Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Role transportních mechanismů v materno-fetálním přestupu antiretrovirotik

Habilitační práce

(soubor vědeckých prací doplněný komentářem)

PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.

Hradec Králové 2018

Poděkování

Rád bych na tomto místě poděkoval mnoha lidem, kteří ovlivnili můj život lidsky a profesně do té míry, že mohla vzniknout tato habilitační práce.

V chronologickém pořadí tedy děkuji PharmDr. Antonínovi Librovi, Ph.D., který má asi největší podíl na tom, že jsem se vydal na dráhu farmakologa. Pak prof. PharmDr. Františku Štaudovi, Ph.D. a prof. PharmDr. Petru Pávkovi, Ph.D., že se mě ujali na postgraduálním studiu a uvedli mě do světa molekulární farmakologie. Také jim děkuji, že mě podpořili, když jsem se rozhodl dále nepokračovat na Farmaceutické fakultě UK a chtěl zkusit „něco nového“. Začal jsem se zabývat mikrobiologií, imunologií a genomikou na respektovaném pracovišti Ústavu molekulární patologie Fakulty vojenského zdravotnictví, kde jsem se setkal s řadou obohacujících renesančních osobností typu prof. MUDr. Jiřího Stulíka, CSc., prof. RNDr. Aleše Macely, DrSc. a dalších. Pak bych znovu rád poděkoval prof. PharmDr. Františku Štaudovi, Ph.D., za nabídku vrátit se zpět k farmakologii, když už jsem si to tedy vyzkoušel „někde jinde“. Nelze také zapomenout na doc. PharmDr. Martinu Čečkovou, Ph.D. s kterou už více jak desetiletí vedeme podnětné diskuse o čemkoliv, RNDr. Jakuba Hofmana, Ph.D. a všechny postgraduální studenty, které jsem vedl jako konzultant, konkrétně PharmDr. Zuzanu Ptáčkovou, Ph.D. (rozenou Neumanovou), Mgr. Sáru Karbanovou, Mgr. Lucii Jiráskovou a Mgr. Ondřeje Martince.

Speciální dík patří rodičům a mé manželce Gabriele Červené za vytvořené zázemí a neutuchající podporu. A také děkuji mým dětem Ondrovi, Gabce a Aničce, budoucím farmakologům, ekonomům, stavařům, umělcům a/nebo sportovcům (nebo budou něčím jiným?), bez kterých by mé životní puzzle nedávalo smysl.

Obsah

Poděkování ... 3
Obsah ... 5
Seznam zkratek ... 7
1. Teoretický úvod ... 9
1.1 HIV infekce ... 9
1.2 Struktura HIV a replikační cyklus ... 10
1.3 Farmakoterapie HIV infekce ... 11
1.4 Terapie HIV v těhotenství ... 14
1.5 Struktura lidské placenty ... 15
1.6 Faktory ovlivňující placentární transfer; mechanismy transportu ... 17
1.7 Membránové transportéry ... 18
1.7.1 ABC transportéry ... 20
1.7.2 SLC transportéry ... 22
1.8 Lékové interakce na membránových transportérech ... 25
1.9 Přehled interakcí vybraných antiretrovirotik s membrámovými transportéry ... 26
1.10 Metody studia transplacentárního přestupu ... 27
2. Komentáře k předloženým pracím ... 29
2.1 Práce předkládané v rámci habilitační práce ... 29
3. Stručný souhrn, závěry a perspektivy ... 36
4. Podíl předkladatele na jednotlivých publikacích ... 38
5. Seznam použité literatury ... 40
6. Soubor publikovaných prací ... 49
P1. Staud F, **Cerveny L**, Ceckova M. Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. J Drug Target. 2012;20(9):736-63 ... 45
P2. Ahmadimoghaddam D, Hofman J, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, **Cerveny L**, et al. Synchronized Activity of Organic Cation Transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and Multidrug and Toxin Extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) Transporter in Transplacental Passage of MPP+ in Rat. Toxicol Sci. 2012;128(2):471-81 ... 75
P3. Ahmadimoghaddam D, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, Neumanova Z, **Cerveny L**, et al. Organic Cation Transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and Multidrug and Toxin Extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) Transporter in the Placenta and Fetal Tissues: Expression Profile and Fetus Protective Role at Different Stages of Gestation. Biol Reprod. 2013;88(3):10 ... 89
P4. Staud F, **Cerveny L**, Ahmadimoghaddam D, Ceckova M. Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. Int J Biochem Cell Biol. 2013;45(9):2007-11 ... 101

P5. Neumanova Z, **Cerveny L**, Ceckova M, Staud F. Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. Aids. 2014;28(1):9-17……109

P6. Neumanova Z, **Cerveny L**, Greenwood SL, Ceckova M, Staud F. Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir. Reprod Toxicol. 2015;57:176-82……..121

P7. Ceckova M, Reznicek J, Ptackova Z, **Cerveny L**, Muller F, Kacerovsky M, et al. Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(9):5563-72.....131

P8. **Cerveny L**, Neumanova Z, Karbanova S, Havlova I, Staud F. Long-term administration of tenofovir or emtricitabine to pregnant rats; effect on Abcb1a, Abcb1b and Abcg2 expression in the placenta and in maternal and fetal organs. J Pharm Pharmacol. 2016;68(1):84-92……143

P9. Neumanova Z, **Cerveny L**, Ceckova M, Staud F. Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine. Biopharm Drug Dispos. 2016;37(1):28-38...155

P10. Karbanova S, **Cerveny L**, Ceckova M, Ptackova Z, Jiraskova L, Greenwood S, et al. Role of nucleoside transporters in transplacental pharmacokinetics of nucleoside reverse transcriptase inhibitors zidovudine and emtricitabine. Placenta. 2017;60:86-92……..169

P11. Reznicek J, Ceckova M, **Cerveny L**, Muller F, Staud F. Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. Xenobiotica. 2017;47(1):77-85……..179

P12. Reznicek J, Ceckova M, Ptackova Z, Martinec O, Tupova L, **Cerveny L**, et al. MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(9):11……..191

P13. **Cerveny L**, Ptackova Z, Durisova M, Staud F. Interactions of protease inhibitors atazanavir and ritonavir with ABCB1, ABCG2, and ABCC2 transporters: Effect on transplacental disposition in rats. Reprod Toxicol. 2018;79:57-65……205

P14. Novakova L, Pavlik J, Chrenkova L, Martinec O, **Cerveny L**. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials - Part I: Antivirals against respiratory and herpes viruses. J Pharm Biomed Anal. 2018;147:400-16……..217

P15. Novakova L, Pavlik J, Chrenkova L, Martinec O, **Cerveny L**. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials - Part II: Antivirals against hepatitis and HIV viruses. J Pharm Biomed Anal. 2018;147:378-99……..241

P16. Jiraskova L, **Cerveny L**, Karbanova S, Ptackova Z, Staud F. Expression of Concentrative Nucleoside Transporters (SLC28A) in the Human Placenta: Effects of Gestation Age and Prototype Differentiation-Affecting Agents. Mol Pharm. 2018;15(7):2732-41……261

P17. **Cerveny L**, Ptackova Z, Ceckova M, Karahoda R, Karbanova S, Jiraskova L, et al. Equilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1, SLC29A1) facilitates transfer of the antiretroviral drug abacavir across the placenta. Drug Metab Dispos. 2018; 46: 1817-1826……..273

Seznam zkratek

ABC	ATP-binding cassette
AIDS	syndrom získaného imunodeficitu
BeWo	buněčná linie odvozená od choriokarcinomu placenty
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
cART	kombinovaná antiretrovirová terapie
CD4	cluster of designation 4
CCR5	C-C chemokinový receptor 5
CNTs	koncentrační nukleosidové transportéry
CXCR4	C-X-C chemokinový receptor 4
dATP	deoxyadenosintrifosfát
dCTP	deoxycytidintrifosfát
DNA	deoxyribonukleová kyselina
dGTP	deoxyguanosintrifosfát
dTTP	deoxythymidintrifosfát
ENTs	ekvilibrační nukleosidové transportéry
GP	glykoprotein
HDAC	histondeacetyláza
HIV	virus lidského imunodeficitu
INSTIs	inhibitory integrázy
ITC	Mezinárodní transportérové konsorcium
MATE	„Multidrug and toxin extrusion protein“
MDCK	Madin-Darby canine kidney cells
mRNA	messenger ribonukleová kyselina
NBMPR	nitrobenzylthioinosin
NNRTIs	nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy
NRTIs	nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy
OAT	transportéry pro organické anionty
OATP	polypeptid transportující organické anionty
OCT	transportér pro organické kationty
OCTN	karnitinový transportér
PIs	inhibitory retrovirové aspartylproteázy

PKA	proteinkináza A
RNA	ribonukleová kyselina
SLC	solute carrier transportéry
WHO	Mezinárodní zdravotnická organizace

Poznámka:

P1 až P17 odkazuje na práce, u nichž je předkladatel prvním autorem nebo spoluautorem.

Názvy genů jsou uvedeny kurzívou.

1. Teoretický úvod

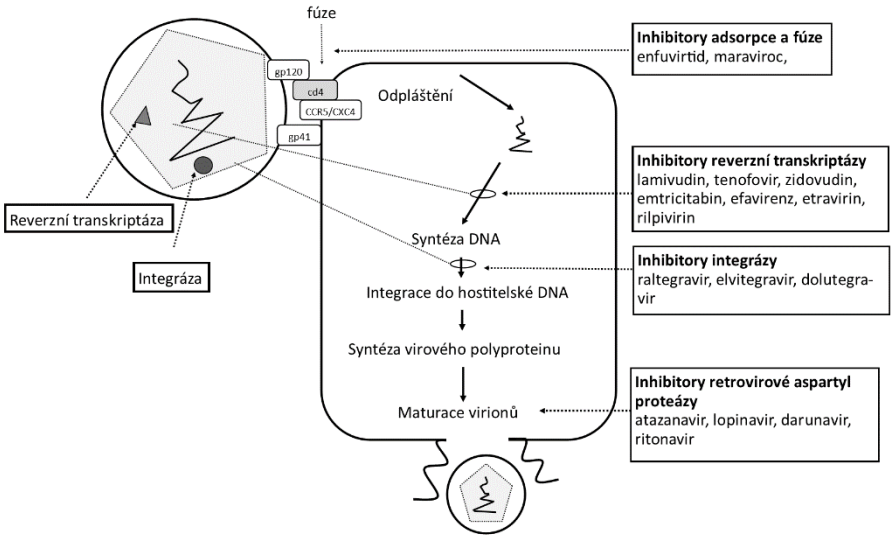
Infekce virem lidského imunodeficitu (HIV) a onemocnění AIDS (syndrom získaného imunodeficitu) je závažným celospolečenským problémem přímo či nepřímo ovlivňujícím životy desítek miliónů lidí. Zhruba před třemi dekádami, několik let po identifikaci etiologického agens AIDS, byla započata éra antiretrovirových léčiv. Ta sice nedokáží HIV vyléčit, nicméně zajistí supresi HIV viru v takové míře, že nedochází k rozvoji AIDS, a tak je pacientům umožněno žít relativně kvalitní život. Jedná se o farmakoterapii účinnou natolik, že ženy v reprodukčním věku mohou plánovat těhotenství a posléze porodit HIV negativní potomky[1]. V průběhu let byly na trh uvedeny více jak dvě desítky antiretrovirových léčiv, která jsou vždy podávána v kombinacích a musí být od zahájení terapie užívána celoživotně[1-3]. Až 10 % pacientů terapii netoleruje[2]. Jednou z příčin nežádoucích účinků antiretrovirové terapie jsou farmakokinetické lékové interakce na membránových transportérech lokalizovaných ve střevě, játrech nebo ledvinách, kde ovlivňují absorpci, respektive exkreci těchto látek[2]. U těhotných žen transportéry v placentě ovlivňují přestup antiretrovirotik z maternální do fetální krve[4] (**P1**). **Znalost interakcí antiretrovirotik s transportéry a popis lékových interakcí je tak důležitým faktorem pro výběr efektivní a bezpečné terapie**.

1.1 HIV infekce

HIV fatálně poškozuje především pomocné CD4+ T-lymfocyty, čímž oslabuje imunitní systém. Mezi symptomy onemocnění patří horečka, bolest svalů, bolest hlavy, oteklé uzliny či orofaryngeální kandidóza. Finální stádium infekce HIV se nazývá AIDS (syndrom získaného imunodeficitu), kdy pacient čelí a posléze podléhá nádorovým nebo oportunním infekčním onemocněním[5]. HIV infekce je dosud nevyléčitelným onemocněním, které vede bez farmakoterapeutického zásahu k předčasnému úmrtí pacienta. Dosud na následky HIV infekce zemřelo celosvětově více jak 35 miliónů lidí (0,9 miliónu v roce 2017) a i přes obrovské úsilí světových i lokálních organizací se nedaří šíření epidemie infekce HIV dostatečně kontrolovat. Dle informací Mezinárodní zdravotnické organizace (**WHO)** žilo v roce **2017** na celém světě **36,9 miliónu lidí infikovaných HIV**, přičemž oproti roku 2016 byl pozorován **nárůst o cca 0,9 milionů infikovaných**. WHO dále odhaduje, že **51 % nakažených tvoří ženy**, přičemž v roce **2014** na světě žilo **17,4 miliónu HIV pozitivních žen v reprodukčním věku**. Odhadem 1,5 milionu těchto žen každý rok otěhotní a přivede na svět dítě, které by **bez lékařské intervence ve formě farmakoterapie** a dalších opatření mělo až 45% pravděpodobnost, že se od své matky tímto virem nakazí[1]. K nákaze plodu může dojít během celého těhotenství[6-8]. Dalším kritickým obdobím s velkou pravděpodobností nákazy je porod a kojení[9]. **Progrese onemocnění u dětí infikovaných perinatálně je rychlejší, a proto polovina těchto dětí umírá již v průběhu prvních dvou let života[10-13].**

1.2 Struktura HIV a replikační cyklus

HIV má unikátní strukturu. Na jeho povrchu je obal, kde se nachází dva důležité glykoproteiny (gp120 a gp41) nutné pro **jeho penetraci do hostitelské buňky. Glykoprotein gp120 zajišťuje adsorpci HIV** vazbou na povrchovou molekulu CD4 společně s C-C chemokinovým receptorem **(CCR5)** nebo C-X-C chemokinovým receptorem 4 **(CXCR4),** zatímco **gp41** kontroluje **fúzi** HIV s buněčnou membránou (obr. 1). Ve své kapsidě HIV obsahuje dvě jednořetězcové molekuly RNA a specifické enzymy nutné pro tvorbu virionů (**reverzní transkriptázu**, **integrázu** a prekurzor **retrovirové aspartylproteázy).** Reverzní transkriptáza umožňuje přepis virové RNA do DNA a dvojvlákno DNA je posléze implementováno do genomu hostitelské buňky pomocí integrázy. Tím je zahájena syntéza nové virové RNA a virových proteinů. Retrovirová aspartylproteáza na konci replikačního cyklu štěpí vzniklý polypeptid na jednotlivé funkční proteiny, a tak zajišťuje maturaci viru (obr. 1).



Obr 1. *Replikace viru HIV.* HIV virus obsahuje ve svém obalu adsorpční glykoprotein gp120 interagující s povrchovou molekulou CD4 a C-C chemokinovým receptorem (CCR5)/C-X-C chemokinovým receptorem 4 (CXCR4) pomocných T-lymfocytů a dále glykoprotein gp41 nutný pro fúzi HIV s hostitelskou buňkou. Po odpláštění viru dochází k přepisu dvou molekul RNA do virové DNA pomocí enzymu reverzní transkriptáza a její integraci do genomu hostitelské buňky zprostředkované integrázou. Pro maturaci viru je pak zásadní štěpení vzniklého polyproteinu retrovirovou aspartylproteázou. V obrázku jsou uvedena místa účinku v současnosti dostupných antiretrovirotik (detailněji je rozebráno v kapitole 1.3). Převzato a upraveno[14] (**P14**).

Známy jsou dva subtypy HIV, a to HIV-1 a HIV-2. HIV-2 je méně patogenní a jeho výskyt je omezen jen na území západní Afriky. Díky globalizaci ale dochází k šíření HIV-2 i do dalších regionů[15]. HIV je v průběhu infekce vysoce **náchylný k mutacím** vedoucím k významné **genetické variabilitě.** Ta je příčinou dosud selhávajících snah o přípravu bezpečné a účinné vakcíny[16] a také je důvodem častého vzniku **rezistence viru** vůči antiretrovirové terapii[17].

1.3 Farmakoterapie HIV infekce

Významným mezníkem v potlačování epidemie HIV infekce bylo **objevení zidovudinu**, nukleosidového inhibitoru reverzní transkriptázy (**NRTI**), v druhé polovině osmdesátých let 20. století. Zidovudin se stal odrazovým můstkem k dalšímu výzkumu a rozvoji této skupiny antiretrovirotik[18]. V průběhu devadesátých let pak byla testována a posléze na trh zavedena antiretrovirotika s odlišným mechanismem účinku[14,19]. Konkrétně se jednalo o nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (**NNRTIs**), inhibitory retrovirové aspartylproteázy (**PIs**), inhibitory integrázy (**INSTIs**) a inhibitory vstupu HIV do buněk, mezi které patří inhibitory C-C chemokinového receptoru 5 (CCR5) a inhibitory fúze HIV s buněčnou membránou (tabulka 1). Aby byla zajištěna maximální efektivita farmakoterapie a minimalizovalo se riziko vzniku rezistence, antiretrovirová léčiva jsou podávána vždy ve formě **kombinované antiretrovirové terapie** (**cART)** složené z minimálně tří léčiv z alespoň dvou různých skupin[2] zasahujících do odlišných fází replikace viru[18,19]. Současná nabídka antiretrovirotik (v roce 2018 je schválených 25 léčiv) umožnuje jistou formu **personalizace terapie** volenou na základě znalosti **rezistence HIV**, **komorbidit**, **lékových interakcí** a **snášenlivosti terapie pacientem**[20,21]. I přes obrovský pokrok ve farmakoterapii je HIV infekce stále nevyléčitelné onemocnění. Nicméně díky cART je dnes **HIV považováno za onemocnění chronické.** Pacienti tak mohou žít relativně plnohodnotný život[22]. Léčba HIV infekce je na základě aktuálních doporučení zahajována ihned, bez ohledu na stádium nemoci a počet CD4+ lymfocytů v plasmě, a **je pak podávána do konce života pacienta**[2]. Důvodem okamžité iniciace léčby je lepší odpověď pacienta na léčbu a prevence rizika přenosu HIV[1-3,23]. **Doporučení pro časování a volbu farmakoterapie** u jednotlivých skupin pacientů s HIV (dospělí, adolescenti, těhotné ženy či děti) **se v závislosti na důkazech z klinických studií** zhruba každý rok **aktualizují**. V současnosti cART první volby zahrnuje **dvojici NRTIs** (tenofovir disoproxil fumarát nebo tenofovir alafenamid/emtricitabin nebo lamivudin/abakavir) v kombinaci s **INSTIs** (dolutegravir, elvitegravir, nebo raltegravir)[2]. INSTIs jsou preferovány před PIs pro svůj vyšší supresivní účinek, nízké riziko rozvoje rezistence HIV a lepší snášenlivost[24].

