

FOLIA

PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

Vedecký časopis
UNIVERZITY VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA
A FARMÁCIE V KOŠICIACH

ISSN 2585-9609

ISSN 2729-790X



4

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 štvrťročne 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), Şekeroğlu, 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

EVČ: 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-vytacky>.

December 2020

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

VYDÁVA
UNIVERZITA VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA A FARMÁCIE V KOŠICIACH
SLOVAKIA



FOLIA
PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA
II., 4, 2020

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



EDITORIÁL

Milé čitateľky a čitatelia,

šírenie koronavírusu, ktorý má na svedomí ochorenie COVID-19, spôsobuje nemalé problémy každému z nás. Avšak už starogrécky filozof Sokrates povedal, že „Život bez skúšok nestojí za žitie“. Koronakríza je pre nás všetkých veľkou skúškou, je však dôležité zachovať si pracovné návyky aj počas tohto ťažkého obdobia.

Sme radi, že časopis v októbri získal online ISSN 2729-790X. Vďaka nemu sa zaradí do medzinárodnej databázy ISSN a stane sa tiež súčasťou celosvetovej databázy ISSN spravovanej medzinárodným centrom ISSN v Paríži. Odteraz má *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* **ISSN 2729-790X (online)** a **ISSN 2585-9609 (pre tlačené vydanie)**.

V aktuálnom čísle sa dočítate o najčastejšie zneužívaných liečivách v Slovenskej republike, o epigenetických liekoch pre liečbu nádorových ochorení a o preskripcii antitrombotík v terapii venózných ochorení. Liečivám a ich účinkom sa venujú články: Hodnotenie toxického účinku metronidazolu, flukonazolu a vorikonazolu na vybrané bunkové kultúry *in vitro*; Liekové interakcie analgetík v lekárenskej praxi a Antioxidačné vlastnosti extraktu bobúľ *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. a jeho farmaceutické využitie. V poslednej časti časopisu sa dozviete o Hodgkinovom lymfóme z pohľadu súčasnej liečby, o mace v zdraví muža a ženy a o interakciách liečiv s vybranými citrusovými plodmi. Radi by sme v blízkej budúcnosti zvýšili počet príspevkov v anglickom jazyku, čím by sa rozšíril okruh čitateľov aj prispievateľov. V tomto čísle uvádzame článok v angličtine, ktorý sleduje terapeutický účinok alopurinolu na hladinu kyseliny močovej u pacientov s *arthritis uratica*.

Prajem Vám príjemné čítanie,

prof. MVDr. Zita Faixová, PhD.
výkonná redaktorka



EDITORIAL

Dear readers,

spreading of coronavirus as a source of COVID-19 disease causes considerable problems to everyone of us. But even Socrates, an ancient greek philosopher, had already said that „The unexamined life is not worht living.“ The coronavirus crisis is a great challenge to all of us, but it is important to maintain working habits in spite of these difficult times.

We are glad that our journal was assigned the online ISSN 2729-790X in October. Due to this it will become a part of an international ISSN database and also a part of the worldwide ISSN database administered by the ISSN International Centre in Paris. From now *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* has the **ISSN 2729-790X (online)** and **ISSN 2585-9609 (for printed issue)**.

In the current issue you can read about the most frequently abused drugs in the Slovak Republic, epigenetic drugs in cancer therapy and the prescription of antitrombotic drugs in the therapy of venous diseases. Moreover, drugs and their effects are described in the following studies, too: Evaluation of the toxic effects of metronidazole, fluconazole and voriconazole on the selected cell cultures *in vitro*; Drug interaction of analgetics in the pharmaceutical practice or Antioxidant properties of *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill. berry extract and its pharmaceutical use. In the last section of the journal you will learn about Hodgkin's lymphoma from the view of current treatment, maca in health of men and women and interactions of drugs with citrus fruits. In the near future we would like to increase the number of articles in English language, which would also increase both the number of readers and authors. Even in this issue we present an article in English dealing with the therapeutic effect of allopurinol on uric acid serum levels in patients with *Arthritis uratica*.

I wish you a pleasant reading,

Prof. Zita FAIXOVÁ, DVM, PhD.
Managing Editor

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, II., 4, 2020

O B S A H

Fehér, Miroslav; Váczi, Peter:

NAJČASTEJŠIE ZNEUŽÍVANÉ LIEČIVÁ V SLOVENSKEJ REPUBLIKE THE MOST FREQUENTLY ABUSED DRUGS IN THE SLOVAK REPUBLIC	7
---	---

Halušková, Jana:

EPIGENETICKÉ LIEKY PRE LIEČBU NÁDOROVÝCH OCHORENÍ EPIGENETIC DRUGS IN CANCER THERAPY	16
---	----

Kolesárová, Mária; Olachová, Anna:

PRESKIPICIA ANTITROMBOTÍK V TERAPII VENÓZNYCH OCHORENÍ PRESCRIPTION OF ANTITROMBOTIC DRUGS IN THE THERAPY OF VENOUS DISEASES	31
--	----

Suchovič, Radoslav; Váczi, Peter; Surová, Milena:

HODGKINOV LYMFÓM Z POHLADU SÚČASNEJ LIEČBY HODGKIN'S LYMPHOMA FROM THE VIEW OF CURRENT TREATMENT	41
---	----

Jurošová, Kristína; Fedorová, Monika:

INTERAKCIE LIEČIV S VYBRANÝMI CITRUSOVÝMI PLODAMI INTERACTIONS OF DRUGS WITH CITRUS FRUITS	51
---	----

Podolinský, Martin; Eftimová, Jarmila:

ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI EXTRAKTU BOBÚL <i>SCHISANDRA CHINENSIS</i> (TURCZ.) BAILL. A JEHO FARMACEUTICKÉ VYUŽITIE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF <i>SCHISANDRA CHINENSIS</i> BERRY EXTRACT (TURCZ.) BAILL. AND ITS PHARMACEUTICAL USE	59
--	----

Szabóová, Renáta; Herich, Robert; Gajdošová, Mária:

THE TERAPEUTIC EFFECT OF ALLOPURINOL ON URIC ACID SERUM LEVELS IN PATIENTS WITH <i>ARTHRITIS URATICA</i>	71
---	----

Partilová, Janka; Legáth, Jaroslav; Marcinčáková, Dana:

HODNOTENIE TOXICKÉHO ÚČINKU METRONIDAZOLU, FLUKONAZOLU A VORIKONAZOLU NA VYBRANÉ BUNKOVÉ KULTÚRY <i>IN VITRO</i> EVALUATION OF THE TOXIC EFFECTS OF METRONIDAZOLE, FLUCONAZOLE AND VORICONAZOLE ON THE SELLECTED CELL CULTURES <i>IN VITRO</i>	79
---	----

Šutorová, Martina; Bačkorová, Miriam:

MACA V ZDRAVÍ MUŽA A ŽENY MACA IN HEALTH OF MEN AND WOMEN	85
--	----

Peštová, Livia; Piešová, Elena:

LIEKOVÉ INTERAKCIE ANALGETÍK V LEKÁRENSKEJ PRAXI INTERACTIONS OF ANALGETICS IN PHARMACEUTICAL PRACTICE	95
---	----

Pokyny pre autorov	105
--------------------------	-----



NAJČASTEJŠIE ZNEUŽÍVANÉ LIEČIVÁ V SLOVENSKEJ REPUBLIKE THE MOST FREQUENTLY ABUSED DRUGS IN THE SLOVAK REPUBLIC

Fehér, Miroslav; Váczi, Peter

Katedra farmakológie a toxikológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice
Slovenská republika

miroslav.feher@gmail.com

ABSTRAKT

V štúdiu sa zaoberáme analýzou zdrojov informácií a spotreby vybraných zneužívaných liečiv v Slovenskej republike. V teoretickej časti sú definované pojmy týkajúce sa zneužívania liečiv, prezentované sú spôsoby ich zneužívania a bližšie sú predstavené vybrané liečivá, pri ktorých sa predpokladá zvýšená možnosť zneužitia. Na základe dostupných informácií Národného centra zdravotníckych informácií (NCZI) sme vyhodnotili spotrebu sledovaných liečiv v období rokov 2015 – 2018, množstvo záchytov nelegálne získaných či distribuovaných balení Protidrogovou jednotkou Národnej kriminálnej agentúry (NAKA). Zo spotreby liečiv v danom období bolo zistené, že reálny potenciál zneužívania niektorých zo sledovaných liečiv je vyšší, ako sa predpokladalo.

Kľúčové slová: omamné látky; psychotropné látky; zneužívanie liečiv

ABSTRACT

We analyzed the sources of information and consumption of the selected drugs abused in the Slovak Republic. The theoretical part includes several definitions about the terms related to drug abuse. It also shows different ways of their abuse and introduces the selected drugs, which are expected to show an increased possibility of abuse. Based on the available information of the Slovak National Centre of Medicinal Information, the consumption of the monitored drugs in the period 2015 – 2018 was evaluated. The number of illegally obtained or illegally distributed drug packages captured by the Drug Unit of Slovak National Criminal Agency was assessed. According to the consumption of pharmaceuticals in the selected period, the real potential of abuse of some of the investigated pharmaceuticals is higher than expected.

Key words: drug abuse; narcotic substances; psychotropic substances

ÚVOD

Liečivá a lieky určené na ochranu pred chorobami, na diagnostiku chorôb, liečenie chorôb alebo na ovplyvňovanie fyziologických funkcií človeka boli zneužívané na iné než medicínske účely už od nepamäti. Tieto účely zahŕňali, okrem iného, aj ich použitie na zvýšenie kognitívnych alebo motorických funkcií, na zvýšenie športového výkonu či snahu o vyvolanie zmenených stavov vedomia, izoláciu prekursorov na výrobu omamných a psychotropných látok, off-label používanie, úmyselné predávkovanie, úmyselnú kontamináciu prostredia či potravy, alebo náhodné neúmyselné užitie (napr. otrava v detskom veku). Zneužívanie liekov sa dotýka všetkých vekových skupín a sociálnych vrstiev obyvateľstva. V poslednom čase je pozornosť úradov verejného zdravia a protidrogovej politiky štátov EÚ zameraná práve na túto oblasť. Lieky, ktorých výdaj je viazaný na lekársky predpis a ktoré sa najčastejšie zneužívajú, zahŕňajú nesteroidové antiflogistiká, opioidné analgetiká, lieky proti úzkosti, sedatíva a stimulanty centrálného nervového systému (Casati, 2012).

Vybrané zneužívané lieky

Najčastejšie sú zneužívané lieky z nasledujúcich skupín:

1. opioidy – predpisované ako analgetiká
2. látky utlmujúce centrálnu nervovú sústavu – barbituráty, benzodiazepíny a hypnotiká, predpisované na potlačenie úzkosti alebo pri problémoch so spánkom (často označované ako sedatíva a trankvilizéry)
3. stimulanciá CNS – predpisované pri poruche pozornosti spojenou s hyperaktivitou (ADHD), pri spánkovej poruche narkolepsii či pri obezite (Casati, 2012).

Účinné látky, ktoré zneužívané lieky obsahujú, je možné triediť podľa rôznych hľadísk, napríklad podľa chemickej štruktúry, účinku, rizika vzniku závislosti a pod. V tejto štúdii sme sa rozhodli

prezentovať liečivá, ktoré majú, podľa dnes dostupnej odbornej literatúry, nízky potenciál zneužívania, no v praxi sú relatívne ľahko dostupné a veľmi často zneužívané. Tento fakt potvrdzujú aj zachytené falšované lekárske predpisy.

Opioidy

Termínom opioidy označujeme farmaká, ktorých účinok je porovnateľný s účinkom hlavného alkaloidu ópia, morfinu (Lüllmann, 2004). Medzi najznámejšie účinky opioidov patria senzorické, prejavujúce sa inhibíciou reakcií na bolestivé podnety; modulačné, s prejavmi v gastrointestinálnych, endokrinných a autonómnych funkciách; emočné, ktoré sa prejavujú v silných odmeňovaciach a návykových vlastnostiach opioidov a kognitívne, v modulácii učenia a pamäti (Goodman, 2006).

Tramadol patrí medzi slabé opioidy. Jedná sa o syntetický analóg kodeínu, ktorý je slabým agonistom μ -opioidných receptorov. Jeho analgetický účinok sa z časti dosahuje inhibíciou spätného vychytávania norepinefrínu a serotonínu. Pri terapii miernych až stredne ťažkých bolestí je rovnako účinný ako morfin, avšak na liečbu silnej alebo chronickej bolesti je menej účinný (Goodman, 2006).

Kodeín patrí medzi slabé opioidy. Jedná sa o alkaloid ópia; chemicky je to metylmorfin. Kodeín sa po *p. o.* podaní dobre resorbuje a jeho malý podiel sa v organizme demetyluje na morfin. Účinok trvá zhruba 6 hodín (Lüllmann, 2004).

Fentanyl je mimoriadne rýchlo pôsobiaci syntetický opioid, agonista μ -receptorov. Je asi 100-krát účinnejší ako morfin, ale s podstatne kratším účinkom (účinok síce nastupuje rýchlo, avšak aj rýchlo odznieva). Vzhľadom k nízkej perorálnej biologickej dostupnosti a vysokej lipofilite sa podáva prevažne parenterálne – ďalšie spôsoby podania sú: intravenózne, sublingválne, bukálné a intranazálne (Suchopár, 2009).

Liečivá utlmujúce CNS

Do tejto farmakoterapeutickej skupiny patria barbituráty. Ich podávanie je dnes vzácné, ale môžu

byť súčasťou liekových zmesí (napr. Alnagon). Ďalej sem patria benzodiazepíny, napr. diazepam, alprazolam (Neurol, Xanax), bromazepam (Lexaurin), klonazepam (Rivotril) a oxazepam. Pri týchto liekoch sa po dlhšom užívaní čo i len terapeutických dávok môže vytvoriť závislosť. Pri ich vysádaní sa potom často objavuje masívna úzkosť. Problémy, pre ktoré boli tieto lieky predpísané, sa po vysadení manifestujú v zosilnenej podobe (Goodman, 2006).

Návykové sú aj nebenzodiazepínové hypnotiká ako zolpidem (Stilnox, Hypnogen), zopiklón (Zopitin, Zopiclon, Sonlax). Po vysadení vysokých dávok sa objavili aj odvykacie stavy niekedy aj s epileptickými záchvatmi. Podľa Victorri-Vigneau a kol. (2007) možno osoby zneužívajúce tieto látky rozdeliť do dvoch skupín. Prvá skupina zneužíva uvedené látky pre ich tlmivý účinok, druhá pre ich schopnosť vyvolávať paradoxne eufóriu a exaltáciu. Zneužívanie sedatív a hypnotik býva pomerne časté u žien stredného veku (Csémy, 2013).

Oxazepam patrí medzi liečivá utlmujúce CNS. Je to derivát benzodiazepínov so stredne dlhou dobou pôsobenia. Zo zvyčajných účinkov benzodiazepínov má stredne silný účinok anxiolytický a hypnotický, iba mierny myorelaxačný a takmer žiadny antikonvulzívny. Benzodiazepíny v závislosti od veľkosti dávky tlmia všetky úrovne CNS tým, že zvyšujú a facilitujú inhibičnú neurotransmisnú aktivitu GABA (kyselina gama-aminomaslová), ktorá sprostredkováva pre- aj postsynaptickú inhibíciu vo všetkých oblastiach CNS (Goodman, 2006).

Zolpidem patrí medzi liečivá utlmujúce CNS. Je to liečivo používané predovšetkým na krátkodobú liečbu problémov so spánkom. Znižuje čas nástupu spánku asi o 15 minút a pri vyšších dávkach pomáha ľuďom predĺžiť trvanie spánku. Jedná sa o nebenzodiazepínové sedatívne hypnotikum, imidazopyridín. Na rozdiel od benzodiazepínov má zolpidem malý účinok na štádiá spánku u normálnych ľudských jedincov. Liek je rovnako účinný ako benzodiazepíny pri skracovaní spánkovej latencie a predĺžení celkovej doby spánku u pacientov s nespavosťou. Po prerušení liečby zolpidemom

pretrvávajú priaznivé účinky na spánok až do 1 týždňa (Goodman, 2006).

Alprazolam patrí medzi liečivá utlmujúce CNS. Je to benzodiazepín s krátkodobým účinkom. Najčastejšie sa používa pri krátkodobom zvládaní úzkostných porúch, najmä panickej poruchy alebo generalizovanej úzkostnej poruchy. Medzi jeho ďalšie použitia patrí liečenie nevoľnosti vyvolanej chemoterapiou.

Liečivá stimulujúce CNS

Stimulanty zvyšujú množstvo dopamínu v mozgu (spôsobujú eufóriu) buď priamym stimulovaním uvoľňovania dopamínu alebo dočasnou inhibíciou odstraňovania dopamínu zo synáps. Tiež zvyšujú hladinu dopamínu v mozgových oblastiach zodpovedných za pozornosť a sústredenie sa. Stimulanty tiež spôsobujú uvoľňovanie noradrenalinu, neurotransmitera, ktorý ovplyvňuje autonómne funkcie ako je srdcová frekvencia, čo spôsobuje, že sa užívateľ cíti povzbudený (USHHS, 2016).

Pseudoefedrín (stereoizomér efedrínu) patrí medzi liečivá stimulujúce CNS. Patrí medzi sympatomimetiká, a najčastejšie sa používa v perorálnych prípravkoch na zmiernenie kongescie nosa. Pseudoefedrín je dostupný bez lekárskeho predpisu v rôznych pevných a tekutých liekových formách (Goodman, 2006).

Cieľom tohto článku bolo vytvoriť prehľad terminológie, preskúmať potenciál zneužívania vybraných liečiv, analyzovať dôvody ich zneužívania a spôsoby ich získavania v Slovenskej republike. Hlavným cieľom predloženej štúdie bolo analyzovať a vyhodnotiť výdaj a spotrebu skupín liekov, ktoré patria medzi najviac zneužívané, v rokoch 2015, 2016, 2017 a 2018 a na základe výsledkov zhodnotiť potenciál ich zneužívania v realite, v kontraste k správam zdravotníckych inštitúcií (napr. WHO). V štúdií sú predstavené možnosti prevencie a detekcie zneužívania vybraných liekov, ktorých výdaj nie je alebo je viazaný na lekársky predpis na území Slovenskej republiky.

MATERIÁL A METÓDY

Dáta, ktoré sa stali podkladom pre túto štúdiu, sme získali z dostupných štatistických údajov Národného centra zdravotníckych informácií (NCZI), hlásení jednotlivých odborov zdravotníctva vyšších územných celkov (VÚC) o záchytoch falošných receptov a výročných správ NAKA o stave a vývoji drogovej scény na území Slovenskej republiky.

NCZI

Ako zdroj pre dáta o výdaji liekov v Slovenskej republike boli použité štatistické výstupy NCZI – “Spotreba humánných liekov v SR”, ktoré vychádzajú zo zberu a spracovania štvrťročných výkazov Ministerstva zdravotníctva SR. Zisťujú spotrebu humánných liekov hrazených aj nehrazených z verejného zdravotného poistenia vyjadrenú v množstve balení a v množstve úhrad (úhrada zdravotných poisťovní, úhrada pacienta) za vydané lieky v lekárňach a v rámci poskytovania zdravotnej starostlivosti. Údaje boli spracované za obdobie rokov 2015 – 2018 (NCZI, 2019). Zo štatistických výstupov sme získali údaje o výdaji, resp. spotrebe liekov, ktoré obsahovali nami skúmané, často zneužívané liečivá.

VÚC – Odbor zdravotníctva

Falošné lekárske predpisy zachytené poskytovateľmi zdravotnej starostlivosti sú v elektronickej forme odosielané a nahlasované na Odbor zdravotníctva príslušného Vyššieho územného celku. Lekárnici sú o záchytoch týchto predpisov informovaní prostredníctvom Oznamov úradu samosprávneho kraja o zachytení falošného lekárskeho predpisu. Z tejto databázy sme pre potrebu tejto štúdie použili záznamy falošných lekárskeho predpisov za obdobie rokov 2016 – 2018 (databáza neobsahuje dáta za rok 2015), ktoré obsahovali nami sledované liečivá (VÚC Žilina, 2019).

Výročné správy protidrogovej jednotky NAKA

Rešerš výročných správ protidrogovej jednotky

NAKA za obdobie rokov 2015 – 2018 bola zameraná na výskyt a množstvá záchytov liekov s obsahom nami sledovaných liečiv.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výdaj sledovaných liekov za obdobie rokov 2015 – 2018

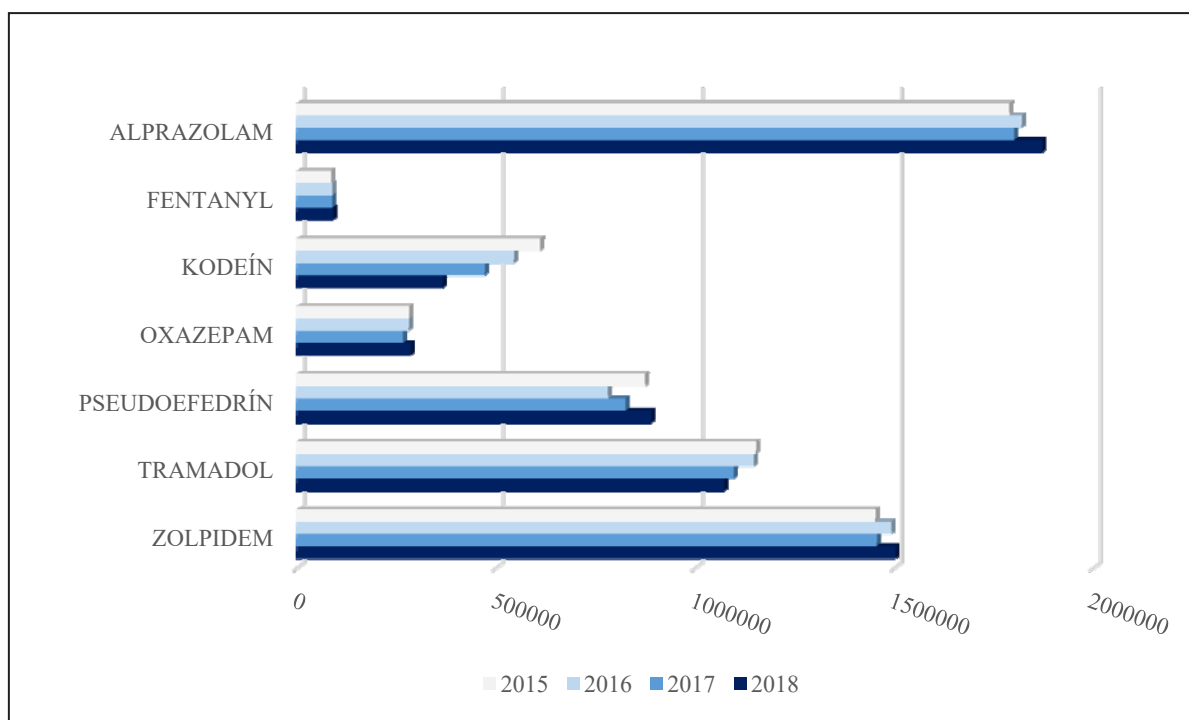
Pri vyjadrení spotreby liekov s obsahom sledovaných liečiv za obdobie rokov 2015 – 2018 môžeme pozorovať, že v danom období bolo vydaných **7 276 720,5** balení liekov obsahujúcich alprazolam. Graf 1 znázorňuje **5 899 132,5** vydaných balení liekov s obsahom zolpidemu; **1 116 761,5** balení liekov s obsahom tramadolu; **3 363 980,87** balení liekov s obsahom pseudoefedrínu; **497 331,7** balení liekov s obsahom kodeínu; **276 902,6** balení liekov s obsahom oxazepamu a **86 913,2** balení liekov s obsahom fentanylu.

Graf 2 uvádza množstvo týchto liekov v kilogramoch. V danom období jednoznačne dominoval tramadol, ktorého bolo za celé obdobie rokov 2015 – 2018 expedovaných **11 684,44 kg** (čo v priemere predstavuje približne **2 921 kg** tramadolu ročne). Nasleduje pseudoefedrín (**2 463,6 kg**); zolpidem (**963,6 kg**); kodeín (**296,5 kg**); oxazepam (**221,5 kg**); alprazolam (**105,3 kg**) a fentanyl (**12,7 kg**).

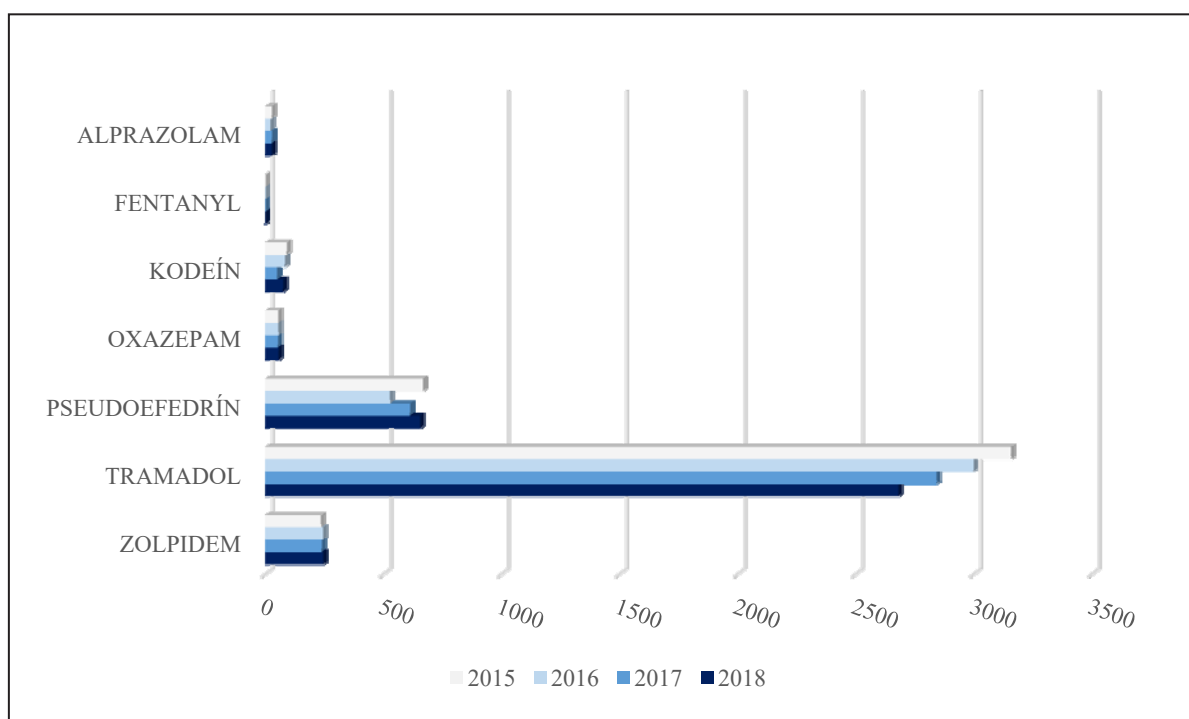
V tabuľke 1 je znázornená štruktúra výdaja sledovaných liečiv za jednotlivé roky 2015 – 2018. Pri liečivách tramadol, oxazepam, alprazolam a zolpidem je zaujímavý najmä stĺpec „balení predaných bez receptu“, a to aj napriek tomu, že podľa zákona 362/2011 Z. z. o liekoch a zdravotníckych pomôckach ide o lieky viazané na lekársky predpis. Lieky z obsahom liečiva fentanyl sú podľa § 51 (1) c) zákona 362/2011 Z. z. o liekoch a zdravotníckych pomôckach viazané na osobitné tlačivo lekárskeho predpisu označené šikmým modrým pruhom.

Pri spracovávaní údajov sme použili informácie z 3 hlavných zdrojov: NCZI, hlásení VÚC a výročných správ NAKA. Pri zhromažďovaní dát sme sa však stretli s určitými komplikáciami. Jednou z nich je, že v

Graf 1: Spotreba vybraných liekov na území SR podľa údajov NCZI (v počte balení lieku) 2015 – 2018



Graf 2: Spotreba vybraných liekov v kg na území SR podľa údajov NCZI 2015 – 2018



Tab. 1: Prehľad sledovaných liečiv podľa typu výdaja lieku. Výdaj na lekársky predpis s úhradou zdravotnej poisťovne, výdaj na lekársky predpis bez úhrady zdravotnej poisťovne a výdaj bez lekárskeho predpisu (OTC - over the counter)

Liečivo	Rok	Balenia vydané s úhradou ZP	Balenia vydané bez úhrady ZP	Balenia „predané bez receptu“
FENTANYL	2015	79 452,5	93,0	330,5
	2016	82 281,0	130,0	274,5
	2017	81 308,0	172,0	141,0
	2018	83 832,0	199,0	43,0
TRAMADOL	2015	1 037 091,1	19 753,0	3 686,0
	2016	1 033 422,2	21 474,0	3 566,1
	2017	981 773,1	23 161,6	3 795,3
	2018	935 657,1	25 002,4	5 076,1
KODEÍN	2015	39 809,5	335 479,9	215 903,8
	2016	36 425,0	294 648,0	197 482,7
	2017	38 390,0	268 128,3	148 590,4
	2018	36 091,2	237 411,1	77 606,2
OXAZEPAM	2015	256 357,5	6 268,5	1 066,0
	2016	255 745,0	6 693,0	765,5
	2017	237 707,5	7 652,0	756,0
	2018	254 768,5	7 185,5	1 508,0
PSEUDOEDEFDRÍN	2015	0,0	428 737,8	442 562,9
	2016	0,0	420 729,4	357 258,0
	2017	2 890,5	460 412,2	357 863,0
	2018	0,0	497 342,3	388 518,3
ALPRAZOLAM	2015	1 656 145,5	79 139,5	13 560,5
	2016	1 677 000,0	89 046,7	13 040,1
	2017	1 648 233,1	101 527,1	11 163,5
	2018	1 700 565,6	104 295,0	21 296,4
ZOLPIDEM	2015	1 325 443,8	85 128,2	14 809,8
	2016	1 349 044,4	102 965,7	15 299,8
	2017	1 317 339,3	102 446,3	11 985,8
	2018	1 360 780,6	99 025,7	17 234,5

Zdroj: vlastná tabuľka/NCZI, 2019

štatistických výstupoch NCZI sú lieky kategorizované podľa ATC skupín, preto nie je možné vyhľadávať údaje o konkrétnych liečivách. Ako príklad uvádzame liek Clarinase Repetabs, ktorý je v datasetoch NCZI kategorizovaný pod ATC skupinou „HLR06AX13 – Loratadín“, pričom okrem 5 mg loratadínu obsahuje

aj 120 mg pseudoefedríniumsulfátu. Podobne je to aj pri polykomponentných liekoch. Liek Alnagon je kategorizovaný pod ATC skupinou „HLN02BA51 – Kyselina acetylsalicylová, kombinácie s výnimkou psycholeptík“, pričom obsahuje 20 mg kodeínu. Aby sa predišlo vynechaniu liekov obsahujúcich

nami sledované liečivá, bolo potrebné použiť iné externé databázy (www.adc.sk, www.sukl.sk). Z vyhodnotených štatistických údajov vyplýva, že v období rokov 2015 – 2018 bolo vydaných 24 451 470,1 balení liekov obsahujúcich nami sledované liečivá.

Lieky obsahujúce tramadol tvorili 18,3 % celkového počtu sledovaných liekov, čo zodpovedá 4 467 045,9 baleniam. Ročný priemer výdaja bol 1 116 761 balení (2921,1 kg). Počet vydaných balení sa vzhľadom k priemeru pohyboval v hodnotách 96,1 – 103,1 %, čo možno považovať za relatívne malú odchýlku od priemerných hodnôt. V štatistike falšovaných lekárskeho predpisov bol tramadol na treťom mieste, s celkovým počtom 50 balení liekov na falošných receptoch, pričom falšovatelia sa takmer výlučne snažili získať lieky vo forme kvapiek – Tralgit, Tramabene a Tramal.

V správach NAKA o stave a vývoji drogovej scény na území Slovenskej republiky sa tramadol spomína v spojení so zneužívaním a drogovou trestnou činnosťou pomerne často. Z uvedeného dôvodu dala národná protidrogová jednotka NAKA v roku 2015 podnet na zaradenie liekov s účinnou látkou tramadol na zoznam skupiny humánnych liekov, ktorých výdaj je viazaný na osobitné tlačivo lekárskeho predpisu, označené šikmým modrým pruhom, a navrhla Ministerstvu zdravotníctva Slovenskej republiky aj Štátnemu ústavu pre kontrolu liečiv podniknúť legislatívne kroky k zavedeniu monitoringu výdaja liekov s obsahom účinnej látky tramadol. V lekárenskej praxi patrí tramadol k liečivám, ktoré sa falšovatelia snažia v lekárni získať najčastejšie. Pri predpísaní liečiva lekárom býva zneužitie lieku ojedinelé.

Lieky obsahujúce kodeín tvorili 8,1 % celkového počtu sledovaných liekov, čo zodpovedá 1 989 326,9 baleniam. Ročný priemer výdaja bol 497 331,7 balení (74,1 kg). Počet vydaných balení sa vzhľadom k priemeru pohyboval v hodnotách 73,5 – 122,7 %, čo možno považovať za relatívne veľkú odchýlku od priemerných hodnôt. Tieto výkyvy vo výdaji môžu vznikať z dôvodu, že kodeín je obsiahnutý vo veľkom

množstve OTC produktov, ktorých predaj kopíruje sezónne trendy. Tento fakt sa pravdepodobne prejavil aj pri sledovaní štatistiky falšovaných lekárskeho predpisov, ktoré sa v súvislosti s kodeínom vôbec neobjavili. V správach NAKA o stave a vývoji drogovej scény na území Slovenskej republiky sa kodeín objavuje ako suplementárna droga s jediným záchytnom. V lekárenskej praxi sa najčastejšie stretávame so zneužívaním kodeínu zdravotníckymi profesionálmi, keďže pre nich lieky s obsahom kodeínu patria medzi najdostupnejšie. Často sú to lieky Codein-Slovakofarma a Alnagon neo.

Lieky obsahujúce fentanyl tvorili len 1,4 % celkového počtu sledovaných liekov, čo zodpovedá 347 652,9 baleniam. Ročný priemer výdaja bol 86 913,2 balení (3,2 kg). Počet vydaných balení sa vzhľadom k priemeru pohyboval v hodnotách 96,8 – 103,1 %, čo možno považovať za relatívne malú odchýlku od priemerných hodnôt. V štatistike falšovaných lekárskeho predpisov sa nevyskytol ani jeden predpis na fentanyl, pravdepodobne preto, že sa jedná o liečivo, ktorého výdaj je viazaný na osobitné tlačivo lekárskeho predpisu označené šikmým modrým pruhom. Správy NAKA o stave a vývoji drogovej scény na území Slovenskej republiky zaznamenávajú pomerne veľké záchyty liekov a fentanylových náplastí (za obdobie rokov 2015 – 2018 je to 24 záchytov, čo predstavuje 559 ks balení) a zároveň uvádzajú lieky s obsahom fentanylu ako náhradu za heroín. V lekárenskej praxi sa lieky s obsahom fentanylu skladujú a expedujú podľa osobitných predpisov, čo výrazne znižuje možnosti ich zneužívania.

Lieky obsahujúce oxazepam tvorili len 4,5 % celkového počtu sledovaných liekov, čo zodpovedá 1 107 610,6 baleniam. Ročný priemer výdaja bol 276 902,6 balení (55,4 kg). Počet vydaných balení sa vzhľadom k priemeru pohyboval v hodnotách 95,4 – 102,5 %, čo možno považovať za relatívne malú odchýlku od priemerných hodnôt. V štatistike falšovaných lekárskeho predpisov či v správach NAKA sa zmienky o tomto liečive v období rokov 2015 – 2018 neobjavili. V porovnaní s ostatnými

sledovanými liečivami nebýva v lekárskej praxi oxazepam častým predmetom zneužívania.

Lieky obsahujúce zolpidem tvorili až 24,1 % celkového počtu sledovaných liekov, čo zodpovedá 5 899 132,6 baleniam. Ročný priemer výdaja bol 1 474 783 balení (240,9 kg). Počet vydaných balení sa vzhľadom k priemeru pohyboval v hodnotách 98,4 – 101,8 %; čo možno považovať za relatívne malú odchýlku od priemerných hodnôt. V štatistike falšovaných lekárskeho predpisov za sledované obdobie skončil na prvom mieste so 103 baleniami liekov na falošných lekárskeho predpisoch, pričom falšovatelia sa najčastejšie snažili získať lieky Stilnox a Sanval. V správach NAKA sa vyskytli 3 záchyty liekov s obsahom zolpidemu. V lekárskej praxi sa pomerne často stretávame so snahou pacientov získať lieky s obsahom zolpidemu („lieky na spanie“) bez lekárskeho predpisu z dôvodu nevedomosti či neochoty dať si liek predpísať u lekára. Časté sú aj pokusy o získanie liekov s obsahom zolpidemu na zneužívanie závislými jedincami.

Lieky obsahujúce alprazolam tvorili až 29,8 % celkového počtu sledovaných liekov, čo zodpovedá 7 276 720,5 baleniam. Ročný priemer výdaja bol 1 819 180 balení (26,3 kg). Počet vydaných balení sa vzhľadom k priemeru pohyboval v hodnotách 98,3 – 102,8 %; čo možno považovať za relatívne malú odchýlku od priemerných hodnôt. V štatistike falšovaných lekárskeho predpisov bol alprazolam na druhom mieste, s celkovým počtom 92 balení liekov na falošných receptoch, pričom falšovatelia sa najčastejšie snažili získať lieky – Neurol, Xanax a Frontin. V správach NAKA o stave a vývoji drogovej scény na území Slovenskej republiky sa alprazolam spomína len vo forme záchytov. Pri výkone profesie lekárničky sa často stretávame so závislosťou a pokusmi o jeho zneužitie. V praxi je alprazolam predpisovaný pomerne často pacientom vo vyššom veku, ktorí ho chronicky užívajú bez prestávky celé roky.

Lieky obsahujúce kodeín tvorili 13,8 % celkového počtu sledovaných liekov, čo zodpovedá 3 363 980,9

baleniam. Ročný priemer výdaja bol 840 995,2 balení (615,9 kg). Počet vydaných balení sa vzhľadom k priemeru pohyboval v hodnotách 92,7 – 105,6 %. Výkyvy vo výdaji môžu vzniknúť z dôvodu, že pseudoefedrín je obsiahnutý vo veľkom množstve OTC produktov, ktorých predaj kopíruje sezónne trendy. V štatistike falšovaných lekárskeho predpisov bolo dohromady zachytených 30 receptov – výlučne na liek Clarinase Repetabs, ktorý obsahuje 120 mg liečiva pseudoefedrín. V porovnaní s ostatnými sledovanými liečivami, pseudoefedrín dominuje v zisteniach v správach NAKA. Práve pseudoefedrín získaný z liekov je jedným z hlavných prekursorov na výrobu drogy metamfetamín. V správe z roku 2017 je uvedený záchyt cca 40 kg a v správe z roku 2018 záchyt 2544 kg liekov s obsahom pseudoefedrínu. V lekárskej praxi sa personál lekárne riadi odborným usmernením, ktoré v roku 2011 vydalo Ministerstvo zdravotníctva SR, ktorým sa výdaj voľnopredajných liekov s obsahom pseudoefedrínu obmedzil na počet balení potrebných na jeden liečebný cyklus. Zneužívatelia sa tomuto faktoru prispôbili a nákupy liekov s obsahom pseudoefedrínu často robia celé skupiny jedincov. Najväčší záujem prejavujú o „OTC lieky“ – Nurofen Stopgrip a Modafen.

ZÁVER

V tejto štúdii sme spracovali štatistické údaje NCZI, výročné správy o stave a vývoji drogovej scény na území Slovenskej republiky NAKA a záchyty falošných receptov zdravotníckymi zariadeniami v období rokov 2015 až 2018. Bolo sledovaných 7 potenciálne zneužívaných liečiv – alprazolam, fentanyl, kodeín, oxazepam, pseudoefedrín, tramadol a zolpidem.

Z hľadiska výdaja kusov balení liekov s obsahom liečiva bol najvydávaným liečivom alprazolam (29,8 %), nasledoval zolpidem (24,1 %), tramadol (18,3 %), pseudoefedrín (13,8 %), kodeín (8,1 %), oxazepam (4,5 %) a fentanyl (1,4 %).

Z hľadiska množstva liečiva v kilogramoch bol najvydávaným liečivom tramadol (74,2 %),

nasledoval pseudofedrin (15,6 %), zolpidem (6,1 %), kodein (1,9 %), oxazepam (1,4 %), alprazolam (0,7 %) a fentanyl (0,1 %).

V počte záchytoŤ NAKA dominoval pseudofedrin a fentanyl, nasledoval tramadol a alprazolam, niekoľko záchytoŤ bolo potvrdených aj pre zolpidem, kodein a oxazepam. Záchyty liečiv NAKA nebolo možné v tejto práci kvantifikovať, nakoľko neboli bližšie špecifikované všetky liekové formy, v ktorých boli zachytené liečivá.

ZOZNAM LITERATÚRY

ADC. <https://www.adc.sk/databazy/produkty/klasifikacia/HLN02AX02/tramadol.html>. [cit. 2019-09-21].

ADC. <https://www.adc.sk/databazy/produkty/spc/tralgit-gtt-231871.html>. [cit. 2019-09-21].

ADC. <https://www.adc.sk/databazy/humanne-lieky/ucinna-latka/fentanyl-5571.html>. [cit. 2019-09-21].

ADC. <https://www.adc.sk/databazy/produkty/detail/oxazepam-leciva-794933.html>. [cit. 2019-09-21].

ADC. <https://www.adc.sk/databazy/produkty/klasifikacia/HLN05CF02/zolpidem.html>. [cit. 2019-09-21].

Casati, A., Sedefov, R., Pfeiffer-Gerschel, T.: Misuse of medicines in the European Union: A systematic review of the literature. *European Addiction Research*, 2012, 18, 228 – 245.

Csémy, L. a Čápvá, E.: *Manual pro praktiky* [Manual for practitioners]. Praha: CEPROS, Centrum výzkumu protidrogových služeb a veřejného zdraví, 2013. <http://doczz.cz/doc/66588/manual-pro-praktiky-text>. [cit. 2019-08-19].

Goodman, L. S.: *Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics*. 11th edn. New York: McGraw-Hill, 2006, 2047 s.

Lüllmann, H.: *Farmakologie a toxikologie* [Pharmacology and toxicology]. 15. vyd. Praha: GRADA Publishing, 2004. 728 s.

NCZI: *Drogová závislost – léčba uživatele drogy v Slovenskej republike 2018*. <http://data.nczisk.sk/statisticke_vystupy/Drogova_zavislost/Drogova_zavislost_liecba_uzivatela_drog_v_SR_2018_Sprava_k_publicovanym_vystupom.pdf>. [cit. 2019-08-20].

Správa komisie európskemu parlamentu a rade (o transpozícii článku 118a smernice 2001/83/ES Európskeho parlamentu a Rady zo 6. novembra 2001, ktorou sa ustanovuje zákonník Spoločenstva o humánnych liekoch, zmenenej smernicou Európskeho parlamentu a Rady 2011/62/EÚ z 8. júna 2011, v členských štátoch) z 26.1.2018. <https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2018/SK/COM-2018-49-F1-SK-MAIN-PART-1.PDF>. [cit. 2019-7-15].

Suchopár, J. a kol.: *Remedia compendium*. 4. vyd. Praha: Nakladatelství PANAX, 2009, 1200 s.

WHO. *Lexicon of alcohol and drug terms published by the World Health Organization*. https://www.who.int/substance_abuse/terminology/who_lexicon/en/. Accessed September 21, 2019.



EPIGENETICKÉ LIEKY PRE LIEČBU NÁDOROVÝCH OCHORENÍ

EPIGENETIC DRUGS IN CANCER THERAPY

Halušková, Jana

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

jana.halusкова@uvlf.sk

ABSTRAKT

Mnohobunkové organizmy sa vyznačujú bunkovo a tkanivovo špecifickou génovou expresiou, ktorá je regulovaná tzv. epigenetickými mechanizmami generujúcimi okrem iných aj epigenetické modifikácie/značky na molekulách DNA a proteínov. Patologické zmeny epigenetických regulačných mechanizmov boli identifikované pri onkologických, kardiovaskulárnych, auto-imunitných, neurodegeneratívnych a mnohých iných ochoreniach. Dôležitým aspektom epigenetických mechanizmov je ich reverzibilita, čo umožňuje moduláciu patologického stavu pomocou rôznych nízkomolekulových látok – potenciónálnych epigenetických liekov. Tie ovplyvňujú predovšetkým aktivitu enzýmov zodpovedných za vytvorenie, resp. odstránenie epigenetických značiek. V súčasnosti bolo pre klinickú prax schválených niekoľko epigenetických liekov, predovšetkým pre liečbu

rôznych hematologických malignít, ale mnoho ďalších účinných látok sa testuje v predklinických alebo klinických fázach. V tejto štúdii sú popísané základné epigenetické modifikácie – metylácia DNA a acetylácia histónových bielkovín a následne je prezentovaný súčasný stav a perspektívy vývoja nových protinádorových epigenetických liekov, ktorých mechanizmy účinku sú založené na inhibícii aktivity DNA metyltransferáz (DNMT) a históndeacetyláz (HDAC), ako aj iných enzýmov, ktoré realizujú epigenetické modifikácie.

Kľúčové slová: acetylácia histónov; DNA metyltransferáza; epigenetický liek; históndeacetyláza; inhibítor; metylácia DNA

ABSTRACT

In a multicellular organism, the cell and tissue-specific gene expression is governed by the epigenetic mechanisms/modifications and their

disruptions may lead to epigenetic diseases. The reversible character of epigenetic marks is an important aspect enabling modulation of their pathological state via action of various small molecules that may affect enzymes realizing their establishment. At present, a few drugs targeting epigenetic enzymes have been introduced into the clinical use to treat mainly the haematological malignancies, and a wide range of epigenetic-based drugs are undergoing clinical trials. This article introduces the essential epigenetic modifications – DNA methylation and histone acetylation, and presents the clinical data of anticancer epidrugs targeting DNA methyltransferases (DNMT) and histone deacetylases (HDAC). Some future perspectives related to this type of epigenetic therapy are also included.

