artemia franciscana*

(organizmus vyskytujúci sa vo vnútrozemských slaných jazerách) sme porovnali s hodnotami, ktoré stanovuje spoločnosť Pfizer v dokumente Safety Data Sheet svojho lieku Levofloxacin Injection (Hospira, s. r. o., USA). Výrobca v štúdii použil sladkovodného kôrovca *Daphnia magna*.

Z našich zistení vyplynulo, že hodnota LC₅₀ levofloxacínu pre *A. franciscana* je viac ako 1 g.l⁻¹. Výrobca uvádza LC₅₀ levofloxacínu pre *Daphnia magna* 320 mg.l⁻¹. Z uvedeného teda vyplýva, že *Artemia franciscana* je rezistentnejšia na pôsobenie levofloxacínu ako *Daphnia magna*.

Kľúčové slová: *Artemia franciscana*; *Daphnia magna*; levofloxacín

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the lethal concentration of levofloxacin by the 96-hour bioassay method in a model organism. The acute toxicity test was performed in two phases. In the first phase we worked with a control group and the concentrations of 1 mg.l⁻¹, 10 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹ and 1000 mg.l⁻¹. In the second phase we proceeded the same way to confirm the values obtained. Several statistically significant data were captured and the lethality was calculated based on the measurements. We compared the obtained values for *Artemia franciscana* (an organism found in inland salt lakes) to the values determined by Pfizer in the Safety Data Sheet of Levofloxacin Injection (Hospira, i. n. c., USA). The manufacturer used freshwater *Daphnia magna* for this study.

Our findings indicated that LC₅₀ of levofloxacin for *A. franciscana* was more than 1 g.l⁻¹. The manufacturer reports a LC₅₀ of levofloxacin for *D. magna* 320 mg.l⁻¹, which means that *Artemia franciscana* is more resistant to levofloxacin than *Daphnia magna*.

Key words: *Artemia franciscana*; *Daphnia magna*; levofloxacin

ÚVOD

Spomedzi rôznych liečiv prítomných v pôdnom a vodnom ekosystéme ako mikrokontaminanty sa nemalá pozornosť začala venovať antibiotikám. Ich rapídne sa zvyšujúce používanie a následný vývoj multirezistentných baktérií predstavujú vážne riziko pre zdravie ľudí a zvierat. Okrem toho, po vstupe do životného prostredia môžu antibiotiká negatívne ovplyvniť prirodzené mikrobiálne spoločenstvá. Tie zohrávajú rozhodujúcu úlohu v primárnych ekologických procesoch, zvlášť v stabilizácii kvality pôdy a vody. Vďaka ich značnému rezervoáru genetickej diverzity a metabolickej schopnosti sa podieľajú na degradácii organických kontaminantov

a biogeochemickom cyklovaní. Prítomnosť antibiotík v prostredí môže brániť mikrobiálnej komunitnej štruktúre správne fungovať a spôsobovať krátkodobé a dlhodobé (priame a nepriame) účinky na mikrobiálne spoločenstvá. Krátkodobé sú baktericídne a bakteriostatické účinky s následným vymiznutím niektorých mikrobiálnych populácií a deficitom ich ekologického účinku. Nepriamy vplyv zahŕňa vývoj baktérií rezistentných na antibiotiká a v niektorých prípadoch bakteriálnych kmeňov schopných degradovať ich metabolickými alebo ko-metabolickými procesmi. Význam takýchto priamych a nepriamych účinkov môže ovplyvniť niekoľko faktorov vrátane koncentrácie antibiotika, času expozície, prijímajúceho ekosystému a spoločného výskytu iných antibiotík a/alebo iných kontaminantov.

Vyhodnotiť, či testovaná látka v závislosti od koncentrácie pôsobí ako živina alebo jed nám umožňujú ekotoxikologické biotesty. Ich podstata spočíva v pôsobení rôznych koncentrácií látky na biologický model v presne definovaných podmienkach.

Súčasná toxikológia v súlade s odporúčaniami Európskej rady kladie požiadavky na elimináciu počtu stavovcov použitých v toxikologických testoch a ich čiastočnú substitúciu bezstavovcami, rastlinami, prípadne dokonca orgánmi, tkanivami či bunkovými kultúrami. V zmysle odporúčaní Európskej rady sú za zvierá považované všetky živé stavovce vyjmúc človeka, včítane voľne žijúcich, ich rozmnožovania schopných lariev, nie však embryá alebo plody (Dvořák a Beňová, 2002). Z tohto dôvodu boli v priebehu posledných dekád testované rôzne druhy bezstavovcov pre ich citlivosť na mnohé fyzikálne alebo chemické činitele, aby sa dokázalo alebo vyvrátilo ich potenciálne využitie pri predbežných testoch. Medzi najfrekvencovanejšie organizmy na testovanie ekotoxicity patria kôrovce rodu *Artemia* a *Daphnia*.

Predmetom tejto štúdie je jedinec *Artemia franciscana*, ktorý sa vyskytuje vo vnútrozemských slaných jazerách. Sledovali sme hodnoty toxicity

Tab. 1: Zloženie vody použitej na liahnutie a prežívanie *A. franciscana*

Substancia	Koncentrácia substancie [g.l ⁻¹]
H ₃ BO ₃	0,027
KBr	0,099
SrCl ₂ . 6H ₂ O	0,040
NaHCO ₃	0,200
Na ₂ SO ₄ . 10H ₂ O	9,060
KCl	0,680
CaCl ₂ . 6H ₂ O	2,250
MgCl ₂ . 6H ₂ O	10,830
NaCl	23,900

Zdroj: Dvořák a kol., 2009

chemoterapeutika levofloxacinu pri jeho pôsobení na *Artemia franciscana* a porovnali sme ich s hodnotami, ktoré stanovuje spoločnosť Pfizer Company Hospira, spol. s r. o. v dokumente Safety Data Sheet svojho lieku Levofloxacin Injection (SDS Levofloxacin Injection). Výrobca pri štúdiách použil sladkovodného jedinca *Daphnia magna*.

MATERÁL A METÓDY

V praktickej časti našej štúdie sme použili metódu krátkodobého 96-hodinového biotestu, kde sme ako biologický objekt použili *Artemia franciscana* (Dvořák a Beňová, 2002). Pri pokuse sme použili vajíčka *Artemia franciscana*, ktoré boli nevyliahnuté vo forme vysušených cýst.

Liahnutie sa uskutočňovalo pri teplote 25° C počas 24 hodín v nepretržite prevzdušňovanej štandardizovanej morskej vode (viď tab. 1), aby sa zaistila saturácia kyslíkom a cirkulácia cýst. Proces prebiehal v sklenej fľaši s 500 ml morskej vody a 5 g dehydrovaných cýst.

Po vyliahnutí sme desať kusov čerstvo vyliahnutých naupliových štádií pomocou Pasteurovej pipety vložili do piatich polystyrénových Petriho

misiek s priemerom 60 mm. Celkový obsah morskej vody aj so vzorkou bol 10 ml (Dvořák a kol., 2005). Test akútnej toxicity sme uskutočnili v dvoch fázach.

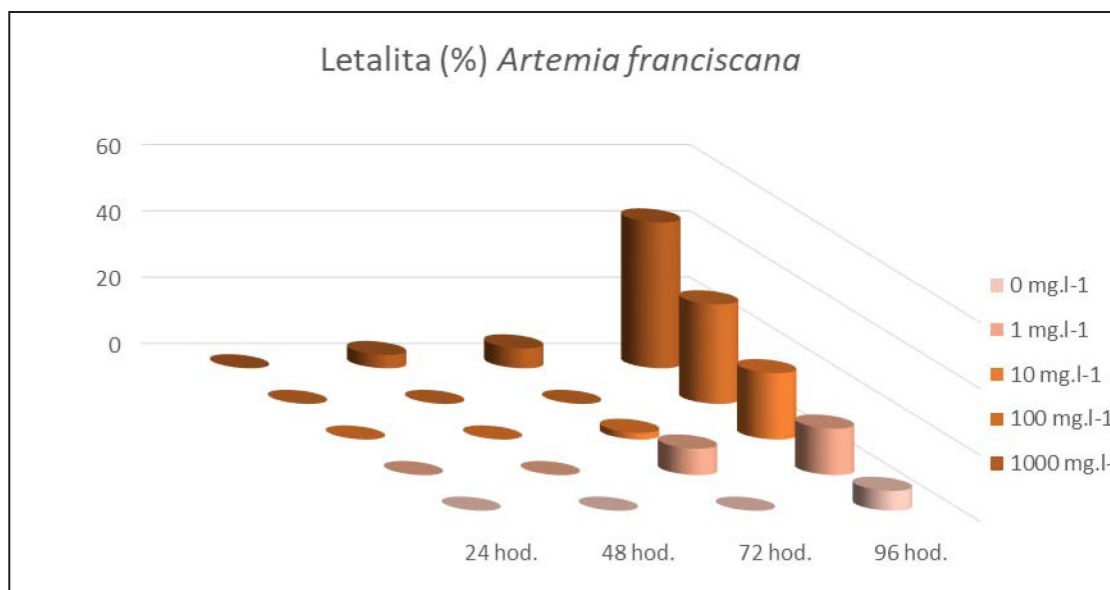
V prvej fáze sme pracovali s kontrolnou skupinou (bez prídavku testovanej látky) a s koncentraciami levofloxacinu 1 mg.l⁻¹, 10 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹ a 1000 mg.l⁻¹.

V druhej fáze sme postupovali rovnako, aby sme potvrdili získané hodnoty, nakoľko v prvej fáze nám vyšla koncentrácia prevyšujúca koncentračné maximum používané pre vplyv testovaných látok, teda 1 g.l⁻¹.

Experiment bol v oboch fázach prevedený na 4 pokusných skupinách a 1 kontrolnej skupine. V každej pokusnej skupine sme použili 50 ks nauplií *Artemia franciscana* rozdelených do 5 jednotlivých podskupín – v každej po 10 ks *Artemia franciscana*. V štúdiu sa tak celkovo použilo 500 jedincov *Artemia franciscana*.

Petriho misky sme uložili do termostatu nastaveného na teplotu 20 ± 1° C, pretože za optimum je považované rozpätie 20 – 22 °C (Dvořák a kol., 2009). V priebehu pokusu sme sledovali teplotu a zaznamenali sme najvyššiu hodnotu na úrovni

Graf 1: Letalita (%) *A. franciscana* po pôsobení levofloxacínu



21,0 °C, a najnižšiu na úrovni 20,2 °C. Použili sme ortuťový minimo-maximový teplomer, ktorý bol počas trvania celého pokusu umiestnený v termostate. Počas nasledujúcich 4 dní sa po 24 hodinách spočítavali mŕtvi jedinci *A. franciscana*. Podľa IRSA (1995) sa larvy považujú za uhynuté vtedy, keď po 10 sekundách nevykazujú žiadne známky pohybu.

Porovnali sme výsledky získané v experimentálnych skupinách oproti kontrolným skupinám a štatisticky sme ich vyhodnotili. Na vylúčenie vzdialených hodnôt sme použili Dean-Dixonov test. Je to test na vyhodnocovanie hodnôt letality na úrovni štatistickej významnosti $p = 0,05$ (Dvořák a Šucman, 1995). Ako strednú hodnotu úhynu v samostatných skupinách bol vypočítaný aritmetický priemer z 5 testovaných misiek v rámci 1 experimentálnej skupiny. Ako rozsah variácie bola stanovená smerodajná odchýlka jedného merania (SD).

Vzorec pre výpočet smerodajnej odchýlky:

$$SD = R \cdot kn$$

rozpätie variácie ($x_{\max} - x_{\min}$) koeficient, ktorého hodnota je 0,430 pre 5 misiek

Signifikantné ($p = 0,05$) rozdiely preukázateľnosti pre 50 jedincov v skupine boli skúmané podľa Hayesa (1991).

Z priemerných hodnôt letality v jednotlivých experimentálnych skupinách sme vypočítali LC_{50} pomocou dvojdvávkovej interpolačnej metódy podľa Rotha a kol. (1962).

VÝSLEDKY

Prvá fáza experimentu

Po 24, 48 a 72 hodinách sme neevidovali žiadne štatisticky významné ($p = 0,05$) rozdiely v % letality.

Po 96 hodinách sme zaevidovali štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšenú letalitu v skupinách s koncentraciami 10, 100 a 1000 mg.l⁻¹ oproti kontrolnej skupine, ale tiež v skupinách 100 a 1 000 mg.l⁻¹ oproti skupine 1 mg.l⁻¹ (viď tab. 2).

Pre LC_{50} bola vypočítaná hodnota 2682,69 mg.l⁻¹, avšak s obrovským rozpätím intervalu spoľahlivosti, čo znamená, že zo súčasných výsledkov môžeme vyvodiť len záver, že LC_{50} levofloxacínu pre *A. franciscana* bude viac ako 1 g.l⁻¹ (viď graf 1).

Tab. 2: Letalita (%) *Artemia franciscana* v prvej fáze experimentu

Časový interval	24			48			72			96			LC ₅₀	CI (95 %)
Koncentrácia levofloxacinu	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
0 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	0	5	0	6	5	4,3	–	–
1 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	8	5	4,3	14	5	4,3	–	–
10 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	2	5	4,3	20*	5	17,2	999,999 x 10 ³	0 – 126,471 x 10 ¹⁸
100 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	0	5	0	30*	5	12,9	9 999,999	0,29 – 350,4 x 10 ⁶
1 000 mg.l ⁻¹	0	5	0	4	5	4,3	6	5	4,3	44*	5	17,2	2 682,69	84,51 – 85,161 x 10 ³

x – priemerná letalita v %

n – počet testovaných skupín

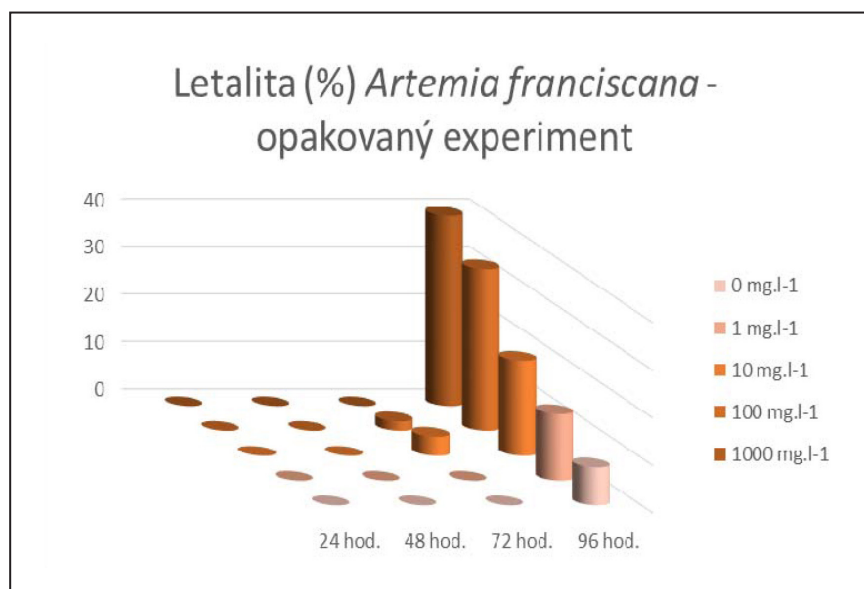
SD – smerodajná odchýlka

LC₅₀ – letálna koncentrácia pre 50 % experimentálnych jedincov

CI (95 %) – interval spoľahlivosti

* – štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v pokusných skupinách oproti kontrolnej skupine

Graf 2: Letalita (%) *A. franciscana* po pôsobení levofloxacinu pri opakovanom experimente



Tab. 3: Letalita (%) *Artemia franciscana* v druhej fáze experimentu

Časový interval	24			48			72			96			LC ₅₀	CI (95 %)
Koncentrácia levofloxacinu	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
0 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	0	5	0	8	5	4,3	–	–
1 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	0	5	0	14	5	4,3	–	–
10 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	4	5	4,3	20	5	8,6	999,999 x 10 ³	0 – 126,471 x 10 ¹⁸
100 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	2	5	4,3	34*	5	17,2	1 389,49	7,43 – 259,927 x 10 ³
1 000 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	0	5	0	40*	5	12,9	2 154,43	50,94 – 91,117 x 10 ³

x – priemerná letalita v %

n – počet testovaných skupín

SD – smerodajná odchýlka

LC₅₀ – letálna koncentrácia pre 50 % experimentálnych jedincov

CI (95 %) – interval spoľahlivosti

* – štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v pokusných skupinách oproti kontrolnej skupine

Druhá fáza experimentu

Po 24, 48 a 72 hodinách sme neevidovali žiadne štatisticky významné ($p = 0,05$) rozdiely v % letalite.

Po 96 hodinách sme zaevidovali štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšenú letalitu v skupinách s koncentraciami 100 a 1000 mg.l⁻¹ oproti kontrolnej skupine, ale tiež v skupinách 100 a 1 000 mg.l⁻¹ oproti skupine 1 mg.l⁻¹ (viď tab. 3).

Pre LC₅₀ bola vypočítaná hodnota 2154,43 mg.l⁻¹, ale s obrovským rozpätím intervalu spoľahlivosti, čo znamená, že zo súčasných výsledkov môžeme znova vyvodit' záver, že LC₅₀ levofloxacinu pre *A. franciscana* bude viac ako 1 g.l⁻¹ (viď graf 2).

DISKUSIA

Lieky sú nevyhnutné pre zachovanie verejného zdravia a kvality nášho života. V dnešnej dobe

sú prítomné tisíce rozličných účinných látok pri používaní v nadmerných množstvách na prevenciu alebo terapiu ochorení ľudí a zvierat. Vďaka zvýšenej schopnosti detegovať ich pomocou pokročilých chemických analýz sa však v posledných 20 rokoch objavili aj ako mikrokontaminanty vo vodných a pôdnych ekosystémoch (Carvalho a Santos, 2016).

Viacero z týchto zlúčenín zozbieraných v odpadových vodách sa v bežných miestnych kanalizačných systémoch eliminuje len čiastočne a následne sa z týchto systémov uvoľňuje do povrchových vôd (Paffoni a kol., 2006).

