

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**  
Katedra biologických a lékařských věd

**Antimikrobiální účinek selektivních inhibitorů zpětného  
vychytávání serotoninu**  
(diplomová práce)

Hradec Králové, 2006

Jaromír Vlach

Děkuji PharmDr. Petru Jílkovi, CSc. za odborné vedení, pomoc a cenné poznatky, které jsem získal během diplomové práce. Rád bych také poděkoval paní Idě Dufkové za ochotu a pomoc při práci v laboratoři.

## OBSAH

1.	Zkratky .....	4
2.	Úvod.....	5
3.	Teoretická část.....	6
3.1.	Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu.....	6
3.1.1.	Serotonin a deprese .....	6
3.1.2.	Obecná charakteristika selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu .....	6
3.1.3.	Mechanismus účinku .....	8
3.1.4.	Farmakokinetické vlastnosti SSRI .....	8
3.1.5.	Plazmatické koncentrace a klinický účinek .....	9
3.2.	Antimikrobiální účinky netradičních antibiotik.....	10
3.3.	Imunomodulační a antimikrobiální vlastnosti lithia a antidepresiv .....	14
3.4.	Antibakteriální účinek SSRI .....	16
3.4.1.	Spektrum účinku .....	16
3.4.2.	Mechanismus účinku SSRI.....	16
3.4.3.	Potenciace účinku antibiotik účinkem SSRI.....	17
3.4.4.	Antibakteriální účinek v závislosti na modifikaci struktury .....	19
3.4.5.	Možné užití SSRI v léčbě bakteriálních infekcí .....	20
3.5.	Antifungální účinek SSRI .....	21
3.5.1.	Aktivita SSRI proti <i>Candida</i> species .....	21
3.5.2.	Aktivita SSRI proti <i>Aspergillus</i> species .....	22
3.5.3.	Nespecifický účinek SSRI proti houbám .....	23
3.5.4.	Imidazolové analogy fluoxetinu.....	24
3.5.5.	Účinek serotoninu proti houbám .....	25
3.6.	Vliv SSRI na rezistentní kmeny <i>Plasmodium falciparum</i> .....	27
4.	Experimentální část .....	29
4.1.	Materiál.....	29
4.1.1.	Mikroorganismy .....	29
4.1.2.	Pomůcky a přístroje .....	29
4.1.3.	Léčiva, roztoky, média.....	30
4.2.	Pracovní postup.....	30
4.2.1.	Příprava roztoků zkoumaných látek.....	30
4.2.2.	Příprava buněčných suspenzí testovaných kmenů bakterií .....	30
4.2.3.	Stanovení aktivity metodou mikroředění v bujonu .....	30
4.3.	Vyjádření výsledků.....	31
5.	Výsledky.....	32
5.1.	Aktivita paroxetinu a fluoxetinu <i>in vitro</i> proti testovaným bakteriálním kmenům.....	32
6.	Diskuse .....	37
7.	Závěr.....	42
8.	Souhrn .....	43
9.	Seznam použité literatury.....	44

## 1. Zkratky

5-HT	serotonin
CNS	centrální nervový systém
HPA	hypotalamus-hypofýza-nadledviny osa
IC <sub>50</sub>	50% inhibiční koncentrace
IS	imunitní systém
MDR	„multi drug rezistence“ efluxní pumpa
MFC	minimální fungicidní koncentrace
MIC	minimální inhibiční koncentrace
PG	prostaglandiny
sp./spp.	species – v textu není striktně rozlišeno, zda se jedná o jeden určitý, nebo více různých druhů
SERT	Na <sup>+</sup> závislý serotoninový transportér
SSRI	selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu

## 2. Úvod

V současnosti je jedním z velkých problémů terapie infekčních onemocnění zvyšující se výskyt mikroorganismů rezistentních vůči známým antibiotickým léčivům. Proto se farmaceutický výzkum intenzivně soustředí na hledání nových účinných látek nebo látek schopných zvyšovat účinnost tradičních antibiotik. Dalším možným přístupem je přehodnocení vlastností a potenciálu léčiv již používaných v jiných indikacích, u kterých se objevují poznatky o jejich antimikrobiálním působení jako vedlejším účinku.

V naší práci se snažíme potvrdit výsledky nedávných zjištění, že selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu mají vedle účinku antidepresivního i účinek antimikrobiální. Studovali jsme *in vitro* aktivitu paroxetinu a fluoxetinu proti standardním i klinicky izolovaným bakteriálním kmenům. Stanovili jsme minimální inhibiční koncentrace daných látek pro každý bakteriální kmen mikrodiluční metodou v bujónu.

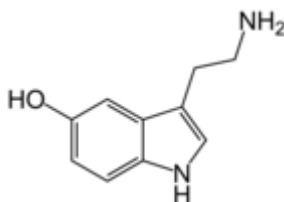
Pokoušíme se zhodnotit, zda jsou selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu nadějí pro lékařskou praxi a zda mohou být použity jako doplněk či alternativa stávajících terapeutických postupů při léčbě infekčních onemocnění.

### 3. Teoretická část

#### 3.1. Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu

##### 3.1.1. Serotonin a deprese

Deprese je podle monoaminové teorie výsledkem funkční nedostatečnosti serotoninergního nebo noradrenergního přenosu v centrálním nervovém systému (CNS). Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) je syntetizován jak v CNS, tak na periférii, nepřechází však hematoencefalickou bariérou. V nervových zakončeních je 5-HT přítomen ve vezikulách i extravezikulárně, po uvolnění do synapse je významně zpětně vychytáván do nervových zakončení nebo odbouráván monoaminoxigenázami. Známe několik podtypů 5-HT receptorů, odlišených podle lokalizace v organismu a funkce (Tilšer, 2005).



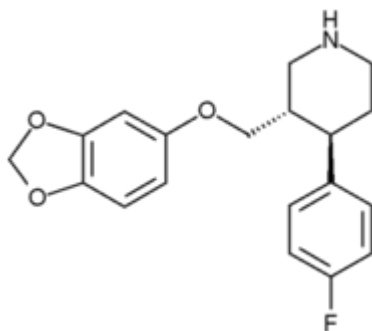
serotonin

##### 3.1.2. Obecná charakteristika selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu

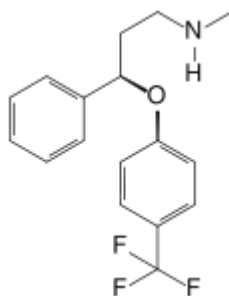
Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) představují třetí generaci thymoleptik (antidepresiv). Jsou to moderní preparáty, jejichž výhodou je především minimum nežádoucích účinků oproti tricyklickým antidepresivům. Jsou stále častěji používány jako léky první volby při léčbě depresivních onemocnění (Suchopár a kol., 1999).

Působí výlučně na receptorech pro serotonin, mají zanedbatelnou aktivitu na centrálních noradrenalinových (NA) a acetylcholinových (ACH) receptorech. Mají tedy čistý účinek na patologický afekt smutku a na některé úzkostné poruchy, např. panickou úzkostnou poruchu a obsedantně úzkostnou poruchu. Dále je možné je použít např. k terapii bulimia nervosa, sociální fóbie, posttraumatické stresové poruchy a patologického hráčství (Suchopár a kol., 1999).

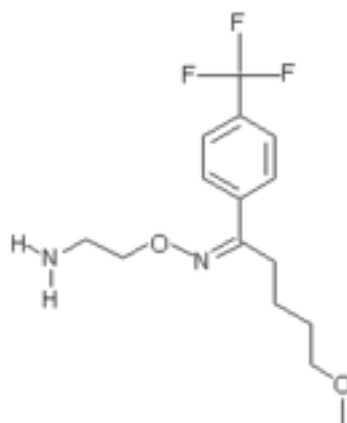
Z nejčastěji užívaných SSRI uveďme *paroxetin*, *fluoxetin*, *fluvoxamin*, *citalopram* a *sertralin*.