Key words: DNA methylation; DNA methyltransferase; epidrugs; histone acetylation; histone deacetylase; inhibitor

ÚVOD

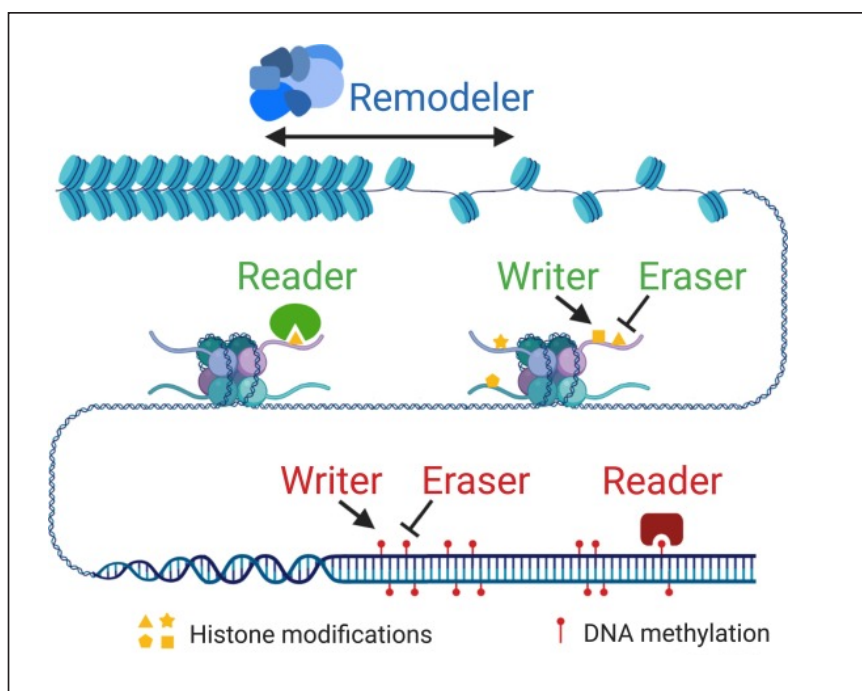
Bunky mnohobunkových eukaryotických organizmov sú schopné sa špecializovať a vytvárať rôzne tkanivá a orgány, aj keď obsahujú rovnakú genetickú informáciu. Je to možné vďaka variabilnej génovej expresii, ktorá je bunkovo a tkanivovo špecifická. Mechanizmy zodpovedné za zmeny génovej exprese, ktoré nie sú podmienené modifikáciami sekvencie DNA, študuje vedný odbor epigenetika. Epigenetické mechanizmy účinkujú na transkripčnej a posttranskripčnej úrovni génovej aktivity, ako aj na úrovni translácie a posttranslačných modifikácií proteínov. Predstavujú dynamický, reverzibilný a dedičný systém regulácie génovej exprese počas vývinu a životného cyklu organizmu. Zúčastňujú sa na takých procesoch, akými sú bunková diferenciácia, morfogénéza, inhibícia transpozónov, inaktivácia X chromozómu, genómový imprinting a iných. Epigenetické mechanizmy zabezpečujú variabilitu a adaptabilitu organizmu a

sú ovplyvňované genetickými a environmentálnymi faktormi (Halušková, 2010).

Epigenóm bunky je súhrnom tzv. epigenetických značiek (modifikácií), ktoré sú výsledkom pôsobenia epigenetických regulačných mechanizmov. K základným epigenetickým modifikáciám/mechanizmom patrí metylácia DNA, modifikácia aminokyselinových zvyškov v histónových bielkovinách (najmä acetylácia, metylácia, fosforylácia) a účinkovanie nekódujúcich RNA (ncRNA), medzi ktoré sa radia tzv. mikroRNA (miRNA) alebo dlhé nekódujúce RNA (long ncRNA) (Rakyan a kol., 2011). Chemické zmeny DNA a histónov sú katalyzované enzýmami, ktoré sa často označujú ako „writers“, pri čom výsledkom ich pôsobenia je pridanie skupín rôznej veľkosti – od metylovej skupiny (15 Da) po ubiquitín (8,5 kDa). Tieto modifikácie okrem priameho ovplyvnenia afinity medzi DNA a histónmi tiež priťahujú ďalšie makromolekuly, napr. ncRNA a iné, ktorých úlohou je reštrukturalizovať chromátin. Iné enzýmy – tzv. „readers“, rozpoznávajú modifikovanú DNA a proteíny a podieľajú sa na aktivácii ďalších signálnych molekúl. Poslednou skupinou enzýmov sú tzv. „erasers“, ktoré katalyzujú odstránenie „zapísanej“ informácie, čím zabezpečujú vratnosť (reverzibilitu) epigenetických modifikácií (Biswas a Rao, 2018) (viď obr. 1).

Správne fungovanie epigenetických mechanizmov je dôležité pre normálny vývin organizmu a ich patologické zmeny môžu spôsobiť ochorenia, ktoré sa označujú ako epigenetické. Narušená epigenetická regulácia už bola dokázaná pri mnohých z nich, napr. pri rôznych typoch nádorov, neurodegeneratívnych ochoreniach (Alzheimerova a Parkinsonova choroba), astme a alergií, diabete, kardiovaskulárnych a autoimunitných ochoreniach, chorobách spojených s chromozómovou nestabilitou, mentálnych retardáciách a ďalších. Epigenetické prístupy umožňujú generovať rôzne markery pre diagnostiku, klasifikáciu a prognostiku týchto ochorení a reverzibilita epigenetických modifikácií umožňuje v prípade patologického stavu ich moduláciu, čo je kľúčovým aspektom

Obr. 1: Základné epigenetické modifikácie chromatinu a pôsobenie epigenetických enzýmov



Zdroj: [https://www.cell.com/trends/cancer/fulltext/S2405-8033\(20\)30062-5](https://www.cell.com/trends/cancer/fulltext/S2405-8033(20)30062-5)

Schematické znázornenie základných epigenetických modifikácií chromatinu: metylácie DNA a acetylácie histónov a pôsobenie enzýmov, ktoré realizujú epigenetické modifikácie.

pri vývoji nových liekov. Dôležité je, že aktivita všetkých troch typov enzýmov podieľajúcich sa na realizácii epigenetickej informácie – „writers”, „readers”, aj „erasers”, sa dá ovplyvniť rôznymi nízkomolekulovými modifikátormi (Ganesan a kol., 2019). V poslednej dobe bolo objavených množstvo takýchto látok, ktoré sú buď v štádiu predklinického, resp. klinického testovania, alebo boli schválené ako epigenetické liečivá predovšetkým pre liečbu onkologických ochorení.

Cieľom tejto štúdie je podrobnejšie popísať základné epigenetické modifikácie – metyláciu DNA a acetyláciu histónových bielkovín a prezentovať súčasný stav a perspektívy vývoja protinádorových epigenetických liečiv, ktorých mechanizmy účinku sú založené na modulácii aktivity enzýmov, ktoré realizujú uvedené základné, ako aj ďalšie epigenetické modifikácie.

ZÁKLADNÉ EPIGENETICKÉ MODIFIKÁCIE A ICH MODULÁCIA

Metylácia DNA

Metylácia DNA je chemická modifikácia, ktorá spočíva v kovalentnej väzbe metylovej skupiny na 5. uhlík cytozínu v DNA za vzniku 5-metylcytozínu (5mC). Metylovaný je predovšetkým cytozín, ktorý je súčasťou dinukleotidov CpG (Cytozín-fosfát-Guanín). Reakciu katalyzujú špecifické enzýmy, tzv. DNA metyltransferázy (DNMT) a ako zdroj metylovej skupiny v tejto reakcii slúži S-adenozyl-metionín (SAM). V ľudskom genóme je prítomných päť typov DNMT – DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B a DNMT3L (Mehdipour a kol., 2020). Predpokladá sa, že DNMT1 zodpovedá za udržiavanie metylačného statusu cytozínov počas replikácie DNA, zatiaľ čo DNMT3A a DNMT3B sa pokla-

dajú za *de novo* metyltransferázy, ktoré generujú nový metylačný status DNA v kooperácii s katalyticky inaktívnou DNMT3L (Okano a kol., 1999; Goll a Bestor, 2005; Jia a kol., 2007). DNMT1, DNMT3A a DNMT3B sa považujú za tzv. kanonické metyltransferázy, zatiaľ čo DNMT2 a DNMT3L, aj keď obsahujú všetky konzervatívne domény typické pre metyltransferázy, nevykazujú *in vivo* katalytickú aktivitu a označujú sa ako nekanonické metyltransferázy (Robertson, 2005; Mehdi-pour a kol., 2020). Opačný proces – teda odstránenie metylovej skupiny, realizujú tzv. TET proteíny s dioxigenázovou enzymatickou aktivitou (u cicavcov TET1, TET2, TET3), pomocou ktorej oxidujú 5mC na 5-hydroxymetylcytozín (5hmC), ale aj 5-formylcytozín (5fC) a 5-karboxycytozín (5caC), čo predstavuje prvý krok v procese aktívnej demetylácie DNA (Ito a kol., 2011; Kohli a Zhang, 2013).

Dinukleotidy CpG sú v rámci ľudského genómu distribuované tak, že zhruba 85 % z nich je lokalizovaných v repetitívnych sekvenciách, ktoré sú v zdravých bunkách intenzívne metylované, teda transkripčne inaktívne. Tým je zabezpečená integrita chromatinovej štruktúry a stabilita genómu. Zvyšných zhruba 15 % dinukleotidov CpG je prítomných v krátkych úsekoch DNA nazývaných „CpG ostrovy“ (CpG islands), ktoré tvoria približne 1 % ľudského genómu. CpG ostrovy sa nachádzajú v regulačných oblastiach – v tzv. promótoroch, asi 40 – 50 % ľudských génov a v zdravých somatických bunkách sú tieto CpG ostrovy demetylované. Metylácia CpG ostrovov v promótorových oblastiach génov indikuje transkripčne inaktívny chromatin, teda inhibíciu génovej transkripcie, zatiaľ čo ich demetylácia je spojená s transkripčne aktívnym chromatinom. Podľa súčasných poznatkov metylácia v štruktúrnych oblastiach génov na rozdiel od promótorov aktivuje transkripciu (Langevin a Kelsey, 2013).

V nádorových bunkách nastávajú dva typy metylačných zmien DNA. Prvým typom je tzv. hypometylácia – buď globálna, alebo v satelitných a repetitívnych sekvenciách, druhým typom je tzv.

hypermetylácia CpG ostrovov v promótorových oblastiach rôznych génov. Gény, ktoré môžu byť hypermetylované, a teda inhibované v procese karcinogenézy, sú predovšetkým tumor supresorové gény (TSG) zohrávajúce dôležitú úlohu v regulácii bunkového cyklu [napríklad inhibitory *CDK* (cyclin-dependent kinase), *RB* (retinoblastoma protein), *TP53* (tumor protein p53)], gény podieľajúce sa na udržiavaní genómovej integrity [napr. *BRCA1* (breast cancer 1), *O6-MGMT* (*O*⁶-methylguanine DNA methyltransferase), *hMLH1* (mutL homolog 1)], apoptotické gény [*caspase 8*, *DAPK* (death-associated protein kinase)], gény regulujúce migračný proces buniek [*CDH1* (E-cadherin), *TIMP-3* (metalloproteinase inhibitor 3)], gény účinkujúce v reakcii bunky na rastové faktory [*PTEN* (phosphatase and tensin homolog), *ER* (estrogen receptor)] a iné (Castillo-Aguilera a kol., 2017).

Pri mnohých typoch nádorov, napríklad nádoroch hrubého čreva, prostaty, prsníka, pečene alebo pri leukémii boli detegované zvýšené hladiny DNMT, predovšetkým DNMT3A, DNMT3B a DNMT3L, čo mohlo spôsobiť hypermetyláciu, a teda vyradenie z činnosti dôležitých TSG (El-Deiry a kol., 1991; Melki a kol., 1998; Patra a kol., 2002; Oh a kol., 2007; Roll a kol., 2008; Miyake a kol., 2010; Yu a kol., 2015). Z tohto hľadiska blokovanie aktivity DNMT rôznymi umelo syntetizovanými alebo prírodnými látkami s cieľom reaktívácie TSG a iných kľúčových génov predstavuje nový prístup vo farmakoterapii onkologických ochorení. Pri niektorých druhoch nádorov bola zistená zvýšená expresia iba určitého typu DNMT, napríklad pri nádoroch prsníka aktivita DNMT3B značne prevyšovala aktivitu DNMT1 a DNMT3A (Girault a kol., 2003). Preto je dôležité skúmať aj to, na ktorý typ DNMT je najefektívnejšie sa zamerať pri hľadaní účinných inhibujúcich látok pri konkrétnych typoch nádorov.

Inhibítory DNMT

Protinádorová aktivita inhibítorov DNMT (DNMTi) sa môže realizovať niekoľkými spôsobmi: 1) demetyláciou CpG ostrovov v promótoroch, kto-

Tab. 1: Prehľad inhibítorov DNA metyltransferáz (DNMT)

Inhibítor DNMT	Typ inhibítora (nukleozidový – N; nenukleozidový – neN)	Status klinického skúšania (predklinické štádium – predK)	Typ nádoru, voči ktorému je účinný
5-azacytidín Azacitidín	N	fáza I, II, III, schválený FDA	schválený voči MDS/AML, voči solídnym nádorom v klinickom skúšaní
5-aza-2'- deoxycytidín decitabín	N	fáza I, II, III, schválený FDA	schválený voči MDS/AML, voči solídnym nádorom v klinickom skúšaní
guadecitabín (SGI-110)	N	fáza I, II, III	hematologické a solídne nádory
zebularín	N	predK	hematologické a solídne nádory
MG98	neN	fáza I (ukončená)	solídne nádory
SGI-1027	neN	predK	hematologické a solídne nádory
DC_05 analóg	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)
deriváty chinazolínu	neN	predK	hematologické a solídne nádory (<i>in vitro</i>)
deriváty propiofenónu	neN	predK	hematologické a solídne nádory (<i>in vitro</i>)
deriváty pyrrolopyridínu	neN	predK	testovanie schopnosti <i>in vitro</i> inhibície
konjugáty prokaínamidu	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)
deriváty indolu	neN	predK	solídne a hematologické nádory (<i>in vitro</i>)
deriváty oxazolínu a izoxazolínu	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)
dichlón	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)
analógy RG-108	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)
SW155246	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)
nanaomycín A	neN	predK	hematologické a solídne nádory (<i>in vitro</i>)
kyselina lakaová A	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)
deriváty flavonoidov (kazinol Q; chlónitroflavanóny)	neN	predK	solídne nádory (<i>in vitro</i>)

Zdroj: Pechalrieu a kol., 2017.

V tabuľke sú uvedené niektoré nukleozidové a nenukleozidové inhibítory DNMT, ktoré boli schválené pre použitie v klinickej praxi, resp. sa nachádzajú v štádiu klinického alebo predklinického testovania. AML – acute myeloid leukemia (akútna myeloidná leukémia) MDS – myelodysplastic syndrome (myelodysplastický syndróm).

rá reaktivuje TSG a zároveň hypometyláciou CTA (cancer testis antigen), ktorá zvýši imunogenitu nádorových buniek a ich elimináciu T-lymfocytmi; 2) demetyláciou a reaktiváciou transpozónov vrátane endogénnych retrovírusov, čo navodí stav evokujúci špecifickú imunitnú odpoveď voči nádorovým bunkám, tzv. „vírusové mimikri“; 3) demetyláciou štruktúrnych oblastí génov, čím sa inhibujú onkogény (Mehdipour a kol., 2020).

Prvými epigenetickými liekmi, ktoré boli schválené organizáciou FDA (Food and Drug Administration) a EMA (European Medicines Agency) pre liečbu akútnej myeloidnej leukémie (AML – acute myeloid leukemia), chronickej myelomonocytovej leukémie (CMML – chronic myelomonocytic leukemia) a myelodysplastického syndrómu (MDS – myelodysplastic syndrome) boli dve tzv. **nukleozidové DNMTi** – v roku 2004 5-azacytidín (azacitidín, obchodný názov Vidaza®) a v roku 2006 5-aza-2'-deoxycytidín (decitabín, obchodný názov Dacogen®) (Tomaselli a kol., 2019; Ganesan a kol., 2019; Mehdipour a kol., 2020) (viď tab. 1). Uvedené epigenetické liečivá, ktoré sú nukleozidovými analógmi cytidínu, sa počas S-fázy bunkového cyklu inkorporujú do DNA, a potom kovalentne a nevratne viažu DNMT, čo umožňuje následnú degradáciu tohto enzýmu (Gabbara a Bhagwat, 1995; Stresemann a Lyko, 2008; Shen a Laird, 2012). Decitabín obsahuje deoxyribózu a inkorporuje sa iba do DNA, zatiaľ čo ribóza v azacitidíne umožňuje jeho inkorporáciu do RNA aj DNA – po odstránení 3'-OH skupiny (Ganesan a kol., 2019). Obidva DNMTi sa užívajú subkutánne, resp. intravenózne, keďže nie sú vhodné na orálne podávanie.

Aj napriek vysokej efektívnosti sa obidva oficiálne schválené DNMTi vyznačujú istými negatívnymi vlastnosťami, predovšetkým nízkou špecifitou (nahrádzajú všetky cytidíny v DNA), chemickou nestabilitou (sú stabilné iba pri neutrálnom pH a nízkej teplote), toxickými vedľajšími účinkami, závislosťou na bunkovom cykle (sú účinné iba pri ochoreniach, pre ktoré sú typické transformované

rýchlo sa množiace bunky) a ich využitie je limitované u pacientov so solídnymi nádormi. V predklinických skúškach sa testoval ďalší nukleozidový DNMTi – zebularín, ktorý je stabilnejší a menej toxický ako prvé dva inhibítory (Yoo a kol., 2004; Song a kol., 2011). Okrem DNMT inhibuje aj cytidindeaminázu, jeho väzba na DNMT je však nestabilná a efektívny je len pri veľmi vysokých dávkach, preto nebol uvedený do klinického testovania (Champion a kol., 2010; Castillo-Aguilera a kol., 2017). Ďalšie dva analógy cytidínu – 4'-tio-2''-deoxycytidín (TdCyd) a 5-aza-4'-tio-2''-deoxycytidín (aza-TdCyd) (Thottassery a kol., 2014) sú testované v štádiu I klinických pokusov u pacientov so solídnymi nádormi v pokročilom štádiu. Na báze azacitidínu a decitabínu boli vyvinuté dva DNMTi – CP-4200 (analóg azacitidínu – ester kyseliny elaidovej) (Brueckner a kol., 2010; Singh a kol., 2013) a SGI-110 (guadecitabín – dinukleotid decitabín-p-deoxyguanozín) (Yoo a kol., 2007; Kantarjian a kol., 2017). Klinické pokusy (fáza III) s guadecitabínom, ktorý je stabilnejší ako decitabín, prebiehajú u pacientov s AML, MDS, ale aj s nádormi vaječníkov a pečene (Castillo-Aguilera a kol., 2017). Ďalší z nukleozidových inhibítorov – 5-F-CdR, podstupuje fázu I klinických pokusov (Guo a kol., 2010; Pan a kol., 2018). V štádiu klinických pokusov pre liečbu hematologických nádorových ochorení je aj orálna forma azacitidínu – CC-486, ktorá je menej invazívna a pre pacientov prijateľnejšia (Mehdipour a kol., 2020).

Keďže nukleozidové DNMTi majú mnoho negatív, úsilie vedcov sa zameriava na identifikáciu a syntézu tzv. **nenukleozidových inhibítorov** (viď tab. 1). Vyznačujú sa heterogénnou štruktúrou, ale mechanizmus ich pôsobenia je iný ako inkorporovanie sa do DNA, čím možno obísť problém s toxicitou analógov cytidínu. Vývoj nenukleozidových DNMTi sa v súčasnosti orientuje na niekoľko mechanizmov: 1) väzba na DNA; 2) súťaživosť so substrátmi pre DNMT; 3) alosterická inhibícia; 4) blokovanie PPI (protein-protein interactions – väzby a interakcie DNMT s ostatnými proteínmi, ktoré modulujú ich

aktivitu) (Castillo-Aguilera a kol., 2017).

Prvou skupinou nenukleozidových DNMTi sú inhibítory viažuce sa na DNA – **DNA binders**. Tieto inhibítory sa viažu na DNA v oblastiach bohatých na CpG dinukleotidy, a tým blokujú DNMT. Zistilo sa, že takúto aktivitu vykazujú niektoré registrované lieky, ako napríklad liek proti arytmií – derivát amidu – prokaínamid (testuje sa v klinických pokusoch pri nádoroch prostaty) alebo jeho ester – prokaín, ktorý sa používa ako lokálne anestetikum (Segura-Pacheco a kol., 2003; Villar-Garea a kol., 2003; Lee a kol., 2005). Ďalšie DNMTi, ktoré boli testované, sú napr. deriváty akridínu, heterocyklickej zlúčeniny, o ktorej je známe, že má schopnosť interkalovať sa do DNA. Zistilo sa tiež, že iný inhibítor – SGI-1027, protinádorový liek na báze chinolónu, inhibuje DNMT1 a DNMT3A mechanizmom väzby na DNA, v dôsledku čoho dochádza k reaktivácii génov *TIMP3*, *MLH1* a *P16* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A). SGI-1027 vykazuje antiproliferačný účinok pri lymfómoch histiocytov, nádoroch prsníka a prostaty a Burkittovom lymfóme (Datta a kol., 2009; Gros a kol., 2015).

Iný zaujímavý spôsob inhibície DNMT predstavuje využitie **analógov SAM**, ktoré blokujú cieľové miesto na enzýme pre tento kofaktor (Castillo-Aguilera a kol., 2017; Ganesan a kol., 2019). Prvým takýmto inhibítorom bol ftalimido-L-tryptofán (RG-108), ktorého účinok sa prejavil v demetylácii promótorov a reaktivácii génov *P16*, *TIMP3* a *SFRP1* (secreted frizzled-related protein 1) v bunkových líniiach nádoru hrubého čreva HCT116 (Brueckner a kol., 2005; Siedlecki a kol., 2006). Ďalšie analógy SAM – oxazolín a izoxazolín, boli pripravené chemickou modifikáciou už spomínaných inhibítorov viažucich sa na DNA – prokaínamidu a prokaínu (Castellano a kol., 2008; 2011). Bolo zistené, že tieto DNMTi inhibujú DNMT1 *in vitro*, množenie HCT116 buniek a spôsobujú celkovú demetyláciu v nádorových bunkách.

Ďalší zo spôsobov inhibície DNMT využíva rôzne oligonukleotidy, napríklad **chimerické RNA oligonukleotidy (CRO)**, ktoré pozostávajú z 15 –

30 nukleotidov a sú aspoň na 80 % komplementárne s časťou RNA, ktorá je prepisom nekódujúcich sekvencií génu. Po naviazaní CRO a vytvorení komplexnej formy je blokovaná aktivita DNMT a metylácia daného génu (Ruscio a kol., 2012; Xu a kol., 2016). Iné malé RNA, ktoré sú na menej ako 80 % komplementárne s ľudskými génmi, inhibujú DNMT globálne (Pradhan a kol., 2015; Xu a kol., 2016). Takzvané epi-miRNA sú komplementárne k 3'-UNTR (untranslated region – oblasť, ktorá sa neprekladá do sekvencie aminokyselín peptidového reťazca) mRNA pre DNMT1 a priamo inhibujú transkripciu tohto enzýmu (Amodio a kol., 2016). Podobne bolo vyvinutých niekoľko miRNA, ktoré sa viažu na mRNA pre DNMT a inhibujú ich transkripciu, napríklad oligonukleotid MG98 alebo miR29b (Winquist a kol., 2006; Garzon a kol., 2009; Amato a kol., 2012; Jiang a kol., 2014; Cattaneo a kol., 2015; Yan a kol., 2015).

Stručne možno spomenúť ešte niekoľko ďalších prístupov k inhibícii DNMT:

- multisubstrátový prístup: podstatou je skutočnosť, že DNMT využívajú dva substráty – SAM a DNA. S cieľom inhibovať aktivitu týchto enzýmov teda možno blokovať viaceré miesta na ich molekulách. Napríklad deriváty maleimidu (RG108-1) sa viažu nielen na miesto pre SAM na molekule DNMT, ale aj na miesto pre cytidín, teda DNA (Suzuki a kol., 2010; Asgatay a kol., 2014)
- využitie ďalších liekov registrovaných pre iné účely: napr. hydralazín, liek proti hypertenzii je testovaný vo fáze III klinických pokusov
- využitie prírodných produktov: napríklad polyfenolepigalokatechín-3-galát (EGCG) sa testuje vo fáze II klinických pokusov, ostatné prírodné produkty, ako napr. kurkumín, genistein, kyselina lakaová alebo prírodné chinónové antibiotikum nanaomycín A absolvujú predklinické skúšky
- blokovanie PPI: keďže aktivita DNMT môže byť modulovaná a ovplyvňovaná ďalšími enzýmami, napr. PCNA (proliferating cell nuclear antigen), UHRF1 [ubiquitin like with

PHD (plant homeodomain) and ring finger domains 1 (homeodomain fingers = špecifické oblasti v štruktúre niektorých proteínov, prostredníctvom ktorých sa viažu na epigenetické značky], históndeacetylázami (HDAC), histónmetylázami (HMT) alebo rôznymi transkripčnými faktormi, tento prístup sa sústreďuje na identifikáciu látok blokujúcich uvedené interakcie (Castillo-Aguilera a kol., 2017; Yu a kol., 2019)

- multicieľový prístup: zameriava sa na inhibíciu viacerých enzýmov súčasne, napríklad DNMT a zároveň Bcl-2 proteínov (zabraňujú apoptóze), HDAC, HMT, PARP1 [poly (ADP-ribóza) polymeráza 1 – enzým podieľajúci sa na opravách jednoreťazcových zlomov v DNA] (Castillo-Aguilera a kol., 2017; Ganesan a kol., 2019; Mehdipour a kol., 2020).

Žiaľ, mnoho nenukleozidových DNMTi sa vyznačuje nízkou selektivitou a efektívnosťou a nie je známy mechanizmus ich pôsobenia (Tomaselli a kol., 2019). Aj napriek sľubným predklinickým výsledkom, len niektoré z týchto DNMTi sa posunuli do klinického skúšania (viď tab. 1), preto má pre budúcnosť veľký význam identifikovať ďalšie látky s inhibičným efektom voči DNMT. Veľmi sľubnými sú prístupy, ktoré využívajú IT technológie, predovšetkým tzv. VS (virtual screening), HTS (high-throughput screening) a CADD (computer-aided drug design) (Yu a kol., 2019).

Posttranslačná modifikácia histónov

DNA v eukaryotických bunkách je organizovaná vo forme makromolekulového komplexu nazývaného chromatin, ktorého základnou stavebnou jednotkou je tzv. nukleozóm. Nukleozóm pozostáva z oktaméru histónových proteínov [2 x (H2A, H2B, H3 a H4)], okolo ktorého sa obvíja DNA v dĺžke približne 1,75 závit (Triantaphyllopoulos a kol., 2016). Pri posttranslačných úpravách sú modifikované predovšetkým N-koncové aminokyseliny histónov, pričom môže nastať ich acetylácia, metylácia, fosforylácia, ubiquitinácia

alebo sumoylácia. Chromatínová štruktúra a génová expresia je modulovaná najmä a/deacetyláciou ϵ -aminokyselinových zvyškov lyzínu v histónových bielkovinách, v dôsledku čoho nastáva zmena konformácie nukleozómov a následne štruktúry chromatinu. Rovnováha medzi a/deacetyláciou histónov je regulovaná pôsobením špecifických enzýmov – histónacetyltransferáz (HAT) a už spomínaných HDAC. Tieto enzýmy majú dôležitú úlohu pri udržiavaní bunkovej homeostázy a proliferácie.

HDAC odstraňujú acetylovú skupinu z histónových proteínov a v koordinácii s niektorými HMT umožňujú väzbu tzv. „silencerov“, čo spôsobí stav transkripčne inaktívneho chromatinu. V súčasnosti je popísaných 18 typov HDAC prítomných v ľudských bunkách, ktoré vytvárajú dve veľké skupiny: 1) HDAC závislé na prítomnosti kationu zinku (Zn^{2+}); 2) HDAC závislé na prítomnosti nikotínamidadenín dinukleotidu (NAD^+). Na zinku závislé HDAC sú klasifikované do troch skupín (I, II a IV) a odlišujú sa štruktúrou, funkciou, bunkovou lokalizáciou a rôznou tkanivovou expresiou. V bunkách cicavcov sa vyskytujú aj už uvedené NAD^+ závislé HDAC, tzv. sirtuíny (skupina III) (Nakagawa a kol., 2007; Yoon a Eom, 2015).

Na rozdiel od HDAC, HAT katalyzujú pridanie acetylovej skupiny na lyzín, pričom ako donor acetylovej skupiny v tejto reakcii slúži acetylkoenzým A (acetyl-CoA). Acetylácia lyzínových zvyškov znižuje afinitu histónov k DNA, čím sa chromatin mení z kompaktnej na relaxovanú formu, čo aktivuje transkripčné a chromatin modifikujúce faktory a v konečnom dôsledku vedie k transkripcii génov.

Patologická expresia HDAC bola zistená pri mnohých nádorových ochoreniach, napríklad pri kolorektálnom karcinóme bola identifikovaná zvýšená expresia HDAC3 (skupina I), čo viedlo k inaktivácii dôležitého TSG *P21* (cyclin-dependent kinase inhibitor 1). Naopak, inhibícia aktivity HDAC3 viedla k aktivácii TSG *P21* a *P53*, čo spôsobilo zastavenie bunkovej proliferácie v G1 fáze pri nádoroch prsníka (Sarkar a kol., 2020). Patologic-

ká expresia HDAC bola detegovaná aj pri mnohých ďalších typoch nádorov, ako sú nádory hrubého čreva, pľúc, pankreasu a iných. Preto inhibícia aktivity HDAC predstavuje nový dynamický spôsob terapie ochorení, ktorý v poslednej dobe zaznamenal zvýšený záujem výskumníkov. Podobne ako v prípade DNMT sa hľadajú a syntetizujú nízkomolekulové látky s inhibičným účinkom – inhibítory HDAC (HDACi).

Inhibítory HDAC

Prvými oficiálne povolenými liekmi na báze posttranslačnej modifikácie histónov boli vorinostat a romidepsín. Kyselina hydroxamová v SAHA (suberoylanilid kyseliny hydroxámovej, generický názov vorinostat, obchodný názov Zolinza) pôsobí ako chelátor, ktorý reverzibilne viaže kation zinku v aktívnom mieste na molekule HDAC, čo bolo zistené kryštalografickými analýzami pomocou RTG žiarenia (Richon a kol., 1998). Inhibičný efekt vorinostatu sa realizuje priamou väzbou na HDAC alebo nepriamo – ovplyvnením rôznych transkripčných faktorov, napr. YY-1, Bcl6, E2F-1, Smad7, GATA-1 a P53 (Sarkar a kol., 2020). Liek Zolinza dostal oficiálne povolenie FDA v roku 2006 pre terapiu kožných T-bunkových lymfómov (CTCL – cutaneous T-cell lymphoma) (Marks a Breslow, 2007). Testujú sa aj možnosti využitia vorinostatu v kombinácii s inými účinnými látkami (napr. alkylačným činidlom temozolomid) alebo s rádioterapiou pre liečbu glioblastómu (GBM – glioblastoma multiforme) a rýchlo rastúcich nádorov mozgu (Sarkar a kol., 2020). V predklinických pokusoch sa tiež zistilo, že vorinostat stimuluje apoptózu a vyznačuje sa antiproliferačnou aktivitou v bunkových líniiach humánneho endometriálneho karcinómu typu I a II (Sarfstein a kol., 2011).

Romidepsín (obchodný názov Istodax), aktívna látka FK228, ktorá sa izoluje z baktérie *Chromobacterium violaceum*, dostal povolenie FDA v roku 2009 pre terapiu CTCL a ďalšie povolenie v roku 2011 pre terapiu periférneho T-bunkového lymfómu (PTCL – peripheral T-cell lymphoma) (Ueda a kol., 1994; Nakajima a kol., 1998; Piekarz

a kol., 2011; Ganesan, 2016; Reddy, 2016). Zistilo sa, že romidepsín je účinný aj voči nemalobunkovým nádorom pľúc (NSCLC – non-small-cell lung carcinoma) (Karthik a kol., 2014; Mottamal a kol., 2015), a tiež pri inflamatórnom karcinóme prsníka (IBC – inflammatory breast cancer) (Robertson a kol., 2013).

V poslednom čase dostali oficiálne povolenie pre využívanie v terapii onkologických ochorení ďalšie HDACi – belinostat, panobinostat a chidamid. Niektoré zdroje uvádzajú aj schválenie ďalšieho HDACi – pracinostatu (Sarkar a kol., 2020).

Belinostat (Beleodaq) bol schválený inštitúciou FDA v roku 2014 pre liečbu PTCL a panobinostat (Farydak) v roku 2015 pre liečbu mnohopočetných myelómov (Issa a kol., 2017; Cavenagh a Popat, 2018). Aj keď vážnym vedľajším účinkom panobinostatu je kardiálna toxicita, doteraz je jediným HDACi, ktorý bol schválený v EÚ. V klinickom skúšaní je ďalších desať HDACi na báze kyseliny hydroxámovej, napr. CUDC-101 firmy Curis, quizinostat firmy Janssen (látka, ktorú je možné podávať orálne sa testuje pre liečbu solídnych nádorov), a tiež tefinostat firmy GlaxoSmithKline (skúma sa cielená distribúcia tohto agensu do pečene) (Mottamal a kol., 2015). Chidamid (Epidaza), HDACi na báze benzamidu, bol povolený inštitúciou CFDA (China Food and Drug Administration) v roku 2015 pre liečbu PTCL pri recidíve alebo odolnosti voči inej liečbe, a tiež pre liečbu nádorov pankreasu. Pôsobí ako prirodzený epigenetický regulátor indukcie apoptózy a inhibítor bunkovej proliferácie (Shi a kol., 2017). Ďalšie potenciálne benzamidové HDACi sú napr. entinostat – v klinickom skúšaní (fáza III) v kombinácii s chemoterapiou pri nádoroch prsníka, alebo mocetinostat – v klinickom skúšaní (fáza II) pri uroteliálnych nádoroch a NSCLC (Ganesan a kol., 2019). Pracinostat bol schválený organizáciou FDA pre liečbu AML v roku 2016. Po nahromadení v bunkách tumoru spôsobuje acetyláciu histónov a reštrukturalizáciu chromatinu s následnou aktiváciou transkripcie rôznych TSG (Novotny-Diermayr a kol., 2010).

Keďže v mnohých typoch nádorov bola zistená zvýšená aktivita konkrétneho typu HDAC – a to HDAC3, nadobudol v posledných rokoch význam vývoj inhibítorov tohto enzýmu. Zistilo sa, že inhibítory HDAC3 vo významnej miere spomaľujú množenie nádorových buniek. V pokusoch bolo analyzovaných množstvo inhibítorov HDAC3, napríklad rôzne benzamidy, hydroxamáty, hydrazidy alebo tioly. Žiadna z týchto účinných látok však zatiaľ nebola použitá pre klinické testovanie, čo je výzvou pre budúcnosť (Sarkar a kol., 2020).

ZÁVER

Koncept liečby humánnych ochorení na báze modulácie epigenetických mechanizmov sa stal v posledných dvoch dekádach realitou, o čom svedčí registrácia ôsmich protinádorových nízkomolekulových liekov inhibujúcich DNMT a HDAC (enzýmy typu „writers“ a „erasers“). Tento úspech podnietil úsilie o rozšírenie portfólia cieľových enzýmov, ktoré realizujú epigenetické modifikácie. V poslednej dobe sa výskumníci orientujú na identifikáciu inhibítorov HMT (konkrétne lyzínových metyltransferáz – KMT), lyzínových demetyláz (KDM) a prvých enzýmov typu „readers“ – tzv. bromodomén. Hľadajú sa tiež možnosti modulácie modifikátorov chromatinu a súvisiacich procesov, kde sú v centre pozornosti enzýmy typu „writers“ ako DOT1L (disruptor of telomeric silencing 1-like), EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) a PRMT5 (protein arginine methyltransferase 5), ako aj enzýmy typu „erasers“ ako LSD1 (lysine-specific histone demethylase 1) a IDH (isocitrate dehydrogenase).

Implementácia epigenetických liekov do farmaceutickej klinickej praxe nie len v prípade nádorových ochorení sa v budúcnosti musí okrem nachádzania a testovania nových účinných látok orientovať na riešenie niekoľkých ďalších cieľov: napr. na zvýšenie selektivity potenciálnych látok voči jednotlivým izoformám epigenetických enzýmov – aj na zvýšenie selektivity v zmysle histónové versus

nehistónové proteíny a selektivity substrátov pre DNMT (mnohé enzýmy totiž modifikujú históny, ale rovnako aj iné proteíny, podobne SAM je substrátom pre DNMT ale aj HMT). Taktiež je nutné dosiahnuť eliminovanie vedľajších účinkov, identifikovať biomarkery monitorujúce vnímavosť voči epilektom a riziko návratu ochorenia, vytvárať nové *in vitro* modely testovania, skúmať účinné koncentrácie a dĺžku pôsobenia, ako aj mechanizmy individuálnej rezistencie voči epilektom a pod. Budúcnosť úspešnej epigenetickej liečby multifaktoriálnych chorôb, akými sú nádorové a iné ochorenia, spočíva aj v uplatňovaní tzv. multicieľových a polyfarmakologických prístupov, ktoré kombinujú epigenetické lieky navzájom, s inými typmi liekov, ako aj s inými osvedčenými liečebnými postupmi, ako napr. chemoterapia, imunoterapia alebo radiačná liečba.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená grantom vedeckej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR a SAV VEGA č. 1/0242/19.

ZOZNAM LITERATÚRY:

Amato, R. J., Stephenson, J., Hotte, S., Nemunaitis, J., Bélanger, K., Reid, G., Martell, R. E.: MG98, a second-generation DNMT1 inhibitor, in the treatment of advanced renal cell carcinoma. *Cancer Invest.*, 2012, 30 (5), 415 – 421.

Amodio, N., Rossi, M., Raimondi, L., Pitari, M. R., Botta, C., Tagliaferri, P., Tassone, P.: miR-29s: A family of epi-miRNAs with therapeutic implications in hematologic malignancies. *Oncotarget*, 2015, 6 (15), 12837 – 12861.

Asgatay, S., Champion, C., Marloie, G., Drujon, T., Senamaud-Beaufort, C., Ceccaldi, A., Erdmann, A., Rajavelu, A., Schambel, P., Jeltsch, A., Lequin, O., Karoyan, P., Arimondo, P. B., Guianvarc'h, D.: Synthesis and evaluation of analogues of N-Phthaloyl-tryptophan (RG108) as inhibitors of DNA methyltransferase 1. *J. Med.*

Chem., 2014, 57 (2), 421 – 434.

Biswas, S. a Rao, C. M.: Epigenetic tools (The Writers, The Readers and The Erasers) and their implications in cancer therapy. *Eur. J. Pharmacol.*, 2018, 837, 8 – 24.

Brueckner, B., Garcia Boy, R., Siedlecki, P., Musch, T., Kliem, H. C., Zielenkiewicz, P., Suhai, S., Wiessler, M., Lyko, F.: Epigenetic reactivation of tumor suppressor genes by a novel small-molecule inhibitor of human DNA methyltransferases. *Cancer Res.*, 2005, 65 (14), 6305 – 6311.

Brueckner, B., Rius, M., Markelova, M. R., Fichtner, I., Hals, P.-A., Sandvold, M. L., Lyko, F.: Delivery of 5-azacytidine to human cancer cells by elaidic acid esterification increases therapeutic drug efficacy. *Mol. Cancer Ther.*, 2010, 9 (5), 1256 – 1264.

Castellano, S., Kuck, D., Sala, M., Novellino, E., Lyko, F., Sbardella, G.: Constrained analogues of procaine as novel small molecule inhibitors of DNA methyltransferase 1. *J. Med. Chem.*, 2008, 51 (7), 2321 – 2325.

Castellano, S., Kuck, D., Viviano, M., Yoo, J., López-Vallejo, F., Conti, P., Tamborini, L., Pinto, A., Medina-Franco, J. L., Sbardella, G.: Synthesis and biochemical evaluation of Δ^2 -isoxazoline derivatives as DNA methyltransferase 1 inhibitors. *J. Med. Chem.*, 2011, 54 (21), 7663 – 7677.

Castillo-Aguilera, O., Depreux, P., Halby, L., Arimondo, P. B., Goossens, L.: DNA methylation targeting: the DNMT/HMT crosstalk challenge. *Biomolecules*, 2017, 7, 3.

Cattaneo, M., Pelosi, E., Castelli, G., Cerio, A. M., D'Angiò, A., Porretti, L., Rebulla, P., Pavesi, L., Russo, G., Giordano, A., Turri, J., Cicconi, L., Lo-Coco, F., Testa, U., Biunno, I.: A miRNA signature in human cord blood stem and progenitor cells as potential biomarker of specific acute myeloid leukemia subtypes. *J. Cell. Physiol.*, 2015, 230 (8), 1770 – 1780.

Cavenagh, J. D. a Popat, R.: Optimal management of histone deacetylase inhibitor-related adverse events in patients with multiple myeloma: a focus on panobinostat. *Clin. Lymphoma Myeloma*

Leuk., 2018, 18 (8), 501 – 507.

Champion, C., Guianvarc'h, D., Senamaud-Beaufort, C., Jurkowska, R. Z., Jeltsch, A., Ponger, I., Arimondo, P. B., Guieysse-Peugeot, A. I.: Mechanistic insights on the inhibition of c5 DNA methyltransferases by zebularine. *PLoS ONE*, 2010, 5 (8), e12388.

Datta, J., Ghoshal, K., Denny, W. A., Gamage, S. A., Brooke, D. G., Phiasivongsa, P., Redkar, S., Jacob, S. T.: A new class of quinoline-based DNA hypomethylating agents reactivates tumor suppressor genes by blocking DNA methyltransferase 1 activity and inducing its degradation. *Cancer Res.*, 2009, 69 (10), 4277 – 4285.

El-Deiry, W. S., Nelkin, B. D., Celano, P., Yen, R. W., Falco, J. P., Hamilton, S. R., Baylin, S. B.: High expression of the DNA methyltransferase gene characterizes human neoplastic cells and progression stages of colon cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88 (8), 3470 – 3474.

Gabbara, S. a Bhagwat, A. S.: The mechanism of inhibition of DNA (cytosine-5)-methyltransferases by 5-azacytosine is likely to involve methyl transfer to the inhibitor. *Biochem. J.*, 1995, 307 (Pt 1), 87 – 92.

Ganesan, A.: Chapter 2 – Romidepsin and the zinc-binding thiol family of natural product HDAC inhibitors. In Fischer, J., Childers, W. E., (Eds). *Successful Drug Discovery*. Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016. Vol. 2, 13 – 29.

Ganesan, A., Arimondo, P. B., Rots, M. G, Jeronimo, C., Berdasco, M.: The timeline of epigenetic drug discovery: from reality to dreams. *Clinical Epigenetics*, 2019, 11, 174.

Garzon, R., Heaphy, C. E. A., Havelange, V., Fabbri, M., Volinia, S., Tsao, T., Zanesi, N., Kornblau, S. M., Marcucci, G., Calin, G. A., Andreeff, M., Croce, C. M.: MicroRNA 29b functions in acute myeloid leukemia. *Blood* 2009, 114 (26), 5331 – 5341.

Girault, I., Tozlu, S., Lidereau, R., Bieche, I.: Expression analysis of DNA methyltransferases 1, 3A, and 3B in sporadic breast carcinomas. *Clin. Cancer Res.*, 2003, 9 (12), 4415 – 4422.

- Goll, M. G. a Bestor, T. H.: Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu. Rev. Biochem.*, 2005, 74, 481 – 514.
- Gros, C., Fleury, L., Nahoum, V., Faux, C., Valente, S., Labella, D., Cantagrel, F., Rilova, E., Bouhlef, M. A., David-Cordonnier, M.-H., Dufau, I., Ausseil, F., Mai, A., Mourey, L., Lacroix, L., Arimondo, P. B.: New insights on the mechanism of quinoline-based DNA Methyltransferase inhibitors. *J. Biol. Chem.*, 2015, 290 (10), 6293 – 6302.
- Guo, D., Myrdal, P. B., Karlage, K. L., O'Connell, S. P., Wissinger, T. J., Tabibi, S. E., Yalkowsky, S. H.: Stability of 5-fluoro-2'-deoxycytidine and tetrahydrouridine in combination. *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 2010, 11 (1), 247 – 252.
- Halušková, J.: Epigenetic studies in human diseases. *Fol. Biol. (Praha)*, 2010, 56 (3), 83 – 96.
- Ito, S., Shen, L., Dai, Q., Wu, S. C., Collins, L. B., Swenberg, J. A., He, C., Zhang, Y.: Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science*, 2011, 333 (6047), 1300 – 1303.
- Issa, M. E., Takhsha, F. S., Chirumamilla, C. S., Perez-Novo, C., Vanden Berghe, W., Cuendet, M.: Epigenetic strategies to reverse drug resistance in heterogeneous multiple myeloma. *Clin. Epigenetics*, 2017, 9, 17.
- Jia, D., Jurkowska, R. Z., Zhang, X., Jeltsch, A., Cheng, X.: Structure of Dnmt3a bound to Dnmt3L suggests a model for de novo DNA methylation. *Nature*, 2007, 449 (7159), 248 – 251.
- Jiang, H., Zhang, G., Wu, J.-H., Jiang, C.-P.: Diverse roles of miR-29 in cancer (review). *Oncol. Rep.*, 2014, 31 (4), 1509 – 1516.
- Kantarjian, H. M., Roboz, G. J., Kropf, P. L., Yee, K. W. L., O'Connell, C. L., Tibes, R., Walsh, K. J., Podoltsev, N. A., Griffiths, E. A., Jabbour, E., Garcia-Manero, G., Rizzieri, D., Stock, W., Savona, M. R., Rosenblatt, T. L., Berdeja, J. G., Ravandi, F., Rock, E. P., Hao, Y., Azab, M., Issa, J.-P. J.: Guadecitabine (SGI-110) in treatment-naïve patients with acute myeloid leukaemia: phase 2 results from a multicentre, randomised, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol.*, 2017, 18 (10), 1317 – 1326.
- Karthik, S., Sankar, R., Varunkumar, K., Ravikumar, V.: Romidepsin induces cell cycle arrest, apoptosis, histone hyperacetylation and reduces matrix metalloproteinases 2 and 9 expression in bortezomib sensitized non-small cell lung cancer cells. *Biomed. Pharmacother.*, 2014, 68 (3), 327 – 334.
- Kohli, R. M. a Zhang, Y.: TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature*, 2013, 502 (7472), 472 – 479.
- Langevin, S. M. a Kelsey, K. T.: The fate is not always written in the genes: epigenomics in epidemiologic studies. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2013, 54 (7), 533 – 541.
- Lee, B. H., Yegnashubramanian, S., Lin, X., Nelson, W. G.: Procainamide is a specific inhibitor of DNA methyltransferase 1. *J. Biol. Chem.*, 2005, 280 (49), 40 749 – 40 756.
- Marks, P. A. a Breslow, R.: Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. *Nat. Biotechnol.*, 2007, 25 (1), 84 – 90.
- Mehdipour, P., Murphy, T., De Carvalho, D. D.: The role of DNA-demethylating agents in cancer therapy. *Pharmacol. Ther.*, 2020, 205, 107 416.
- Melki, J. R., Warnecke, P., Vincent, P. C., Clark, S. J.: Increased DNA methyltransferase expression in leukaemia. *Leukemia*, 1998, 12, 311 – 316.
- Miyake, T., Endo, K., Honjo, S., Hirooka, Y., Ikeguchi, M.: Expression of DNA methyltransferase (DNMT) 1, 3a and 3b proteins in human hepatocellular carcinoma. *Yonago Acta Med.*, 2010, 53, 1 – 7.
- Mottamal, M., Zheng, S., Huang, T. L., Wang, G.: Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new anticancer agents. *Molecules*, 2015, 20 (3), 3898 – 3941.
- Nakagawa, M., Oda, Y., Eguchi, T., Aishima, S., Yao, T., Hosoi, F., Basaki, Y., Ono, M., Kuwano, M., Tanaka, M., Tsuneyoshi, M.: Expression profile of class I histone deacetylases in human cancer tissues. *Oncol. Rep.*, 2007, 18 (4), 769 – 774.