Yasojima a kol. v roku 2006 vo svojej štúdii zisťovali koncentráciu levofloxacinu v prítokoch mnohých čistiarní odpadových vôd. Bolo zistené, že po spracovaní aktivovaného kalu dosahuje koncentrácia levofloxacinu 552 ng.l⁻¹. Ďalšia štúdia bola vykonaná Conleym a kol. (2008), kde sa levofloxacin zistil

v hodnote 6,3 % zo 120 vzoriek testovanej vody zozbieraných v období od decembra 2006 do októbra 2007 pozdĺž rieky Tennessee v koncentráciách od 6,2 do 59,3 ng.l⁻¹, priemerne 11,9 ng.l⁻¹.

V povrchovej vode bol levofloxacín detegovaný pri koncentráciách do 87,4 ng.l⁻¹ (Kim a kol., 2009). Táto hodnota je podobná rozsahu koncentrácie fluórchinolónov, ktoré Giger a kol. v roku 2003 detegovali tiež vo vzorkách povrchovej vody, a to 120 ng.l⁻¹.

Vo vodnom prostredí sú zistené úrovne koncentrácie liekov zvyčajne v rozsahu nanogramov, maximálne až mikrogramov na liter (Daughton, 2007). Hoci tieto koncentrácie sú zvyčajne nízke, nesmú byť prehliadnuté. Tieto biologicky aktívne molekuly by mohli nakoniec zvýšiť bakteriálnu rezistenciu alebo postihnúť vodné organizmy.

Práve tento ekotoxikologický dopad na vodné organizmy bol aj predmetom záujmu tejto štúdie, pričom sme zistili, že LC₅₀ levofloxacínu pre *Artemia franciscana* (ktorá obýva slané vody) je > 1 g.l⁻¹. Výrobca, spoločnosť Pfizer, uvádza v dokumente Safety Data Sheet svojho lieku Levofloxacin Injection LC₅₀ pre sladkovodnú *Daphnia magna* 320 mg.l⁻¹. Z uvedeného teda vyplýva, že *Artemia franciscana* je rezistentnejšia na pôsobenie levofloxacínu ako *Daphnia magna*.

Ďalším cenným poznatkom, ktorý sme pri pokuse zistili, je, že levofloxacín je lepšie rozpustný v morskej vode ako v sladkej. Obdobné zistenia potvrdzuje aj štúdia O'Neila z roku 2006. Tento fakt môže mať markantnejší dopad na morský ekosystém, čo len potvrdilo potrebu testovania toxicity levofloxacínu na *Artemia franciscana*, ktorá obýva práve tento ekosystém. Mieru ekotoxikologického rizika zvyšuje aj skutočnosť, že levofloxacín sa vylučuje hlavne močom v takmer nezmenenej forme (86 %) a jeho biodegradácia je obmedzená (Lin a kol., 2010).

Kümmerer (2009) a Pawlowski a kol. (2016) sa vo svojich štúdiách zhodujú, že antibiotiká vo vodných a pôdných ekosystémoch predstavujú riziko pre zdravie ľudí a zvierat. Hlavným dôvodom je narastajúce užívanie a následný vývoj multirezistentných baktérií.

Kochan a kol. už v roku 2006 jasne poukázali na nadužívanie antibiotík obyvateľstvom a to častokrát bez toho, aby si to ich stav skutočne vyžadoval. Z tohto môžeme dedukovať, že vplyv antibiotík v životnom prostredí je podceňovaný hlavne na úrovni lekárov. Ďalším závažným následkom neadekvátnej preskripcie je frekventovaný výskyt vážnych nežiaducich účinkov, obzvlášť u fluórchinolónov. V tejto záležitosti FDA (2006) zverejnila stanovisko, že pacienti s nekomplikovanými infekčnými chorobami by nemali byť liečení touto skupinou antibiotík, pokiaľ sú k dispozícii iné možnosti liečby.

Na základe vyššie spomenutých štúdií a na-mi zistených poznatkov môžeme prehlásiť, že levofloxacín z ekotoxikologického hľadiska nepredstavuje akútne riziko. Hodnota letálnej koncentrácie, ktorú sme stanovili, sa pohybuje v jednotkách g.l⁻¹. Obdobnú štúdiu vypracovali Fabian a Špalková (2020) na ciprofloxacíne, kde však bola hodnota LC₅₀ pre *A. franciscana* stanovená rádovo desaťkrát nižšia, čo sa dá vysvetliť tlakom na producentov farmák, aby zohľadňovali aj stránku znižovania ekotoxicity, nakoľko ciprofloxacín je fluórchinolón druhej generácie, a nami študovaný levofloxacín je už fluórchinolón tretej generácie. Stanovené LC₅₀ levofloxacínu viac ako 1 g.l⁻¹ sú rozhodne vyššie koncentrácie než tie, ktoré boli zaznamenané v odpadových a povrchových vodách, kde sa hodnoty pohybovali v jednotkách ng.l⁻¹ až µg.l⁻¹. Netreba však opomenúť fakt, že z hľadiska chronickej toxicity aj takéto nízke koncentrácie môžu predstavovať potenciálne riziko.

ZÁVER

Výsledky našej štúdie poukazujú na nižšiu senzitivitu organizmu *Artemia franciscana*, ktorý obýva slané vody, v porovnaní so sladkovodným organizmom *Daphnia magna*.

V priebehu pokusu sme zistili, že levofloxacín je lepšie rozpustný v morskej vode než v sladkej, čo naznačuje zvýšené riziko ekotoxikologického účinku na morský ekosystém. Tomuto nasvedčuje aj fakt, že

levofloxacin je vylučovaný prevažne v nezmenenej forme a podlieha biodegradácii len z malej časti.

Hodnota letálnej koncentrácie, ktorú sme stanovili, sa pohybuje rádovo v jednotkách g.l^{-1} , čo je vyššia koncentrácia než tie, ktoré boli zaznamenané v odpadových a povrchových vodách, kde sa hodnoty pohybovali rádovo v jednotkách ng.l^{-1} až $\mu\text{g.l}^{-1}$.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia bola podporovaná grantovým projektom IGA UVLF v Košiciach 07/2018 Sledovanie letality a morfológických odchýlok u Artemia franciscana pôsobením pesticídu imidakloprid.

ZOZNAM LITERATÚRY

Carvalho, I. T. a Santos, L.: Antibiotics in the aquatic environments: a review of the European scenario. *Environ. Int.*, 2016, 94, 736 – 757.

Conley, J. M., Symes, S. J., Schorr, M. S., Richards, S. M.: Spatial and temporal analysis of pharmaceutical concentrations in the upper Tennessee River Basin. *Chemosphere*, 2008, 73 (8), 1178 – 1187.

Daughton, C. G.: Chapter 1. Pharmaceuticals in the environment: sources and their management. In Petrovic, M., Barcelo, D. (Eds.) *Comprehensive Analytical Chemistry*. New York: Elsevier Science, 2007, 1 – 58.

Dvořák, P. a Beňová, K.: The investigation of interactions of low doses of ionizing radiation and risk factors by means of *Artemia salina* biotest. *Folia Vet.*, 2002, 46 (4), 195 – 197.

Dvořák, P. a Šucman, E.: *Statistika ke cvičením z biofyziky* [Statistics for exercises in biophysics]. Ústav Biochemie a biofyziky FVHE. Brno: VFU, 1995. 13 s.

Dvořák, P., Šucman, E., Beňová, K.: The development of a ten-day biotest using *Artemia salina* nauplii. *Biologia*, 2005, 60 (5), 593 – 597.

Dvořák, P., Žďárský, M., Beňová, K.: Possibilities of alternative generation II biotests at

Artemia. *Interdiscip. Toxicol.*, 2009, 2 (2), 45 – 47.

Fabian, F. a Špalková, M.: Porovnanie toxicity ciprofloxacínu pomocou biotestu na *Artemia franciscana* s toxicitou zistenou na *Daphnia magna* udávanou výrobcom. *Folia Pharmaceutica Cassoviensis*, 2020, 1 (1), 88 – 95.

FDA approves safety labeling changes for fluoroquinolones. <https://www.fda.gov/drugs/information-drug-class/fda-approves-safety-labeling-changes-fluoroquinolones>. Accessed December 20, 2018.

Giger, W., Alder, A. C., Golet, E. M., Kohler, H. P. E.: Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in waste waters, sewage sludges and surface waters. *Chimia*, 2003, 57 (9), 485 – 491.

Hayes, W. J.: Chapter 2 – Dosage and other factors influencing toxicity. In Hayes, W. J. and Laws, E. R. (Eds.). *Handbook of Pesticide Toxicology. Volume 1: General Principles*. New York: Academic Press, 1991. 39 – 97.

IRSA. Metodi analitici per le acque. *Quad. Ist. Ric. Acque*, 1995, 342 – 344.

Kim, J. W., Jang, H. S., Kim, J. G., Ishibashi, H., Hirano, M., Nasu, K., Ichikawa, N., Takao, Y., Shinohara, R., Arizono, K.: Occurrence of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in surface water from Mankyung River, South Korea. *Journal of Health Science*, 2009, 55, 249 – 258.

Kochan, J. Hupková, H. Gežo, H.: Antibiotiká a ich preskripcia v ambulantnej praxi z pohľadu zdravotnej poisťovne Khuller [Antibiotics and their prescription in outpatient practice from the Khuller health insurance point of view]. *Farmakoekonomika a lieková politika*, 2006, 2, 12 – 17.

Kümmerer, K.: Antibiotics in the aquatic environment: a review, part I. *Chemosphere*, 2009, 75 (4), 417 – 434.

Lin, J. S., Pan, H. Y., Liu, S. M., Lai, H. T.: Effects of light and microbial activity on the degradation of two fluoroquinolone antibiotics in pond water and sediment. *J. Environ. Sci. Health*, 2010, 45 (5), 456 – 465.

O'Neil, M. J.: *The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. New Jersey: Whitehouse Station, Merck and Co., Inc., 2006. s. 1171.

Paffoni, C., Welte, B., Gousailles, M., Montiel, A.: New molecules involved by the european directives: From wastewater to drinking water treatment plants. *Journal Europeen d'Hydrologie*, 2006, 37 (1), 21 – 38.

Pawlowski, A. C., Wang, W., Koteva, K., Barton, H. A., McArthur, A. G., Wright, G. D.: A diverse intrinsic antibiotic resistome from a cave bacterium. *Nat. Commun.*, 2016, 7, 138 – 139.

Roth, Z.: *Statistické metody v experimentální medicíně*. [Statistical methods in the experimental medicine]. Praha: Statní zdravotnícke nakladatelství,

1962. s. 296.

Safety Data Sheet, Pfizer company, 2016.
[https://www.pfizer.com/sites/default/files/products/material_safety_data/Levofloxacin.njection\(Hospira\)_2-Oct-2016.pdf](https://www.pfizer.com/sites/default/files/products/material_safety_data/Levofloxacin.njection(Hospira)_2-Oct-2016.pdf). Accessed December 12, 2018.

Yasojima, M. Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Tanaka, H.: Occurrence of levofloxacin, clarithromycin and azithromycin in wastewater treatment plant in Japan. *Water Sci. Technol.*, 2006, 53 (11), 227 – 233.



BIOLOGICKY VÝZNAMNÉ LÁTKY V LIEČIVÝCH HUBÁCH RODU CORDYCEPS (FR.) LINK

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN CORDYCEPS (FR.) LINK MEDICINAL MUSHROOMS

Zacharová, Jana¹; Ungvarská Maľučká, Lucia²

¹Lekáreň OPTIMA KE, s.r.o.

Moldavská cesta 32, 040 11 Košice

²Katedra chémie, biochémie a biofyziky

Ústav farmaceutickej chémie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice

Slovenská republika

lucia.ungvarska.malucka@uvlf.sk

ABSTRAKT

Huby rodu *Cordyceps* patria medzi entomopatogénne huby, keďže ich rast je podmienený parazitovaním na hmyze alebo iných článkonožcoch. Tento rod zahŕňa viac ako 750 rozličných druhov, z ktorých *Cordyceps* (C.) *sinesis* je najvýznamnejší aj najviac študovaný. V Číne je uznávaný ako tonikum a liečivý produkt už viac ako 2000 rokov. Západná medicína sa oňho takisto zaujíma už desaťročia. Cieľom experimentálnej časti našej štúdie bolo stanoviť antioxidačnú aktivitu extraktov z 3 vzoriek *C. sinensis* a 1 vzorky *Paecilomyces hepiali* (P), ich kvalitatívnu analýzu pomocou metódy tenkovrstvovej chromatografie (TLC) a protónovej nukleárnej magnetickej rezonančnej spektroskopie (¹H

NMR), a stanovenie ich antimikrobiálnej aktivity. Čo sa týka antioxidačnej aktivity, najvyššia bola stanovená pri vzorke č. 4 (komerčný produkt *Cordyceps sinensis* 6000, Edenpharma, Česká republika) – 92,47 % pri najvyššej koncentrácii extraktu 5,0 mg.ml⁻¹. Polovičná maximálna inhibičná koncentrácia (IC₅₀) tejto vzorky bola 1,32 ± 0,01 mg.ml⁻¹. Najnižšia IC₅₀ bola stanovená pri vzorke 1 (kmeň *Paecilomyces hepiali*, substrát *Oryza sativa* var. *japonica*) pri koncentrácii 1,20 ± 0,08 mg.ml⁻¹. Použitím preparatívnej metódy TLC a následne ¹H NMR spektroskopie sme boli schopní identifikovať nasledujúce zložky v našich vzorkách: polysacharidy, mastné kyseliny, aminokyseliny, glycerol, guanín, adenín. Iba vzorka č. 2 (kmeň *Cordyceps sinensis*, substrát *Oryza sativa* var. *indica*) a vzorka č. 3 (kmeň

Cordyceps sinensis, substrát *Oryza sativa* var. *japonica*) vykazovali antimikrobiálnu aktivitu na *Staphylococcus aureus* (SA) a *Escherichia coli* (EC).

Kľúčové slová: 1D a 2D NMR analýza; antioxidačný účinok; *Cordyceps*; kultivácia; výživové

ABSTRACT

Cordyceps fungi are entomopathogenic fungi as their growth is conditioned by parasitizing on insects or other arthropods. This genus includes over 750 different species with *Cordyceps* (C.) *sinensis* being the most prominent and most studied. In China, it has been recognized as a tonic and medicinal product for over 2000 years. Western medicine has also been interested in it or decades. The aim of the experimental part of this study was to determine the antioxidant activity of extracts of 3 *C. sinensis* samples and 1 sample of *Paecilomyces* (P.) *hepiali*, their qualitative analysis by TLC and ¹H NMR spectroscopy and determination of their antimicrobial activity. As for antioxidant activity, the highest value was determined for sample No. 4 (commercial product *Cordyceps sinensis* 6000, Edenpharma, Czech republic) – 92.47 % at the highest extract concentration of 5.0 mg.ml⁻¹. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of this sample was 1.32 ± 0.01 mg.ml⁻¹. The lowest IC₅₀ was determined for sample No. 1 (strain *Paecilomyces hepiali*, substrate *Oryza sativa* var. *japonica*) at 1.20 ± 0.08 mg.ml⁻¹. Using the preparative thin layer chromatography method (TLC) followed by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H NMR) we were able to identify the following compounds in the samples: polysaccharides, fatty acids, amino acids, glycerol, guanine, adenine. Only sample No. 2 (strain *Cordyceps sinensis*, substrate *Oryza sativa* var. *indica*) and sample No. 3 (strain *Cordyceps sinensis*, substrate *Oryza sati-*

va var. *japonica*) showed antimicrobial activity on *Staphylococcus aureus* (SA) and *Escherichia coli* (EC).

Key words: 1D a 2D NMR analysis; antioxidant activity; *Cordyceps*; cultivation; food supplements

ÚVOD

Rod *Cordyceps* (C.) z čeľade *cordycipitaceae* patrí medzi parazitické huby a zahŕňa viac ako 750 druhov (Sung a kol., 2011). Názov je odvodený z latinského *cord* (kyjak) a *ceps* (hlava) na základe vzhľadu a spôsobu rastu týchto húb. Vo svojom vývine využívajú larvy hmyzu, ktoré spórmi infikujú a postupným rastom usmrčia. Jednotlivé druhy sa navzájom líšia najmä lokalitou rastu a hostiteľským hmyzom, na ktorom parazitujú. Medzi cenené druhy tradičnej čínskej medicíny patria najmä *C. sinensis*, *C. militaris*, *C. pruinosa* a *C. ophioglossoides* (Ng a Wang, 2005). Jedným z najviac preskúmaných a najpoužívanejších je práve druh *Cordyceps sinensis*, v Číne známy ako tonikum a liečivá huba už vyše 2000 rokov. Je to zároveň jediný druh z rodu *Cordyceps*, ktorý je klasifikovaný ako liek v čínskom liekopise (Lin a Li, 2011). Celkovo bolo v *C. sinensis* detegovaných vyše 20 bioaktívnych látok (Lo a kol., 2013). Medzi dve najdôležitejšie aktívne látky patria cordycepín a D-manitol (kyselina cordycepová) (Li, a kol., 2016). Okrem toho bolo objavených aj niekoľko ďalších obsahových látok, a to najmä nukleozidy, cyklické peptidy, steroly, polyketidy, alkaloidy a polysacharidy (Olatunji a kol., 2018). Bolo dokázané, že je to účinné tonikum, antioxidant, vykazuje protinádorové, protizápalové a antimikrobiálne účinky. V tradičnej čínskej medicíne sa *C. sinensis* využíva na liečbu rakoviny, respiračných ochorení ako je nádcha, bronchitída a bronchiálna astma, ďalej na liečbu erektilnej dysfunkcie, cukrovky, žltacky, hepatitídy a mnohých iných ochorení (Panda a Swain, 2011). Na základe týchto zistení sa výrazne zvyšoval dopyt po tejto hube a to spôsobilo výrazný

nárast jej ceny. Dnes sa cena na medzinárodnom trhu pohybuje okolo 20 000 – 40 000 amerických dolárov za kilogram (Lo a kol., 2013; Negi a kol., 2014). Keďže prirodzene rastie iba na niekoľkých územiach na svete, zvýšený dopyt nedokáže byť pokrytý iba jej obvyčajným zberom. V súčasnosti sa preto *C. sinensis* a jej podobné kmene kultivujú a výsledné produkty sú dostupné vo forme výživových doplnkov. Cieľom tejto štúdie bola analýza výživového doplnku *C. sinensis* a kmeňov *C. sinensis* a *P. hepiali* kultivovaných na univerzite vo Zvolene.