Míra výskytu nežádoucích účinků byla zejména v počátcích zavádění cART do klinické praxe velmi vysoká a byla často **důvodem non-adherence pacientů až přerušení terapie**[25]. Nežádoucí účinky u současných antiretrovirových režimů jsou již mírnější. Přesto až **10 % pacientů** léčbu **netoleruje.** Tito pacienti představují rizikovou skupinu, u které může dojít k **selhání léčby**[2]. Mezi akutní nežádoucí projevy antiretrovirové terapie patří únava, závrať, nauzea, insomnie, bolest hlavy apod. Cílem kliniků je nejen **minimalizace** těchto akutních nežádoucích účinků**, ale i dlouhodobých rizik,** jako je kostní a renální toxicita, dyslipidémie, inzulinová rezistence, rozvoj kardiovaskulárních onemocnění[2,3]. Mezi známé predisponující faktory nežádoucích účinků cART patří **i) podávání léčiv s obdobnou toxicitou, ii) komorbidity, iii) farmakokinetické lékové interakce a/nebo iv) genetická predispozice**[26-34]. **U žen**

je zásadním faktorem ve volbě vhodné antiretrovirové terapie fakt, zda plánují těhotenství či jsou již těhotné[1,3]. Dlouhodobá rizika užívání antiretrovirotik jsou uvedena v tabulce 2.

Tabulka 1 Klinicky využívaná antiretrovirotika (aktuální k září 2018)

Antiretrovirová skupina	Název látky	Zkratka	Mechanismus účinku
NRTIs	zidovudin	AZT	kompetice s dTTP a inhibice HIV reverzní transkriptázy a tím syntézy virové DNA
	stavudin	d4T	
	lamivudin	3TC	kompetice s dCTP a inhibice HIV reverzní transkriptázy a tím syntézy virové DNA
	emtricitabin	(-)FTC	
	didanosin	ddI	kompetice s dATP a inhibice HIV reverzní transkriptázy a tím syntézy virové DNA
	tenofovir disoproxil fumarát	TDF	acyclický nukleosidový fosfonátový analog, tenofovir difosfát inhibuje HIV reverzní transkriptázu kompeticí s dATP
	tenofovir alafenamid	TAF	
	abakavir	ABC	kompetice s dGTP a inhibice HIV reverse transkriptázy a tím syntézy virové DNA
NNRTIs	nevirapin	NVP	alostericky se váží na HIV reverzní transkriptázu a inhibují DNA syntézu
	efavirenz	EFV	
	etravirin	ETR	
	rilpivirin	RPV	
PIs	saquinavir	SQV	blokáda aktivního místa HIV aspartylproteázy a prevence maturace viru
	nelfinavir	NFV	
	ritonavir	RTV	
	indinavir	IDV	
	atazanavir	ATZ	
	fosamprenavir	FPV	
	tipranavir	TPV	
	darunavir	DRV	
	lopinavir	LPV	
INSTIs	raltegravir	RAL	inhibice HIV integrázy a tedy blokáda inkorporace vytvořené virové DNA do genomu hostitelské buňky
	elvitegravir	EVG	
	dolutegravir	DTG	
Inhibitory vstupu	enfuvirtid	EFV	inhibice gp41 zprostředkované fúze HIV s buněčnou membránou hostitelské buňky
	maravirok	MVC	inhibice membránového receptoru CCR5

CCR5 = C-C chemokinový receptor 5; dATP = deoxyadenosinefosfát, dCTP = deoxycytosinfosfát; dGTP = deoxyguanosinfosfát; dTTP = deoxythymidinfosfát; gp = glykoprotein; NNRTIs = nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy; NRTIs = nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy; PIs = inhibitory retrovirové aspartylproteázy; INSTIs = inhibitory integrázy

Tabulka 2 Přehled známých dlouhodobých nežádoucích účinků antiretrovirotik[2]

Antiretrovirová skupina	Název látky	Popsané nežádoucí účinky
NRTIs	zidovudin	myelosuprese, inzulinová rezistence, dyslipidémie, nauzea, emeze, steatóza, laktátová acidóza, myopatie
	stavudin	inzulinová rezistence, dyslipidémie, steatóza, laktátová acidóza, periferní neuropatie
	lamivudin	laktátová acidóza, zhoršené jaterní funkce, pankreatitida
	emtricitabin	vyrážky
	didanosin	inzulinová rezistence, pankreatitida, steatóza, laktátová acidóza, periferní neuropatie
	tenofovir disoproxil fumarát/ alafenamid	osteomalacie (nejvýraznější ze všech antiretrovirotik), nefrotoxicita (může být zvýšena současným podáváním ritonaviru)
	abakavir	dyslipidémie, hypersenzitivita (kontraindikace u HLA-B*5701 pozitivních pacientů), kardiovaskulární onemocnění (pravděpodobně vyšší riziko infarktu myokardu)
NNRTIs	nevirapin	osteomalacie, významná hepatotoxicita spojená s kožními vyrážkami, hypersenzitivitou, myalgií, atralgií, otoky, renální selhání, Stevens-Johnsonův syndrom
	efavirenz	osteomalacie, dyslipidémie, fulminantní hepatitida progredující k selhání jater, lipohypertrofie (v kombinaci s PIs nebo INSTIs), deprese, psychózy, poruchy spánku, Stevens-Johnsonův syndrom
	etravirin	osteomalacie, prolongace QT intervalu, Stevens-Johnsonův syndrom
	rilpivirin	osteomalacie, prolongace QT intervalu, deprese, poruchy spánku, suicidální tendence, Stevens-Johnsonův syndrom
PIs	saquinavir	osteomalacie, prolongace QT intervalu (v režimech s ritonavirem), dyslipidémie, GIT intolerance, iatrogenní hepatitida
	nelfinavir	osteomalacie, dyslipidémie, GIT intolerance, iatrogenní hepatitida
	ritonavir	osteomalacie, dyslipidémie, GIT intolerance, iatrogenní hepatitida
	indinavir	osteomalacie, zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění, inzulinová rezistence, dyslipidémie, GIT intolerance, hyperbilirubinémie, iatrogenní hepatitida
	atazanavir	osteomalacie, cholelitiáza, urolitiáza, dyslipidémie, GIT intolerance, hyperbilirubinémie, iatrogenní hepatitida
	fosamprenavir	osteomalacie, zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění, dyslipidémie, GIT intolerance, iatrogenní hepatitida
	tipranavir	intrakraniální hemoragie u predisponovaných pacientů, osteomalacie, dyslipidémie, GIT intolerance, iatrogenní hepatitida
	darunavir	osteomalacie, zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění, GIT intolerance, iatrogenní hepatitida
	lopinavir	zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění, inzulinová rezistence (v režimech s ritonavirem), GIT intolerance, iatrogenní hepatitida, osteomalacie

GIT = gastrointestinální trakt; HLA = human leucocyte antigen NNRTIs = nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy; NRTIs = nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy; PIs = inhibitory retrovirové aspartylproteázy; INSTIs = inhibitory integrázy

Tabulka 2 (pokračování) Přehled známých významných dlouhodobých nežádoucích účinků antiretrovirotik[2]

Antiretrovirová skupina	Název látky	Popsané nežádoucí účinky
INSTIs	raltegravir	hypersenzitivita, přibývání na váze, myopatie, osteomalacie insomnie, deprese, suicidální tendence u predisponovaných pacientů, Stevens-Johnsonův syndrom
	elvitegravir	dyslipidémie, nauzea, osteomalacie, diarea, deprese, suicidální tendence u predisponovaných pacientů
	dolutegravir	myopatie, deprese, suicidální tendence u predisponovaných pacientů
Inhibitory vstupu	enfuvirtid	nepopsány
	maravirok	hepatotoxicita

GIT = gastrointestinální trakt; HLA = human leucocyte antigen NNRTIs = nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy; NRTIs = nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy; PIs = inhibitory retrovirové aspartylproteázy; INSTIs = inhibitory integrázy

1.4 Terapie HIV v těhotenství

Přelomem v péči o těhotné HIV pozitivní ženy byla klinická studie publikovaná v roce 1994 prokazující, že podání **zidovudinu během těhotenství a posléze novorozencům snižuje riziko vertikálního přenosu HIV o téměř 70 %.** Zároveň tato terapie byla **dobře tolerovaná ženami a byla bez signifikantních rizik pro vyvíjející se plod/novorozence**[35]. Jako účinnější se posléze ukázaly být kombinované antiretrovirové režimy[9,36-40]. Užívání **cART** v průběhu těhotenství a porod císařským řezem **snižují riziko vertikálního přenosu HIV z cca 45 % na méně než 2 % u dětí**, které nejsou po narození kojeny[41]. Dle informací WHO se procento těhotných žen užívajících cART celosvětově liší. V zemích typu Indonésie, Tunisko, Egypt je menší než 25 %, zatímco v zemích Jižní a Severní Ameriky, Evropy, jižního cípu Afriky, Thajska či Malajsie je antiretrovirová terapie umožněna více jak 80 % těhotných žen s HIV.

Farmakoterapie pomocí cART snižuje riziko nákazy plodu i u matek s velmi nízkou virovou náloží[42-45]. Z tohoto důvodu je **cART zahajována** stejně jako u skupiny dospělých a adolescentních pacientů **ihned bez ohledu na množství viru v krvi a počet CD4+ lymfocytů**[2,3,23]. Doporučení aktualizovaná v roce 2018 preferují v terapii HIV pozitivních těhotných žen cART složenou ze tří léčiv[1,40,46]. Základem cART jsou vždy dvě **NRTIs s vysokým placentárním přestupem** (**abakavir/lamivudin**, **tenofovir disoproxil fumarát/emtricitabin** nebo **tenofovir disoproxil fumarát/lamivudin**)[47-52]. NRTIs snižují virovou nálož matky a zajišťují **profylaxi plodu** před nákazou HIV ***in utero* nebo v průběhu porodu**[2]. Dvojice NRTIs je kombinována buď s **PIs** nebo **INSTIs**[1,3]. Mezi doporučované PIs patří látky s malým materno-fetálním prostupem, **atazanavir** nebo **darunavir**, které jsou vždy podávané společně s **nízkou dávkou ritonaviru**[53-60]. Ten nepůsobí protivirově, ale funguje jako **farmakokinetický „enhancer" zvyšující biodostupnost** atazanaviru a darunaviru po p.o. podání[61].

INSTIs jsou stejně jako NRTIs látky s vysokým placentárním přestupem[62-65]. Z této skupiny je vzhledem k množství důkazů o efektivitě a bezpečnosti během těhotenství preferován **raltegravir**[1,3].

Podávání cART v průběhu těhotenství je nepochybně obrovským benefitem pro matku, její plod, ale i společnost, protože nedochází k dalšímu šíření epidemie HIV. Nicméně i **přes více než dvě dekády trvající výzkum** je stále **málo důkazů podporujících bezpečnost** užívání cART v těhotenství a získaná **data jsou často rozporuplná**[66]. Protože nebyly a ani z etických důvodů nemohly být provedeny rozsáhlé klinické studie potvrzující bezpečnost, je **většina léčiv užívaných v těhotenství** k terapii vážných onemocnění včetně infekce HIV **pouze doporučována**[66]. Dalším komplikujícím faktorem evaluace bezpečnosti cART v těhotenství je, že studie jsou provedeny na heterogenních kohortách žen[67]. Dostupné důkazy sice prokazují vyšší účinnost cART v porovnání s monoterapií zidovudinem, zároveň však zdůrazňují vyšší riziko nežádoucích účinků na plod[40]. Mezi rizika spojovaná s cART patří předčasné porody, častější narození mrtvého dítěte a výskyt vrozených vývojových vad, velikost plodu neodpovídající gestačnímu věku a nízká porodní váha novorozence[68]. Tyto **nežádoucí účinky zásadně ovlivňují následný vývin jedince**; např. nízká porodní hmotnost je spojována s vyšším výskytem mortality a morbidity dětí[69], poruch rozvoje nervové soustavy[70] a onemocnění dýchací soustavy[71]. V dospělosti jsou to diabetes mellitus II, hypertenze a kardiovaskulárních onemocnění[72,73]. Tyto nežádoucí účinky byly dávány do souvislosti s kombinovanou léčbou zahrnující NNRTIs[74,75], která již není doporučovaná[1]. Někteří autoři však připisují jejich výskyt i používání PIs[76-79]. Nové kombinační režimy NRTIs s raltegravirem vykazují vysokou účinnost a bezpečnost, ale vzhledem k nedostatečnému množství dosud získaných dat není možné dělat definitivní závěry[2]. Jsou zde i další potenciální rizika cART podávané během těhotenství, jako jsou mitochondriální dysfunkce či zvýšené riziko nádorového onemocnění během dospívání a v dospělosti. Ta však zatím nelze vzhledem ke stále ještě relativně krátké historii tohoto farmakoterapeutického režimu ani potvrdit ani vyvrátit[1].

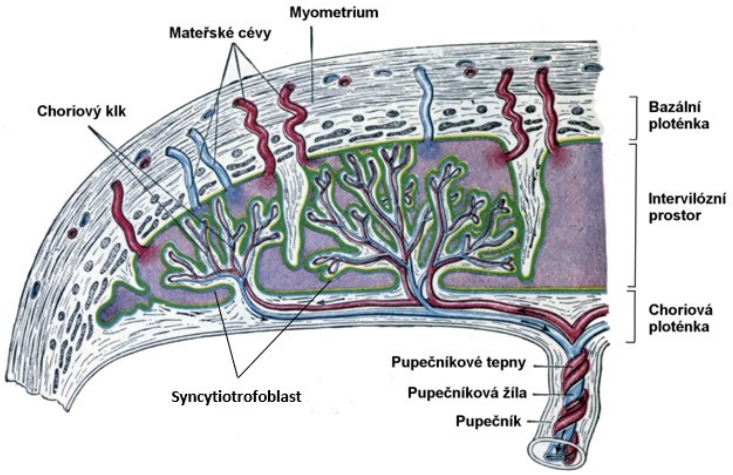
I přes obrovský progres ve vývoji antiretrovirotik a nárůst počtu klinických studií dokumentujících účinnost a bezpečnost **stále není známa nejvhodnější kombinace cART pro léčbu HIV v těhotenství**[80]. **V rámci evaluace léčiva pro užití v těhotenství je kromě účinnosti a evidence o vedlejších účincích a speciální toxicitě nutná i znalost jeho placentární farmakokinetiky a mechanismů, které se na placentárním přenosu podílejí**[81].

1.5 Struktura lidské placenty

Placenta je dočasný orgán, který je zásadní pro **růst**, **vývin** a **programování plodu**[82]. Na jedné straně odděluje krevní oběh plodu a matky a na straně druhé mezi nimi zprostředkovává látkovou výměnu. Zajišťuje přívod kyslíku, živin, protilátek, je zdrojem hormonů a z plodu odvádí odpadní produkty metabolismu. Důležitá je i její role v ochraně plodu před potenciálně toxickými xenobiotiky

vyskytujícími se v krevní cirkulaci matky. V placentě pak probíhají i molekulární děje, které mají okamžitý dopad na vyvíjející se plod nebo se mohou projevit postnatálně (i v průběhu dospělosti)[83].

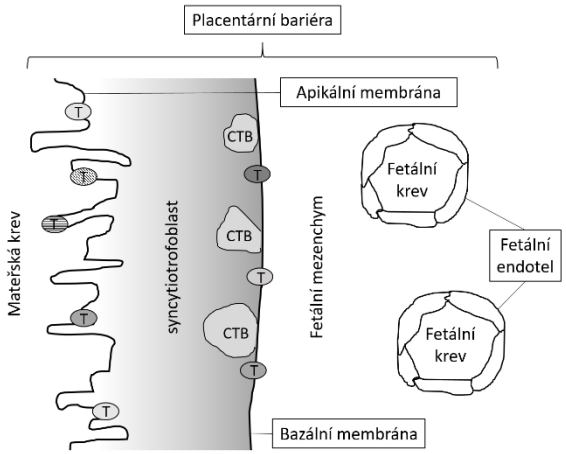
Vývoj placenty začíná vnořením blastocysty do děložní stěny, čímž dojde k fúzi fetální a mateřské tkáně. Během celého těhotenství pak prochází tento orgán významnými strukturálními i funkčními změnami[84]. Fetální část zralé placenty představuje choriová ploténka, z které vybíhají choriové klky. Mateřskou část placenty tvoří bazální ploténka vyrůstající z děložního endometria. Mezi choriovou a bazální ploténkou se nachází intervilózní prostor, v němž jsou choriové klky omývány cirkulující mateřskou krví (obr. 2).



Obr. 2 *Schéma anatomie placenty*. Placenta je tvořena mateřskou bazální a fetální choriovou ploténkou, mezi kterými se nachází intervilózní prostor. Do intervilózního prostoru proudí okysličená krev matky. Ta omývá choriové klky pokryté trofoblastem (zeleně), v nichž jsou fetální cévy. Tím dochází k látkové výměně mezi matkou a plodem. Převzato a upraveno[85].

Omýváním choriových klků mateřskou krví dochází k prostupu látek do krevní cirkulace plodu. Povrch choriových klků je pokryt trofoblastem, který je tvořen cytotrofoblastem a neohraničeným mnohojaderným soubuním, tzv. **syncytiotrofoblastem**. Ten vzniká již v průběhu prvních dnů po oplodnění[82]. Syncytiotrofoblast společně s bazální membránou, fetálním mezenchymem a endotelem fetálních kapilár tvoří placentární bariéru chránící vyvíjející se plod[86].

Syncytiotrofoblast představuje polarizovanou vrstvu. Apikální membrána je omývána mateřskou krví a je tvořena lemem mikroklků zvětšující jeho povrch, zatímco na opačné straně je bazální membrána, která klky postrádá[87] (obr. 3). Apikální a bazální membrána se liší expresí enzymů a **transportérů**, které se podílejí na biotransformaci, respektive obousměrném přenosu endogenních i exogenních látek mezi matkou a plodem[83,84].