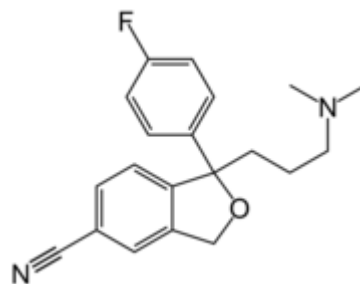
paroxetin



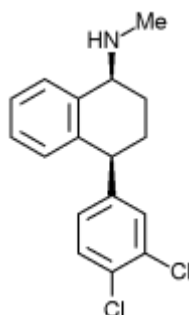
fluoxetin



fluvoxamin



citalopram



sertraline

### 3.1.3. Mechanismus účinku

SSRI ovlivňují chování 5-HT v synaptické štěrbině neuronu, působí inhibičně především na Na<sup>+</sup> iontech závislý serotoninový transportní protein (SERT), který je zodpovědný za zpětné vychytávání (reuptake) 5-HT do presynaptického neuronu (Schloss a Williams, 1998). Blokáda SERT způsobí zvýšení dostupnosti serotoninu pro vazbu na postsynaptických receptorech (Suchopár a kol., 1999).

### 3.1.4. Farmakokinetické vlastnosti SSRI

Navzdory rozdílům ve struktuře jednotlivých SSRI, mají všechna tato léčiva podobné farmakokinetické vlastnosti. Jsou to látky lipofilní povahy. Po perorálním podání se z trávicího ústrojí dobře vstřebávají. Přítomnost potravy snižuje rychlost jejich vstřebávání, ale výrazněji neovlivňuje míru absorpce (De Vane, 1999).

SSRI jsou všechny silně metabolizovány v játrech a některé metabolity jsou farmakologicky účinné. Tyto látky jsou inhibitory jaterních izoenzymů cytochromu P-450 a mohou zvyšovat plazmatické koncentrace mnoha současně podaných léčiv. Renální clearance je nízká, obecně je méně než 10%



z podané dávky SSRI vyloučeno ledvinami v nezměněné podobě (De Vane, 1999).

### 3.1.5. Plazmatické koncentrace a klinický účinek

Průměrné ustálené plazmatické koncentrace SSRI po perorálním podání dosahují v závislosti na dávce desítek až stovek  $\mu\text{g/l}$ , podrobněji uvádíme v tabulce 1. Za určitých okolností se mohou tyto látky kumulovat v některých tkáních a orgánech – především v CNS, dále v játrech, plicích a ledvinách (De Vane, 1999).

podání (De Vane, 1999)

Léčivo	průměrná denní dávka v mg	průměrná ustálená koncentrace léčiva v plazmě v $\mu\text{g/l}$
Paroxetin	20 – 50	10 - 600
Fluoxetin	20 – 80	90 - 300 (max.1000)
Fluvoxamin	100 - 300	20 - 500
Citalopram	10 – 40	40 - 300 (max. 600)
Sertralin	50 – 200	20 – 200

Vazba SSRI na plazmatické bílkoviny je velká: od 77% pro fluvoxamin do 98,5% pro sertralin. Biologická dostupnost je více než 44% u sertralinu, 53% u fluvoxaminu, 64% u paroxetinu, 80% u fluoxetinu a 95% u citalopramu (De Vane, 1999).

Nebyla pozorována významná závislost mezi dávkou podaného SSRI, dosaženou plazmatickou koncentrací léčiva a jeho terapeutickým účinkem nebo případnými nežádoucími účinky. SSRI jsou proto látky relativně bezpečné s širokým terapeutickým indexem (De Vane, 1999).

### 3.2. Antimikrobiální účinky netradičních antibiotik

Termínem netradiční antibiotika označujeme různé sloučeniny, které jsou běžně používané k léčbě onemocnění neinfekční etiologie. Tyto látky často ovlivňují propustnost a funkci biologických membrán a mohou působit na široké spektrum mikroorganismů. Netradiční antibiotika se zdají být nadějí pro léčbu komplikovaných infekcí, které jsou těžko zvládnutelné současnými terapeutickými postupy (Kristiansen a Amaral, 1997).

Farmaceutický výzkum se soustředí především na obměnu známých struktur antibiotických léčiv, rozšíření jejich spektra působení, potlačení nežádoucích účinků jednotlivých látek a zamezení rozvoje rezistence mikrobů. Otázkou však zůstává, zda tyto možnosti již nebyly téměř vyčerpány. Přitom se objevují neustále nové poznatky o vlivu netradičních antibiotik na mikroorganismy.

Antimikrobiální účinky syntetických látek, např. fenothiazinů nebo methylenové modři, objevil už na konci 19. století Ehrlich (Kristiansen a Amaral, 1997).

Látky ze skupiny nesteroidních antiflogistik, především indometacin a diklofenak, vykazují *in vitro* aktivitu proti bakteriím rodu *Brucella*. Dosažitelné plazmatické koncentrace těchto látek jsou však asi 10-krát nižší než zjištěné minimální inhibiční koncentrace (MIC). Při zánětu však může koncentrace léčiva např. v kloubní tekutině stoupat až k hodnotám MIC (Munoz-Criado a kol., 1996).

Mnohá psychofarmaka také působí antimikrobiálně. Fenothiaziny a thioxanteny poškozují plazmatickou membránu i stěnu eukariotických buněk. Chlorpromazin způsobuje změny ve struktuře bakteriální stěny u kmene *Staphylococcus aureus* velmi podobné účinkům  $\beta$ -laktámových antibiotik. Pravděpodobně také ovlivňuje funkci buněčné membrány, inhibuje eliminaci (eflux) léčiva z buňky, a jeho současné podání s  $\beta$ -laktámy působí synergicky. Chlorpromazin má schopnost zvrátit resistenci tzv. methicilin rezistentních kmenů *S. aureus*, je-li podán současně s methicilinem. Cílovou bakteriální strukturou pro chlorpromazin jsou pravděpodobně, podobně jako u penicilinových antibiotik, penicilin vázící proteiny (Kristiansen a Amaral, 1997).

Chlorpromazin mění morfologii *Escherichia coli* a podobně jako ampicilin zvyšuje elongaci buněk gram-negativních bakterií (Kristiansen a Amaral, 1997).

Chlorpromazin je také aktivní *in vitro* proti *Corynebacterium urealyticum*, bakterii rezistentní k mnoha antibiotikům, která způsobuje infekce urogenitálního traktu (Munoz-Bellido a kol., 1996).

Fenothiaziny se ukázaly být *in vitro* účinné i proti *Mycobacterium tuberculosis*. Léčba tuberkulózy je komplikovaná velkým výskytem rezistentních kmenů mykobaktérií. Terapie konvenčními antibiotiky je stále méně úspěšná. Účinné *in vitro* koncentrace fenothiazinů proti mykobakteriím jsou nad hranicí koncentrací dosažitelných v plazmě. Avšak fenothiaziny jsou téměř 100-krát více koncentrovány v makrofázích (Williams, 1995) a plicních buňkách (Crowie a kol., 1992), je tedy možné dosáhnout potřebných intracelulárních hladin léčiva. Proto jsou velkou nadějí pro léčbu tuberkulózy deriváty fenothiazinů s nižším účinkem na CNS. Thioridazin, fenothiazinový derivát s nižším výskytem nežádoucích účinků než chlorpromazin, je účinný proti kmenům *Micobacterium tuberculosis*, citlivým i rezistentním vůči běžné antibiotické léčbě (Amaral a kol., 1997).

Tricyklická a heterocyklická antidepresiva, neuroleptika a inhibitory zpětného vychytávání monoaminů jsou schizontocidní (Kristiansen, 1992) a zvyšují aktivitu chlorochinu proti chlorochin senzitivním i chlorochin rezistentním kmenům *Plasmodium falciparum* (Gerena a kol., 1992).