MATERIÁL A METÓDY

Vzorky na analýzu:

Vzorka č. 1:

kmeň *Paecilomyces hepiali*, substrát *Oryza sativa* var. *japonica*

Vzorka č. 2:

kmeň *Cordyceps sinensis*, substrát *Oryza sativa* var. *indica*

Vzorka č. 3:

kmeň *Cordyceps sinensis*, substrát *Oryza sativa* var. *japonica*

Vzorka č. 4:

komerčný produkt *Cordyceps sinensis* 6000, Edenpharma, Česká republika

Vzorky č. 1 – 3 sa kultivovali na pôde Technickej univerzity vo Zvolene a vzorka č. 4 bola zakúpená v lekární. Vzorky boli extrahované s využitím metanolu (Sigma Aldrich, USA) ako extrakčného činidla viacnásobnou extrakciou – perkoláciou s celkovo 5 prepadmi rozpúšťadla. Extrakty boli použité na analýzu ich antioxidačnej aktivity, TLC, ¹H NMR spektroskopiu a antimikrobiálnu analýzu.

Pre stanovenie antioxidačnej aktivity boli použité 4 riedenia extraktov – 0,625 mg.ml⁻¹; 1,25 mg.ml⁻¹; 2,5 mg.ml⁻¹ a 0,5 mg.ml⁻¹. Antioxidačná aktivita bola stanovená metódou zhasania stabilného 2,2-difeny-1-pikrylhydrazylového (DPPH) radikálu ($\lambda_{\max}$ = 517 nm). Použitý bol 0,2 mmol.l⁻¹ metanolový roztok DPPH (Sigma Aldrich, USA). Ako referenčný

roztok bol použitý metanol (Sigma Aldrich, USA). Absorbancie vzoriek a roztoku DPPH boli merané spektrofotometrom Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis (USA), a z nich bola vypočítaná antioxidačná aktivita, resp. inhibícia aktivity DPPH radikálu [I (%)]. Z grafickej závislosti I od koncentrácie extraktu a z rovnice trendovej priamky boli stanovené hodnoty IC₅₀ všetkých vzoriek.

Pre kvalitatívnu analýzu vzoriek bola použitá preparatívna TLC a následná ¹H NMR spektroskopia. Na preparatívnu TLC boli použité sklenené platne s vrstvou silikagélu (silica gel 60G F₂₅₄, Merck Millipore, Nemecko) a mobilnou fázou bol chloroform (Mikrochem, Slovenská republika). ¹H NMR spektrálna analýza sa uskutočnila na spektrometri Varian VNMRs 600 MHz (Agilent Technologies, USA). Pri spracovaní ¹H NMR spektier bol použitý softvér MnovaMestReNova, verzia 11.0.4-18998, 2017 (Cobas a kol., 2017).

Antimikrobiálna aktivita bola testovaná platňovou agarovou difúznou metódou podľa Rojasa a kol. (2006). Testované baktérie – *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* boli získané z Českej zbierky mikroorganizmov, Brno, Česká republika. Baktérie boli kultivované v BHI bujóne (Brain Heart Infusion broth, Oxoid, Anglicko) pri 37 °C po dobu 20 hodín. Po kultivácii boli baktérie nariedené vo fosfátovom fyziologickom roztoku na koncentráciu 0,5 – 1,0 McFarlandovej zákalovej stupnice. 1 ml suspenzie bol inokulovaný do 100 ml vytemperovaného tekutého agaru (Standard plate count agar, Oxoid, Anglicko). 20 ml agaru bolo vyliatych do Petriho misiek s priemerom 9 cm. Do stuhnutého agaru boli vyrezané jamky s priemerom 0,5 cm a do nich bolo aplikovaných 50 µl vzorky. Ako pozitívna kontrola bol použitý vodný roztok 25 µg.ml⁻¹ gentamycín-sulfátu a ako negatívna kontrola DMSO (Merck Millipore, Slovenská republika). Platne boli inkubované pri 37 °C po dobu 24 hodín. Priemer inhibičnej zóny (IZD) vzoriek aj kontrol bol určený pomocou softvéru ImageJ. Následne bolo vypočítané percento priemernej relatívnej inhibičnej zóny (RIZD) vzoriek.

Tab. 1: IC₅₀ vzoriek

	Vzorka č. 1	Vzorka č. 2	Vzorka č. 3	Vzorka č. 4
IC ₅₀ [mg.ml ⁻¹]	1,2010	1,4504	1,3374	1,3205

Tab. 2: ¹H NMR spektrá identifikovaných chemických zlúčenín vzorky 1a

Chemické zlúčeniny	¹ H δ (multiplicita, počet protónov, označenie protónu)
Alanín	3,64 (q, 1H, CH); 1,45 (d, 3H, CH ₃)
Tyrozín	7,14 (d); 6,77(d), 3,33 (dd); 3,17 (dd); 3,03 (dd)
Izoleucín	3,52 (d, 1H, CH-NH ₂); 2,12 (ddd, 1H, CH ₂ -CH-CH ₃); 1,87 – 1,81 (m, 2H, CH ₂); 0,93 (d, 3H, CH-CH ₃); 0,89 (t, 3H, CH ₂ -CH ₃)
Valín	3,44 (d, 1H, CH-NH ₂); 2,16 – 2,10 (m, 1H, CH); 0,99 (d, 3H, CH ₃); 0,97 (d, 3H, CH ₃)
Fenylalanín	7,34 – 7,26 (m, 5H, CHAr); 4,01 (dd, 1H, CH); 3,02 (dd, 1H, CH ₂), 2,93 (dd, 1H, CH ₂)
Linolová kyselina	5,34 (m, 4H, H-9,10,12,13); 2,78 (t, 2H, H-11); 2,01 (m, 2H, H2); 2,00 – 1,94 (m, 4H, H-8,14); 1,61 (m, 2H, H-3); 1,39 – 1,27 (m, 14H, H-4,5,6,7,15,16,17); 0,99 (t, 3H, H-18)

d (dublet), dd (dublet dubletu), ddd (dublet dubletu dubletu), t (triplet), m (multiplet), q (kvartet)

VÝSLEDKY

Extrakcia vzoriek a antioxidačná aktivita extraktov

Najväčšiu výťažnosť pri metanolovej extrakcii sme získali pri vzorke č. 4, a to 5,38 %; a najnižšiu pri vzorke č. 2. – 3,69 %. Čo sa týka antioxidačnej aktivity, najvyššia hodnota IC₅₀ bola stanovená pri vzorke č. 2. a najnižšia pri vzorke č. 1 (viď tab. 1).

NMR analýza separovaných extraktov

Každá vzorka bola rozdelená na niekoľko frakcií – škvŕn. Jednotlivé škvŕny boli označené číslom vzorky a písmenom podľa poradia (napr. 1. škvŕna pri vzorke č. 1 = 1a). ¹H NMR spektroskopiou a porovnaním signálov v našich spektrách s NMR databázou chemických zlúčenín a preštudovanou literatúrou boli vo vzorkách identifikované nasledujúce zlúčeniny (viď tab. 2, 3 a obr. 1).

Vzorka č. 1:

- 1a:** polysacharidy, kyselina linolová, alanín, tyrozín, izoleucín, valín, fenylalanín
1b: kyselina laurová
1c: kyselina linolová, laurová, olejová, mono- a diacylglyceroly

Vzorka č. 2:

- 2a:** alanín, mastné kyseliny, polysacharidy, glycerol, adenín, guanín, 2-karboxymetyl-4-(3'-hydroxybutyl)-furán
2b: kyselina linolová

Vzorka č. 3:

- 3a:** glycerol, kyselina laurová, kyselina linolová
3b a 3c: kyselina laurová

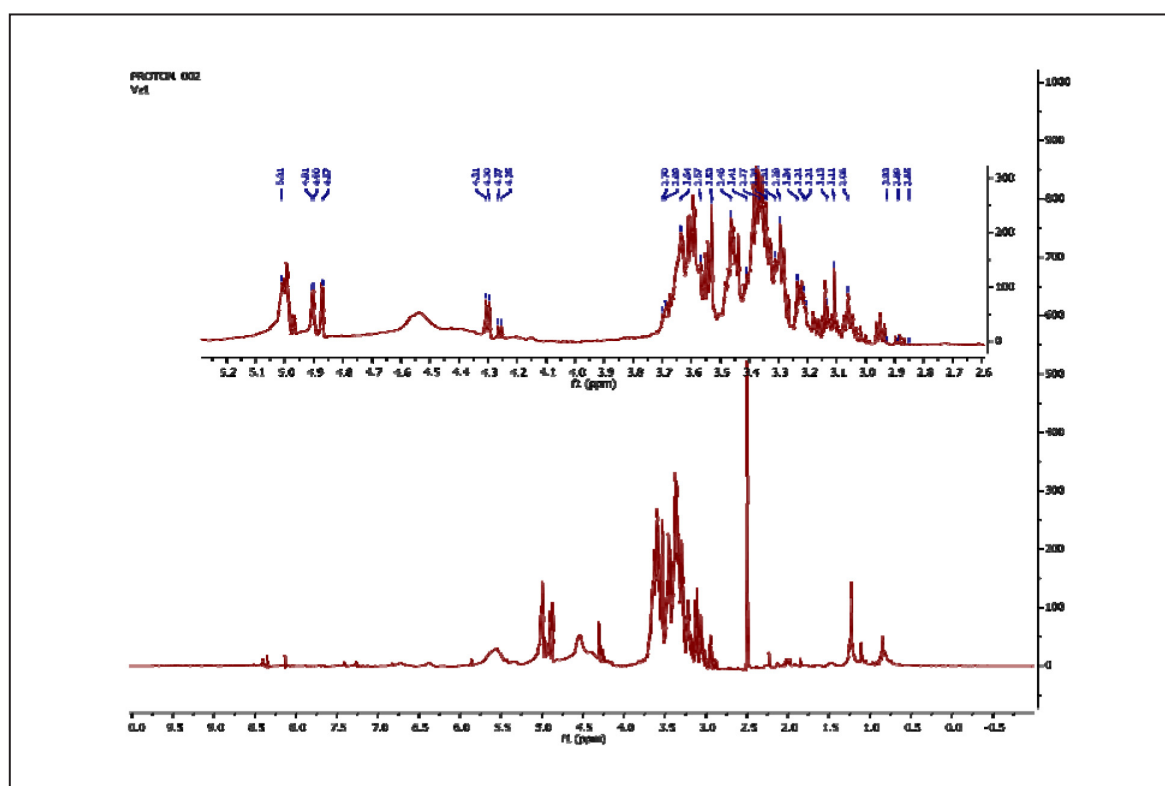
Vzorka 4a:

- 4a:** polysacharidy, mastné kyseliny, aminokyseliny

Tab. 3: ^1H NMR spektrá identifikovaných chemických zlúčenín vo vzorkách 1b, 1c, 2a, 3a, 3b, 3c

Chemické zlúčeniny	^1H δ (multiplicita, počet protónov, označenie protónu) H
Kyselina laurová	2,33 (t, 2H, H-2); 1,61 (m, 2H, H-3); 1,33 – 1,29 (m, 16H, H-4,5,6,7,8,9,10,11); 0,90 (t, 3H, H-1)
Kyselina linolová	5,34 (m, 4H, H-9,10,12,13); 2,78 (t, 2H, H-11); 2,01 (m, 2H, H-2); 2,00-1,94 (m, 4H, H-8,14); 1,61 (m, 2H, H-3); 1,39-1,27 (m, 14H, H-4,5,6,7,15,16,17); 0,99 (t, 3H, H-18)
Glycerol	3,65 (m, 1H, H-2); 3,60 (dd, 2H, H-1,3); 3,51 (dd, 2H, H-1,3)
Guanín	8,63 (s, 1H, H-8)

Obr. 1: ^1H NMR spektrum extraktu vzorky 4a merané v DMSO



Ako majoritná chemická zlúčenina je v tomto extrakte prítomný hydrofilný polyglukán označovaný ako CBHP (vid'. obr. 2). Dubletový signál pri 4,87 ppm v ^1H NMR spektre je typickým signálom anomérneho terminálneho vodíka α -D-glukózy. Signál pri 4,90 ppm patrí anomérnemu protónu α -D-glukózy pripojenej 1,4-glykozidickou väzbou. Dva

signály pri 4,30 ppm a 4,26 ppm patria anomérnym protónom v 1,2,4,6-zapojení α -D-glukózy a 1,2,3,6-zapojení α -D-glukózy. Chemická štruktúra CBHP bola identifikovaná pomocou 2D NMR spektroskopie aj v extrakte *C. sinensis* študovanom pracovnou skupinou Nieho (2011).

$$\begin{array}{ccccccc}
& & & & G & & G \\
& & & & \downarrow 1 & & \downarrow 1 \\
& & & & 2 & & 2 \\
& & & & \downarrow 6 & & \downarrow 6 \\
{}^4G_1 & {}^4G_1 & {}^4G_1 & {}^4G_1 & {}^4G_1 & {}^4G_1 & {}^4G_1 \\
& \uparrow 1 & & & \uparrow 1 & & \uparrow 1 \\
& G & & & G & & G
\end{array}$$

Vzorka	Aktivita na <i>S. aureus</i>	% RIZD	Aktivita na <i>E. coli</i>	% RIZD
1	–	–	–	–
2	áno	125,64	áno	95,65
3	áno	80,34	áno	86,09
4	–	–	–	–

Antimikrobiálnu aktivitu na *S. aureus* a *E. coli* vykazovala vzorka č. 2 a 3. RIZD sú uvedené v tabuľke 4.

Využitie huby *C. sinensis* ako liečivého prípravku a tonika je uznávané v Číne tisícky rokov. Mnoho štúdií už potvrdilo zdravotné benefity tejto huby, ale keďže zvýšený dopyt spôsobuje zníženie dostupnosti prírodnej formy v mnohých oblastiach, je potrebné zamerať pozornosť najmä na štúdium kultivovaných kmeňov. Na kvalitatívne aj kvantitatívne zloženie obsahových látok prírodnej *C. sinensis* má vplyv lokalita jej rastu, geografia, klíma a mikroenvironment (Hsu a kol., 2002). V tom spočíva aj výhoda kultivovaných kmeňov, ktoré si pri rovnakých podmienkach kultivácie zachovávajú rovnakú kvalitu.

porozieok *C. sinensis* a *P. hepiali* sme zvolili polárne rozpúšťadlo – metanol. Konkrétne išlo o kontinuálnu extrakciu – perkoláciu za pomoci soxhletovho extraktora s celkovo 5 prepadmi rozpúšťadla. Najlepšiu výťažnosť sme získali pri vzorke č. 4 (komerčný produkt *Cordyceps sinensis* 6000, Edenpharma, Česká republika), a to 5,38 %. O niečo menej sa nám podarilo extrahovať zo vzorky č. 1 (kmeň *P. hepiali*, substrát *Oryza sativa* var. *japonica*) – 5,24 % a najmenej zo vzorky č. 2 (kmeň *C. sinensis*, substrát *Oryza sativa* var. *indica*) – 3,69 %. Rozdiely vo výťažnosti mohli byť spôsobené rozdielnym kvantitatívnym aj kvalitatívnym zložením obsahových látok v jednotlivých vzorkách. Naše vzorky sa navzájom líšili v rámci kultivovaného kmeňa alebo kultivačného substrátu, čo malo takisto vplyv na výsledné zloženie produktu. Získané metanolové extrakty boli použité pre analýzu ich antioxidačnej a antimikrobiálnej aktivity a bolo skúmané ich kvalitatívne zloženie.

75

metóda zhášania stabilného DPPH radikálu so spektrofotometrickým stanovovaním absorbancie a následným výpočtom strednej inhibičnej koncentrácie extraktov (IC_{50}). Všetky vzorky vykazovali antioxidačnú aktivitu. Používali sme postupné riedenia vzoriek, pričom najkoncentrovanejšie vzorky vykazovali najvyššiu antioxidačnú aktivitu. Čo sa týka hodnoty IC_{50} extraktov, najnižšia bola zistená pri vzorke č. 1 – $1,20 \pm 0,08 \text{ mg.ml}^{-1}$. To znamená, že táto vzorka by mala obsahovať najviac látok s antioxidačnou aktivitou, keďže tie dokážu inaktivovať 50 % radikálu DPPH pri najnižšej koncentrácii extraktu v porovnaní s ostatnými vzorkami. Najvyššia hodnota IC_{50} , a teda najnižšia antioxidačná aktivita, bola pozorovaná pri vzorke č. 2 – $1,45 \pm 0,12 \text{ mg.ml}^{-1}$. Z dostupných štúdií je zrejmé, že za antioxidačnú aktivitu *in vitro* by mohli byť zodpovedné nenasýtené mastné kyseliny, najmä konjugovaná kyselina linolová (Fagali a Catalá, 2008) a kyselina olejová (Wei a kol., 2016), D-mannitol (André a Villain, 2017), z exopolysacharidov (EPS) najmä frakcia AEPS-1 (Yan a kol., 2009), izoflavóny (Yu a kol., 2016), vitamín E (Traber a Atkinson, 2007; Choda, 2017). Z polysacharidov sa s veľkou pravdepodobnosťou na antioxidačnej aktivite *in vitro* nepodieľa iba frakcia AEPS-1. Bolo pozorované, že frakcie *C. sinensis* obsahujúce vyššie množstvo celkových polysacharidov vykazovali väčšiu schopnosť zhášania voľných radikálov (Wang, 2005). Medzi ďalšie dokázané antioxidanty patrí peptid cordymin a nukleozidy, najmä adenosín a cordycepín. Z uvedených látok sa ^1H NMR spektroskopiou podarilo stanoviť kyselinu linolovú vo vzorke č. 1, a to voľnú aj viazanú vo forme di- alebo triacylglycerolu, a tiež vo vzorke č. 2 v neviazanej forme. Kyselina olejová bola stanovená vo vzorke č. 1. Vo vzorke č. 3 prevládala kyselina laurová a vo vzorke č. 4 neznáme nasýtené mastné kyseliny. Polysacharidy boli detegované vo všetkých vzorkách okrem vzorky č. 3. Je pravdepodobné, že cordycepín sa v našich vzorkách nachádzal iba v stopovom množstve alebo vôbec. Naš predpoklad potvrdzuje aj štúdia od Yanga a kol. (2009), ktorá

dokázala, že v kultivovanej *C. sinensis* bol prítomný iba minimálne, a tiež fakt, že ^1H NMR spektroskopiou sa ho detegovať nepodarilo.