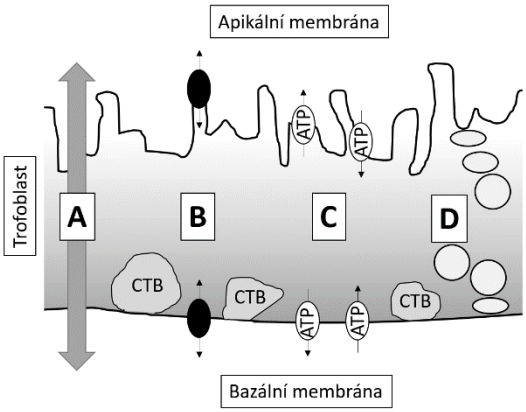
Obr. 3 *Schématické znázornění placentární bariéry*. Placentární bariéra odděluje krevní oběh matky a plodu. Je tvořena polarizovaným syncytiotrofoblastem, který vzniká diferenciací z kmenových buněk cytotrofoblastu (CTB), a exprimuje různé transportéry (T), dále bazální membránou, fetálním mesenchymem, endotelem fetálních kapilár a endoteliální bazální membránou. Převzato a upraveno[4].

1.6 Faktory ovlivňující placentární transfer; mechanismy transportu

Faktory ovlivňující placentární transfer lze kategorizovat do dvou skupin. První skupinu tvoří fyziologické a anatomické faktory zahrnující velikost placenty (plocha a tloušťka), pH v maternální a fetální cirkulaci, metabolismus placenty, placentární krevní tlak a exprese placentárních transportérů. Druhá skupina je pak reprezentována vlastnostmi léčiva, jako je rozpustnost v tucích, molekulová hmotnost, acidobazické vlastnosti, vazba na plasmatické proteiny a koncentrační gradient mezi krví matky a plodu[88].

Dosud jsou známy čtyři hlavní mechanismy transportu přes placentu (obr. 4)[86]. Nejdůležitějším typem je **pasivní difúze**. Jedná se o **nesaturabilní** transport, jehož hnací silou je **koncentrační gradient.** Jeho rychlost je **přímo úměrná difúzní konstantě** (je určena rozpustností léčiva v tucích, molekulovou hmotností, acidobazickými vlastnostmi a vazbou na plasmatické proteiny), **ploše a rozdílu koncentrací transportované látky a nepřímo úměrná tloušťce vrstvy**. Míra podílu pasivní difúze směrem ke konci gestace pravděpodobně roste[88]. Léčiva strukturně podobná endogenním látkám, která neprochází v dostatečné míře přes membránu pasivní difúzí, jsou často přenášena transportérem kontrolovanou **facilitovanou difúzí**. **Jedná se také o proces pasivní. I zde je tedy hnací silou koncentrační gradient**. Na rozdíl od pasivní difúze je ale **inhibovatelná/saturovatelná**. Minoritním a málo probádaným dějem v placentě je transcytóza. Při té dochází k invaginaci a obalení makromolekuly (např. imunoglobulinů) membránou, přechodu přes vnitřní prostředí buňky a uvolnění makromolekuly na druhém pólu buňky. Tímto mechanismem pravděpodobně dochází k vertikální HIV infekci plodu[89]. Důležitým mechanismem ovlivňujícím přestup léčiv přes placentu jsou **aktivní membránové transportéry**. Na rozdíl od facilitované difúze **vyžadují energii**, jsou ve většině případů **jednosměrné a dokážou přenášet své substráty proti koncentračnímu či elektrochemickému gradientu**. Vyskytují se na obou pólech buňky a v závislosti na typu transportního proteinu buď zprostředkovávají buněčné vychytávání látek z vnějšku dovnitř buňky (**influx, uptake**) nebo pumpují své substráty z buňky ven (**eflux**). Efluxní

transportéry tak často chrání buňku před potenciálně škodlivým efektem toxických látek[4,88]. Podobně jako u facilitované difúze jsou aktivní transportéry **inhibovatelné/saturovatelné**.



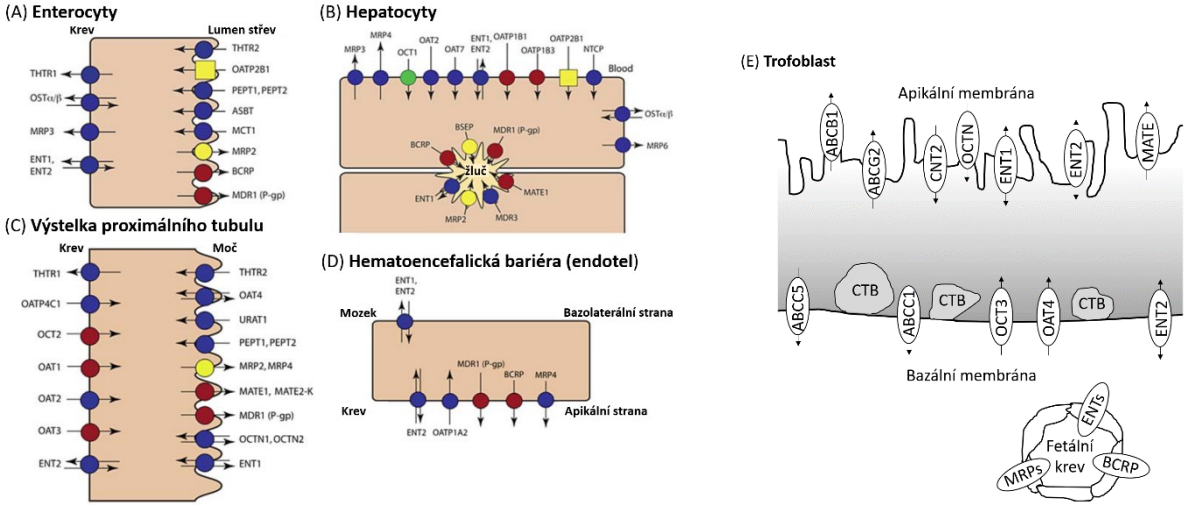
Obr. 4 *Mechanismy transportu přes placentární bariéru*. Na placentárním transportu se podílejí čtyři hlavní mechanismy, pasivní difúze (A), facilitovaná difúze (B), aktivní transport (C) a transcytóza (D). Převzato a upraveno[88,90].

1.7 Membránové transportéry

Membránové transportéry umožňují buňce přijímat a přenášet nutrienty typu cukrů, aminokyselin, vitaminů, nukleosidů, signálních molekul z okolí a na druhou stranu eliminovat toxické látky a produkty metabolismu. Jejich funkce podmiňuje samotnou existenci buňky. Napříč živými organismy bylo popsáno přes deset tisíc membránových transportérů řazených do více jak osmi set rodin[91] lišících se strukturou, substrátovou specifitou, buněčnou lokalizací, mírou selektivity, směrem transportu a kinetickými parametry[92]. Systematický výzkum provedený v průběhu posledních desetiletí zahrnující genomové analýzy a klonování identifikoval u člověka **dvě významné rodiny** transportních proteinů, a to ATP-vázající (**ABC**) a solute carrier (**SLC**) transportéry.

V součtu bylo doposud v lidském genomu identifikováno přes 400 zástupců těchto dvou rodin[93]. Aby byla naplněna specializovaná funkce určitého typu buněk (např. hepatocyt, výstelka ledvinného tubulu, syncytiotrofoblast), transportéry jsou často uspořádány tandemově a kooperují na vektoriálním transferu[94-97]. Dysregulace ABC a SLC transportérů přenášejících endogenní látky je možnou etiologickou příčinou řady onemocnění (např. Tangierova nemoc, imunodeficit, nádorové onemocnění či cystická fibróza)[98-101], a jsou tak studovány jako možné farmakoterapeutické cíle[102,103]. Řada ABC a SLC transportérů, které jsou **lokalizované v biologických bariérách** tvořených enterocyty, endotelem v mozkových krevních kapilárách (hematoencefalická bariéra), syncytiotrofoblastem placenty, Sertoliho buňkami ve varlatech, hepatocyty nebo výstelkou proximálního tubulu (obr. 5), **významně determinují dispozici některých klinicky využívaných léčiv**[93,104].

Protože většina transportérů je polyspecifická (rozpoznává více jak jeden substrát)**,** jsou tyto membránové proteiny místem **klinicky významných farmakokinetických lékových interakcí.** Navíc jsou popsány **významné intra- a inter-individuální rozdíly** v expresi a funkci transportérů[105-107]. Ty mohou být způsobeny faktory, jako jsou věk, pohlaví, současně podávaná terapie (induktory a inhibitory transportérů), genetická variabilita, epigenetická regulace (metylace DNA, modifikace histonů nebo miRNA) a transkripční nebo posttranskripční regulace[108]. **Znalost interakcí látek s transportéry, lékových interakcí na těchto molekulách a vlivu intra- a inter-individuální variability na farmakokinetiku léčiv je tak důležitá pro volbu efektivní a bezpečné (individualizované) terapie**[105,106,109].



Obr. 5 *Lokalizace významných membránových transportérů v enterocytu (A), hepatocytu (B), výstelce proximálního tubulu (C), endotelu hematoencefalické bariéry (D), trofoblastu a fetálním endotelu (E).* Na obrázku A – D jsou červenou barvou v kroužku označeny transportéry s prokázanou klinickou relevancí, žluté kroužky představují transportéry, u kterých by měla být provedena retrospektivní analýza klinických pozorování. U OCT1 (zelený kroužek) by měly být studovány substráty i inhibitory. Žlutý čtverec odpovídá transportéru OATP2B1, u něhož by měla být provedena retrospektivní analýza klinických pozorování, které nelze vysvětlit běžnými známými mechanismy lékových interakcí. Transportéry označené modrým kruhem jsou proteiny, u kterých ještě není dostatečné množství důkazů o klinické relevanci. Převzato a upraveno[84,110-112].

V současné době americký **Úřad pro kontrolu léčiv a potravin** (Food and Drug Administration) a **Evropská léková agentura** (European Medicines Agency) **striktně vyžadují studium interakcí u nových chemických entit a nových molekulových entit již v průběhu preklinických studií a doplnění těchto znalostí u již schválených ale „evidence-free" léčiv**[105,110,113]. V souladu s tímto záměrem bylo ustanoveno **Mezinárodní transportérové konsorcium (ITC)**, jehož členové se rekrutují z akademické sféry, průmyslu i oblasti lékové politiky. **ITC definuje transportéry, u nichž již byla/je prokázána klinická relevance ve vztahu k farmakokinetice léčiv** (obr. 5A-D) **a doporučuje metodické postupy pro evaluaci lékových interakcí s/na membránových transportérech**[105,110,113]. Přes intenzivní výzkum

interakcí s membránovými transportéry v průběhu preklinického a klinického hodnocení léčiv řada transportérem podmíněných lékových interakcí není vůbec detekována nebo kvantifikována a její rizika jsou objevena až po uvedení léčiva na trh[114]. Lékové interakce tak významně zaměstnávají kromě průmyslové a klinické i akademickou sféru, jak lze dokumentovat počtem publikovaných prací (k 1. 10. 2018 je při zadaní klíčových slov „TRANSPORTERS and DRUG INTERACTIONS" do databáze www.pubmed.com evidováno 17956 publikovaných prací, z toho 3641 bylo publikováno v průběhu posledních pěti let). **Kromě zdravotního hlediska je znalost lékových interakcí včetně těch vznikajících na membránových transportérech důležitá i z ekonomického hlediska**. Odhadované náklady na „léčbu" nežádoucích účinků vznikajících na podkladě lékových interakcí jsou jen v USA každoročně desítky miliard dolarů[115,116].

1.7.1 ABC transportéry

Lidské tělo exprimuje 48 ABC transportních proteinů zajišťujících za fyziologických podmínek zejména jednosměrný přestup látek. Lidské ABC transportéry lze na základě fylogeneze kategorizovat do sedmi různých podrodin A-G[117]. Jedna skupina ABC transportérů zajišťuje fyziologické funkce. Podílí se na exportu různých skupin tělu vlastních látek zahrnujících cholesterol a sterol, lipidy, deriváty kyseliny retinové, železo, žlučové kyseliny, nukleosidy a peptidy. Další důležitou skupinou jsou ABC proteiny **lokalizované v biologických barierách** (obr. 5) transportující převážně látky exogenního původu[117]. Mezi nejvýznamnější a zároveň nejvíce studované patří **P-glykoprotein (P-gp, ABCB1)**, **breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2)**, **multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2, ABCC2)**, které jsou i předmětem této habilitační práce. Nachází se **v apikální membráně buněk** (obr. 5) a **snižují intestinální absorpci, omezují distribuci přes hematoencefalickou, hematotestikulární a placentární bariéru a urychlují exkreci svých substrátů v ledvinách a játrech[4,104]. Jejich úloha je především protektivní, chrání organismus a jeho citlivé tkáně proti potenciálně nežádoucím vlivům xenobiotik.**

Placentární ABCB1, ABCG2 a ABCC2 (obr. 5E) **pumpují své substráty ze syncytiotrofoblastu do maternální cirkulace.** Tím omezují materno-fetální transfer a usnadňují přestup látek ve směru opačném. Mezi méně studované placentární ABC transportéry patří multidrug resistance-associated protein 5 (MRP5, ABCC5) a multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1, ABCC1). Ty jsou ovšem lokalizované na bazální straně (obr. 5E) a budou mít v porovnání s ABCB1, ABCG2 a ABCC2 odlišnou úlohu.

1.7.1.1 ABCB1

ABCB1 je dnes považován za nejvýznamnější ABC transportér. Funkce placentárního ABCB1 byla potvrzena u člověka i jiných živočišných druhů pomocí duální perfúze[4,118-120]. Lidský ABCB1 je

kódován genem *ABCB1*, zatímco u hlodavců je kódován dvěma geny *Abcb1a* a *Abcb1b*[4]. ABCB1 je v lidské placentě exprimován od časné fáze gestace do konce těhotenství. U člověka míra exprese tohoto proteinu v placentě v průběhu gestace klesá, zatímco u potkana je tomu naopak[84]. Zdokumentována je i relativně vysoká míra inter-individuální variability placentární exprese[121,122]. Substráty ABCB1 jsou strukturně a funkčně velmi různorodé látky. Patří mezi ně zástupci řady skupin léčiv, jako jsou cytostatika, antibiotika, antiepileptika, antiemetika, antiretrovirotika či antiarytmika, z nichž mnohá léčiva jsou používána i v těhotenství k léčbě matky, plodu nebo obou[4]. Mezi inhibitory ABCB1 se řadí např. zosuquidar, elakridar, verapamil a cyklosporin[105].

1.7.1.2 ABCG2

ABCG2 má v lidském těle obdobnou distribuci jako ABCB1 (obr. 5) a sdílí s ním i podobnou substrátovou specifitu. ABCG2 transportuje zástupce cytostatik, hypolipidemik, perorálních antidiabetik, antibiotik nebo antivirotik[4]. Mezi inhibitory ABCG2 patří např. fumitremorgin C, elakridar nebo cyklosporin[105]. Lidský ABCG2 a potkaní Abcg2 jsou kódovány geny *ABCG2, respektive Abcg2*[4]. Exprese ABCG2 je v organismu největší právě v placentární tkáni, kde je na úrovni mRNA exprimován dokonce ve vyšší míře než *ABCB1*. U *Abcg2*$^{-/-}$ knock-out myší byla pozorována zvýšená expozice plodů jeho známým substrátům[123,124]. Funkce placentárního ABCG2/Abcg2 byla také potvrzena metodou duálně perfundované lidské i potkaní placenty[125,126]. ABCG2 je důležitý i pro vývoj samotného placentárního syncytiotrofoblastu, chrání trofoblast před cytokiny vyvolanou apoptózou a podílí se na přenosu endogenních steroidů přes placentu[127]. Exprese mRNA v lidské placentě je detekovatelná od počátku gestace a je stabilní směrem ke konci těhotenství, zatímco proteinová exprese mírně roste a nevykazuje známky významné inter-individuální variability[128]. U potkana exprese Abcg2 v placentě v průběhu gestace klesá[84].

1.7.1.3 ABCC2

ABCC2 transportér je významně exprimován v hepatocytech. Zde zprostředkovává exkreci endogenních i exogenních látek, a to především konjugátů s navázaným glutathionovým, glukuronidovým nebo sulfátovým zbytkem[104]. Transportuje však i nemetabolizované látky. Mezi jeho substráty řadíme léčiva ze skupin antivirotik, cytostatik, antihypertenziv či antiepileptik[4]. Z pohledu zastoupení patří ABCC2 k významným placentárním ABC transportérům[129]. Jeho exprese v průběhu prvního a druhé trimestru nebyla dosud studována, ale bylo experimentálně ověřeno, že funkční exprese ABCC2 je v syncytiotrofoblastu přítomná před 32. týdnem gestace. Od tohoto týdne roste a je inter-individuálně stabilní[130]. Abcc2 je exprimován v potkaní placentě na konci gestace, ale důkazy o jeho expresi v dřívějších fázích chybí [131].

1.7.2 SLC transportéry

SLC transportéry představují oproti ABC transportérům mnohem rozmanitější skupinu proteinů (>300 zástupců rozdělených do >50 podrodin)[84]. Kontrolují zejména sekundárně aktivní **influx/uptake** primárně molekul nutných pro správný vývoj (např. cukry, aminokyseliny a nukleosidy) či méně často **eflux** nežádoucích produktů metabolismu[104,132]. Mezi SLC transportéry se řadí i molekuly zprostředkovávající **usnadněnou difúzi**. Stejně jako ABC transportéry i **SLC transportéry hrají roli v dispozici léčiv, a to zejména v renální a biliární exkreci**[110,133]. **V poslední době ale přibývají důkazy o jejich zapojení do placentární farmakokinetiky**[96,97,112,134,135] (**P2**, **P3**, **P17**). V publikačních výstupech, které jsou součástí této habilitační práce, jsme se zabývali **transportéry pro organické kationty** (OCTs), tzv. „**multidrug and toxin extrusion" proteiny** (MATEs), **ekvilibračními (ENTs) a koncentračními (CNTs) nukleosidovými transportéry**. Kromě těchto transportérů placenta na bazální membráně funkčně exprimuje od časné fáze gestace transportér pro organické anionty 4 (OAT4) a polypeptidový transportér organických aniontů 2B1 (OATP2B1)[136]. OAT4 transportuje zidovudin a PIs jsou potentními inhibitory OATP2B1[129] .