Bylo prokázáno, že fenothiaziny (chlorpromazin, promethazin) a antidepresiva (amitriptilin, imipramin) inhibují *in vitro* skupinový pohyb gram-negativních enterobakterií z rodu *Proteus*, *Morganella* a *Providencia*. Tyto bakterie jsou oportunními patogeny, způsobují infekce močového traktu a skupinový pohyb je jejich významným virulenčním faktorem (Munoz-Criado a kol., 1998).

Netradiční antibiotika jsou nadějí pro léčbu infekčních onemocnění. Otevírají se nové možnosti terapeutických postupů, ať již v použití samotných netradičních antibiotik, ale především v synergickém působení spolu s klasickými antibiotiky. Výhodami synergického působení a potenciace jsou:

- konvenční antibiotikum je v běžných dávkách toxické a jeho kombinací s netradičním antibiotikem lze snížit jeho dávku na hladinu neohrožující pacienta.

- antibiotikum je v běžné terapeutické dávce neúčinné, jeho potenciáci lze dosáhnout zvýšení jeho aktivity.
- potenciáci antibiotikum – netradiční antibiotikum lze dosáhnout zvratu v rezistenci mikroorganismu (Kristiansen a Amaral, 1997).

Příklady antimikrobiálně účinných látek přinášíme v tabulce 2. Příklady synergického působení konvenčních antibiotik a netradičních antibiotik zobrazuje tabulka 3.

Tabulka 2 - Příklady antimikrobiálně účinných látek (Kristiansen a Amaral, 1997)

Léčivo	Citlivý mikroorganismus
<b>Celková anestetika</b>	
Phenobarbital	<i>Escherichia coli</i>
Thiobarbital	
Chloroform	<i>Staphylococcus aureus</i>
Ether	
Halothan	
Enfluran	<i>S. aureus, E. coli, Corynebacterium diphtheriae, Serratia marcescens, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Lokální anestetika</b>	
Lidokain	<i>S. aureus, E. coli, Shigella spp., Vibrio cholerae, Proteus mirabilis, P. aeruginosa, Enterococcus faecalis, Bacillus cereus, Candida albicans</i>
Lignokain	
Prokain	
Tetrakain	
<b>Antihypertenziva</b>	
Beta-adrenolytika	
Bupranolol	<i>S. aureus, P. aeruginosa, Bacillus subtilis, C. albicans</i>
Propranolol	<i>S. aureus, E. coli, P. aeruginosa</i>
methyl-dopa	<i>S. aureus, E. coli, Shigella spp., V. cholera</i>
<b>Diuretika</b>	
Amilorid	<i>E. faecalis</i>
Triamteren	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<b>Antiflogistika</b>	
Salicylát sodný	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b>Mucolytika</b>	
N-acetylcystein	<i>S. aureus, P. aeruginosa</i>
<b>Inhibitory protonové pumpy</b>	
Omeprazol	<i>Helicobacter pylori</i>
Lansoprazol	
<b>Blokátory kalciových kanálů</b>	
Verapamil	<i>Trypanosoma</i>

Léčivo	Citlivý mikroorganismus
<b>Antihistaminika</b>	
Ciproheptaden	<i>Plasmodium berghei, Plasmodium yoelii, Plasmodium falciparum</i>
Ketotifen	
Pizotifen	
Bromodiphenhydramin	<i>S. aureus, S. pneumoniae, E. coli, Klebsiella spp., Pseudomonas spp., Shigella spp., V. cholera</i>
Diphenhydramin	
Promethazin	
<b>Psychofarmaka</b>	
Chlorpromazin	<i>S. aureus, E. faecalis, E. coli, Mycobacterium tuberculosis, atypická mykobakteria, herpes simplex virus, chřipkové viry, virus spalniček</i>
Thioxanthy	<i>V. cholerae, P. falciparum, Leishmania spp., Candida spp., Amoeba spp. Herpes simplex virus</i>
Phenothiaziny	Střevní anaeroby, <i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp.
Amitriptilin	<i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Eubacterium</i> spp., <i>Propionibacterium</i> spp., <i>Actinomyces</i> spp., <i>Peptococcus</i> spp.
Diazepam	<i>Peptostreptococcus</i> spp.
Chlordiazepoxid	Rauscherův virus myši leukémie
Haloperidol	
Trifluorperazin	
Lithium	Herpes simplex virus

Tabulka 3 - Příklady synergie netradiční antibiotikum/konvenční antibiotikum (Kristiansen a Amaral, 1997)

Netradiční ATB / Konvenční ATB	Citlivé mikroorganismy
<b>Antihistaminika</b>	
Bromodiphenhydramin/ampicilin	<i>S. aureus</i>
Methdilazine/aminoglykosidy	<i>S. aureus, S. pneumoniae, E. coli</i>
<b>Blakátory kalciových kanálů</b>	
Amlodipin/chlorochin	<i>P. falciparum, P. yoelii</i>
<b>Psychofarmaka</b>	
Chlorpromazin/streptomycin	<i>Brucella abortus</i>
Chlorpromazin/izoniazid	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
Chlorpromazin/beta-laktamy	<i>E. coli, S. aureus</i>
Chlorpromazin/aminoglykosidy	
Chlorpromazin/chinolony	
Chlorpromazin/erytromycin	<i>Bordetella pertussis</i>
Fenothiaziny/erytromycin	<i>S. aureus</i>
Amitriptylin/streptomycin	<i>S. aureus</i>
Perphenazin/kyselina nalidixová	<i>P. aeruginosa</i>
Transclopenthixol/penicilin	<i>S. pneumoniae</i>
Desipramin/chlorochin	<i>P. falciparum</i>
Chlorpromazin/chlorochin	<i>P. falciparum</i>
<b>Diuretika</b>	
Amilorid/tobramycin	<i>Burkholderia cepacia</i>

### **3.3. Imunomodulační a antimikrobiální vlastnosti lithia a antidepresiv**

Velmi zajímavé výsledky výzkumu přináší ve své práci Lieb (2004). Odhaluje vztahy mezi antimikrobiálním působením lithia a antidepresiv a účinkem metabolických produktů kyseliny arachidonové (eikosanoidů), především prostaglandinů (PG), na imunitní systém a náladu.

Eikosanoidy ovlivňují všechny buňky v těle. Regulují buňky nervových synapsí, buněčné složky imunitního systému a podílí se na řízení osy hypothalamus - hypofýza - nadledviny (HPA) (Lieb, 2004).

Bakterie a houby také produkují eikosanoidy. Viry, bakterie a houby mají schopnost indukovat syntézu eikosanoidů v buňkách hostitele. Zvýšená produkce prostaglandinů může vézt k aktivaci latentního viru. Dále byl zkoumán vztah mezi PG a HIV viry. HIV virus je schopen konvertovat arachidonovou kyselinu na prostaglyndin E2 (PGE2). Pacienti s AIDS demencí mají významně zvýšenou hladinu PGE2 v mozkomíšním moku (Dumais a kol., 1998), PGE2 navozuje aktivaci virové DNA v T-lymfocytech (Griffin, 1994) a může být zodpovědný za imunosupresi, která je hlavním znakem AIDS (Lieb, 2004).

Není příliš známé, že lithium a antidepresiva, podobně jako nesteroidní antiflogistika, inhibují cyklooxygenázu, enzym účastnící se přeměny arachidonové kyseliny na eikosanoidy. Fluoxetin např. inhibuje syntézu prostaglandinů (Yaron a kol., 1999). Antidepresiva tedy svou inhibicí tvorby prostaglandinů mohou ovlivňovat a stimulovat imunitní systém a nepřímo tak působit antimikrobiálně (Lieb, 2004).