Antimikrobiálnu aktivitu na *S. aureus* vykazovala vzorka č. 2 a 3. Výraznejšia bola pri vzorke č. 2, pri ktorej bola zistená priemerná relatívna inhibičná zóna (RIZD) 125,64 %. Pri vzorke č. 3 mala RIZD hodnotu 80,34 %. Antimikrobiálna aktivita na *E. coli* bola dokázaná pri rovnakých vzorkách. Aj v tomto prípade bola výraznejšia pri vzorke č. 2 s RIZD 95,65 % a menej výrazná pri vzorke č. 3 s RIZD 86,09 %. Vzorka č. 2 vykazovala vyššiu antimikrobiálnu aktivitu na *S. aureus* ako na *E. coli*. Pri vzorke č. 3 to bolo naopak. Antimikrobiálna aktivita *in vitro* bola pozorovaná pri cordycepíne a adenosínových derivátoch, ophiocordíne a proteíne CSAP (Zheng a kol., 2006).

ZÁVER

V našej štúdii boli skúmané kmene *C. sinensis* a *Paecilomyces hepiali* kultivované na univerzite vo Zvolene a výživový doplnok s obsahom *C. sinensis* dostupný v lekárňach. Z každej vzorky boli perkoláciou pripravené metanolové extrakty. Najvyššia výťažnosť bola získaná pri vzorke č. 4 (5,38 %) a najnižšia pri vzorke č. 2 (3,69 %). Pri každom extrakte bola metódou zhášania DPPH radikálu dokázaná antioxidačná aktivita. Najnižšia hodnota IC_{50} , a teda najvyššia antioxidačná aktivita, bola stanovená pri vzorke č. 1 ($1,20 \pm 0,08 \text{ mg.ml}^{-1}$) a najvyššia hodnota IC_{50} pri vzorke č. 2 ($1,45 \pm 0,12 \text{ mg.ml}^{-1}$). Pomocou ^1H NMR spektroskopie sa vo vzorkách podarilo identifikovať nasledujúce zlúčeniny:

Vzorka č. 1:

polysacharidy, kyselina linolová, alanín, tyrozín, izoleucín, valín, fenylalanín, kyselina laurová, kyselina olejová, mono- a diacylglyceroly

Vzorka č. 2:

alanín, kyselina linolová a neznáme mastné kyseliny, polysacharidy, glycerol, adenín, guanín,

2-karboxymetyl-4-(3'-hydroxybutyl)-furán

Vzorka č. 3:

glycerol, kyselina linolová, kyselina laurová

Vzorka č. 4:

polysacharidy (hydrofilný polyglukán), mastné kyseliny, aminokyseliny

Antimikrobiálna aktivita na *S. aureus* a *E. coli* bola dokázaná pri vzorke č. 2 a 3. Výraznejšia bola pri vzorke č. 2, pri ktorej bola v prípade SA vypočítaná priemerná relatívna inhibičná zóna (RIZD) 125,64 % a v prípade EC 95,65 %. Pri vzorke č. 3 boli hodnoty RIZD pri kmeni SA 80,34 % a pri EC 86,09 %.

ZOZNAM LITERATÚRY

André, P. a Villain, F.: Free radical scavenging properties of mannitol and its role as a constituent of hyaluronic acid fillers: a literature review. *International journal of cosmetic science*, 2017, 39 (4), 355 – 360.

Cobas, C., Domínguez, S., Larin, N., Iglesias, I., Geada, Ch., Seoane, F., Sordo, M., Monje, P., Fraga, S., Cobas, R., Peng, Ch., García, J. A., Goebel, M., Vaz, E., Mistry, R., Wainwright, M., Seymour, J., Sýkora, S.: *Mnova-MestReNova*, version 11.0.4-18998, 2017.

Fagali, N., a Catalá, A.: Antioxidant activity of conjugated linoleic acid isomers, linoleic acid and its methyl ester determined by photoemission and DPPH techniques. *Biophysical Chemistry*, 2008, 137 (1), 56 – 62.

Hsu, T.-H., Shiao, L.-H., Hsieh, C.-H., Chang, D.-M.: A comparison of the chemical composition and bioactive ingredients of the Chinese medicinal mushroom DongChongXiaCao, its counterfeit and mimic, and fermented mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Food chemistry*, 2002, 78 (4), 463 – 469.

Choda, U.: Medicinal value of *Cordyceps sinensis*. *Transl Biomed.*, 2017, 8 (4), 132.

Li, Z. P., Noriaki, S., Sun, S. Q.: TOF-SIMS Study of mannitol and cordycepin in *Cordyceps sinensis*. *Guang pu xue yu guang pu fen xi = Guang*

pu, 2016, 36 (4), 1230 – 1234.

Lin, B.-Q. a Li, S.-P.: Chapter 5 – Cordyceps as an herbal drug. In Benzie, I. F. F., Wachtel-Galor, S. (Eds.). *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. United States: CRC Press, 2011, 73 – 98.

Lo, H. C., Hsieh, C., Lin, F. Y., Hsu, T. H.: A systematic review of the mysterious caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* in DongChongXiaCao (Dōng Chóng Xià Cǎo) and related bioactive ingredients. *Journal of traditional and complementary medicine*, 2013, 3 (1), 16 – 32.

Negi, Ch. S., Pant, M., Joshi, P., Bohra, S.: Yar tsa Gunbu [*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) GH Sung et al.]: the issue of its sustainability. *Current Science*, 2014, 107 (5), 882 – 887.

Ng, T. B. a Wang, H. X.: Pharmacological actions of Cordyceps, a prized folk medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2005, 57 (12), 1509 – 1519.

Nie, S.-P., Cui, S. W., Phillips, A., Xie, M.-Y., Phillips, G. O., All-Assaf, S., Zhang, X.-L.: Elucidation of the structure of a bioactive hydrophilic polysaccharide from *Cordyceps sinensis* by methylation analysis and NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84 (3), 894 – 899.

Olatunji O. J., Tang, J., Tola, A., Auberon, F., Oluwaniyi, O., Ouyang, Z.: The genus *Cordyceps*: An extensive review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Fitoterapia*, 2018, 129, 293 – 316.

Panda, A. K. a Swain, K. Ch.: Traditional uses and medicinal potential of *Cordyceps sinensis* of Sikkim. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 2011, 2 (1), 9.

Rasband, W. S.: *ImageJ*, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997 – 2018. <https://imagej.nih.gov/ij/>. Accessed Oct. 12. 2019.

Rojas, J. J., Ochoa, V. J., Ocampo, S. A., Muñoz, J. F.: Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of nonnosocomial infections. *BMC complementary and*

alternative medicine, 2006, 6 (2).

Sung, G.-H., Shrestha, B., Han, S.-K., Sung, J.-M.: Cultural characteristics of Ophiocordyceps heteropoda collected from Korea. *Mycobiology*, 2011, 39 (1), 1 – 6.

Traber, M. G. a Atkinson, J.: Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*, 2007, 43 (1), 4 – 15.

Wang, B. J., Won, S. J., Yu, Z. R., Su, C. L.: Free radical scavenging and apoptotic effects of Cordyceps sinensis fractionated by supercritical carbon dioxide. *Food and Chemical Toxicology*, 2005, 43 (4), 543 – 552.

Wei, Ch.-Ch., Jen, P.-L., Chang, S.-T., Cheng, P.-L., Lo, Y.-Ch., Liao, V. H.-Ch.: Antioxidative activities of both oleic acid and Camellia tenuifolia seed oil are regulated by the transcription factor DAF-16/FOXO in Caenorhabditis elegans. *PloS one*, 2016, 11 (6), e0157195.

Yan, J. K., Li, L., Wang, Z. M., Leung, P. H., Wang, W. Q., Wu, J. Y.: Acidic degradation and enhanced antioxidant activities of exopolysaccharides from Cordyceps sinensis mycelial culture. *Food Chemistry*, 2009, 117 (4), 641 – 646.

Yang, F. Q., Ge, L., Yong, J. W., Tan, S. N., Li, S. P.: Determination of nucleosides and nucleobases in different species of Cordyceps by capillary electrophoresis–mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2009, 50 (3), 307 – 314.

Yu, J., Bi, X., Yu, B., Chen, D.: Isoflavones: anti-inflammatory benefit and possible caveats. *Nutrients*, 2016, 8 (6).

Zheng, H., Maoqing, Y., Liqiu, X., Wenjuan, T., Liang, L., Guolin, Z.: Purification and characterization of an antibacterial protein from the cultured mycelia of Cordyceps sinensis. *Wuhan University Journal of Natural Sciences*, 2006, 11 (3), 709 – 714.



NEŽIADUCE A VEDĽAJŠIE ÚČINKY PRI UŽÍVANÍ NIEKTORÝCH LIEČIVÝCH RASTLÍN S OBSAHOM HYPERICÍNU

ADVERSE AND SIDE EFFECTS OF MEDICAL PLANTS CONTAINING HYPERICINE

Bojko, Michal; Eftimová, Jarmila

Katedra farmakognózie a botaniky
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

jarmila.eftimova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Cieľom predloženej štúdie bolo poukázať na nežiaduce a vedľajšie účinky, ktoré sa môžu vyskytnúť pri liečbe rastlinami s obsahom hypericínu, prípadne ich kombináciou s farmakologicky účinnými liečivami. Modelovou rastlinou bol ľubovník bodkovaný (*Hypericum perforatum* L.), u ktorého klinický výskum a kazuistiky poukazujú na závažné nežiaduce a vedľajšie účinky typu fotosenzitivita, serotoninergný syndróm, mánia, akútna neuropatia a liekové interakcie. Analýzou na obsah hypericínu sme podrobili osem fytopreparátov (3 vzorky vo forme tabliet, 4 vzorky jednozložkových čajov a 2 vzorky drogy ľubovníka bodkovaného z voľného zberu v oblasti Čejkov a Levoča). Požiadavkám Ph. Eur. 8 (minimálne 0,08 % hypericínu v 1

g vzorky) vyhovovali vzorky: jednozložkový čaj ľubovníka bodkovaného – Leros® (0,11 %), tablety Deprim® (0,09 %) a droga ľubovníka bodkovaného z voľného zberu Čejkov (0,09 %). Pri týchto vzorkách môžeme predpokladať vyššiu prevalenciu výskytu a väčší rozsah nežiaducich účinkov v porovnaní s ostatnými vzorkami. Prieskum úrovne povedomia respondentov o nežiaducich účinkoch spojených s užívaním ľubovníka bodkovaného sme vykonali formou dotazníka na 40 respondentoch v lekárňach v Čiernej nad Tisou a Kráľovskom Chlmci. Viacerí opýtaní uvádzali, že sa u nich vyskytovali niektoré z opisovaných nežiaducich účinkov a liekových interakcií. Keďže trh s fytopreparátmi narastá, je potrebné sa tejto téme venovať a poskytovať pacientom informácie, aby sa predchádzalo riziku vzniku možných nežiaducich účinkov.

Kľúčové slová: hypericín; *Hypericum perforatum* L.; liekové interakcie; nežiaduci účinok

ABSTRACT

The aim of the presented study was to point out the undesirable and side effects that may occur during treatment with plants containing hypericin or their combination with pharmacologically active drugs. The model plant was St John's wort (*Hypericum perforatum* L.), where clinical research and case studies point to serious adverse and side effects such as photosensitivity, serotoninergic syndrome, mania, acute neuropathy and drug interactions. Eight phytopreparations were analyzed for hypericin content (3 samples in the form of tablets, 4 samples of one-component tea and 2 samples of St. John's wort harvested in Cejkov and Levoča). The following requirements were met by the European Pharmacopoeia 8 (at least 0.08 % of hypericin in 1 g of sample): one-component St John's wort tea – Leros® (0.11 %), Deprim® tablets (0.09 %) and St John's wort drug from free harvest of Cejkov (0.09 %). A survey of respondents' awareness of the adverse effects associated with St John's wort was conducted through a questionnaire on 40 respondents in pharmacies in Čierna nad Tisou and Kráľovský Chlmec. As the market for phytomedication is growing, this topic needs to be addressed and information provided to patients in order to avoid the risk of possible side effects.

Key words: adverse effects; drug interactions; hypericin; *Hypericum perforatum* L.

ÚVOD

Z 10 top liečivých rastlín, ktoré sa v Európskej únii používajú na prípravu extraktov pre fytofarmaká, patrí druhé miesto ľubovníku bodkovanému (*Hypericum perforatum* L.) z čeľade *Hypericaceae* a

rodu *Hypericum* (Tamer a Eftimová, 2014). Ľubovník bodkovaný obsahuje hypericín, ktorý je produkovaný žľazami umiestnenými v rôznych rastlinných orgánoch (Jindrová a Molavcová, 2008). Jednotlivé druhy rodu *Hypericum* sa navzájom odlišujú umiestnením žliazok v orgánoch, ktoré produkujú pigment hypericín. Predpokladá sa, že hypericín vzniká prostredníctvom polyketidovej cesty, v ktorej kľúčovú úlohu zohrávajú enzýmy, tzv. polyketid syntetázy typu III (PKS) (Karpinnen, 2010).

Droga *Hyperici herba* obsahuje naftodiantróny a floroglucinoly (hypericín, pseudohypericín, hyperforín), flavonoidy (kvercetin, rutín, hyperozid, biapigenín), triesloviny (katechínové, epikatechínové deriváty), fenolové kyseliny a xantóny. Vo forme štandardizovaných extraktov sa v súčasnosti používa na liečbu ľahkých až stredne ťažkých depresívnych stavov, najmä pri psychogénnych depresiách a pri neurodermatitídach. Účinok sa pripisuje hypericínu a hyperforínu (Košťalová a kol., 2012).

Napriek pozitívnym liečebným účinkom má ľubovník bodkovaný aj nežiaduce účinky, ktoré môžu mať až fatálne následky (Vollmer a Rosenson, 2004). Z výsledkov klinických štúdií zameraných na sledovanie nežiaducich účinkov a liekových interakcií hypericínu vyplynulo, že vo väčšine prípadov sa príznaky objavili pri používaní extraktov s vyšším obsahom hypericínu (0,3 – 0,8 mg) (Van Strater a kol., 2012; Soleymani a kol., 2017). Ľubovník bodkovaný (*Hypericum perforatum* L.) môže spôsobovať interakcie na farmakodynamickej i farmakokinetickej úrovni (Tamer a Eftimová, 2014).

Kombináciou *Hypericum perforatum* a liekov, ktoré sú substrátmi CYP3A4, CYP2E1, CYP2C19 a P-glykoproteínu vznikajú farmakokinetické interakcie, ktoré vedú k zníženiu plazmatických koncentrácií. Kombináciou *Hypericum perforatum* s inhibítormi spätného vychytávania serotonínu a agonistami serotonínových receptorov sa môže vyskytnúť serotonínový syndróm (Borrelli a Izzo, 2009).

Tab. 1: Zoznam skúmaných vzoriek

Vzorka č. 1	Deprim® tbl flm 30 x 60 mg	
Vzorka č. 2	LIFTEA® Ľubovník 30 tbl	
Vzorka č. 3	GS-Anxiolan® 30 tbl	
Vzorka č. 4	Fyto® Ľubovníkový čaj	
Vzorka č. 5	Juvamed® Ľubovník bodkovaný sypaný	
Vzorka č. 6	Leros® Ľubovník bodkovaný vňať	
Vzorka č. 7	Agrokarpaty® bio Ľubovníkový čaj	
Vzorka č. 8	a Ľubovník bodkovaný (oblasť Cejkov)	b Ľubovník bodkovaný (oblasť Levoča)

Interakcie s Ľubovníkom bodkovaným sú uvádzané pri liečivách viacerých farmakoterapeutických skupín: antiulceróza, antikoagulancia, liečivá kardiovaskulárneho systému, hypolipidemiká, kontraceptíva, glukokortikoidy, chemoterapeutiká, inhibítory HIV proteáz, antivirotiká, cytostatiká, antiflogistiká, analgetiká, antiepileptiká, psycholeptiká, antidepresíva, liečivá respiračného systému aj mnohé ďalšie (Tamer a Eftimová, 2014).

Predmetom tejto štúdie je poukázať na riziká spojené s užívaním Ľubovníka bodkovaného a prípravkov s obsahom hypericínu. V experimentálnej časti sme sa zamerali na stanovenie obsahu hypericínu vo vybraných fytopreparátoch a v samotnej rastline, s cieľom zistiť ich potenciál pre vznik nežiaducich a vedľajších účinkov. Prieskumom vo forme dotazníka sme u respondentov, ktorí užívajú Ľubovník bodkovaný, resp. prípravky obsahujúce Ľubovník bodkovaný, zisťovali informovanosť o jeho možných nežiaducich účinkoch.

MATERIÁL A METÓDY

Obsah hypericínu sme stanovovali a porovnávali v siedmych fytopreparátoch (tri vzorky vo forme tabliet, štyri vzorky – jednozložkové čaje) a v dvoch čerstvo nazbieraných a usušených rastlinách z oblasti Trebišova (lokalita Cejkov) a Levoče (vid' tab. 1). Po rozdrobení a zhomogenizovaní jednotlivých vzoriek v trecej miske sme si na analytických váhach

navážili jeden gram na stanovenie obsahu hypericínu.