1.7.2.1 OCTs

OCTs popsané u člověka zahrnují tři zástupce, OCT1, OCT2 a OCT3, lokalizované na bazolaterálním pólu většiny buněk nebo v případě placenty **v bazální membráně.** Tyto transportéry jsou kódovány geny *SLC22A1*, respektive *SLC22A2* a *SLC22A3*. OCT1 je exprimován v hepatocytech, zatímco OCT2 se nachází ve výstelce proximálního tubulu a oba představují první krok (uptake do buněk) v exkreci organických látek kationické povahy[133]. Exkrece je posléze dokonána efluxním transportérem na apikálním pólu buňky[105]. V případě p.o. antidiabetika metforminu OCT1 kontrolovaný hepatální uptake neovlivňuje farmakokinetiku, ale farmakodynamický účinek[110]. OCT1 i OCT2 se nachází i v syncytiotrofoblastu, ale **nejdůležitějším placentárním transportérem této skupiny se zdá být OCT3**[96,97,129,137]. Mezi substráty OCTs patří endogenní látky (katecholaminy, acetylcholin nebo kreatinin) i léčiva (např. lamivudin, metformin, H_2-antihistaminikum ranitidin, cytostastatika oxaliplatina nebo cisplatina)[4,138]. OCTs mohou být inhibovány např. antikoagulačním léčivem dabigatranem, H_1-antihistaminikem cetirizinem nebo H_2-antihistaminikem cimetidinem[4,105]. Exprese mRNA *SLC22A2 a SLC22A3* genů v lidské placentě je vyšší v první trimestru než na konci gestace (exprese *SLC22A1* se nemění). U potkana se exprese *Slc22a1* a *Slc22a2* nemění, ale v případě *Slc22a3* roste, a to i na úrovni kódovaného proteinu Oct3[139] (**P3**).

1.7.2.2 MATEs

MATEs jsou nedávno identifikované transportéry organických kationtů kódované geny *SLC47A*[140,141]. Jsou známí tři zástupci. MATE1 je prominentně exprimován **v apikální membráně** hepatocytů a výstelky proximálního tubulu. MATE2 a MATE2-K (transkripční varianta MATE2) jsou

lokalizovány výlučně ve výstelce proximálního tubulu[142]. **Substráty OCTs a MATEs se překrývají, a tak tyto transportéry často spolupracují a zajišťují vektoriální transport organických kationických látek do žluče a moči[140,141,143-147]**. **Součinnost MATE1 a OCT3** exprimovaných v syncytiotrofoblastu pravděpodobně **umožňuje transfer organických kationtů z fetální cirkulace zpět do krve matky**, jak **bylo potvrzeno na modelu potkaní placenty**[96,97] (**P2**). Mezi substráty MATEs patří např. estron sulfát, antivirotikum acyklovir, metformin nebo oxaliplatina. Antiemetikum granisetron, cytostatikum mitoxantron nebo ritonavir transportéry MATEs inhibují [143]. Na úrovni mRNA byly v lidské placentě detekovány *SLC47A1* i *SLC47A2*. *SLC47A1* exprese byla detekována pouze v prvním trimestru, zatímco *SLC47A2* amplikon byl potvrzen v prvním trimestru i na konci gestace[139]. Proteinová i mRNA exprese Mate1 v potkaní placentě je detekovatelná od 12. dne a směrem ke konci gestace roste (**P3**).

1.7.2.3 Nukleosidové transportéry

Nukleosidy jsou považovány za **nutrienty** a **regulátory buněčné homeostázy** a představují důležitý aspekt v syntéze DNA a RNA, buněčné signalizaci a regulaci metabolismu. Purinové i pyrimidinové **nukleosidy jsou hydrofilní látky**, které mohou jen velmi **omezeně přestupovat přes buněčnou membránu pasivní difúzí**. Pro dostatečný buněčný uptake tedy potřebují specializované membránové nukleosidové transportéry. Ty jsou exprimované ve většině buněk lidského těla a jsou představovány dvěma genovými rodinami, ***SLC29A*** a ***SLC28A***, které kódují **ekvilibrační nukleosidové transportéry (ENTs)**, respektive **koncentrační nukleosidové transportéry (CNTs)**[138]. CNTs a ENTs jsou integrální proteiny s podobnou substrátovou specifitou a tkáňovou distribucí, jsou však strukturně zcela odlišné. Nejdetailněji je popsána role nukleosidových transportérů v regulaci **fyziologických**[148,149] a patofyziologických[149-156] **účinků adenosinu**, jako jsou **neurotransmise**, **ovlivnění kardiovaskulárního systému**, obezita, pre-eklampsie či gestační diabetes. V poslední době přibývá důkazů, že nukleosidové transportéry **ovlivňují farmakokinetiku nukleosidových analogů používaných jako antiretrovirotika/antivirotika** (např. lamivudin, abakavir, zidovudin, didanosin a léčivo proti hepatitidě B entekavir) nebo **cytostatika** (např. 5-fluorouracil, gemcitabin, merkaptopurin, azacytidin, kladribin)[112,138,157,158]. **ENTs lze inhibovat látkami typu nitrobenzylthioinosin (NBMPR), dipyridamol nebo dilazep. Inhibitory CNTs nejsou známy a jejich aktivita se experimentálně nespecificky inhibuje deplecí sodných kationtů**[159]. Exprese nukleosidových transportérů je ovlivňována hypoxií, fosforylačními ději, regulačním faktorem RS1, glukózou či transaktivací nukleárních receptorů[160-170].

- **ENTs**

Doposud byli identifikováni čtyři zástupci ENTs, ENT1, ENT2, ENT3 a ENT4. ENT1-3 jsou polyspecifické transportéry, které kontrolují usnadněnou difúzi purinových i pyrimidinových

nukleosidů[159]. Liší se zejména afinitou svých substrátů a lokalizací. Zatímco **ENT1** a **ENT2** lze detekovat **v cytoplasmatické membráně širokého spektra buněčných typů**[159], **ENT3** se nachází zejména **v membráně lyzozomů a mitochondrií**[171-173]. **ENT4** je **evolučně odlišný** od ENT1-3 a **není považovaný za konvenční nukleosidový transportér**. Byl původně popsán jako **polyspecifický transportér organických kationtů**[174], ale o dva roky později byla objevena jeho schopnost přenášet při nízkém extracelulárním pH adenosin[175]. ENT1 má zásadní úlohu v adenosinové signalizaci[176], zatímco ENT2 vytváří dostatečné zásoby nukleosidů/nukleotidů pro efektivní syntézu DNA a správný buněčný cyklus[177]. **ENT1 je lokalizován v apikální membráně syncytiotrofoblastu, zatímco ENT2 je přítomný v apikální i bazální membráně**[178-181]. ***SLC29A1*** **je ze skupiny genů** ***SLC29A*** **v placentě dominantním typem, exprese** ***SLC29A1*** **i** ***SLC29A1*** **je stabilní v průběhu gestace, ale oba geny vykazují významnou inter-individuální variabilitu**[112] (**P17**). Experimenty na potkaních a lidských *in vitro* modelech prokázaly roli ENTs ve vychytávání nukleosidových analogů placentou[135,182,183].

- **CNTs**

Rodina CNTs má tři zástupce, CNT1, CNT2 a CNT3[176], kteří kontrolují **Na^+-dependentní jednosměrný influx nukleosidů**. U CNT1 a CNT2 se vždy jedná o symport jednoho kationtu sodíku a jedné molekuly nukleosidu, zatímco CNT3 vždy přenáší dva kationty sodíku společně s jednou molekulou nukleosidu a sodný kationt může být nahrazen i protonem[176]. Transportéry této rodiny se **liší substrátovou specifitou**. Jediným nukleosidem přenášeným všemi zástupci této skupiny je uridin[159]. CNT1 je specializovaný na transfer pyrimidových nukleosidů, CNT2 transportuje purinové nukleosidy a oba typy nukleosidů jsou translokovány pomocí CNT3[159]. **V porovnání s ENTs se CNTs prezentují v závislosti na typu transportéru a nukleosidu o jeden až tři řády vyšší afinitou** ke svým substrátům[157]. CNTs jsou exprimovány zejména v polarizovaných epitelech, kde jsou lokalizovány v apikální membráně. Zde **podporují vychytávání nukleosidů** buňkou z okolního prostředí[95,184,185]. Funkční exprese některých CNTs byla prokázána v buněčné linii BeWo odvozené od lidského placentárního adenokarcinomu (**P16**) a v placentě potkana[186], zatímco v lidské placentě je dosud sporná[111,112,180,181]. *SLC28A2* je druhý nejvíce exprimovaný gen ze skupiny placentárních nukleosidových transportérů a jeho míra exprese je ovlivněna aktivitou cAMP/proteinkináza A (cAMP/PKA) signalizační kaskády. Všechny *SLC28A* vykazují značnou inter-individuální variabilitu a jejich mRNA exprese směrem ke konci gestace roste (**P16**).

CNTs mají kromě transportní úlohy i úlohu signalizační, a proto jsou někdy označovány za transceptory (toto pojmenování vzniklo spojením slov **trans**portér a re**ceptor**). Jde o stále ještě

relativně mladý koncept, který je nejvíce zdokumentovaný u mikroorganismů[176]. Ze skupiny CNTs byl jako transceptor popsán CNT1[187]. Jedná se o značně regulovaný protein, jehož míra exprese koreluje s mírou buněčné diferenciace. Obnova exprese CNT1 v buněčné linii odvozené od adenokarcinomu pankreatu způsobila biologické změny nesouvisející s transportem nukleosidů, které vedly k restrikci proliferace buněk[176]. Zda jsou CNT2 a CNT3 také transceptory, je zatím v rovině spekulací, nicméně některá zjištění naznačují, že by tomu tak mohlo být. Funkce CNT2 souvisí s energetickým metabolismem a oba CNT2 a CNT3 se podílejí na purinergní signalizaci[176].

1.8 Lékové interakce na membránových transportérech

Membránové transportéry mohou být inhibovány nebo indukovány podanou medikací. V závislosti na typu transportéru dochází při **inhibici efluxních transportérů ke sníženému odčerpávání** nebo naopak v případě **influxních transportérů ke sníženému vychytávání** substrátů buňkou. **Indukce** bude naopak **funkční expresi/aktivitu** obou typů membránových přenašečů **zvyšovat**. Lékové interakce na transportérech mohou **významně ovlivnit míru absorpce po p.o. podání, distribuci a/nebo ledvinnou i hepatální exkreci**. Jejich dopad může být nežádoucí (zvýšení toxicity léčby), nebo naopak žádoucí (např. zvýšení biodostupnosti)[4]. **Riziko nežádoucích lékových interakcí roste s počtem léčiv užívaných k terapii vlastního onemocnění a komorbidit**. Mezi transportéry, na kterých dochází ke klinicky významným lékovým interakcím, patří ABCB1, ABCG2, ABCC2, OCTs, OATs, OATPs a MATEs (obr. 5)[105,110].

Vzhledem k nízkému terapeutickému indexu je věnována značná pozornost **nežádoucím farmakokinetickým lékovým interakcím srdečního glykosidu digoxinu** (substrát ABCB1). Plocha pod křivkou po p.o. podání (a s tím spojené riziko toxicity) může být zvýšena o desítky procent kombinací inhibice střevního (↑ absorpce) a/nebo renálního (↓ exkrece) ABCB1 makrolidem klaritromycinem[188], antiarytmikem dronedaronem[189], antianginózním léčivem ranolazinem[190] nebo ritonavirem[191]. Podávání induktoru ABCB1 antituberkulotika rifampicinu naopak vede ke snížení biologické dostupnosti digoxinu skrze zvýšenou expresi střevního ABCB1[192].

Ritonavir je ale někdy přidáván do **farmakoterapeutických kombinací záměrně, a to ne pro svůj antivirový účinek**, ale v malé dávce dostatečné k inhibici ABCB1 (a CYP3A4). Jedná se pak o **žádoucí lékovou interakci**, kdy ritonavir (**farmakokinetický „enhancer“**) zvyšuje biodostupnost po p.o. podání např. darunaviru[61]. To samé platí o látce kobicistat, která byla specificky vyvíjena jako farmakokinetický „enhancer“ (inhibice ABCB1, ABCG2 a CYP3A4) a na rozdíl od ritonaviru nemá antiretrovirový účinek**. Její podání v kombinaci zvyšuje biodostupnost darunaviru, atazanaviru nebo dolutegraviru**[193-195], což zvyšuje efektivitu antiretrovirové léčby. Na druhou stranu může zvýšit

biodostupnost dabigatranu a tím zvýšit krvácivost pacienta[196]. Efekt ritonaviru a kobicistatu na farmakokinetiku těchto léčiv je připisován právě inhibici střevního ABCB1.

Důkazů o klinicky relevantních lékových interakcích na ABCG2 je méně. Na podkladě kompetice na **renálním ABCG2** je vysvětlována zvýšená toxicita antimetabolitu **metotrexátu v případě současného podání inhibitorů protonové pumpy** (omeprazol, pantoprazol)[197]. Inhibice střevního ABCG2 telmisartanem či imunosupresivem cyklosporinem naopak pravděpodobně vede ke zvýšené biodostupnosti hypolipidemika rosuvastatinu[198]. Pacienti se sníženou expresí ABCG2 (způsobenou např. záměnou Q141K) jeví častější známky toxicity při léčbě inhibitorem tyrosinkinázy gefitinibem a byla pozorována změna farmakokinetiky u cytostatik typu 9-aminokamtotecin, irinotekan a také u rosuvastatinu[105].

Od počátku fungování ITC je zdůrazňována i role SLC transportérů ve farmakokinetice léčiv[105]. Známá je léková interakce fibrátu gemfibrozilu a rosuvastatinu či cyklosporinu a rosuvastatinu na **jaterním OATP1B1/1B3** vedoucí ke dvojnásobnému, respektive sedminásobnému zvýšení plochy pod křivkou rosuvastatinu, což je rizikový faktor pro vznik myopatií[199]. Naopak žádoucí interakci představuje prodloužení antibakteriálního účinku antibiotika benzylpenicilinu při současném podání s urikosurikem probenecidem, inhibitorem renálních OATs[105].

V posledních letech ITC rozšiřuje pozornost na OCTs a MATEs transportéry. Renální OCT2, MATE1 a MATE2-K se podílejí na farmakokinetice metforminu. Jeho plasmatické hladiny mohou být zvýšeny podáním H_2-antihistaminik (cimetidin nebo famotidin)[110,200]. Inhibice OCT1 snižuje hypoglykemizující účinek metforminu[110].

Důkazy o roli membránových transportérů v placentární kinetice léčiv pocházejí zejména z experimentů provedených na zvířeti[4,84,201]. Počet studií provedených pomocí duálně perfundované lidské placenty není vysoký. Dosud realizované experimenty však potvrdily klinickou důležitost ABCB1 v materno-fetálnímu transferu léčiv[201].

1.9 Přehled interakcí vybraných antiretrovirotik s membrámovými transportéry

Antiretrovirotika jsou látky s vysokým interakčním potenciálem[2,202]. Protože mnohá antiretovirotika jsou substráty, inhibitory a/nebo induktory[129,159,203-208], lze tyto lékové interakce často vysvětlit na podkladě zapojení membránových transportérů. V této kapitole je uveden přehled **antiretrovirových látek, které jsou předmětem publikovaných vědeckých článků tvořících základ této habilitační práce včetně jejich dosud známé schopnosti interagovat s placentárními membránovými transportéry** (tabulka 3). Znalost těchto interakcí je zásadní při optimalizaci bezpečné a efektivní terapie.

Tabulka 3 Přehled antiretrovirotik a jejich interakcí s ABC a SLC transportéry [129,159,206,207,209]

	ABC transportéry			SLC transportéry		
	Substrát	**Inhibitor**	**Induktor[a]**	**Substrát**	**Inhibitor**	**Induktor**
PIs						
atazanavir	ABCB1 ABCC2	ABCB1 ABCC1 ABCG2	ABCB1		**OATP2B1**	
ritonavir		ABCB1 ABCC1 ABCG2	ABCB1 ABCC1 ABCG2		OATP1A2[b] OATP1B1[c] OATP2B1[b] OATP1B3[c] OCT1 OCT2[b]	OATP1B1[c] OATP1B3[c]
NRTIs						
abakavir	ABCB1 ABCG2	ABCB1 ABCC1 ABCC2 ABCG2				
emtricitabin	ABCC1	ABCB1 ABCC1 ABCC2 ABCC3	ABCB1	MATE1[b]		
lamivudin		ABCB1 ABCC1 ABCC2 ABCC3[c]	ABCB1	MATE1[b] OCT1[b] CNT1[b] OCTN2	OCT1[b] OCT2[b] CNT1[b]	
tenofovir	ABCC4	ABCC1 ABCC2 ABCC3		OAT1[c] OAT3[c]		
tenofovir disoproxil fumarát	ABCB1 ABCG2	ABCB1				
zidovudin	ABCB1 ABCG2			OAT1[c] OAT2[c] OAT3[c] OAT4	ENT2	
NNRTs						
rilpivirin		ABCG2 ABCC1			OATP1B1[c] OATP1B3[c]	

[a] indukce byla popsána na jiné než placentární tkáni
[b] v lidské placentě dosud nebyla potvrzena funkční exprese
[c] neplacentární transportéry

1.10 Metody studia transplacentárního přestupu

Možnost studia funkce placentárních membránových transportérů a mechanismů jejich regulace přímo na člověku nebo izolovaném orgánu je omezená. Z etických důvodů je obtížně proveditelné klinické hodnocení přímo na těhotných ženách, a tak jsou studie často omezeny pouze **na sběr a analýzu koncentrací léčiv v oběhu matky a plodu v době porodu (tzv. maternal blood to umbilical cord concentrations analysis).** Tento přístup však nepřináší žádné exaktní informace o farmakokinetice placentárního přestupu, možném zapojení transportérů nebo materno-fetálním koncentračním poměru v časnějších fázích gestace. Experimenty na lidské placentě (duálně

perfundovaný kotyledon) tyto informace přinést mohou, ale interpretaci dat komplikuje vysoká heterogenita a malá dostupnost vhodného materiálu pro realizaci dostatečně velkého testovaného souboru. Proto je nutné provádět experimenty umožňující testování většího rozsahu vzorků na lidské placentě (uptake studie na fragmentech vilózní tkáně, vezikulech připravených buď z apikální nebo bazální membrány), *in situ* experimenty (duálně perfundovaná potkaní placenta) a buněčné experimenty a data posléze komplexně analyzovat[4,84]. Přehled metod využitých při řešení vědeckých prací, které jsou součástí této habilitační práce, je uveden s jejich výhodami i nevýhodami v tabulce 4.