- Nakajima, H., Kim, Y. B., Terano, H., Yoshida, M., Horinouchi, S.: FR901228, a potent antitumor antibiotic, is a novel histone deacetylase inhibitor. *Exp. Cell Res.*, 1998, 241 (1), 126 – 133.
- Novotny-Diermayr, V., Sangthongpitag, K., Hu, C. Y., Wu, X., Sausgruber, N., Yeo, P., Greicius, G., Pettersson, S., Liang, A. L., Loh, Y. K., Bonday, Z., Goh, K. C., Hentze, H., Hart, S., Wang, H., Ethirajulu, K., Wood, J. M.: SB939, a novel potent and orally active histone deacetylase inhibitor with high tumor exposure and efficacy in mouse models of colorectal cancer. *Mol. Canc. Therapeut.*, 2010, 9 (3), 642 – 652.
- Oh, B. K., Kim, H., Park, H. J., Shim, Y. H., Choi, J., Park, C., Park, Y. N.: DNA methyltransferase expression and DNA methylation in human hepatocellular carcinoma and their clinicopathological correlation. *Int. J. Mol. Med.*, 2007, 20 (1), 65 – 73.
- Okano, M., Bell, D. V., Haber, D. A., Li, E.: DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell*, 1999, 99 (3), 247 – 257.
- Pan, Y., Liu, G., Zhou, F., Su, B., Li, Y.: DNA methylation profiles in cancer diagnosis and therapeutics. *Clin. Exp. Med.*, 2018, 18 (1), 1 – 14.
- Patra, S. K., Patra, A., Zhao, H., Dahiya, R.: DNA methyltransferase and demethylase in human prostate cancer. *Mol. Carcinog.*, 2002, 33 (3), 163 – 171.
- Pechalrieu, D., Etievant, C., Arimondo, P. B.: DNA methyltransferase inhibitors in cancer: From pharmacology to translational studies. *Biochem. Pharmacol.*, 2017, 129, 1 – 13.
- Piekarz, R. L., Frye, R., Prince, H. M., Kirschbaum, M. H., Zain, J., Allen, S. L., Jaffe, E. S., Ling, A., Turner, M., Peer, C. J., Figg, W. D., Steinberg, S. M., Smith, S., Joske, D., Lewis, I., Hutchins, L., Craig, M., Fojo, A. T., Wright, J. J., Bates, S. E.: Phase 2 trial of romidepsin in patients with peripheral T-cell lymphoma. *Blood*, 2011, 117 (22), 5827 – 5834.
- Pradhan, S., Esteve, P., Zhang, G.: *Dnmt inhibitors*. Patent WO2015073360, May 21, 2015.
- Rakyan, V. K., Down, T. A., Balding, D. J.: Epigenome-wide association studies for common human diseases. *Nat. Rev. Genet.*, 12 (8), 529 – 541.
- Reddy, S. A.: Romidepsin for the treatment of relapsed/refractory cutaneous T cell lymphoma (mycosis fungoides/Sézary syndrome): use in a community setting. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2016, 106, 99 – 107.
- Richon, V. M., Emiliani, S., Verdin, E., Webb, Y., Breslow, R., Rifkind, R. A., Marks, P. A.: A class of hybrid polar inducers of transformed cell differentiation inhibits histone deacetylases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95 (6), 3003 – 3007.
- Robertson, F. M., Chu, K., Boley, K. M., Ye, Z., Liu, H., Wright, M. C., Moraes, R., Zhang, X., Green, T. L., Barsky, S. H., Heise, C., Cristofanilli, M.: The class I HDAC inhibitor romidepsin targets inflammatory breast cancer tumor emboli and synergizes with paclitaxel to inhibit metastasis. *J. Exp. Therapeut. Oncol.*, 2013, 10 (3), 219 – 233.
- Robertson, K. D.: DNA methylation and human disease. *Nat. Rev. Genet.*, 2005, 6 (8), 597 – 610.
- Roll, J. D., Rivenbark, A. G., Jones, W. D., Coleman, W. B.: DNMT3b overexpression contributes to the hypermethylator phenotype in human breast cancer cell lines. *Mol. Cancer*, 2008, 7, 15.
- Ruscio, A. D., Ebralizde, A. K., Tenen, D. G., Leone, G.: *Chimeric RNA oligonucleotides and uses thereof*. U.S. Patent 20140171492 A1, October 18, 2012.
- Sarfstein, R., Bruchim, I., Fishman, A., Werner, H.: The mechanism of action of the histone deacetylase inhibitor vorinostat involves interaction with the insulin-like growth factor signaling pathway. *PloS One*, 2011, 6 (9), e24468.
- Sarkar, R., Banerjee, S., Amin, S. A., Adhikari, N., Jha, T.: Histone deacetylase 3 (HDAC3) inhibitors as anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 2020, 192, 112 171.
- Segura-Pacheco, B., Trejo-Becerril, C., Perez-Cardenas, E., Taja-Chayeb, L., Mariscal, I., Chavez,

- A., Acuña, C., Salazar, A. M., Lizano, M., Dueñas-Gonzalez, A.: Reactivation of tumor suppressor genes by the cardiovascular drugs hydralazine and procainamide and their potential use in cancer therapy. *Clin. Cancer Res.*, 2003, 9 (5), 1596 – 1603.
- Shen, H. a Laird, P. W.: In epigenetic therapy, less is more. *Cell Stem Cell*, 2012, 10 (4), 353 – 354.
- Shi, Y., Jia, B., Xu, W., Li, W., Liu, T., Liu, P., Zhao, W., Zhang, H., Sun, X., Yang, H., Zhang, X., Jin, J., Jin, Z., Li, Z., Qiu, L., Dong, M., Huang, X., Luo, Y., Wang, X., Wang, X., Wu, J., Xu, J., Yi, P., Zhou, J., He, H., Liu, L., Shen, J., Tang, X., Wang, J., Yang, J., Zeng, Q., Zhang, Z., Cai, Z., Chen, X., Ding, K., Hou, M., Huang, H., Li, X., Liang, R., Liu, Q., Song, Y., Su, H., Gao, Y., Liu, L., Luo, J., Su, L., Sun, Z., Tan, H., Wang, H., Wang, J., Wang, S., Zhang, H., Zhang, X., Zhou, D., Bai, O., Wu, G., Zhang, L., Zhang, Y.: Chidamide in relapsed or refractory peripheral T cell lymphoma: a multicenter real-world study in China. *J. Hematol. Oncol.*, 2017, 10, 69.
- Siedlecki, P., Boy, R. G., Musch, T., Brueckner, B., Suhai, S., Lyko, F., Zielenkiewicz, P.: Discovery of two novel, small-molecule inhibitors of DNA methylation. *J. Med. Chem.*, 2006, 49 (2), 678 – 683.
- Singh, V., Sharma, P., Capalash, N.: DNA methyltransferase-1 inhibitors as epigenetic therapy for cancer. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2013, 13 (4), 379 – 399.
- Song, S. H., Han, S. W., Bang, Y. J.: Epigenetic-based therapies in cancer: progress to date. *Drugs*, 2011, 71 (18), 2391 – 2403.
- Stresemann, C. a Lyko, F.: Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int. J. Cancer*, 2008, 123 (1), 8 – 13.
- Suzuki, T., Tanaka, R., Hamada, S., Nakagawa, H., Miyata, N.: Design, synthesis, inhibitory activity, and binding mode study of novel DNA methyltransferase 1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, 20 (3), 1124 – 1127.
- Thottassery, J. V., Sambandam, V., Allan, P. W., Maddy, J. A., Maxuitenko, Y. Y., Tiwari, K., Hollingshead, M., Parker, W. B.: Novel DNA methyltransferase-1 (DNMT1) depleting anticancer nucleotides, 4'-thio-2'-deoxycytidine and 5-aza-4'-thio-2'-deoxycytidine. *Cancer Chemotherap. Pharmacol.*, 2014, 74 (2), 291 – 302.
- Tomaselli, D., Lucidi, A., Rotili, D., Mai, A.: Epigenetic polypharmacology: A new frontier for epigenetic drug discovery. *Med. Res. Rev.*, 2020, 40, 190 – 244.
- Triantaphyllopoulos, K. A., Ikononopoulos, I., Bannister, A. J.: Epigenetics and inheritance of phenotype variation in livestock. *Epigenet. Chromatin*, 2016, 9, 31.
- Ueda, H., Manda, T., Matsumoto, S., Mukumoto, S., Nishigaki, F., Kawamura, I., Shimomura, K.: FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* No. 968. III. Antitumor activities on experimental tumors in mice. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 1994, 47 (3), 315 – 323.
- Villar-Garea, A., Fraga, M. F., Espada, J., Esteller, M.: Procaine is a DNA-demethylating agent with growth-inhibitory effects in human cancer cells. *Cancer Res.*, 2003, 63 (16), 4984 – 4989.
- Winquist, E., Knox, J., Ayoub, J.-P., Wood, L., Wainman, N., Reid, G. K., Pearce, L., Shah, A., Eisenhauer, E.: Phase II trial of DNA methyltransferase 1 inhibition with the antisense oligonucleotide MG98 in patients with metastatic renal carcinoma: A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group investigational new drug study. *Invest. New Drugs*, 2006, 24 (2), 159 – 167.
- Xu, P., Hu, G., Luo, C., Liang, Z.: DNA methyltransferase inhibitors: An updated patent review (2012–2015). *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2016, 26 (9), 1017 – 1030.
- Yan, B. Guo, Q., Fu, F.-J., Wang, Z., Yin, Z., Wei, Y.-B., Yang, J.-R.: The role of miR-29b in cancer: Regulation, function, and signaling. *Onco. Targets Ther.*, 2015, 8, 539 – 548.
- Yoo, C. B., Cheng, J. C., Jones, P. A.: Zebularine: a new drug for epigenetic therapy. *Biochem. Soc. Trans.*, 2004, 32 (Pt 6), 910 – 912.
- Yoo, C. B., Jeong, S., Egger, G., Liang, G., Phiasivongsa, P., Tang, C., Redkar, S., Jones, P. A.: Delivery of 5-aza-2'-deoxycytidine to cells using

oligodeoxynucleotides. *Cancer Res.*, 2007, 67, 6400 – 6408.

Yoon, S. a Eom, G. H.: HDAC and HDAC inhibitor: from cancer to cardiovascular diseases. *Chonnam. Med. J.*, 2015, 52 (1), 1 – 11.

Yu, J., Xie, T., Wang, Z., Wang, X., Zeng, S., Kang, Y., Hou, T.: DNA methyltransferases: emerging targets for the discovery of inhibitors as potent anticancer drugs. *Drug Discov. Today*, 2019,

24 (12), 2323 – 2331.

Yu, Z., Xiao, Q., Zhao, I., Ren, J., Bai, X., Sun, M., Wu, H., Liu, X., Song, Z., Yan, Y., Mi, X., Wang, E., Jin, F., Wei, M.: DNA methyltransferase 1/3a overexpression in sporadic breast cancer is associated with reduced expression of estrogen receptor-alpha/breast cancer susceptibility gene 1 and poor prognosis. *Mol. Carcinog.*, 2015, 54 (9), 707 – 719.



PRESKRIPCIA ANTITROMBOTÍK V TERAPII VENÓZNYCH OCHORENÍ

PRESCRIPTION OF ANTITROMBOTIC DRUGS IN THE THERAPY OF VENOUS DISEASES

Kolesárová, Mária; Olachová, Anna

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

maria.kolesarova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Vénova tromboembólia (VTE) vzniká pri uvoľnení trombu a jeho pohybe cievnym riečiskom s možným vznikom pľúcnej embólie, čo môže prispieť k vysokej vaskulárnej morbidite a mortalite pacientov. Antitrombotiká zohrávajú dôležitú úlohu v primárnej a sekundárnej prevencii a v liečbe u pacientov s artériovou, koronárnou, intrakardiálnou a venóznou trombózou. Patria medzi najindikovanejšiu skupinu liečiv v terapii kardiovaskulárnych (KVS) ochorení. Cieľom štúdie bola analýza a porovnanie farmakoterapie venózných ochorení prostredníctvom preskripcie vyselektovaných lekárskeho záznamov z obdobia 1. polroku 2018 v dvoch verejných lekárnach vo Vranove nad Topľou a v Hanušovciach nad Topľou. Výsledky práce poukazujú na skutočnosť, že v terapii venózných ochorení boli predpisované hlavne antikoagulanciá, predovšetkým nízko-

molekulárny heparín nadroparín a sulodexid, ktoré boli indikované hlavne pri trombóze, flebitíde a tromboflebitíde povrchových žíl dolných končatín a posttrombotickom syndróme. Z celkového pohľadu nebol zaznamenaný výrazný rozdiel v preskripcii antitrombotík medzi dvoma verejnými lekárnami. Prípadné odlišnosti mohli byť ovplyvnené lokalizáciou kardiologickej a angiologickej ambulancie v blízkosti 1. lekárne a konkrétnymi kardiovaskulárnymi diagnózami pacientov.

Výsledky štúdie ukazujú, že antitrombotická terapia zohráva dôležitú úlohu v prevencii tromboembolických príhod KVS ochorení. Antitrombotická terapia je častokrát doživotná, preto nesmie byť pacientom podceňovaná a vyžaduje jeho adherenciu.

Kľúčové slová: antikoagulanciá; tromboembolická choroba; trombóza

ABSTRACT

Venous thromboembolism (VTE) occurs when the thrombus is released and moved through the bloodstream with the possible development of pulmonary embolism, which can contribute to high vascular morbidity and mortality in patients. Antithrombotic agents play an important role in primary and secondary prevention and treatment in patients with arterial, coronary, intracardiac and venous thrombosis. They are among the most indicated group of drugs in the treatment of cardiovascular (KVS) diseases. The aim of the study was the analysis and comparison of pharmacotherapy of venous diseases through the prescription of the selected medical records from the period of the first half of 2018 in two public pharmacies in Vranov nad Topľou and Hanušovce nad Topľou. The results show that in the treatment of vein diseases mainly anticoagulants, especially low molecular weight heparin nadroparin and sulodexide, which were indicated mainly in thrombosis, phlebitis and thrombophlebitis of the superficial veins of the lower extremities and Postthrombotic syndrome were prescribed. Overall, there was no significant difference in the prescription of antithrombotic drugs between the two public pharmacies. Alternatively, the differences may have been influenced by the location of the cardiology and angiology clinic near the 1st pharmacy and the specific cardiovascular diagnoses of the patients.

The results show that antithrombotic therapy plays an important role in the prevention of thromboembolic events in KVS. Antithrombotic therapy is often lifelong, so it must not be underestimated by the patient and therefore requires adherence.

Key words: anticoagulants; thromboembolic disease; thrombosis

ÚVOD

Trombóza vzniká následkom poruchy rovnováhy medzi protrombotickými a antitrombotickými pôsobiacimi mechanizmami. Pri lokálnom postihnutí, hlavne artériového riečiska, zohráva kľúčovú úlohu primárna, teda doštičková hemostáza. Pri vénovej tromboembólii je rozhodujúca sekundárna hemostáza, čiže hemokoagulácia. Pre zaistenie rovnováhy systému je vlastná koagulačná kaskáda pod kontrolou antitrombotických spôsobov a k zabezpečeniu rozpustenia trombu a rekanalizácie tepny slúži kaskáda proteáz zabezpečujúcich fibrinolýzu (Karetová a Bultas, 2015). Artériové tromby sú tvorené predovšetkým krvnými doštičkami a v menšej miere fibrínom. Žilové tromby sa skladajú predovšetkým z fibrínu a zachytených erytrocytov, obsahujú veľmi málo trombocytov. Z toho dôvodu je odlišná liečba aj prevencia vzniku trombov, keď pri artériových ochoreniach s možným vznikom tromboembólii sa využívajú protidoštičkové lieky, pri žilových tromboembóliách sa indikujú antikoagulanty (Karetová a Bultas, 2015).

Okrem trombózy registrujeme aj angiotrombózu (vznikajúca v artériách sa definuje ako artériová trombóza; vznikajúca v žilách ako žilová trombóza, vénová trombóza alebo flebotrombóza). Ak uvoľnený trombus dosiahne periférnejšie, distálnejšie časti tepnového systému, spôsobí artériovú tromboembóliu (ATE) alebo artériovú tromboembolickú chorobu (ATECH). Pri uvoľnení trombu v žilách a jeho pohybe cievny riečiskom dochádza najčastejšie k embólii pľúcnych ciev a vzniku pľúcnej embólie, správnejšie nazývanej vénová tromboembólia (VTE), flebotromboembólia alebo vénová tromboembolická choroba (VTECH) (Gavorník, 2012; Gavorník a kol., 2017).

VTE patrí medzi multifaktoriálne ochorenie. K rizikovým faktorom patrí nadobezita až obezita, vyšší vek, gravidita, užívanie hormonálnej antikoncepcie, chirurgické výkony, trauma, malígne nádorové ochorenia, srdcové zlyhávanie, metabolický syndróm X, edémové stavy či chronická vénová choroba

dolných končatín (Gavorník, 2001). Zvýšený výskyt tromboembolických príhod (o 50 – 70 %) a fatálnych pľúcnych embólií (o 70 – 80 %) bol pozorovaný práve u pacientov s vnútornými chorobami. Následná hospitalizácia pre akútnu vnútornú chorobu je nezávisle spojená až s 8-násobným zvýšeným rizikom VTE (ACPP, 2008). Vo vénovej tromboprophylaxii sa používajú antikoagulanty ako nefrakcionovaný heparín a nízkomolekulárne heparíny (LMWH), fondaparinux a warfarín. Nefrakcionovaný heparín, LMWH a fondaparinux patriace medzi nepriame antikoagulanty účinkujú väzbou na antitrombín, ktorý zmenou konformácie inhibuje katalytické miesto trombínu či koagulačného faktora FXa. Liečba heparínom však môže byť komplikovaná úzkym terapeutickým oknom či nežiaducimi účinkami (NÚ). Medzi najčastejšie z nich patrí krvácanie, trombocytopénia či osteoporóza (Karetová a Bultas, 2015). Liečivom prvej voľby je preto stále warfarín patriaci medzi najrozšírenejšie perorálne antikoagulanty. Inhibuje reduktázu vitamínu K, katalyzuje prechod oxidovanej epoxidovej formy vitamínu K do biologicky aktívnej redukovanej hydrochinovej formy. Vplyvom deplécie redukovanej formy vitamínu K viazne karboxylácia kyseliny glutamovej potrebnej pre syntézu aktívnej formy rady koagulačných faktorov II, VI, IX, X (Karetová a Bultas, 2015). Bolo zistené, že LMWH, ale aj warfarín a fondaparinux znižujú riziko asymptomatickej a symptomatickej VTE o 50 % u širokého spektra pacientov s vnútornými chorobami v porovnaní s pacientami bez tromboprophylaxie (Gavorník, 2009). Napriek mnohým pozitívam vykazuje warfarín negatíva ako nutnosť pravidelného monitorovania liečby, potrebu individuálneho dávkovania s úpravou pri zmene interagujúcich liečiv (vysoký výskyt interakcií s inými liečivami a potravou) (Burdová, 2015). V terapii venózných ochorení sa využívajú aj nové perorálne antikoagulanty (NOAK) – dabigatran, rivaroxaban, apixaban a edoxaban vykazujúce oproti warfarínu praktické výhody ako jednoduchosť aplikácie, dávkovania, vysokú bezpečnosť a

absenciu pravidelného monitorovania účinku. Ich mechanizmus účinku spočíva v priamej a selektívnej inhibícii koagulačného faktora FXa, čím sa blokuje vnútorná aj vonkajšia cesta koagulačnej kaskády a vzniká trombín. Dabigatran pôsobí v plazme ako kompetitívny, reverzibilný a priamy inhibítor trombínu, čím bráni jeho vzniku. Inhibuje trombín voľný, viazaný na fibrín a tiež trombínom indukovanú agregáciu trombocytov (Burdová, 2015).

Cieľom štúdie bola analýza a porovnanie farmakoterapie venózných ochorení prostredníctvom preskripcie vyselektovaných preskripčných záznamov (PZ) z obdobia 1. polroku 2018 v dvoch verejných lekárnach vo Vranove nad Topľou a v Hanušovciach nad Topľou.

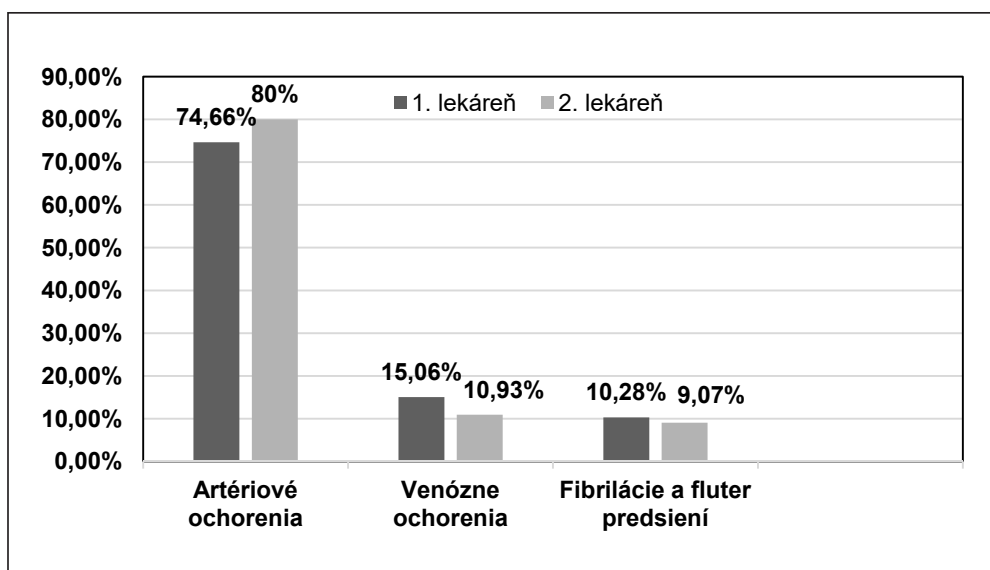
METODIKA PRÁCE

Preskripcia antitrombotík bola sledovaná vo verejných lekárnach v dvoch východoslovenských mestách Vranov nad Topľou a Hanušovce nad Topľou v priebehu 6 mesiacov od 1. 1. 2018 do 30. 6. 2018. **Prvá lekáreň** bola situovaná vo Vranove nad Topľou v blízkosti ambulancií angiológa, kardiológa, endokrinológa a všeobecných lekárov. **Druhá lekáreň** bola situovaná v Hanušovciach nad Topľou v zdravotnom stredisku, kde sa súčasne nachádza pediater, všeobecný lekár pre dospelých, gynekológ a zubár. Pacienti navštevujúci túto lekáreň majú odborných lekárov vo Vranove nad Topľou alebo v Prešove, ale lieky si vyberajú v lekární blízko svojho bydliska.

Podľa Medzinárodnej klasifikácie chorôb 10 (MKCH 10) boli vyselektované preskripčné záznamy (PZ) s diagnózami **I** v rozsahu I10 – I87.9 Choroby obehovej sústavy, s potenciálnym rizikom trombózy, na artériové (I10 – I79.8), venózne ochorenia (I26 – I26.9; I80.0 – I87.8) a fibrilácie a flutter predsiení (I48.0 – I49.9) (ICD – 10 Version: 2016). S prihliadnutím na cieľ štúdie bola v rámci preskripcie sledovaná antitrombotická liečba venózných ochorení s potenciálnym rizikom vzniku trombózy.

Celkový počet PZ vo vranovskej lekární bol

Graf 1: Zastúpenie ochorení obehovej sústavy s antitrombotickou terapiou



817. Z toho predstavovali PZ pre venózne ochorenia 15,06 % (123 PZ). Celkový počet PZ v hanušovskej lekárni bol 375. Z toho predstavovali PZ pre venózne ochorenia 10,93 % (41 PZ). Všetky údaje boli spracované a vyhodnotené v programe Excel formou grafov.

VÝSLEDKY

Preskripcia antitrombotík pri kardiovaskulárnych ochoreniach v prevencii tromboembolizmu

Keďže antitrombotiká sa indikujú na prevenciu tromboembolizmu, v terapii artériových, venózných ochorení, fibrilácie a fluteru predsiení, rozdelili sme ich do troch skupín a následne sledovali v lekárňach. Z PZ z vranovskej lekárne sa analyzovalo 817 receptov a hanušovskej lekárne 375 receptov s indikovanou antitrombotickou terapiou.

Výsledky z lekárne vo Vranove nad Topľou ukazujú na nasledovné: najčastejšiu indikáciu antitrombotík predstavovali artériové ochorenia, a to v 74,66 % (610) PZ. Venózne ochorenia boli zastúpené v 15,06 % (123) PZ. A na záver, fibrilácie a fluter

predsiení boli zastúpené najmenej v rozsahu 10,28 % (84) PZ (vid' graf 1).

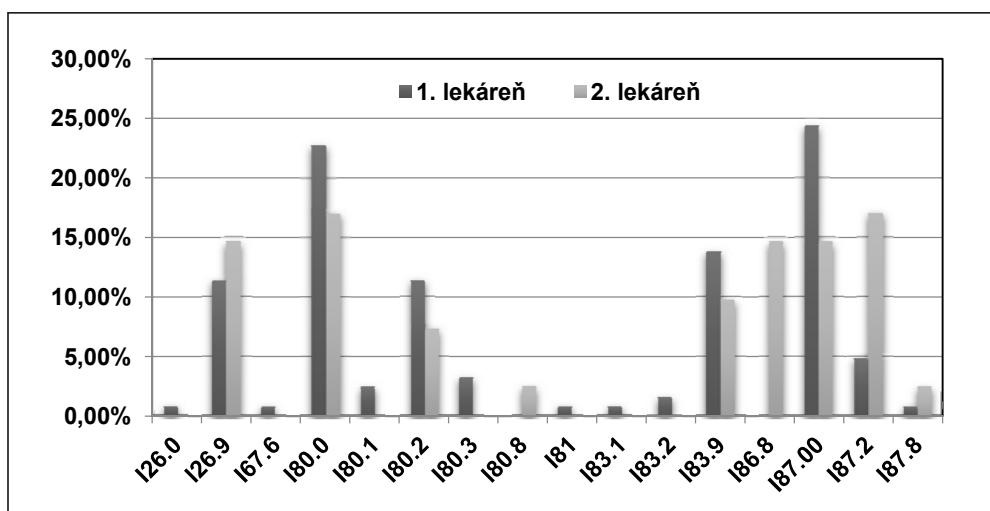
Údaje z lekárne v Hanušovciach nad Topľou indikujú artériové ochorenia v rozsahu 80 % (300) PZ, venózne ochorenia v rozsahu 10,93 % (41) PZ a fibrilácie a fluter predsiení v rozsahu 9,07 % (34) PZ (vid' graf 1).

Diagnózy venózných ochorení

Vo Vranove and Topľou sa z venózných ochorení (123) PZ s antitrombotickou liečbou najčastejšie vyskytovala diagnóza Posttrombotický syndróm (I87.00) v zastúpení v 24,39 % (30) PZ. Trombóza, flebitída a tromboflebitída povrchových žíl dolných končatín (I80.0) bola druhým najčastejším ochorením s počtom 22,76 % (28) PZ. Varixy dolných končatín bez vredu alebo zápalu (I83.9) bola tretia najčastejšia diagnóza v 13,93 % prípadov (vid' graf 2).

V Hanušovciach nad Topľou (41) PZ boli najčastejšie indikované antitrombotiká na Trombózu, flebitídu a tromboflebitídu povrchových žíl dolných končatín (I80.0) a na Žilovú insuficienciu (I87.2) v rovnakom zastúpení po 17,07 % (7) PZ. Pľúcna embólia bez prejavov akútneho *cor pulmonale*

Graf 2: Zastúpenie vénových ochorení na základe analýzy preskripčných záznamov



I26.0 Pľúcna embólia s prejavmi akútneho *cor pulmonale*, I26.9 Pľúcna embólia bez prejavov akútneho *cor pulmonale*, I67.6 Nehnisavá trombóza intrakraniálneho žilového systému, I80.0 Trombóza, flebitída a tromboflebitída povrchových žíl dolných končatín, I80.1 Trombóza, flebitída a tromboflebitída v *femoralis*, I80.2 Trombóza, flebitída a tromboflebitída iných hlbokých žíl dolných končatín, I80.3 Trombóza, flebitída a tromboflebitída dolných končatín, bližšie neurčená, I80.8 Trombóza, flebitída a tromboflebitída na iných miestach, I81 Trombóza v. portae, I83.1 Varixy dolných končatín so zápalom, I83.2 Varixy dolných končatín s vredom a zápalom, I83.9 Varixy dolných končatín bez vredu alebo zápalu, I86.8 Varixy na iných bližšie určených miestach, I87.00 Posttrombotický syndróm, I87.2 Žilová insuficiencia (chronická, periférna), I87.8 Iné choroby žily bližšie neurčené

(I26.9), varixy na iných bližšie určených miestach (I86.8) a Posttrombotický syndróm (I87.00) predstavovali 14,63 % (6) PZ. Varixy dolných končatín bez vredu alebo zápalu (I83.9) predstavovali tretiu najčastejšiu diagnózu v zastúpení 9,76 % PZ (viď graf 2).

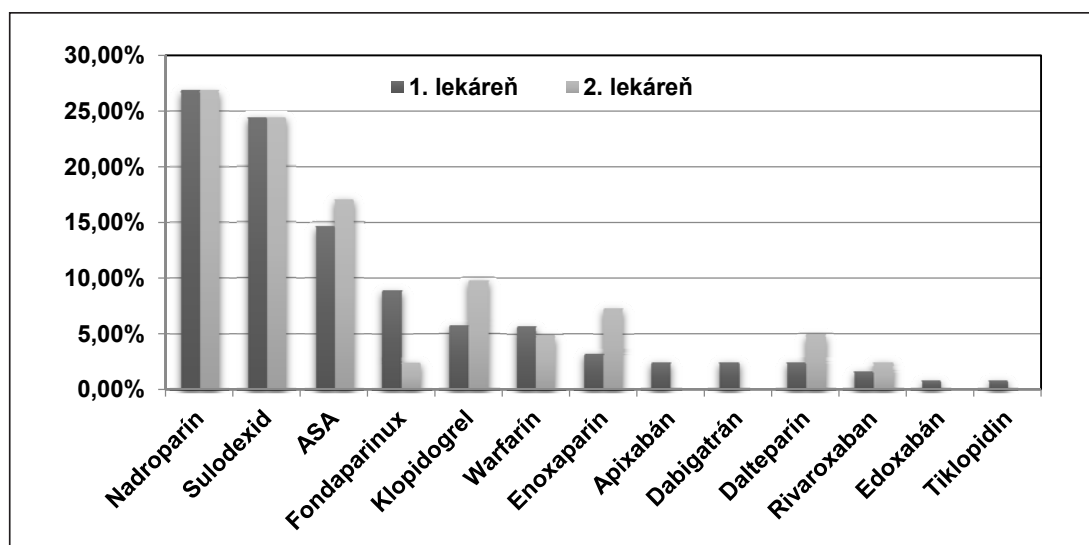
Terapia venózných ochorení

Zo skupiny antiagregancií a antikoagulancií boli v terapii venózných ochorení indikované nasledovné liečivá: v lekárni vo Vranove nad Topľou tvorili antiagreganciá 21,14 % (26) a antikoagulanciá 78,86 % (97). V Hanušovciach nad Topľou to boli antiagreganciá v 26,83 % (11) prípadov a antikoagulanciá v 73,17 % (30) prípadov.

PZ ukázali, že najčastejšou indikovanou terapiou

venózných ochorení v oboch lekárňach bola preskripcia nadroparínu 26,83 % (33) v 1. lekárni a v 2. lekárni 26,83 % (11). Lekármi druhé najčastejšie ordinované liečivo bol sulodexid 24,39 % (30) v 1. lekárni a taktiež 24,39 % (10) PZ v 2. lekárni. Antiagreganciá boli na terapiu venózných ochorení indikované až ako tretie v poradí v zastúpení acetylsalicylovej kyseliny (ASA) v 1. lekárni 14,63 % (18) a v 2. lekárni 17,07 % (7) či klopidoogrelu (5,69 % a 9,76 %). Taktiež boli zaznamenané PZ s indikovaným fondaparinuxom, hlavne v 1. lekárni (8,94 %). Preskripcia warfarínu bola na úrovni 5,69 % v 1. lekárni a 4,88 % v 2. lekárni. Hlavne v 1. lekárni boli zaznamenané aj PZ s NOAK ako apixabán (2,44 %), dabigatrán (2,44 %) a rivaroxabán (1,63 %) (viď graf 3).

Graf 3: Antitrombotická terapia venózných ochorení



ASA – kyselina acetylsalicylová

DISKUSIA

Antitrombotiká zohrávajú významnú úlohu v primárnej/sekundárnej prevencii a v liečbe u pacientov s artériovou, koronárnou a venóznou trombózou. Pre podrobnejšiu analýzu a porovnanie indikácií antitrombotík v klinickej praxi boli preskripčné záznamy s diagnózami I10 – I87.9 rozdelené do troch skupín na artériové, venózne ochorenia a fibrilácia/flutter predsiení. Najväčšiu skupinu ochorení s antitrombotickou terapiou tvorili artériové ochorenia (74,66 % 1. lekárň a 80 % 2. lekárň), za nimi nasledovali venózne ochorenia (15,06 % v 1. lekárni a 10,93 % v 2. lekárni) a na záver fibrilácia a flutter predsiení (10,28 % v 1. lekárni a 9,07 % v 2. lekárni).

V prípade venózných ochorení sa najčastejšie vyskytovali nasledujúce diagnózy: Posttrombotický syndróm (I87.0) (24,39 % 1. lekárň, 15 % 2. lekárň), Trombóza, flebitída a tromboflebitída povrchových žíl dolných končatín (I80.0) (22,76 % 1. lekárň a 17,07 % 2. lekárň), Žilová insuficiencia (chronická, periférna) (I87.2) (4,88 % 1. lekárň a 17,07 % 2. lekárň), Pľúcna embólia bez prejavov akútneho cor

pulmonale (I26.9) (11,38 % 1. lekárň a 14,63 % 2. lekárň), Varixy na iných bližšie určených miestach (I86.8) (14,63 % 2. lekárň), Varixy dolných končatín bez vredu alebo zápalu (I83.9) (13,93 % 1. lekárň a 9,76 % 2. lekárň). Výsledky z grafu 2 poukazujú na prevahu diagnóz analyzovaných z lekárne vo Vranove nad Topľou, čo môže byť spôsobené lokalizáciou angiologickej ambulancie v blízkosti tejto lekárne.

Medzi najčastejšiu vaskulárnu chorobu indikovanú na angiologických pracoviskách patrí chronická venózna choroba dolných končatín. Aj na prvom angiologickom pracovisku LF UK UN v Bratislave počas 40-ročnej existencie (1974 – 2014) bolo diagnostikovaných až 64 % pacientov s chronickou venóznou chorobou dolných končatín (Gavorník, 2014). Žilové cievne choroby patria celosvetovo k najčastejším sa vyskytujúcim ochoreniam v rámci kardio-vaskulárnych ochorení a sú na 1. mieste v príčinách dlhotrvajúcej pracovnej neschopnosti. Môžu spôsobiť trofické zmeny tkanív končatín a vyústiť do defektu (ulkusu). Zároveň sú závažným rizikovým faktorom povrchovej a hĺbkovej vénovej tromboembólie často ohrozujúcej život pacientov

(Gavorník a kol., 2015). Akútna vénová trombóza predstavuje závažné kardiovaskulárne ochorenie s asymptomatickým a fatálnym priebehom, s prognózou horšou ako u pacientov s kardiovaskulárnou a/alebo cerebrovaskulárnou artériovou chorobou (Nicolaidis, 2014; Gavorník, 2014).

Vénová trombóza a pľúcna embólia (PE) sú súčasťou vénovej tromboembólie. V jej prevencii a terapii sa na rozdiel od artériových ochorení využívajú predovšetkým antikoagulanciá (Gavorník a Mátyás, 2014). Žilový trombus obsahuje veľmi málo trombocytov, skladá sa predovšetkým z fibrínu a zachytených erytrocytov. Kritickým miestom v patogenéze tvorby žilového trombu je aj tvorba koagulačného faktora FIIa premieňajúceho fibrinogén na fibrín. Keďže zároveň aktivuje aj trombocyty, preto sa v prevencii a terapii týchto ochorení používajú antikoagulanciá (Karetová a Bultas, 2015).

Výsledky štúdie ukazujú, že vo vénovej tromboprophylaxii spomínaných ochorení sa v oboch lekárňach najčastejšie indikoval nízko-molekulárny heparín nadroparín (26,83 %). Klinické placebo kontrolované štúdie MEDENOX, PREVENT a ARTEMIS potvrdili prínos nízkomolekulárnych heparínov v prevencii tromboembolickej choroby, pričom sa nezistil rozdiel vo výskyte závažného krvácania (Samama a kol., 1999; Leizorovicz a kol., 2004; Cohen a kol., 2006). Nadroparín na rozdiel od enoxaparínu mohol byť častejšie indikovaný z dôvodu väčšieho počtu prípravkov s rôznymi dávkami liečiva v lieku. V porovnaní s inými LMWH sa vyznačuje dobrým compliance aj zo strany pacientov aj zo strany lekárov. Enoxaparín preukázal nižšiu preskripciu, čo môže byť spôsobené aj jeho častejšími nežiaducimi účinkami ako napr. trombocytopenia, urtikária, alergická dermatitída (Remková a Remko, 2014).

Druhým predpisovaným liečivom bol v oboch lekárňach sulodexid (24,39 %). Spolu s ďalšími venofarmakami, napr. diosmínom hesperidínu či pentoxifylínom je často indikovaný pri chronických venózných ochoreniach na podporu hojenia vredov predkolenia (Gavorník, 2013). Sulodexid má vlastný

antitrombotický účinok ovplyvňujúci hemostázu, fibrinolýzu a agregáciu trombocytov. Zároveň má endotel protektívny a hemoreologický účinok (Kristova, 2013). Vďaka týmto vlastnostiam má nezastupiteľnú úlohu v terapii chronickej venózne insuficiencie alebo posttrombotického syndrómu. Liečbou dochádza k zmierneniu edému či bolesti, eliminácii parestézie a kŕčov, zníženiu venózneho tlaku v dolných končatinách (Coccheri a Mannello, 2013).

Z antikoagulancií bol často indikovaný aj fondaparinux a warfarín. K tejto preskripcii mohla prispieť okrem iného aj diagnóza pľúcnej embólie patriaca medzi najzávažnejšie komplikácie hlbokkej venózne trombózy. Je aj príčinou úmrtia (Mazuch, 2006). Pri pľúcnej embólii so šokom alebo hypotenziou sa takmer okamžite odporúča zahájiť intravenóznou liečbu heparínom a taktiež trombolytickú liečbu streptokinázou, urokinázou alebo alteplázou. PE bez šoku a hypotenzie sa už v priebehu diagnostiky lieči intravenózne aplikáciou LMWH alebo fondaparinuxom. Súbežne je možné podávať warfarín pri pravidelnej kontrole INR (International Normalised Ratio), čo je teoretický vypočítaný protrombínový index zistený pomocou medzinárodného štandardizovaného tromboplastínu (Marko, 2011).

Alternatívnou terapiou LMWH a warfarínu sú NOAK (rivaroxaban, apixaban, dabigatran). Taktiež u pacientov v rámci premošťujúcej liečby z LMWH je možné namiesto warfarínu použiť edoxaban (Rokyta a kol., 2014).

Z perorálnych antikoagulancií bol najčastejšie indikovaný warfarín, ktorý je už viac ako 50 rokov používaný v tromboprophylaxii. V Severnej Amerike, na rozdiel od Európy, sa intenzívne využíva v prevencii venózných tromboembólií po veľkých ortopedických operáciách (Gavorník a kol., 2015). Warfarín zlepšil prognózu pacientov s fibriláciami predsiene, žilovými trombózami a náhradami srdcových chlopní. Práve u pacientov s náhradou chlopne zostáva naďalej jedinou dostupnou variantou. V ostatných indikáciách zastupuje alternatívu v podobe NOAK

(Burdová, 2015). Jeho limitujúcim faktorom je úzka terapeutická šírka, nepredvídateľný antikoagulačný efekt často ovplyvňovaný výživovými faktormi, liekovými interakciami, funkciou pečene alebo geneticky podmienenými rozdielmi v citlivosti naň. Tieto faktory môžu zvyšovať krvácanie, preto liečba warfarínom vyžaduje laboratórne monitorovanie a adjustáciu dávok pri INR 2 – 3 (Rabe a kol., 2012; Nicolaides a kol., 2014;). Na druhej strane, medzi výhody jeho aplikácie v porovnaní s NOAK patria dlhoročné skúsenosti, existencia antidóta a nízka cena (Remková a Remko, 2018).

Z NOAK boli v tromboprofylaxii vénových ochorení v menšom množstve predpisované apixabán, edoxabán, dabigatrán hlavne vo vranovskej lekárni, čo môže byť ovplyvnené blízkosťou angiológa, a rivaroxabán, ktorý bol zaznamenaný aj v 2. lekárni. Rivaroxabán ako prvé registrované liečivo z tejto skupiny bol najprv schválený v prevencii tromboembólie len pri nahradení kolenného a bedrového kĺbu. Od novembra 2011 sa pridala aj liečba a prevencia recidív vénovej tromboembólie, v tromboprofylaxii systémovej artériovej tromboembólie a v prevencii cievnych mozgových príhod pri nevalvulárnej fibrilácii predsiení. Je možné ho použiť od začiatku liečby vénovej tromboembólie. Podobné indikácie má aj apixabán schválený v júni 2014 a edoxabán v roku 2015 v terapii a prevencii vénových tromboembólií (Gavorník a kol., 2015).

Nové vénové antitrombotiká sú predvídateľnejšie, bezpečnejšie s nižším rizikom krvácania, ponúkajú možnosť perorálnej aplikácie, jednoduchého dávkovania bez potreby monitorovania a majú minimum liekových interakcií (Bátorová, 2009; Gavorník, 2009). Ich nevýhodou je okrem vysokej ceny aj ťažko zrušiteľný účinok pri krvácaní, preto pokiaľ ide o účinnosť a bezpečnosť, má v klinickej praxi zatiaľ prednosť klasická simultánna farmakotromboemboloproylaxia (Gavorník a kol., 2015). Svedčia o tom aj naše výsledky z preskripcie antikoagulancií, ktoré uvádzajú najčastejšie predpisovanie nadroparínu, sulodexidu, fondaparinuxu či warfarínu.

Pri venózných ochoreniach bola v terapii použitá aj ASA (14,63 % 1. lekáreň; 17,07 % 2. lekáreň) a klopidoogrel (5,69 % 1. lekáreň; 9,76 % 2. lekáreň). Preventívne užívanie ASA sa odporúča u pacientov s hroziacou cestovnou trombózou či varixami (Gavorník, 2008).

ZÁVER

Z celkového pohľadu nebol zaznamenaný výrazný rozdiel v preskripcii antitrombotík medzi dvoma verejnými lekárňami. Zaznamenané prípadné odlišnosti mohli byť ovplyvnené lokalizáciou kardiologickej a angiologickej ambulancie v blízkosti vranovskej lekárne a konkrétnymi kardiovaskulárnymi diagnózami pacientov a prípadnou možnou konkurenciou ďalších lekární, kde si mohli pacienti vybrať dané lieky.

Výsledky štúdie poukazujú na skutočnosť, že antitrombotická liečba u pacientov s KVS ochoreniami je frekvencovaná a zohráva dôležitú úlohu v prevencii tromboembolických príhod. V prípade venózných ochorení sa v prevencii trombózy používajú prevažne klasické antikoagulanciá, hlavne nízkomolekulárny heparín nadroparín a sulodexid. Antitrombotická terapia je častokrát doživotná, preto nesmie byť podceňovaná zo strany pacienta a pre jej účinnosť vyžaduje jeho adhérenciu.

ZOZNAM LITERATÚRY

Antithrombotic and thrombolytic therapy. American College of Chest Physicians (ACCP) evidence-based clinical practice guidelines (8th edn.). *Chest*, 2008, 133 (6), 675 – 968.

Bátorová, A.: Pokroky v antitrombotickej liečbe – antitrombotiká s anti-Xa účinkom [Advances in antithrombotic treatment – antithrombotics with anti-Xa effect]. *Vnitřní lékařství*, 2009, 55 (3), 295 – 301.

Burdová, K.: Přímá perorální antikoagulancia [Direct oral anticoagulants]. *Klinická farmakologie a farmacie*, 2015, 29 (4), 138 – 143.

- Coccheri, S. a Mannello, F.: Development and use of sulodexide in vascular diseases: implications for treatment. *Drug Design, Development and Therapy*, 2013, 8, 49 – 65.
- Cohen, A. T., Davidson, B. L., Gallus, A. S., Lassen, M. R., Prins, M. H., Tomkowski, W., Turpie, A. G. G., Egberts, J. F. M., and Lensing, A. W. A.: For the ARTEMIS Investigators. Efficacy and safety of fondaparinux for the prevention of venous thromboembolism in older acute medical patients: randomised placebo controlled trial. *BMJ*, 2006, 332, 325 – 329.
- Gavorník P.: *Najčastejšie choroby vénového cievneho systému* [The most common diseases of the venous vascular system]. 1. vyd. Bratislava: Univerzita Komenského, 2014, s. 129.
- Gavorník, P.: Vénová tromboprofylaxia v angiologickej praxi [Venous thromboprofylaxis in angiological practice]. *Via practica*, 2009, 6 (6), 237 – 239.
- Gavorník, P., Dukát, A., Gašpar, L. P., Faktorová, X., Cikatricisová, E., Medová, D., Subota, I., Sabaka, P.: Vénové vaskulárne choroby – aktuálny naliehavý problém klinickej medicíny [Venous vascular diseases – an urgent issue in clinical medicine]. *Kardiologická revue Interní Medicína*, 2015, 17 (4), 345 – 353.
- Gavorník, P. a Mátyas, K.: Flebotromboemboloprophylaxia vénovej tromboembólie (VTE) – 3. verzia odporúčaní AS SLK, 2014 [Phlebotromboemboloprophylaxis of venous thromboembolism (VTE) – 3. version of AS SLK recommendations, 2014]. *Medinews*, 2014, 12 – 14.
- Gavorník, P., Dukát, A., Hučková, N.: Antitrombocytová tromboprofylaxia artériových cievnych chorôb a orgánovaskulárnych chorôb. *Súčasná klinická prax*, 2017, 1, 21 – 26.
- Gavorník, P., Dukát, A., Gašpar, L., Oravec, S., Čaprnda, M.: Monoorgánovomonovaskulárna choroba versus multiorgánovomultivaskulárna choroba. Diagnóza a manažment stabilnej angíny pectoris a iných foriem chronickej kardiovaskulárnej artériovej choroby. *Súčasná klinická prax*, 2012, 2, 4 – 12.
- Gavorník, P.: *Angiológia 1 pre všeobecných praktických lekárov – Flebológia* [Angiology for general practitioners – Phlebology]. 1. vyd. Bratislava: Vydavateľstvo Dr. Josef Raabe, 2013, 125 s.
- Gavorník, P. Cestovná trombóza a varixy [Traveller's venous thrombosis and varicose veins]. *Interní medicína pro praxi*, 2008, 5, 219.
- Gavorník, P.: *Všeobecná angiológia. Angiologická propedeutika. Cievne choroby*. 2. vyd. Bratislava: Univerzita Komenského – Vydavateľstvo UK, 2001, 266 s.
- 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.
- Karetová, D. a Bultas, J.: *Farmakoterapie tromboembolických stavů* [Pharmacotherapy of thromboembolic states]. Praha: Maxdorf, s. r. o., 2015, 13 – 278.
- Kristová, V.: Mechanizmus pleiotropného účinku sulodexidu [Mechanism of the pleiotropic effect of sulodexid]. *Kardiologická revue – Interní medicína*, 2013, 15 (4), 254 – 255.
- Leizorovicz, A., Cohen, A. T., Turpie, A. G. G., Olsson, C. G., Vaitkus, P. T., and Goldhaber, S. Z.: For the PREVENT Medical Thromboprophylaxis Study Group. Randomized, placebo-controlled trial of dalteparin for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. *Circulation*, 2004, 110, 874 – 879.
- Marko, P.: Antikoagulačná terapia v praxi všeobecného lekára pre dospelých [Anticoagulation treatment in praxis of general practitioner for adults]. *Via practica*, 2011, 8 (2), 88 – 91.
- Mazuch, J.: Pľúcna tromboembólia: diagnostika a liečba [Pulmonary thromboembolism diagnosis and treatment]. *Via practica*, 2006, 3 (11), 523.
- Nicolaidis, A., Kakkos, S., Eklof, B., Perrin, M., Nelzen, O., Neglen, P., Partsch, H., Rybak, Z.:

Management of chronic venous disorders of the lower limbs. Guidelines according to scientific evidence. *Int. Angiol.*, 2014; 33, 87 – 208.