Negativní vliv deprese a stresu na imunitní systém a jeho buněčné složky je dobře známý (Reite a kol., 1981). U pacientů trpících depresemi byly nalezeny zvýšené koncentrace PGE2 v krevních destičkách (Abdulla a Hamadah, 1975), v mozkomíšním moku (Linnoila a kol., 1983), slinách (Ohishi a kol., 1988) a plazmě. Prostaglandiny jsou aktivní v CNS a mají vliv na emoce a náladu. Nadměrná syntéza PG zřejmě negativně působí na činnost CNS (Lieb a kol., 1983).

Autonomní nervový systém je regulátorem činnosti lymfoidních orgánů (Friedman a Irwin, 1997). PG jsou klíčovými mediátory, které zprostředkovávají komunikaci HPA osy a imunitního systému (Cover a kol., 2001).

Lithium a antidepresiva mají přímý antimikrobiální účinek. Vedle toho působí imunostimulačně inhibicí tvorby eikosanoidů. Antidepresiva samotná také

zvyšují např. aktivitu NK buněk *in vitro* a *in vivo* (Frank a kol., 1999). Nadbytek eikosanoidů negativně ovlivňuje činnost CNS a imunitního systému (Lieb, 2004).

Současné poznatky tedy naznačují, že antimikrobiální účinek antidepresiv, tedy i SSRI, lze rozdělit do několika úrovní, které spolu úzce souvisí. Antidepresiva působí přímo na mikroby a dále ovlivňují fyziologické pochody, jimiž se organismus sám brání proti infekci.

### 3.4. Antibakteriální účinek SSRI

#### 3.4.1. Spektrum účinku

SSRI jsou látky, které v lidském těle zvyšují koncentraci serotoninu v synaptické štěrbině neuronu. Inhibují zpětné vychytávání serotoninu (reflux) do pre-synaptické membrány nervové buňky.

Studie, které probíhají od 90. let minulého století však ukazují na výraznou antimikrobiální aktivitu těchto látek především proti gram-pozitivním bakteriím. Velmi dobře působí na stafylokoky a enterokoky. Avšak proti streptokokům, citlivým k běžným antibiotikům se zdají být neúčinné. Překvapivě se prokázal efekt SSRI proti gram-negativním bakteriím jako *Haemophilus influenzae*, *Morganella catarrhalis*, *Campylobacter jejuni* a dokonce i proti problematicky léčitelným mikroorganismům jako *Acinetobacter* (Munoz-Bellido a kol., 2000).

SSRI působí na některé anaerobní bakterie, jako jsou *Bacteroides fragilis*, ať již se jedná o kmeny citlivé či rezistentní k běžným antibiotikům (Munoz-Bellido a kol., 2000).

SSRI mají účinek proti rodu *Brucella*, srovnatelný s některými nesteroidními antiflogistiky, např. diclofenakem (Munoz-Criado a kol., 1996).

Studie, která zkoumala účinnost psychofarmak na bakterii *Corynebacterium urealyticum*, odhalila, že fluoxetin a paroxetin mají podobnou nebo mírně lepší aktivitu ve srovnání s tetracykliny. Nejúčinnější psychoaktivní látkou byl sertralin, účinnější než všechna testovaná antibiotika s výjimkou glykopeptidů (Munoz-Bellido a kol., 1996).

SSRI jsou neúčinné proti enterobakteriím s výjimkou rodů *Citrobacter*, *Morganella* a *Pseudomonas aeruginosa*. Jejich působení proti penicilin-senzitivním nebo penicilin-rezistentním pneumokokům je poměrně nevýrazné (Munoz-Bellido a kol., 2000).

#### 3.4.2. Mechanismus účinku SSRI

SSRI pravděpodobně ovlivňují a pozměňují fyziologické pochody v mikroorganismech. Snižují například produkci slizu u koaguláza-negativních stafylokoků a také brání skupinovému pohybu u rodu *Proteus* (Munoz-Criado a kol., 1995).



Přesný mechanismus působení SSRI na mikroorganismy není zatím známý. Podle jejich působení na reflux serotoninu v synaptické štěrbině nervové buňky člověka se předpokládá, že ovlivňují činnost bakteriální membrány, zejména vypuzení - eflux látek z bakteriální buňky. Mohou působit jako inhibitory pump přenášejících molekuly léčiv z bakterie vně. Tato hypotéza může vysvětlovat jejich synergické působení při kombinaci s antibiotiky, stěží však antimikrobiální aktivitu SSRI samotných. Jiné inhibitory membránových pump, např. reserpin nebo verapamil zvyšují aktivitu antibiotik, samy jsou však antibakteriálně neúčinné (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Zjištění, že SSRI poškozují množství procesů probíhajících v buňkách bakterií, např. syntéza slizu a skupinový pohyb, nás mohou vézt k úvaze, že tato léčiva působí na úrovni metabolických procesů bakterií (Munoz-Bellido a kol., 2000).

V úvahu připadá i nepřímé působení SSRI prostřednictvím aktivace imunitního systému (Lieb, 2004) a zvýšení hladiny serotoninu v organismu (Lass-Flörl, 2003b).

### **3.4.3. Potenciace účinku antibiotik účinkem SSRI**

SSRI se ukázala být aktivní proti některým mikroorganismům v kombinaci s běžnými antibiotiky, respektive zvyšovala *in-vitro* aktivitu současně podaných antibiotik. Sertralin je schopný zvýšit účinnost především tetracyklinů a fluorchinolonů, došlo ke snížení hodnot MIC o 50% u chinolon-rezistentních kmenů *Corynebacterium urealyticum* (Munoz-Bellido a kol., 1996).

Sertralin však v téže studii neovlivňoval aktivitu  $\beta$ -laktamových antibiotik, gentamicinu ani trimetoprimu-sulfamethoxazolu. To pravděpodobně ukazuje na možný mechanismus synergického působení SSRI s tetracykliny a chinolony, tedy na inhibici efluxní pumpy, nacházející se v buněčné membráně bakterie, pomocí které mikroorganismus eliminuje antibiotikum ven z buňky. Může tedy jít o inhibici obranného mechanismu bakterií (Munoz-Bellido a kol., 1996).

Nárůst rezistentních a především multirezistentních (rezistentních k více antibiotikům) kmenů bakterií je současným velkým terapeutickým problémem. Gram-pozitivní bakterie vlastní membránové efluxní pumpy, které jsou zodpovědné za vznik závažných rezistencí k mnoha látkám, např. monokationickým barvivům a dezinfekčním prostředkům (Paulsen a kol., 1996).

Bakteriální efluxní pumpy přispívají přímo k rozvoji dalších typů bakteriální rezistence, protože vystavení mikroba subterapeutickým dávkám antibiotik vede k přizpůsobení bakterie a k tvorbě obranných mechanismů, jako je například změna či náhrada cílové struktury (Van Bambeke a kol., 2003).

Většina z těchto pump má strukturu polypeptidů nebo proteinů, ukotvených v bakteriální membráně, a využívá jako zdroj energie protonmotivní sílu. Mohou být specifické pro jeden substrát - antibiotikum nebo jsou schopny eliminovat více různých látek. Takové struktury nazýváme „multi drug resistance“ (MDR) pumpy (Kaatz a kol., 2003).

Inhibice MDR pump může výrazně snížit MIC současně podaných antibiotik nebo dokonce změnit kmeny plně rezistentní na kmeny citlivé. Proto vědci usilují o nalezení terapeuticky využitelným inhibitorů MDR přenašečů. Potenciálně nadějnou skupinou jsou SSRI.

Kaatz a kol. (2003) ve své práci studovali ovlivnění dvou typů membránových efluxních pump, NorA a non-NorA, u *Staphylococcus aureus* fenylpiperidinovými SSRI, paroxetinem a femoxetinem *in vitro*. NorA protein byl první popsanou pumpou u multirezistentních kmenů *S. aureus* (Kaatz a Seo, 1997). NorA pumpa přenáší fluorochinolony, barviva a dezinficiencia přes bakteriální membránu, je odpovědná za výskyt zhruba 10% methicilin rezistentních kmenů *S. aureus*. NorA i non-NorA pumpa patří do skupiny tzv. „major facilitator superfamily“ (MFS). U jednoho zkoumaného kmene byl NorA protein inaktivován.