Tabulka 4 Vybrané metody studia role membránových transportérů v placentární kinetice, upraveno dle[84]

Metoda	Výhody	Nevýhody
In vitro transportní studie přes monovrstvu MDCK buněk stabilně exprimujících studovaný transportér	technicky nenáročný model; umožňuje stanovit, zda je testovaná látka substrát konkrétního transportéru a kvantifikovat lékové interakce	odlišné expresní profily; studovaných transportérů; v porovnání s buňkami lidského trofoblastu; možnost zapojení endogenních psích transportérů
In vitro buněčné modely odvozené od placentárního choriocarcinomu (BeWo, BeWo b30, JEG-3)	jednoduché na manipulaci; levné; možnost kultivace na semipermeabilních membránách a sledovat tak transepiteliální transport	expresní profil transportérů se kvantitativně i kvalitativně liší od placenty; nemožnost sledovat inter-individuální rozdíly
Duálně perfundovaná potkaní placenta	transport probíhá přes všechny placentární struktury; v porovnání s duálně perfundovanou lidskou placentou se jedná o relativně levnou a technicky méně náročnou metodu; dostupnost; shodná lokalizace, exprese a funkce hlavních potkaních placentárních ABC transportérů s lidskými; je možné sledovat transport ve směru matka-plod i plod-matka, studovat roli lékových interakcí v placentárním transportu (včetně indukce membránových transportérů)	mezidruhové rozdíly ve fyziologii/anatomii placenty, v regulaci exprese transportérů a v substrátové specifitě
Fragmenty lidské placentární tkáně	zachovaná struktura placenty (komplexní tkáň); možnost přípravy fragmentů z placenty v různých fázích gestace	technicky náročné; neumožňují kvantifikovat transport přes placentu (pouze uptake); heterogenita připravených vzorků
Izolované vezikuly z lidského trofoblastu	umožňují sledovat funkci vybraných transportérů přímo v apikální nebo bazální membráně syncytiotrofoblastu; je možné připravit vezikuly z placenty v různých fázích gestace, jsou vhodné ke studiu lékových interakcí s placentárními transportéry	technicky náročné; neumožňují kvantifikovat vliv transportérů na placentární clearance (pouze uptake)

2. Komentáře k předloženým pracím

Optimální léčba HIV v těhotenství dosud není známa[66,80]. Znalost interakcí antiretrovirových látek s placentárními transportéry může přispět k další optimalizaci a individualizaci cART v těhotenství. V návaznosti na získané projekty Grantové agentury České republiky (GACR P303/12/0850, GACR 17-16169S) a Grantové agentury UK (GAUK 695912/C/2012, 324215/C/2015, 812216/C/2016) jsme v průběhu let 2012 – 2018 publikovali 17 prací, které jsou součástí této habilitační práce, z toho je 13 prací experimentálního charakteru a věnují se originálním, dosud neřešeným problematikám.

Jednotlivé cíle byly v průběhu řešení tématu membránových transportérů v placentě definovány na základě potřebnosti a aktuálnosti daného tématu a lze je kategorizovat do tří oblastí, které se ale částečně překrývají:

I. využití modelu *in situ* duálně perfundované potkaní placenty a *in vitro* modelu pro analýzu zapojení OCT a MATE transportérů v placentární kinetice antiretrovirotik; analýza exprese MATE/Mate a OCT/Oct transportérů v placentě v různých fázích gestace a v orgánech matky a plodu

II. analýza role ABC transportérů v placentární farmakokinetice antiretrovirotik pomocí *in situ* metody duální perfúze potkaní placenty a *in vitro* transportních studií přes monovrstvu MDCK buněk exprimujících vybraný lidský transportér; studium efektu antiretrovirových léčiv na expresi ABC transportérů v orgánech matky a plodu

III. optimalizace a využití *in vitro*, *ex vivo* a *in situ* metod pro studium placentárních nukleosidových transportérů a pro analýzu jejich interakcí s vybranými NRTIs; popis exprese nukleosidových transportérů v různých fázích gestace a pomocí *in vitro* metodik korelovat expresi nukleosidových transportérů a diferenciací trofoblastu

2.1 Práce předkládané v rámci habilitační práce

P1. Staud F, **Cerveny L**, Ceckova M. Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. J Drug Target. 2012;20(9):736-63.

P2. Ahmadimoghaddam D, Hofman J, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, **Cerveny L**, et al. Synchronized Activity of Organic Cation Transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and Multidrug and Toxin Extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) Transporter in Transplacental Passage of MPP+ in Rat. Toxicol Sci. 2012;128(2):471-81.

P3. Ahmadimoghaddam D, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, Neumanova Z, **Cerveny L**, et al. Organic Cation Transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and Multidrug and Toxin Extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) Transporter in the Placenta and Fetal Tissues: Expression Profile and Fetus Protective Role at Different Stages of Gestation. Biol Reprod. 2013;88(3):10.

P4. Staud F, **Cerveny L**, Ahmadimoghaddam D, Ceckova M. Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. Int J Biochem Cell Biol. 2013;45(9):2007-11.

P5. Neumanova Z, **Cerveny L**, Ceckova M, Staud F. Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. Aids. 2014;28(1):9-17.

P6. Neumanova Z, **Cerveny L**, Greenwood SL, Ceckova M, Staud F. Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir. Reprod Toxicol. 2015;57:176-82.

P7. Ceckova M, Reznicek J, Ptackova Z, **Cerveny L**, Muller F, Kacerovsky M, et al. Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(9):5563-72.

P8. **Cerveny L**, Neumanova Z, Karbanova S, Havlova I, Staud F. Long-term administration of tenofovir or emtricitabine to pregnant rats; effect on Abcb1a, Abcb1b and Abcg2 expression in the placenta and in maternal and fetal organs. J Pharm Pharmacol. 2016;68(1):84-92.

P9. Neumanova Z, **Cerveny L**, Ceckova M, Staud F. Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine. Biopharm Drug Dispos. 2016;37(1):28-38.

P10. Karbanova S, **Cerveny L**, Ceckova M, Ptackova Z, Jiraskova L, Greenwood S, et al. Role of nucleoside transporters in transplacental pharmacokinetics of nucleoside reverse transcriptase inhibitors zidovudine and emtricitabine. Placenta. 2017;60:86-92.

P11. Reznicek J, Ceckova M, **Cerveny L**, Muller F, Staud F. Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. Xenobiotica. 2017;47(1):77-85.

P12. Reznicek J, Ceckova M, Ptackova Z, Martinec O, Tupova L, **Cerveny L**, et al. MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(9):11.

P13. **Cerveny L**, Ptackova Z, Durisova M, Staud F. Interactions of protease inhibitors atazanavir and ritonavir with ABCB1, ABCG2, and ABCC2 transporters: Effect on transplacental disposition in rats. Reprod Toxicol. 2018;79:57-65.

P14. Novakova L, Pavlik J, Chrenkova L, Martinec O, **Cerveny L**. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials - Part I: Antivirals against respiratory and herpes viruses. J Pharm Biomed Anal. 2018;147:400-16.

P15. Novakova L, Pavlik J, Chrenkova L, Martinec O, **Cerveny L**. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials - Part II: Antivirals against hepatitis and HIV viruses. J Pharm Biomed Anal. 2018;147:378-99.

P16. Jiraskova L, **Cerveny L**, Karbanova S, Ptackova Z, Staud F. Expression of Concentrative Nucleoside Transporters (SLC28A) in the Human Placenta: Effects of Gestation Age and Prototype Differentiation-Affecting Agents. Mol Pharm. 2018;15(7):2732-41

P17. **Cerveny L**, Ptackova Z, Ceckova M, Karahoda R, Karbanova S, Jiraskova L, et al. Equilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1, SLC29A1) facilitates transfer of the antiretroviral drug abacavir across the placenta. Drug Metab Dispos. 2018; 46: 1817-1826

Na počátku řešení jsme publikovali rozsáhlý vyžádaný přehledový článek o farmakoterapii v těhotenství a roli placentárních transportérů ve farmakokinetice p.o. antidiabetik, antiepileptik, antidysrytmik a také **antiretrovirotik**. Věnovali jsme se placentárním ABC i SLC transportérům a látkám z výše uvedených skupin, které jsou jejich substráty a/nebo inhibitory, ve vztahu k možným lékovým

interakcím, optimalizaci léčby a vývoji nových léčiv (**P1**). Posléze jsme se již začali věnovat jednotlivým definovaným cílům:

Re I:

V polovině minulého desetiletí byly objeveny v lidském organismu proteiny MATEs, dlouho hledané efluxní transportéry zajišťující společně s OCTs vektoriální transpor organických kationtů do žluče a moči [140,141]. Ve stejné době byl funkčně popsán i Mate1 v potkaní ledvině [144,145]. V návaznosti na tyto práce jsme se snažili zjistit, zda analogicky k ledvině není i v placentě přítomen Mate a Oct zprostředkovaný vektoriální transport organických kationtů. V publikaci **P2** jsme popsali mRNA a proteinovou expresi Oct3 a Mate1 v potkaní placentě a pomocí společného modelového substrátu obou transportérů 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP^+) jsme potvrdili funkci Mate1- a Oct3-kontrolovaného vektoriálního transferu z plodu do krve matky.

V následující práci jsme na úrovni mRNA a proteinu kvantifikovali míru exprese Oct3 a Mate1 v potkaní placentě v závislosti na délce gestace a dále *Slc22a1*, *Slc22a2* a *Slc22a3* mRNA v orgánech plodu potkana (18. a 21. den gestace). Ukázali jsme, že mRNA i protein **Oct3 a Mate1 jsou v placentě přítomné** od 12. dne a jejich exprese se zvyšuje směrem ke konci gestace. Na druhou stranu exprese *Slc22a1* a *Slc22a2* mRNA se neměnila. **Věnovali jsme se i expresi *SLC22A1*, *SLC22A2*, *SLC22A3*, *SLC47A1* a *SLC47A2* mRNA v lidské placentě v prvním a třetím trimestru**. Oproti výsledkům na potkaní tkáni, exprese *SLC22A2*, *SLC22A3* i *SLC47A1* v průběhu gestace klesala, přičemž *SLC47A1* je ve třetím trimestru pod hranicí detekce. Množství *SLC22A2* a *SLC47A1* mRNA nebylo závislé na fázi gestace (**P3**).

Získané poznatky o MATEs transportérech, jejich substrátech, lokalizaci, kódujících genech a polymorfismech jsme shrnuli v dalším vyžádaném přehledovém článku (**P4**). Poté, co jsme z laboratoře Martina Fromma z Friedrich-Alexander-University of Erlangen-Nürnberg (Erlangen, Germany) získali MDCK buňky stabilně exprimující lidský OCT1, OCT2, nebo MATE1 transportér, jsme na těchto buňkách a MDCKII buňkách transdukovaných cDNA lidského ABCB1, ABCG2, nebo ABCC2 (získané z laboratoře dr. Alfreda Schinkela z nizozemského Cancer Institute) realizovali transportní studie s NRTI emtricitabinem. Zjistili jsme, že transport emtricitabinu přes buňky exprimující MATE1 (MDCK-MATE1) je urychlován ve směru efluxní aktivity MATE1 lokalizovaného v apikální membráně, ale zapojení dalších testovaných transportérů na transmembránový přenos jsme nepozorovali. Transport přes MDCK-MATE1 buňky byl závislý na pH a citlivý k účinkům inhibitorů MATE (ritonavir, cimetidin), což dále potvrdilo naše závěry, že emtricitabin je substrátem MATE1 (**P12**).

V následující studii jsme se zaměřili na NRTI lamivudin (**P7**). Pomocí *in vitro* transportních a akumulačních studií jsme prokázali, že lamivudin je nízkoafinitním substrátem MATE, zatímco ABCB1, ABCG2 a ABCC2 neměly žádný vliv na jeho membránový transport. V další fázi jsme zjistili, že uptake

lamivudinu do vezikulů připravených z mikrovilózní (apikální) membrány lidského syncytiotrofoblastu a **transport přes potkaní placentu je pH dependentní. Tím jsme potvrdili, že placentární transport lamivudinu je ovliňován efluxní aktivitou MATE1 v apikalní mebráně syncytiotrofoblastu**.

Re II:

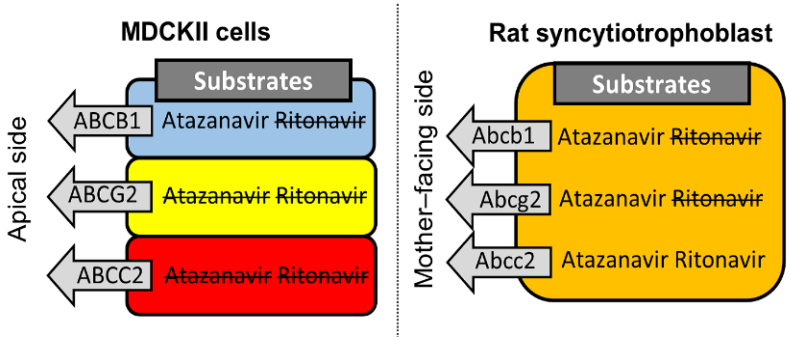
V této části jsme se věnovali interakcím placentárních ABCB1, ABCG2 a ABCC2 s NRTIs, tenofovirem a jeho proléčivem tenofovirem disoproxil fumarátem (**P5**), abakavirem (**P6**), zidovudinem (**P9**), a PIs, atazanavirem a ritonavirem (**P13,** obr. 6). Pomocí transportních experimentů přes monovrstvu MDCKII buněk exprimujících lidský ABCB1, ABCG2, nebo ABCC2 jsme zjistili, že tenofovir disoproxil fumarát, abakavir i zidovudin jsou substráty ABCB1 a ABCG2, zatímco transfer atazanaviru byl kontrolován pouze ABCB1 transportérem. Žádné z testovaných antiretrovirotik nebylo identifikováno jako substrát ABCC2. Testované **lidské transportéry se nepodílely na transferu ritonaviru a tenofoviru.** V dalším kroku řešení této problematiky jsme zjistili, že potkaní placentární **Abcb1 a Abcg2 kontrolují** transport **tenofoviru disoproxil fumarátu** a v menší míře i **abakaviru** a **zidovudinu** (**P5, P6 a P9).** Všechny testované potkaní transportéry **Abcb1, Abcg2 a Abcc2 se podílely na omezeném materno-fetálním transferu atazanaviru**. Naproti tomu kinetika ritonaviru byla ovlivněna pouze Abcc2 (**P13,** obr. 6).

V navazující studii (**P12**) jsme potvrdili, že inhibice intestinálních ABCB1 a ABCG2 způsobená NNRTI rilpivirinem (popsaný inhibitor ABCB1 a ABCG2) vede ke zvýšenému přestupu abakaviru přes monovrstvu tvořenou Caco-2 buňkami a zvětšuje plochu pod křivkou abakaviru po intraduodenálním podání potkanovi.

Role efluxních placentárních transportérů *in situ* byla v případě abakaviru a zidovudinu menší, než jsme předpokládali na základě *in vitro* experimentů. Navíc se nám nepodařilo prokázat roli těchto transportérů v uptaku abakaviru do fragmentů připravených z vilózní části placenty (**P6**). Na základě těchto výsledků jsme došli k závěru, že eflux abakaviru a zidovudinu je snížen protichůdným influxním mechanismem. **Vzhledem ke struktuře těchto látek jsme navrhli zapojení nukleosidových transportérů** (viz část Re III:).

V rámci řešení tohoto cíle jsme sledovali i vliv tenofoviru a emtricitabinu podávaných i.m. gravidním samicím potkana Wistar po dobu deseti dnů (**P8**). Analyzovali jsme expresi potkaních *Abcb1a*, *Abcb1b* a *Abcg2* v placentě a v orgánech matky a plodu (mozek, játra, ledviny a střevo). Desetidenní i.m. aplikace tenofoviru a emtricitabinu neovlivnila expresi testovaných genům v žádném z orgánů. Protože jsme během experimetů vážili jednotlivé placenty s příslušnými plody, zjistili jsme, že tenofovir zvyšoval poměr hmotnosti placenty vůči plodu. To je považováno za silný indikátor závažných onemocnění (např. kardiovaskulárních onemocnění v dřívějším věku), které se neobjevují

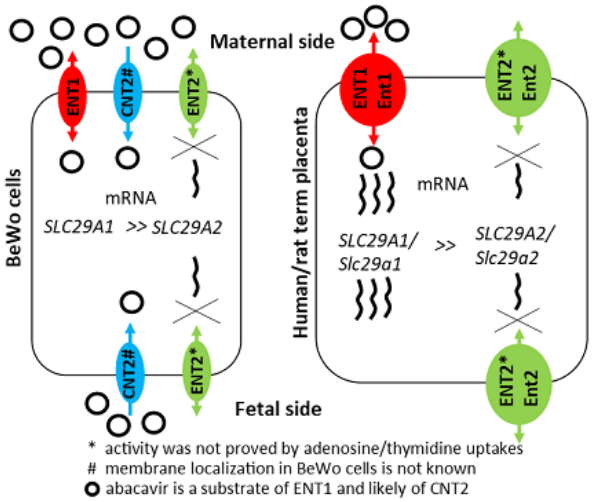
ihned po porodu nebo v dětství, ale v pozdějších fázích života[73]. Tato práce přinesla i informaci o rozdílech v expresi testovaných transportérů v orgánech plodu a matky v době porodu.



Obr. 6 *Schématické znázornění výsledků publikace P13*. Atazanavir je substrát lidského ABCB1 a potkaních placentárních Abcb1, Abcg2 a Abcc2. Ritonavir je substrátem pouze potkaního placentárního Abcc2. Převzato z publikace[208].

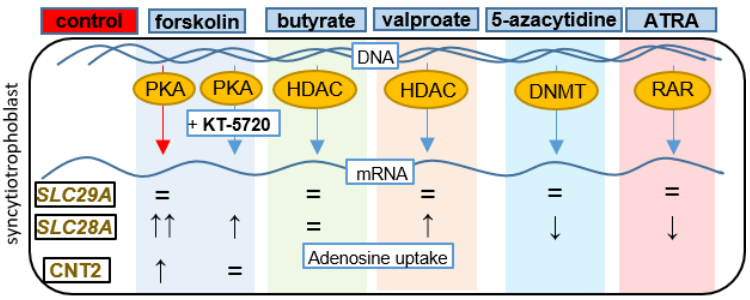
Re III:

Pomocí akumulačních studií využívající *in vitro* (lidská BeWo buněčná linie) a *ex vivo* (vezikuly připravené z apikální membrány syncytiotrofoblastu a fragmenty z vilózní části lidské placenty) metod a *in situ* duálně perfundované potkaní placenty jsme studovali hypotézu, zda nukleosidové transportéry ovlivňují placentární farmakokinetiku nukleosidových analogů, abakaviru (**P17,** obr. 7), emtricitabinu a zidovudinu (**P10**). Ukázali jsme, že přestup abakaviru přes placentu je usnadňován pomocí ENT1 a vychytávání abakaviru do BeWo buněk je navíc kontrolováno i transportérem CNT2 (obr. 7). Na druhou stranu placentární farmakokinetika zidovudinu a emtricitabinu je nezávislá na ENTs (**P10**). Dále jsme popsali expresi mRNA nukleosidových transportérů v placentě v prvním a třetím trimestru (**P16, P17**). Zjistili jsme, že lidská placenta exprimuje všechny nukleosidové transportéry. *SLC29A1* (ENT1) je dominantním transportérem následovaný *SLC28A2* (CNT2). Exprese *SLC29A* se v průběhu gestace nemění, zatímco u *SLC28A* roste. Geny *SLC28A1* (CNT1) a *SLC28A3* (CNT3) byly detekovatelné pouze v placentách ze třetího trimestru. Všechny exprimované transportéry byly charakteristické svou vysokou inter-individuální variabilitou. Funkční expresi jsme potvrdili u ENT1, a to v BeWo buněčné linii i placentě, zatímco aktivitu CNT2 jsme pozorovali pouze v BeWo buňkách. V současnosti připravujeme publikaci popisující roli ENT1 v placentární kinetice antivirotik ribavirinu a entecaviru, které se využívají k léčbě hepatitidy C, respektive hepatitidy B.