Rabe E., Guex J. J., Puskas, A., Scuderi, A., Quesada, F. F.: The VCP Coordinators. Epidemiology of chronic venous disorders in geographically diverse populations: results from the Vein Consult Program. *Int. Angiol.*, 2012, 31, 105 – 115.

Remková, A. a Remko, M.: *Antitrombotiká v klinickej praxi* [Antithrombotic agents in clinical practice]. Bratislava: SAMEDI, s. r. o., 2014, 15 – 211.

Remková, A. a Remko, M.: The position of warfarin at present: Will we still need it? [Postavenie warfarínu v súčasnosti: budeme ho ešte potrebovať?]. *Lekársky obzor*, 2018, 67, (10 – 11), 393 – 402.

Rokyta, R., Hutýra, M., Jansa, P.: 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism. *Summary document prepared by the Czech Society of Cardiology, Cor et Vasa*, 2015, 57, e275 – e296.

Samama, M. M., Cohen, A. T., Darmon, J. Y., Desjardins, L., Eldor, A., Janbon, Ch., Leizorovicz, A., Nguyen, H., Olsson, C. G., Turpie, A. G. and Weisslinger, N.: For the Prophylaxis in medical patients with Enoxaparin Study Group. A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 341, 793 – 800.



HODGKINOV LYMFÓM Z POHLADU SÚČASNEJ LIEČBY

HODGKIN'S LYMPHOMA FROM THE VIEW OF CURRENT TREATMENT

Suchovič, Radoslav^{1, 4}; Váczi, Peter²; Surová, Milena³

¹Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, ²Katedra farmakológie a toxikológie,
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice

³Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura v Košiciach

Rastislavova 43, 041 90 Košice

Slovenská republika

⁴Farmaceutická fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Palackého třída 1946/1, 612 00 Brno

Česká republika

radoslav.suchovic@uvlf.sk

ABSTRAKT

Hodgkinov lymfóm (lymfogranulóm) je nádorové ochorenie lymfatického systému. Presné príčiny jeho vzniku zatiaľ nie sú známe, predpokladá sa genetická predispozícia, porucha imunity, ale aj vírusové infekcie. Hodgkinov lymfóm vzniká nádorovou transformáciou B-lymfocytov, začína postihnutím jednej miazgovej uzliny, neskôr sa šíri do príľahlých lymfatických oblastí a v pokročilom štádiu nastáva hematogénny rozsev do extralymfatických orgánov a tkanív (pľúca, pečeň, kostná dreň).

Cieľom štúdie bola analýza súčasnej farmakologickej a nefarmakologickej terapie Hodgkinovej choroby, jej komplikácií u troch

pacientov, u ktorých došlo k vyliečeniu, resp. liečbu ukončili. Kazuistiky 3 pacientov s Hodgkinovým lymfómom a ich terapeutické postupy boli získané z onkohematologickej ambulancie v Košiciach.

Na základe získaných údajov možno konštatovať, že sledované prípady mali Hodgkinov lymfóm typu II, tzv. nodulárnu sklerózu. Terapia v ich prípade spočívala v aplikácii prvolíniového režimu ABVD (adriamycín, bleomycín, vinblastín, dakarbazín), avšak účinná bola iba u pacienta č. 1. Osobitosť prípadov ako aj neskoré vedľajšie účinky liečby spôsobili potrebu omnoho agresívnejších terapeutických postupov, menovite DHAP (dexametazón, vysokodávkový cytarabín, cisplatina) a ICE (ifosfamid, karboplatina,

etopozid), ale aj veľmi pokrokovej terapiie monoklonálnou protilátkou – brentuximab vedotínom.

Kľúčové slová: Hodgkinov lymfóm; terapia; úspešnosť

ABSTRACT

Hodgkin's lymphoma (lymphogranuloma) is a cancer of the lymphatic system. The exact causes of its development are not yet known; genetic predisposition, immunodeficiency, but also viral infections can play a pivotal role. Hodgkin's lymphoma results from tumor transformation of B-lymphocytes, beginning with the involvement of a single lymph node, later spreading to adjacent lymphatic areas, and at an advanced stage, hematogenous spread to extralymphatic organs and tissues (lung, liver, bone marrow) occurs.

The study deals with current possibilities of pharmacological and non-pharmacological therapy of Hodgkin's disease, its complications especially in three patients who had been cured or where the treatment was discontinued. By evaluating and processing the data on patients of the oncohematological outpatient clinic it presents the actual therapeutic procedures currently used.

According to the findings, all three cases studied by us had Hodgkin's lymphoma type II, the so-called nodular sclerosis. Their therapy consisted of the application of the first line regimen of ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastine, dacarbazine), but was effective only in patient no. 1. The peculiarities of the cases, as well as the late side effects of the treatment, have led to the need for much more aggressive therapeutic procedures, namely DHAP (dexamethasone, high-dose cytarabine, cisplatin) and ICE (ifosfamide, carboplatin, etoposide).

Key words: Hodgkin's lymphoma; therapy; success

ÚVOD

Hodgkinov lymfóm ako ochorenie

Lymfóm predstavuje bezbolestnú hmotu v lymfatických uzlinách, najčastejšie v oblasti krku a hlavy, postihnuté môžu byť všetky uzliny. Tzv. B-symptómy zahŕňajú najmä recidivujúce horúčky, nočné potenie a stratu hmotnosti a postihujú podstatnú časť pacientov (Fields a Wrench, 2013).

Hodgkinov lymfóm (HL) je novotvar B-buniek odvodený od zárodočného alebo post-zárodočného centra charakterizovaný prítomnosťou malého množstva (zvyčajne 0,1 – 2 %) Hodgkin a Reed/Sternbergových buniek (HRS) s charakteristickou morfológiou a imunofenotypom, ktoré sú zabudované v reaktívnom zápalovom infiltráte (Bair a Svoboda, 2019), zvyšné bunkové komponenty pozostávajú z T buniek, B buniek, eozinofilov, makrofágov, granulocytov, žírnych buniek a fibroblastov. Neoplastická bunka HL genotypovo predstavuje B-bunku, ktorá má v dôsledku reorganizácie imunoglobulínových génov nižšiu reguláciu a stráca prakticky všetky markery B-bunky (Kuppers a kol., 2012).

Klasifikácia a štádiá HL

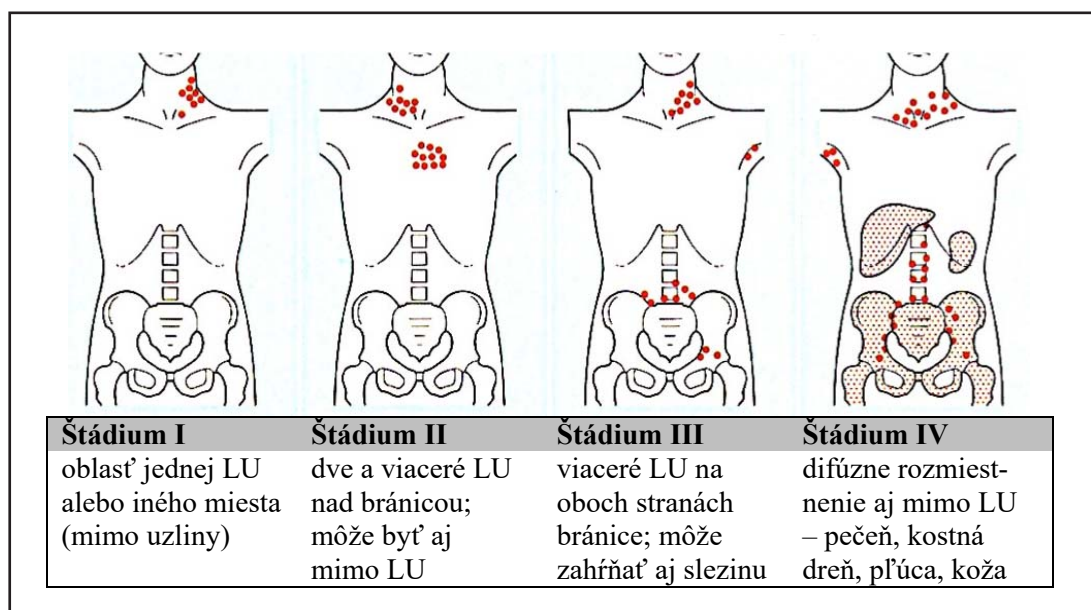
Súčasná klasifikácia WHO rozlišuje dve hlavné skupiny HL, a to nodulárny (lymfocyto-predominantný) HL (NLPHL) a klasický – cHL, ktorý zodpovedá za približne 95 % prípadov a delí sa na 4 typy: HL bohatý na lymfocyty, HL s nodulárnou sklerózou, HL so zmiešanými bunkami a HL chudobný na lymfocyty (WHO, 2008). Typ I sa vyskytuje približne u 5 % pacientov, typ II u 70 %, typ III u 20 – 25 % a typ IV iba u 1 % (Češka a kol., 2015).

Choroba má 4 štádiá, ktorých lokalizácia je znázornená na obr. 1.

Etiológia a diagnostika HL

Hodgkinov lymfóm sa najčastejšie vyskytuje u ľudí vo veku 20 – 35 rokov, druhé maximum nastáva vo veku 65 rokov (Lymfómová skupina Slovenska,

Obr. 1: Lokalizácia Hodgkinovej choroby v jednotlivých štádiách



Zdroj: http://sherryimm.blogspot.com/2015/10/histology_30.html

2011). V etiológii HL sa uplatňujú faktory genetické, imunitné a infekčné. Nakoľko sa ochorenie vyskytuje viac u mužov ako žien, niektorí autori uvádzajú, že rizikovým faktorom je aj samotné mužské pohlavie. Taktiež sa zistilo, že u Židov a ich príbuzných prvého stupňa je vyššia incidencia výskytu HL. U súrodencov bolo zistené 2 – 5-násobne vyššie riziko a u súrodencov rovnakého pohlavia dokonca 9-násobne vyššie riziko HL. Za rizikových sa považujú pacienti s vrodenými a získanými imunitnými deficienciami, ktoré zvyšujú riziko vzniku lymfómu až o 25 %. Zo spomínaných porúch ide o Wiskottov-Aldrichov syndróm, teleangiektatickú ataxiu a hypogamaglobulinémiu. Zo získaných imunodeficiencií je rizikovým faktorom reumatoidná artritída, systémový *lupus erythematoses*, Sjögrenov syndróm a tiež imunosupresia spôsobená farmakologickou liečbou pri transplantáciách tkanív a orgánov (Kubisz a Dobrotová, 2006).

Diagnostika Hodgkinovho lymfómu sa zakladá

na dôkladnej anamnéze, klinickom vyšetrení, vrátane laboratórnych a zobrazovacích metód. Osobná anamnéza sa zameriava na zisťovanie prítomnosti symptómov (stále sa zväčšujúca lymfatická uzlina, nebolestivá, nepohyblivá, tuhej konzistencie, zvyčajne lokalizovaná na krku, hrudníku, brušnej dutine, oblasti slabín či mediastína, čo sa prejavuje kašľom a dýchavičnosťou a tzv. syndrómom hornej dutej žily – zdurení žíl, opuch a zmodranie krku, hlavy a končatín). Ďalšími príznakmi sú teplota, svrbenie kože, strata hmotnosti a potenie (www.sk.medlicker.com). Pri klinickom vyšetrení sa lekár zameriava na miesta s výskytom zväčšených uzlín – krk, supraklavikulárne jamky, axilárna a inguinálna oblasť a taktiež pečeň a slezinu. Okrem toho je veľmi dôležité vyšetrenie hrudníka a dýchania. Dôležité sú tiež opuchy žíl, zmeny na koži podobné ekzémom, vyrážky s chrastou a iné (Lymfómová skupina Slovenska, 2011). Pre potvrdenie predpokladanej diagnózy je nezastupiteľná biopsia. Vzorka

odobratá z postihnutej lymfatickej uzliny (hlavne extirpáciou) alebo iného tkaniva je histologicky vyšetrená na prítomnosť Reed-Sternbergových buniek. Bunky Hodgkinovho lymfómu majú na svojom povrchu typické znaky, označované ako CD30 a CD15 a chýba im znak CD20, čo ich odlišuje od iných lymfómov (Marková, 2019). U pacientov sa štandardne vykonáva vyšetrenie krvného obrazu, sedimentácie, krvnej skupiny, biochemických parametrov a sérologické vyšetrenia (vírusová hepatitída B a C a HIV infekcia). Imunofenotypizácia má význam pre určenie pôvodu nádorových buniek (Arber, 2000). K základným zobrazovacím metódam patrí röntgenologické vyšetrenie pľúc, abdominálna ultrasonografia a moderné metódy nukleárnej medicíny – kontrastná počítačová tomografia (CT) krku, hrudníka, brucha a malej panvy, pozitronová emisná tomografia (PET). Výhodné je kombinované vyšetrenie PET/CT s kontrastnou látkou. Niekedy je nutné vykonať aj ďalšie vyšetrenia: napr. magnetickú rezonanciu (MR) a ultrazvuk krku (Kubisz a Dobrotová, 2006).

Liečba HL

V liečbe Hodgkinovho lymfómu sa používa chemoterapia v kombinácii s rádioterapiou alebo len samotná chemoterapia. Rádioterapia (RT) nasleduje vždy po ukončení liečby chemoterapiou.

Pri chemoterapii sa používajú 2 štandardné schémy. Názvy schém pozostávajú zo začiatkových písmen cytostatík, ktoré sú v nich obsiahnuté: ABVD (adriamycín, bleomycín, vinblastín, dakarbazín) – je to najčastejšie používaný režim v liečbe Hodgkinovho lymfómu. Podáva sa ambulantne vo forme infúzií v 1. a 15. deň 28-dňového cyklu. Počet cyklov chemoterapie závisí od štádia ochorenia. BEACOPP (bleomycín, etopozid, adriamycín, cyklofosfamid, onkovirín/vinkristín, prokarbazín, prednizón) – je to intenzívnejší režim, ktorý je možné použiť u pacientov s pokročilým ochorením s prítomnými nepriaznivými prognostickými znakmi. Výskyt a závažnosť nežiaducich účinkov pri používaní tohto režimu si vyžadujú skúsenosť pracovníka,

prísnejšie sledovanie pacienta po chemoterapii a dobrú spoluprácu pacienta (Lymfómová skupina Slovenska, 2011). V prípade relapsu ochorenia sú odporúčané nasledovné, tzv. salvage (záchranné) postupy: ICE (ifosfamid, karboplatina, etopozid), DHAP (dexametazón, vysokodávkový cytarabín, cisplatina) a ESHAP (etopozid, metylprednizolón, vysokodávkový cytarabín a cisplatina). Kombinácie založené na gemcitabíne, ktoré sa používajú ako záchranné režimy druhej a tretej línie, zahŕňajú: GVD (gemcitabín, vinorelbín, lipozomálny doxorubicín), IGEV (ifosfamid, gemcitabín, etopozid, vinorelbín), HDP (gemcitabín, dexametazón a cisplatina), GemOx (gemcitabín a oxaliplatina) a BeGEV (bendamustín, gemcitabín a vinorelbín) (Nikolaenko a kol., 2017).

Pri liečbe chemosenzitívnych nádorových ochorení (najčastejšie myelómov a lymfómov), keď sa vysokou dávkou chemoterapie a/alebo rádioterapie zničia nádorové bunky, sa vykonáva autológna transplantácia periférnych kmeňových buniek, pri ktorej sa podávajú predtým izolované autológne periférne kmeňové bunky pacienta. Pri alogénnej transplantácii sa nahradí kostná dreň zdravými krvotvornými kmeňovými bunkami darcu. Najvhodnejším darcom je príbuzný (súrodeneц) úplne zhodný vo všetkých HLA (human leukocyte antigen) (Ladická, 2007).

Neskoré účinky liečby HL

Napriek vysokej miere odpovede možno v porovnaní s bežnou populáciou pozorovať zvýšenú chorobnosť a úmrtnosť vyliečených pacientov, a to kvôli vedľajším účinkom súvisiacim s liečbou. Neskoré komplikácie liečby zahŕňajú kardiovaskulárne choroby, pľúcne choroby, abnormality endokrinného systému, zníženú plodnosť mužov, zníženú plodnosť žien, vznik sekundárnych malignít, perzistentnú únavu a svalovú atrofiu (Aleman a kol., 2003; Brusamolino a kol., 2006).

Neskoré komplikácie liečby zahŕňajú kardiovaskulárne choroby (zvlášť vysoké riziko u pacientov liečených režimom ABVD, po mediastinálnej RT s alebo bez chemoterapie),

pľúcne choroby (bleomycínom spôsobená toxicita sa prejavuje kašľom, dýchavičnosťou a znížením pľúcnych funkcií), abnormality endokrinného systému (najmä štítnej žľazy po RT hrudníka alebo krku), zníženú plodnosť mužov (na dočasné alebo trvalé zastavenie spermatogenézy výrazne pôsobí cyklofosamid, prokarbazín a mechloreтамín), zníženú plodnosť žien (strata primordiálnych folikulov, čo vedie k hypergonadotropnej amenoree, ktorá spôsobuje neplodnosť a príznaky nedostatku estrogénu), vznik sekundárnych malignít (zvýšené riziko vzniku myelodysplastických syndrómov, akútnej myeloidnej leukémie, non-Hodgkinovho lymfómu, rakoviny pľúc, nemelanomatóznej rakoviny kože a rakoviny prsníka), perzistentná únava (predpokladom je latentná hypotyreóza po farmakologickej i radiačnej liečbe) a svalová atrofia (progresívna mikrovaskulárna fibróza a poškodenie nervov v ožarovanom poli má za následok neurogénne poškodenie svalov) (Hirsch a kol., 1996; Meirow a Nugent, 2001; Jereczek-Fossa a kol., 2004; Hjermstad a kol., 2005; Brusamolino a kol., 2006; van der Kaaij a kol., 2007; van Leeuwen-Segarceanu, 2012; Gotti a kol., 2013; Kiserud a kol., 2014). Cieľom štúdie bola analýza súčasnej farmakologickej a nefarmakologickej terapie Hodgkinovej choroby, jej komplikáciami u troch pacientov, u ktorých došlo k vyliečeniu, resp. liečbu ukončili.

MATERIÁL A METÓDY

Kazuistiky o 3 pacientoch, ktorí podstúpili terapiu rôznych typov Hodgkinovho lymfómu sme získali z onkohematologickej ambulancie Univerzitnej nemocnice Louisa Pasteura v Košiciach, odkiaľ nám boli poskytnuté formou nahliadnutia do lekárskej správy, pričom všetky zásady ochrany osobných údajov boli dodržané a sú v súlade so zákonom č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

V štúdiu sme sa zamerali na údaje týkajúce sa pacienta (pohlavie, vek), ochorenia (diagnóza, štádium ochorenia), liečby (čas začatia, druh

aplikovanej terapie, priebeh, komplikácie a nežiaduce účinky) a neskorých účinkov spojených s liečbou a po liečbe.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celková miera vyliečenia Hodgkinovho lymfómu v súčasnosti dosahuje 80 – 85 %, pričom v skorých štádiách je to viac ako 90 %. Približne 5 až 10 % pacientov s Hodgkinovým lymfómom je odolných a 10 až 30 % pacientov recidivuje po počiatočnom dosiahnutí úplnej remisie (Aleman a kol., 2003). K základnej, tzv. prvolíniovej liečbe patria 2 štandardné postupy – ABVD (adriamycín, bleomycín, vinblastín, dakarbazín) a BEACOPP (bleomycín, etopozid, adriamycín, cyklofosamid, onkovirín/vinkristín, prokarbazín, prednizón). Postup ABVD bol použitý v prípade všetkých 3 nami popísaných prípadov. Ako sa ukázalo, úspešný bol iba u pacienta č. 1. Bol ním muž, u ktorého bol vo veku 29 rokov diagnostikovaný klasický Hodgkinov lymfóm typu nodulárnej sklerózy. Režim ABVD bol najskôr podaný v 3 cykloch, pričom 11 dní po jeho podaní bol pacient hospitalizovaný z dôvodu rozbehnutého septického šoku, vysokej horúčky s triaškami, vracaním a hnačkami. TK klesal na nemerateľné hodnoty a hematologické vyšetrenie poukázalo na leukocytopéniu, agranulocytopéniu ťažkého stupňa s rozvinutou diseminovanou intravaskulárnou koaguláciou. Tento stav sa riešil empirickým podaním antibiotík piperacilínu/tazobaktámu, amikacínu, meropenému, pričom kombinácia piperacilín/tazobaktám bola vysadená z dôvodu naďalej sa zvyšujúcich hodnôt CRP a nahradená cefoperazónom/sulbaktámom a linezolidom. Z antimykotík bol podaný flukonazol a z antivirov valaciclovir. Nízke hodnoty TK boli priebežne kompenzované noradrenalinom. Chemoterapia bola z dôvodu zhoršujúceho sa zdravotného stavu prerušená a po cca 5 mesiacoch bolo podaných ďalších 6 cyklov ABVD v kombinácii s RT. Po ukončení chemoterapie bolo PET/CT negatívne, podobne, kontrolné PET/CT aj po cca 22 mesiacoch

poukazovalo na nezväčšené LU iba s ľahkou zvýšenou metabolickou aktivitou. Na základe následne vykonanej histologizácie neboli zistené tumorózne zmeny. K remisii ochorenia došlo približne po 1-ročnej terapii.

Podľa štúdie Rueda-Domínguez a kol. (2004), v ktorej boli pacienti s Hodgkinovým lymfómom I. a II. štádia liečení 6 cyklami ABVD, došlo k úplnému vyliečeniu u 94 %. U 6 % došlo iba k čiastočnej remisii, avšak po nasadení rádioterapie došlo k vyliečeniu aj u nich.

V rámci záchranných režimov sa najčastejšie používajú ICE, DHAP, GDP, IGEV a BeGeV. Približne 80 – 90 % pacientov odpovedá na záchrannú liečbu a kompletnú remisiu dosiahne 60 – 80 % pacientov. V prípade, ak pacient nedosiahne remisiu po prvom záchrannom režime, podajú sa dva cykly iného záchranného režimu alebo brentuximab vedotín v monoterapii či v kombinácii s bendamustínom (Plank a kol., 2018).

Aj v prípade pacientky z kazuistiky 2 bol aplikovaný záchranný režim DHAP. Jednalo sa o ženu vo veku 20 rokov s diagnózou Hodgkinov lymfóm typu nodulárnej sklerózy. Po tom, čo terapeutický postup ABVD v 6 cykloch a rádioterapia (30 Gy a 36 Gy) neboli úspešné a nezabezpečili úplnú remisiu ochorenia, bol spomínaný záchranný režim aplikovaný v 2 cykloch. Následne bola neúspešne realizovaná autológna transplantácia kostnej drene. Po pol roku podstúpila pacientka mobilizáciu PKB, avšak nedosiahla požadované parametre potrebné k úspešnému zberu – mobilizačný režim bol ukončený. Ďalší pokus o zber PKB prebehol o približne 4 mesiace, tentokrát úspešne, preto mohla pacientka podstúpiť autológnu transplantáciu periférnych kmeňových buniek. Po transplantácii bola pacientke nasadená viacnásobná antibiotická a antimykotická liečba a na stimuláciu granulopoézy jej bol podaný filgrastim. U pacientky došlo k úplnej remisii ochorenia a v súčasnosti je na materskej dovolenke.

Podobne v prípade pacienta z kazuistiky č. 3 boli použité záchranné postupy ICE (2 cykly) aj DHAP (2 cykly). Pacientovi bol vo veku 32 rokov

diagnostikovaný Hodgkinov lymfóm typu nodulárnej sklerózy. Po 6 cykloch ABVD bola pre perzistujúcu lymfadenopatiu indikovaná RT (45 Gy) a o mesiac bolo realizované kontrolné PET/CT vyšetrenie, ktorým sa potvrdila kompletná remisia. O 6 mesiacov však došlo k rozvoju infiltrácií v pľúcnom parenchýme, mediastíne a príľahlých lymfatických uzlinách. Na základe toho bola použitá záchranná chemoterapia 2. línie typu ICE (ifosfamid, karboplatina, etoposid) a DHAP (dexametazón, cytarabín, cisplatina) a tiež autológna transplantácia periférnych krvotvorných kmeňových buniek. Napriek tomu pacient nikdy nedosiahol kompletnú remisiu. Preto absolvoval 10 cyklov štúdiovej liečby brentuximab vedotínom, 8 cyklov gemcitabínom a pre progresiu ochorenia bola nasadená liečba nivolumabom v trvaní 1 rok. Približne o mesiac bola opäť realizovaná alogénna transplantácia periférnych krvotvorných kmeňových buniek. O 3 mesiace bol pacient hospitalizovaný pre invazívnu mykotickú infekciu, ako aj pozitivitu na cytomegalovírus, BK vírus a *Enterococcus faecalis*. Pacient striedavo podstupoval antimykotickú (posakonazol), antivirotickú (valganciklovir) a antibakteriálnu liečbu (ciprofloxacín). V súčasnosti bol prijatý na kliniku hematológie a onkohematológie pre prolongované febrility, neproduktívny dráždivý kašeľ po neúspešnej ambulantnej antibiotickej liečbe s vysokými zápalovými markermi. Empiricky mu bola nasadená antibiotická a antimykotická liečba a pacient bol prepustený do ambulantnej starostlivosti.

Práve tento pacient mal zo všetkých prípadov najkomplikovanejší priebeh a zo záchranných režimov podstúpil aj terapiu brentuximab vedotínom, a to v počte 10 cyklov. Brentuximab vedotín sa viaže na antigén CD30 na povrchu nádorovej bunky, a tým aktivuje imunitné reakcie (na protilátkach závislá bunková cytotoxicita), ktorá vedie k usmrteniu nádorovej bunky. Na povrchu Hodgkinových a Reed-Sternbergových buniek je najvýhodnejším a zároveň najpočetnejším terčom antigén CD30. CD30 signalizácia reguluje aktiváciu

NF- κ B, nevyhnutného na prežitie HRS buniek cestou indukcie antiapoptotických génov. K anti-CD30 protilátkam patrí napr. brentuximab vedotín. K protilátkam proti CD20 antigénu patria ofatumomab, okrelizumab, veltuzumab. Okrem antigénu CD20 sú potenciálnym terčom monoklonálnych protilátok aj ďalšie proteíny na povrchu lymfocytových buniek, ako napr. CD22 (epratuzumab), CD40 (SGN-40), CD80 (galiximab), HLA-DRB (apolizumab) (Vranovský, 2011).

Napriek tejto záchrannej terapii nedošlo u pacienta č. 3 k vyliečeniu a podstúpiť musel ešte 8 cyklov liečby gemcitabínom a po následnej rádioterapii aj liečbu nivolumabom trvajúcu jeden rok. Gemcitabín inhibuje tymidylát syntetázu, čo vedie k inhibícii syntézy DNA a bunkovej smrti. Gemcitabín je proliečivo, takže aktivita nastáva v dôsledku intracelulárnej premeny deoxycitidínkinázou na dva aktívne metabolity, gemcitabín difosfát a gemcitabín trifosfát. Gemcitabín difosfát tiež inhibuje ribonukleotid reduktázu, enzým zodpovedný za katalyzovanie syntézy deoxynukleozid trifosfátov potrebných pre syntézu DNA. Gemcitabín trifosfát (difluorodeoxycytidín trifosfát) súťaž s endogénnym deoxynukleozid trifosfátom o začlenenie do DNA (www.drugbank.ca). Posledné štúdie preukázali sľubnú aktivitu gemcitabínu, analógu pyrimidínu, ktorý sa bežne používa pri liečbe HL. Celková miera odpovede po jednom cykle gemcitabínu v relapsujúcom alebo refraktérnom HL je asi 40 %, u pacientov po transplantácii asi 20 %. Kombinované režimy s inými látkami, ako je cisplatina, vinorelbín, doxorubicín, ifosfamid a kortikosteroid majú všeobecne priaznivý profil toxicity a celková miera odpovede presahuje 70 %. Režimy obsahujúce bleomycín a gemcitabín sú však spojené s klinicky významnou pľúcnou toxicitou u 30 – 42 % pacientov (Oki a Younes, 2008).

U mnohých pacientov podstupujúcich cytostatickú liečbu vzniká riziko dlhodobých vedľajších účinkov. Tieto vedľajšie účinky sa môžu vyskytnúť a pretrvávajú mesiace až roky. Onkologické komplikácie sú znakom progresívnej alebo postupujúcej choro-

by ale aj dôsledkom chemoterapie a rádioterapie. Väčšina komplikácií súvisí s anémiou, trombocytopéniou, neutropéniou, imunosupresiou a infekciami (Sipsas a Kontoyiannis, 2012).

Priamo s užívaním chemoterapie súvisia komplikácie vyplývajúce zo samotných nežiaducich účinkov cytostatík. Pri všetkých terapeutických režimoch sa vyskytujú nežiaduce účinky, z ktorých väčšina sa spája najmä s infekciami horných dýchacích ciest, zápalom pľúc, herpetickými infekciami (*herpes zoster*; *herpes simplex*), orálnou kandidózou i stafylokokovou bakterémiou. Nemenej častá je aj infekcia cytomegalovírusom alebo reaktivácia cytomegalovírusu, sepsa a septický šok. Z porúch krvotvorby a lymfatického systému sú to neutropénia, anémia, trombocytopénia, syndróm lýzy tumoru. Významné postavenie v onkologickej liečbe majú invazívne mykotické infekcie, ktoré sa považujú za hlavnú príčinu chorobnosti a úmrtnosti kriticky chorých pacientov. Hlavnými patogénmi sú rody *Candida* a *Aspergillus* (Sipsas a Kontoyiannis, 2012).

Komplikácia s aspergilovou infekciou – aspergilová fungémia, sa vyskytla aj v nami popisovanej kazuistike u pacienta č. 1 po 3. cykle chemoterapie ABVD až v takej miere, že sa u neho rozvinul septický šok a multiorgánové zlyhávanie.

Diseminovaná aspergilóza (pravá aspergilová fungémia) predstavuje vzrastajúci problém najmä u imunkompromitovaných pacientov. Zo všetkých fungémií tvorí iba 0,5 – 2 %, pričom majoritné zastúpenie v etiológii má *Aspergillus fumigatus*. Vyskytuje sa u pacientov s transplantáciou kostnej drene (5 – 12 %), srdca (13 %) a HIV pozitívnych (4 %). Odhalenie aspergilovej fungémie spôsobuje isté komplikácie, nakoľko samotná prítomnosť patogénu v krvi ešte neznamena právu fungémiu a označuje sa ako pseudofungémia. Pravá fungémia sa potvrdí až histologicky, a to nálezom hýf v rôznych tkanivách. Prítomnosť aspergilovej fungémie si vyžaduje bezodkladnú liečbu, v opačnom prípade je spojená s vysokou mortalitou (Duthie a Denning, 1995).

Ďalšou komplikáciou, ktorá bola pozorovaná v

našich kazuistikách, bola infekcia BK vírusom, a to u pacienta č. 3. BK vírus (BKV) je polyomavírus, ktorý po primárnej infekcii prebiehajúcej subklinicky spôsobuje celoživotnú infekciu obličiek a močových ciest. Sérologické štúdie naznačujú, že primárna infekcia BKV nastáva už v ranom detstve a sérokonverzia dosahuje do 10 rokov viac ako 90 %. BKV sa reaktivuje a spôsobuje závažné ochorenie u pacientov s oslabenou imunitou, najmä u pacientov po transplantácii obličiek a kostnej drene, okrem toho sa reaktivácia BKV pozorovala aj u príjemcov transplantátov a pacientov s autoimunitnými ochoreniami. Reaktivácia môže viesť k závažným komplikáciám, akými sú hemoragická cystitída a polyomavírusová nefropatia. Navyše, zavedenie nových, silnejších imunosupresívnych režimov v poslednom desaťročí viedlo k nárastu ochorení spojených s BKV. Teória, že BKV zohráva úlohu pri rakovinových ochoreniach ľudí však zostáva nepotvrdená. Viaceré publikácie preukázali protichodné výsledky, pokiaľ ide o prítomnosť sekvencií BKV a jeho proteínov v rôznych typoch nádorov. V súčasnosti nie je k dispozícii špecifická antivírusová liečba, v nej sa čiastočne uplatnil cidofovir (Abend a kol., 2009). Kvôli pretrvávajúcej infekcii BKV bol u pacienta č. 3 cidofovir aplikovaný celkovo v 4 cykloch.

ZÁVER

Aj napriek tomu, že v liečbe týchto ochorení boli dosiahnuté významné pokroky, vďaka ktorým sa podarilo zvrátiť zlú prognózu a zvýšiť šancu na dosiahnutie remisie ochorenia, ich terapia je stále spájaná s nežiaducimi účinkami vyskytujúcimi sa počas liečby ako aj s neskorými následkami liečby, ktoré v značnej miere ovplyvňujú kvalitu života pacienta. Manažment pacienta po liečbe HL je zameraný práve na skoré podchytenie a určenie adekvátnych postupov po neskorých komplikáciách liečby. Prejavom neskorej toxicity sú predovšetkým sekundárne malignity, kardiovaskulárne ochorenia, pľúcna dysfunkcia, sterilita, hypotyreóza a chronická

únava. Optimalizáciou chemoterapie a zmenšením ožarovacích polí dôjde k poklesu incidencie sekundárnych malignít.

U vyliečených pacientov je veľmi dôležitá informovanosť o možných rizikách, pravidelné kardiologické kontroly, dodržiavanie zásad zdravej životosprávy a včasný skrining nádorových ochorení.

ZOZNAM LITERATÚRY

Abend, J. R., Jiang, M., Imperiale, M. J.: BK Virus and human cancer: innocent until proven guilty. *Seminars in Cancer Biology*, 2009, 19 (4), 252 – 260.

Aleman, B. M. P., van den Belt-Dusebout, A. W. de Bruin, M. L., van 't Veer, M. B., Baaijens, M. H. A., de Boer, J. P., Hart, A. A. M., Klokman, W. J., Kuenen, M. A., Ouwens, G. M., Bartelink, H., van Leeuwen, F. E.: Late cardiotoxicity after treatment for Hodgkin lymphoma. *Blood*, 2007, 109 (5), 1878 – 1886.

Arber, D. A.: Molecular diagnostic approach to non-Hodgkin's lymphoma. *Journal of Molecular Diagnostics*, 2000, 2 (4), 178 – 190.

Bair, S. M. a Svoboda, J.: Response-adapted treatment strategies in Hodgkin lymphoma using PET imaging. *PET Clinics*, 2019, 14 (3), 353 – 368.

Brusamolino, E., Baio, A., Orlandi, E., Arcaini, L., Passamonti, F., Griva, V., Casagrande, W., Pascutto, C., Franchini, P., Lazzarino, M.: Long-term events in adult patients with clinical stage IA-IIA nonbulky Hodgkin's lymphoma treated with four cycles of doxorubicin, bleomycin, vinblastine, and dacarbazine and adjuvant radiotherapy: a single-institution 15-year follow-up. *Clinical Cancer Research*, 2006, 12 (21), 6487 – 6493.

Češka, R., Štulc, T., Tesař, V., Lukáš, M. *Interna*. 2. vyd. Praha: Triton, 2015. 909 s.

Drugbank. www.drugbank.ca/drugs/DB00441. Accessed March 05, 2020.

Duthie, R. a Denning, D.: Aspergillus fungemia: report of two cases and review. *Clinical Infectious Diseases*, 1995, 20 (3), 598 – 605.

Fields, P. a Wrench, D.: Hodgkin lymphoma.

Medicine, 2013, 41 (5), 290 – 294.

Gotti, M., Fiaccadori, V., Bono, E., Landini, B., Varettoni, M., Arcaini, L., Bonfichi, M.: Therapy-related late adverse events in Hodgkin's lymphoma. *Lymphoma*, 2013, DOI: 10.1155/2013/952698.

Hirsch, A., van Der Els, N., Straus D. J., Gomez, E. G., Leung, D., Portlock, C. S., Yahalom, J.: Effect of ABVD chemotherapy with and without mantle or mediastinal irradiation on pulmonary function and symptoms in early-stage Hodgkin's disease. *Journal of Clinical Oncology*, 1996, 14 (4), 1297 – 1305.

Hjermstad, M. J., Fossa, S. D., Oldervoll, L., Holte, H., Jacobsen, A. B., Loge, J. H.: Fatigue in long-term Hodgkin's disease survivors: A follow-up study. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, 23 (27), 6587 – 6595.

Jereczek-Fossa, B. A., Alterio, D., Jassem, J., Gibelli, B., Tradati, N., Orecchia, R.: Radiotherapy-induced thyroid disorders. *Cancer Treatment Reviews*, 2004, 30 (4), 369 – 384.

Kiserud, C. E., Seland, M., Hølte, H., Fosså, A., Fosså, S. D., Bollerslev, J., Bjørø, T., Loge, J. H.: Fatigue in male lymphoma survivors differs between diagnostic groups and is associated with latent hypothyroidism. *Acta Oncologica*, 2015, 54 (1), 49 – 59.

Kubisz, P. a Dobrotová, M.: *Hematológia a transfúziológia* [Hematology and transfusiology]. 1. vyd. Bratislava: Grada, 2006. 323 s.

Kuppers, R., Engert, A., Hansmann, M. L.: Hodgkin lymphoma. *Journal of Clinical Investigation*, 2012, 122, 3439 – 3447.

Ladická, M.: Transplantácia krvotvorných buniek a praktický lekár [Transplantation of hematopoietic cells and general practitioner]. *Via Practica*, 2007, 4 (7 – 8), 344 – 347.

Lymfómová skupina slovenska [Slovak lymphoma group]. Hodgkinov lymfóm. Liga proti rakovine SR, D&D International Slovakia, 2011, Bratislava. 33 s.

Marková, J.: *Hodkinov lymfóm. Informácie a odporúčania pre pacientov* [Hodkin lymphoma

– information and recommendations for patients]. www.lymfom.sk/engine/wp-content/uploads/2019/07/brozura-Hodgkinov-lymfom-1.pdf. [cit-25-01-2020].

Medlicker: Hodkinov lymfóm [Hodkin lymphoma]. www.sk.medlicker.com/595-hodgkinov-lymfom-priciny-priznaky-diagnostika-a-liecba. [cit. 15-12-2019].

Meirow, D. a Nugent, D.: The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Human Reproduction Update*, 2001, 7 (6), 535 – 543.

New Path. www.sherryimm.blogspot.com/2015/10/histology_30.html. Accessed December 15, 2019.

Nikolaenko, L., Chen, R., Herrera, A. F.: Current strategies for salvage treatment for relapsed classical Hodgkin lymphoma. *Therapeutic Advances in Hematology*, 2017, 8 (10), 293 – 302.

Oki, Y. a Younes, A.: Current role of gemcitabine in the treatment of Hodgkin lymphoma. *Leukemia and Lymphoma*, 2008, 49 (5), 883 – 889.

Plank, L., Vranovský, A., Wild, A., Petrilák, M., Ballová, V., Drgoňa, Ľ.: Stratégia liečby malígnych lymfómov [Strategy for treatment of malignant lymphomas]. *Onkológia – Suplement 1/2018*, 2018, 13 (1), 58 – 63.

Rueda Domínguez, A., Márquez, A., Gumá, J., Llanos, M., Herrero, J., de Las Nieves, M. A., Miramón, J., Alba, E.: Treatment of stage I and II Hodgkin's lymphoma with ABVD chemotherapy: results after 7 years of a prospective study. *Annals of Oncology*, 2004, 15 (12), 1798 – 1804.

Sipsas, N. V. a Kontoyiannis, D. P.: Invasive fungal infections in patients with cancer in the Intensive Care Unit. *International journal of antimicrobial agents*, 2012, 39 (6), 464 – 471.

van der Kaaij, M. A. E., Heutte, N., le Stang, N., Raemaekers, J. M. M., Simons, A. H., Carde, P., Noordijk, E. M., Ferme, C., Thomas, J., Eghbali, H., Kluin-Nelemans, H. C., Henry-Amar, M.: Gonadal function in males after chemotherapy for early-stage Hodgkin's lymphoma treated in four subsequent

trials by the European Organisation for Research and Treatment of Cancer: EORTC lymphoma group and the groupe d'Étude des lymphomes de l'adulte. *Journal of Clinical Oncology*, 2007, 25 (19), 2825 – 2832.

van Leeuwen-Segarceanu, E. M., Dorresteijn, L. D., Pillen, S., Biesma, D. H., Vogels, O. J., van Alfen, N.: Progressive muscle atrophy and weakness after treatment by mantle field radiotherapy in Hodgkin lymphoma survivors. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 2012, 82 (2), 612 – 618.

Vranovský, A. Biologická liečba lymfómov. [Biological treatment of lymphomas]. *Onkológia*, 2011, 6 (1), 28 – 32.

World Health Organization. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. 4th edn. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2008. 586 p.



INTERAKCIE LIEČIV S VYBRANÝMI CITRUSOVÝMI PLODMI

INTERACTIONS OF DRUGS WITH CITRUS FRUITS

Jurošová, Kristína¹; Fedorová, Monika²

¹Lekáreň BENU Atrium Flora
Vinohradská 2828/151, Praha 3, 130 00
Česká republika

²Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

monika.fedorova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Rod *Citrus* L., ktorý obsahuje niektoré z bežne pestovaných a konzumovaných plodín na svete, predstavuje širokú rozmanitosť druhov. Plody týchto rastlín patria medzi obľúbené ovocie, ktoré je zaradené v jedálničku mnohých ľudí s cieľom doplnenia dennej dávky vitamínov, antioxidantov a minerálnych látok. Práve z tohto dôvodu sa vytvára množstvo príležitostí na vznik interakcie medzi liečivom a potravou.

Štúdia sa zaoberá problematikou interakcií medzi liečivami a vybranými citrusovými plodmi – grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.), horký pomaranč (*Citrus aurantium* L.) a sladký pomaranč (*Citrus sinensis* L.). Obsahuje prehľad potenciálnych interakcií liečiv, nachádzajúcich sa v liekoch registrovaných na Slovensku, s vybranými citrusovými plodmi, a to na základe

informácií uvádzaných v rôznych (knižných a elektronických) odborných zdrojoch. Súčasťou štúdie sú odporúčania pri interakciách liečiv s citrusovými plodmi, ktoré sú vhodné pre ich využitie v klinickej praxi.

Štúdia ďalej prináša údaje o informovanosti odborníkov z radu farmaceutov a farmaceutických laborantov v danej problematike, ktoré boli zisťované pomocou dotazníkovej metódy.

Kľúčové slová: citrusové plody; grapefruit; interakcie liečiv; pomaranč

ABSTRACT

Genus *Citrus* L., which includes some of the most commonly grown and consumed fruits of the world, includes a wide variety of species. Crops of these plants belong to favourite fruits, which are

included in meal plans of many of us to supplement the daily dose of vitamins, antioxidants and minerals. For this reason many opportunities of drug-food interaction arise.

This paper is focused on the issue of interactions between drugs and the selected citrus fruits – grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.), bitter orange (*Citrus aurantium* L.) and sweet orange (*Citrus sinensis* L.). This paper provides an overview of potential drug-food interactions of drugs registered in Slovakia with the selected citrus fruits, based on the information provided by the various (literary and online) scientific resources. Crucial part of this study are the recommendations for drug interactions with citrus fruits, which are suitable for use in clinical practice. The study also brings information about the awareness of pharmacists and pharmaceutical technicians of the issue, which was verified by questionnaire method.

Key words: citrus fruits; grapefruit; drug interactions; orange

ÚVOD

V prípade, že liečivo je ovplyvnené iným liečivom, potravou, chemickou látkou, či látkou rastlinného pôvodu, hovoríme, že ide o liekovú interakciu. Vplyvom takýchto interakcií často dochádza k vzniku nežiaducich účinkov liečiv a/alebo k vyvolaniu toxicity. Takéto reakcie sú častokrát nepredvídateľné a u každého pacienta sa môžu prejavovať v odlišnej intenzite, preto môžu predstavovať značné riziko (Pinková, 2013).

Uplynulo už viac ako 30 rokov, odkedy sa neúmyselne zistilo, že šťava z grapefruitu má potenciál vzniku interakcie s určitými druhmi liečiv (Shimomura, Wanwimolruk, Chen, 2003). Postupom času a s pribúdajúcimi výskumami sa ukázalo, že pri viacerých liečivách hrozí nebezpečenie vzniku interakcie v kombinácii s konzumáciou plodov rodu *Citrus* L. Takéto liekové interakcie sú popisované aj u liekov

registrovaných na Slovensku, ktoré sú predpisované na liečbu bežných aj závažných zdravotných stavov.

Liečivá môžu interagovať so všetkými formami citrusových plodov – šťava, čerstvé ovocie aj koncentrát. Dôležitým faktom je, že k týmto interakciám dochádza nielen pri ich súbežnom podávaní, ale postačujúca je aj predchádzajúca expozícia organizmu, kedy už plody nie sú prítomné v tráviacom trakte (Hanley a kol., 2011).

MATERIÁL A METÓDY

Informácie o interakciách medzi citrusovými plodmi a liečivami boli zozbierané z nasledujúcich informačných zdrojov: modul Drug Interactions vo faktografickej databáze Micromedex (Micromedex, 2019), portál Medscape (Medscape, 2019), Drugs interactions checker na portáli www.drugs.com (Drugs.com, 2019), publikácia Fytofarmaká a potraviny – klinicky významné interakcie (Czigle a Tóth, 2016), publikácie Stockley's Drug Interactions – 8th edition (Baxter a kol., 2008) a Stockley's Herbal Medicines Interactions (Baxter, Driver, Williamson, 2013) a SPC liekov obsahujúcich príslušné liečivá (ŠÚKL, 2020).

Pre vytvorenie prehľadu odporúčaní pri interakciách liečiv s citrusovými plodmi pre klinickú prax boli použité rovnaké zdroje ako sú uvedené v predchádzajúcom odseku. Prehľad bol vytvorený s ohľadom na druh citrusového plodu (grapefruit, horký pomaranč, sladký pomaranč). V prípade, že liečivá mali pri rôznych zdrojoch uvedené odporúčanie s rovnakým významom a podobným znením (prípadne rovnakým znením), zaznamenali sme ho pod jedným názvom.

Dotazník určený farmaceutom a farmaceutickým laborantom bol distribuovaný elektronickou aj papierovou formou v období od 18. novembra 2019 do 2. februára 2020. Následne boli odpovede spracované a graficky vyhodnotené. Prieskumu sa zúčastnilo 100 respondentov: 82 farmaceutov (F) a 18 farmaceutických laborantov (FL).