Extrakcia hypericínu bola vykonaná pomocou Soxhletovho prístroja. Balastné látky boli z drogy odstránené chloroformom a následne bol hypericín extrahovaný acetónom. Acetónový extrakt bol zahustený vo vákuovej rotačnej odparke a suchý zbytok rozpustený v metanole. Absorbanciu metanolového roztoku vzorky sme merali oproti metanolu pri 590 nm a percentuálny obsah hypericínu v jednom grame vzorky sme vypočítali podľa vzorca:

$$\text{Obsah hypericínu (\%)} = A \times 125/m \times 870$$

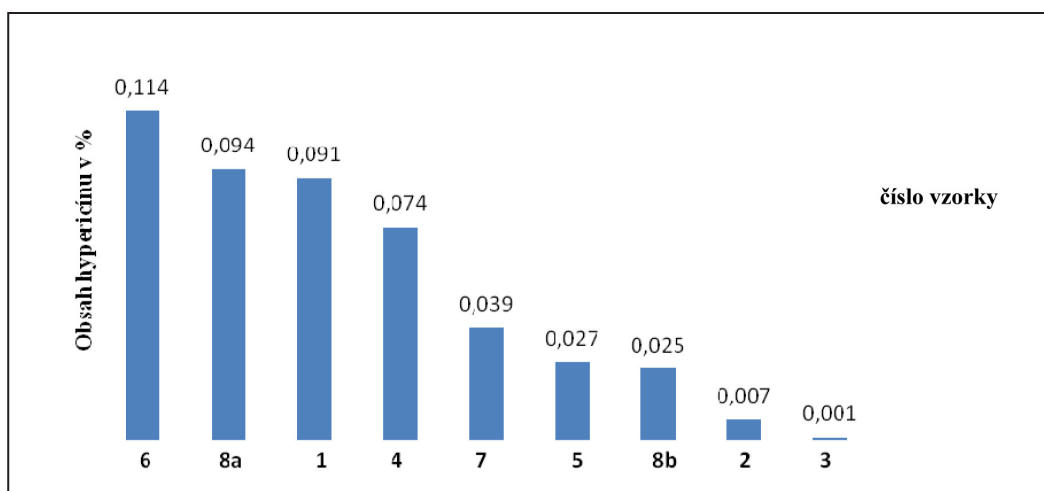
A = absorbancia meraná pri 590 nm

m = hmotnosť drogy v gramoch

Výsledky sme porovnávali s Ph. Eur. 8, podľa ktorého musí v jednom grame sušenej drogy byť minimálna hodnota hypericínu 0,08 % (Bučková a kol., 2000).

Dotazníkový prieskum sme realizovali v lekární v Čiernej nad Tisou a Kráľovskom Chlmci a zúčastnilo sa ho 40 respondentov. Otázky v dotazníku boli zamerané na osobné údaje (pohlavie, vek) informácie týkajúce sa Ľubovníka bodkovaného (kto im odporúčal jeho užívanie, v akej liekovej forme ho používajú, či sú im známe jeho nežiaduce účinky, aké iné lieky okrem prípravkov obsahujú-

Graf 1: Percentuálny obsah hypericínu vo vzorkách



cich ľubovník bodkovaný ešte užívajú a kto ich upozornil na možné nežiaduce účinky, resp. interakcie liečiv s ľubovníkom bodkovaným).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V nami analyzovaných vzorkách bol obsah hypericínu v rozmedzí od 0,01 do 0,114 % (viď graf 1). Požiadavkám Ph. Eur. 8 vyhovovali len tri vzorky: č. 6 – 0,114 %, č. 8a – 0,094 % a č. 1 – 0,091 %, pri ktorých môžeme predpokladať vyššiu prevalenciu výskytu a väčší rozsah nežiaducich účinkov v porovnaní s ostatnými vzorkami.

Množstvo a stabilitu hypericínu v sledovaných vzorkách mohlo ovplyvniť viacero faktorov. Prvým, veľmi dôležitým faktorom je obdobie zberu rastliny. Kvitnutie ľubovníka trvá od mája do augusta, pričom mnohí autori odporúčajú zber v mesiacoch júl a august, kedy sa zaznamenala najvyššia koncentrácia hypericínu v rastline (Couceiro a kol., 2006). V našich vzorkách vieme určiť obdobie zberu len pre vzorky č. 8a a 8b z voľnej prírody. V oblasti Cejkova sme ľubovník bodkovaný zbierali v mesiaci júl 2017 a v oblasti Levoče bol zbieraný v júni 2016.

Ďalším faktorom, ktorý mohol ovplyvniť obsah hypericínu vo vzorkách, bolo zloženie vzorky. Najvyššia koncentrácia hypericínu v ľubovníku

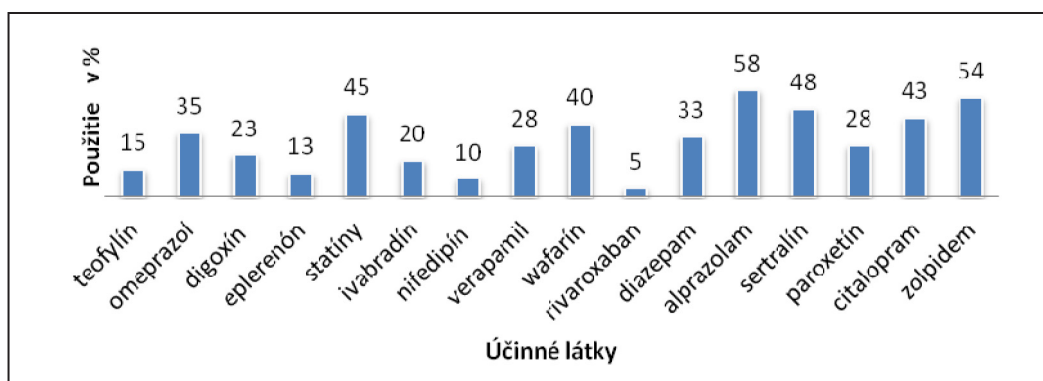
bodkovanom je v kvetných častiach rastliny a listoch, a naopak, najnižší v stonke a koreňovom systéme (Čirak a kol., 2006).

Analyzované vzorky rastlín boli rozdelené tak, aby sa v jednom grame nachádzali všetky časti vňate v rovnakom množstve. Aj keď sa v stonke nachádza oveľa nižšie množstvo hypericínu ako v kvetoch a listoch, rozhodli sme sa ju do vzorky zahrnúť, pretože po preskúmaní všetkých zakúpených bylenných čajov sa v nich stonka nachádzala.

Na produkciu a obsah hypericínu v rastlinách má výrazný vplyv aj región, v ktorom rastlina rastie. V štúdiu, ktorá skúmala obsah hypericínu v troch rozdielnych regiónoch sa preukázalo, že najlepšie podmienky na produkciu hypericínu sú v nadmorskej výške od 240 do 800 m n. m. a pri teplotách v rozmedzí 4 – 7 °C (nočná teplota) a 15 – 22 °C (denná teplota) (Walker a kol., 2011).

V nami analyzovaných vzorkách vieme tieto parametre určiť len pre rastliny získané z voľnej prírody. Obec Cejkov, z ktorej pochádzala vzorka 8a, leží v nadmorskej výške 150 m n. m. a teplota pri zbere bola 13 °C (nočná) a 27 °C (denná). Vzorka 8b bola zberaná v okolí mesta Levoča, ktoré leží v nadmorskej výške 570 m n. m. a priemerná teplota pri zbere rastliny bola 4 °C (nočná) a 19 °C (denná). Pri porovnaní týchto dvoch vzoriek s uvedenou štúdiou,

Graf 2: Percentuálne zastúpenie liečiv užívaných pacientmi



lepšie podmienky na produkciu hypericínu mala práve rastlina z oblasti Levoče, ktorá však podľa našich zistení obsahovala výrazne menej hypericínu v porovnaní s rastlinou z oblasti Cejkova. Jedným z dôvodov, prečo sa v prvej vzorke nachádzal vyšší obsah hypericínu, môže byť skorší nástup jari a vyšších teplôt v oblasti obce Cejkov, čím výrazne stúpa produkcia hypericínu v rastline. Taktiež je potrebné uviesť, že Levoča je horská oblasť s častým výskytom prízemných mrazov, čo môže mať negatívny vplyv na produkciu hypericínu.

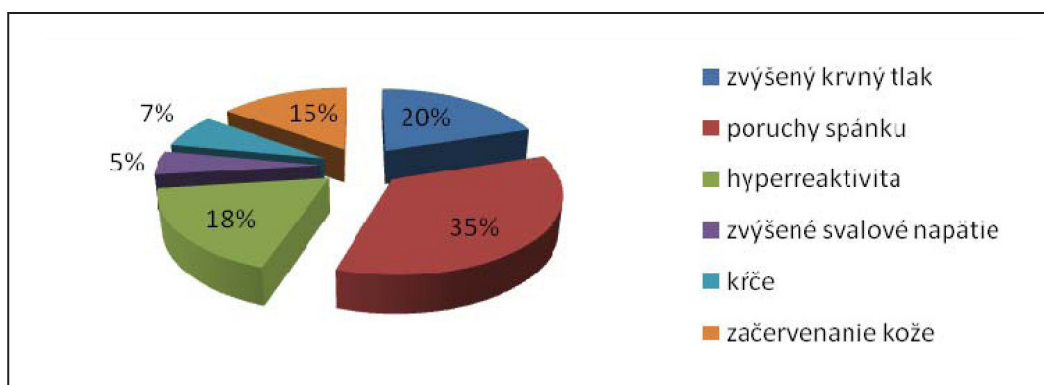
Koyu a kol. (2015) sledovali vplyv faktorov na obsah hypericínu vo vzorkách počas skladovania drogy v lekárni a zistili, že výrazný vplyv na stabilitu hypericínu má teplota, vlhkosť vzduchu, denné svetlo a doba uskladnenia fytopreparátu. Ak bola droga uskladnená 6 mesiacov pri teplote 25 °C a vlhkosti vzduchu 50 %, došlo k poklesu obsahu hypericínu o 41,4 %. Zvýšením teploty na 40 °C a relatívnej vzdušnej vlhkosti na 70 % došlo k poklesu hodnoty hypericínu až o 86 %. Z experimentu vyplynulo, že optimálna teplota na skladovanie je 20 °C, pri ktorých došlo k poklesu hypericínu len o 27,59 %. Autori ďalej zistili, že denné svetlo ovplyvňuje obsah hypericínu viac v transparentných želatínových kapsulách ako v čiernych.

Vzorky výživových doplnkov a bylenných čajov, ktoré sme analyzovali, boli okrem 2 vzoriek ľubovníka bodkovaného zberaného z voľnej prírody uskladnené v lekárni. Teplota a vlhkosť vzduchu v lekárni je pomerne stála (25 °C a 50 %), čo znamená, že tieto vzorky mali rovnaké podmienky skladovania a boli uchovávané vo vonkajších obaloch, čím sa zabránilo prístupu denného svetla. Vplyv na obsah hypericínu vo vzorkách mohla mať doba skladovania, ktorá v niektorých vzorkách presahovala aj dva roky, a región, z ktorého rastliny pochádzajú, keďže mnohí výrobcovia bylenných čajov vykupujú rastliny od rôznych zberateľov.

Vzhľadom na veľký dopyt pacientov po ľubovníku bodkovanom ako prírodnom antidepresíve, a tiež z dôvodu vysokej spotreby liečiv zo skupín sedatív, hypnotík, antidepresív sme sa rozhodli vykonať dotazníkový prieskum vo verejnej lekárni v Čiernej nad Tisou a Kráľovskom Chlmci. Respondenti (40 osôb) boli vo veku 18 – 55 rokov. Dotazník vyplnilo 13 % mužov a 87 % žien. Z nášho prieskumu vyplynulo, že respondenti užívajú hlavne liečivá zo skupiny anxiolytík a hypnotík (alprazolam 58 %, zolpidem 54 %) (viď graf 2).

Pacienti trpiaci insomniou alebo nejakou formou psychického napätia často užívajú liečivá ako alprazolam a zolpidem. Ľubovník bodkovaný, ako aj iné rastliny s obsahom hypericínu, sú

Graf 3: Výskyt nežiaducich účinkov po komedikácii s *H. perforatum* L.



induktormi CYP3A4, ktorý je hlavným enzýmom pre metabolizáciu spomínaných liečiv. Výsledkom tejto indukcie je zvýšená metabolizácia liečiva, ktorá súvisí so znížením plazmatickej koncentrácie liečiva (Soleymani a kol., 2017).

U pacientov súbežne užívajúcich induktory CYP3A4, ako sú napr. prípravky s obsahom ľubovníka bodkovaného, môže dôjsť k zníženiu účinku alprazolamu. Ak sa náhle ukončí užívanie ľubovníka bodkovaného, môžu sa vyskytnúť symptómy predávkovania alprazolamom.

Na metabolizácii zolpidemu sa podieľa niekoľko izoformiem cytochrómu P450 (CYP), hlavne CYP3A4 (61 %) ale tiež CYP2C19 (22 %), CYP1A2 (14 %) a CYP2D6 (2 – 5 %). Koncentrácie zopiklónu sa môžu znížiť, keď sa súbežne podávajú induktory CYP3A4 (ako sú rifampicín, karbamazepín, fenobarbital, fenytoín a vňat ľubovníka) (Tamer a Eftimová, 2014).

Z respondentov 43 % užívalo liečivo citalopram, 28 % paroxetín a 48 % sertalín. Pri spoločnom užívaní liečiv zo skupiny SSRI (citalopram, paroxetín, sertralín) a fytopreparátov s obsahom hypericínu dochádza k prejavu neuromuskulárnych príznakov serotonínerného syndrómu (Prokeš a Suchopár, 2014).

Zo skupiny liekov ako antikoagulanciá či antitrombiká až 40 % respondentov užívalo liečivo warfarín, ktorý spolu s ľubovníkom bodkovaným vyvoláva interakciu. Vplyv na indukciu hepatálnych

enzýmov môže pretrvávať až 2 týždne po ukončení podávania. Ak ho pacient užíva, je potrebné skontrolovať hodnotu INR, respektíve jeho podávanie ukončiť. *Hypericum perforatum* indukuje CYP a znižuje plazmatickú hladinu warfarínu. Dochádza k zníženiu antikoagulačnej aktivity, čo si vyžaduje zvýšiť dávky warfarínu (Tamer a Eftimová, 2014).

Zo skupiny kardiak používalo 23 % opýtaných respondentov liečivo digoxín (*digoxinum*).

V štúdií, kde skupina pacientov užívala digoxín 0,25 mg spolu so suchým extraktom *Hypericum perforatum* v dávke 300 mg, bola na 15. deň pozorovaná multidávková interakcia, ktorá výrazne ovplyvnila farmakokinetické parametre digoxínu (Johna a kol., 1999). Fytofarmaká obsahujúce ľubovník bodkovaný alebo extrakt z neho znižujú plazmatické hladiny a účinok digoxínu indukciou P-glykoproteínu (Tamer a Eftimová, 2014).

Zo zástupcov zo skupiny blokátorov kalciového kanála užívalo 28 % respondentov liečivo verapamil. Verapamil je metabolizovaný prostredníctvom CYP3A4. Ide o racemát pozostávajúci zo S a R verapamilu, ktorý metabolizáciou prechádza na S a R norverapamil. Kombináciou s extraktom ľubovníka bodkovaného sa koncentrácia S a R verapamilu výrazne znížila (Soleymani a kol., 2017).

V súvislosti s nežiaducimi účinkami vzniknutými kombináciou liečiv a *Hypericum perforatum*

respondenti najčastejšie uvádzali poruchu spánku (35 %), zvýšený krvný tlak (20 %), hyperreaktivitu (18 %), začervenania kože (15 %), kŕče (7 %) a zvýšené svalové napätia (5 %) (viď graf 3).

U respondentov, ktorí uviedli výskyt hyperreaktivity, zvýšeného svalového napätia a kŕčov, môžeme na základe týchto symptómov predpokladať náznaky vzniku serotonínerného syndrómu, pri spoločnom užívaní liečiv zo skupiny inhibítorov spätného vychytávania serotonínu (SSRI) (citalopram, paroxetín, sertralín) a fytopreparátu s obsahom hypericínu. Tieto symptómy patria medzi základné neuromuskulárne príznaky serotonínerného syndrómu (Prokeš a Suchopár, 2014).

ZÁVER

V štúdií sme sa zaoberali závažnými nežiaducimi a vedľajšími účinkami spôsobenými rastlinami s obsahom hypericínu. Modelovou rastlinou bol ľubovník bodkovaný ako najznámejší zástupca tejto skupiny rastlín. Stanovili a porovnávali sme obsah hypericínu v ôsmich fytopreparátoch, kde sme zisťovali, ktorá vzorka má najvyšší obsah hypericínu a z toho vyplývajúce zvýšené riziko vzniku nežiaducich účinkov. Až šesť z ôsmich testovaných fytopreparátov nevyhovovalo liekopisným požiadavkám. Zároveň sme poukázali na podmienky, pri ktorých je stabilita hypericínu výrazne ovplyvnená a naopak, pri ktorých je vhodné fytopreparáty s obsahom hypericínu skladovať. V dotazníkovom prieskume sme zisťovali informovanosť respondentov o nežiaducich účinkoch spojených s užívaním ľubovníka bodkovaného a prípadný výskyt liekových interakcií. Respondenti uvádzali niektoré z popisovaných nežiaducich účinkov a liekových interakcií, ktoré sú popísané v SPC. Keďže nežiaduce a vedľajšie účinky, prípadne liekové interakcie, sú vážnymi komplikáciami pri užívaní liečivých rastlín s obsahom hypericínu, je potrebné upozorňovať pacientov na možné riziká, či už zo strany lekára alebo lekárnik.

ZOZNAM LITERATÚRY

Bučková, A., Suchý, V., Tomko, J. a kol.: *Praktické cvičenia z farmakognózie: Chemická časť* [Practical Exercises in Pharmacognosy]. 3. vyd. Bratislava: Univerzita Komenského, 2000. 169 s.

Borrelli, F. a Izzo, A. A.: Herb-drug interactions with St John's wort (*Hypericum perforatum*): an update on clinical observations. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 2009, 11 (4), 710 – 727. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2782080/>>. Accessed July 16, 2017.

Couceiro, M. A., Afreen, F., Zobayed, S. M. A., Kozai, T.: Variation in concentrations of major bioactive compounds of St John's wort: Effects of harvesting time, temperature and germplasm. *Plant Science*, 2006, 170, 0168 – 9452.

Çirak, C., Sağlam, B., Ayan, A. K., Kevseroğlu, K.: Morphogenetic and diurnal variation of hypericin in some *Hypericum* species from Turkey during the course of ontogenesis. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2006, 34, 0305 – 1978.

Jindrová, J. a Malovcová, M.: *Liečivé rastliny – Ottov sprievodca prírodou*. [Medical plants – Otto's nature guide]. Praha: Ottovo nakladatelství, s.r.o., 2010. 496 s.

Johne, A., Brockmöller, J., Bauer, S., Maurer, A., Langheinrich, M., Roots, I.: Pharmacokinetic interaction of digoxin with an herbal extract from St John's Wort. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1999, 66 (4), 338 – 345.