Obr. 7. *Schématické znázornění výsledků publikace P17*. Přestup abakaviru přes placentu je usnadňován pomocí ENT1 (nepotvrdili jsme zapojení ENT2) a vychytávání abakaviru do BeWo buněk je navíc kontrolováno i transportérem CNT2. Exprese placentárních *SLC29A1* (ENT1) a *SLC29A2* (ENT2) se v průběhu gestace nemění, exprese *SLC29A1* je signifikantně vyšší než *SLC29A2*. Převzato z publikace[112].

Exprese nukleosidových transportérů, a to zejména CNTs, úzce souvisí s mírou diferenciace buněk. Efekt diferenciaci- a/nebo epigenetiku- ovlivňujících agens (obr. 8) na expresi nukleosidových transportérů jsme sledovali v buněčné linii BeWo (**P16**). Zjistili jsme, že *SLC29A* jsou pravděpodobně spíše konstitutivně exprimované (**P16**, **P17)**, zatímco exprese *SLC28A* je do různé míry regulovaná. Identifikovali jsme důležitou roli cAMP/PKA signalizační kaskády v regulaci CNT2, kterou jsme potvrdili i na úrovni funkce (obr. 8). Tímto tématem se nadále zabýváme, přičemž se snažíme detailněji popsat mechanismy regulace exprese CNT2 a vliv inhibice signalizačních kaskád na subcelulární lokalizaci CNT2. Zároveň bychom rádi studovali, zda regulační mechanismy popsané v BeWo buněčné linii jsou funkční také v jiných buněčných typech.



Obr. 8 *Schématické znázornění výsledků publikace P16, efekt diferenciaci- a/nebo epigenetiku-ovlivňujících látek na mRNA expresi nukleosidových transportérů v buněčné linii BeWo*. Testovali jsme forskolin, aktivátor cAMP/proteinkináza A (cAMP/PKA) signalizační kaskády, butyrát sodný a kyselinu valproovou, inhibitory histondeacetyláz (HDAC), 5-azacytidin, inhibitor DNA methyltransferáz (DNMT) a tretinoin (ATRA), aktivátor receptoru pro kyselinu retinovou (RAR). Nevyšší efekt způsobil forskolin, a to v případě *SLC29A2*. Způsobená indukce byla inhibována současnou expozicí buněk inhibitoru PKA, KT-5720. Upregulace *SLC29A2* byla pozorována i na úrovni funkce CNT2 (zvýšený uptake modelového substrátu adenosinu). Převzato z publikace[111].

Vzhledem k rozšíření našeho studia o antivirotika proti hepatitidě C (např. sofosbuvir, dasabuvir a daklatasvir) jsme navázali spolupráci s Katedrou analytické chemie FaF UK, která vyvíjí pro naši potřebu metody pro jejich stanovení v biologických experimentech. Naši spolupráci jsme etablovali přípravou rozsáhlého dvoudílného přehledového článku o schválených antiretrovirových/antivirových látkách, jejich mechanismech účinku, nežádoucích účincích, klinickém využití, spotřebách a metodách využívaných k analýze antivirálních látek (**P14, P15**).

3. Stručný souhrn, závěry a perspektivy

I přes obrovský progres ve vývoji antiretrovirotik a nárůst počtu klinických studií dokumentujících účinnost a bezpečnost, nejvhodnější kombinace cART pro léčbu HIV v těhotenství stále není známa[80]. Mezi nežádoucí účinky cART jsou řazeny předčasné porody, častější narození mrtvého dítěte, častější výskyt vrozených vývojových vad, velikost plodu neodpovídající gestačnímu věku a zvýšené riziko nízké porodní váhy novorozence[68]. **Tyto nežádoucí účinky zásadně ovlivňují vývin jedince nejen bezprostředně po narození, ale i v pozdějším věku**[69-73]. Jsou zde i další potenciální rizika cART podávané v průběhu těhotenství, mezi které patří mitochondriální dysfunkce či zvýšené riziko nádorového onemocnění během dospívání narozených dětí a pak v jejich dospělosti, která nelze zatím vzhledem ke stále ještě relativně krátké historii tohoto farmakoterapeutického režimu ani potvrdit ani vyvrátit[1]. Aby bylo možné rizika cART v těhotenství ještě více minimalizovat a zároveň maximalizovat účinek farmakoterapie, je důležité porozumět mechanismům podílejících se na placentárním transferu antiretrovirotik, jejich inter- i intra-individuálním rozdílům a molekulární podstatě regulace exprese.

V našem výzkumu jsme se snažili najít odpověď na otázku, zda se efluxní (ABCB1, ABCG2, ABCC2 a MATE), influxní (OCTs a CNTs) a ekvilibrační (ENTs) transportéry podílí na placentárním transferu antiretrovirotik ze skupiny NRTI a PIs. Popsali jsme, že materno-fetální transfer tenofoviru disoproxil fumarátu, abakaviru a zidovudinu je snižován transportéry ABCB1 a ABCG2, zatímco transfer atazanaviru je snižován pouze ABCB1. Mimo hlavní linii tohoto projektu jsme prokázali, že inhibice střevních ABCB1 a ABCG2 rilpivirinem (inhibitor ABCB1 a ABCG2) zvyšuje absorpci abakaviru. Tím jsme dále potvrdili, že abakavir je substrát ABCB1 a ABCG2 a že tyto dva transportéry ovlivňují farmakokinetiku abakaviru na různých úrovních. Dále jsme popsali, že abakavir je substrátem placentárního ENT1, který zjevně působí proti efluxní aktivitě placentárních ABCB1 a ABCG2 a usnadňuje jeho materno-fetální transport. MATE1 omezuje materno-fetální transfer lamivudinu a dle našich zjištění MATE1 transportuje i emtricitabin. Může se tak podílet na jeho renální exkreci a placentární kinetice. Naše výsledky mohou přispět k optimalizaci dávkování současných cART podávaných v těhotenství a zavádění nových antiretrovirových režimů nebo mohou být zohledněny při volbě farmakoterapie komorbidit matky.

I přes více jak čtyři desetiletí výzkumu placentární kinetiky je znalost role placentárních transportérů v kinetice léčiv stále tak „trochu na počátku“. Důvodem je omezená možnost provádět klinické hodnocení přímo na člověku. Jsou tedy využívány různé „náhradní“ experimentální možností typu duálně perfundované lidské/potkaní placenty, *in vitro* modelů, akumulace ve vezikulech či fragmentech připravených z lidské placenty, a to se všemi jejich nevýhodami. Ty tkví ve vysoké

heterogenitě studovaných vzorků, přílišném zjednodušení a/nebo nemožnosti sledovat efekt placentárních transportérů v průběhu gestace. Aby bylo možné relevantně interpretovat získané výsledky, je potřeba tyto experimentální modely dále charakterizovat např. z pohledu funkční exprese transportérů a porovnat ji se situací přímo v placentě ve specifickém stádiu gestace. Dále je potřeba určit, které placentární transportéry jsou klinicky relevantní, protože **současná doporučení ITC se týkají transportérů lokalizovaných v jiných orgánech**. V tomto kontextu jsme popsali roli transportérů Oct3 a Mate1 ve feto-maternálním vektoriálním transportu organických kationtů u potkana a na základě mRNA exprese v prvním a třetím trimestru jsme předpověděli, že tento transportní systém by mohl fungovat i u člověka. Také jsme kvantifikovali mRNA expresi nukleosidových transportérů a studovali možnosti jejich regulace. Výsledkem bylo zjištění, že *SLC29A1* je dominantním genem nukleosidových transportérů s konstitutivní expresí v placentě, zatímco exprese druhého nejvíce zastoupeného transkriptu nukleosidových transportérů *SLC28A2* roste v průběhu gestace a je regulovaná cAMP/PKA signalizační kaskádou.

Vzhledem ke klinické důležitosti placentárních transportérů je evidentní, že se tato oblast bude i nadále rozvíjet. Lze předpokládat, že dojde ke zdokonalení experimentálních metod studia placentární kinetiky a budou čím dál více zapojovány metody *in silico*[210]. Analogicky k metodickým doporučením ITC týkajících se modelů absorpce a exkrece by měla být ustanovena i doporučení pro přípravu a evaluaci současných placentárních experimentálních modelů (modely s definovanou expresí transportérů, využití všeobecně akceptovaných modelových substrátů a inhibitorů apod.). Důležité je také jasně určit placentární transportéry, jejichž interakce s léčivy mají klinický přesah. **Získané znalosti pak mohou urychlit zavedení nové farmakoterapie, včetně antiretrovirové, do léčby těhotných žen**.

4. Podíl předkladatele na jednotlivých publikacích

P1. Staud F, **Cerveny L**, Ceckova M. Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. J Drug Target. 2012;20(9):736-63 **IF_{2012}= 2,768**

- **literární rešerše, podíl na sepsání publikace**

P2. Ahmadimoghaddam D, Hofman J, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, **Cerveny L**, et al. Synchronized Activity of Organic Cation Transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and Multidrug and Toxin Extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) Transporter in Transplacental Passage of MPP+ in Rat. Toxicol Sci. 2012;128(2):471-81 **IF_{2012}= 4,328**

- **sběr prvo- a třeti-trimestrálních placent, analýza genové exprese v lidské placentě, revize manuskriptu**

P3. Ahmadimoghaddam D, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, Neumanova Z, **Cerveny L**, et al. Organic Cation Transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and Multidrug and Toxin Extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) Transporter in the Placenta and Fetal Tissues: Expression Profile and Fetus Protective Role at Different Stages of Gestation. Biol Reprod. 2013;88(3):10 **IF_{2013}= 3,451**

- **kvantifikace genové exprese v lidské placentě, analýza dat, podíl na sepsání manuskriptu, revize manuskriptu**

P4. Staud F, **Cerveny L**, Ahmadimoghaddam D, Ceckova M. Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. Int J Biochem Cell Biol. 2013;45(9):2007-11 **IF_{2013}= 4,240**

- **literární rešerše, podíl na sepsání publikace**

P5. Neumanova Z, **Cerveny L**, Ceckova M, Staud F. Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. Aids. 2014;28(1):9-17 **IF_{2014}= 5,554**

- **konzultant první autorky, výběr látek, design experimentů, realizace *in vitro* experimentů, analýza dat, podíl na sepsání manuskriptu, revize manuskriptu**

P6. Neumanova Z, **Cerveny L**, Greenwood SL, Ceckova M, Staud F. Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir. Reprod Toxicol. 2015;57:176-82 **IF_{2015}= 2,850**

- **konzultant první autorky, výběr látek, design experimentů, realizace *in vitro* experimentů, analýza dat, podíl na sepsání manuskriptu, revize manuskriptu, koncepce a revize odpovědí oponentům**

P7. **Cerveny L**, Neumanova Z, Karbanova S, Havlova I, Staud F. Long-term administration of tenofovir or emtricitabine to pregnant rats; effect on Abcb1a, Abcb1b and Abcg2 expression in the placenta and in maternal and fetal organs. J Pharm Pharmacol. 2016;68(1):84-92 **IF_{2016}= 2,405**

- **první autor, výběr látek, design experimentů, realizace experimentů, analýza dat, hlavní podíl na sepsání manuskriptu, revize manuskriptu, příprava odpovědí oponentům**

P8. Neumanova Z, **Cerveny L**, Ceckova M, Staud F. Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine. Biopharm Drug Dispos. 2016;37(1):28-38 **IF_{2016}= 2,091**

- **konzultant první autorky, výběr látek, design experimentů, realizace *in vitro* experimentů, analýza dat, podíl na sepsání manuskriptu, revize manuskriptu, koncepce a revize odpovědí oponentům**

P9. Ceckova M, Reznicek J, Ptackova Z, **Cerveny L**, Muller F, Kacerovsky M, et al. Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(9):5563-72 **IF_{2016}= 4,302**

- **realizace části *in vitro* experimentů, analýza dat, revize manuskriptu**

P10. Karbanova S, **Cerveny L**, Ceckova M, Ptackova Z, Jiraskova L, Greenwood S, et al. Role of nucleoside transporters in transplacental pharmacokinetics of nucleoside reverse transcriptase inhibitors zidovudine and emtricitabine. Placenta. 2017;60:86-92 **IF_{2017}= 2,434**

- **konzultant první autorky, výběr látek, design experimentů, analýza dat, podíl na sepsání manuskriptu, revize manuskriptu, koncepce a revize odpovědí oponentům**

P11. Reznicek J, Ceckova M, **Cerveny L**, Muller F, Staud F. Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. Xenobiotica. 2017;47(1):77-85 **IF_{2017}= 1,857**

- **realizace části in vitro experimentů, analýza dat, revize manuskriptu**

P12. Reznicek J, Ceckova M, Ptackova Z, Martinec O, Tupova L, **Cerveny L**, et al. MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(9):11 **IF_{2017}= 4,255**

- **realizace a design části in vivo experimentů, analýza dat, revize manuskriptu**

P13. **Cerveny L**, Ptackova Z, Durisova M, Staud F. Interactions of protease inhibitors atazanavir and ritonavir with ABCB1, ABCG2, and ABCC2 transporters: Effect on transplacental disposition in rats. Reprod Toxicol. 2018;79:57-65 **IF_{2017}= 2,580**

- **první autor, realizace in vitro experimentů a části in situ experimentů, analýza dat, sepsání manuskriptu, koncepce a příprava odpovědí oponentům**

P14. Novakova L, Pavlik J, Chrenkova L, Martinec O, **Cerveny L**. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials - Part I: Antivirals against respiratory and herpes viruses. J Pharm Biomed Anal. 2018;147:400-16 **IF_{2017}= 2,831**

- **literární rešerše, autor biologické a farmakologické části**

P15. Novakova L, Pavlik J, Chrenkova L, Martinec O, **Cerveny L**. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials - Part II: Antivirals against hepatitis and HIV viruses. J Pharm Biomed Anal. 2018;147:378-99 **IF_{2017}= 2,831**

- **literární rešerše, autor biologické a farmakologické části**

P16. Jiraskova L, **Cerveny L**, Karbanova S, Ptackova Z, Staud F. Expression of Concentrative Nucleoside Transporters (SLC28A) in the Human Placenta: Effects of Gestation Age and Prototype Differentiation-Affecting Agents. Mol Pharm. 2018;15(7):2732-41 **IF_{2017}= 4,556**

- **konzultant první autorky, autor tématu (korespondující autor), design experimentů, analýza dat, podíl na sepsání manuskriptu, revize manuskriptu, koncepce a revize odpovědí oponentům**

P17. **Cerveny L**, Ptackova Z, Ceckova M, Karahoda R, Karbanova S, Jiraskova L, et al. Equilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1, SLC29A1) facilitates transfer of the antiretroviral drug abacavir across the placenta. Drug Metab Dispos. 2018; 46: 1817-1826 **IF_{2017}= 3,640**

- **první autor, realizace in vitro experimentů a části in situ experimentů, analýza dat, sepsání manuskriptu, koncepce a příprava odpovědí oponentům**

5. Seznam použité literatury

1. Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. Department of Health and Human Services. Available at http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/PerinatalGL.pdf. Accessed 11th September 2018.
2. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV. Department of Health and Human Services. Available at http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf. Accessed 13th September 2018.
3. EACS European AIDS Clinical Society, Guidelines, Version 9.0, October 2017. (2017).
4. Staud, F., Cerveny, L. & Ceckova, M. Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. *J Drug Target* **20**, 736-763 (2012).
5. Lewden, C.*, et al.* Causes of death among human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults in the era of potent antiretroviral therapy: emerging role of hepatitis and cancers, persistent role of AIDS. *Int J Epidemiol* **34**, 121-130 (2005).
6. Sprecher, S., Soumenkoff, G., Puissant, F. & Degueldre, M. Vertical transmission of HIV in 15-week fetus. *Lancet* **2**, 288-289 (1986).
7. Backe, E.*, et al.* Demonstration of HIV-1 infected cells in human placenta by in situ hybridisation and immunostaining. *J Clin Pathol* **45**, 871-874 (1992).
8. Lewis, S.H., Reynolds-Kohler, C., Fox, H.E. & Nelson, J.A. HIV-1 in trophoblastic and villous Hofbauer cells, and haematological precursors in eight-week fetuses. *Lancet* **335**, 565-568 (1990).
9. Fondoh, V.N. & Mom, N.A. Mother-to-child transmission of HIV and its predictors among HIV-exposed infants at Bamenda Regional Hospital, Cameroon. *Afr J Lab Med* **6**, 589 (2017).
10. Newell, M.L., Brahmbhatt, H. & Ghys, P.D. Child mortality and HIV infection in Africa: a review. *AIDS* **18 Suppl 2**, S27-34 (2004).
11. Violari, A.*, et al.* Early antiretroviral therapy and mortality among HIV-infected infants. *N Engl J Med* **359**, 2233-2244 (2008).
12. Marinda, E.*, et al.* Child mortality according to maternal and infant HIV status in Zimbabwe. *Pediatr Infect Dis J* **26**, 519-526 (2007).
13. Newell, M.L.*, et al.* Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis. *Lancet* **364**, 1236-1243 (2004).
14. Novakova, L., Pavlik, J., Chrenkova, L., Martinec, O. & Cerveny, L. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials-Part I: Antivirals against respiratory and herpes viruses. *J Pharm Biomed Anal* **147**, 400-416 (2018).
15. Campbell-Yesufu, O.T. & Gandhi, R.T. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. *Clin Infect Dis* **52**, 780-787 (2011).
16. McBurney, S.P. & Ross, T.M. Viral sequence diversity: challenges for AIDS vaccine designs. *Expert Rev Vaccines* **7**, 1405-1417 (2008).
17. Simon, V., Ho, D.D. & Abdool Karim, Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet* **368**, 489-504 (2006).
18. De Clercq, E. & Li, G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin Microbiol Rev* **29**, 695-747 (2016).
19. Novakova, L., Pavlik, J., Chrenkova, L., Martinec, O. & Cerveny, L. Current antiviral drugs and their analysis in biological materials - Part II: Antivirals against hepatitis and HIV viruses. *J Pharm Biomed Anal* **147**, 378-399 (2018).
20. Lazarus, J.V., Barton, S.E. & Bernardino, J.I. Taking the long-view in a personalised approach to HIV care. *Lancet HIV* **4**, e483-e485 (2017).
21. Lengauer, T., Pfeifer, N. & Kaiser, R. Personalized HIV therapy to control drug resistance. *Drug Discov Today Technol* **11**, 57-64 (2014).
22. Deeks, S.G., Lewin, S.R. & Havlir, D.V. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *Lancet* **382**, 1525-1533 (2013).
23. WHO, Mother-to-child transmission of HIV 2017: http://www.who.int/hiv/topics/mtct/about/en/. Accessed 11th September 2018.