Tab. 1: Interakcie liečiv s grapefruitom

GRAPEFRUIT – <i>Citrus paradisi</i> Macf.					
ATC	LIEČIVO	ATC	LIEČIVO	ATC	LIEČIVO
A06A	<i>naloxegol</i> ^{1,2,3}	G04B	tolterodín ²	L04A	<i>cyklosporín</i> ^{1,2,3,4}
A07A	rifaximin ²		<i>varденаfil</i> ^{1,2,3}		<i>takrolimus</i> ¹⁻⁵
A10B	repaglinid ^{1,2,3}	G04C	silodozín ²		<i>sirolimus</i> ^{1,2,3}
A16A	<i>eliglustat</i> ^{1,2,3}		tamsulosin ^{1,2}	L10X	<i>venetoklax</i> ^{1,2,3}
B01A	<i>warfarín</i> ^{2,3,4,5}	H02A	<i>metylprednizolón</i> ¹⁻⁵	M04A	kolchicín ^{1,2,3}
	<i>cilostazol</i> ^{1,2,3}		dexametazón ²	N02A	<i>fentanyl</i> ^{1,2,3}
	klopidogrel ^{1,2}		hydrokortizón ²		<i>oxykodón</i> ^{1,2,3}
	dabigatrán ²	H05E	cinacalcet ²		buprenorfin ^{1,2}
	rivaroxaban ²	J01F	erytromycín ¹⁻⁵	N02C	eletriptán ^{1,2}
	<i>tikagrelor</i> ^{1,2}	J02A	itrakonazol ^{1,3,4}	N03A	<i>karbamazepín</i> ¹⁻⁵
C01B	<i>amiodarón</i> ¹⁻⁵	J05A	<i>sachinavir</i> ^{1,3,4,5}	N05A	sertindol ²
	<i>dronedarón</i> ^{1,2,3}		darunavir ²		aripiprazol ^{1,2}
	<i>propafenón</i> ^{1,2}		fosamprenavir ²		klozapín ^{1,2}
C01E	<i>ranolazín</i> ^{1,2,3}		lopinavir ²		<i>kvetiapín</i> ^{1,2}
C02K	riociguát ²		maravirok ²		<i>lurazidón</i> ^{1,2,3}
C07A	karvedilol ⁴		ritonavir ²	N05B	alprazolam ^{1,2,3,4}
C07F	<i>ivabradín</i> ^{1,2,3,5}		indinavir ²		<i>buspirón</i> ¹⁻⁵
C08C	<i>amlodipín</i> ^{1,2,3,4}		tipranavir ²		<i>diazepam</i> ¹⁻⁵
	<i>felodipín</i> ¹⁻⁵	L01A	<i>ifosfamid</i> ^{1,2}	N05C	midazolam ¹⁻⁵
	<i>nifedipín</i> ¹⁻⁵	L01C	etopozid ^{1,2,4}	N06A	<i>kломipramín</i> ^{1,2,3,4}
	<i>nimodipín</i> ¹⁻⁵	L01XE	<i>regorafenib</i> ^{1,2,3}		<i>sertralín</i> ¹⁻⁵
	nitredipín ^{1,2,4}		afatinib ²		amitriptylín ²
	<i>lacidipín</i> ²		<i>axitinib</i> ^{1,2,3}		fluvoxamín ^{1,2,5}
C08D	<i>diltiazem</i> ^{1,2,3,4}	L01XE	<i>bosutinib</i> ^{1,2,3}	N06A	imipramín ²
	<i>verapamil</i> ¹⁻⁵		<i>ibrutinib</i> ^{1,2,3}		trazodón ²
C09C	losartan ^{3,4}		<i>pazopanib</i> ^{1,2,3}		aprepitant ^{1,2}
C09X	<i>aliskiren</i> ^{1,3}		<i>ponatinib</i> ^{1,2,3}	N06B	kofeín ^{3,4}
C10A	<i>atorvastatín</i> ¹⁻⁵		ruxolitinib ^{1,2,3}	N07B	<i>metadón</i> ^{1,2,3}
	lovastatín ¹⁻⁵		<i>cabozantinib</i> ^{1,2,3}	P02C	albendazol ^{1,2,3}
	<i>simvastatín</i> ¹⁻⁵		<i>krizotinib</i> ^{1,2,3}	R03A	<i>budezonid</i> ^{1,2,3}
G03A	etinylestradiol ^{3,4}		<i>dasatinib</i> ^{1,2,3}		flutikazón/furoát ^{1,2}
	levonorgestrel ^{2,3}		gefitinib ²	R03D	teofylín ^{2,4,5}
G03X	bazedoxifen ^{2,3}		<i>nilotinib</i> ^{1,2,3}	R05D	dextrometorfán ^{1,2,4}
G04B	<i>sildenafil</i> ¹⁻⁵		nintedanib ²	R06A	fexofenadín ¹⁻⁵
	<i>avanafil</i> ^{1,2,3}		sorafenib ²		loratadín ^{2,3}
	<i>darifenacín</i> ^{2,3}	L01XX	<i>olaparib</i> ^{1,2,3}		<i>bilastín</i>
	solifenacín ²		<i>bexarotén</i> ^{1,2,3}		<i>bilastín</i>
	<i>tadalafil</i> ^{1,2,3}	L02B	tamoxifen ²		

1 – modul Drug Interactions vo faktografickej databáze Micromedex (Micromedex, 2019), 2 – portál Medscape (Medscape, 2019), 3 – Drugs interactions checker na portáli www.drugs.com (Drugs.com, 2019), 4 – Fytofarmaká a potraviny – klinicky významné interakcie (Czigle a Tóth, 2016), 5 – Stockley's Herbal Medicines Interactions (Baxter, Driver, Williamson, 2013)/Stockley's Drug Interactions 8th edition (Baxter a kol., 2008)

Pozn. kurzívou sú uvedené liečivá, ktoré mali IT uvádzanú v SPC (ŠÚKL, 2020)

Tab. 2: Interakcie liečiv s ostatnými citrusmi

POMARANČ, horký <i>Citrus aurantium</i> L.		POMARANČ, sladký <i>Citrus sinensis</i> L.	
ATC	LIEČIVO	ATC	LIEČIVO
C01B	amiodarón ⁴	C07A	atenolol ³
C08C	felodipín ^{4,5}	C09X	aliskiren ³
C08D	diltiazem ⁴	C10A	pravastatín ⁴
J05A	sachinavir ¹	J01M	ciprofloxacín ^{3,4}
	indinavir ^{4,5}		levofloxacín ^{3,4}
L01XE	ibrutinib ^{1,2,3}		moxifloxacín ^{3,4}
L01XX	olaparib ^{1,2,3}		norfloxacín ^{3,4}
L10X	venetoklax ^{1,2,3}		ofloxacín ⁴
N03A	fenobarbital ¹	L04A	cyklosporín ⁵
N05C	midazolam ^{1,4}	P02C	ivermektín ⁴
N06B	kofeín ^{4,5}	R06A	fexofenadín ^{1,3,4}
R05D	dextrometorfán ^{4,5}		

1 – modul Drug Interactions vo faktografickej databáze Micromedex (Micromedex, 2019), 2 – portál Medscape (Medscape, 2019), 3 – Drugs interactions checker na portáli www.drugs.com (Drugs.com, 2019), 4 – Fytofarmaká a potraviny – klinicky významné interakcie (Czigle a Tóth, 2016), 5 – Stockley's Herbal Medicines Interactions (Baxter, Driver, Williamson, 2013)/Stockley's Drug Interactions 8th edition (Baxter a kol., 2008)

Pozn. kurzívou sú uvedené liečivá, ktoré mali IT uvádzanú v SPC (ŠÚKL, 2020)

VÝSLEDKY

Celkový počet liečiv v registrovaných liekoch na Slovensku (spracované k 1.3.2020), pri ktorých bol zaznamenaný potenciálny vznik rizika interakcie s vybranými citrusovými plodmi, bol **121**. Ide o liečivá zaradené do 11 zo 14 hlavných ATC skupín. Najviac zastúpenými boli liečivá zo skupiny cytostatiká a imunomodulátory (20 %), liečivá centrálnej nervovej sústavy (20 %) a liečivá kardiovaskulárneho systému (17 %).

Interakcie boli popísané u týchto citrusov: grapefruit (*Citrus sinensis* Macf.), horký pomaranč (*Citrus aurantium* L.) a sladký pomaranč (*Citrus sinensis*). Najväčší počet liečiv (112) s možnou interakciou s citrusovými plodmi sme zaznamenali pri **grapefruite** (*Citrus paradisi* Macf.), z toho 55 (49 %) z nich malo túto interakciu uvedenú aj v SPC (viď tab. 1).

V prípade **horkého pomaranča** sme interakciu zaznamenali u 12 liečiv, z toho len u 2 bola interakcia uvedená v SPC a pri **sladkom pomaranči** u 11 liečiv, z toho u 2 bola interakcia uvedená v SPC (viď tab. 2).

Najčastejším **mechanizmom interakcie** medzi liečivom a citrusovým plodom bola inhibícia izoenzýmu CYP3A4, ktorý je zodpovedný za vznik interakcie pri 97 liečivách (97 s grapefruitom, 10 s horkým pomarančom, 2 so sladkým pomarančom), čo predstavuje 80 %. Až 85 % liečiv s mechanizmom interakcie pomocou inhibície CYP3A4 má informáciu o potenciálnej interakcii uvedenú v SPC. Ďalšími mechanizmami môžu byť inhibícia izoenzýmov CYP2D6, CYP1A2 alebo CYP2C9. Okrem pôsobenia na cytochróm P450 sú citrusové plody schopné inhibovať taktiež transportéry liečiv (Pgp a OATPs) a spôsobiť zmenu absorpcie liečiva. K vzniku týchto interakcií môže dochádzať aj kombináciou spomínaných mechanizmov.

Tab. 3: Odporúčania pri interakciách liečiv s citrusovými plodmi pre klinickú prax

ODPORÚČANIE PRE KLINICKÚ PRAX	G	HP	SP	Celkový počet	SPC
nepodávať spolu	64	10	9	83	45
nepodávať spolu (počas počiatočnej fázy)	1	1	0	2	1
nepodávať spolu (ak je to nevyhnutné – znížiť dávku)	8	1	0	9	7
nepodávať spolu (nahraďiť pomarančom)	2	0	0	2	0
upozorniť na možnú interakciu	50	0	2	52	18
vhodné na zvýšenie biologickej dostupnosti liečiva	2	0	0	2	1
vyhnúť sa konzumácii veľkého množstva grapefruitovej šťavy	1	0	1	2	1
obmedziť spotrebu grapefruitovej šťavy na najviac 1 liter denne	1	0	0	1	1
vyhnúť sa pravidelnej konzumácii	1	0	0	1	1
vyhnite sa na 72 hodín užívaniu liečiva po požití grepovej šťavy	1	0	0	1	0

G – grapefruit, HP – horký pomaranč, SP – sladký pomaranč, SPC – interakcia uvedená v SPC

Typy odporúčaní pri interakciách liečiv s citrusovými plodmi, ktoré sa vyskytovali v odborných zdrojoch, sa nachádzajú v tabuľke 3. Odporúčania sú určené pre 121 liečiv s potenciálnou interakciou s vybranými druhmi plodov rodu *Citrus* L., pričom pre 1 liečivo môže byť určených viac druhov odporúčaní (v závislosti od zdroja).

Najčastejším odporúčaním pre klinickú prax, ktorým je potrebné informovať pacienta pri vydávaní lieku, je „nepodávať spolu“, čím sa myslí, že počas trvania liečby je potrebné vyhnúť sa konzumácii vybraného citrusového plodu. Toto odporúčanie sme z celkového počtu 121 liečiv s potenciálom interakcie s vybranými druhmi citrusových plodov zaznamenali:

- s grapefruitom: u 64 zo 112 liečiv (57 %),
- s horkým pomarančom: u 10 z 12 liečiv (83 %),
- so sladkým pomarančom: u 9 z 11 liečiv (82 %).

Pri 52 liečivách sa odporúča „upozorniť na možnú interakciu“ s citrusovými plodmi (50 s grapefruitom, 2 so sladkým pomarančom). V tomto prípade je potrebné pacienta oboznámiť, že pri výskyte nežiaduceho účinku liekov by mal

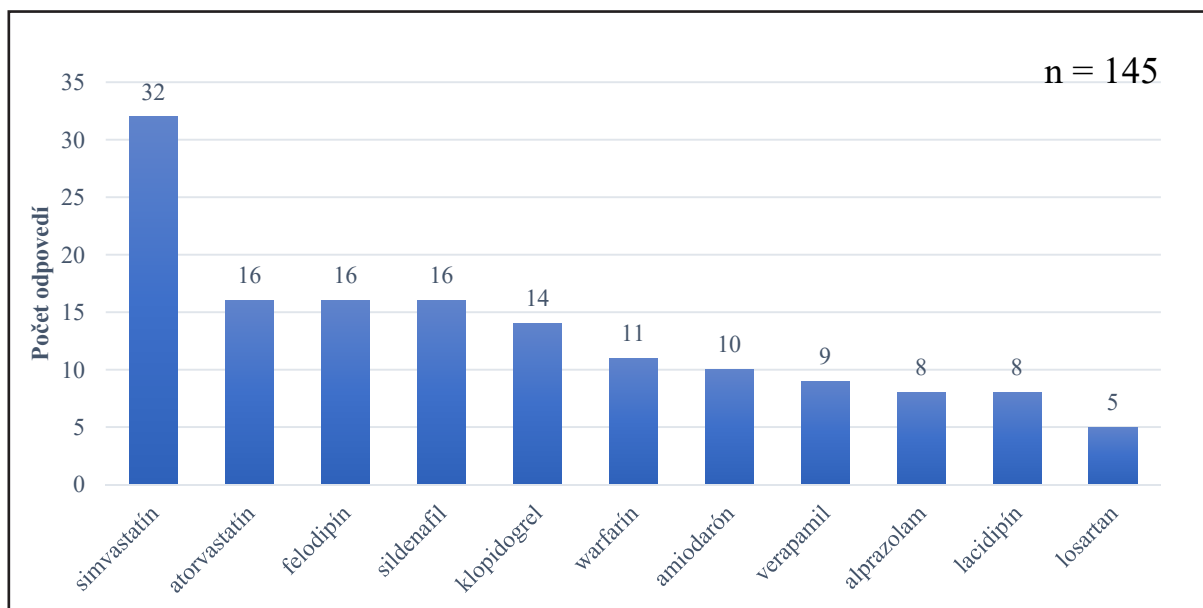
neodkladne vyhľadať lekársku pomoc a informovať o konzumácii citrusových plodov počas terapie.

V dotazníku boli respondenti vyzvaní, aby uviedli 3 liečivá, pri ktorých najčastejšie upozorňujú pacientov na obmedzenia súvisiace s užívaním grapefruitového džúsu (viď graf 1). Liečivo simvastatín, ktoré sa používa ako antihyperlipidemikum, uviedlo 32 respondentov (29 F, 3 FL), čo predstavuje 22 %. Druhými najčastejšie uvádzanými boli liečivá atorvastatín, felodipín a sildenafil, v rovnakom počte 16 (11 %). 40 odpovedí označovalo skupinu liečiv a nie konkrétne liečivo. Medzi najčastejšie uvádzané skupiny liečiv patrili tzv. „statíny“ (antihyperlipidemiká) a hormonálna antikoncepcia, v rovnakom počte 10. Z výsledkov vyplýva, že lekárnici najčastejšie upozorňujú na užívanie grapefruitového džúsu s antihyperlipidemikami – „statínmi“.

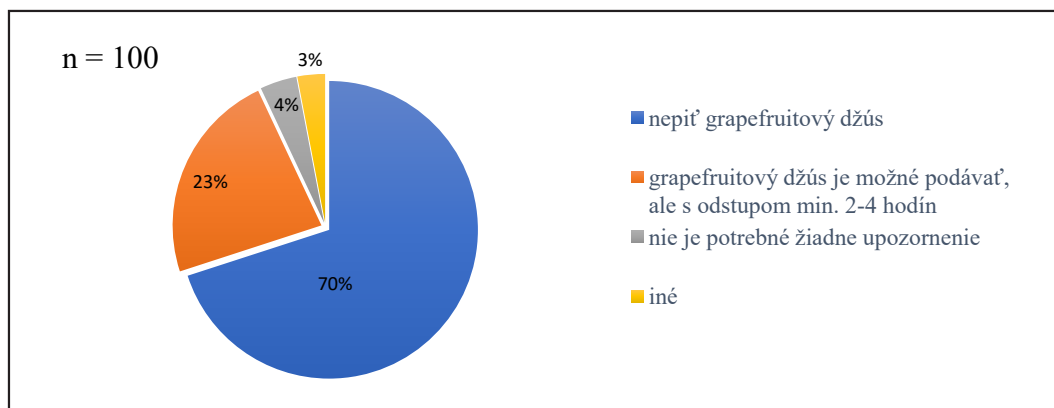
Respondentov sme sa pýtali, na čo je nutné upozorniť pacienta pri vydávaní liekov obsahujúcich liečivo **simvastatín** – na základe možného vzniku interakcie (viď graf 2). Väčšina respondentov (70 %) označila odpoveď „nepiť grapefruitový džús“, ktorú sme v tejto otázke považovali za správnu v súlade s SPC (ŠÚKL, 2020).

Ďalej sme sa pýtali, s akým zvýšeným rizikom je

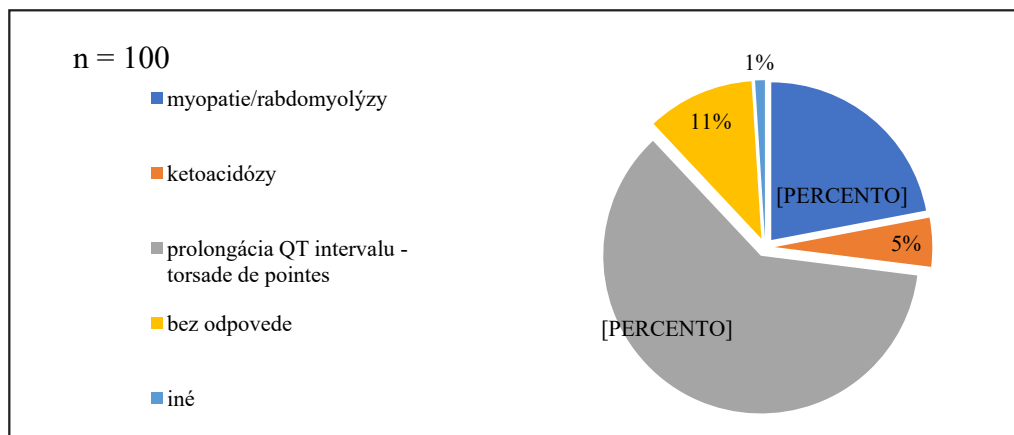
Graf 1: Upozornenia na obmedzenia užívania grapefruitového džúsu s liečivami



Graf 2: Upozornenie pri interakcii „simvastatín – grapefruitový džús“



Graf 3: Riziko interakcie medzi amiodarónom a grapefruitovým džúsom



spojená interakcia medzi liečivom **amiodarónom** a grapefruitovým džúsom (viď graf 3). V tomto prípade sme za správnu odpoveď považovali „prolongácia QT intervalu – torsade de pointes“, ktorá sa opiera o možné nežiaduce účinky liekov (Bailey, Dresser, Arnold, 2013). Zároveň bola táto odpoveď aj najčastejšie označovanou odpoveďou so 61 % zastúpením. 39 % opýtaných by na túto interakciu pacienta nevedelo (12 %), resp. nesprávne upozornilo (27 %).

DISKUSIA

Liekové interakcie sa v poslednom období stávajú rozsiahlo diskutovanou témou nielen medzi zdravotníckymi pracovníkmi, ale takisto širokou verejnosťou. Pre správne poskytovanie informácií pacientom o interakciách je potrebná dostatočná znalosť a odbornosť farmaceutov a farmaceutických laborantov v danej problematike.

V praxi, pri vydávaní lieku, sú prínosné elektronické databázy (Vlček, 2009). Častým problémom je, že tieto databázy nemusia byť pravidelne aktualizované a taktiež využívajú rôzne metodiky vyhodnocovania interakcií liečiv, čo môže vytvárať rozdiely vo výskyte liečiva s potenciálnou interakciou s citrusovým plodom v týchto databázach či knižných zdrojoch. Potrebne je preto overovať si informácie vo viacerých zdrojoch a tak si vytvoriť komplexný prehľad.

Výsledky dotazníkového prieskumu ukázali, že v praxi je v lekárni najčastejšie upozorňované na učebnicový príklad interakcie medzi grapefruitovým džúsom a simvastatínom. Niektorí respondenti síce uvádzali farmakologické skupiny liečiv (namiesto konkrétnych liečiv) s potenciálom interakcie s grapefruitom, ale nie je známa taká skupina, pri ktorej by platilo, že interagujú všetky liečivá danej skupiny. Ako príklad z výsledkov môžeme uviesť „statíny“, na ktoré bolo najčastejšie a nesprávne poukazované respondentmi. Kým lovastatín, simvastatín a atorvastatín sú metabolizované prostredníctvom CYP3A4, u fluvastatínu a rosuvastatínu je to

pomocou izoenzýmu CYP2C9, ktorý grapefruitová šťava neovplyvňuje a metabolizmus pravastatínu je sprostredkovaný sulfatáciou v pečeni. Tým sa vysvetľuje, prečo k inhibícii dochádza len pri prvých troch spomínaných liečivách z danej farmakologickej skupiny (Lee, Morris, Wald, 2016).

Z výsledkov dotazníka ďalej vyplýva, že takmer tretina respondentov (29 %) – z toho 20 farmaceutov a 9 farmaceutických laborantov – podáva pacientom nesprávnu informáciu o interakcii medzi liečivom simvastatínom a grapefruitovým džúsom, ktorá je uvedená aj v SPC. Výsledkom takejto interakcie môže byť síce zriedkavý, ale život ohrozujúci nežiaduci účinok – myopatia až rabdomyolýza. Zaujímavé je, že práve táto interakcia bola respondentmi najčastejšie uvádzaná ako interakcia, na ktorú najčastejšie upozorňujú pacientov v praxi. Z odpovedí respondentov ďalej vyplýva, že až 39 % opýtaných – z toho 23 farmaceutov a 16 farmaceutických laborantov – nepozná možný následok interakcie medzi grapefruitom a liečivom amiodarónom, ktoré patrí medzi antiarytmiká. Potenciálnym rizikom tejto interakcie je predĺženie QT intervalu – *torsade de pointes*, ktoré patrí medzi život ohrozujúce nežiaduce účinky (Bailey, Dresser, Arnold, 2013). Považujeme preto za prínosné pre prax, aby problematika interakcie liečiv s citrusovými plodmi bola nielen súčasťou sústavného vzdelávania, ale aj intenzívnejšie komunikovaná smerom k verejnosti.

ZÁVERY

Farmaceut (prípadne farmaceutický laborant) tvorí posledný bod pri výdaji lieku či doplnkového sortimentu lekárne pacientovi. Práve lekárne tvorí vhodné miesto na upozornenie na možné interakcie liečiv a preto informácie poskytnuté napr. pri dispencii lieku zohrávajú kľúčovú úlohu pre zabezpečenie účelnej farmakoterapie. Farmaceut by mal na základe svojich odborných poznatkov a v súlade s SPC šíriť tieto vedomosti a správnym spôsobom ich podať pacientovi. Trh s výživovými doplnkami nám ponúka aj také, v ktorých zložení

nájde citrusové plody, prípade obsahové látky z nich získavané, preto aj činnosť farmaceutického laboranta môže byť v tejto oblasti prínosná.

Vytvorili sme prehľad interakcií 121 liečiv registrovaných liekov na Slovensku s vybranými citrusovými plodmi. Ide o širokú skupinu liečiv a s týmito interakciami sa môžeme stretnúť v rôznych oblastiach farmakoterapie. Informácie o potenciálnych interakciách liečiv by mali byť súčasťou dispenzácie liekov u každého farmaceuta (resp. farmaceutického laboranta). Z dotazníkového prieskumu vyplynulo, že aj keď 76 % respondentov uviedlo, že upozorňuje pacientov na klinicky významné interakcie, nie je to praxou všetkých farmaceutov a 39 % nepozná následky interakcií medzi liečivami a citrusovými plodmi. To môže byť podnetom na zamyslenie, že neznalosť prepojenia farmakoterapie a výživy človeka môže mať aj nebezpečné dopady na pacienta a nie je vhodné túto problematiku podceňovať.

V súčasnosti nie je náročné z jedálnička vylúčiť citrusové plody z dôvodu rozmanitosti ponúkaných potravín, no pokiaľ pacient nie je dostatočne informovaný o možnom vzniku interakcie, nemá na to dôvod. Podávaním dostatočných informácií a komunikáciou s pacientom preto dokáže farmaceut, resp. farmaceutický laborant, výrazným spôsobom prispieť k dosiahnutiu žiaducich výsledkov farmakoterapie pacienta.

ZOZNAM LITERATÚRY

Bailey, D. G., Dresser, G., Arnold, J. M.: Grapefruit-medication interaction: Forbidden fruit or avoidable consequences? *Canadian Medical Association Journal*, 2013, 185, 309 – 316.

Baxter, K. et al.: *Stockley's Drug Interaction*. 8th edn., London: Pharmaceutical Press, 2008. 1792 p.

Baxter, K., Driver, S., Williamson, E.: *Stockley's herbal medicines interactions*. London, Chicago: Pharmaceutical Press, 2013. 432 p.

Czigle, S. a Tóth, J.: *Fytofarmaká a potraviny – klinicky významné interakcie* [Phytopharmaceuticals and food – clinically significant interactions]. 1.vyd., Bratislava: RAABE, 2016. 148 s.

DRUGS.COM. *Drug Interactions Checker*. https://www.drugs.com/drug_interactions.html. Accessed March 31, 2020.

Hanley, M. J., Cancalon, P., Widmer W. W., Greenblatt D. J.: The effect of grapefruit juice on drug disposition. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 2011, 7 (3), 267 – 286.

Lee, J. W., Morris, J. K., Wald, N. J.: Grapefruit juice and statins. *The American journal of medicine*, 2016, 129, 26 – 29.

MEDSCAPE. *Drugs interaction checker*. <https://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>. Accessed March 17, 2020.

MICROMEDEX. *Drug Interactions*. <https://www.micromedexsolutions.com/home/dispatch/ssl/true>. Accessed March 12, 2020.

Pinková, L.: Lékové interakce [Drug interactions]. *Practicus*, 2013, 12, 17 – 21. <https://docplayer.cz/10625765-Lekove-interakce-mudr-lea-pinkova-ph-d-ii-interni-klinika-fakultni-nemocnice-u-sv-anny-brno.html>. [cit. 2020–01–27].

Shimomura, S., Wanwimolruk, S., Chen, J. J.: Drug interactions with grapefruit juice: an evidence-based overview. *Pharmacy Times*, 2003, 69, 87 – 93.

ŠÚKL. Súhrn charakteristických vlastností lieku [Summary of drug characteristics]. <https://www.sukl.sk/>. [cit. 2020–02–15].

Vlček, J.: Lékové interakce z pohledu klinického farmaceuta [Drug interactions from the perspective of the clinical pharmacist]. *Practicus*, 2009, 8, 10 – 15. <https://docplayer.cz/6782302-Lekove-interakce-z-pohledu-klinickeho-farmaceuta.html>. [cit. 2020–01–27].



ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI EXTRAKTU BOBÚL *SCHISANDRA CHINENSIS* (TURCZ.) BAILL. A JEHO FARMACEUTICKÉ VYUŽITIE

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF *SCHISANDRA CHINENSIS* BERRY EXTRACT (TURCZ.) BAILL. AND ITS PHARMACEUTICAL USE

Podolinský, Martin; 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

Schisandra chinensis (Turcz.) Baill. (schizandra čínska) patrí na Slovensku k introdukovaným rastlinným druhom s významným farmaceutickým potenciálom. Cieľom predloženej štúdie bolo stanoviť obsah celkových polyfenolov, flavonoidov a antioxidačnú aktivitu extraktu bobúľ *Schisandra chinensis*, pestovaných v pôdno-klimatických podmienkach Košice-okolie. Kolorimetrickou metódou s použitím Folin-Ciocalteu činidla sme stanovili obsah celkových polyfenolov v extrakte bobúľ, ktorý bol pripravený pomocou rozpúšťadla 0,1M roztok kyseliny citrónovej v metanole, metanolu a acetónu. V extrakte s rozpúšťadlom 0,1M roztok kyseliny citrónovej v metanole sme namerali vyšší obsah celkových polyfenolov (228,12 mg GA/100 g drogy) ako v extrakte pripravenom

pomocou metanolu (122,67 mg GA/100 g). Najnižší obsah celkových polyfenolov (72,28 mg GA/100 g) bol stanovený v extrakte pripravenom pomocou acetónu. Spektrofotometrickou metódou založenou za vzniku farebného flavonoid-hlinitého komplexu sme vo vzorke bobúľ stanovili iba 0,01 % flavonoidov prepočítaných na štandard hyperozid, čo potvrdzuje výsledky iných autorov, že flavonoidy sa na antioxidačnom účinku *Schisandra chinensis* podieľajú minimálne. Z našich výsledkov vyplynulo, že spôsob extrakcie a výber extrakčného činidla vplývajú na extrakciu obsahových látok s antioxidačným účinkom. Spektrofotometrickou metódou TEAC, ktorou sme testovali schopnosť metanolového extraktu a extraktu s rozpúšťadlom 0,1M roztoku kyseliny citrónovej v metanole zhasť ABTS⁺ kation radikál sme zistili, že metanolový extrakt inhiboval

53,57 % prítomného radikálu. Celková antioxidačná aktivita prepočítaná na ekvivalent Troloxu bola 605,30 $\mu\text{mol.dm}^{-3}$. Z experimentu vyplynulo, že použitie extrakčného činidla roztoku 0,1M kyseliny citrónovej v metanole nemalo výrazný pozitívny vplyv na extrakciu obsahových látok s antioxidačným účinkom (TEAC 606,50 $\mu\text{mol.dm}^{-3}$). *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. nepatrí na Slovensku k autochtónnym druhom, avšak na pôdno-klimatické podmienky sa adaptovala a zachovala si kvalitatívne znaky. Patrí k zdrojom polyfenolov, flavonoidov, antioxidačnej aktivity a preto odporúčame pokračovať vo výskume obsahových látok a mechanizmov pozitívneho účinku na zdravie človeka.

Kľúčové slová: antioxidačná aktivita; obsahové látky; polyfenoly; *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.

ABSTRACT

Schisandra chinensis (Turcz.) Baill. belongs in Slovakia to the introduced plant species with significant pharmaceutical potential. The aim of the presented study was to determine the content of total polyphenols, flavonoids and antioxidant activity of *Schisandra chinensis* berry extract grown in soil-climatic conditions of Košice-surroundings. We determined the content of total polyphenols in the berry extract, which was prepared using a solvent of a 0.1M solution of citric acid in methanol, methanol and acetone, by a colorimetric method using the Folin-Ciocalteu reagent. We measured higher content of total polyphenols (228.12 mg GA/100 g of drug) in the solvent extract with a 0.1 M solution of citric acid in methanol than in the extract prepared with methanol (122.67 mg GA/100 g). The lowest content of total polyphenols (72.28 mg GA/100 g) was determined in the extract prepared with acetone. Using a spectrophotometric method based

on the formation of a colored flavonoid-aluminum complex, we determined in the berry sample only 0.01 % of flavonoids converted to the hyperoside standard, which confirms the results of other authors that flavonoids contribute to the antioxidant effect of *Schisandra chinensis* minimally. Our results showed that the method of extraction and the choice of extraction agent affected the extraction of constituents with antioxidant effect. Using the TEAC spectrophotometric method, which tested the ability of the methanol extract and the solvent extract with a 0.1 M solution of citric acid in methanol to quench the cation radical ABTS⁺, we found that the methanol extract inhibited 53.57 % of the radical present. The total antioxidant activity converted to Trolox equivalent was 605.30 $\mu\text{mol.dm}^{-3}$. The experiment showed that the use of an extractant of a solution of 0.1M citric acid in methanol did not have a significant positive effect on the extraction of ingredients with antioxidant effect (TEAC 606.50 $\mu\text{mol.dm}^{-3}$). *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. does not belong to the indigenous species in Slovakia, but it has adapted to soil-climatic conditions and has retained its qualitative characteristics. It is one of the sources of polyphenols, flavonoids, antioxidant activity and weand, therefore we recommend the continuing research into the ingredients and mechanisms of positive effect on human health.

Key words: antioxidant activity; components; polyphenols; *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.

ÚVOD

Schizandra čínska [*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.], čeľaď *Magnoliaceae*, rod *Schizandra*, patrí k základným liečivým rastlinám tradičnej čínskej medicíny a zaraďujeme ju k adaptogénom. Schizandra čínska je jednodomá alebo dvojdomá, opadavá, drevnatá liana so striedavými listami. Na červenej dlhej stopke je tmavozelená, lesklá,

elipsovitého až obráteno-vajcovitého tvaru čepeľ. Súplodie červených bobúľ je usporiadané do strapca a v podmienkach Slovenska bobule dozrievajú koncom augusta až septembra (Jablonský, 2007). V čínštine sa bobule nazývajú „wu-wei-zi“, čo v preklade znamená ovocie piatich chutí: sladká, kyslá, horká, slaná a pálivá. V bobuliach bolo identifikovaných 40 druhov lignanov s farmakologickým potenciálom. Lignany sú polyfenolické látky a v rastlinách sa vyskytujú vo forme glykozidov alebo aglykónov (Nagy a kol., 2012). V schizandre čínskej sa nachádzajú lignany dibenzo[a,c]cyklooktadiénového typu (Szopa a kol., 2017). Medzi hlavné lignany patria: schizandrín, deoxyschizandrín, deangeloylgomisín B, gomisín A, gomisín N, γ -schizandrín a wuweizisu C (Šmejkal a kol., 2010).

Bobule a semená obsahujú éterické oleje (seskviterpény a monoterpény). V bobuliach sa nachádza ylangén, β -himachalén, di-epi- α -cedrén, α -cis-bergamotén, 4,11-selinadién- α -cadinol. Z monoterpénov sú prítomné borneol, citral, α a β -pinén, a zo seskviterpénov seskvikarén, α - a β -chamigrén a β -bisabolén (Hancke a kol., 1999; Lee a kol., 2011; Liu a kol., 2012). V bobuliach boli identifikované triterpenoidy a nortriterpenoidy lanostánového a cykloartánového typu (tzv. schinorterpenoidy), kyselina kadsurová, schizanlaktón D a kyselina wuweizilaktónová (Nowak a kol., 2019). Z antokyánov je to cyanidín-3-O-xylozylrutinozid (cya-3-o-xylrut) (Kim a kol., 2009; Ma a kol., 2012). V bobuliach sa nachádzajú polysacharidy, taníny, vitamín E, stopy Cu, Mn, Ni, Zn (Hancke a kol., 1999; Panossian, 2008; Li a kol., 2018). Z organických kyselín sú prítomné: kyselina citrónová, jablčná, fumárová, askorbová a vínna, z fenolových kyselín kyselina chlorogénová, malé množstvo flavonoidov (rutín, izokvercitrín, hyperozid, kvercetín). Semená obsahujú 33 % oleja zloženého z glyceridov kyseliny linolénovej a oleínovej (Hancke a kol., 1999; Jablonský, 2007; Panossian, 2008).

Obsahové látky v bobuliach schizandry čínskej chránia bunky pred účinkami škodlivých voľných

radikálov, zvyšujú odolnosť organizmu proti stresovým situáciám, podporujú fyzickú i mentálnu výkonnosť. Pozitívne ovplyvňujú metabolizmus lipidov, sacharidov, majú hepatoprotektívny, protizápalový, protirakovinový, neuroprotektívny, antimikrobiálny účinok, podporujú imunitu a endokrinný systém (Maimes a Winston, 2007; Panossian, 2008; Panossian a Wikman, 2010; Nowak a kol., 2019). V štúdiu na potkanoch, ktoré boli kŕmené krmivom s obsahom extraktu plodov schizandry čínskej, vykazovali potkany nižšie hladiny ukazovateľov stresu (Xia a kol., 2016). Účinné látky schizandry čínskej majú potenciál znižovať patologické zmeny na pečeni a lipidový profil u pacientov s alkoholom indukovanou hepatopatiou (Park a kol., 2014). Účinné látky z bobúľ schizandry čínskej sa využívajú pri prevencii menopauzy a kardiovaskulárnych ochorení (Kim, Baek, Rhyu, 2011).

Cieľom predkladanej štúdie bolo stanoviť obsah celkových polyfenolov, flavonoidov a antioxidačnú aktivitu extraktu bobúľ *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., ktoré boli vypestované v pôdno-klimatických podmienkach Slovenska (Sady nad Torysou).

MATERIÁL A METÓDY

V experimente bola použitá populácia plodov *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., pestovaná v pôdnych a klimatických podmienkach Sady nad Torysou (Košice okolie). Po vysušení boli plody rozpráškované pomocou elektrického mlynčeka a následne boli pripravené extrakty pomocou rôznych rozpúšťadiel.

Metódy stanovenia obsahu celkových polyfenolov, flavonoidov a antioxidačnej aktivity

Príprava extraktov:

Pre stanovenie antioxidačnej aktivity metódou ABTS sme ako rozpúšťadlo použili metanol a 0,1M roztok kyseliny citrónovej v metanole. Na stanove-

Tab. 1: Riedenie extraktu pred meraním antioxidačnej aktivity

Vzorka	Extrakt	Rozpúšťadlo
1	10 ml	–
2	5 ml	5 ml
3	2,5 ml	7,5 ml
4	1,25 ml	8,75 ml
5	0,625 ml	9,375 ml

nie celkových polyfenolov sme ako extrakčné činidlo použili aj acetón (Pliszka a kol., 2016).

Extrakty schizandry čínskej v dvoch rozpúšťadlách (metanol a 0,1M roztok kyseliny citrónovej v metanole) boli pred meraním antioxidačnej aktivity nariadené príslušným rozpúšťadlom na 5 vzoriek (vid' tab. 1).

Stanovenie obsahu celkových polyfenolov metódou s použitím Folin-Ciocalteu činidla:

Na stanovenie celkového množstva polyfenolov sa používa kalorimetrická metóda s činidlom Folin-Ciocalteu (FC), absorbancia sa meria pri vlnovej dĺžke 750 nm (Singleton a kol., 1999). Metóda je založená na princípe oxidačno-redukčných schopností fenolických látok v alkalickom prostredí (Na_2CO_3), kedy dochádza k redukcii Folin-Ciocalteu činidla pozostávajúceho z fosfowolfrámo-fosfomolybdénového komplexu, ktoré sa prejaví vznikom modrého zafarbenia (Blainski a kol., 2013).

Pracovný postup

Na stanovenie obsahu celkových polyfenolov boli použité extrakty schizandry čínskej pripraveného z 1g drogy a vyextrahované v rozpúšťadlách: metanol; 0,1M roztok kyseliny citrónovej v metanole, acetón. Na stanovenie boli použité 2 ml extraktu, 2 ml Folin-Ciocalteu činidla a 2 ml 20 % roztoku Na_2CO_3 . Vzorky boli inkubované 1 hodinu na tmavom mieste. Absorbancia bola meraná na spektrofotometri (UVVIS – Beckman DU530, USA) pri vlnovej dĺžke

750 nm oproti slepej vzorke s 2 ml destilovanej vody. Absorbancia bola meraná v troch opakovaniach a bola určená priemerná hodnota vzoriek a ich smerodajná odchýlka. Celkový obsah polyfenolov bol vyjadrený na základe kalibračnej krivky kyseliny gálovej v mg GAE/l vzorky ($R^2 = 0,9963$).

Stanovenie obsahu flavonoidov

Na stanovenie obsahu flavonoidov sa používa spektrofotometrická metóda založená na tvorbe farebných chelátových komplexov s chloridom hlinitým v kyslom prostredí kyseliny octovej. Absorbancia vzniknutých zafarbených roztokov sa meria pri vlnovej dĺžke 425 nm (Suchý a kol., 2013).

Navážka 0,600 g práškovej drogy schizandry čínskej sa zahrieva 30 minút pod spätným chladičom v zmesi 1 ml 0,5 % roztoku methenamínu, 20 ml acetónu a 1 ml 25 % kyseliny chlorovodíkovej. Zmes bola prefiltrovaná cez vatú a následne znova extrahovaná v 20 ml acetónu dvakrát po dobu 10 minút. Zmes bola prefiltrovaná cez filtračný papier a doplnená acetónom do 100 ml (Ramos a kol., 2017). V deliacom lieviku bolo zmiešané 20 ml acetónového filtrátu, 20 ml destilovanej vody a postupne bola zmes vytrepávaná najprv s 15 ml a trikrát s 10 ml etylacetátu. Spojené etylacetátové výtrepky boli v deliacom lieviku ešte dvakrát premyté s 50 ml destilovanej vody, prenesené a následne doplnené etylacetátom do 50 ml odmernej banky. Do 25 ml odmernej banky bolo prenesených 10 ml etylacetátového extraktu a zmiešaných s 1 ml 2 % roztoku chloridu hlinitého v

zmesi koncentrovanej kyseliny octovej a metanolu (v pomere 1:19) a touto zmesou bolo doplnené po rysku. Roztok sa nechal na tmavom mieste 30 minút inkubovať. Absorbancia bola meraná pri vlnovej dĺžke 425 nm oproti blanku, ktorý neobsahuje roztok chloridu hlinitého. Meranie bolo vykonávané v triplikátoch a následne bol vypočítaný priemer. Obsah flavonoidov v droge bol vyjadrený pomocou štandardu hyperozid podľa vzorca:

$$\% \text{ flavonoidov} = \frac{A \cdot 1,25}{m}$$

v ktorom A je nameraná absorbancia skúmaného roztoku, m je navážené množstvo drogy a $1,25$ je prepočítavací koeficient na štandard – hyperozid.

Stanovenie antiradikálovej aktivity – metódou ABTS

Na stanovenie celkovej antioxidačnej aktivity TAA sa používa metóda ABTS, ktorá je založená na reakcii antioxidantu so syntetickým stabilným radikálom $\text{ABTS}^{•+}$ [2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát)]. Po pridaní antioxidantu k pripravenému tmavo-tyrkysovému roztoku kation radikálu $\text{ABTS}^{•+}$ dochádza k jeho postupnému odfarbovaniu a úbytok sfarbenia je úmerný antioxidačnej aktivite danej vzorky. Absorbancia sa meria pri vlnovej dĺžke 734 nm. Vzhľadom k tomu, že výsledná antiradikálová aktivita vzorky je porovnávaná s antiradikálovou aktivitou syntetickej látky Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8, tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina), označuje sa táto metóda ako TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) (Re a kol., 1999; Paulová a kol., 2004).

Príprava kation radikálu $\text{ABTS}^{•+}$

Do odmernej banky bolo navážených 192,1 mg 7 mM ABTS reagentie a bolo doplnené destilovanou vodou do objemu 50 ml. Rovnako bolo navážených 0,94 g 140 mM persulfátu sodného a doplnené destilovanou vodou do objemu 25 ml. V skúmavke bolo zmiešaných 10 ml roztoku ABTS a 178 μl roztoku persulfátu sodného a zmes sme nechali inkubovať 16 hodín na tmavom mieste, pri izbovej

teplote. Pripravený kation radikál $\text{ABTS}^{•+}$ bol pred stanovovaním antioxidačnej aktivity nariadený zmesou voda a metanol (1:1) tak, aby sa jeho absorbancia pohybovala v rozmedzí 0,730 až 0,760. Roztok $\text{ABTS}^{•+}$ bol chránený pred svetlom alobalom. Z každého z nariadených extraktov schizandry čínskej (vzorky 1 až 5) bolo napipetovaných 62 μl do skúmavky a bolo pridané 2418 μl nariadeného radikálu $\text{ABTS}^{•+}$. Vzorky sa inkubovali pri izbovej teplote 10 minút na tmavom mieste. Absorbancia sa merala pri vlnovej dĺžke 734 nm. Meranie bolo vykonané tripletne. Percento inhibície kation radikálu $\text{ABTS}^{•+}$ sa vypočíta zo vzorca:

$$\% \text{ inhibície} = \frac{A(\text{ABTS}) - A(\text{VZORKA})}{A(\text{ABTS})} \cdot 100$$

v ktorej $A(\text{ABTS})$ je hodnota absorbancie roztoku kation radikálu $\text{ABTS}^{•+}$ na začiatku merania bez prídavku antioxidantu, a $A(\text{VZORKA})$ je nameraná absorbancia po pridaní skúmanej vzorky a 10 minútovej inkubácii. Výsledky boli prepočítané na základe kalibračnej krivky Troloxu ($R^2 = 0.9891$) a vyjadrené ako mg TEAC/l vzorky.

VÝSLEDKY

Cieľom experimentu bolo stanoviť obsah celkových polyfenolov, flavonoidov a antioxidačnú aktivitu vzorky extraktu bobúľ *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., pestovaných v pôdno-klimatických podmienkach Sady nad Torysou (Košice okolie, SR) a navrhnúť možnosti ich farmaceutického využitia.

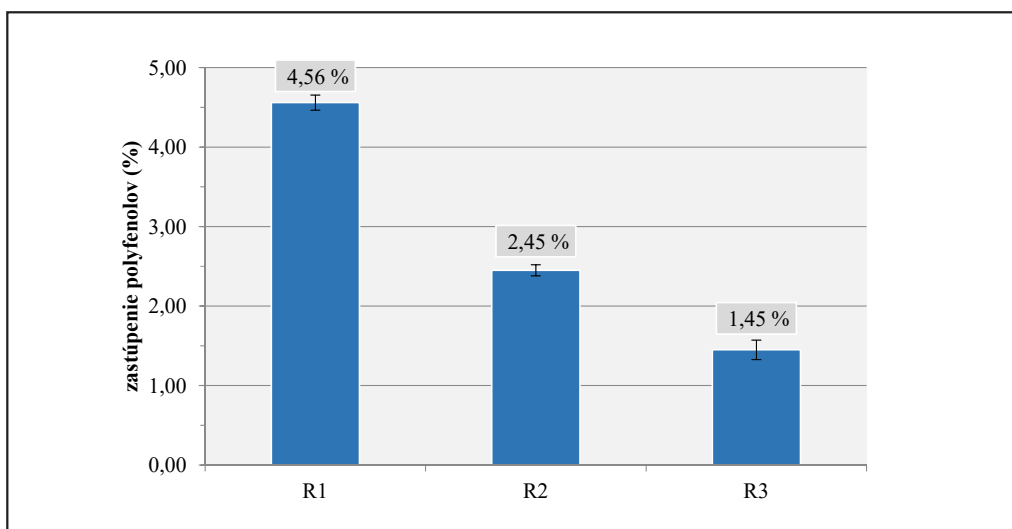
Obsah celkových polyfenolov

Obsah celkových polyfenolov sme stanovili kolorimetrickou metódou pomocou Folin-Ciocalteu činidla (Singleton a kol., 1999). Analýzu sme vykonali v extrakte bobúľ schizandry čínskej v troch rozpúšťadlách: 0,1M roztok kyseliny citrónovej v metanole (R1), metanol (R2), acetón (R3). Z nameraných hodnôt absorbancií sme vypočítali priemer a smerodajnú odchýlku. Celkový obsah

Tab. 2: Obsah celkových polyfenolov vo vzorke

	Ekvivalent kyseliny galovej vo vzorke (mg.ml ⁻¹)	GAE (mg GA/100 g)	Percentuálne zastúpenie polyfenolov
R1	0,0456	228,12	4,56 %
R2	0,0245	122,67	2,45 %
R3	0,0145	72,28	1,45 %

R1 – roztok 0,1M kyseliny citrónovej v metanole, **R2** – metanol, **R3** – acetón
GAE – ekvivalent kyseliny galovej na 100 gramov sušenej drogy

Graf 1: Obsah celkových polyfenolov v extraktoch

R1 – roztok 0,1M kyseliny citrónovej v metanole, **R2** – metanol, **R3** – acetón

Tab. 3: Obsah flavonoidov prepočítaných na hyperozid

1. meranie A_1	2. meranie A_2	3. meranie A_3	priemer ΔA	Obsah flavonoidov (hyperozid)
0,007	0,010	0,008	0,008	0,01 %

polyfenolov vzhľadom na použité rozpúšťadlá sme vyjadrili na základe kalibračnej priamky kyseliny galovej v mg GAE/l vzorky (viď tab. 2) a percentuálne zastúpenie obsahu celkových polyfenolov sme znázornili v grafe 1.