Karppinen, K.: *Biosynthesis of hypericins and hyperforins in Hypericum perforatum L. (St. John's Wort) – precursors and genes involved*. Tampere: Juvenes print, 2010. 72 s. <<http://jultika.oulu.fi/files/isbn9789514263101.pdf>>. Accessed December 10, 2016.

Košťálová, D., Fialová, S., Račková, L.: *Fytoterapia v súčasnej medicíne*. [Phytotherapy in Current Medicine]. Martin: Osveta, 2012. 384 s.

Koyu, H. a Haznedaroglu, M. Z.: Investigation of impact of storage conditions on *Hypericum*

perforatum L. dried total extract. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2015, 23, 1021 – 9498.

Prokeš, M. a Suchopár, J.: Serotoninový syndróm: čo bychom o ňom mali vedieť. [Serotonine syndrome: what we should know about it]. *Medicina pro praxi*, 2014, 11 (5), 1803 – 5310.

Soleymani, S., Bahramsoltani, R., Rahimi, R., Abdollahi, M.: Clinical risks of St John's Wort (*Hypericum perforatum*) co-administration. *Expert opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2017, 13, 1744 – 7607.

Tamer, F. a Eftimová, J.: *Interakcie ľubovníka bodkovaného*. [St John's Wort Interactions]. Rec. Martin Višňanský, Marcel Jusko. 1. vyd. Košice: UVLF, 2014. 45 s.

Vollmer, J. J. a Rosenson, J.: Chemistry of St. John's Wort: hypericin and hyperforin. *Journal of Chemical Education*, 2004, 81 (10). < <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ed081p1450>>. ISSN:1938-1328. Accessed December 6, 2016.

Walker, L., Sirvent, T., Gibson, D., Vance, N.: Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum perforatum* plants in the northwestern United States. *Canadian Journal of Botany*, 2011, 79, (10), 1248 – 1255.



STANOVENIE ANTIOXIDAČNEJ AKTIVITY V ZELENOM JAČMENI A JEHO TERAPEUTICKÝ POTENCIÁL

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY IN BARLEY GRASS AND ITS THERAPEUTICAL POTENTIAL

Berkyová, Terézia¹; Petrovová, Eva²; Bačkorová, Miriam¹

¹Katedra farmakognózie a botaniky

²Katedra anatómie, histológie a fyziológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice

Slovenská republika

miriam.backorova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Štúdia sa zaoberá stanovením antioxidačnej aktivity vodných a etanolových extraktov zo zeleného jačmeňa *Hordeum vulgare* L. zakúpeného v lekárni a v bio obchode. Na stanovenie antioxidačnej aktivity bola použitá metóda FRAP a metóda DPPH radikálu. Použitím vodných a etanolových extraktov prostredníctvom oboch metód sa potvrdil antioxidačný účinok zeleného jačmeňa. Okrem antioxidačnej aktivity sa zisťoval aj antiangiogénny efekt fyziologických a etanolových extraktov *Hordeum vulgare* L. pomocou CAM modelu prepelice japonskej. Fyziologické aj etanolové extrakty *Hordeum vulgare* L. vykazovali antiangiogénny

efekt, ktorý bol dokázaný znížením priemerného prírastku vetvenia ciev po 72 hodinovej aplikácii. Získané výsledky štúdie ukazujú, že zelený jačmeň ovplyvňuje proces angiogenézy v prospech protinádorového účinku.

Kľúčové slová: antiangiogénny efekt; antioxidačná aktivita; CAM model; DPPH; FRAP; *Hordeum vulgare* L.

ABSTRACT

This study deals with determination of the antioxidant activity of the aqueous and ethanol extracts of the powdered barley grass *Hordeum vulgare* L. bought in a drug store and in a bio store.

To determine the antioxidant activity we used the FRAP method and the DPPH radical method. Using aqueous and ethanol extracts, both methods confirmed the antioxidant effect of the barley grass. Besides the determination of the antioxidant activity, using the Japanese quail CAM model we were detecting antiangiogenic effect of the physiological and ethanol extracts of the barely grass. Both physiological and ethanol extracts of *Hordeum vulgare* L. showed antiangiogenic effect, which was proved by the decrease of an average growth of the vascular branching 72 hours after their application. The results of the study showed that green barley had an impact on the process of angiogenesis in favor of the antitumor effect.

Key words: antiangiogenic effect; antioxidation activity; CAM model; DPPH; FRAP; *Hordeum vulgare* L.

ÚVOD

Listy zeleného jačmeňa, nazývané tiež jačmen-ná tráva, sú mladým štádiom jačmeňa siateho *Hordeum vulgare* L. Objavujú sa 1 až 2 týždne po zasa-dení a obsahujú najvyššie množstvo vitamínov a minerálov (Gleb, 2017). Zelený jačmeň obsahuje minerálne látky, vitamíny, aminokyseliny, ky-selinu gama-aminomaslovú (GABA), chlorofyl, antioxidačné enzýmy, fenolové kyseliny, katechíny, kumaríny a flavonoidy (Lahouar a kol., 2015). Dôležitými flavonoidmi v zelenom jačmeni sú saponarín (izovitexín-7-O-glukozid) a lutonarín (izoorientín-7-O-glukozid). Lutonarín má vyššiu antioxidačnú aktivitu ako saponarín, a tá sa počas rastu zeleného jačmeňa zväčšuje (Markham a Mitchell, 2003). Saponarín inhibuje rast gram negatívnych baktérií, medzi ktoré patria napríklad *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae* (Kubatka, 2018).

Zelený jačmeň vďaka svojim antioxidačným účinkom pôsobí preventívne na vznik ochorení

spôsobených voľnými radikálmi. Medzi takéto ochorenia patria ateroskleróza, dna, kardiovaskulár-ne ochorenia, *diabetes mellitus*, rôzne formy hepa-titídy, dermatitídy, reumatoidná artritída a nádoro-vé ochorenia (Jia a kol., 2010). Zelený jačmeň vykazuje antiproliferatívne a proapoptotické vlast-nosti na lymfómové bunky, bunky rakoviny prsníka a bunky rakoviny prostaty. Boli potvrdené *in vitro* štúdie, kedy zelený jačmeň indukoval apoptózu v prípade nádorových buniek MDA-MB-231 a DU-145 (Robles-Escajeda a kol., 2013; Woo a kol., 2017).

Listy zeleného jačmeňa sa využívajú aj v preven-cii a v terapii porúch gastrointestinálneho traktu, medzi ktoré patria ulcerózna kolitída a pankreatití-da. Listy zeleného jačmeňa našli uplatnenie aj ako doplnková terapia pri liečbe depresie (Jia a kol., 2010).

Cieľom štúdie bolo objasniť terapeutický potenciál zeleného jačmeňa (*Hordeum vulgare* L. ssp. *Vulgare*) prostredníctvom stanovenia antioxidačnej aktivity vodných a etanolových extraktov. Súčasne sa sledovala cievná reakcia po aplikácii rastlinného extraktu zo zeleného jačmeňa *Hordeum vulgare* L. na chorioalantoickú membránu vtáčieho embrya v rôznych koncentráciách.

MATERIÁL A METÓDY

Vzorky zeleného jačmeňa

V experimentoch bol použitý prášok zo zeleného jačmeňa zakúpený v biopotravinách (krajina pôvodu: Nový Zéland) a prášok zo zeleného jačmeňa zakúpený v lekární (krajina pôvodu: Taiwan).

Príprava extraktov pre stanovenie antioxidačnej aktivity

Na extrakciu sa použilo 10 g drogy z každej vzorky zeleného jačmeňa, do ktorej sa pridalo 200 ml extrakčného rozpúšťadla, ktorým bol v jednom prípade etanol a v druhom prípade voda. Zmes sa extrahovala 30 minút v ultrazvukovom kúpeli (Kraintek 18, Slovensko). Extrakcia sa znova opakovala a po prefiltrovaní boli extrakty vysušené

pri teplote 50 °C v rotačnej vákuovej odparke (Vakuumbox Hei, VAP Heidolph, Nemecko). Vodné a etanolové extrakty boli pripravené pridaním 10 ml rozpúšťadla k suchým extraktom a vznikol zásobný roztok. Obsahoval 1 g drogy v 1 ml. Pre stanovenie antioxidačnej aktivity sa zo zásobných roztokov riedením s etanolom pripravili 30 %, 40 %, 60 % a 70 % koncentrácie a riedením s vodou 40 %, 60 %, 80 % a 100 % koncentrácie.

Stanovenie antioxidačnej aktivity FRAP metódou

Metóda FRAP je založená na redoxnej reakcii, pri ktorej dochádza k redukcii takmer bezfarebného komplexu Fe³⁺ TPTZ na farebný železnatý komplex Fe²⁺ TPTZ pri nízkom pH = 3,6. Čerstvo pripravený pracovný roztok TPTZ pozostával zo zmesi TPTZ roztoku (koncentrácia 0,01 mol.l⁻¹ v kyseline chlorovodíkovej, s koncentráciou 0,04 mol.l⁻¹), z roztoku chloridu železitého s koncentráciou 0,02 mol.l⁻¹ a destilovanej H₂O v pomere 1:1:10. Vzorka s objemom 100 µl bola zmiešaná s 1,5 ml destilovanej H₂O a absorbancia zmesi sa odmerala pri vlnovej dĺžke 593 nm s označením ako A₀. Zmiešaním 100 µl vzorky s pracovným roztokom TPTZ s objemom 1,5 ml bola po 4 minútach zmeraná absorbancia a označená ako A_{4 min}. Tento postup sa zopakoval pri štandarde, ktorým bol roztok síranu železnatého s koncentráciou 100 µmol.l⁻¹. Antioxidačná aktivita bola vyjadrená pomocou vzťahu vo FRAP jednotkách, pričom 1 FRAP jednotka = 100 µmol.l⁻¹ Fe²⁺ TPTZ (Aktumsek a kol., 2011).

$$FRAP = \frac{A_{vzorka} (A_0 - A_{4min})}{A_{Standard} (A_0 - A_{4min})}$$

Stanovenie antioxidačnej aktivity DPPH metódou

Metóda DPPH je založená na princípe redukcie farebného DPPH radikálu (2,2- difenyl-1- pikrylhydrazyl) na takmer bezfarebnú molekulu. Zásobný roztok DPPH (0,1 mmol.l⁻¹) bol pripravený rozpustením 2 mg DPPH (Sigma Aldrich, USA) v kryštalickej forme v 100 ml metanolu. Kontrolný roztok DPPH (A₀) bol pripravený zmiešaním 20 µl rozpúšťadla a 1,0 ml pracovného roztoku DPPH.

Po 30 minútach státi v tme boli merané absorbancie (A) pri 515 nm oproti metanolu. Výsledky meraní podľa Chen a kol. (2013) boli vyjadrené ako percentuálny úbytok radikálu I (%), ktorý bol vypočítaný ako zníženie absorbancie extraktov (A) relatívne ku kontrole (A₀):

$$I (%) = (A_0 - A)/A_0 \times 100$$

Meranie absorbancií sa realizovalo v 3 opakovaníach pomocou spektrofotometra (UV-VIS – Beckman DU530, USA). Pomocou funkcie AVERAGE bola určená priemerná hodnota vzoriek a ich smerodajná odchýlka.

Stanovenie antiangiogénneho efektu

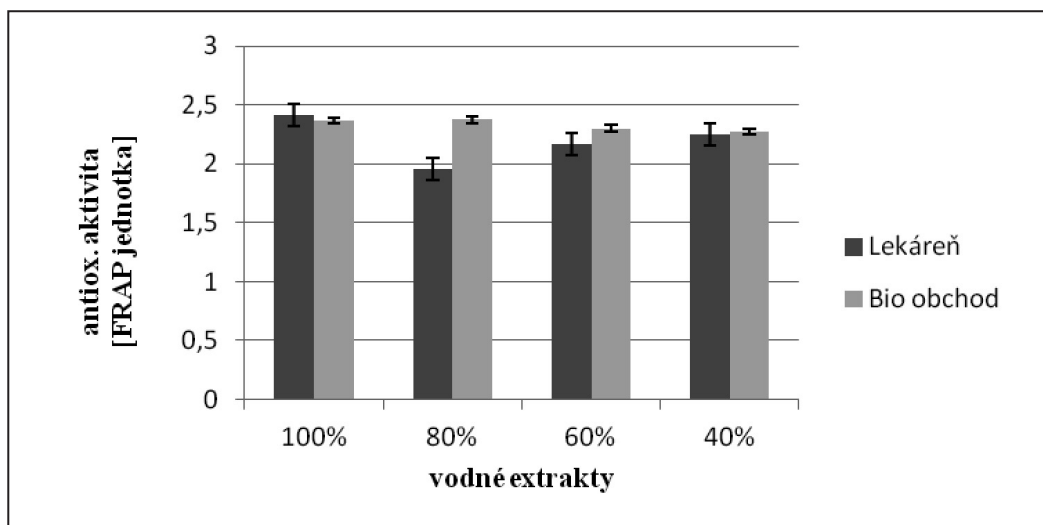
Oplodnené vajcia prepelice japonskej v počte 100 kusov pochádzali z jednej znášky, z Farmy Malá Ida. Inkubované boli v liahni pri teplote 37 °C a vlhkosti 50 – 60 %. Po 3 dňoch inkubácie sa začala *ex ovo* kultivácia. Vajcia prepelice japonskej boli prenesené na tepelnú podložku do PCR boxu (UVT-BETA-AR, DNA/RNA, Biosan, Lotyšsko). Po sterilizácii 70 % etanolom boli otvorené pomocou vysterilizovaných nožníc. Obsah prepeličích vajec bol umiestnený do sterilnej 6-jamkovej platničky a následne uložený v inkubátore. Na 7. deň inkubácie sa na chorioalantoickú membránu embrya prepelice japonskej aplikovalo do sterilného krúžku 30 µl extraktu (etanolové 1 %, 5 %, 10 % a 15 % koncentrácie a s fyziologickým roztokom 40 %, 60 %, 80 %, 100 % koncentrácie). Po 72 hodinách po aplikácii extraktov boli pozorované zmeny pomocou mikroskopu Olympus SZ 61 s digitálnou kamerou ARTCAM-300MI (Tokyo, Japonsko). Presné počítanie vetvenia ciev sa uskutočnilo pomocou programu Image J 1.48.

VÝSLEDKY

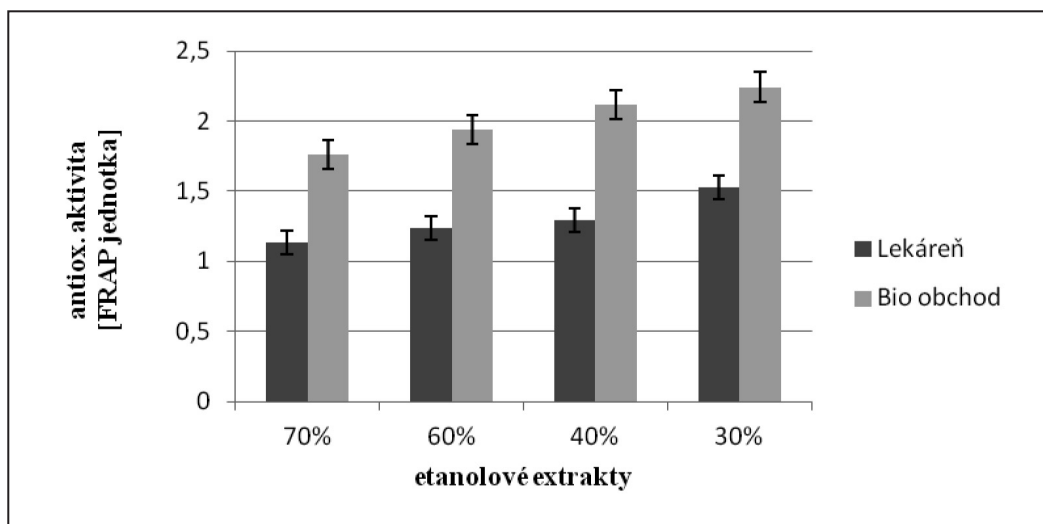
Stanovenie antioxidačnej aktivity FRAP metódou

V grafe 1 sú znázornené antioxidačné aktivity vodných extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v

Graf 1: Antioxidačná aktivita vodných extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode pomocou FRAP metódy



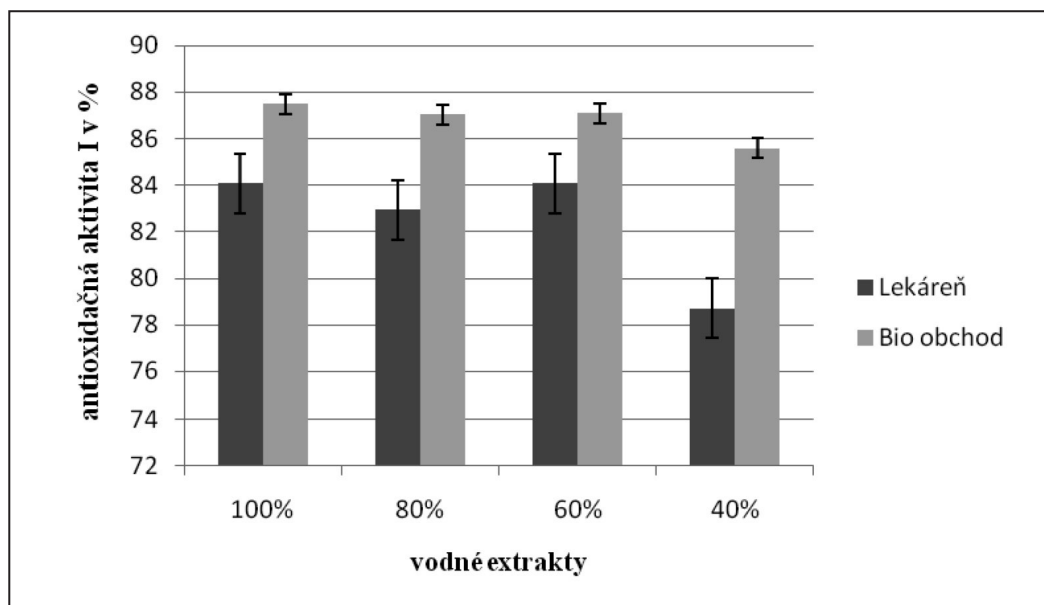
Graf 2: Antioxidačná aktivita etanolových extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode pomocou FRAP metódy



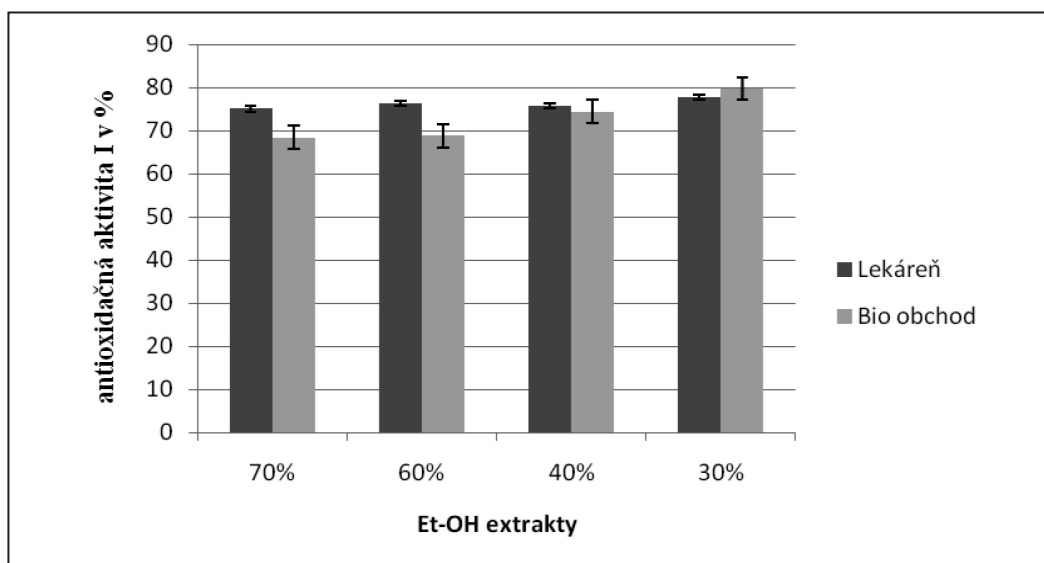
lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode. Antioxidačná aktivita vodných extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni bola porovnateľná, ale najvyššiu antioxidačnú aktivitu vykazoval 100 % vodný extrakt. Pri vodných extraktoch zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode bol pozorovaný trend klesajúcej antioxidačnej aktivity s narastajúcim riedením.