24. Messiaen, P.*, et al.* Clinical use of HIV integrase inhibitors: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* **8**, e52562 (2013).
25. O'Brien, M.E., Clark, R.A., Besch, C.L., Myers, L. & Kissinger, P. Patterns and correlates of discontinuation of the initial HAART regimen in an urban outpatient cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr* **34**, 407-414 (2003).
26. Rodriguez-Novoa, S.*, et al.* Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *AIDS* **21**, 41-46 (2007).
27. Abdelhady, A.M.*, et al.* Efavirenz Inhibits the Human Ether-A-Go-Go Related Current (hERG) and Induces QT Interval Prolongation in CYP2B6*6*6 Allele Carriers. *J Cardiovasc Electrophysiol* **27**, 1206-1213 (2016).
28. Gounden, V., van Niekerk, C., Snyman, T. & George, J.A. Presence of the CYP2B6 516G> T polymorphism, increased plasma Efavirenz concentrations and early neuropsychiatric side effects in South African HIV-infected patients. *AIDS Res Ther* **7**, 32 (2010).
29. Saag, M.*, et al.* High sensitivity of human leukocyte antigen-b*5701 as a marker for immunologically confirmed abacavir hypersensitivity in white and black patients. *Clin Infect Dis* **46**, 1111-1118 (2008).
30. Mallal, S.*, et al.* HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med* **358**, 568-579 (2008).
31. Kheloufi, F., Allemand, J., Mokhtari, S. & Default, A. Psychiatric disorders after starting dolutegravir: report of four cases. *AIDS* **29**, 1723-1725 (2015).
32. Harris, M., Larsen, G. & Montaner, J.S. Exacerbation of depression associated with starting raltegravir: a report of four cases. *AIDS* **22**, 1890-1892 (2008).
33. Saves, M.*, et al.* Hepatitis B or hepatitis C virus infection is a risk factor for severe hepatic cytolysis after initiation of a protease inhibitor-containing antiretroviral regimen in human immunodeficiency virus-infected patients. The APROCO Study Group. *Antimicrob Agents Chemother* **44**, 3451-3455 (2000).
34. den Brinker, M.*, et al.* Hepatitis B and C virus co-infection and the risk for hepatotoxicity of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *AIDS* **14**, 2895-2902 (2000).
35. Connor, E.M.*, et al.* Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* **331**, 1173-1180 (1994).
36. Siegfried, N., van der Merwe, L., Brocklehurst, P. & Sint, T.T. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev*, CD003510 (2011).
37. Foster, C.*, et al.* Tenofovir disoproxil fumarate in pregnancy and prevention of mother-to-child transmission of HIV-1: is it time to move on from zidovudine? *HIV Med* **10**, 397-406 (2009).
38. Teasdale, C.A., Marais, B.J. & Abrams, E.J. HIV: prevention of mother-to-child transmission. *BMJ Clin Evid* **2011**(2011).
39. Nachega, J.B.*, et al.* Safety of Tenofovir Disoproxil Fumarate-Based Antiretroviral Therapy Regimens in Pregnancy for HIV-Infected Women and Their Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* **76**, 1-12 (2017).
40. Fowler, M.G.*, et al.* Benefits and Risks of Antiretroviral Therapy for Perinatal HIV Prevention. *N Engl J Med* **375**, 1726-1737 (2016).
41. De Cock, K.M.*, et al.* Prevention of mother-to-child HIV transmission in resource-poor countries: translating research into policy and practice. *JAMA* **283**, 1175-1182 (2000).
42. Moodley, D.*, et al.* A multicenter randomized controlled trial of nevirapine versus a combination of zidovudine and lamivudine to reduce intrapartum and early postpartum mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* **187**, 725-735 (2003).
43. Jackson, J.B.*, et al.* Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: 18-month follow-up of the HIVNET 012 randomised trial. *Lancet* **362**, 859-868 (2003).
44. Wade, N.A.*, et al.* Abbreviated regimens of zidovudine prophylaxis and perinatal transmission of the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* **339**, 1409-1414 (1998).
45. Ioannidis, J.P.*, et al.* Perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 by pregnant women with RNA virus loads <1000 copies/ml. *J Infect Dis* **183**, 539-545 (2001).
46. Kesho Bora Study, G. & de Vincenzi, I. Triple antiretroviral compared with zidovudine and single-dose nevirapine prophylaxis during pregnancy and breastfeeding for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 (Kesho Bora study): a randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* **11**, 171-180 (2011).

47. Best, B.M.*, et al.* Pharmacokinetics of tenofovir during pregnancy and postpartum. *HIV Med* **16**, 502-511 (2015).
48. Chappuy, H.*, et al.* Maternal-fetal transfer and amniotic fluid accumulation of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors in human immunodeficiency virus-infected pregnant women. *Antimicrob Agents Chemother* **48**, 4332-4336 (2004).
49. Best, B.M.*, et al.* Impact of pregnancy on abacavir pharmacokinetics. *AIDS* **20**, 553-560 (2006).
50. Stek, A.M.*, et al.* Effect of pregnancy on emtricitabine pharmacokinetics. *HIV Med* **13**, 226-235 (2012).
51. Flynn, P.M.*, et al.* Pharmacokinetics and safety of single-dose tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine in HIV-1-infected pregnant women and their infants. *Antimicrob Agents Chemother* **55**, 5914-5922 (2011).
52. Moodley, J.*, et al.* Pharmacokinetics and antiretroviral activity of lamivudine alone or when coadministered with zidovudine in human immunodeficiency virus type 1-infected pregnant women and their offspring. *J Infect Dis* **178**, 1327-1333 (1998).
53. Ripamonti, D.*, et al.* Atazanavir plus low-dose ritonavir in pregnancy: pharmacokinetics and placental transfer. *AIDS* **21**, 2409-2415 (2007).
54. Mandelbrot, L.*, et al.* Atazanavir in pregnancy: impact on neonatal hyperbilirubinemia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **157**, 18-21 (2011).
55. Le, M.P.*, et al.* Pharmacokinetics, safety and efficacy of ritonavir-boosted atazanavir (300/100 mg once daily) in HIV-1-infected pregnant women. *Antivir Ther* **20**, 507-513 (2015).
56. Ivanovic, J.*, et al.* Transplacental transfer of antiretroviral drugs and newborn birth weight in HIV-infected pregnant women. *Curr HIV Res* **7**, 620-625 (2009).
57. Marzolini, C.*, et al.* Transplacental passage of protease inhibitors at delivery. *AIDS* **16**, 889-893 (2002).
58. Chappuy, H.*, et al.* Maternal-fetal transfer and amniotic fluid accumulation of protease inhibitors in pregnant women who are infected with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol* **191**, 558-562 (2004).
59. Mandelbrot, L., Duro, D., Belissa, E. & Peytavin, G. Placental transfer of darunavir in an ex vivo human cotyledon perfusion model. *Antimicrob Agents Chemother* **58**, 5617-5620 (2014).
60. Khoo, S.*, et al.* Pharmacokinetics and Safety of Darunavir/Ritonavir in HIV-Infected Pregnant Women. *AIDS Rev* **19**, 16-23 (2017).
61. Larson, K.B., Wang, K., Delille, C., Otofokun, I. & Acosta, E.P. Pharmacokinetic enhancers in HIV therapeutics. *Clin Pharmacokinet* **53**, 865-872 (2014).
62. Hill, A., Clayden, P., Thorne, C., Christie, R. & Zash, R. Safety and pharmacokinetics of dolutegravir in HIV-positive pregnant women: a systematic review. *J Virus Erad* **4**, 66-71 (2018).
63. Rimawi, B.H.*, et al.* Pharmacokinetics and Placental Transfer of Elvitegravir, Dolutegravir, and Other Antiretrovirals during Pregnancy. *Antimicrob Agents Chemother* **61**(2017).
64. Mulligan, N.*, et al.* Dolutegravir pharmacokinetics in pregnant and postpartum women living with HIV. *AIDS* **32**, 729-737 (2018).
65. Blonk, M.I.*, et al.* Raltegravir in HIV-1-Infected Pregnant Women: Pharmacokinetics, Safety, and Efficacy. *Clin Infect Dis* **61**, 809-816 (2015).
66. Mofenson, L.M. Antiretroviral Therapy and Adverse Pregnancy Outcome: The Elephant in the Room? *J Infect Dis* **213**, 1051-1054 (2016).
67. Newell, M.L. & Bunders, M.J. Safety of antiretroviral drugs in pregnancy and breastfeeding for mother and child. *Curr Opin HIV AIDS* **8**, 504-510 (2013).
68. Uthman, O.A.*, et al.* Timing of initiation of antiretroviral therapy and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet HIV* **4**, e21-e30 (2017).
69. McCormick, M.C. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *N Engl J Med* **312**, 82-90 (1985).
70. Lampi, K.M.*, et al.* Risk of autism spectrum disorders in low birth weight and small for gestational age infants. *J Pediatr* **161**, 830-836 (2012).
71. Pike, K., Jane Pillow, J. & Lucas, J.S. Long term respiratory consequences of intrauterine growth restriction. *Semin Fetal Neonatal Med* **17**, 92-98 (2012).
72. Longo, S.*, et al.* Short-term and long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR). *J Matern Fetal Neonatal Med* **26**, 222-225 (2013).
73. Risnes, K.R., Romundstad, P.R., Nilsen, T.I., Eskild, A. & Vatten, L.J. Placental weight relative to birth weight and long-term cardiovascular mortality: findings from a cohort of 31,307 men and women. *Am J Epidemiol* **170**, 622-631 (2009).

74. Li, N.*, et al.* Antiretroviral Therapy in Relation to Birth Outcomes among HIV-infected Women: A Cohort Study. *J Infect Dis* **213**, 1057-1064 (2016).
75. Chen, J.Y.*, et al.* Highly active antiretroviral therapy and adverse birth outcomes among HIV-infected women in Botswana. *J Infect Dis* **206**, 1695-1705 (2012).
76. Ravizza, M.*, et al.* Treatment with protease inhibitors and coinfection with hepatitis C virus are independent predictors of preterm delivery in HIV-infected pregnant women. *J Infect Dis* **195**, 913-914; author reply 916-917 (2007).
77. Powis, K.M.*, et al.* Increased risk of preterm delivery among HIV-infected women randomized to protease versus nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based HAART during pregnancy. *J Infect Dis* **204**, 506-514 (2011).
78. Grosch-Woerner, I.*, et al.* Increased rate of prematurity associated with antenatal antiretroviral therapy in a German/Austrian cohort of HIV-1-infected women. *HIV Med* **9**, 6-13 (2008).
79. Ekouevi, D.K.*, et al.* Antiretroviral therapy in pregnant women with advanced HIV disease and pregnancy outcomes in Abidjan, Cote d'Ivoire. *AIDS* **22**, 1815-1820 (2008).
80. Snijdewind, I.J.M.*, et al.* Preconception use of cART by HIV-positive pregnant women increases the risk of infants being born small for gestational age. *PLoS One* **13**, e0191389 (2018).
81. Brownbill, P.*, et al.* An international network (PlaNet) to evaluate a human placental testing platform for chemicals safety testing in pregnancy. *Reprod Toxicol* (2016).
82. Staud, F. & Karahoda, R. Trophoblast: The central unit of fetal growth, protection and programming. *Int J Biochem Cell Biol* **105**, 35-40 (2018).
83. Syme, M.R., Paxton, J.W. & Keelan, J.A. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin Pharmacokinet* **43**, 487-514 (2004).
84. Staud, F. & Ceckova, M. Regulation of drug transporter expression and function in the placenta. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 1-23 (2015).
85. Gray, H. *Anatomy of the Human Body*, (Philadelphia: Lea & Febiger, 1918 ; Bartleby.com, 2000).
86. van der Aa, E.M., Peereboom-Stegeman, J.H., Noordhoek, J., Gribnau, F.W. & Russel, F.G. Mechanisms of drug transfer across the human placenta. *Pharm World Sci* **20**, 139-148 (1998).
87. Jones, C.J. & Fox, H. Ultrastructure of the normal human placenta. *Electron Microsc Rev* **4**, 129-178 (1991).
88. Griffiths, S.K. & campbell, J.K. Placental structure, function and drug transfer. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain* **15**, 84-89 (2015).
89. Parry, S., Zhang, J., Koi, H., Arechavaleta-Velasco, F. & Elovitz, M.A. Transcytosis of Human immunodeficiency virus 1 across the placenta is enhanced by treatment with tumour necrosis factor alpha. *J Gen Virol* **87**, 2269-2278 (2006).
90. Desforges, M. & Sibley, C.P. Placental nutrient supply and fetal growth. *Int J Dev Biol* **54**, 377-390 (2010).
91. Saier, M.H., Jr.*, et al.* The Transporter Classification Database (TCDB): recent advances. *Nucleic Acids Res* **44**, D372-379 (2016).
92. Govindarajan, R. & Sparreboom, A. Drug Transporters: Advances and Opportunities. *Clin Pharmacol Ther* **100**, 398-403 (2016).
93. International Transporter, C.*, et al.* Membrane transporters in drug development. *Nat Rev Drug Discov* **9**, 215-236 (2010).
94. Kock, K. & Brouwer, K.L. A perspective on efflux transport proteins in the liver. *Clin Pharmacol Ther* **92**, 599-612 (2012).
95. Mangravite, L.M., Badagnani, I. & Giacomini, K.M. Nucleoside transporters in the disposition and targeting of nucleoside analogs in the kidney. *Eur J Pharmacol* **479**, 269-281 (2003).
96. Ahmadimoghaddam, D.*, et al.* Synchronized activity of organic cation transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and multidrug and toxin extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) transporter in transplacental passage of MPP+ in rat. *Toxicol Sci* **128**, 471-481 (2012).
97. Ahmadimoghaddam, D. & Staud, F. Transfer of metformin across the rat placenta is mediated by organic cation transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) protein. *Reprod Toxicol* **39**, 17-22 (2013).
98. Hediger, M.A., Clemencon, B., Burrier, R.E. & Bruford, E.A. The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): introduction. *Mol Aspects Med* **34**, 95-107 (2013).
99. Tarling, E.J., de Aguiar Vallim, T.Q. & Edwards, P.A. Role of ABC transporters in lipid transport and human disease. *Trends Endocrinol Metab* **24**, 342-350 (2013).
100. Cant, N., Pollock, N. & Ford, R.C. CFTR structure and cystic fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol* **52**, 15-25 (2014).

101. Leone, P.*, et al.* MHC class I antigen processing and presenting machinery: organization, function, and defects in tumor cells. *J Natl Cancer Inst* **105**, 1172-1187 (2013).
102. Jones, R.S. & Morris, M.E. Monocarboxylate Transporters: Therapeutic Targets and Prognostic Factors in Disease. *Clin Pharmacol Ther* **100**, 454-463 (2016).
103. Qosa, H.*, et al.* Transporters as Drug Targets in Neurological Diseases. *Clin Pharmacol Ther* **100**, 441-453 (2016).
104. Schinkel, A.H. & Jonker, J.W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev* **55**, 3-29 (2003).
105. Giacomini, K.M. & Huang, S.M. Transporters in drug development and clinical pharmacology. *Clin Pharmacol Ther* **94**, 3-9 (2013).
106. Fisel, P., Nies, A.T., Schaeffeler, E. & Schwab, M. The importance of drug transporter characterization to precision medicine. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **13**, 361-365 (2017).
107. Mooij, M.G.*, et al.* Ontogeny of human hepatic and intestinal transporter gene expression during childhood: age matters. *Drug Metab Dispos* **42**, 1268-1274 (2014).
108. Neul, C.*, et al.* Impact of Membrane Drug Transporters on Resistance to Small-Molecule Tyrosine Kinase Inhibitors. *Trends Pharmacol Sci* **37**, 904-932 (2016).
109. Ahmed, S., Zhou, Z., Zhou, J. & Chen, S.Q. Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics* **14**, 298-313 (2016).
110. Zamek-Gliszczynski, M.J.*, et al.* Transporters in Drug Development: 2018 ITC Recommendations for Transporters of Emerging Clinical Importance. *Clin Pharmacol Ther* (2018).
111. Jiraskova, L., Cerveny, L., Karbanova, S., Ptackova, Z. & Staud, F. Expression of Concentrative Nucleoside Transporters (SLC28A) in the Human Placenta: Effects of Gestation Age and Prototype Differentiation-Affecting Agents. *Mol Pharm* **15**, 2732-2741 (2018).
112. Cerveny, L.*, et al.* Equilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1, SLC29A1) facilitates transfer of the antiretroviral drug abacavir across the placenta. *Drug Metab Dispos* (2018).
113. Giacomini, K.M.*, et al.* International Transporter Consortium commentary on clinically important transporter polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* **94**, 23-26 (2013).
114. Fan, Y., Sun, B., Agarwal, S. & Zhang, L. Review of Transporter-Related Postmarketing Requirement or Postmarketing Commitment Studies. *J Clin Pharmacol* **56 Suppl 7**, S193-204 (2016).
115. Ernst, F.R. & Grizzle, A.J. Drug-related morbidity and mortality: updating the cost-of-illness model. *J Am Pharm Assoc (Wash)* **41**, 192-199 (2001).
116. Sultana, J., Cutroneo, P. & Trifiro, G. Clinical and economic burden of adverse drug reactions. *J Pharmacol Pharmacother* **4**, S73-77 (2013).
117. Wilkens, S. Structure and mechanism of ABC transporters. *F1000Prime Rep* **7**, 14 (2015).
118. Staud, F., Ceckova, M., Micuda, S. & Pavek, P. Expression and function of p-glycoprotein in normal tissues: effect on pharmacokinetics. *Methods Mol Biol* **596**, 199-222 (2010).
119. Pavek, P.*, et al.* Examination of the functional activity of P-glycoprotein in the rat placental barrier using rhodamine 123. *J Pharmacol Exp Ther* **305**, 1239-1250 (2003).
120. Pavek, P.*, et al.* Influence of P-glycoprotein on the transplacental passage of cyclosporine. *J Pharm Sci* **90**, 1583-1592 (2001).
121. Gil, S., Saura, R., Forestier, F. & Farinotti, R. P-glycoprotein expression of the human placenta during pregnancy. *Placenta* **26**, 268-270 (2005).
122. Mathias, A.A., Hitti, J. & Unadkat, J.D. P-glycoprotein and breast cancer resistance protein expression in human placentae of various gestational ages. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **289**, R963-969 (2005).
123. Zhang, Y., Wang, H., Unadkat, J.D. & Mao, Q. Breast cancer resistance protein 1 limits fetal distribution of nitrofurantoin in the pregnant mouse. *Drug Metab Dispos* **35**, 2154-2158 (2007).
124. Zhou, L.*, et al.* The breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2) limits fetal distribution of glyburide in the pregnant mouse: an Obstetric-Fetal Pharmacology Research Unit Network and University of Washington Specialized Center of Research Study. *Mol Pharmacol* **73**, 949-959 (2008).
125. Gedeon, C., Anger, G., Piquette-Miller, M. & Koren, G. Breast cancer resistance protein: mediating the trans-placental transfer of glyburide across the human placenta. *Placenta* **29**, 39-43 (2008).
126. Cygalova, L.H., Hofman, J., Ceckova, M. & Staud, F. Transplacental pharmacokinetics of glyburide, rhodamine 123, and BODIPY FL prazosin: effect of drug efflux transporters and lipid solubility. *J Pharmacol Exp Ther* **331**, 1118-1125 (2009).