Tento kolektiv autorů prokázal, že zmíněné SSRI a jejich stereoizomery mají mírnou až střední antibakteriální aktivitu proti *S. aureus*. Paroxetin a jeho stereoizomer byly asi dvakrát účinnější (MIC 62,5 - 125 mg/l) než femoxetin a stereoizomer (MIC 125 - 1000 mg/l). Stereochemie sloučenin nehrála roli vzhledem k MIC. Citlivost *S. aureus* byla srovnatelná jak u kmenů s NorA, inaktivovanou NorA nebo non-NorA pumpou. SSRI tedy pravděpodobně nejsou substráty pro membránové pumpy bakterií a jejich samotná antibakteriální aktivita je založená na jiném mechanismu působení než je ovlivnění efluxních pump (Kaatz a kol., 2003).

V dalším pokusu Kaatz a kol. (2003) zkoumali vliv současného vystavení kmenů *S. aureus* subinhibičním koncentracím SSRI na hodnotu MIC antibiotických látek. SSRI inhibují oba typy, NorA i non-NorA, pump. Například paroxetin v čtvrtinové koncentraci své MIC, snížil 8-krát MIC norfloxacinu u kmene tvoří-

cího NorA pumpu (50 - 6,3 mg/l) i u kmene s pumpou non-NorA (12,5 - 1,6 mg/l). U kmene s inaktivovanou NorA pumpou se hodnoty MIC pro norfloxacin nezměnily (0,31 – 0,31 mg/l), v porovnání s ostatními kmeny byly tyto hodnoty MIC nízké, sledovaná antibiotika tedy byla vhodnými substráty pro NorA i non-NorA pumpu. Velmi obdobné výsledky paroxetin vykázal i v kombinaci s ethidium bromidem a tetrafenylfosfonium bromidem.

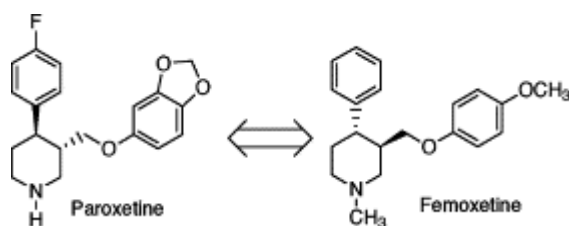
Výsledky studie ukazují na přímé ovlivnění funkce membránových efluxních pump *S. aureus* prostřednictvím SSRI. Došlo k výraznému snížení hodnot MIC antibiotických látek při současném podání subinhibičních koncentrací paroxetinu, zatímco MIC antibiotik u kmene s inaktivovanou efluxní pumpou zůstaly nezměněny.

Zajímavé výsledky přinesly i obdobné výzkumy s gram-negativními bakteriemi. MIC paroxetinu u *P. aeruginosa* byla 2-krát vyšší než u *E. coli*. Dále vědci sledovali vliv SSRI na pumpy AcrAB-TolC *E. coli* a MexAB-OprM, MexCD-OprJ u *P. aeruginosa*, všechny tři typy řadíme do rodiny tzv. „rezistance nodulation division“ (RND) pump (Kaatz a kol., 2003).

Čtvrtinová hodnota MIC paroxetinu, MIC *P. aeruginosa* byla 4-krát vyšší než u *S. aureus*, nepozměnila hodnoty MIC substrátů pro pumpy MexAB-OprM a MexCD-OprJ u *P. aeruginosa*. U *E. coli* mající membránové struktury AcrAB-TolC opět čtvrtinová koncentrace MIC paroxetinu redukovala hodnotu MIC pro tetracyklin 2-krát. Je známo, že permeabilita vnější membrány *P. aeruginosa* je nižší než u *E. coli*. (Nikaido, 2001) Propustnost buněčné membrány zřejmě velmi ovlivňuje jak samotné antibakteriální působení SSRI, tak i vliv SSRI na efluxní pumpy gram-negativních organismů (Kaatz a kol., 2003).

#### **3.4.4. Antibakteriální účinek v závislosti na modifikaci struktury**

Wei a kol. (2004) se zaměřili na hledání strukturních odlišností v molekulách SSRI, zodpovědných za inhibiční účinek na efluxní membránovou pumpu *S. aureus*. Porovnávali účinek rozdílně chemicky substituovaných derivátů paroxetinu a famoxetinu. Kaatz a kol. (2003) odhalili, že paroxetin je asi 2-krát účinnější inhibitor efluxní u *S. aureus*. než femoxetin.



Přítomnost methylové skupiny na atomu dusíku piperidinového cyklu u femoxetinu zodpovídá za snížení účinku femoxetinu v porovnání s paroxetinem. Výraznou roli hraje také substituce fenyletherové části molekuly obou látek. Paroxetinový analog s redukovanou methylenedioxy skupinou byl méně aktivním inhibitorem než paroxetin samotný. Atom fluoru v molekule paroxetinu není zodpovědný za rozdíl v aktivitě paroxetinu a femoxetinu. (Wei a kol., 2004)

### 3.4.5. Možné užití SSRI v léčbě bakteriálních infekcí

Hlavním omezením SSRI při pokusech o jejich terapeutické využití v léčbě bakteriálních infekcí je jejich dosažitelná maximální plazmatická koncentrace, která je pod hranicí zjištěných MIC. Maximální sérové hladiny se pohybují okolo 1mg/l, tyto hodnoty je možno využít při potenciaci jiných antibiotik, kdy stačí koncentrace nižší hodnot MIC pro SSRI. Maximální dosažené plazmatické koncentrace SSRI mohou pozměnit a narušit bakteriální metabolismus (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Dalším faktorem ovlivňujícím použití SSRI jako běžných chemoterapeutik infekčních nemocí je jejich účinek na CNS (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Proto by se měl další výzkum soustředit především na:

- přesné určení mechanismu působení SSRI na bakterie a hledání látek se zvýrazněnými vlastnostmi antibakteriálními, dále na rozpoznání patofyziologického pozadí nepřímého vlivu antidepresiv a serotoninu na obranyschopnost lidského organismu.
- vývoj sloučenin s potlačenými nežádoucími účinky a minimálními účinky na CNS. Někdy však může být současné působení antimikrobiální a antidepresivní terapeuticky žádoucí.
- nalezení léčiv schopných dosáhnout maximálních sérových hladin odpovídajících MIC.
- schopnost SSRI inhibovat funkci struktur v bakteriální membráně, které vylučují látky vně bakteriální buňky a jsou odpovědné za rozvoj rezistence bakterií na mnohá antibiotika (Munoz-Bellido a kol., 2000).

### 3.5. Antifungální účinek SSRI

SSRI se ukázaly být účinné kromě bakterií i proti houbám. Výzkumy doposud prokázaly aktivitu SSRI především proti rodům *Candida* a *Aspergillus*.

#### 3.5.1. Aktivita SSRI proti *Candida* species

Lass-Flörl a kol. (2001a) sledovali tři ženy trpící premenstruačními úzkostnými poruchami a zároveň těžkou rekurentní vulvovaginální kandidózou. Pacientky užívaly sertralin proti svým emočním problémům. Antimykotická léčba se skládala z lokální a/nebo systémové terapie v průběhu akutních fází infekce, protože dlouhodobou terapii pacientky odmítly z důvodu vyššího rizika nežádoucích účinků. V období, kdy užívaly sertralin – 50 mg/den po 6-8 menstruačních cyklů, pacientky neměly žádné recidivy akutních poševních infekcí a byly bez klinických příznaků. Po ukončení léčby sertralinem došlo do několika měsíců k relapsu vulvovaginální kandidózy.

Vulvovaginální kandidóza je infekční onemocnění sliznice ženských pohlavních orgánů způsobené rodem *Candida* – z 90% kmeny *C. albicans*, dále kmeny non-*C. albicans* jako *C. glabrata* a *C. tropicalis* (Lass-Flörl a kol., 2001a).