Pri vyhodnocovaní hodnôt obsahu celkových polyfenolov je potrebné brať do úvahy, že uvedené výsledky môžu byť skreslené tým, že kyselina

citrónová, metanol a acetón sú látky, ktoré za určitých okolností môžu reagovať s Folin-Ciocalteu činidlom.

Obsah flavonoidov

Obsah flavonoidov v suchej droge sme vypočítali podľa vzorca a prepočítali na hyperozid (viď. tab. 3).

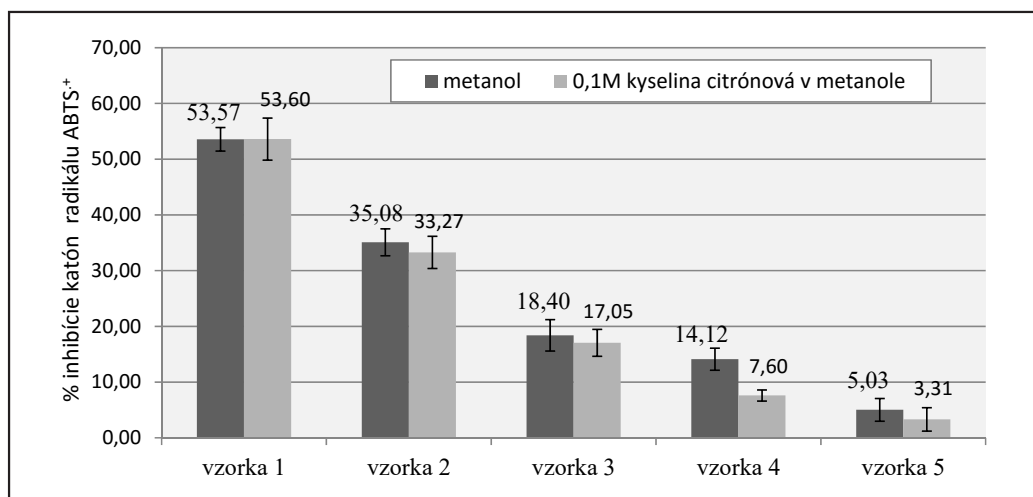
Tab. 4: Absorbancia a percento inhibície katión radikálu ABTS^{•+} riedeným extraktom (extrakčné činidlo: metanol)

	1. meranie A_1	2. meranie A_2	3. meranie A_3	priemer ΔA	Smerodajná odchýlka	Percento inhibície
vzorka 1	0,359	0,326	0,367	0,351	0,0217	53,57 %
vzorka 2	0,464	0,511	0,496	0,490	0,0240	35,08 %
vzorka 3	0,590	0,646	0,613	0,616	0,0281	18,40 %
vzorka 4	0,627	0,668	0,651	0,649	0,0206	14,12 %
vzorka 5	0,735	0,722	0,695	0,717	0,0204	5,03 %
ABTS	0,764	0,746	0,756	0,755		

Tab. 5: Absorbancia a percento inhibície radikálu ABTS^{•+} riedeným extraktom (extrakčné činidlo: 0,1M kys. citrónová v metanole)

	1. meranie A_1	2. meranie A_2	3. meranie A_3	priemer ΔA	Smerodajná odchýlka	Percento inhibície
vzorka 1	0,389	0,313	0,348	0,350	0,0380	53,60 %
vzorka 2	0,535	0,496	0,479	0,503	0,0287	33,27 %
vzorka 3	0,604	0,653	0,620	0,626	0,0250	17,06 %
vzorka 4	0,702	0,685	0,704	0,697	0,0104	7,60 %
vzorka 5	0,728	0,709	0,751	0,729	0,0210	3,31 %
ABTS	0,764	0,749	0,750	0,754		

Graf 2: Inhibícia radikálu ABTS^{•+} vzhľadom na použité rozpúšťadlo a stupeň riedenia vzorky



Tab. 6: Vyjadrenie antioxidačnej aktivity vzoriek ako TEAC

	priemer ΔA	TEAC ($\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)	priemer ΔA	TEAC ($\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)
vzorka 1	0,351	605,30	0,350	606,50
vzorka 2	0,490	383,15	0,503	362,38
vzorka 3	0,616	182,19	0,626	167,40
vzorka 4	0,649	130,65	0,697	53,94
vzorka 5	0,717	21,57	0,729	2,40
rozpušťač	metanol		0,1M kys. citrón. v metanole	

TEAC – ekvivalent antioxidačnej aktivity Troloxu

Antiradikálová (antioxidačná) aktivita

Z nameraných hodnôt absorbancií sme vypočítali priemernú hodnotu vzoriek, smerodajnú odchýlku a porovnávali naše výsledky s výsledkami Pliszka a kol. (2016). V závislosti od stupňa riedenia vzorky a použitého extrakčného činidla sme vypočítali percento inhibície radikálu ABTS^{•+}. Hodnoty percenta inhibície uvádzame v tabuľke 4 (extrakcia pomocou metanolu) a tabuľke 5 (extrakcia pomocou 0,1M kyseliny citrónovej v metanole).

Grafické znázornenie percenta inhibície kation radikálu ABTS^{•+} vzoriek schizandry čínskej vzhľadom na použité rozpúšťač a stupeň riedenia vzorky uvádzame v grafe 2.

Celkovú antioxidačnú kapacitu vzoriek prepočítaných na ekvivalent Troloxu ($\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) uvádzame v tabuľke 6.

DISKUSIA

V ostatnej dobe narastá počet vedeckých štúdií, ktoré sa venujú analýzam obsahových látok rastlín, ktoré by chránili organizmus pred vplyvom exogénnych a endogénnych voľných radikálov. Antioxidanty by mali chrániť organizmus pred deštrukciou a mohli by sa využiť k prevencii a podpornej terapii ochorení vznikajúcich na základe oxidačného stresu. Jednou z perspektívnych rastlín,

o ktorej je známe, že je zdrojom antioxidantov, je *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. Keďže ide o rastlinu pochádzajúcu z Ázie a na Slovensku sa pestuje v záhradkách, ale aj u agropestovateľov, rozhodli sme sa overiť, či si zmenou pestovateľských podmienok rastlina zachováva rovnaké biochemické vlastnosti. V experimentálnej časti štúdie sme overovali antioxidačnú aktivitu rôznych extraktov bobúľ *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., ktoré boli dopestované v pôdnych a klimatických podmienkach v blízkosti Košíc a sú iné ako autochtónne podmienky v Ázii.

V extraktoch bobúľ schizandry čínskej, pripravených pomocou rozpúšťača kyselina citrónová v metanole, metanol a acetón sme stanovili obsah celkových polyfenolov. Zistili sme, že najvyšší obsah celkových polyfenolov (228,12 mg GA/100 g drogy) sme namerali v rozpúšťači roztoku kyseliny citrónovej v metanole. V extrakte s rozpúšťačom metanol sme namerali celkový obsah polyfenolov 122,67 mg GA/100 g, čo je takmer dvojnásobne nižšia hodnota ako v rozpúšťači kyseliny citrónovej v metanole. V extrakte s rozpúšťačom acetón sme pri porovnaní s extraktom pripraveným s rozpúšťačom 0,1M roztok kyseliny citrónovej v metanole namerali trikrát nižší obsah celkových polyfenolov (72,28 mg GA/100 g). Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že najvyšší obsah celkových

polyfenolov sme namerali v extrakte s použitým rozpúšťadlom 0,1M kyseliny citrónovej v metanole. Pri porovnávaní našich výsledkov s výsledkami Pliszka a kol. (2016) sme zistili, že sme namerali veľmi podobné hodnoty obsahu celkových polyfenolov. Pliszka a kol. (2016) pri použití rozpúšťadla kyseliny citrónovej v metanole namerali obsah celkových polyfenolov 247 mg/100 g a pri čistom metanole 128,3 mg GA/100 g. Vyššie namerané hodnoty dosiahli Cai a kol. (2004), ktorí v metanolovom extrakte *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. namerali 1,07 g GA/100 g, čo je približne 8-násobne viac ako naše namerané hodnoty.

Vo vzorke plodov schizandry čínskej sme namerali 0,01 % flavonoidov prepočítaných na štandard hyperozid, čo sú nižšie hodnoty oproti Mocan a kol. (2014), ktorí namerali 1,96 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ hyperozidu. Szopa a kol. (2017) pomocou HPLC chromatografickej metódy s hmotnostným spektrometrom nenamerali v plodoch žiadne hodnoty kvercetínu ani rutínu. Autori uvádzajú, že plody schizandry čínskej obsahujú minimálne množstvo flavonoidov, čo potvrdzujú aj naše výsledky. Antioxidačnú aktivitu extraktov bobúľ schizandry čínskej s rozpúšťadlom metanol a rozpúšťadlom roztok 0,1M kyseliny citrónovej v metanole sme stanovovali jednoduchou metódou TEAC (pomocou radikálu ABTS⁺). Pre rozpúšťadlo roztoku kyseliny citrónovej v metanole sme sa rozhodli na základe výsledkov práce Pliszka a kol. (2016), ktorí uvádzajú, že kyselina citrónová efektívne zvyšuje výťažnosť obsahových látok z drogy. Na základe analýzy sme zistili, že vzorka 1 (základný neriedený extrakt) s extrakčným činidlom metanol (rozpúšťadlo 1) inhibovala 53,57 % kation radikálu ABTS⁺. Použitím 0,1M kyseliny citrónovej v metanole (rozpúšťadlo 2) bola zistená 53,60 % inhibícia kation radikálu ABTS⁺, čo predstavuje iba nepatrný rozdiel v porovnaní s čistým metanolom. Na základe nameraných hodnôt môžeme konštatovať, že vplyv kyseliny citrónovej na extrakciu látok, ktoré ovplyvňujú antioxidačnú aktivitu vzorky, bol v porovnaní s čistým metanolom zanedbateľný. Menšie rozdiely v nameraných hodnotách in-

hibičného efektu sme zistili pri riedených vzorkách 4 a 5 v prospech čistého metanolu. Naše hodnoty sme porovnali s hodnotami Pliszka a kol. (2016) a zistili sme, že medzi týmito dvomi rozpúšťadlami sú len minimálne rozdiely. Pliszka a kol. (2016) namerali 50,20 % inhibíciu pre metanolový extrakt a 50,45 % pre extrakt v roztoku kyseliny citrónovej v metanole, čo predstavuje o trochu nižší inhibičný efekt v porovnaní s našimi výsledkami. Neriedený metanolový extrakt (vzorka 1) v našom experimente vykazoval antioxidačnú aktivitu ekvivalentnú roztoku Troloxu s koncentráciou 0,15 mg ml⁻¹, čo predstavuje 605,30 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. V prípade extraktu v 0,1M roztoku kyseliny citrónovej v metanole TEAC zodpovedal koncentrácii 606,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Na základe výsledkov práce Cai a kol. (2004), ktorí uvádzajú antioxidačnú aktivitu rastlín používaných v tradičnej čínskej medicíne, by sme mohli antioxidačný účinok bobúľ *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. prirovnat' k plodom horčička východného (*Polygonum orientale* L.) alebo d'umbiera lekárskeho (zázvor) (*Zingiber officinale* Rosc.). V porovnaní s kurkumou pravou (*Curcuma longa* L.) sú bobule *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 2-krát silnejším antioxidantom. Na základe získaných výsledkov o obsahu celkových polyfenolov, flavonoidov a antioxidačnej aktivity extraktov bobúľ *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. a ich vzájomných porovnaní s autormi Pliszka a kol. (2016) a Cai a kol. (2004) môžeme konštatovať, že aj keď je rastlina v našich podmienkach introdukovaným druhom, adaptovala sa na pôdno-klimatické podmienky a zachovala si kvalitatívne znaky.

ZÁVER

Za väčšinu priaznivých účinkov schizandry čínskej (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. je v prevažnej miere zodpovedný antioxidačný účinok a redukcia negatívneho vplyvu oxidačného stresu na zdravie človeka. Antioxidačnú aktivitu extraktu z bobúľ schizandry čínskej sme experimentálne potvrdili a zistili sme, že základný neriedený metanolový extrakt

dokázal inhibovať 53,57 % prítomného syntetického kladného radikálu ABTS⁺. Antioxidačná aktivita tohto extraktu bola ekvivalentná roztoku syntetického antioxidantu Troloxu s koncentráciou 605,30 $\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Zistili sme, že použitie extrakčného činidla roztoku 0,1M kyseliny citrónovej v metanole neprinieslo žiaden výrazný pozitívny vplyv na extrakciu obsahových látok antioxidačným účinkom (TEAC 606,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$). Najvyšší obsah polyfenolov sa nám z plodov schizandry čínskej podarilo vyextrahovať pomocou roztoku 0,1M kyseliny citrónovej v metanole (4,56 %), čo predstavuje takmer dvojnásobné množstvo oproti extrakcii čistým metanolom (2,45 %). Extrakcia pomocou acetónu bola spomedzi vybraných rozpúšťadiel najmenej účinná (1,45 %). Účinnosť extrakcie polyfenolov v závislosti od použitého rozpúšťadla môžeme zoradiť nasledovne: 0,1M kyselina citrónová v metanole > metanol > acetón. Plody schizandry čínskej nepatria medzi významné zdroje flavonoidov, čo sme experimentálne potvrdili (0,01 % vyjadrených ako hyperozid). Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať, že na antioxidačnom účinku bobúľ schizandry čínskej sa z polyfenolických látok flavonoidy podieľajú minimálnou mierou. V závere je potrebné poznamenať, že obsah účinných látok a s tým súvisiaca antioxidačná aktivita extraktov bobúľ schizandry čínskej závisí od množstva faktorov ako sú pôdne, klimatické faktory, spôsob pestovania, ale aj voľba spôsobu extrakcie a výber extrakčného činidla. Z nášho experimentu vyplynulo, že *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. má veľký farmaceutický potenciál a mnoho pozitívnych biologických účinkov na človeka. Odporúčame venovať sa obsahovým látkam, ktoré sa podieľajú na antioxidačnej aktivite a vypracovať vhodnú extrakčnú metodiku.

ZOZNAM LITERATÚRY

- Blainski, A., Lopes, G. C., Palazzo de Melo, J. C.: Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from Limonium Brasiliense L. *Molecules*, 2013, 18(6), 6852 – 6865.
- Hancke, J. L., Burgos, R. A., Ahumada, F.: *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *Fitoterapia*, 1999, 70, 451 – 471.
- Hagarová I.: Extrakcie spĺňajúce princípy zelenej chémie využívané v stopovej analýze kovov [Extractions complying with the principles of green chemistry used in trace analysis of metals]. *Chem. Listy*, 2015, 109, 269 – 275.
- Jablonský, I. a Bajer, J.: *Rostliny pro posílení organismu a zdraví* [Plants to strenghten the organism and health]. Praha: Grada, 2007, 104 s.
- Kalita, P., Barman, T. K., Pal, T. K., Kalita, R.: Estimation of total flavonoid content (TFC) and antioxidant activities of methanolic whole plant extract of Biophytum Sensitivum Linn. *Journal of drug delivery & therapeutics*, 2013, 3 (4), 33 – 37.
- Kimáková, T. a Pavlík, V.: *Antioxidanty a ich význam v prevencii chronických ochorení* [Antioxidants and their importance in prevention of chronic diseases]. Košice: UPJŠ Košice, 2017. 154 s.
- Kim, S. H., Joo, M. H., Yoo, S. H.: Structural identification and antioxidant properties of major anthocyanin extracted from Omija (*Schisandra chinensis*) fruit. *Journal of food science*, 2009, 74 (2), 134 – 140. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19323727>. Accessed March 21, 2020.
- Kim, E. Y., Baek, I. H., Rhyu, M. R.: Cardioprotective effects of aqueous *Schisandra chinensis* fruit extract on ovariectomized and balloon-induced carotid artery injury rat models: Effects on serum lipid profiles and blood pressure. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 134 (3), 668 – 675.
- Lee, H. J., Cho, I. H., Lee, K. E., Kim, Y. S.: The compositions of volatiles and aroma-active compounds in dried Omija fruits (*Schisandra chinensis* Baillon) according to the cultivation areas. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2011, 8338 – 8346.
- Liu, C. J., Zhang, J. S., Zhang, S. Q., Liang, Q., Li, D. S.: Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from berries of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *Natural product research*,

2012, 2199 – 2023.

Li, Z., He, X., Liu, F., Wang, J., Feng, J.: A review of polysaccharides from *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera*: Properties, functions and applications. *Carbohydrate polymers*, 2018, 184, 178 – 190.

Ma, Ch., Yang, L., Yang, F., Wang, W., Zhao, Ch., Zu, Y.: Content and color stability of anthoxanins isolated from *Schisandra chinensis* fruit. *International journal of molecular sciences*, 2012, 14294 – 24310.

Maimes, S. a Winston, D.: *Adaptogens: Herbs for strength, stamina and stress relief*: Rochester, Vermont: Healing Arts Press, 2007, 336 s.

Mocan, A., Crişan, G., Vlase, L., Crişan, O., Vodnar, D. C., Raita, O., Gheldiu, A.-M., Toiu, A., Oprean, R., Tilea, I.: Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Schisandra chinensis* leaves and fruits. *Molecules*, 2014, 15 162 – 15 179.

Nagy, M., Grančai, D., Mučaji, P.: *Farmakognózia – Biogenéza prírodných látok* [Pharmacognosy – biogenesis of natural substances]. Bratislava: Osveta, 2012. 237 s.

Nowak, A., Zakłos-Szyda, M., Błasiak, J., Nowak, A., Zhang, Z., Zhang, B.: Potential of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. in human health and nutrition: A review of current knowledge and therapeutic perspectives. *Nutrients*, 2019, 1 – 20.

Panossian, A. a Wikman, G.: Effects of adaptogens on the central nervous system and the molecular mechanisms associated with their stress-protective activity. *Pharmaceuticals*, 2010, 188 – 224.

Panossian, A. a Wikman, G.: Pharmacology of *Schisandra chinensis* Baill.: An overview of Russian research and uses in medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 2008, 118, 183 – 212.

Park, H. J., Lee, S. J., Song, Y., Jang, S. H., Ko, Y. G., Kang, S. N., Chung, B. Y., Kim, H. D., Kim, G. S., Cho, J. H.: *Schisandra chinensis* prevents alcohol-induced fatty liver disease in rats. *Journal of medicinal food*, 2014, 103 – 110.

Paulová, H., Bochořáková, H., Táborská, E.: Metódy stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro* [*In vitro* methods for estimation of the antioxidant activity of natural compounds]. *Chemické listy*, 2004, 98, 174 – 179. http://chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf. [cit. 17.3.2020]

Pliszka, B., Ciolkowska, G., Wierzbicka, E.: Effects of solvents and extraction methods on the content and antiradical activity of polyphenols from fruit *Actinidia arguta*, *Crataegus monogyna*, *Gaultheria procumbens* and *Schisandra chinensis*. *Acta Scientiarum Polonorum*, 2016, 57 – 63.

Ramos, R. T. M., Bezerra, I. C. F., Ferreira, M. R. A., Soares, L. A. L.: Spectrophotometric quantification of flavonoids in herbal material, crude extract, and fractions from leaves of *Eugenia uniflora* Linn. *Pharmacognosy research*, 2017, 253 – 260.

Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 1999, 152 – 178.

Szopa, A., Ekiert, R., Ekiert, H.: Current knowledge of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. (Chinese magnolia vine) as a medicinal plant species: a review on the bioactive components, pharmacological properties, analytical and biotechnological studies. *Phytochemistry reviews*, 2017, 195 – 218.

Szopa, A., Kokotkiewicz, A., Bednarz, M., Luczkiewicz, M., Ekiert, H.: Studies on the accumulation of phenolic acids and flavonoids in different *in vitro* culture systems of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. using a DAD-HPLC method. *Phytochemistry letters*, 2017, 20, 462 – 469.

Smejkal, K., Slapetová, T., Krmenčík, P., Kubínová, R., Suchý, P., Dall'Acqua, S., Innocenti, G., Vanco, J., Kalvarová, K., Dvorská, M., Slanina, J., Kramárová, E., Muselík, J., Žemlička, M.: Evaluation of the antiradical activity of *Schisandra chinensis* lignans using different experimental models. *Molecules*, 2010, 15(3), 1223 – 1231.

Suchý, V., Daňková, I., Dvorská, M.,

Hrazdilová, E., Kubínová, R., Šmejkal, K., Špačková, V., Žemlička, M.: *Praktická cvičení z farmakognozie*. [Practical exercises in pharmacognosy]. Brno: VFU, 2013. 256 s.

Xia, N., Li, J., Wang, H., Wang, J., Wang, Y.: *Schisandra chinensis* and *Rhodiola rosea* exert an anti-stress effect on the HPA axis and reduce hypothalamic c-Fos expression in rats subjected to repeated stress. *Experimental and therapeutic medicine*, 2016, 11(1) 353 – 359.



THE TERAPEUTIC EFFECT OF ALLOPURINOL ON URIC ACID SERUM LEVELS IN PATIENTS WITH *ARTHRITIS URATICA*

Szabóová, Renáta¹; Herich, Robert²; Gajdošová, Mária³

¹ Department of Biology and Physiology

University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice

² Department of Morphological Disciplines

University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice

³ Pharmacy Schneider, Obchodná 3, 071 01 Michalovce
The Slovak republic

renata.szaboova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Arthritis uratica represents the most common form of inflammatory arthritis and negatively affects quality of patient's life. Allopurinol is one of the drugs of choice for the treatment of hyperuricemia, gout (caused by excess uric acid) and arthritis. Allopurinol is considered to be an inhibitor of xanthine oxidase, which converts hypoxanthine to uric acid, so this active substance decreases uric acid serum and urine concentration. In this way the protection of joint and organ damage is provided in conditions associated with excessive production of uric acid and subsequent production/accumulation of monosodium urate crystals on predilection areas. The aim/objective of this study was to monitor and compare uric acid serum concentration as a response to the therapeutic effect of allopurinol at peroral daily dose of 300 mg in certain time period (4 months)

after acute gout attack in gout men-patients. The significant effect was observed by decreasing of uric acid serum levels after 1 – 2 weeks ($p < 0.01$) as well as after 2 ($p < 0.01$) and 4 months ($p < 0.001$) from the beginning of therapy. The treatment of allopurinol was well tolerated without side effects.

Key words: acute gout attack; allopurinol; treatment; uric acid

INTRODUCTION

Arthritis uratica (AU; gout) is an inflammatory metabolic rheumatic disease and crystal-induced arthropathy characterized by increased production or decreased excretion of uric acid (UA) – the product of purine metabolism. Physiologically, UA is excreted in the urine (Svobodová, 2006). The interaction between sodium urate crystals and immune system cells leads to the production of pro-inflammatory

cytokines and the development of inflammation. Due to pathophysiological purine metabolism, sodium urate microcrystals are overproduced and stored in the joints and extraarticular tissues and this leads to the activation of inflammatory immune response/damage (Dukát et al., 2016). The process of the disease is divided into four types – asymptomatic hyperuricemia, acute *arthritis uratica* with characteristic clinical manifestation, intercritical period and chronic tophaceous gout. The acute AU is caused by presence of urate crystals at predilection places in the body and subsequently by inflammatory reaction, so it is classified/called „crystal-induced *arthritis*“. The highest incidence in the population is recorded in middle-aged men, while the most affected is the first metatarsophalangeal joint with the acute gout attack (AGA). Other symptoms include the occurrence of gout tophi in soft tissues, urate nephrolithiasis and chronic arthropathy (Svobodová, 2006).

Hyperuricaemia is one of the main factors influencing the gout development, tophi, nephrolithiasis and gout interstitial nephritis. However, the occurrence of hyperuricemia does not automatically cause the development of gout (Ďurišová et al., 2014). Hyperuricaemia arises from increased production (increased degradation of exogenous or endogenous purines) or decreased renal excretion of UA (Abhishek et al., 2017). Bošmanský and Pullmann (2006) defines hyperuricaemia as an increased serum concentration of UA – above 420 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ in men and 360 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ in women, when the formation of monosodium urate (MSU) crystals occurs. The pathogenic process of gout consists of the formation and deposition of MSU crystals with acicular structure. The high sodium concentrations in the crystals point to the sodium concentration increase in the phagocytic cells causing intracellular hyperosmolarity, which is compensated by the water transfer into the cytoplasm and an increase of cell volume as well as it reduces the potassium level. This is a key signal for the activation of toll-like receptors and the induction of inflammasome which leads to the overproduction of IL-1 by cells

phagocytosis of MSU crystals. The MSU crystals are surrounded by immunoglobulins, especially IgG and are phagocytosed by polymorphonuclear leukocytes, mainly neutrophils. Due to the release of lysosomal enzymes, the other inflammatory cytokines are activated to cause crystal-induced synovitis development affecting all areas of the synovial joint tissue. This process manifests clinically as an acute gout attack (Rybár, 2014; Schett et al., 2015).

Acute gout attacks during acute *arthritis uratica* are characterized by symptoms of acute crystal-induced synovitis, such as rapid onset of symptoms lasting from 12 to 24 hours – joint pain, hypersensitivity to palpation, erythema, articular/peri-articular edema. The attack usually ends in 1 – 2 weeks. Commonly affected areas include the first metatarsophalangeal joint (the most commonly affected), knees, ankles and wrists (Abhishek et al., 2017).

Gout therapy requires a comprehensive treatment procedure, such as shortening the duration of acute gout attack, the prevention of the recurrence and complications of these attacks, and the maintenance of uricaemia (UA serum level to 360 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ by regular monitoring of UA levels in patients with *arthritis uratica* (Ďurišová et al., 2014). Non-pharmacological treatment alternatives such as local cooling of the affected area, weight reduction, dietary measures (consumption of purine-poor foods and non-alcoholic beverages) are considered to be a complement of the current pharmacological options (Schlesinger and Lipsky, 2019).

For the pharmacological treatment of gout the administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, colchicine, allopurinol, glucocorticoids, or biological treatment from the group of IL-1 inhibitors is recommended (Němec, 2015).

Allopurinol, a uricostatic drug, is currently the most widely used for more than 40 years as urate lowering therapy (ULT; most often the first-line ULT) for the medication of gout, because of its ease of use (once daily) and low cost and its effectiveness in both UA overproduction and underexcretion (Lioté and Terkeltaub, 2012). Allopurinol, a purine analogue,

is a structural isomer of hypoxanthine which inhibits xanthine oxidase enzyme (Pund and Joshi, 2017), that converts hypoxanthine to xanthine and xanthine to uric acid. By blocking the production of uric acid, this agent decreases serum and urine concentrations of UA, thereby providing protection against uric acid-mediated end organ damage in conditions associated with excessive production of UA. Allopurinol is indicated in: 1) the management of patients with symptoms of primary/secondary gout (acute gout attacks, tophi, joint destruction, uric acid lithiasis, and/or nephropathy), 2) the management of patients with leukaemia, lymphoma and malignancies who are receiving cancer therapy which causes elevations of serum and urinary uric acid levels. Treatment with allopurinol should be discontinued when the potential for overproduction of uric acid is no longer present. This drug is about 90 % absorbed from the gastrointestinal tract. Peak plasma levels are reached 1.5 – 4.5 hours post-dose following one oral dose of 300 mg of allopurinol (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Allopurinol>).

The aim of this study was to pay attention to monitoring the therapy of acute gout arthritis from the occurrence of acute gout attack in ten patients – men in productive age, due to the parameter – UA serum levels expressed in $\mu\text{mol.l}^{-1}$ during a certain time period (interval from 7 to 120 days). It also compares the therapeutic effect (decrease of UA serum levels) of allopurinol daily peroral administration at a dose of 300 mg.

MATERIAL AND METHODS

This study records the observation of patients with a diagnosis of *arthritis uratica*. The practical part includes monitoring the serum concentration of UA (expressed in $\mu\text{mol.l}^{-1}$) in a time interval of 4 months in 10 male patients ($n = 10$) aged from 33 to 45 years with the treatment of the mentioned disease by peroral administration at a daily dose of 300 mg of allopurinol.

Brief overview of patient data (age, frequency of

acute gout attack per year, location of the affected area) is described in Table 1. Each patient required an individual physician approach due to their medical condition and possible comorbidities (see Tab. 2).

The selected parameter – uric acid serum level was monitored in each patient during acute gout attack (sample 1) and control examinations in sample 2 (1 – 2 weeks after AGA), sample 3 (2 months after AGA) and sample 4 (4 months after AGA), and the pharmacological therapeutic effect of allopurinol was evaluated using tables and figures.

The statistical analysis of the results as well as statistical significance of differences between all samples (1 – 4) was determined and compared by t-test and the levels of statistical significance 0.01 and 0.001 were expressed by p value ($p < 0.01$; $p < 0.001$).

RESULTS AND DISCUSSION

Arthritis uratica is one of the diseases that has shown an increased global prevalence, especially in recent decades, which is mainly attributed to the population lifestyle. According to Kim et al. (2013), gout is the most common cause of inflammatory arthritis in men under 40 years of age. The aim of the study was to observe the therapeutic effect of allopurinol (in a daily oral dose of 300 mg) as a ULT during a certain time period via recording UA serum levels after AGA. Table 3 and Figure 1 show the patients' UA serum levels during AGA (the first sample 1), one to two weeks after AGA remission (sample 2), and two (sample 3) and four (sample 4) months after allopurinol treatment as uricostatic. A decrease of UA concentration was detected in sample 2 of all patients compared to the values during AGA (except patient no. 10) (see Tab. 3). However, the average UA levels of the individual time intervals indicated a significant reduction of UA concentration after 1 – 2 weeks of the therapy ($p < 0.01$) as well as 2 ($p < 0.01$) and 4 months ($p < 0.001$) of allopurinol therapy compared to AGA (see Fig. 2). Our results show effective AGA treatment with allopurinol and

Tab. 1: Data of allopurinol-treated patients with *arthritis uratica*

Male patient	Age	Number of AGAs per year	Affected area
1	45	1	right foot ankle, metacarpal area
2	33	1	right foot thumb first metatarsophalangeal joint
3	43	2	left knee joint, left foot thumb
4	42	4	right foot thumb
5	40	2	knee joints
6	45	2	foot thumbs
7	42	2	right foot thumb first metatarsophalangeal joint
8	35	4	right elbow joint
9	42	2	knee joints
10	37	2	right foot thumb

Source: modified by Gajdošová, 2020; AGAs – acute gout attacks

Tab. 2: The comorbidities of allopurinol-treated patients with *arthritis uratica*

Male patient	The comorbidities of allopurinol-treated patients with <i>arthritis uratica</i>
1	Thrombophilia, Obesity, Arterial Hypertension
2	Hyperlipidemia
3	Hypertension
4	–
5	Type 2 <i>diabetes mellitus</i> , Dyslipoproteinemia, Obesity
6	Hypercholesterolemia
7	Hypertension
8	Hypercholesterolemia
9	–
10	–

occurrence in a relatively short time (7 – 14 days). We observed beneficial effect of allopurinol on decrease of UA levels in individual examinations, while at 4th month after AGA (sample 4) a physiological norm of UA serum level was observed in patients (except patients no. 5, 6, 8 and 9).

The EULAR (European League Against Rheumatism) recommendations present as a reference the UA serum level under $360 \mu\text{mol.l}^{-1}$ (Richette et al. 2017).

The significant effect of *arthritis uratica* treatment with allopurinol is the result of the appropriately used pharmacotherapy as well as the patients' approach including recommendations of a lifestyle change.

The willingness to co-operate and therapeutic recommendations compliance also played an important role in *arthritis uratica* treatment. However, the indiscipline of patient no. 8, who ignored the recommended dietary measures, was also reflected in the monitoring of UA serum values during the overall

Tab. 3: The uric acid serum levels – the comparison during AGA (sample 1) followed with allopurinol therapy (samples 2 – 4) in men-patients (n = 10)

Patient	Sample 1 (during AGA) $\mu\text{mol.l}^{-1}$	Sample 2 $\mu\text{mol.l}^{-1}$	Sample 3 $\mu\text{mol.l}^{-1}$	Sample 4 $\mu\text{mol.l}^{-1}$
1	471.8	383.1	369.0	413.0
2	632.0	517.0	463.0	419.0
3	623.0	569.0	460.7	382.0
4	498.0	416.0	473.0	401.3
5	654.0	573.0	516.0	453.1
6	702.0	561.0	513.0	427.0
7	467.0	462.0	380.6	373.0
8	531.0	478.0	635.0	492.4
9	473.2	451.0	432.0	439.7
10	452.0	506.9	391.0	387.0
Average	550.4	491.7	463.3	418.7
SD	92.8	65.4	79.4	36.4

Source: modified by Gajdošová, 2020

AGA – acute gout attack; sample 2: 1 – 2 weeks allopurinol therapy; sample 3: 2 months allopurinol therapy; sample 4: 4 months allopurinol therapy after AGA; SD – standard deviation; physiological norm of uric acid serum level in men: 180 – 420 $\mu\text{mol.l}^{-1}$

time interval examinations and in his health status (e. g. the average frequency of AGA per year in the number of 3 – 4, the increased UA serum level after 2 months of the allopurinol therapy).

Walker et al. (2012) mentioned the fact that some factors such as hyperuricemia and other comorbidities have an impact on the development of gout. We observed the presence of comorbidities such as obesity, overweight, hypertension, lipid metabolism disorders, type 2 *diabetes mellitus* and thrombophilia in our patients (see Tab. 2).

The risk of hypertension occurrence is 1.173 times higher in gout patients than in people without this disease (Zhou et al., 2017). In addition, the presence of gout increases cardiovascular mortality by 30 % (Krishan et al., 2008).

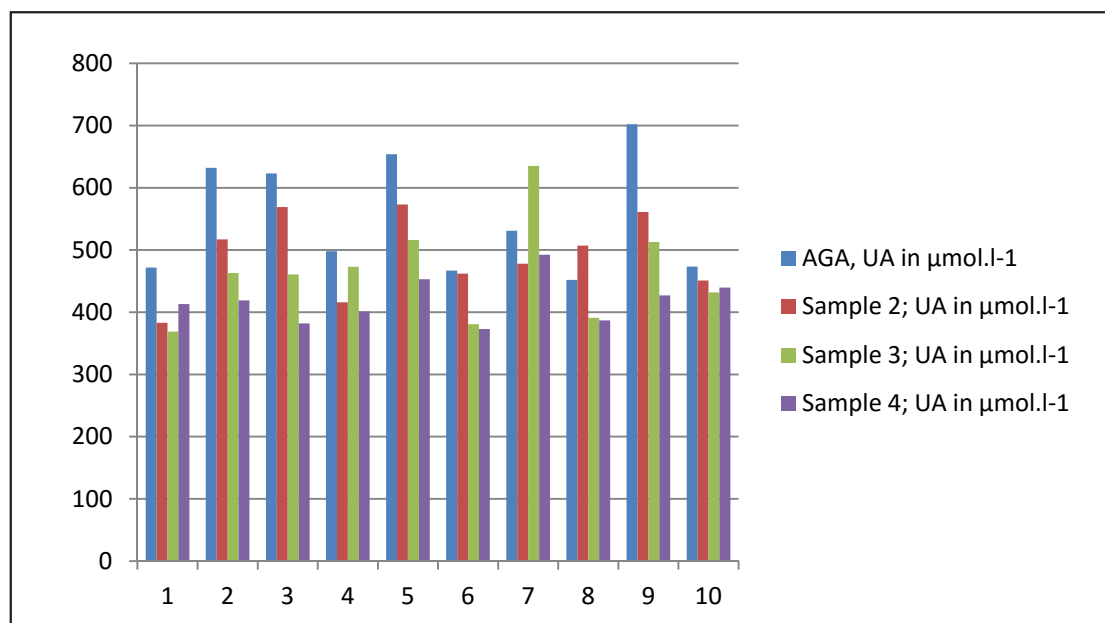
Juraschek et al. (2013) report that the gout prevalence is 1.3 – 1.5 times higher in overweight people and in obese people (patients no. 1, 5 and

10) (see Tab. 2) 1.8 – 2.4 times higher than in people with normal body mass index. Considering this finding, weight reduction appears to be an effective way to decrease hyperuricaemia and the frequency of AGA.

Acute gout attack affects especially the 1st metatarsophalangeal joint (Eggebeen, 2007), as it was confirmed in patients no. 2, 3, 4, 6, 7 and 10 (see Tab. 1), knee and ankles joints. Eggebeen (2007) showed that in 60 % of AGA patients another attack appears up to 12 months. Recurrent AGA was described by the patients as a consequence of alcohol intake as well as intake of food with higher purine content.

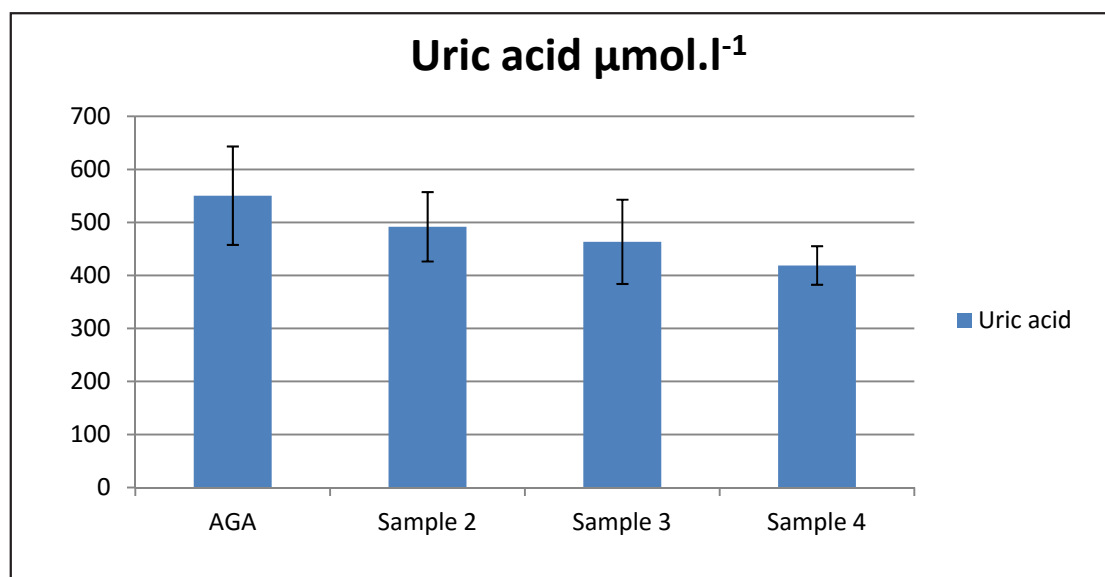
Acute gouty arthritis is mediated by the capacity of monosodium urate crystals which activate multiple pro-inflammatory pathways in the joint, culminating in early activation of macrophages and neutrophils adhesion, migration and activation in the joint space that cause inflammation. The first

Fig. 1: The uric acid serum levels in men-patients (n = 10) with allopurinol treatment in the overall time interval



UA: uric acid; 1 – 10: men-patients (n = 10)

Fig. 2: The average serum levels of uric acid during allopurinol therapy



AGA: acute gout attack; sample 2: 1 – 2 weeks allopurinol therapy; sample 3: 2 months allopurinol therapy; sample 4: 4 months allopurinol therapy after AGA; different letters mean the significant value in level: a – b: $p < 0.01$; a – c: $p < 0.001$

line of pharmacologic therapy to lower serum urate for most gout patients is the suppression of xanthine oxidase by using allopurinol. The U. S. Food and Drug Administration (FDA) dosing guidelines have

also recommended the allopurinol daily intake of 200 to 300 mg as adequate for most patients with mild gout. Data controlled clinical trials indicated that allopurinol at a daily dose of 300 mg lowered the

serum urate by 33 % in a population of gout patients with largely intact renal function (Terkeltaub, 2009). This fact corresponds with our findings regarding the therapeutic effect of allopurinol, in which the UA serum levels were significantly reduced during the gout treatment from 7 to 120 days after AGA (see Tab. 3, Fig. 1 and Fig. 2).

CONCLUSIONS

Gout is a type of arthritis that causes pain and swelling in patients' joints. Gout is an inflammatory response to deposition of monosodium urate crystals in/around joints causing pain and swelling. This disease primarily affects adult men. Not only patients' education, lifestyle change, but also quality of care in the gout treatment is an important task for improvement. Using allopurinol for gout and hyperuricemia therapeutic management needs to be transferred to the primary line: control of gouty inflammation and management of hyperuricemia as well as improvement of results of gout-related quality of life and comorbidities. In our study, the selected clinical cases of allopurinol treatment patients with *arthritis uratica* were summarized. The significant improvement in this state of the disease was observed in a relatively short time period (one week – 4 months). Education of the patient also contributes to the successful therapy. These gout patients, like many others who participated in various studies, are the evidence of efficacy of allopurinol treatment at a daily dose without side effects.

REFERENCES

Abhishek, A., Roddy, E., Doherty, M.: Gout – a guide for the general and acute physician. *Clin. Med.*, 2017, 17 (1), 54 – 59.

Bošmanský, K. a Pullmann, R.: *Kyselina močová a jej význam v lekárskej praxi* [Uric acid and its importance in medical practice]. *Via practica*, 2006, 3 (2), 95 – 97.

Dukát, A., Gavorník, P., Gajdošík, J.: Dna

– aktuálny pohľad [Gout – a current view]. *In Vitro*, 2016, 4 (3), 55 – 61.

Đurišová, E., Rexová, E., Rexa, P.: Dna – manažment a nové terapeutické možnosti [Gout – management and new therapeutical options]. *MediNEWS*, 2014, 2 (4), 20 – 24.

Eggebeen, A. T.: Gout: an update. *Amer. Fam. Phys.*, 2007, 76 (6), 801 – 808.

Gajdošová, M.: Klinický obraz štádií *arthritis uratica* a ich terapia [Clinical symptoms stages of arthritis uratica and their therapy]. Diplomová práca. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2020. s. 59.

Juraschek, S. P., Miller, E. L., Gelber, A. C.: Body mass index, obesity, and prevalent gout in the Unites States in 1988-1994 and 2007-2010. *Arthritis Care Res.*, 2013, 65 (1), 127–132.

Kim, K. Y., Schumacher, H. R., Hunsche, E., Wertheimer, A. I., Kong, S. X.: A literature review of the epidemiology and treatment of acute gout. *Clinic. Therap.*, 2003, 25 (6), 1593 – 1617.

Krishnan, E., Svendsen, K., Neaton, J. D., Grandits, G., Kuller, L. H.: Long-term cardiovascular mortality among middle-aged men with gout. *Arch. Intern. Med.*, 2008, 168 (10), 1104 – 1110.

Lioté, F. a Terkeltaub, R.: Overview of gout therapy strategy and targets and the management of refractory disease. *Gout Cryst. Arthropath.*, 2012, 194 – 208.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Allopurinol, CID=135401907, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Allopurinol>. Accessed July 24, 2020.

Němec, P.: Dnavá artritida – súčasné možnosti farmakoterapie [Gout – current pharmacotherapy]. *Remedia*, 2015, 25 (3), 179 – 186.

Pund, S. a Joshi, A.: Nanoarchitectures for neglected tropical protozoal diseases: Challenges and state of the art. *Nano. Micro. Drug Deliv. Sys.*, 2017, 439 – 480.

Richette, P., Doherty, M., Pascual, E., Barskova, V., Becce, F., Castañeda-Sanabria, J., Coyfish, M., Guillo, S., Jansen, T. L., Janssens,

- H., Lioté, F., Mallen, C., Nuki, G., Perez-Ruiz, F., Pimentao, J., Punzi, L., Pywell, T., So, A., Tausche, A. K., Uhlig, T., Zavada, J., Zhang, W., Tubach, F., Bardin, T.: 2016 updated EULAR evidence-based recommendations for the management of gout. *Ann. Rheumat. Dis.*, 2017, 76 (1), 29 – 42.
- Rybár, I.: Dna – diagnostika a liečba [Gout – diagnostics and therapy]. *Via practica*, 2014, 11 (5), 154 – 158.
- Schett, G., Schauer, Ch., Hoffmann, M., Herrmann, M.: Why does the gout attack stop? A roadmap for the immune pathogenesis of gout. *RMD Open*. https://rmdopen.bmj.com/content/rmdopen/1/Suppl_1/e000046.full.pdf. Updated August 15, 2015. Accessed August 15, 2015.
- Schlesinger, N. a Lipsky, P. E.: *Gout*. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier, 2019, 400.
- Terkeltaub, R.: Gout. Novel therapies for treatment of gout and hyperuricemia. *Arthritis Res. Ther.*, 2009, 11 (4), 236.
- Walker, R. et al.: *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. Walker, R. and Whittlesea, C. (Eds.). 5th edn., London, UK: Elsevier, 2012. 893 s.
- Zhou, H., Wu, X., Cui, L., Zhao, J., Li, C., Liu, Z.: Comparative analysis of different factors associated with hypertension between subjects with and without gout. *Chin. J. Endocrinol. Metabol.*, 2017, 33 (2), 98 – 102.



HODNOTENIE TOXICKÉHO ÚČINKU METRONIDAZOLU, FLUKONAZOLU A VORIKONAZOLU NA VYBRANÉ BUNKOVÉ KULTÚRY *IN VITRO*

EVALUATION OF THE TOXIC EFFECTS OF METRONIDAZOLE, FLUCONAZOLE AND VORICONAZOLE ON THE SELECTED CELL CULTURES *IN VITRO*

Partilová, Janka; Legáth, Jaroslav; Marcincáková, Dana

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

dana.marcincakova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Cieľom štúdie bolo stanoviť toxické účinky skúmaných látok – metronidazolu, vorikonazolu a flukonazolu na vybrané bunkové kultúry. Ako modelové bunkové kultúry boli použité králičie obličkové epitelové bunky RK13 (Rabbit Kidney Cells) a opičie obličkové epitelové bunky VERO (Verda reno). Pri monitorovaní buniek v reálnom čase systémom xCELLigence sme zaznamenali výraznejšie zmeny v adherencii u modelovej bunkovej línie VERO. Pri všetkých sledovaných liečivách došlo k signifikantnému poklesu bunkového indexu vo všetkých koncentráciách ($P < 0,05$). Pri bunkovej línii RK13 bola adherencia zachovaná a porovnateľná s kontrolnými bunkami pri flukonazole aj metronidazole, k poklesu došlo

len po aplikácii vorikonazolu. Účinok testovaných látok sa výrazne prejavil aj na metabolickej aktivite buniek pri MTT teste, viac u buniek RK13, ktoré sa ukázali ako citlivejšie. Po expozícii buniek vyšším koncentráciám vorikonazolu došlo k signifikantnému poklesu metabolickej aktivity u buniek RK13, kde hodnoty klesli na 84,54 – 89,12 % ($P < 0,05$), zatiaľ čo pri VERO bunkách bol pokles zaznamenaný len pri vyšších koncentráciách (10 a 15 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) na hodnoty 93,69 – 96,01 %. Flukonazol a metronidazol spôsobili pokles metabolickej aktivity u RK13 buniek po aplikácii vyšších koncentrácií (2,5 – 20 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) na hodnoty 86,78 – 88,89 %.