127. Grube, M.*, et al.* Organic anion transporting polypeptide 2B1 and breast cancer resistance protein interact in the transepithelial transport of steroid sulfates in human placenta. *Drug Metab Dispos* **35**, 30-35 (2007).
128. Yeboah, D.*, et al.* Expression of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in human placenta throughout gestation and at term before and after labor. *Can J Physiol Pharmacol* **84**, 1251-1258 (2006).
129. Kis, O., Robillard, K., Chan, G.N. & Bendayan, R. The complexities of antiretroviral drug-drug interactions: role of ABC and SLC transporters. *Trends Pharmacol Sci* **31**, 22-35 (2010).
130. Meyer zu Schwabedissen, H.E.*, et al.* Variable expression of MRP2 (ABCC2) in human placenta: influence of gestational age and cellular differentiation. *Drug Metab Dispos* **33**, 896-904 (2005).
131. Leazer, T.M. & Klaassen, C.D. The presence of xenobiotic transporters in rat placenta. *Drug Metab Dispos* **31**, 153-167 (2003).
132. Lin, L., Yee, S.W., Kim, R.B. & Giacomini, K.M. SLC transporters as therapeutic targets: emerging opportunities. *Nat Rev Drug Discov* **14**, 543-560 (2015).
133. Koepsell, H. & Endou, H. The SLC22 drug transporter family. *Pflugers Arch* **447**, 666-676 (2004).
134. Tomi, M., Nishimura, T. & Nakashima, E. Mother-to-fetus transfer of antiviral drugs and the involvement of transporters at the placental barrier. *J Pharm Sci* **100**, 3708-3718 (2011).
135. Yamamoto, T.*, et al.* Ribavirin uptake by cultured human choriocarcinoma (BeWo) cells and Xenopus laevis oocytes expressing recombinant plasma membrane human nucleoside transporters. *Eur J Pharmacol* **557**, 1-8 (2007).
136. Ugele, B., St-Pierre, M.V., Pihusch, M., Bahn, A. & Hantschmann, P. Characterization and identification of steroid sulfate transporters of human placenta. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **284**, E390-398 (2003).
137. Lee, N.*, et al.* Effect of gestational age on mRNA and protein expression of polyspecific organic cation transporters during pregnancy. *Drug Metab Dispos* **41**, 2225-2232 (2013).
138. Pastor-Anglada, M. & Perez-Torras, S. Nucleoside transporter proteins as biomarkers of drug responsiveness and drug targets. *Front Pharmacol* **6**, 13 (2015).
139. Ahmadimoghaddam, D.*, et al.* Organic cation transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter in the placenta and fetal tissues: expression profile and fetus protective role at different stages of gestation. *Biol Reprod* **88**, 55 (2013).
140. Otsuka, M.*, et al.* A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 17923-17928 (2005).
141. Masuda, S.*, et al.* Identification and functional characterization of a new human kidney-specific H+/organic cation antiporter, kidney-specific multidrug and toxin extrusion 2. *J Am Soc Nephrol* **17**, 2127-2135 (2006).
142. Komatsu, T.*, et al.* Characterization of the human MATE2 proton-coupled polyspecific organic cation exporter. *Int J Biochem Cell Biol* **43**, 913-918 (2011).
143. Staud, F., Cerveny, L., Ahmadimoghaddam, D. & Ceckova, M. Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. *Int J Biochem Cell Biol* **45**, 2007-2011 (2013).
144. Terada, T.*, et al.* Molecular cloning, functional characterization and tissue distribution of rat H+/organic cation antiporter MATE1. *Pharm Res* **23**, 1696-1701 (2006).
145. Tsuda, M.*, et al.* Oppositely directed H+ gradient functions as a driving force of rat H+/organic cation antiporter MATE1. *Am J Physiol Renal Physiol* **292**, F593-598 (2007).
146. Yonezawa, A. & Inui, K. Importance of the multidrug and toxin extrusion MATE/SLC47A family to pharmacokinetics, pharmacodynamics/toxicodynamics and pharmacogenomics. *Br J Pharmacol* **164**, 1817-1825 (2011).
147. Yonezawa, A. & Inui, K. Organic cation transporter OCT/SLC22A and H(+)/organic cation antiporter MATE/SLC47A are key molecules for nephrotoxicity of platinum agents. *Biochem Pharmacol* **81**, 563-568 (2011).
148. Jennings, L.L.*, et al.* Distinct regional distribution of human equilibrative nucleoside transporter proteins 1 and 2 (hENT1 and hENT2) in the central nervous system. *Neuropharmacology* **40**, 722-731 (2001).
149. Loffler, M., Morote-Garcia, J.C., Eltzschig, S.A., Coe, I.R. & Eltzschig, H.K. Physiological roles of vascular nucleoside transporters. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **27**, 1004-1013 (2007).
150. Leiva, A.*, et al.* Adenosine receptors: Modulators of lipid availability that are controlled by lipid levels. *Mol Aspects Med* **55**, 26-44 (2017).
151. Pardo, F.*, et al.* Role of equilibrative adenosine transporters and adenosine receptors as modulators of the human placental endothelium in gestational diabetes mellitus. *Placenta* **34**, 1121-1127 (2013).
152. Pardo, F.*, et al.* Molecular implications of adenosine in obesity. *Mol Aspects Med* **55**, 90-101 (2017).

153. Saez, T.*, et al.* Human umbilical vein endothelium-derived exosomes play a role in foetoplacental endothelial dysfunction in gestational diabetes mellitus. *Biochim Biophys Acta* **1864**, 499-508 (2018).
154. Salsoso, R.*, et al.* Adenosine and preeclampsia. *Mol Aspects Med* **55**, 126-139 (2017).
155. Silva, L.*, et al.* Insulin/adenosine axis linked signalling. *Mol Aspects Med* **55**, 45-61 (2017).
156. Pastor-Anglada, M. & Perez-Torras, S. Who Is Who in Adenosine Transport. *Front Pharmacol* **9**, 627 (2018).
157. Pastor-Anglada, M., Urtasun, N. & Perez-Torras, S. Intestinal Nucleoside Transporters: Function, Expression, and Regulation. *Compr Physiol* **8**, 1003-1017 (2018).
158. Ma, Z.*, et al.* Multiple SLC and ABC Transporters Contribute to the Placental Transfer of Entecavir. *Drug Metab Dispos* **45**, 269-278 (2017).
159. Molina-Arcas, M., Casado, F.J. & Pastor-Anglada, M. Nucleoside transporter proteins. *Curr Vasc Pharmacol* **7**, 426-434 (2009).
160. Aymerich, I., Pastor-Anglada, M. & Casado, F.J. Long term endocrine regulation of nucleoside transporters in rat intestinal epithelial cells. *J Gen Physiol* **124**, 505-512 (2004).
161. Bicket, A.*, et al.* Novel regulation of equlibrative nucleoside transporter 1 (ENT1) by receptor-stimulated Ca2+-dependent calmodulin binding. *Am J Physiol Cell Physiol* **310**, C808-820 (2016).
162. Errasti-Murugarren, E.*, et al.* Role of the transporter regulator protein (RS1) in the modulation of concentrative nucleoside transporters (CNTs) in epithelia. *Mol Pharmacol* **82**, 59-67 (2012).
163. Fernandez-Calotti, P. & Pastor-Anglada, M. All-trans-retinoic acid promotes trafficking of human concentrative nucleoside transporter-3 (hCNT3) to the plasma membrane by a TGF-beta1-mediated mechanism. *J Biol Chem* **285**, 13589-13598 (2010).
164. Fernandez-Calotti, P.X., Lopez-Guerra, M., Colomer, D. & Pastor-Anglada, M. Enhancement of fludarabine sensitivity by all-trans-retinoic acid in chronic lymphocytic leukemia cells. *Haematologica* **97**, 943-951 (2012).
165. Cheng, X. & Klaassen, C.D. Regulation of mRNA expression of xenobiotic transporters by the pregnane x receptor in mouse liver, kidney, and intestine. *Drug Metab Dispos* **34**, 1863-1867 (2006).
166. Morote-Garcia, J.C., Rosenberger, P., Nivillac, N.M., Coe, I.R. & Eltzschig, H.K. Hypoxia-inducible factor-dependent repression of equilibrative nucleoside transporter 2 attenuates mucosal inflammation during intestinal hypoxia. *Gastroenterology* **136**, 607-618 (2009).
167. Reyes, G.*, et al.* The Equilibrative Nucleoside Transporter (ENT1) can be phosphorylated at multiple sites by PKC and PKA. *Mol Membr Biol* **28**, 412-426 (2011).
168. Coe, I., Zhang, Y., McKenzie, T. & Naydenova, Z. PKC regulation of the human equilibrative nucleoside transporter, hENT1. *FEBS Lett* **517**, 201-205 (2002).
169. Grden, M.*, et al.* High glucose suppresses expression of equilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1) in rat cardiac fibroblasts through a mechanism dependent on PKC-zeta and MAP kinases. *J Cell Physiol* **215**, 151-160 (2008).
170. Leung, G.P., Man, R.Y. & Tse, C.M. D-Glucose upregulates adenosine transport in cultured human aortic smooth muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **288**, H2756-2762 (2005).
171. Baldwin, S.A.*, et al.* Functional characterization of novel human and mouse equilibrative nucleoside transporters (hENT3 and mENT3) located in intracellular membranes. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 15880-15887 (2005).
172. Govindarajan, R.*, et al.* Facilitated mitochondrial import of antiviral and anticancer nucleoside drugs by human equilibrative nucleoside transporter-3. *Am J Physiol-Gastr L* **296**, G910-G922 (2009).
173. Wei, C.W.*, et al.* Equilibrative Nucleoside Transporter 3 Regulates T Cell Homeostasis by Coordinating Lysosomal Function with Nucleoside Availability. *Cell Rep* **23**, 2330-2341 (2018).
174. Engel, K., Zhou, M.Y. & Wang, J. Identification and characterization of a novel monoamine transporter in the human brain. *Journal of Biological Chemistry* **279**, 50042-50049 (2004).
175. Barnes, K.*, et al.* Distribution and functional characterization of equilibrative nucleoside transporter-4, a novel cardiac adenosine transporter activated at acidic pH. *Circulation Research* **99**, 510-519 (2006).
176. Pastor-Anglada, M. & Perez-Torras, S. Emerging Roles of Nucleoside Transporters. *Front Pharmacol* **9**, 606 (2018).
177. Grane-Boladeras, N., Spring, C.M., Hanna, W.J., Pastor-Anglada, M. & Coe, I.R. Novel nuclear hENT2 isoforms regulate cell cycle progression via controlling nucleoside transport and nuclear reservoir. *Cell Mol Life Sci* **73**, 4559-4575 (2016).
178. Barros, L.F., Bustamante, J.C., Yudilevich, D.L. & Jarvis, S.M. Adenosine transport and nitrobenzylthioinosine binding in human placental membrane vesicles from brush-border and basal sides of the trophoblast. *J Membr Biol* **119**, 151-161 (1991).

179. Barros, L.F.*, et al.* Immunolocalisation of nucleoside transporters in human placental trophoblast and endothelial cells: evidence for multiple transporter isoforms. *Pflugers Arch* **429**, 394-399 (1995).
180. Errasti-Murugarren, E., Diaz, P., Godoy, V., Riquelme, G. & Pastor-Anglada, M. Expression and distribution of nucleoside transporter proteins in the human syncytiotrophoblast. *Mol Pharmacol* **80**, 809-817 (2011).
181. Govindarajan, R.*, et al.* In situ hybridization and immunolocalization of concentrative and equilibrative nucleoside transporters in the human intestine, liver, kidneys, and placenta. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **293**, R1809-1822 (2007).
182. Sai, Y.*, et al.* Characterization of the mechanism of zidovudine uptake by rat conditionally immortalized syncytiotrophoblast cell line TR-TBT. *Pharm Res* **25**, 1647-1653 (2008).
183. Sato, K.*, et al.* Influx mechanism of 2',3'-dideoxyinosine and uridine at the blood-placenta barrier. *Placenta* **30**, 263-269 (2009).
184. Lai, Y., Bakken, A.H. & Unadkat, J.D. Simultaneous expression of hCNT1-CFP and hENT1-YFP in Madin-Darby canine kidney cells. Localization and vectorial transport studies. *J Biol Chem* **277**, 37711-37717 (2002).
185. Mangravite, L.M., Lipschutz, J.H., Mostov, K.E. & Giacomini, K.M. Localization of GFP-tagged concentrative nucleoside transporters in a renal polarized epithelial cell line. *Am J Physiol Renal Physiol* **280**, F879-885 (2001).
186. Nishimura, T.*, et al.* Mechanism of nucleoside uptake in rat placenta and induction of placental CNT2 in experimental diabetes. *Drug metabolism and pharmacokinetics* **27**, 439-446 (2012).
187. Perez-Torras, S.*, et al.* Concentrative nucleoside transporter 1 (hCNT1) promotes phenotypic changes relevant to tumor biology in a translocation-independent manner. *Cell Death Dis* **4**, e648 (2013).
188. Hirata, S.*, et al.* Interactions between clarithromycin and digoxin in patients with end-stage renal disease. *Int J Clin Pharmacol Ther* **43**, 30-36 (2005).
189. Vallakati, A., Chandra, P.A., Pednekar, M., Frankel, R. & Shani, J. Dronedarone-induced digoxin toxicity: new drug, new interactions. *Am J Ther* **20**, e717-719 (2013).
190. Jerling, M. Clinical pharmacokinetics of ranolazine. *Clin Pharmacokinet* **45**, 469-491 (2006).
191. Ding, R.*, et al.* Substantial pharmacokinetic interaction between digoxin and ritonavir in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* **76**, 73-84 (2004).
192. Greiner, B.*, et al.* The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *J Clin Invest* **104**, 147-153 (1999).
193. Gervasoni, C.*, et al.* Effects of ritonavir and cobicistat on dolutegravir exposure: when the booster can make the difference. *J Antimicrob Chemother* **72**, 1842-1844 (2017).
194. Cattaneo, D.*, et al.* Dolutegravir plasma concentrations according to companion antiretroviral drug: unwanted drug interaction or desirable boosting effect? *Antivir Ther* **22**, 353-356 (2017).
195. Elliot, E.R.*, et al.* Once-daily atazanavir/cobicistat and darunavir/cobicistat exposure over 72 h post-dose in plasma, urine and saliva: contribution to drug pharmacokinetic knowledge. *J Antimicrob Chemother* **72**, 2035-2041 (2017).
196. Kumar, P.*, et al.* Differential Influence of the Antiretroviral Pharmacokinetic Enhancers Ritonavir and Cobicistat on Intestinal P-Glycoprotein Transport and the Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Disposition of Dabigatran. *Antimicrob Agents Chemother* **61**(2017).
197. Breedveld, P.*, et al.* Mechanism of the pharmacokinetic interaction between methotrexate and benzimidazoles: potential role for breast cancer resistance protein in clinical drug-drug interactions. *Cancer Res* **64**, 5804-5811 (2004).
198. Bae, S.H.*, et al.* Physiologically-based pharmacokinetic predictions of intestinal BCRP-mediated drug interactions of rosuvastatin in Koreans. *Korean J Physiol Pharmacol* **22**, 321-329 (2018).
199. Alam, K.*, et al.* Regulation of Organic Anion Transporting Polypeptides (OATP) 1B1- and OATP1B3-Mediated Transport: An Updated Review in the Context of OATP-Mediated Drug-Drug Interactions. *Int J Mol Sci* **19**(2018).
200. Hibma, J.E.*, et al.* The Effect of Famotidine, a MATE1-Selective Inhibitor, on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Metformin. *Clin Pharmacokinet* **55**, 711-721 (2016).
201. Rubinchik-Stern, M. & Eyal, S. Drug Interactions at the Human Placenta: What is the Evidence? *Front Pharmacol* **3**, 126 (2012).
202. Iniesta-Navalon, C., Franco-Miguel, J.J., Gascon-Canovas, J.J. & Rentero-Redondo, L. Identification of potential clinically significant drug interactions in HIV-infected patients: a comprehensive therapeutic approach. *HIV Med* **16**, 273-279 (2015).

203. Cianfriglia, M.*, et al.* HIV-1 integrase inhibitors are substrates for the multidrug transporter MDR1-P-glycoprotein. *Retrovirology* **4**, 17 (2007).
204. Moss, D.M.*, et al.* Rilpivirine inhibits drug transporters ABCB1, SLC22A1, and SLC22A2 in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* **57**, 5612-5618 (2013).
205. Zembruski, N.C.*, et al.* Potential of novel antiretrovirals to modulate expression and function of drug transporters in vitro. *J Antimicrob Chemother* **66**, 802-812 (2011).
206. Reznicek, J.*, et al.* MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption. *Antimicrob Agents Chemother* **61**(2017).
207. Reznicek, J., Ceckova, M., Cerveny, L., Muller, F. & Staud, F. Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. *Xenobiotica* **47**, 77-85 (2017).
208. Cerveny, L., Ptackova, Z., Durisova, M. & Staud, F. Interactions of protease inhibitors atazanavir and ritonavir with ABCB1, ABCG2, and ABCC2 transporters: Effect on transplacental disposition in rats. *Reprod Toxicol* **79**, 57-65 (2018).
209. Ceckova, M.*, et al.* Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* **60**, 5563-5572 (2016).
210. Schalkwijk, S.*, et al.* Prediction of Fetal Darunavir Exposure by Integrating Human Ex-Vivo Placental Transfer and Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling. *Clin Pharmacokinet* **57**, 705-716 (2018).

6. Soubor publikovaných prací