Stejný tým spolupracovníků zkoumal závislost účinku sertralinu na jeho koncentraci v médiu *in vitro* proti *Candida* spp. Sertralin byl velmi účinný proti všem testovaným kmenům *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. tropicalis*. Minimální fungicidní koncentrace (MFC) se pohybovaly mezi 3 mg/l až 29 mg/l po 48-mi hodinové inkubaci. Sertralin dosahuje koncentrace v plazmě zhruba 0,05 mg/l, avšak kumuluje se více jak 40-krát v mozku (2 mg/l) (DeVane, 1992).

Lass-Flörl a kol. (2003a) dále prokázali, že sertralin *in vitro* výrazně ovlivňuje virulenční faktory *Candida* spp. U kandid vystavených působení sertralinu (0,35 mg/l – 0,75 mg/l) došlo ke změnám a k potlačení elongace hyfových vláken, tyto koncentrace se blíží dosažitelným koncentracím *in vivo*. Sertralin snižoval *in vitro* aktivitu extracelulární fosfolipázy u *C. albicans* a snižoval produkci kandidami sekretovaných aspartyl-proteináz v koncentracích o řád nižších než MFC. Přítomnost sertralinu v médiu (7 mg/l – 14 mg/l) vedla ke zvýšení inhibice rašení blastokonidií kandid izolovanými lidskými makrofágy.

Bylo zjištěno, že výše uvedené vlastnosti hub, jsou významnými virulenčními faktory zvyšujícími patogenitu kandid. Sertralin tyto vlastnosti kandid

potlačuje. Tím si můžeme vysvětlit pozitivní vliv podání sertralinu u pacientek trpících rekurentní vulvovaginální kandidózou (Lass-Flörl a kol., 2003a).

Mechanismus působení SSRI není zcela objasněn. Předpokládá se přímé antifungální působení sertralinu ale také vliv nepřímý, který spočívá v modulaci imunitního systému, například prostřednictvím zvýšené hladiny serotoninu v organismu (Lass-Flörl a kol., 2003b) a inhibicí tvorby prostaglandinů (Lieb, 2004).

### **3.5.2. Aktivita SSRI proti *Aspergillus species***

Lass-Flörl a kol. (2001b) dále zkoumali fungicidní aktivitu SSRI proti *Aspergillus species* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*) a *Candida parapsilosis*. Zkoumanými látkami byly m.j. paroxetin, fluoxetin a sertratin. Účinek SSRI byl vyjádřen hodnotami MFC a také vědci sledovali post-antibiotický efekt SSRI u konidií *Aspergillus species*.

Sertralin, následovaný fluoxetinem a paroxetinem, byl neúčinnější látkou *in vitro* proti hyfám (MFC 3-59 mg/l) i konidiím (MFC 3-237 mg/l) *Aspergillus species* po 48-mi hodinové inkubaci. MFC pro *C. parapsilosis* byla 29-59 mg/l. Ostatní SSRI vykazaly řádově podobnou aktivitu. Rozdíl mezi hodnotami MFC po inkubaci 24 nebo 48 hodin nebyl významný (Lass-Flörl a kol., 2001b).

Post-antibiotický efekt SSRI byl sledován při koncentracích SSRI shodných s MFC po 48-mi hodinách a nižších. Konidie byly vystaveny 4 hodinovému působení SSRI a pozastavení jejich růstu u některých izolovaných kmenů dosahovalo 8 až 24 hodin. Sertralin byl opět neúčinnější látkou, následovaný fluoxetinem (Lass-Flörl a kol., 2001b).

SSRI působí proti *Aspergillus spp.* ve dvou krocích. Reverzibilně potlačují růst hub a když je houba vystavena časově delšímu působení, usmrcují ji.

*In vitro* MFC jsou stále nad dosažitelnými hladinami SSRI *in vivo*. Mohou však postačovat k ovlivnění virulenčních faktorů a patogenity hub. Plazmatické koncentrace SSRI se však mohou v některých případech MFC přiblížit, např. kumulace v mozkové tkáni. Nadějí pro terapeutické využití SSRI jako antimykotických látek může být také jejich lokální aplikace (Lass-Flörl a kol., 2001b).

### 3.5.3. Nespecifický účinek SSRI proti houbám

Jak již bylo zmíněno, SSRI působí jako inhibitory Na<sup>+</sup> závislého serotoninového transportéru (SERT). Lass-Flörl a kol. (2002) dokázali, že zřejmě neexistují žádné struktury podobné SERT u hub. Je tedy nepravděpodobné, že by byly SSRI antifungálně účinné prostřednictvím známého farmakologického mechanismu.

Aby potvrdili tuto hypotézu, Young a kol. (2003) provedli zajímavou studii. Vybrali serotonin, 8 jemu blízkých analogů, paroxetin a fluoxetin a stanovili MIC proti *Saccharomyces cerevisiae*, *A. fumigatus* a různým kmenům *Candida* spp. Sertralin vykázal široké antifungální působení (MIC 6,3 – 25 mg/l), paroxetin a fluoxetin byly účinné taktéž. Tři látky ze skupiny analogů sertralinu (CP-51973, CP-50723, CP52002), enantiomer a dva stereoizomery, které měly redukováný účinek proti SERT, byly stejně aktivní jako sertralin sám. Tato zjištění potvrzují, že antifungální účinek SSRI nesouvisí s jejich inhibicí SERT.

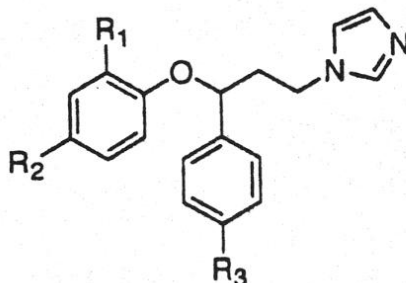
Young a kol. (2003) dále objevili, že nejvíce antimykoticky aktivní látky mají také nejvíce lipofilní charakter. Lipofilní substance vykazují cytotoxické účinky při vysokých koncentracích. Tedy za antifungální aktivitu SSRI je možná více zodpovědná jejich lipofilita - cytotoxicita, než specifický inhibiční mechanismus.

Vědci dále zkoumali cytotoxickou aktivitu *in vitro* výše uvedených SSRI proti lidským epiteliálním buňkám, které vystavili působení na dobu 72 hodin. Všechny SSRI byly cytotoxické v koncentracích nižších svých MIC. Výzkumy prokázaly přímou závislost mezi cytotoxicitou jednotlivých SSRI a jejich antifungálními vlastnostmi. SSRI tedy zřejmě působí proti houbám nespecifickým cytotoxickým mechanismem, který souvisí s jejich lipofilní strukturou, a tento mechanismus je spojený s výrazným toxickým efektem na lidské buňky (Young a kol., 2003).

Young a kol. (2003) se domnívají, že SSRI nejsou vhodnými léčebnými látkami oportunních mykotických infekcí a ani nepředstavují nadějnou skupinu léčiv pro hledání a vývoj nových potenciálně účinných antimykotických preparátů se specifickým mechanismem účinku.

### 3.5.4. Imidazolové analogy fluoxetinu

Silvestri a kol. (2004) dospěli k zajímavému objevu. Imidazolové analogy fluoxetinu jeví silný účinek proti *Candida* spp.



imidazolový analog fluoxetinu

Za poslední dvě desetiletí rapidně stoupl výskyt topických a systémových onemocnění způsobených oportunními patogeny rodu *Candida*. Velkým problémem při terapii kandidóz je širší rezistence hlavně u lidí, kteří chronicky užívají antimykotika, např. pacienti s AIDS (Silvestri a kol., 2004).

Léky volby jsou azolová antimykotika. Dále pak allylaminy, polyenová antibiotika a flucitosin. Užívání těchto látek, především systémové, je spojeno se značným rizikem nežádoucích účinků – např. nausea, hepatotoxicita; nefrotoxická, anémie (Ryder, 1991).