V grafe 2 sú znázornené antioxidačné aktivity etanolových extraktov vzoriek zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode. V tomto grafe bol pozorovaný trend narastajúcej antioxidačnej aktivity s klesajúcou koncentráciou etanolu. Najvyššiu antioxidačnú aktivitu vykazovali 30 % etanolové extrakty.

Graf 3: Antioxidačná aktivita vodných extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného bio obchode



Graf 4: Antioxidačná aktivita etanolových extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode (DPPH)



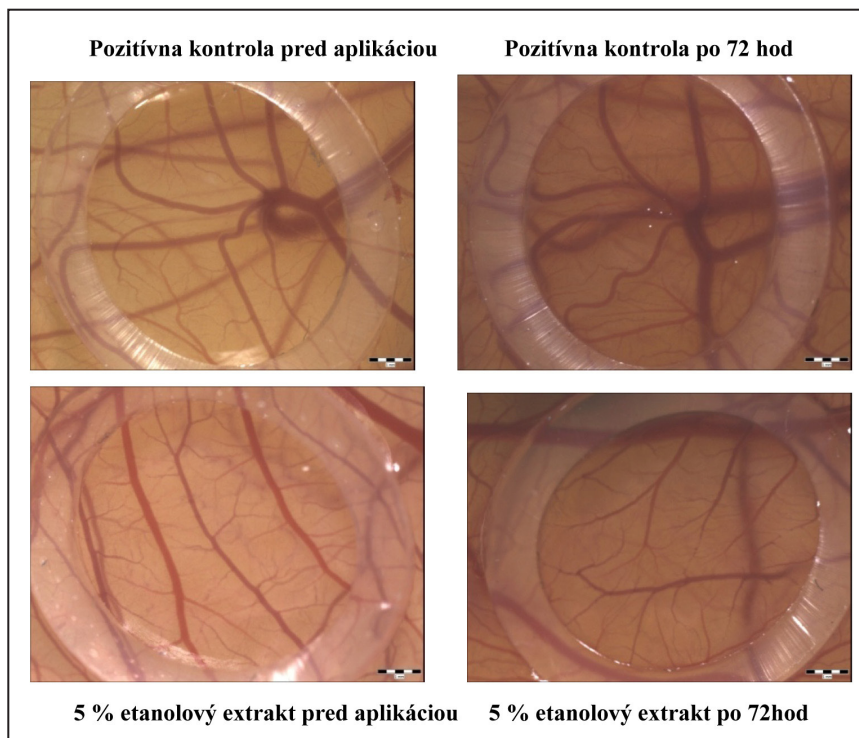
Stanovenie antioxidačnej aktivity DPPH metódou

V grafe 3 je znázornená antioxidačná aktivita vodných extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode nameraných DPPH metódou. Medzi antioxidačnými aktivitami vodných extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni boli zaznamenané takmer nepatrné rozdiely. Najvyššiu

antioxidačnú aktivitu vykazoval pri oboch vzorkách 100 % vodný extrakt.

Z grafu 4 možno zistiť, že antioxidačná aktivita etanolových extraktov zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode stúpala s klesajúcou koncentráciou etanolu. Najväčší rozdiel bol pozorovaný medzi 70 % a 30 % etanolovými extraktmi zeleného jačmeňa.

Obr. 1: Vyhodnotenie antiangiogénneho efektu 5 % etanolového extraktu *H. vulgare* zakúpeného v lekárni



Stanovenie antiangiogénneho efektu

Obrázok 1 znázorňuje prepeličie CAM po aplikácii 5 % etanolového extraktu zeleného jačmeňa zakúpeného v lekárni a pozitívnej kontroly (15 % etanolový extrakt). Z vizuálneho hľadiska možno zhodnotiť, že 5 % etanolový extrakt zeleného jačmeňa vykazoval antiangiogénny potenciál. Naopak, po aplikácii kontroly došlo k angiogenéze.

V grafe 5 sa nachádzajú priemerné prírastky ciev na CAM modeli pred a po aplikácii fyziologických extraktov *H. vulgare* zakúpeného v lekárni a fyziologických extraktov *H. vulgare* zakúpeného v bio obchode. Negatívna kontrola (čistý fyziologický roztok) spôsobila nárast prírastku vetvenia ciev, došlo k stimulácii angiogenézy. K nárastu prírastku vetvenia ciev došlo aj pri 40 % fyziologickom extrakte *H. vulgare* zakúpeného v lekárni, kde nárast nebol výrazný. Pri ostatných vzorkách došlo k zníženiu prírastku vetvenia ciev, teda k inhibícii angiogenézy. Najväčšie zníženie prírastku vetvenia

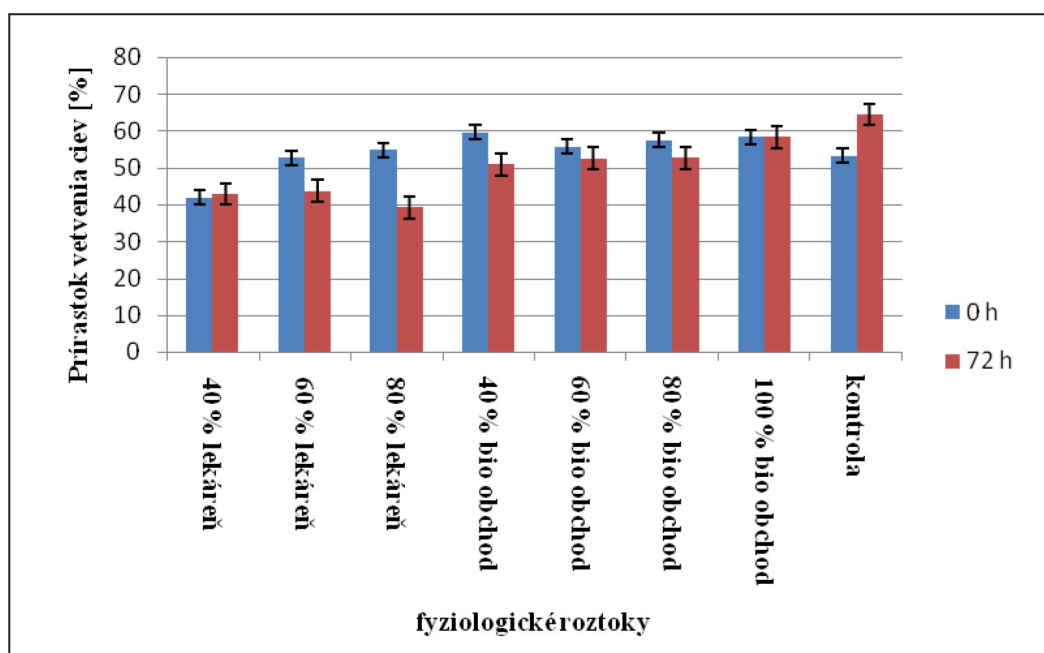
ciev sa preukázalo pri 80 % fyziologickom extrakte *H. vulgare* (lekáreň).

Etanolové extrakty zeleného jačmeňa vykazovali antiangiogénny efekt, ktorý sa znižoval s narastajúcou koncentráciou etanolu.

DISKUSIA

Vo všeobecnosti sú za antioxidantnú aktivitu zeleného jačmeňa zodpovedné hlavne flavonoidy saponarín a lutoarín (Zeng a kol., 2018). Obsah saponarínu v zelenom jačmeni oproti lutoarínu je niekoľkonásobne vyšší. Výsledky nameraných antioxidantných aktivít získaných FRAP metódou sa líšili od antioxidantných aktivít získaných metódou DPPH radikálu, pretože metódy odzrkadľujú rozdielne mechanizmy pôsobenia a využívajú rozdielne chemické reakcie. Na základe FRAP metódy bolo zistené, že najvyššou antioxidantnou aktivitou z vodných extraktov disponoval 100 %

Graf 5: Priemerný prírastok vetvenia ciev prepeličej CAM pred a po aplikácii fyziologických extraktov *H. vulgare*



vodný extrakt *H. vulgare* zakúpený v lekárni, a to 2,41 (vyjadrené v jednotkách FRAP). Z etanolových extraktov mal najvyššiu antioxidačnú aktivitu 30 % etanolový extrakt *H. vulgare* zakúpený v bio obchode – 2,24 (vyjadrené v jednotkách FRAP). Na základe poznatkov z literatúry možno konštatovať, že za antioxidačnú aktivitu boli zodpovedné najmä flavonoidy saponarín a lutanarín, antioxidačné enzýmy a fenolové kyseliny. Aj keď sú fenolové kyseliny zastúpené v zelenom jačmeni v menšej miere, vďaka svojej dobrej rozpustnosti vo vode mohli byť tiež zodpovedné za nameranú antioxidačnú aktivitu (Mota a kol., 2012).

Pomocou metódy DPPH bolo zistené, že najvyššiu antioxidačnú aktivitu z vodných extraktov mal 100 % vodný extrakt *H. vulgare* zakúpený v bio obchode (87,49 %). Z etanolových mal najvyššiu antioxidačnú aktivitu rovnako ako pri FRAP metóde 30 % etanolový extrakt *H. vulgare* zakúpený v bio obchode (79,78 %). Možno predpokladať, že za

vyššiu antioxidačnú aktivitu zeleného jačmeňa zakúpeného v bio obchode bol zodpovedný chlorofyl. V literatúre sa uvádza, že chlorofyl môže pôsobiť ako lapač voľných radikálov a znižovať množstvo DPPH radikálu (Lanfer-Vasquez a kol., 2014).

V súčasnosti sa množstvo štúdií venuje antiproliferatívne účinku zeleného jačmeňa. V procese proliferácie nádorových buniek zohráva najdôležitejšiu úlohu angiogenéza. V poslednom období sa skúma množstvo proangiogénnych a antiangiogénnych látok prírodného charakteru (Mirossay a kol., 2018). Vplyv extraktov zeleného jačmeňa na angiogenetickú aktivitu bol sledovaný na modeli chorioalantoickej membrány embrya prepelice japonskej. Model prepeličej CAM spolu s modelom kuracej CAM je vysoko vaskularizovaný; extraembryonálne membrány predstavujú experimentálne platformy pre štúdium angiogenézy (Lazarovici a kol., 2018). Sledovaním cievnej reakcie 72 hodín po aplikácii extraktov zeleného

jačmeňa na prepeličiu CAM bol zistený antiangiogénny efekt. K najväčšej inhibícii angiogenézy došlo pri 80 % extrakte *H. vulgare* zakúpeného v lekárni, ktorý bol riedený fyziologickým roztokom. Zo získaných poznatkov z literatúry vyplýva, že za antiangiogénny efekt boli zodpovedné najmä flavonoidy (saponarín, lutonarín) a fenolové kyseliny, ktoré majú okrem antiangiogénneho účinku schopnosť zabraňovať mutáciám zdravých buniek prostredníctvom vychytávania voľných radikálov (Lahour a kol., 2015). Negatívna kontrola v podobe čistého fyziologického roztoku vykazovala angiogénne účinky a došlo k nárastu ciev. Ako pozitívna kontrola bol použitý 15 % etanol, ktorý taktiež preukázal angiogénne účinky, ale nižšie ako fyziologický roztok. Z etanolových extraktov vykazoval najvyšší inhibičný účinok na angiogenézu 5 % etanolový extrakt *H. vulgare* zakúpený v lekárni. To, že 5 % etanolový extrakt *H. vulgare* zakúpený v lekárni disponoval vyšším antiangiogénnym potenciálom ako 1 % etanolový extrakt *H. vulgare* zakúpený v bio obchode, mohlo byť spôsobené rušivým vplyvom chlorofylu. Ten bol pozorovaný najmä pri vzorkách zakúpených v bio obchode. Rušivý vplyv chlorofylu mohol byť spôsobený zlým rozpúšťaním v polárnych rozpúšťadlách. Na stanovenie antiangiogénneho efektu boli použité vodné, fyziologické a etanolové extrakty s nízkou koncentráciou, teda nedošlo k úplnému rozpusteniu chlorofylu a zároveň došlo k možnému prekryvaniu účinku ďalších obsahových látok.

ZÁVER

Z výsledkov stanovenia antioxidantnej aktivity metódami FRAP a DPPH vyplýva, že zelený jačmeň disponuje antioxidantnou aktivitou a môže sa využívať na doplnkovú terapiu ochorení spôsobených voľnými radikálmi. Pri sledovaní cievnej reakcie po aplikácii extraktov *Hordeum vulgare* L. na chorioalantoickú membránu embrya prepelice japonskej bolo nielen vizuálne, ale aj pomocou programu dokázané, že extrakty *H. vulgare* inhibovali angiogenézu. Na

základe získaných výsledkov je možné konštatovať, že zelený jačmeň disponuje nielen antioxidantnou aktivitou, ale aj antiangiogénnym účinkom. Po preukázaní klinickými štúdiami by sa v budúcnosti mohol zelený jačmeň využívať ako doplnková terapia pri liečbe nádorových ochorení.

ZOZNAM LITERATÚRY

Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., Duran, A.: Screening for in vitro antioxidant properties and fatty acid profiles of five *Centaurea L.* species from Turkey flora. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49 (11), 2914 – 2920.

Gleb, B.: *Barley Grass and Greens*, 2017. <https://supplementsinreview.com/greens/barley-grass-greens/>. Updated January 19, 2017. Accessed June 20, 2019.

Chen, Z., Bertin, R., Foldi, G.: EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH• assay using several statistical programs. *Food Chemistry*, 2013, 138 (1), 414 – 420.

Jia, J., Li, Y. L., Shen, Y. H., Du, Y. Z.: Accumulation of lutonarin and saponarin in barley leaves during growth and differences in their contents among different varieties. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2010, 31 (13), 16 – 18.

Kubatka, P.: Biologické účinky *Chlorella pyrenoidosa* a mladého jačmeňa s možným využitím v prevencii civilizačných ochorení [Biological effects of *Chlorella pyrenoidosa* and young barley leaves with possible use in the prevention of civilization diseases]. *Praktické lekárnictvo*, 2018, 8 (1), 45 – 49.

Lahouar, L., El-Bok, S., Achour, L.: Therapeutic potential of young green barley leaves in prevention and treatment of chronic diseases: An overview. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2015, 43 (7), 1311 – 1329.

Lanfer-Vasquez, U. M., Barros, R. M. C., Sinnecker, P.: Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*, 2014, 38 (8 – 9), 885 – 891.

Lazarovici, P., Lahiani, A., Gincberg, G., Haham, D., Marcinkiewicz, C., Lelkes, P.: Nerve growth factor-induced angiogenesis: 2. The quail chorioallantoic membrane assay. *Methods in Molecular Biology*, 2018, 1727, 251 – 259.

Markham, K. R. a Mitchell, K. A.: The mis-identification of the major antioxidant flavonoids in young barley (*Hordeum vulgare*) leaves. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2003, 58 (1 – 2), 53 – 56.

Mirossay, L., Varinská, L., Mojžiš, J.: Antiangiogenic effects of flavonoids and chalcones: An update. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19 (1), 19 – 27.

Mota, F. L., Queimada, A. J., Pinho, S. P., Macedo, E. A.: Aqueous solubility of some natural phenolic compounds. *Industrial & Ingeneering Research*, 2012, 47 (15), 5182 – 5189.

Robles-Escajeda, E., Lerma, D., Nyakeriga, A. M., Ross, J. A., Kirken, R. A., Aguilera, R. J., Varela-Ramirez, A.: Searching in Mother Nature for anti-cancer activity: anti-proliferative and pro-apoptotic effect elicited by green barley on leukemia/lymphoma cells. *Plos One*, 2013, 8 (9), 330 – 359.

Woo, S. M., Kwon, S. Ch., Ko, S. G., Cho, S. G.: Barley grass extract causes apoptosis of cancer cells by increasing intracellular reactive oxygen species production. *Biomedical Reports*, 2017, 6 (6), 681 – 685.

Zeng, Y., Pu, X., Yang, J., Du, J., Yang, X., Li, X., Li, L., Zhou, Y., Yang, T.: Preventive and therapeutic role of functional ingredients of barley grass for chronic diseases in human being. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 11 (2), 15.