Kľúčové slová: antimikrobiálne látky; bunkové kultúry; MTT; toxicita; xCELLigence

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the toxic effects of the examined substances – metronidazole, voriconazole and fluconazole on the selected cell cultures. Rabbit kidney epithelial cells RK13 (Rabbit Kidney Cells) and monkey kidney epithelial cells VERO (Verda reno) were used as the cell cultures. While doing the real-time xCELLigence monitoring of the cells, we noticed significant changes in adherence in the VERO model cell line. With all the examined medicinal products there was a considerable decrease in the cellular index in all concentrations ($P < 0,05$). In the RK13 cell line, the adherence was maintained and comparable to the control cells of both fluconazole and metronidazole, and a decrease occurred only after the administration of voriconazole. The effect of the tested substances was also strongly manifested in the metabolic activity of cells in the MTT assay, more significantly with RK13 cells that proved to be more sensitive. After the exposure of the cells to higher concentrations of voriconazole there was a large decrease in RK13 cells, where the values dropped to the amount of 84,54 – 89,12 % ($P < 0,05$), while in VERO cells the decrease was recorded only in higher concentrations (10 and 15 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) to the level of 93,69 – 96,01 %. Fluconazole and metronidazole caused a decrease in the metabolic activity in RK13 cells after the administration of higher concentrations (2,5 – 20 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) to the amount of 86,78 – 88,89 %.

Key words: antimicrobial agents; cell cultures; MTT; toxicity; xCELLigence

ÚVOD

Rozvoj chémie a s ním súvisiaca chemizácia najrozšírenejších odvetví priemyslu a poľnohospodárstva sú jednou z hlavných príčin kontaminácie prostredia cudzorodými látkami

– xenobiotikami. V súčasnej dobe sa používa niekoľko miliónov chemických látok a každoročne je syntetizovaných ďalších niekoľko tisíc. K expozícii organizmu chemickým látkam dochádza aj počas terapie pri užívaní rôznych syntetických liečiv (Rössner a Bencko, 2008). Hoci antimikrobiálne látky sú považované za relatívne dobre tolerované liečivá, viaceré z nich môžu spôsobiť vážne poškodenie ľudského organizmu (Wawruch a kol., 2008). Moderným predklinickým testovaním *in vitro* s použitím rôznych bunkových línií je možné otestovať účinky látok v rôznych koncentráciách na živý organizmus. Cieľom štúdie bolo zistiť toxický účinok bežne používaných liečiv na vybrané bunkové línie obličiek v reálnom čase systémom xCELLigence a kolorimetricky pomocou MTT testu.

MATERIÁL A METODIKA

Cieľom štúdie bolo sledovanie cytotoxických účinkov vybraných liečivých látok bežne používaných v terapii. V experimente boli použité vodné roztoky metronidazolu (12,5; 25; 50; 100; 200 $\mu\text{g.ml}^{-1}$), flukonazolu (1,25; 2,5; 5; 10; 20 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) a vorikonazolu (1,25; 2,5; 5; 10; 20 $\mu\text{g.ml}^{-1}$). Liečivá boli pred experimentom nariadené na koncentrácie, ktoré boli zvolené podľa odporúčaných denných terapeutických dávok, a taktiež s ohľadom na ich rozpustnosť vo vode. Ako modelové bunkové línie boli na testovanie toxicity zvolené obličkové epitelo-ové bunky kráľika RK13 a pre porovnanie aj obličkové epitelo-ové bunky opice VERO (ATCC® CCL-37™) po 24-hodinovej kultivácii, ktoré boli kultivované v kompletnom kultivačnom médiu 10 % EMEM s obsahom 10 % fetálneho bovinného séra (FBS), 1 % L-glutamínu; 0,1 % gentamycínu; 0,5 % AmfB a 1 % penstrepténu. Bunky uchovávané v tekutom dusíku ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) boli rýchlo rozmrazené pridaním 1 ml kompletného kultivačného média ohriateho na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Obsah mikroskúmavky (ependorfky) bol prenesený k 10 ml média do strednej kultivačnej fľaše. Kultivácia buniek trvala 4 dni a prebehla v termostate pri teplote $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v atmosfére

s 5 % obsahom CO₂. Bunky boli vystavené účinkom testovaných látok po dobu 48 hodín. Na vykonanie oboch meraní boli použité bunky z rovnakej pasáže. Materiál na experiment bol zakúpený od firmy Sigma Aldrich (Mannheim, Nemecko).

xCELLigence systém (real-time cell analyser – RTCA)

Za účelom monitorovania bunkovej odpovede v reálnom čase boli bunky každej bunkovej línie nasadené do troch 16-jamkových E-platničiek (ACEA Bioscience, Kanada) v množstve 15 000 buniek na jednu jamku. Pred samotným nasadením buniek sme najprv napipetovali 100 µl média do všetkých jamiek. Po rýchlom zmeraní backgroundu sme do každej jamky k médiu pridali 50 µl bunkovej suspenzie (15 000 buniek na jednu jamku) a nechali kultivovať v RTCA stanici umiestnenej v inkubátore (37 °C, 5 % CO₂). Po 20 hodinách inkubácie, keď boli všetky bunky adherované a v rastovej fáze, pridali sme k nim testované látky. Systém xCELLigence počas celej doby expozície (48 hodín) monitoroval bunkovú odpoveď a zmeny adherovaných buniek zaznamenával do kriviek ako hodnoty bukového indexu (CI). Hodnoty CI boli normalizované na hodnotu bunkového indexu 1, ktorý predstavoval bunkový index v čase pred pridávaním testovaných látok (Xing a kol., 2006).

MTT test

Test na hodnotenie metabolickej aktivity MTT bol vykonaný v 48. hodine expozície buniek liečivám. Obidva druhy testovaných buniek boli nasadené do mikrotitračných platní (Greiner-bio-one, Kremsmünster, Rakúsko). Vzhľadom na plochu dna jamky bol počet optimalizovaný na 22 000 buniek na jednu jamku, v objeme 100 µl média. Po 20-hodinovej kultivácii boli bunky ošetrené rovnako ako pri xCELLigence systéme. Následne sme z jamiek odsali médium, bunky boli premyté 100 µl PBS a po premytí bolo pridané nariedené farbivo MTT (5 µg.ml⁻¹) s kompletným kultivačným médiom v pomere 1:10. Po 4-hodinovej inkubácii bolo médium s MTT

odsaté a pre rozpustenie vzniknutého formazanu bolo pridaných 100 µl dimethylsulfoxidu (DMSO). Na zastavenie reakcie sme na záver pridali 12,5 µl Sorensenovho glycínového pufru a absorbancia bola meraná spektrofotometricky pri 570 nm (Synergy HT, Biotek, Winooski, VT, USA). Hodnoty absorbancie namerané spektrofotometricky boli prepočítané na metabolickú aktivitu.

Štatistické spracovanie výsledkov

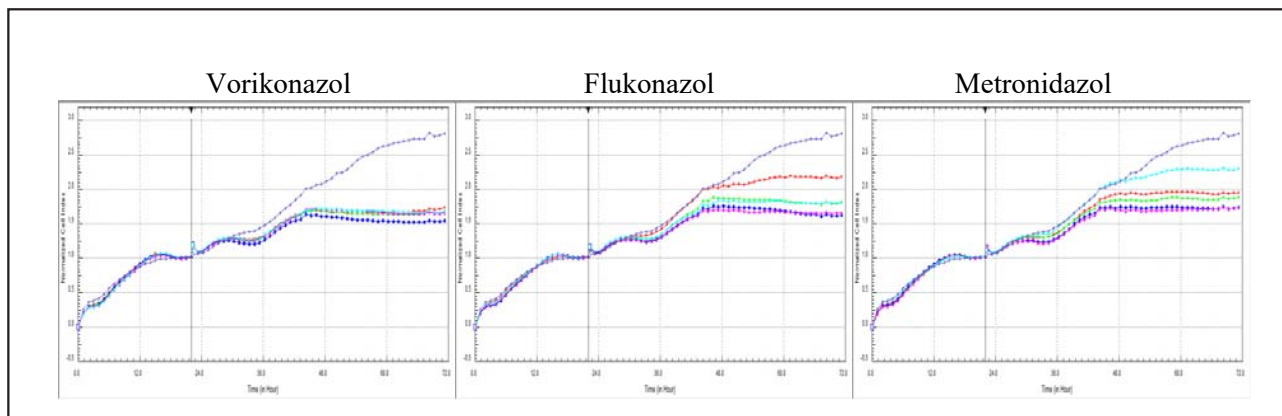
Výsledky boli vypočítané ako priemerná hodnota (n = 3) so štandardnou odchýlkou (± sd). Pre štatistické vyhodnotenie výsledkov sme použili program Graf Pad Prism 3.00 (GraphPad Software, San Diego, Kalifornia, USA), jednocestná Anova, Dunnettov porovnávací test. Za štatisticky významný rozdiel sa považuje hodnota P < 0,05.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Systém xCELLigence zaznamenával zmeny adherencie VERO buniek počas celej doby expozície vorikonazolu, flukonazolu a metronidazolu (viď obr. 1). Pri všetkých koncentráciách skúmaných liečiv boli zaznamenané signifikantné rozdiely CI v porovnaní s kontrolnou vzorkou (P < 0,05). To znamená, že pri všetkých koncentráciách sme zaznamenali zníženie adherencie a proliferácie buniek v závislosti na čase. Pri monitorovaní buniek RK13 systémom xCELLigence pozorujeme pri vorikonazole a flukonazole porovnateľné účinky na bunky. Pri všetkých použitých koncentráciách sme zaznamenali signifikantné rozdiely CI oproti kontrole (P < 0,05). Po expozícii metronidazolu sme zistili, že všetky koncentrácie vykazovali porovnateľný priebeh bunkových zmien a rozdiely v hodnotách bunkového indexu boli len veľmi malé (P > 0,05).

Podobné hodnotenie bunkovej odpovede v reálnom čase bolo vykonané aj pomocou buniek RK13 (viď obr. 2). Výraznejší pokles adherencie bol zaznamenaný len po pôsobení vorikonazolu. U ostatných testovaných látok nedošlo k výraznejšiemu

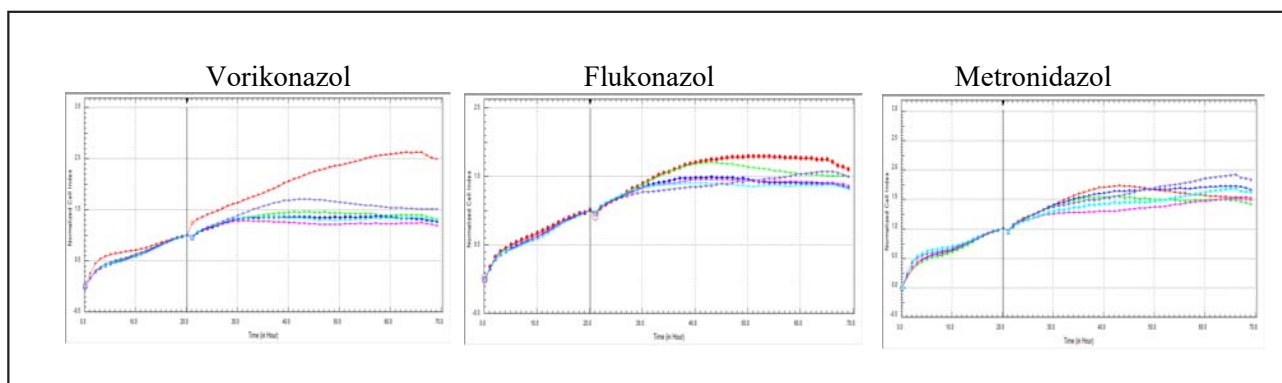
Obr. 1: Účinok liečiv na adhérenciu buniek VERO počas 48-hodinovej expozície



Zdroj: xCELLigence systém

fialová krivka – kontrola; červená – 15 µg.ml⁻¹; zelená – 10 µg.ml⁻¹; modrá – 5 µg.ml⁻¹; ružová – 2,5 µg.ml⁻¹; tyrkysová – 1,25 µg.ml⁻¹

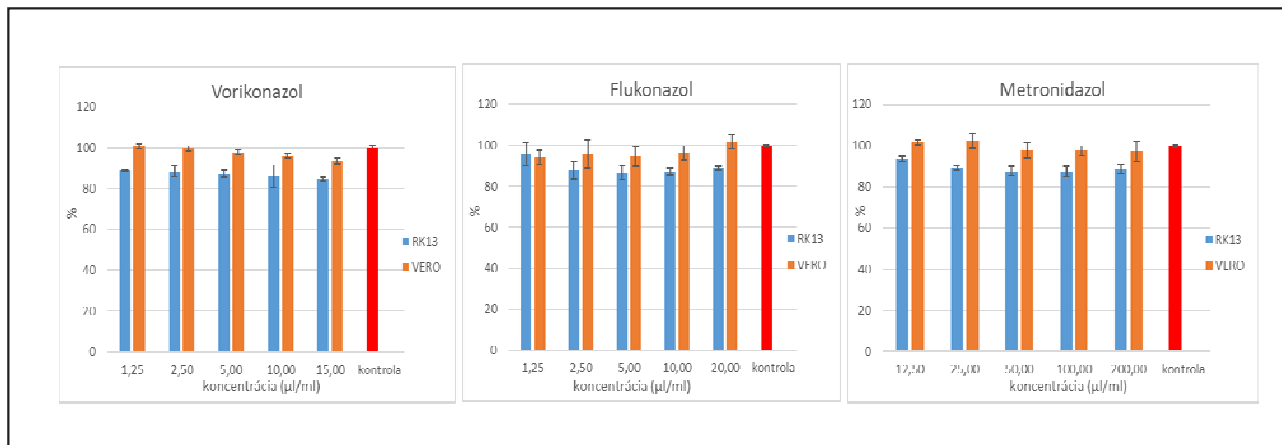
Obr. 2: Účinok liečiv na adhérenciu buniek RK13 počas 48-hodinovej expozície



Zdroj: xCELLigence systém

červená krivka – kontrola; fialová – 200 µg.ml⁻¹; zelená – 100 µg.ml⁻¹; modrá – 50 µg.ml⁻¹; ružová – 25 µg.ml⁻¹; tyrkysová – 12,5 µg.ml⁻¹

Obr. 3: Účinok liečiv na metabolickú aktivitu (%) buniek (48 h expozícia)



ovplyvneniu bunkovej odpovede v porovnaní s kontrolnými bunkami ($P > 0,05$).

Účinok testovaných látok sa výrazne prejavil na metabolickej aktivite buniek. (viď obr. 3). Bunky RK13 reagujú na zvyšujúce sa koncentrácie liečiv citlivejšie v porovnaní s bunkami VERO. Po expozícii buniek vyšším koncentráciám vorikonazolu došlo k jej signifikantnému poklesu u buniek RK13, kde hodnoty klesli na 84,54 – 89 % ($P < 0,05$), zatiaľ čo pri VERO bunkách bol pokles zaznamenaný len pri vyšších koncentráciách (10 a 15 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) na hodnoty 93,69 – 96,01 %. Flukonazol a metronidazol spôsobili pokles metabolickej aktivity u RK13 buniek po aplikácii vyšších koncentrácií (2,5 – 20 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) na hodnoty 86,78 – 88,89 %. Pri flukonazole pri bunkách RK13 došlo k signifikantnému zníženiu metabolickej aktivity po expozícii všetkým sledovaným koncentráciám okrem najnižšej koncentrácie 1,25 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ a pri VERO bunkách sme zaznamenali signifikantné zníženie metabolickej aktivity práve u najnižšej sledovanej koncentrácie 1,25 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Po pridaní metronidazolu došlo k miernemu poklesu metabolickej aktivity u VERO buniek len pri koncentrácii 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, zatiaľ čo u RK13 nastal výrazný pokles pri všetkých sledovaných koncentráciách ($P < 0,05$) okrem najnižšej 12,5 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ($P > 0,05$).

RTCA umožňuje sledovať bunky v reálnom čase. Toto kontinuálne monitorovanie buniek umožňuje sledovanie procesov, ktoré štandardnými „end-point“ metódami nie je možné zaznamenať (Vondráčková a kol., 2010). Výsledky sú zaznamenávané vo forme grafov, ktoré vyjadrujú zmeny bunkového indexu (CI) v čase t . RTCA metóda je založená na meranie elektrického odporu buniek, ktoré sú adherované na dne platničky (Vondráčková a kol., 2010; Tang a kol., 2013; Stefanowicz-Hajduk a kol., 2016), čo je nedostatočné na zistenie stavu buniek, tak sme na spresnenie výsledkov použili aj MTT test. Ide o často používanú kolorimetrickú metódu na meranie cytotoxicity *in vitro*, ktorá sleduje metabolickú aktivitu buniek (Berridge a kol., 2005). Princípom tejto metódy je schopnosť

životaschopných buniek premieňať žlté farbivo MTT na fialovo sfarbený formazan, z čoho vyplýva, že čím je sfarbenie tmavšie, tým väčší je počet životaschopných buniek (Matho a kol., 2010).

V našom experimente sme využili obidve spomenuté metódy sledovania toxicity. Pri monitorovaní buniek v reálnom čase sme zaznamenali pokles adhérencie a proliferácie u všetkých buniek ošetrovaných testovanými látkami v porovnaní s kontrolnými bunkami bez ošetrovania, zatiaľ čo pri MTT teste sa VERO bunky ukázali ako menej citlivé a k poklesu metabolickej aktivity došlo len pri vyšších koncentráciách vorikonazolu (10 a 15 $\mu\text{g.ml}^{-1}$). Bunková línia RK13 preukázala vyššiu citlivosť a k poklesu metabolickej aktivity došlo u všetkých sledovaných látok okrem najnižších koncentrácií metronidazolu (12,5 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) a flukonazolu (1,25 $\mu\text{g.ml}^{-1}$). Samah (2012) zistil, že podávanie vysokých dávok metronidazolu spôsobilo u potkanov okrem iných toxických účinkov v menšej miere aj nefrotoxicitu. Z uvedeného vyplýva, že podávanie terapeutických dávok skúmaných liečiv je relatívne bezpečné, no so zvyšujúcou sa dávkou rastie aj ich toxicita.

ZÁVER

Na základe získaných meraní sme zistili výraznejšie zmeny v adhérencii u modelovej bunkovej línie VERO, u ktorej došlo k signifikantnému poklesu bunkového indexu pri všetkých sledovaných liečivách a koncentráciách ($P < 0,05$). Pri bunkovej línii RK13 bola adhérenca zachovaná a porovnateľná s kontrolnými bunkami pri flukonazole aj metronidazole, k výraznému poklesu došlo len po aplikácii vorikonazolu. Účinok testovaných látok sa výrazne prejavil aj na metabolickej aktivite buniek, viac u buniek RK13, ktoré sa ukázali ako citlivejšie. Po expozícii buniek vyšším koncentráciám vorikonazolu došlo k jej signifikantnému poklesu u buniek RK13, kde hodnoty klesli na 84,54 – 89 % ($P < 0,05$), zatiaľ čo pri VERO bunkách bol pokles zaznamenaný len pri vyšších koncentráciách (10

a 15 µg.ml⁻¹) na hodnoty 93,69 – 96,01 %. Flukonazol a metronidazol spôsobili pokles metabolickej aktivity u RK13 buniek po aplikácii vyšších koncentrácií (2,5 – 20 µg.ml⁻¹) na hodnoty 86,78 – 88,89 %.

ZOZNAM LITERATÚRY

Berridge, M. V., Herst, P. M., Tan, A. S.: Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology annual review*, 2005, 11, 127 – 152.

Matho, S. K., Chandra, P., Rhee, S. W.: *In vitro* models, endpoints and assessment methods for the measurement of cytotoxicity. *Toxicology and environmental health sciences*, 2010, 2 (2), 87 – 93.

Rössner, P. a Bencko, V.: Pozdní účinky xenobiotik 1. mechanismu účinku a jejich výskyt v prostředí [Late effects of xenobiotics. 1. effect mechanisms and their occurrence in the environment]. *Praktické Lékařství*, 2008, 88 (5), 262 – 266.

Samah, O.: Histopathological and biochemical alterations of metronidazole induced toxicity in male rats. *Global Veterinaria*, 2012, 9 (3), 303 – 310.

Stefanowicz-Hajduk, J., Adamska, A., Bartoszewski, R., Ochocka, R.: Reuse of E-plate cell sensor arrays in the xCELLigence Real-Time Cell Analyzer. *The International Journal of Life Science Methods*, 2016, 61 (3), 117 – 122.

Teng, Z., Kuang, X., Wang, J., Zhang, X.: Real-time cell analysis – A new method for dynamic, quantitative measurement of infectious viruses and antiserum neutralizing activity. *Journal of Virological Methods*, 2013, 193 (2), 364 – 370.

Vondráčková, L., Horvath, V., Žůrek, D.: O zlatých elektrodách [About gold electrodes]. *Labor. Aktuall*, 2010, 18 – 20.

Wawruch, M., Božeková, L., Krčméry, S.: Nežiaduce účinky a interakcie antibakteriálnych liečiv [Adverse effects and interactions of antibacterial agents]. *Súčasná klinická prax*, 2008, 1, 9 – 13.

Xing, J., Zhu, L., Gabos, S., Xie, L.: Microelectronic Cell Sensors Assay for detection of cytotoxicity and protection of acute toxicity. *Toxicology in vitro*, 2006, 995 – 1004.



MACA V ZDRAVÍ MUŽA A ŽENY

MACA IN HEALTH OF MEN AND WOMEN

Šutorová, Martina¹; Bačkorová, Miriam²

¹Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie

²Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice

Slovenská republika

martina.sutorova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) je u nás málo známy adaptogén, ktorý pomáha udržiavať optimálnu homeostázu organizmu. Obsahuje významné biologicky aktívne látky vrátane alkaloidov, polysacharidov, glukozinolátov, sterolov, aminokyselín, mastných kyselín, minerálov a vitamínov. V koreni sú prítomné nasýtené a nenásýtené mastné kyseliny v podobe kyseliny palmitovej, linolovej a olejovej. Vďaka obsahovým látkam sa maca vyznačuje viacerými farmakologickými účinkami ako sú neuroprotektívny, antioxidantný, protinádorový, hepatoprotektívny a imunomodulačný účinok. Na základe viac ako stovky vedeckých štúdií bolo dokázané, že má priaznivý vplyv aj pri liečbe niektorých reprodukčných a sexuálnych porúch, pri chronickom únavovom syndróme a depresii. Napriek tomu, že pôvodní obyvatelia Peru

nepoznali fytochemický profil rastliny, využívali jej veľký liečivý potenciál, hlavne pri zvýšení potencie a plodnosti u mužov, žien a dobytká. Tento prehľadový článok ponúka krátke zhrnutie pozitívnych účinkov rastliny maca na zdravie.

Kľúčové slová: farmakologické účinky; *Lepidium meyenii* Walp.; menopauza; potencia; výživa

ABSTRACT

Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) is a little-known adaptogen that helps maintain optimal homeostasis of the body. It contains important bioactive substances, including alkaloids, polysaccharides, glucosinolates, sterols, amino acids, fatty acids, minerals and vitamins. Saturated and unsaturated fatty acids in the form of palmitic, linoleic, and oleic acids are

present in the root. Due to the ingredients, maca is characterized by several pharmacological effects such as neuroprotective, antioxidant, antitumor, hepatoprotective, and immunomodulatory effect. Based on more than a hundred scientific studies, it has shown a beneficial effect in the treatment of some reproductive and sexual disorders, chronic fatigue syndrome and depression. Although the original inhabitants of Peru did not know the phytochemical profile of the plant, they used its great healing potential, especially in increasing potency and fertility in men, women and cattle. This review article provides a brief summary of the positive health effects of maca.

Key words: *Lepidium meyenii* Walp.; menopause; nutrition; pharmacological activity; potentiation

HISTÓRIA

Maca bola neoddeliteľnou súčasťou stravovania a obchodovania obyvateľov, ktorí žili v oblasti Ánd. Na základe archeologických dokumentov možno predpokladať, že maca bola domestikovaná pred vyše 2000 rokmi. S najväčšou pravdepodobnosťou si ju udomácnili divoké bojové kmene (Pumpuš), ktoré sa prisťahovali z džungle, v období rokov 1200 až 100 p. n. l. Neskôr sa pokračovalo v jej pestovaní v Andských pohoriach. Bolo zistené, že kmeň Yaro sa v období rokov 1100 až 1470 venoval pestovaniu tejto rastliny na poliach, pre jej údajný priaznivý účinok na plodnosť a afrodiziakálne vlastnosti. V historických záznamoch z roku 1549 je uvedené, že maca v hodnote 15 000 – 18 000 libier bola z dôvodu ich uctenia si zaslaná koloniálnej vláde ako dar. Aj keď španielski úradníci pohrdali tradičnými jedlami, po zistení, že maca mala dlhú domorodú tradíciu v zvyšovaní plodnosti a celkovej vitality organizmu, tento dar prijali (Wolfe, 2009). Prvá písomná zmienka o rastline maca pochádza z roku 1553 a je spomínaná v diele Pedra Cieza „La Crónica general del Perú“ [World Intellectual Property Organization (WIPO),

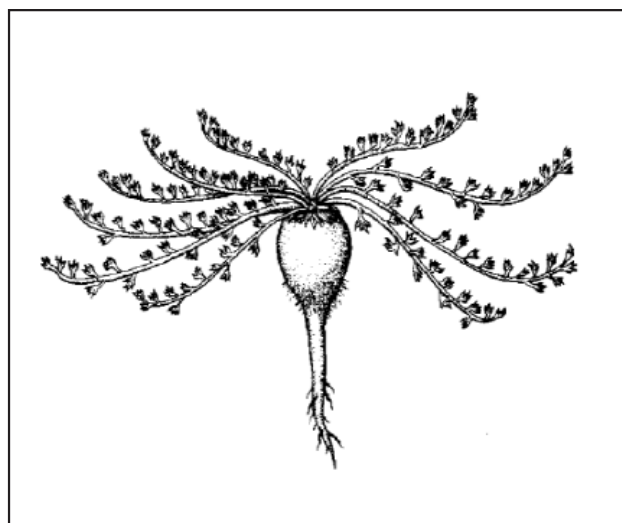
2003].

Pre domorodých obyvateľov Ánd, Inkov, bola maca životne dôležitou a cennou komoditou, používala sa na obchodovanie spolu s ďalšími základnými potravinami, akými boli chlieb, ryža, kukurica a cukor. Inkovia boli sofistikovaní stavitelia a pestovatelia, čoho dôkazom sú aj objavené archeologické náleziská. V neskoršom období vedomosti o zvláštnych vlastnostiach maca vymizli a zachovali sa iba v niekoľkých odľahlých peruánskych komunitách. V šesťdesiatych a neskôr v osemdesiatych rokoch minulého storočia nemeckí a severoamerickí vedci, ktorí opäť skúmali rastlinnú ríšu v Peru, vzbudili záujem verejnosti o rastlinu maca, hlavne vďaka preukázaným adaptogénnym a hormonálnym účinkom (Ley, 2003).

BOTANICKÁ CHARAKTERISTIKA

Žerucha peruánska (*Lepidium meyenii* Walp.), synonymum *Lepidium meyenii* var. *affine* Thell., je tradičná vysokohorská dvojročná rastlina nízkeho vzrastu. Je tiež známa pod názvami maca, peruánsky ženšen či andská viagra a patrí do čeľade kapustovité (*Brassicaceae*). Rastlinu tvorí repovitý koreň (viď obr. 1), ktorý sa podobá red'kovke alebo kvake (Meissner a kol., 2015).

Obr. 1: Maca (*Lepidium meyenii* Walp.)



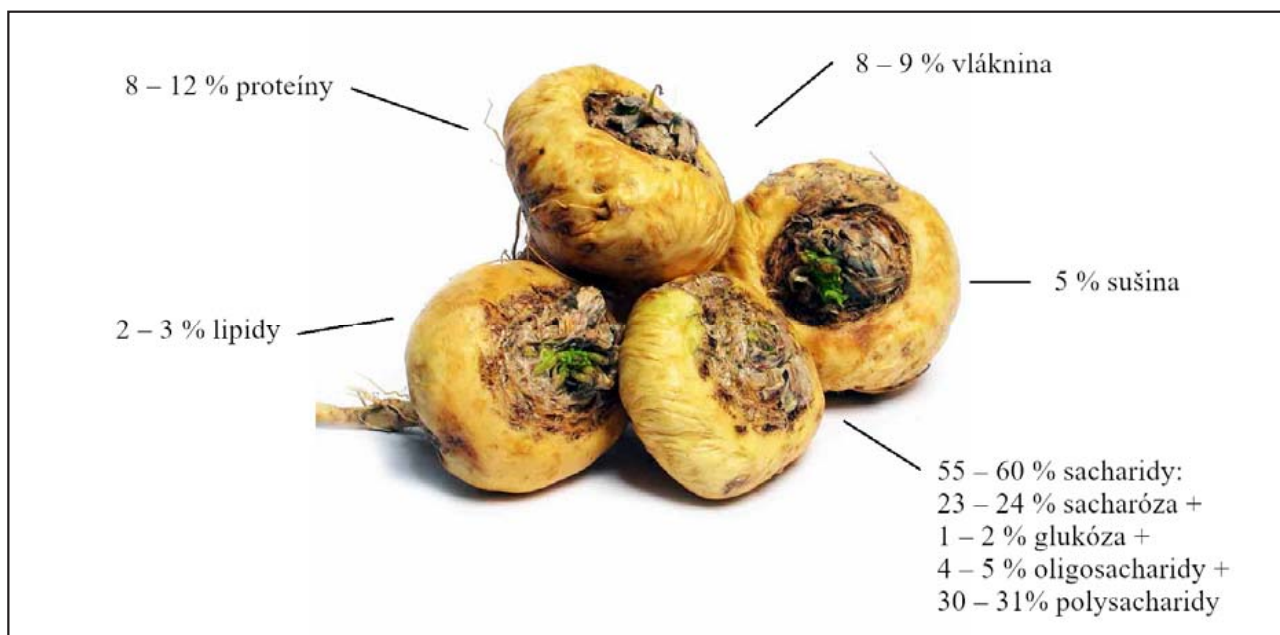
Zdroj: Wang a Zhu, 2019

Obr. 2: Farebné kultivary koreňa maca



Zdroj: Peres a kol., 2020

Obr. 3: Percentuálne zastúpenie živín v koreni rastliny maca



Zdroj: Peres a kol., 2020

Hlavná stonka je redukovaná, v listoch sa prejavuje dimorfizmus a v počte 12 – 20 listov vytvárajú prízemnú ružicu. Neustále sa obnovujú smerom od stredu, zatiaľ čo vonkajšie listy postupne odumierajú. Drobné obojpohlavné kvety bielej alebo bielo sivej farby dorastajú do veľkosti 2 mm. Plodom o veľkosti 4 – 5 mm sú struky obsahujúce dve semená (WIPO, 2003). Maca rastie na skalnatej pôde, v nadmorských výškach 3800 – 4400 metrov. Darí sa jej v extrémnych klimatických podmienkach, ako je intenzívne slnečné žiarenie, silný vietor a teploty kolísajúce od –20 °C po +20 °C (Muhammad a kol., 2010). V súčasnosti existujú viaceré kultivary maca, ktoré sa odlišujú farebnosťou koreňa (viď obr. 2) a majú najčastejšie žlté, fialové, červené a čierne sfarbenie (Meissner a kol., 2016).

Pestované druhy sa rozmnožujú výlučne semenami počas daždivého obdobia. Vysoká nadmorská výška, chladné počasie a malý výskyt škodcov vytvárajú pre rast vhodné ekologické podmienky. Na liečebné účely sa používa rozomletý prášok pripravený z usušeného koreňa maca (Tafari a kol., 2019).

OBSAHOVÉ LÁTKY

Čerstvý koreň je vďaka veľkému podielu vody (80 %) a vysokému množstvu železa, vápnika a minerálnych látok výborným nízkoenergetickým zdrojom potravy s vysokým obsahom živín. Usušený koreň má nutričnú hodnotu podobnú kukurici, ryži a pšenici (Beharry a Heinrich, 2018). Okrem sacharidov (55 – 60 %) obsahuje bielkoviny (10 – 12 %), vlákninu (8 – 9 %) a tuky (2 – 3 %) (viď obr. 3).

Koreň rastliny maca obsahuje nasýtené a nenasýtené mastné kyseliny, z ktorých je najviac zastúpená kyselina linolová, palmitová a olejová (Gonzales, 2012), neesenciálne a esenciálne aminokyseliny – treonín, valín, metionín, leucín, izoleucín, lyzín. Najväčší podiel minerálnych látok tvorí draslík, vápnik, železo, horčík, meď, sodík, zinok, mangán (Chen a kol., 2017). Početné zastúpenie majú aj vitamíny, ide o vitamíny skupiny B, vitamín

A, vitamín C a vitamín E. Maca obsahuje viac druhov sekundárnych metabolitov, najvýznamnejšími sú alkaloidy, glukozinoláty, macamidy a macaény. Za najúčinnnejšie zložky maca sa považujú najmä pre ňu špecifické imidazolové alkaloidy – lepidilín A, lepidilín B, lepidilín C a lepidilín D a glukozinoláty zastúpené hlavne glukotropeolínom a m-metoxybenzylglukozinolátom (Muhammad a kol., 2010; Jing a kol., 2016). Ďalšie zlúčeniny patria do skupiny fytoosterolov – beta-sitosterol, kampesterol, ergosterol a stigmasterol, tanínov a saponínov (Gonzales, 2012; Beharry a Heinrich, 2018). Prítomnosť sekundárnych metabolitov je ovplyvnená pôvodom rastliny aj farebným typom koreňa (Clement a kol., 2010).

TRADIČNÉ POUŽITIE *Lepidium meyenii* Walp.

Maca tvorí základ výživy pre domorodých peruánskych obyvateľov. Využíva sa predovšetkým ako potravina a vďaka svojim liečivým vlastnostiam aj ako liek. Čerstvo nazbieraný koreň sa zvyčajne varí vo vode či v mlieku a konzumuje vo forme kaše alebo slúži na prípravu džemu, piva a miešaných alkoholických nápojov. Koreň, ktorý sa tradične pečie v pahrebe, je považovaný za miestnu lahôdku. Sušený koreň je sladký, má hnedú farbu, pižmovú arómu a môže byť uskladnený až 7 rokov bez toho, aby stratil svoju nutričnú hodnotu. V čase náboženských obradov a tancov sa maca používala na prípravu nápojov, ku ktorým boli pridávané rôzne halucinogénne produkty. Bojovníci konzumovali pred bojom veľké množstvo maca na zvýšenie sily a výkonnosti. V kronikách sa uvádza, že slúžila aj ako krmivo pre hospodárske zvieratá na potlačenie klesajúcej plodnosti vo vysokých nadmorských výškach (Gonzales a kol., 2009). V tradičnej peruánskej medicíne sa používa na zmiernenie bolesti pri reumatizme, pri liečbe anémií, tuberkulózy, ochoreniach dýchacích ciest, menštruačných poruchách, na potlačenie symptómov menopauzy, neplodnosti a iných sexuálnych dysfunkcií. Účinkuje ako prehľadadlo, zlepšuje pamäť aj imunitu, je

Tab. 1: Oblasti liečebného pôsobenia maca

Plodnosť	Zlepšenie sexuálnej túžby, zvýšenie objemu ejakulátu, koncentrácie a celkového počtu spermií.
Oxidačné poškodenie	Antioxidačný účinok založený na schopnosti inhibovať tvorbu oxidačných produktov je závislý od koncentrácie extraktu a prostredia, v ktorom sa nachádza.
Koža	Prevenca a zlepšenie hojenia kože poškodenej UV žiarením. Akcelerácia hojenia rán vo vysokých nadmorských výškach.
Učenie	Zlepšenie pamäte a sústredenia sa počas učenia, zlepšenie priestorovej orientácie.
Únava	Zlepšením enzymatickej aktivity glutatiónpoxidázy a kreatínkinázy a zvyšovaním antioxidačnej aktivity pomáha pri oddialení príznakov únavy. Účinok je závislý od dávky.
Energia	Nižšie hladiny katalázy, laktátdehydrogenázy a zníženie peroxidácie lipidov zlepšujú fyzický výkon, najmä u športovcov.
Pamäť a pozornosť	Neuroprotektívny účinok u starších pacientov a pacientov s mozgovou príhodou prostredníctvom zníženia oxidačného stresu, protizápalového účinku, regulácie transkripčných faktorov a inhibície proteínov.
<i>Diabetes mellitus</i>	Zníženie hladiny glukózy a významné zvýšenie hodnôt inzulínu priaznivo ovplyvňuje stav ochorenia.
Hmyz	Možný insekticídny účinok proti komárom.

osvedčeným prírodným prostriedkom na prekonanie stresu a únavy (Gonzales, 2012).

FARMAKOLOGICKÉ ÚČINKY

Biologická aktivita rastliny maca bola sledovaná v rôznych experimentoch na ľudských a zvieracích modeloch. Mnohé z jej prisudzovaných účinkov boli týmito odbornými štúdiami potvrdené (Wang a Zhu, 2019; Peres a kol., 2020). Medzi najčastejšie popisované terapeutické účinky maca v odbornej literatúre patria (vid' tab. 1): regulácia sexuálnych dysfunkcií (Melnikovova a kol., 2015; Prete a kol., 2018), antioxidačný účinok (Cuentas a kol., 2008), protizápalový účinok (Bai a kol., 2015), protinádorový účinok (Bai a kol., 2015), neuroprotektívny účinok (Pino-Figueroa a kol., 2010; Alquraini a kol., 2014), antidepresívny účinok (Brooks a kol., 2008) a ochrana kože pred UV žiarením (Nuñez a kol., 2017).

MACA PERUÁNSKA V LIEČBE SEXUÁLNYCH DYSFUNKCIÍ VYVOLANÝCH ANTIDEPRESÍVAMI

Téma sexuality je často tabuizovaná a vytvára komunikačnú bariéru nielen na strane pacienta, ale aj na strane lekára či lekárničky. Významným problémom klinickej praxe sú sexuálne dysfunkcie, ktoré vznikajú pri liečbe antidepresívami (Vašečková a Hajdúk, 2017). Ich výskyt je v závislosti od podávaného liečiva, sledovaného obdobia a použitej metodiky popisovaný u 25 – 85 % pacientov (Serreti a Chiesa, 2009). V klinickom obraze polievkových sexuálnych dysfunkcií sú pozorované typické aj menej typické prejavy. Typickými symptómami sú zníženie libida, oddialenie orgazmu alebo ejakulácie, anorgazmia, erektilná dysfunkcia u mužov či znížená vaginálna lubrikácia u žien. K menej typickým prejavom patria napríklad genitálna anestézia a subjektívne neprežívaný orgazmus (Vašečková,

2015). Najväčšiu časť pacientov, ktorí sú liečení pre depresívnu poruchu, tvoria sexuálne aj reprodukčne aktívni ľudia (Vašečková a Hajdúk, 2017), najčastejšie vo vekovej skupine 30 až 44 rokov, pričom u žien je dvojnásobne vyšší výskyt ochorenia ako u mužov (Kessler a kol., 2003). Objavenie sa sexuálnych problémov negatívne vplyva na kvalitu života pacienta aj na priebeh pridružených ochorení.

Publikovaná štúdia Dordinga a kol. (2015) preukázala, že koreň rastliny maca môže zmierniť antidepresívami (SSRI – inhibítory spätného vychytávania serotonínu) indukovanú sexuálnu dysfunkciu u žien. Dvojito zaslepenej, placebom kontrolovanej klinickej štúdie, ktorá trvala 12 týždňov, sa zúčastnilo 45 žien vo veku 18 až 65 rokov. Pacientkam bola diagnostikovaná sexuálna dysfunkcia vyvolaná antidepresívami. Počas sledovaného obdobia im bol podávaný prášok z koreňa rastliny maca v dávkovaní 1,5 g trikrát denne. Z výsledkov vyplýva, že miera remisie sexuálnych dysfunkcií bola na konci liečby vyššia u tých žien, ktorým bola podávaná maca peruánska v porovnaní s kontrolnou skupinou, ktorá užívala placebo.

MACA PERUÁNSKA V OBDOBÍ KLIMAKTÉRIA

K závažným funkčným, somatickým a psychickým zmenám v živote ženy dochádza vplyvom ukončenia ovariálnej funkcie, ktoré je spojené s výrazným poklesom plazmatickej koncentrácie estrogénov (Luptáková, 2014). V súčasnosti je k dispozícii veľké množstvo bylinných prípravkov, ktorých účinky boli podporené vedeckými dôkazmi a ponúkajú v rámci doplnkovej liečby ženám v menopauze širokú škálu zdravotných benefitov (Fialová, 2012).

Randomizovanej, dvojito zaslepenej, placebom kontrolovanej austrálskej štúdie sa zúčastnilo 14 postmenopauzálnych žien vo veku 45 až 65 rokov. Podmienkou ich účasti bola absencia hormonálnej liečby za posledných 6 mesiacov. Ženám bol počas 6 týždňov raz denne v dávke 3,5 g pridávaný

prášok z rastliny maca do jedla alebo podávaný vo forme nápoja. Ďalších 6 týždňov tá istá skupina pacientiek užívala placebo. Dĺžka celej klinickej štúdie trvala 12 týždňov. Na začiatku, v 6. a v 12. týždni boli ženám odobraté vzorky krvi a zisťovali sa hladiny pohlavných hormónov (estradiolu, folikuly stimulujúceho hormónu, luteinizačného hormónu) a globulínu viažuceho pohlavné hormóny. Účastníčky štúdie zároveň v tom istom čase absolvovali dotazníkové hodnotenie závažnosti symptómov menopauzy. Napriek tomu, že neboli preukázané rozdiely v sérových koncentráciách uvedených hormónov medzi východiskovou hodnotou, liečbou maca a placebom, bolo zistené, že po konzumácii maca v porovnaní s placebom došlo k zmierneniu psychických príznakov, vrátane úzkosti a depresie a k zníženému výskytu sexuálnych dysfunkcií, nezávisle od estrogénnej a androgénnej aktivity (Brooks a kol., 2008).

V rámci ďalšej štúdie sa hodnotil vplyv maca na úzkosť, depresie, krvný tlak, menopauzálny príznaky a celkovú pohodu u čínskych postmenopauzálnych žien. Do randomizovanej, dvojito zaslepenej, placebom kontrolovanej klinickej štúdie bolo zapojených 29 postmenopauzálnych žien vo veku 46 až 59 rokov. Podmienkou účasti v štúdiu bola neprítomnosť menštruácie za obdobie 12 mesiacov a dlhšie. 15 žien začalo s liečbou s maca ako prvou, 14 ženám bolo ako prvé podávané placebo. Každdej účastníčke bola podávaná raz denne želatínová kapsula s obsahom 3,3 g maca prášku alebo placeba (ryžová múka), po dobu 6 týždňov. Ďalších 6 týždňov dostávali liečbu v náhodnom poradí, celá štúdia trvala 12 týždňov. Na začiatku, v 6. a v 12. týždni boli ženám odobraté vzorky krvi a zisťovali sa hodnoty hormónov (estradiolu, folikuly stimulujúceho hormónu, tyreotropného hormónu), globulínu viažuceho pohlavné hormóny, glukózy, sérových cytokínov a základný lipidový profil. V tom istom časovom horizonte sa uskutočňovalo aj meranie výšky, telesnej hmotnosti, krvného tlaku a vyplnenie dotazníka používaného na vyhodnotenie závažnosti symptómov menopauzy a kvality života súvisiacej

so zdravím. Napriek tomu, že krátkodobu užívaná maca nemala vplyv na koncentrácie hormónov, metabolizmus lipidov, imunitnú odpoveď a iné biologické parametre, u malej skupiny pacientok došlo k významnému zníženiu diastolického krvného tlaku a k zmierneniu príznakov depresie (Stojanovska a kol., 2015).

MACA PERUÁNSKA V LIEČBE BENÍGNEJ HYPERPLÁZIE PROSTATY

Benígna hyperplázia prostaty (BHP) je charakterizovaná ako nezhubné zhrubnuté zväčšenie prostaty, ktoré vzniká u mužskej populácie v dôsledku starnutia. Zväčšovanie prostaty začína okolo 40. roku života, výskyt narastá v 50 rokoch a až 90 % BHP sa prejavuje u 80 ročných mužov (Kliment, 2012). Finasterid, inhibítor 5-alfareduktázy, je štandardný liek pri BHP, ktorý znižuje hmotnosť prostaty a tiež sexuálnu túžbu. Viaceré vedecké štúdie potvrdili inhibičný účinok maca na BHP v prípade potkanov a myši (Vásquez-Velásquez a kol., 2020). Potkanom bola indukovaná BHP pomocou testosterónu enantátu (TE). Metanolvý extrakt z červeného koreňa maca bol počas 21 dní podávaný 36 potkanom. Výsledkom experimentu bolo, že metanolvý extrakt z rastliny maca znížil hmotnosť prostaty pri BHP. Bolo potvrdené, že extrakty z červeného koreňa maca majú priaznivý účinok na estrogény a ich receptory *alfa* a *beta* (ER α a ER β). Spomínané receptory sú nevyhnutné pri normálnom raste prostaty (Fano a kol., 2017).

MACA PERUÁNSKA V LIEČBE EREKILNÝCH DYSFUNKCIÍ U MUŽOV A MUŽSKEJ NEPLODNOSTI

V súčasnej dobe sú problémy v sexuálnej oblasti veľmi rozšírené, nepriaznivo ovplyvňujú medziľudské vzťahy a kvalitu života jednotlivých partnerov. Erektálna dysfunkcia, tiež známa ako impotencia, je vážnym celosvetovým problémom. Na trhu existuje veľa syntetických liekov, ktoré

zlepšujú sexuálne funkcie, no vyznačujú sa nielen finančnou náročnosťou, ale prinášajú so sebou aj rôzne zdravotné riziká.

Gonzales a kol. (2006) uskutočnili 12-týždňovú randomizovanú, dvojito zaslepenú, placebo kontrolovanú paralelnú štúdiu. Jej cieľom bolo dokázať, či samotná maca ovplyvňuje erekciu u mužov alebo je erektilná dysfunkcia závislá od hladiny testosterónu. Mužom vo veku 21 až 56 rokov bola podávaná maca v jednej z dvoch dávok: 1,5 g alebo 3 g a samotné placebo. Štúdia hodnotila skupiny po 4., 8. a 12. týždni liečby. V skupine mužov, ktorým bola podávaná maca, výsledky preukázali zlepšenie sexuálnych funkcií už po 8 týždňoch. Zistilo sa, že práve prítomné obsahové látky sú zodpovedné za zlepšenie sexuálnej túžby a erektilnej funkcie. V prípade sledovaných hladín hormónov – testosterónu a estradiolu nedošlo k zmenám ich koncentrácií v skupinách užívajúcich maca a v placebo skupine.

Neplodnosť u mužov je spôsobená zhoršenou spermatogenezou. Vlastnosti rastliny maca, ktoré zlepšujú kvalitu spermií a ich pohyblivosť boli publikované v rôznych štúdiách, na myšiach, potkanoch, býkoch, koňoch a baranoch, ale presvedčivé vedecké dôkazy o účinnosti maca na spermie u mužov stále chýbali. Dvadsiatim zdravým mužom vo veku 20 až 40 rokov bola podávaná maca v dávke 1,75 g denne alebo placebo počas 12 týždňov. V rámci štúdie bola monitorovaná hladina piatich reprodukčných hormónov (hormón stimulujúci intersticiálne bunky semenníka, folikulostimulačný hormón, prolaktín, estradiol a testosterón), dva hormóny štítnej žľazy (voľný tyroxín a hormón stimulujúci štítnu žľazu), parametre spermií (celkový počet spermií, koncentrácia spermií, morfológia) a počet pohyblivých spermií. Melnikovová a kol. (2015) zistili, že všetky hodnotené parametre kvality vykazovali rastúce trendy v skupine s maca po 12 týždňoch pokusu v porovnaní s placebo skupinou. Celkový počet spermií sa zvýšil o 20 %, koncentrácia spermií o 14 % a počet pohyblivých spermií o 14 %. V experimente však nedošlo k zmene hladiny hormónov v oboch skupinách.