Silvestri a kol. (2004) připravili látky odvozené od fluoxetinu výměnou methylamino skupiny za imidazolový kruh. Nové látky jevíly *in vitro* vyšší aktivitu proti *Candida* spp. než mikonazol a další klinicky užívaná antimykotika. Derivát se 3-mi atomy chloru byl 2-krát účinnější (MFC 1 – 8 mg/l) než mikonazol (MFC 4 – 32 mg/l) a méně toxický pro izolované lidské myeloidní leukemické buňky a buňky lymfomu. Vysoká aktivita byla sledována pro chloro, fluoro, methyl, nitro a trifluormethyl deriváty.

Tato studie naznačuje, že SSRI a jejich analogy mohou být nadějí a příslibem pro nalezení nových antimykotických, popřípadě antimikrobiálních látek. Ověření jejich aktivity *in vivo* je však nezbytné.



### 3.5.5. Účinek serotoninu proti houbám

SSRI selektivně blokují zpětné vychytávání serotoninu (5-HT) a zvyšují tak jeho koncentraci v synaptické štěrbině neuronu. Blokáda zpětného vychytávání vede ke zvýšení hladiny 5-HT v plazmě u pacientů léčených SSRI (Dimmock a kol., 2000). Výzkumy dokázaly, že SSRI mají antimykotický účinek proti *Candida* spp. a *Aspergillus* spp. Tento fakt a klinická pozorování u pacientek trpících vulvovaginální kandidózou a premenstruačním syndromem vedly vědce k myšlence, zda je serotonin také aktivní proti houbám a zda je jeho zvýšená koncentrace v plazmě u pacientů užívajících SSRI jedním z možných mechanismů antimikrobiálního účinku antidepresiv (Lass-Flörl a kol., 2003b).

Lass-Flörl a kol. (2003b) ve svém pokusu prokázali, že 5-HT je schopen *in vitro* potlačovat růst a usmrcovat izolované kmeny *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. tropicalis* (MFC 1,8 – 14,7 mM) a dále vystavení kvasinek 3 hodinovému působení 5-HT (v koncentraci nižší nebo rovné MFC) reverzibilně pozastavovalo růst kandid na 8 – 12 hodin. Koncentrace 5-HT vyšší než MFC způsobila snížení počtu kolonie tvořících jednotek (CFU).

Obdobnému pokusu podrobili Lass-Flörl a kol. (2002) také konidie a hyfy *Aspergillus* spp. (*A. fumigatus*, *A. flavus* a *A. terreus*). 5-HT byl aktivní proti všem izolovaným kmenům. MFC 5-HT pro konidie se pohybovaly v rozmezí 14,7 – 58,8 mM a pro hyfy 29,4 – 238 mM. U hyf bylo pozorováno výrazné poškození jejich struktury (buněčné membrány) působením 5-HT.

Serotonin působí prostřednictvím mnoha subtypů receptorů. Lass-Flörl a kol. (2002) chtěli objasnit, který subtyp je odpovědný za antifungální aktivitu 5-HT. Do média byly přidány k serotoninu antagonisté jednotlivých subtypů receptorů – risperidon (5-HT<sub>2A</sub>), cyproheptadin (5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>) a tropisetron (5-HT<sub>3</sub>). Žádný z antagonistů neovlivnil antifungální účinek 5-HT. Mechanismus účinku zůstal neobjasněn.

SSRI jsou schopny potencovat účinek některých antibakteriálně účinných látek a mohou zvrátit rezistenci u chlorochin-rezistentních kmenů *Plasmodium falciparum*. Heller a kol. (2004) se pokusili objasnit, zda je takováto potenciace účinku možná i u hub. Zároveň se sertralinem byl testován také 5-HT v kombinaci s amfotetericinem B a itrakonazolem *in vitro* proti *Aspergillus* spp. a *C. parapsilosis*.

Heller a kol. (2004) prokázali, že 5-HT zvyšuje antifungální aktivitu amfotericinu B proti *Aspergillus* sp. Výsledky kombinace 5-HT s itrakonazolem a sertralinu s amfotericinem B a itrakonazolem byly hodnoceny rozdílně, od synergického působení, přes indiferentní po antagonistické pro různé kmeny *Aspergillus* spp. 5-HT a sertralin vykazaly antagonismus v kombinaci s amfotericinem B a itrakonazolem u *C. parapsilosis*.

Zjištění, že 5-HT poškozuje buněčnou membránu hyfových vláken *Aspergillus* spp. naznačuje, že synergie 5-HT v kombinaci s amfotericinem B může být způsobena zlepšením průniku antimykotika do buňky (Heller a kol., 2004).

Mechanismus účinku serotoninu proti houbám není však zcela jasný. Zajímavá jsou pozorování, že existuje závislost mezi zvýšeným výskytem infekcí a nízkou plazmatickou hladinou serotoninu u některých onemocnění, např. AIDS (Larsson a kol., 1989).

Christin a kol. (1998) uvedli, že krevní destičky, které obsahují 5-HT se vážou na buněčné stěny hyf *Aspergillus* spp. a ničí tyto houby. Mnoho antimykotik působí na krevní destičky, mikonazol a ekonazol inhibují vstřebávání 5-HT do destiček a mohou tak podpořit synergický účinek serotoninu proti houbové infekci (Helmeste a kol., 1998).

Inkubace neutrofilů s 5-HT vedla k modulaci jejich antibakteriálního účinku (Schuff-Werner a Splettdoesser, 1999).

Hladina serotoninu v různých tkáních je pravděpodobně závislá na přítomnosti krevních destiček, spíše než na obsahu 5-HT v buňkách parenchymu. Obsah serotoninu v destičkách je velmi variabilní, za některých okolností mohou plazmatické koncentrace 5-HT dosáhnout 37,6  $\mu\text{M}$  (Harenber a kol., 2000). Tato hladina je nízká v porovnání s MFC stanovenými *in vitro*, je však možné, že postačuje k ovlivnění virulenčních faktorů hub (Lass-Flörl a kol., 2003b).

Zdá se, že serotonin může *in vivo* působit antifungálně, popřípadě antimikrobiálně na několika úrovních: přímo na mikroorganismy, nebo nepřímo podpořením imunitních dějů hostitelského organismu.

Je však nezbytné dále se věnovat této problematice a odhalit pozadí jevů souvisejících s úlohou serotoninu v patofyziologii infekčních onemocnění.

### 3.6. Vliv SSRI na rezistentní kmeny *Plasmodium falciparum*

Ročně je nakaženo 300 milionu lidí malárií, asi 2 miliony z nich každoročně umírá. Rezistence plasmodií k chlorochinu – nejpoužívanějšímu antimalariku – je popisována ve většině oblastí, kde je nákaza rozšířena. Mechanismus této rezistence je stále neznámý (Bray a kol., 1999).

Zprávy o schopnosti některých látek zvrátit rezistenci plasmodií *in vitro* jsou zveřejňovány od 80. let 20. století. Rezistence je charakterizována snížením kumulace chlorochinu v buňce a zvýšením 50% inhibiční koncentrace ( $IC_{50}$ ) chlorochinu. Uvedme příklady některých látek oslabujících rezistenci plasmodií : blokátory kalciových kanálů verapamil (Martin a kol., 1987) a nicardipin, antidepresiva (Gerena a kol., 1992), antihistaminika (Safa, 1988) a antipsychotika (Basco a Le Bras, 1992). Tyto látky mají schopnost *in vitro* zvyšovat průchod chlorochinu do rezistentních parazitů (Taylor a kol., 2000).

Mechanismus působení antidepresiv, tedy i SSRI, spočívá v blokádě zpětného vychytávání neurotransmiterů v synaptické štěrbině neuronu, působí inhibičně na SERT, neboli na tzv. „ATP-binding cassette“ (ABC) transportní protein. Transportní protein, který se nacházejí v buněčné membráně plasmodií, patří také do skupiny ABC proteinů (Taylor a kol., 2000).