POKYNY PRE AUTOROV

ZAMERANIE ČASOPISU

Folia Pharmaceutica Cassoviensia je vedecký časopis založený v roku 2019 a vydávaný Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, SR. Časopis je vydávaný štvrťročne a uverejňuje pôvodné štúdie prinášajúce najnovšie poznatky z farmaceutickej a biomedicínskej oblasti, prehľadové články a kazuistiky z lekárenskej a z klinickej praxe. Okrem toho sa v časopise publikujú aj krátke oznámenia zamerané na rýchle uverejnenie poznatkov o aktuálnych vedeckých problémoch a objavoch vo farmácii a medicíne. Časopis neuverejňuje správy o vedeckých podujatiach a redakciou nevyžiadané recenzie.

Autori sú zodpovední za originalitu zaslaných príspevkov, správnosť ich obsahu a za to, že predkladaná práca alebo jej časti neboli publikované alebo zaslané na publikovanie inde.

Autori zasielajú príspevky elektronicky vo formáte textového procesora MS Word alebo vo formáte RTF. Ozarovanie príspevkov do časopisu rozhoduje redakčná rada na základe posudkov aspoň dvoch anonymných recenzentov. Príspevky schválené na publikovanie sa zasielajú autorovi spolu s recenznými posudkami na prípadné doplnenie alebo prepracovanie. Autor vráti redakcii upravený rukopis a pripojí písomné stanovisko k návrhom a pripomienkam recenzentov. Rozhodnutie redakčnej rady o prijatí alebo zamietnutí príspevku je konečné.

Za uverejnenie článku v časopise sa nevyžadujú žiadne poplatky.

VŠEOBECNÉ ZÁSADY

Príspevky sa uverejňujú v slovenskom, českom alebo anglickom jazyku. Ak je príspevok písaný v

inom ako anglickom jazyku, vyžaduje sa názov práce, abstrakt a kľúčové slová v angličtine.

Kompletný text rukopisu vrátane fotografií, obrázkov, tabuliek a grafov sa zasiela v elektronickej forme na nasledovnú adresu: **folia.pharma@uvlf.sk**. Ak rukopis nespĺňa pokyny pre autorov, redakčná rada si vyhradzuje právo vrátiť rukopis autorom pred jeho posúdením recenzentmi.

Pri písaní príspevku (včítane grafov, tabuliek a pod.) je potrebné zachovávať jednotný štýl a formát práce (Times New Roman, veľkosť písma 12 bodov, riadkovanie 1,5, okraje 2,5 cm, zarovnanie podľa okrajov).

Pri zasielaní rukopisu autori pripájajú prehlásenie, že ich článok je pôvodný, nebol publikovaný ani zaslaný na publikáciu inde.

Ak štúdia hodnotí farmaceutický produkt, lekárske alebo vedecké zariadenie/pomôcku, alebo iný komerčný výrobok, autori informujú vydavateľa dôverným listom o akomkoľvek finančnom zainteresovaní, ktoré existuje v rámci spoločnosti, ktorá takýto produkt vyrába, alebo prípadnej konkurenčnej spoločnosti.

Používanie jednotiek. V texte sa zásadne používa medzinárodný systém jednotiek (SI). Iné jednotky je nevyhnutné vysvetliť a definovať.

Skratky a symboly. Pri voľbe fyzikálnych alebo fyzikálno-chemických symbolov je záväzný IUPAC Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units (Pergamon Press, Oxford, 1993). Používajú sa len štandardné skratky. Odporúča sa vyhýbať sa skratkám v názve a v abstrakte. Skratky by sa mali používať len pri ich častom opakovaní. Pri prvom použití skratky v texte sa pripojí jej vysvetlenie v zátvorke, pokiaľ sa nejedná o štandardnú jednotku merania.

Názvoslovie a terminológia. V texte je potrebné používať štandardné slovenské názvoslovie v zmysle platných odporúčaní IUPAC. Detailné inštrukcie pre anglicky písaný text sa nachádzajú v publikáciách IUPAC *Brief Guide to the Nomenclature of Inorganic Chemistry IUPAC 2015, Pure App. Chem. 87, 1039-1049*, © IUPAC & De Gruyter 2015 and *Nomenclature of Organic Chemistry, IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2014. Je vhodné sa vyhnúť novým triviálnym názvom. Nové zlúčeniny musia byť pomenované systémovým názvoslovím podľa IUPAC.

Pri uvádzaní látok izolovaných z prírodných zdrojov sa latinsky uvedie názov zdroja (napr. rodový a druhový názov rastliny) a príslušná čeľaď. Liečivá sa uvádzajú INN názvom v slovenskej, českej resp. v anglickej mutácii a to podľa jazyka, v ktorom je rukopis napísaný. Ak je známy liekopisný názov, tak sa uprednostní, resp. prípustné sú obidva.

Príklady: paracetamol (nie acetaminofén), bisfosfonát (nie bifosfonát), adrenalin/liekopis (nie epinefrín/INN), hydroxykarbamin (nie hydroxyurea), kromoglykán (nie chromoglykán), cholestyramín (nie colestyramín, kolestyramín), lítium (lithium), manitol (nie mannitol).

Latinské termíny sa píše kurzívou.

Fotografie, obrázky, grafy. Aby sa vyhlo prípadným nepresnostiam či chybám, odporúčame pripojiť fotografie, obrázky a grafy ako osobitný súbor a v texte uviesť odkaz na príslušnú fotografiu, obrázok a graf. Fotografie majú mať minimálne rozlíšenie na úrovni 300 dpi a musia byť jasné a ostré. Vzhľadom na technické komplikácie, ku ktorým môže dôjsť pri konvertovaní farebných obrázkov pre potreby čierno-bielej tlače sa odporúča zaslať obrázky a ilustrácie vo verzii vhodnej pre takúto tlač. V časopise môžu mať obrázky a ilustrácie šírku len 8,5 cm a nachádzať sa na strane širokej 17,5 cm, preto by veľkosť písmen v legende mala zodpovedať týmto rozmerom. Obrázky, fotografie a grafy majú byť priebežne očíslované a má byť k nim pripojený príslušný text týkajúci sa obsahu a prípadne aj zdroja.

Číslo a text nemá byť súčasťou fotografie/obrázku/grafu. Číslo a názov obrázku, fotografie a grafu sa má umiestniť nad a príslušný text týkajúci sa obsahu a prípadne aj zdroja (legenda) sa má umiestniť pod nimi. Pri mikrofotografiách text obsahuje aj údaje o mierke a technike farbenia. Hlavné objekty, zmeny a zistenia sa v mikrofotografiách označujú šípkou alebo iným symbolom, ktorý je vysvetlený v legende.

Ak sa nejedná o vlastný obrázok/fotografiu, pre každý obrázok/fotografiu sa v legende uvádza zdroj.

Tabuľky majú byť priebežne číslované a majú obsahovať podstatné a dôležité údaje, ktoré sa nenachádzajú v texte. Číslo a príslušný opis (názov) sa uvádza nad tabuľkou. Tabuľky obsahujú vodorovné a zvislé čiary, ktoré podporujú prehľadnosť zverejnených údajov. Pod tabuľkou sa uvádza vysvetlenie symbolov/skratiek použitých v tabuľke vrátane štatistiky (legenda).

Etické aspekty. Pri popise experimentov vykonávaných na zvieratách sa uvádza, či boli schválené etickou komisiou a či boli dodržané príslušné aktuálne legislatívne opatrenia, ktoré sa vzťahujú na túto oblasť ako aj číslo povolenia Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR. Pri klinických štúdiách sa uvádza, či boli schválené príslušnou etickou komisiou.

Štatistika. Pri opise použitých štatistických metód sa uvádzajú informácie potrebné na to, aby si informovaný čitateľ mohol na základe pôvodných výsledkov overiť ich správnosť.

ŠTRUKTÚRA PRÍSPEVKOV

Každý príspevok má byť tematicky kompletný. Odporúčaný rozsah pre odborný článok (pôvodnú štúdiu) je 12 strán, pre prehľadový článok 15 strán a pre kazuistiku 7 strán.

Hlavný text príspevku sa začína názvom príspevku v slovenskom alebo v českom jazyku a následne názov v jazyku anglickom, ktorý má byť stručný a výstižný (veľké tučné písmená, veľkosť písma 14, zarovnanie na stred). Pod názvom sa uvádzajú mená autorov (priezvisko, iniciála/y), pod nimi pracovné zaradenie

autorov (inštitúcia) a štát a nakoniec e-mailová adresa prvého/korešpondujúceho autora (všetko zarovnané na stred).

Pri empiricky orientovaných štúdiách je potrebné dodržať usporiadanie rukopisu do nasledovných častí: **ABSTRAKT, ÚVOD, MATERIÁL A METÓDY, VÝSLEDKY, DISKUSIA, ZÁVERY, (POĎAKOVANIE), ZOZNAM LITERATÚRY.**

Každý nadpis sa uvádza na osobitnom riadku (veľké tučné písmo, veľkosť 12). Nad ním a pod ním sa vynechá voľný riadok. Každý odsek začína zarážkou.

ABSTRAKT

Vyžaduje sa abstrakt v angličtine (tučné písmo, veľkosť 12). Jeho dĺžka by nemala presiahnuť 250 slov. Abstrakt stručne prezentuje cieľ a relevantnosť štúdie, základné postupy, hlavné zistenia a vyvedené závery. Zdôrazňuje nové a dôležité aspekty štúdie a pozorovaní.

Key words: Kľúčové slová (3–10) sa uvádzajú v slovenskom resp. českom a v anglickom jazyku v abecednom poradí pod abstraktom, od ktorého sú oddelené jedným voľným riadkom. Oddelujú sa bodkočiarkou.

ÚVOD

Uvádza sa stručný prehľad problematiky. Namiesto podrobného literárneho prehľadu je vhodnejšie sústrediť sa na striktné relevantné zdroje bez zahrnutia podrobných údajov a záverov prezentovaných v týchto zdrojoch. Úvod sa má končiť cieľom, ktorý si autori vytýčili.

MATERIÁL A METÓDY

Prezentuje sa podrobný popis a charakteristika objektov pozorovania/experimentov, vrátane kontrol. Identifikujú sa použité metódy, prístroje (meno a adresa výrobcu v zátvorke) a postupy s dostatočnými podrobnosťami na to, aby ich bolo možné reprodukovať. Citujú sa zavedené metódy a ich zdroje a stručne sa opisujú metódy, ktoré boli publikované,

ale nie sú veľmi známe. Poskytuje sa kompletný opis nových alebo podstatne modifikovaných metód, dôvody ich použitia a ich prípadné obmedzenia. Presne sa identifikujú všetky použité liečivá a chemikálie vrátane ich generického názvu, dávky a spôsobu podávania.

Poskytujú sa kompletné informácie o štatistických metódach a opatreniach použitých vo výskume.

VÝSLEDKY

Pri uvádzaní výsledkov sa používa medzinárodný systém jednotiek (SI).

Prezentácia výsledkov má byť výstižná, s logickou nadväznosťou a využívaním tabuliek a názorných grafov. V tabuľkách a grafoch je potrebné sa vyhnúť duplicite prezentovaných výsledkov. V texte sa zdôrazňujú a sumarizujú len dôležité pozorovania. Tam, kde je to vhodné/potrebné, tabuľky majú obsahovať výsledky štatistickej analýzy (hladiny významnosti).

DISKUSIA

Zdôrazňujú sa nové a dôležité aspekty štúdie, ktoré vedú ku konečným záverom. Je potrebné sa vyhnúť podrobnému opakovaniu údajov už spomenutých v častiach Úvod a Výsledky. Diskusia má obsahovať zhrnutie prezentovaných zistení, relevantné obmedzenia a význam týchto zistení pre ďalší výskum. Výsledky štúdie sú porovnávané s publikovanými výsledkami iných autorov.

ZÁVERY

Dávajú sa do súvislosti závery s cieľom štúdie. Je potrebné sa vyhnúť nekvalifikovaným vyhláseniam a záverom, ktoré nie sú plne podporované získanými údajmi. Tam, kde je to vhodné, môžu sa uvádzať odporúčania.

POĎAKOVANIE

(Kurzívou) Ak je to potrebné, uvádza sa poďakovanie (grant, špeciálne analýzy, technická podpora...).

ZOZNAM LITERATÚRY

Všetky zdroje uvedené v zozname musia byť citované v texte.

Používané zdroje sa v zozname uvádzajú v abecednom poradí (podľa priezviska prvého autora), a každý z nich sa začína písať na nový riadok s odsadením. Zdroje musia obsahovať priezviská a iniciály všetkých autorov. Neodporúča sa použiť nadmerný počet citácií na podporu jedného vyhlásenia.

Od autorov sa vyžaduje použitie iba overiteľných a recenzovaných zdrojov z celosvetovo akceptovaných vedeckých databáz.

V texte sa cituje/ú autor/i priezviskom a rok publikovania. V slovenskom a českom jazyku sa používajú spojky „a“ a „a kol.“, ak je rukopis v anglickom jazyku spojky „and“ a „et al.“. Viacnásobné citácie sa uvádzajú v chronologickom poradí.

Pri písaní zdrojov štýl a interpunkcia má zodpovedať príkladom uvedeným nižšie:

Časopis (vedecký/odborný): Priezvisko/á a iniciála/y autora /ov. Celý názov článku, názov časopisu (kurzívou), rok publikácie, ročník a príslušné strany. Číslo časopisu sa uvedie (v zátvorke) len vtedy, keď sa v časopise neuvádza ročník. Možno uviesť skrátený názov časopisu, ak sa takýto nachádza v štandardnom ISO zozname skrátených názvov časopisov. ISSN číslo sa nevyžaduje:

Bagirova, V. L., Miřkina, L. I.: Determination of Tartrazine in drugs. *Pharm. Chem. J.*, 2003, 37, 558 – 559.

Kniha (editovaná, needitovaná):

Mená a iniciály autorov citovanej časti knihy, autori/editori knihy, názov knihy (kurzívou), miesto vydania, vydavateľ, rok vydania, celkový počet strán alebo citované strany (ISBN sa nevyžaduje):

Choi, C. K., Dong, M. W.: Chapter 5 – Sample preparation for HPLC analysis of drug products. In Ahuja, S., Dong, M. W. (Eds.). *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. United Kingdom: Elsevier, 2005. 123 – 144.

Podczek, F., Jones, B. E.: *Pharmaceutical Capsules*, 2nd edn., Pharmaceutical Press, 2004. 66 –

67.

Zborník z konferencie: Mená a iniciály autorov. Celý názov článku. Názov zborníka/konferencie, miesto a dátum konania, rok publikácie, celkový počet strán alebo citované strany:

Canganella, F., Balsamo, R.: Isolation and selection of probiotic microorganisms with antagonistic activity against *Paenibacillus larvae* and *Paenibacillus alvei*. In *Proceedings of the International Probiotic Conference: Probiotics for the 3rd Millennium*, High Tatras, Slovakia, June 4 – 7, 2008, 28 – 29.

Online časopis:

Simon, J. A., Hudes, E. S.: Relationship of ascorbic acid to blood lead levels. *JAMA* 1999, 281, 2289 – 2293. <http://url>. Accessed July 11, 2009.

Online website:

King, M. W.: *The Medical Biochemistry Page*. <http://themedicalbiochemistrypage.org>. Updated July 14, 2009. Accessed July 14, 2009.

PREHLADOVÉ ČLÁNKY

Publikujú sa aj články, ktoré prezentujú súhrnné informácie o významných aspektoch vo farmácii a medicíne s relevantnou historickou perspektívou. Odporúčaná štruktúra prehľadových článkov je nasledovná:

NÁZOV/AUTORI – názov (aj v angličtine) má byť stručný a informatívny.

ABSTRAKT (v angličtine) – uvádza ciele a výsledky prehľadu s kľúčovými slovami (3-10).

ÚVOD – poskytuje informácie o kontexte, indikuje motiváciu autora/autorov prehľadu, definuje príslušné zameranie a otázky pre výskum a vysvetľuje štruktúru textu.

MATERIÁL A METÓDY – opisuje/sumarizuje metódy použité pre lokalizáciu, získavanie, selekciu a syntetizovanie údajov.

Hlavná časť prehľadového článku – pre prehľadnosť sa používajú relevantné podnadpisy.

ZÁVER – Zodpovedanie otázok pre výskum, položených v úvode.

ZOZNAM LITERATÚRY – Potvrďuje práce iných vedcov – zabraňuje obvineniam z plagiátorstva. Neodporúča sa použiť viac ako 100 literárnych zdrojov.

KAZUISTIKY

Publikujú sa aj články, ktoré prezentujú správy o výnimočnom prípade určitého liečiva, resp. substancie či zmesi a jej neobvyklého účinku alebo opis zaujímavého klinického prípadu, choroby a pod. Odporúčaná štruktúra kazuistík je nasledovná:

NÁZOV/AUTORI – názov (aj v angličtine) má byť stručný a informatívny.

ABSTRAKT (v angličtine) – skrátená verzia celého textu s kľúčovými slovami (3-10)

ÚVOD – vysvetľuje dôvody, pre ktoré bol daný prípad opísaný

OPIS PRÍPADU/PRÍPADOV – hlavná časť kazuistiky - uvádza sa priebeh, liečba, prognóza a ukončenie prípadu

DISKUSIA – zdôrazňujú sa zaujímavé aspekty prípadu

ZÁVER – opisujú sa súvislosti medzi hlavnými zisteniami/pozorovaniami a cieľom práce

ZOZNAM LITERATÚRY

RECENZIA

Publikujú sa aj kritické rozborové odborného diela (napr. knihy, článku), ktoré obsahujú odôvodnené hodnotenie. Odporúčaná štruktúra recenzie je nasledovná:

ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE – uvádza sa názov knihy (článku, časopisu), mená autorov (priezvisko, iniciály), miesto vydania a názov vydavateľstva, rok vydania, počet strán, odporúčaná cena, ISBN

OBSAH KNIHY (ČLÁNKU, ČASOPISU) – opisujú sa dôležité informácie, napr. čím kniha (článok, časopis) recenzenta zaujala/sklamala.

VÝZNAM KNIHY (ČLÁNKU, ČASOPISU) – uvádza sa jej využitie pre odbornú verejnosť.

Redakčná rada