NEŽIADUCE ÚČINKY

Koreň rastliny maca sa kvôli nepriaznivým účinkom glukozinolátov a ich metabolitov na zdravie neodporúča konzumovať surový. Prítomnosť týchto goitrogénnych látok sa dá redukovať najmä skladovaním a vhodným spracovaním, preto sa maca používa iba tepelne upravená alebo sušená. Ani po stáročiach jej používania v juhoamerických krajinách neboli doposiaľ hlásené žiadne toxické účinky, práve naopak. Na vzorke 600 obyvateľov bolo odpozorované, že je bezpečná a prispieva k celkovému zlepšeniu zdravia (Gonzales, 2012). Jej bezpečnosť potvrdzujú aj mnohé vedecké štúdie. Bolo zistené, že nielen vodné, ale ani liehové extrakty z maca nevykazujú v *in vitro* štúdií hepatotoxický účinok (Valentová a kol., 2006). Gasco a kol. (2007) vo svojej štúdií sledovali vplyv vodného extraktu rôznych odrôd maca na potkanoch, ktorým bol extrakt dlhodobo podávaný. Zistili, že histologický obraz pečene experimentálnej skupiny potkanov, ktorí boli liečení počas 84 dní dávkou 1 g/kg telesnej hmotnosti bol podobný ako pri kontrolnej skupine, teda k poškodeniu pečene nedošlo.

ZÁVER

Funkčné potraviny s obsahom biologicky aktívnych prírodných látok sa stávajú jedinečnými zložkami stravy v rámci trendu zdravého životného štýlu. Aj dnes prípravky z maca priťahujú pozornosť nielen žien, ale aj mužov túžiacich po zvýšení plodnosti, či zvyšovaní fyzickej kondície a sily. Vo fytoterapii sa používa sušený koreň vo forme prášku ako maca original alebo maca gelatinizada. Dostupné sú aj ďalšie produkty vo forme práškovaného extraktu, želatínových kapsúl, maca kávy, múky, pudingu, džusu či smoothie. Na trhu sa však pomerne často objavujú aj falzifikáty, ktoré môžu predstavovať pre spotrebiteľov určité zdravotné riziko spojené s poškodením zdravia.

ZOZNAM LITERATÚRY

Alquraini, A., Waggas, D., Böhlke, M., Maher, T., Pino-Figueroa, A.: Neuroprotective effects of *Lepidium meyenii*, (Maca) and macamides against amyloid-beta (25 – 35) induced toxicity in B-35 neuroblastoma cells. *The FASEB Journal*, 2014, 28, 657.13.

Bai, N., He, K., Roller, M., Lai, C. S., Bai, L., Pan, M. H.: Flavonolignans and other constituents from *Lepidium meyenii* with activities in anti-inflammation and human cancer cell lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63, 2458 – 2463.

Beharry, S. a Heinrich, M.: Is the hype around the reproductive health claims of maca (*Lepidium meyenii* Walp.) justified? *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 211, 126 – 170.

Brooks, N. A., Wilcox, G., Walker, K. Z., Ashton, J. F., Cox, M. B., Stojanovska, L.: Beneficial effects of *Lepidium meyenii*, (Maca) on psychological symptoms and measures of sexual dysfunction in postmenopausal women are not related to estrogen or androgen content. *Menopause*, 2008, 15, 1157 – 1162.

Clement, C., Diaz, D. A., Manrique, I., Avula, B., Khan, I. A., Ponce-Aguirre, D. D., Kunz, C., Mayer, A. C., Kreuzer, M.: Secondary metabolites in maca as affected by hypocotyl colour, cultivation history, and site. *Agronomy Journal*, 2010, 102 (2), 431 – 439.

Cuentas, R., De la Cruz, R., Hernández, G., Mateo, I., Castañeda, C.: Evaluación del efecto antioxidante de hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, “maca”. *Horizonte Médico*, 2008, 8, 45 – 55.

Dording, C., Schettler, P., Dalton, E., Parkin, S., Walker, R., Fehling, K., Fava, M., Mischoulon, D., Piacente, S.: A double-blind placebo-controlled trial of maca root as treatment for antidepressant-induced sexual dysfunction in women. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2015, 949036.

- Fano, D., Vásquez-Velásquez, C., Gonzales-Castañeda, C., Guajardo-Correa, E., Orihuela, P. A., Gonzales, G. F.: N-butanol and aqueous fractions of red maca methanolic extract exerts opposite effects on androgen and oestrogens receptors (alpha and beta) in rats with testosterone-induced benign prostatic hyperplasia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, vol. 2017, 1 – 10.
- Fialová, S.: Fytoestrogény a ich použitie v menopauze [Phytoestrogens and their use in menopause]. *Praktické lekárnictvo*, 2012, 2 (4), 150 – 153.
- Gasco, M., Aguilar, J., Gonzales, G. F.: Effect of chronic treatment with three varieties of *Lepidium meyenii* (Maca) on reproductive parameters and DNA quantification in adult male rats. *Andrologia*, 2007, 39 (4), 151 – 158.
- Gonzales, G. F., Nieto, J., Rubio, J., Gasco, M.: Effect of Black maca (*Lepidium meyenii*) on one spermatogenic cycle in rats. *Andrologia*, 2006, 38, 166 – 172.
- Gonzales, G. F., Gonzales, C., Gonzales-Castañeda, C.: *Lepidium meyenii* (Maca): A plant from the Highlands of Peru – from tradition to science. *Forschende Komplementärmedizin/Research in Complementary Medicine*, 2009, 16 (6), 373 – 380.
- Gonzales, G. F.: Ethnobiology and ethnopharmacology of *Lepidium meyenii* (Maca), a plant from the Peruvian Highlands. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, vol. 2012, 1 – 10.
- Chen, J. J., Zhao, Q. S., Liu, Y. L., Gong, P. F., Cao, L. L., Wang, X. D., Zhao, B.: Macamides present in the commercial maca (*Lepidium meyenii*) products and the macamidebiosynthesis affected by postharvest conditions. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20 (12), 3112 – 3123.
- Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K. R., Rush, A. J., Walters, E. E., Wang, P. S.: The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA*, 2003, 289, 3095 – 3105.
- Kliment, J.: Benígna hyperplázia prostaty [Benign prostatic hyperplasia]. *Via Practica*, 2012, 9 (1), 24 – 27.
- Ley, B. M.: Maca: *Adaptogen and Hormonal Regulator*, *Health Learning Handbook*. Detroit: BL Publications, 2003, 47 s.
- Luptáková, L.: *Biológia reprodukčného a postreprodukčného veku žien* [Biology of reproductive and post-reproductive age of women]. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 2014, 70 s.
- Meissner, H. O., Mscisz, A., Kedzia, B., Pisulewski, P., Piatkowska, E.: Peruvian maca: two scientific names *Lepidium Meyenii* Walpers and *Lepidium Peruvianum* Chacon – Are they phytochemically-synonymous? *International Journal of Biomedical Science*, 2015, 11 (1), 1 – 15.
- Meissner, H. O., Mscisz, A., Piatkowska, E., Baraniak, M., Mielcarek, S., Kedzia B., Holderna-Kedzia, E., Pisulewski, P.: Peruvian maca (*Lepidium peruvianum*): (II) phytochemical profiles of four prime maca phenotypes grown in two geographically-distant locations. *International Journal of Biomedical Science*, 2016, 12 (1), 9 – 24.
- Melnikovova, I., Fait, T., Kolarova, M., Fernandez, E. C., Milella, L.: Effect of *Lepidium meyenii* Walp. on semen parameters and serum hormone levels in healthy adult men: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 215, 1 – 6.
- Muhammad, I., Zhao, J., Khan, I. A., Coates, P., Blackman, M. R., Cragg, G., Levine, M., Moss, J., White, J.: Maca (*Lepidium meyenii*). In *Encyclopedia of Dietary Supplement*. 2nd edn. New York: Marcel Dekker, 2010, 522 – 531.
- Núñez, D., Olavegoya, P., Gonzales, G. F., Gonzales-Castaneda, C.: Red Maca (*Lepidium meyenii*), a plant from the Peruvian Highlands, promotes skin wound healing at sea level and at high altitude in adult male mice. *High Altitude Medicine & Biology*, 2017, 18, 372 – 383.

- Peres, N. D. S., Bortoluzzi, L. C. P., Medeiros, L. L., Marques, L. L. M., Formigoni, M., Fuchs, R. H. B., Drovald, A. A., Cardoso, F. A. R.: Medicinal effects of Peruvian Maca (*Lepidium meyenii*): a review. *Food & Function*, 2020, 11, 83 – 92.
- Pino-Figueroa, A., Nguyen, D., Maher T. J.: Neuroprotective effects of *Lepidium meyenii* (Maca). *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 1199, 77 – 85.
- Prete, C. D., Tafuri, S., Ciani, F., Pasolini, M. P., Ciotola, F., Albarella, S., Carotenuto, D., Peretti, V., Cocchia, N.: Influences of dietary supplementation with *Lepidium meyenii* (Maca) on stallion sperm production and on preservation of sperm quality during storage at 5 °C. *Andrology*, 2018, 6, 351 – 361.
- Serretti, A. a Chiesa, A.: Treatment-emergent sexual dysfunction related to antidepressants: a meta-analysis. *Journal of clinical psychopharmacology*, 2009, 29 (3), 259 – 266.
- Stojanovska, L., Law, C., Lai, B., Chung, T., Nelson, K., Day, S., Apostolopoulos, V., Haines, C.: Maca reduces blood pressure and depression, in a pilot study in postmenopausal women. Randomized Controlled Trial. *Climacteric*, 2015, 18 (1), 69 – 78.
- Tafuri, S., Cocchia, N., Carotenuto, D., Vassetti, A., Staropoli, A., Mastellone, V., Peretti, V., Ciotola, F., Albarella, S., Del Prete, C., Palumbo, V., Esposito, L., Vinale, F., Ciani, F.: Chemical analysis of *Lepidium meyenii* (Maca) and its effects on redox status and on reproductive biology in stallions. *Molecules*, 2019, 24 (10), 1 – 12.
- Valentová, K., Buckiová, D., Křen, V., Pěkníková, J., Ulrichová, J., Šimánek, V.: The *in vitro* biological activity of *Lepidium meyenii* extracts. *Cell Biology and Toxicology*, 2006, 22, 91 – 99.
- Vašečková, B.: Sexuálne dysfunkcie pretrvávajúce po liečbe antidepresívami [Sexual dysfunctions persisting after treatment with antidepressants]. *Psychiatria pre prax*, 2015, 16 (2), 56 – 58.
- Vašečková, B. a Hajdúk, M.: Poruchy sexuality u pacientov s depresívnou poruchou liečených antidepresívami [Sexual dysfunction in patients with depressive disorder treated with antidepressants]. *Česká a slovenská psychiatrie*, 2017, 113 (3), 111 – 118.
- Vásquez-Velásquez, C., Gasco, M., Fano-Sizgorich, D., Gonzales, G. F.: Inflammatory pathway employed by Red Maca to treat induced benign prostatic hyperplasia in rats. *Andrologia*, 2020, 52 (3), e13516.
- Wang, S. a Zhu, F.: Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chemistry*, 2019, 288, 422 – 443.
- Wolfe, D.: *Superfoods: The Food and Medicine of the Future*. California: North Atlantic Books, 2009, 352 s.
- World Intellectual Property Organization: *Patents Referring to Lepidium Meyenii* (maca) 2003, 35 p. https://www.wipo.int/meetings/en/doc_details.jsp?doc_id=16240. Accessed September 14, 2020.
- Zhang, J., Tian, Y., Yan, L., Zhang, G., Wang, X., Zeng, Y., Zhang, J., Ma, Z., Tan, Y., Long, N., Wang, Y., Ma, Y., He, Y., Xue, Y., Hao, S., Yang, S., Wang, W., Zhang, L., Dong, Y., Chen, W., Sheng, J.: Genome of plant maca (*Lepidium meyenii*) illuminates genomic basis for high-altitude adaptation in the Central Andes. *Molecular Plant*, 2016, 9 (7), 1066 – 1077.



LIEKOVÉ INTERAKCIE ANALGETÍK V LEKÁRENSKEJ PRAXI

INTERACTIONS OF ANALGETICS IN PHARMACEUTICAL PRACTICE

Peštová, Livia; Piešová, Elena

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

elena.piesova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Liekové interakcie sa podľa vyvolávajúceho mechanizmu delia na farmakokinetické a farmakodynamické.

Farmakodynamické interakcie vyplývajú z účinkov liečiv. Farmakokinetické interakcie vznikajú na úrovni absorpcie, distribúcie, metabolizmu a exkrécie.

Cieľom štúdie bolo na základe dotazníka predloženého respondentom získať informácie týkajúce sa užívania analgetík a ich rôznych kombinácií s inými liečivami. Skupina analgetík je jednou z najrozšírenejších vo vzťahu k liekovým interakciám. Štúdia prezentuje podiel ich preskripcie a následne z vybraných zástupcov aj možné interakcie. Medzi najčastejšie uvádzané patrili kombinácie analgetík s antihypertenzívmi a antikoagulanciami.

Z našich výsledkov vyplýva, že analgetiká užívajú častejšie ženy (79,57 %) ako muži (41,67 %). Z celkového počtu opýtaných (117) malo záujem o kontakt a konzultácie len 19,66 % pacientov. Spomedzi užívaných analgetík mali najväčšie zastúpenie paracetamol (40,47 %), ibuprofén (26,19 %), metamizol (10,71 %), diklofenak (10,71 %) a kyselina acetylsalicylová (3,57 %).

Kľúčové slová: analgetiká; liekové interakcie analgetík; rady lekárnika

ABSTRACT

Drug interactions are divided into pharmacokinetic and pharmacodynamical according to the causing mechanism.

The aim of the study was to obtain information

on the use of analgetics and their various combinations with other drugs based on the submitted questionnaire. The group of analgetics is one of the most widespread in relation to drug interactions. The study presents the share of their prescription and subsequently, from selected representatives, also possible interactions. Combinations of analgetics with antihypertensives and anticoagulants were among the most frequently reported.

The survey showed more frequent use of analgetics by women (79.57 %) than by men (41.67 %). From these, who occurred in the survey, only 19.66 % were interested in contact and consultation. Paracetamol (40.47 %), ibuprofen (26.19 %), metamizole (10.71 %), diclofenac (10.71 %) and acetylsalicylic acid (3.57 %) were the most often used in pain relief.

Key words: advices of pharmacist; analgesics; drug-drug interactions of analgesics

ÚVOD

S pocitom bolesti, rôznej intenzity a dĺžky trvania, sa trápia ľudia už od nepamäti. Od akútnej krátkodobej bolesti až po dlhodobú chronickú bolesť sa stretávame denno-denne u pacientov kupujúcich analgetiká. Lekár je často pri liečbe bolesti miestom prvého kontaktu medzi pacientom a zdravotníkom. Najväčší záujem je o lieky obsahujúce paracetamol. V roku 2019 sa na Slovensku vyexpedovalo pacientom viac ako 2 256 000 balení 24-tabletového Paralenu® (www.nczisk.sk), čo súvisí hlavne so zimným obdobím, s veľkým výskytom chrípok, prechladnutí a teplôt. Ďalším častým dôvodom pre kúpu analgetika je bolesť hlavy, zubov, chrbta, kĺbov či rôzne povrchové poranenia.

Vedomosti o interakcii liekov a prevencia ich nežiaducich účinkov nadobúda stále väčší význam kvôli využívaniu rôznych kombinácií liekov pri liečbe ochorení. Zaoberať sa touto témou z hľadiska

liekových interakcií má preto veľký význam, čo potvrdili už v roku 1999 Singh a Triadafilopoulos, ktorí uvádzajú, že nesteroidné antiflogistiká (NSAIDs) užíva denne viac ako 30 miliónov ľudí.

MATERIÁL A METÓDY

Na zhodnotenie a zistenie liekových interakcií sme uskutočnili prieskum pomocou dotazníka na sociálnych sieťach a v osobnom lekárenskom styku.

Za veľmi dôležité pri vyhodnotení výsledkov z poskytnutého dotazníka sme považovali správne a zodpovedné zhodnotenie získaných údajov od respondentov týkajúcich sa pravidelne alebo aj nepravidelne užívaných analgetík a ich kombinácií s inými liečivami.

Súčasťou prieskumu bola aj otázka ohľadom využívania aplikácie „Interakcie liekov“, ktorá bola vytvorená Slovenskou lekárnickou komorou v roku 2017. Cieľom tejto aplikácie je oboznámiť širokú verejnosť o možných liekových interakciách a tiež vyzdvihnúť úlohu farmaceuta ako hlavného konzultanta v oblasti liekov a liekových interakcií. Ďalším cieľom tejto aplikácie je získať celoslovenský prehľad o najčastejších rizikových preskripciách.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Všeobecné zhodnotenie prieskumu

Prieskumu sa zúčastnilo 117 pacientov, z toho bolo 24 mužov a 93 žien. Najmladší pacient mal 18 rokov, najstarší 64 rokov. Ich vekový priemer bol 34,3 roka. Osemdesiatštyri pacientov uviedlo, že analgetiká užíva.

Pri najčastejšej odpovedi na otázku nepravidelne užívaných liekov až 29,06 % respondentov uviedlo Paralen®/Panadol® (viď tab. 1); 18,18 % respondentov uviedlo lieky s účinnou látkou ibuprofén – Ibalgin®, Mig 400® a Nurofen® a tretími najčastejšie užívanými liečivami boli metamizol – Novalgin® a Algifen® v 7,69 % a diklofenak – Voltaren® a Veral® tiež v 7,69 %.

Z celkového počtu respondentov 41,67 % mužov

**Tab. 1: Najčastejšie užívané analgetické liečivá
(n = 117)**

Názov účinnej látky	Počet pacientov
Paracetamol	34
Ibuprofén	22
Metamizol	9
Diklofenak	9
Kys. acetylsalicylová	3
Naproxén	3
Nimesulid	2
Paracetamol/Tramadol	1
Propyfenazón/Paracetamol	1
Neuvedené	33

**Tab. 2: Získavanie informácií o liekových
interakciách**

Možnosť	Počet pacientov
Nehľadám takéto informácie	42
Z príbalového letáka (PIL)	38
Od lekárnik	16
Na internete	10
Od lekára	8
Od rodiny priateľov a známych	3
Z kníh	0

Tab. 3: Tvrdenia zahŕňajúce liekové interakcie a postoj pacientov k nim

	súhlasím	skôr súhlasím	neviem	skôr nesúhlasím	nesúhlasím
Som spokojný/á s výberom analgetika, ktoré mi lekárnik ponúkol, ak som ho potreboval/a pre seba, rodinu alebo známych.	55,56 % (65)	23,08 % (27)	15,38 % (18)	5,13 % (6)	0,85 % (1)
Lekárnik ma oboznámil s dispenzačným minimom analgetika (dávkovaním a užívaním lieku).	58,12 % (68)	18,8 % (22)	12,82 % (15)	5,13 % (6)	5,13 % (6)
V prípade, ak som analgetikum potreboval/a pre staršiu osobu, lekárnik zisťoval, či daná osoba neužíva iné lieky (lieky na tlak, na riedenie krvi alebo astmu).	30,77 % (36)	10,26 % (12)	23,93 % (28)	4,27 % (5)	30,77 % (36)
Som si vedomý/á, že výber analgetika je dôležitý, lebo sa ovplyvňuje s inými liekmi a môže spôsobiť vážne komplikácie.	66,67 % (78)	19,66 % (23)	4,27 % (5)	5,13 % (6)	4,27 % (5)

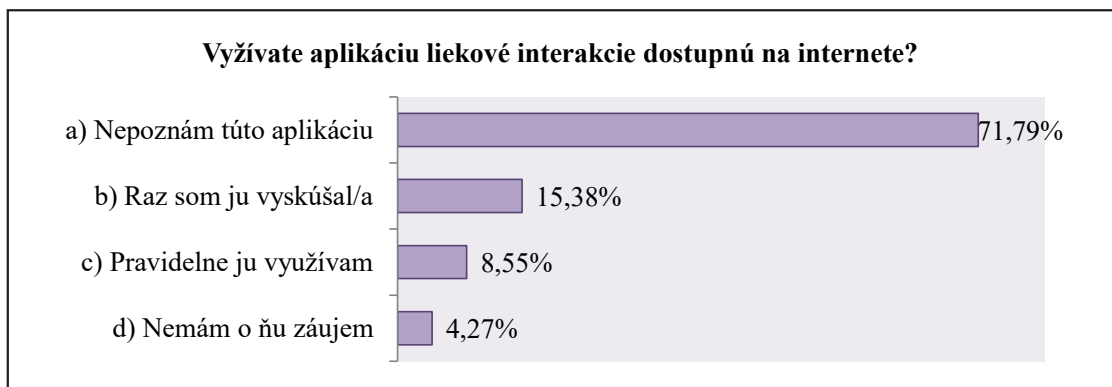
a 79,57 % žien potvrdilo nepravdivé užívanie analgetík, antipyretík alebo NSAIDs v kombinácii s inými liečivami, čo súvisí so vznikom možných interakcií.

V jednej z dotazníkových otázok nás zaujímalo, odkiaľ pacienti čerpajú informácie o liekových

interakciách (viď tab. 2). Najčastejšie; v 32,48 %, sa o liekových interakciách informujú prostredníctvom písomnej informácie pre používateľa lieku, avšak ešte častejšie, v 35,90 %; takéto informácie nevyhľadávajú.

Na štyri dotazníkové otázky sme využili

Graf 1: Využívanie aplikácie „Liekové interakcie“



Zdroj: upravené podľa Köhler a kol., 2015

Likertovú škálu (viď tab. 3), prostredníctvom ktorej pacienti vyjadrili svoj súhlasný, skôr súhlasný, skôr nesúhlasný, nesúhlasný alebo neutrálny postoj – neviem.

Odpoveďami na otázku ohľadom využívania aplikácie vytvorenej Slovenskou lekárnickou komorou sme chceli vedieť, aký význam má uvedenie tejto aplikácie pre informovanosť pacientov (viď graf 1). Naznačovalo by to vyšší záujem zo strany pacienta ohľadom správneho užívania predpísaných liečiv. Až 76,06 % opýtaných pacientov aplikáciu nepozná a nemá o ňu záujem, čo nás viedlo k záveru snažiť sa aktívne informovať pacientov o tejto možnosti, dať im ju viac do povedomia, aby si tak aj oni sami vedeli ustrážiť následky, ktoré z kombinácií liekov vyplývajú. Do polovice roku 2019 sa do tohto projektu zaregistrovalo 7 866 pacientov a počet identifikovaných interakcií bol 7 412.

Záujem o osobný kontakt a konzultácie malo 23 pacientov, čo zodpovedá 19,66 %.

Interakcie liekov v lekárenskej praxi

Interakcie paracetamolu

Pacienti, ktorí uviedli paracetamol ako najčastejšie nepravidelne užívané liečivo spolu s jeho dávkovacou schémou, boli upozornení na maximálnu dennú

dávku, t. j. od 50 kg živej hmotnosti, celkom 4 g (spolu 8 tabliet) v časových rozostupoch 4 – 6 hodín po 500 – 1000 mg, teda maximálne 75 mg/kg/24 hodín (Leader a kol., 2017).

U starších pacientov požadujúcich analgetiká (ibuprofén, naproxén, metamizol, indometacín) sme zisťovali, či neužívajú súčasne s nimi aj antikoagulanciá, a viacerí z nich odpovedali kladne. V takomto prípade sme odporúčali ako liek prvej voľby paracetamol, ktorý nepôsobí antiagregačne tak ako NSAIDs.

Pacienti mužského pohlavia sa pri kúpe liekov, ktorých výdaj nie je viazaný na lekársky predpis, často informovali o možnosti súčasného užívania alkoholu. Prescott (2000) sa vo svojej štúdii zaoberá touto kombináciou, pri ktorej sa zvyšuje tvorba toxického metabolitu N-acetyl-p-benzochinonimínu (NAPBQI) z paracetamolu, ktorý oxidáciou poškodzuje pečenné bunky, čím sa zvyšuje hepatotoxicita, a preto takéto súčasné užívanie nie je vhodné. Tvorba toxického metabolitu NAPBQI závisí aj od množstva glutatiónu v pečeni, ktorý tento metabolit detoxikuje.

Pacientkam, ktoré užívajú antikoncepcné prípravky obsahujúce etinylestradiol, sme pri záujme o kúpu analgetík odporúčali, aby sa vyhýbali užívaniu paracetamolu, nakoľko tento môže zvýšiť

plazmatické koncentrácie etinylestradiolu inhibíciou sulfatácie (Aronson, 2016).

Interakcie salicylátov

Z liečiv zabraňujúcich zrážaniu krvi desiatí pacienti spomenuli užívanie kyseliny acetylsalicylovej (ASA) v dennej dávke 100 mg. Liekové interakcie ASA boli potvrdené v kombinácii s ibuprofénom a indometacínom (Catella-Lawson a kol., 2001). Napriek tomu, že ASA sa ireverzibilne viaže na serín cyklooxygenázu-1 (COX-1), kombináciou s reverzibilným ibuprofénom dochádza ku kompetícii a následnému zníženiu schopnosti inhibície agregácie krvných doštičiek. Podobne to vyzerá aj pri kombinácii s indometacínom, ako uvádza vo svojej štúdii Catella-Lawson a kol. (2001). Ibuprofén aj indometacín tak mnohonásobne zvyšujú riziko trombózy a infarktu myokardu. Diklofenak v kombinácii s ASA nevykazuje vplyv na agregáciu trombocytov (Catella-Lawson a kol., 2001).

Pri dlhodobom užívaní 100 mg ASA denne sa neodporúča užívať na liečbu bolesti ibuprofén alebo naproxén (Schneider a kol., 2018). Interakciu ASA s naproxénom potvrdili aj Capone a kol. (2005). Pri užívaní naproxénu dve hodiny pred alebo po ASA sa neprejavila inhibícia tromboxánu a agregácia krvných doštičiek (Capone a kol., 2004).

Z desiatich pacientov užívajúcich ASA ako antiagregans, štyria užívali nepravidelne metamizol. Zo štúdie Achillesa a kol. (2017) ale vyplýva zvýšené nebezpečenstvo tejto kombinácie oproti užívaniu samotnej ASA. Kombinácia metamizolu a ASA nie je vhodná pre zvýšené riziko úmrtnosti, infarktu myokardu a cievnej mozgovej mŕtvice.

Interakcie NSAIDs s antihyperzentívami

Starší pacienti sú pri chronických ochoreniach najčastejšie dlhodobo liečení antihypertenzívami, čo potvrdili aj výsledky prieskumu. Najvýznamnejší nárast krvného tlaku (TK) sa zaznamenal v kombinácii ibuprofenu s inhibítormi angiotenzín konvertujúceho enzýmu (ACEI), blokátormi angiotenzínového receptora II a priamymi inhibítormi renínu.

Mechanizmus zvyšovania TK spočíva v inhibícii renálnych prostaglandínov a zvýšenej retencii tekutín spôsobenej analgetikami, napr. NSAIDs. Užívanie NSAIDs s blokátorom vápnikového kanála (BVK), napr. amlodipínu, β -blokátormi alebo slučkovými diuretikami nevykazuje významný nárast TK. Hydrochlorotiazid zo skupiny tiazidových diuretík v kombinácii s ibuprofénom spôsobuje zvýšenie systolického TK o 4,7 mmHg v stojí a zvýšenú retenciu sodíka a vody (Palmer, 2003; Moore, Pollack a Butkerait, 2015). Paterson a kol. (2011) referujú o tom, že kombinácia slučkového diuretika furosemidu s ibuprofénom alebo diklofenakom znižuje klírens furosemidu a zvyšuje vylučovanie sodíka močom, avšak vplyv na TK nebol pozorovaný.

Pacienti, ktorí neuviedli užívanie NSAIDs, ale dlhšiu dobu podstupujú antihypertenzívnu liečbu, boli v rámci možností informovaní o možných následkoch pri užívaní analgetík. Varovali sme ich hlavne pred dlhodobým užívaním tejto kombinácie a odporúčali sme v prípade potreby uprednostniť paracetamol, dodržiavať maximálnu jednotlivú a dennú dávku a v prípade nedostatočného analgetického účinku navštíviť lekára alebo lekárnika.

Desiatí pacienti uviedli užívanie antihypertenzív (aj hydrochlorotiazidu) s diklofenakom, ibuprofénom a nimesulidom (viď tab. 4). V jednom prípade bol pacient užívajúci spironolaktón upozornený na jeho nežiaduci účinok, a to na možnosť vzniku gastrointestinálneho krvácania, čo v kombinácii s NSAIDs môže pôsobiť aditívne (Masclee a kol., 2014). Pacient spätne reagoval a informoval nás, že užíva iba metamizol.

Interakcie NSAIDs s antidepressívami

Kombinácie jednotlivých liečiv zo skupiny NSAIDs alebo paracetamolu s antidepressívami zo skupiny inhibítorov spätného vychytávania serotonínu (SSRI) v štúdii Köhlera a kol. (2015) s viac ako 123 000 pacientmi boli hodnotené z troch hľadísk: miery vyhľadávania psychiatra pacientom, depresie a mortality.

Výsledky miery vyhľadávania psychiatra pacientom a depresie sú súbežné a stúpajú v poradí,

Tab. 4: Kombinácie NSAIDs a antihypertenzív u pacientov

	Analgetikum zo skupiny NSAIDs	Kombinácia s:
P1	Diklofenak	Betahistín Bisoprolol Domperidón Lizinopril/Hydrochlorotiazid Moxonidín
P2	Diklofenak	Betaxolol Kyselina acetylsalicylová 100 mg Trandolapril
P3	Diklofenak	Bisoprolol Domperidón Ramipril/Amlodipín
P4	Diklofenak	Amlodipín Atorvastatín Betaxolol Edoxaban Kyselina tioktová Losartan/Hydrochlorotiazid Metformín Tamsulosín
P5	Diklofenak	Atorvastatín Betaxolol Kyselina acetylsalicylová 100 mg
P6	Ibuprofén	Bisoprolol L-Thyroxín Perindopril
P7	Ibuprofén	Ramipril
P8	Ibuprofén	Bisoprolol L-Thyroxín
P9	Ibuprofén	Bisoprolol
P10	Nimesulid	Atorvastatín Levodopa/Karbidopa/Entakapón Pramipexol Telmisartan/Hydrochlorotiazid

P – pacient

ako je uvedené v grafe 2.

Autori práce upozorňujú na odlišný dôsledok kombinácií liečiv na mortalitu, ktorá je najvyššia v kombinácii SSRI a paracetamolu (viď graf 3).

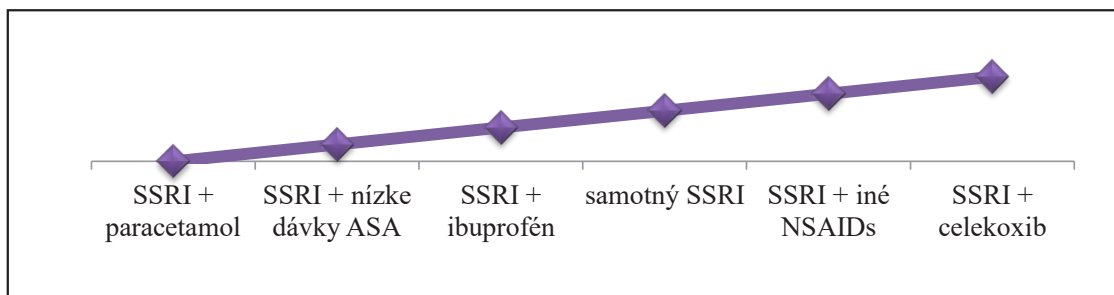
Interakcie NSAIDs s potravinami a liekmi, ktorých výdaj nie je viazaný na lekárske predpis

Počas lekárenskej praxe sme sledovali výber voľnopredaných liekov pacientmi a nimi využívané

kombinácie. Aj keď v niektorých prípadoch sa mohli javiť ako bezpečné, každú koadministráciu sme si následne dobre preverili a prípadným ďalším interakciám sme sa snažili vyhýbať, resp. sme navrhli vhodnejšie alternatívy.

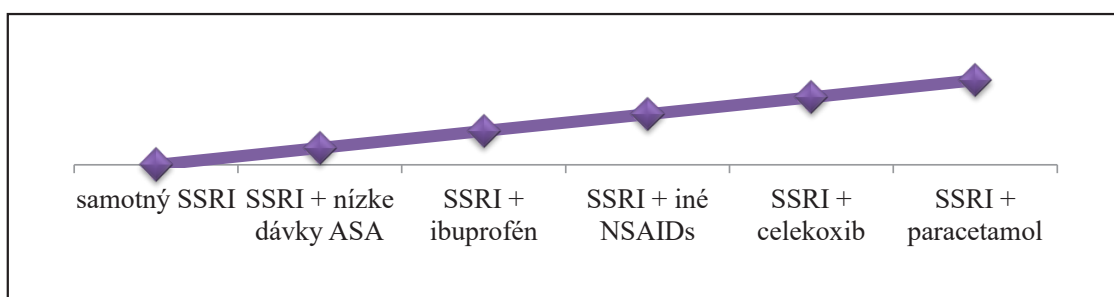
Interakcie NSAIDs s potravou môžu byť farmakodynamického aj farmakokinetického charakteru na úrovni absorpcie, metabolizmu, či exkrécie.

Graf 2: Dopad súbežného užívania SSRI a analgetík na mieru vyhľadávania psychiatra pacientom a depresiu



Zdroj: upravené podľa Köhler a kol., 2015

Graf 3: Dopad súbežného užívania SSRI a analgetík na mortalitu



Zdroj: upravené podľa Köhler a kol., 2015

Potrava má vplyv na oneskorenie vyprázdňovania žalúdka, zvyšuje pH v tenkom čreve a prietok krvi v pečeni.

Zapíjanie liekov s obsahom ibuprofenu coca-colou vedie k ich zvýšenej biodostupnosti. Taktiež užívanie iných NSAIDs s nápojmi obsahujúcimi kofeín poskytuje rýchlejší nástup účľavy pre pacientov (Kafle a kol., 2018). Z tohto dôvodu sa na trhu vyskytujú prípravky s obsahom kofeínu, čo v praxi umožňuje znížiť dávku NSAIDs.

Antiagregačná aktivita efedrínových alkaloidov môže viesť k následným cerebrálnym hemorágiám (Watson a kol., 2010). Ich užívanie spolu s NSAIDs môže viesť k zvýšeniu TK a žalúdočným krvácaniam (Scarim a kol., 2017).

Zelený čaj je silným antioxidantom a prezentuje sa aj svojou protizápalovou, antikancerogénnou, antidiabetickou, protivírusovou a antibakteriálnou aktivitou. Užívanie zeleného čaju s NSAIDs je

limitované v dôsledku možnosti vzniku gastrických ulcerácií a iných kardiovaskulárnych nežiaducich účľnkov a dlhodobé užívanie takejto kombinácie môže viesť k hepatotoxicite (Scarim a kol., 2017).

Súčasnú užívanie NSAIDs a ginkga sa tiež neodporúča pre inhibíciu syntézy tromboxánu A2 (Scarim a kol., 2017). Zvýšené riziko krvácania však môže nastať aj v kombinácii s paracetamolom (Mouly a kol., 2017).

Pacientom sme pri intenzívnejších bolestiach odporúčali užívať najmä kombinované prípravky s obsahom kofeínu (napr. Ataralgin® alebo Valetol®).

Na vyššie uvedené nevhodné kombinácie sme pacientov upozorňovali. Lieky s obsahom pseudofedrínu sme zamenili za jednozložkové a namiesto zeleného čaju sme odporúčali vhodnejšie výživové doplnky. V prípade, že prvou voľbou pacientov na zlepšenie pamäte bolo ginkgo, informovali sme sa ohľadom ich zdravotného sta-

vu. Veľakrát sme však prípravky s obsahom ginkga pre jeho antiagregačnú aktivitu a riziko krvácania u pacientov užívajúcich antiagreganciá neodporúčali a zvolili sme omega 3 masné kyseliny ako bezpečnejšiu voľbu.

Okrem vyššie uvedených rastlín sa na interakciách s analgetikami zúčastňujú aj echinacea a vŕba, ktoré sme neodporúčali kombinovať s paracetamolom kvôli zvýšenej hepatotoxicite a nefrotoxicite (Mouly a kol., 2017).

Užívanie ASA spolu s vitamínom E zvyšuje jej antiagregačný efekt (Mouly a kol., 2017), a následne aj vznik nežiaducich účinkov, ako je krvácanie do gastrointestinálneho traktu (Gussak a kol., 2018).

Výsledok kombinácie analgetík a antipyretík s nutrientmi však nemusí byť stále pozitívny. NSAIDs znižujú v organizme dostupnosť železa a kyseliny listovej, salicyláty aj sodíka, draslíka a vitamínu C (Karadima a kol., 2016). Pacientom sme odporúčali pri užívaní niektorej z uvedených možných interakcií dostatočný časový odstup, všeobecne aspoň dve hodiny.

Guajfenezín sa používa ako expektorans, ktorý má sedatívne a relaxačné účinky na svalstvo, avšak sám analgetický účinok nevykazuje.

Naopak, užívanie guajfenezínu spolu s paracetamolom sa prejavuje zvýšenou analgetickou účinnosťou. Platí to aj v kombinácii s ibuprofénom, nimesulidom a celecoxibom, pravdepodobne kvôli guajfenezínom podporenej absorpcii (Sliva a kol., 2009; Doležal a Kršiak, 2002). Na základe informácií o kombinácii analgetík s inými druhmi liečiv môžeme konštatovať, že dávku analgetík vieme hlavne u rizikových pacientov znížiť, čím sa vyvarujeme možným nežiaducim účinkom.

Fenylefrín je selektívnym agonistom α_1 -adrenoreceptorov. Používa sa ako nosová instilácia a perorálne vo forme tabliet a granulátov. Okrem faktu, že už samotný fenylefrín môže v dávke od 15 mg vyvolať zvýšenie TK a zníženie frekvencie srdca, je jeho kombinácia s paracetamolom o to rizikovejšia. Pri dvojkombinácii týchto liečiv dochádza k zvýšeniu biologickej dostupnosti fenylefrínu v

dôsledku saturácie sulfatačných ciest paracetamolom a tým k redukcii first pass efektu fenylefrínu. Toto nasýtenie dokazujú aj stúpajúce dávky paracetamolu, ktoré lineárne zvyšujú jeho biodostupnosť až o dvojnásobok. Ibuprofén však nemá vplyv na metabolizáciu a biologickú dostupnosť fenylefrínu (Atkinson a kol., 2014).

Za bezpečné sa považuje užívanie samotného fenylefrínu v dávke 10 mg. Atkinson a kol. (2014) konštatujú, že dávka 5 mg fenylefrínu s 1000 mg paracetamolu je dostačujúca a nemala by sa už ďalej zvyšovať.

Pacienti často siahajú po prípravkoch, hlavne po tzv. horúcich nápojoch, kde ich láka zahriatie organizmu a často majú mylné predstavy o rýchlom nadobudnutí zdravia a sily. Väčšina z nich nepozná zloženie týchto prípravkov, čím sa vystavujú riziku predávkovania a zvýšeného výskytu nežiaducich účinkov. V takýchto prípadoch sme pacientov upozorňovali na možnosť zvyšovania TK, a to hlavne u ľudí, ktorí už s ním majú problém a odporúčali sme vhodnejšie alternatívy. Pri lokálnych dekongestívach (napr. oxymetazolín, xylometazolín, fenylefrín) je tiež známy výskyt nežiaducich účinkov ako tachykardia, búšenie srdca a lieková rinitída, ktorá súvisí s nadmerným užívaním lokálnych dekongestív (Cox a Wise, 2018).

ZÁVER

Touto prácou sme zhrnuli poznatky a výsledky mnohých štúdií zameraných na liečbu bolesti, a to od mechanizmov ich účinku, cez nežiaduce účinky, až po pre nás najviac zaujímavé liekové interakcie analgetík s inými súčasne užívanými liečivami.

Aktuálna ponuka analgetík umožňuje flexibilne nastaviť terapiu podľa potrieb pacienta. Na samoliečbu je najbezpečnejší paracetamol v dostatočnej dávke. Užívanie NSAIDs má však určité obmedzenia zahŕňajúce nežiaduce účinky a liekové interakcie. Výber analgetika hlavne z hľadiska dlhodobého užívania je preto vhodné konzultovať s lekárom alebo lekárnikom.

Zamerali sme sa na samotného pacienta ako na najdôležitejšiu jednotku tohto procesu a individuálne sme sa snažili usmerniť ho pri výbere lieku. V konečnom dôsledku sme tieto poznatky vedeli zhodnotiť v širšom meradle, čím sme získali prehľad o najčastejšie užívaných analgetikách a ich správne, resp. nesprávne používaných kombináciách.

Správny liekový režim je nevyhnutný pre zdravie pacienta, preto je dôležitá spolupráca zo strany pacienta a tiež poskytovateľa zdravotníckej starostlivosti.

ZOZNAM LITERATÚRY

- Achilles, A. Mohring, A., Dannenberg, L., Piayda, K., Levkau, B., Hohlfeld, T., Zeus, T., Kelm, M., Polzin, A.: Analgesic medication with dipyron in patients with coronary artery disease: Relation to MACCE. *International Journal of Cardiology*, 2017, 236, 76 – 81.
- Aronson, J. K.: Paracetamol (acetaminophen) and combinations. *Meyler's Side Effects of Drugs: The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions*. 16th edn. Netherlands, Amsterdam: Elsevier Science, 2016, 474 – 493.
- Atkinson, H. C., Stanescu, I., Salem, I. I., Potts, A. I., Anderson, B. J.: Increased bioavailability of phenylephrine by co-administration of acetaminophen: results of four open-label, crossover pharmacokinetic trials in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2014, 71, 151 – 158.
- Capone, M. L., Tacconelli, S., Sciulli, M. G., Grana, M., Ricciotti, E., Minuz, P., Di Gregorio, P., Merciaro, G., Patrono, C., Patrignani, P.: Clinical pharmacology of platelet, monocyte, and vascular cyclooxygenase inhibition by Naproxen and low-dose Aspirin in healthy subjects. *Circulation*, 2004, 109 (12), 1468 – 1471.
- Capone, M. L., Tacconelli, S., Sciulli, M. G., Grana, M., Ricciotti, E., Minuz, P., Di Gregorio, P., Merciaro, G., Patrono, C., Patrignani, P.: Pharmacodynamic interaction of naproxen with low-dose aspirin in healthy subjects. *Journal of the American College of Cardiology*, 2005, 45 (8), 1295 – 1301.
- Catella-Lawson, F., Reilly, M. P., Kapoor, S. C., Cucchiara, A. J., DeMarco, S., Tournier, B., Vyas, S. N., FitzGerald, G. A.: Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of Aspirin. *New England Journal of Medicine*, 2001, 345 (25), 1809 – 1817.
- Cox, D. R. a Wise, S. K.: Medical treatment of nasal airway obstruction. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 2018, 51 (5), 897 – 908.
- Doležal, T. a Kršiak, M.: Guaifenesin enhances the analgesic potency of paracetamol in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2002, 366 (6), 551 – 554.
- Gussak, I. B., Kostis, J. B., Akin, I., Borggrefe, M., Giovanni, C., Arshad, J., Kostis, W. J., Gan-Xin, Y.: *Iatrogenicity: causes and consequences of iatrogenesis in cardiovascular medicine*. New Brunswick, New Jersey: Rutgers University Press Medicine, 2018. p. 448.
- Kafle, A., Mohapatra, S. S., Sarma, J., Reddy, I.: Food-drug interaction: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 2018, 7 (1), 114 – 118.
- Karadima, V., Kraniotou, CH., Bellos, G., Tsangaris, G. T.: Drug-micronutrient interactions: food for thought and thought for action. *EPMA Journal*, 2016, 7 (1), 1 – 5.
- Köhler, O., Petersen, L., Mors, O., Gasse, CH.: Inflammation and depression: combined use of selective serotonin reuptake inhibitors and NSAIDs or paracetamol and psychiatric outcomes. *Brain and Behavior*, 2015, 5 (8), 1 – 12.
- Leader, R., Hackett, J., Al-Naher, A.: Supra-therapeutic oral paracetamol overdose in adults: An update for the dental team. *Dental Update*, 2017, 44 (5), 409 – 414.
- Masclee, G. M. C., Valkhoff, V. E., Coloma, P. M., de Ridder, M., Romio, S., Schuemie, M. J., Herings, R., Gini, R., Mazzaglia, G., Picelli, G., Scotti, L., Pedersen, L., Kuipers, E. J., van der Lei, J., Sturkenboom, M.: Risk of upper gastrointestinal bleeding from different drug combinations.

Gastroenterology, 2014, 147 (4), 784 – 792.

Moore, N., Pollack, C., Butkerait, P.: Adverse drug reactions and drug–drug interactions with over-the-counter NSAIDs. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2015, 11, 1061 – 1075.

Mouly, S., Lloret-Linares, C., Sellier, P.-O., Sene, D., Bergmann, J.-F.: Is the clinical relevance of drug-food and drug-herb interactions limited to grapefruit juice and Saint-John's Wort?. *Pharmacological Research*, 2017, 118, 82 – 92.

Palmer, R.: Effects of nabumetone, celecoxib, and ibuprofen on blood pressure control in hypertensive patients on angiotensin converting enzyme inhibitors. *American Journal of Hypertension*, 2003, 16 (2), 135 – 139.

Paterson, C. A., Jacobs, D., Rasmussen, S., Youngberg, S. P., McGuinness, N.: Randomized, open-label, 5-way crossover study to evaluate the pharmacokinetic/pharmacodynamic interaction between furosemide and the non-steroidal anti-inflammatory drugs. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2011, 49 (8), 477 – 490.

Prescott, L. F.: Paracetamol, alcohol and liver. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2000, 49, 291 – 301.

Scarim, C. B., de Oliveira Vizioli, E., dos Santos, J. L., Chin, C. M.: NSAIDs and natural products interactions: mechanism and clinical implications. *Journal of Immunology & Clinical Research*, 2017, 4 (2), 1 – 11.

Schneider, J., Kreutz, R., Bolbrinker, J.: Pharmakologie der Nichtopioidanalgetika. *Der Schmerz*, 2018, 32, 1 – 15.

Singh, G. a Triadafilopoulos, G.: Epidemiology of NSAID induced gastrointestinal complications. *The Journal of rheumatology*, 1999, 56, 18 – 24.

Sliva, J., Doležal, T., Sýkora, D., Vosmanská, M., Kršiak, M.: Guaifenesin enhances the analgesic potency of ibuprofen, nimesulide and celecoxib in mice. *Neuroendocrinology Letters*, 2009, 30 (3), 352 – 356.

Watson, R., Woodman, R., Lockette, W.: Ephedra alkaloids inhibit platelet aggregation. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 2010, 21 (3), 266 – 271.

www.nczisk.sk. http://www.nczisk.sk/Statisticke_vystupy/Tematicke_statisticke_vystupy/TOP-50-liekov/Spotreba_humannych_liekov_zdravotnickych_pomocok_dietetickych_potravin_SR/Pages/default.aspx. [cit. 30-6-2020].

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. O zaradení 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 čeľad'. 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.

Použité 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 *Paenicibacillus larvae* and *Paenicibacillus alvei*. In *Proceedings of the International Probiotic Conference: Probiotics for the 3rd Millenium*, 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 kazuistik 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