Taylor a kol. (2000) chtěli posoudit, do jaké míry souvisí vlastnost antidepresiv blokovat reuptake látek s jejich schopností zvrátit rezistenci *P. falciparum*. Pro svůj výzkum si vybrali látky, které působí selektivně na rozdílné receptory neurotransmiterů : citalopram – specifický blokátor 5-HT reuptake, amitriptilin – blokuje reuptake 5-HT a noradrenalinu (NA), oxaprotilin – blokuje reuptake NA, nomifensin – blokuje reuptake dopaminu (DA) a částečně NA. Poslední testovanou látkou byl verapamil, blokátor kalciového kanálu, jehož farmakologický cíl je odlišný. Žádná z látek nebyla samotná aktivní proti plasmodiím.

Vědci testovali látky na dvou kmenech *P. falciparum* – citlivém kmeni D10 a rezistentním kmeni vůči chlorochinu RSA11. Sledovali vliv podání léčiv na kumulaci chlorochinu v buňkách plasmodií a také schopnost látek snižovat rezistenci plasmodií vůči chlorochinu – hodnotu  $IC_{50}$ . Žádná z testovaných látek nezvyšovala kumulaci chlorochinu ani nedošlo ke snížení  $IC_{50}$  u chlorochin citlivého kmene D10 (Taylor a kol., 2000).

Všechna léčiva zvyšovala kumulaci chlorochinu v rezistentních plasmodiích zhruba 4 až 5-krát oproti kontrolním mikroorganismům inkubovaným jen s chlorochinem samotným. Všechna antidepresiva prokázala schopnost zvrátit rezistentní kmeny *P. falciparum* na kmeny citlivé. Nejaktivnější látkou byl citalopram – IC<sub>50</sub> samotného chlorochinu (360nM; 0,189mg/l) pro rezistentní kmen byla asi 20-krát vyšší v porovnání s IC<sub>50</sub> chlorochinu (17nM; 0,009mg/l) v kombinaci s citalopramem (1234nM; 0,5 mg/l). Aktivita ostatních látek však byla srovnatelná (Taylor a kol., 2000).

Žádná látka tedy nebyla hodnocena jako výrazně lepší než ostatní ve schopnosti zvrátit rezistenci *P. falciparum*. Autoři se domnívají, že tato vlastnost antidepresiv nesouvisí přímo s jejich inhibicí zpětného vychytávání. Určitým hlediskem může být také lipofilita psychoaktivních látek. Zdá se, že rezistence *P. falciparum* je podmíněna spíše sníženým průnikem antimalarika do buňky parazita, než vypuzením látky vně (Taylor a kol., 2000).

Výsledky ukazují, že antidepresiva (SSRI) jsou schopna *in vitro* zvrátit rezistenci *P. falciparum*. Teprve však studie *in vivo* ukážou, zda jsou SSRI vhodnou skupinou pro brzké a plošné uplatnění v terapii malárie.

## **4. Experimentální část**

### **4.1. Materiál**

#### **4.1.1. Mikroorganismy**

Standardní kmeny bakterií:

*Staphylococcus aureus* CCM 4516

*Bacillus subtilis* CCM 1999

*Escherichia coli* CCM 4517

*Pseudomonas aureginosa* 1961

Kmeny izolované z klinického materiálu na Ústavu klinické mikrobiologie FN v Hradci Králové v roce 2004, diagnózy neuvedeny:

*Stenotrophomonas* sp. (STEN 169, 193, 289, 624)

*Staphylococcus aureus* (S 52, 319, 942)

*Pseudomonas aeruginosa* (PSAE 29, 41, 53, 169, 299, 330, 695, 771)

*Acinetobacter calcoaceticus* (ACCA 196, 280, 292, 309, 624, 675, 699, 939)

*Enterobacter cloacae* (ENCL 79, 299, 522, 622)

*Escherichia coli* (ESCO 13, 278, 712)

*Serratia marcescens* (SEMA 206)

*Burkholderia cepacea* (BUCE 686)

*Morganella morganii* (MOMO 312)

*Klebsiella pneumoniae* (KLPN 6, 8, 11, 229, 362, 695)

*Citrobacter* sp. (CITR 992)

#### **4.1.2. Pomůcky a přístroje**

skleněné zkumavky, kádinky, pipety

automatické pipety Biohit

vodní lázeň

Petriho misky

očkovací destičky

analytické váhy

inkubátor TCH 100

#### **4.1.3. Léčiva, roztoky, média**

paroxetin (Pliva – Lachema a.s., Brno)

fluoxetin (Zentiva a.s., Praha)

destilovaná voda

fyzilogický roztok

kultivační médium - Mueller Hintonův bujón (HiMedia)

#### **4.2. Pracovní postup**

##### **4.2.1. Příprava roztoků zkoumaných látek**

Základní roztoky paroxetinu a fluoxetinu jsme připravili rozpuštěním 10 mg léčiva v 10 ml Mueller Hintonova bujónu při mírném zahřívání na vodní lázni. Výsledná koncentrace léčiv byla 1000 mg/l. Tyto roztoky byly dále sestupně ředěny pomocí automatické pipety vždy do následující jamky očkovací destičky na polovinu své předchozí koncentrace.

##### **4.2.2. Příprava buněčných suspenzí testovaných kmenů bakterií**

Buněčné suspenze testovaných kmenů bakterií jsme získali dispergováním bakteriálních buněk ve fyziologickém roztoku podle prvního stupně Mc Farlanovy řady.

##### **4.2.3. Stanovení aktivity metodou mikroředění v bujónu**

Aktivitu *in vitro* paroxetinu a fluoxetinu proti testovaným kmenům jsme stanovili metodou sestupného ředění látek vždy stejným objemem čistého Mueller Hintonova bujónu. Pro každý kmen jsme určili minimální inhibiční koncentraci (MIC) léčiva. MIC je nejnižší koncentrace látky, při které není viditelný nárůst mikroorganismu po 24 resp. 48 hodinách.

Do 1. až 11. jamky očkovací destičky jsme nepipetovali 100 µl roztoku léčiva o koncentraci 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6; 7,8; 3,9; 1,95; 0,98 mg/l. Do 12. jamky jsme nepipetovali 100 µl čistého Mueller Hintonova bujónu, pro kontrolu růstu bakterií.

Do každé jamky jsme naočkovali 10 µl buněčné suspenze. Každý kmen jsme naočkovali ve dvou řadách pro srovnání výsledků.

Hodnoty MIC jsme odečítali po inkubaci v termostatu při teplotě 37°C za 24 resp. 48 hodin.

### **4.3. Vyjádření výsledků**

Aktivitu paroxetinu a fluoxetinu proti testovaným bakteriím vyjadřujeme hodnotami MIC. Získané hodnoty MIC jsme zaznamenali do tabulek a uvedli v jednotkách mg/l - mg látky na litr rozpouštědla (Mueller Hintonův bujón).

## 5. Výsledky

Aktivitu paroxetinu a fluoxetinu *in vitro* proti námi testovaným kmenům bakterií, vyjádřenou hodnotami MIC (mg/l) po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C, uvádíme v tabulkách 4 – 12.

Zkoumané látky inhibovaly růst všech námi zkoumaných bakterií. Aktivita obou látek pro daný kmen byly srovnatelná. MIC řádově dosahovaly hodnot desítek až stovek mg/l. Odečtené hodnoty MIC po 24 a 48 hodinách inkubace se výrazně nelišily.

### 5.1. Aktivita paroxetinu a fluoxetinu *in vitro* proti testovaným bakteriálním kmenům

Paroxetin a fluoxetin v našem pokusu vykazaly aktivitu proti standardním kmenům bakterií, viz tab. 4. MIC paroxetinu a fluoxetinu po 24 hodinách pro *Staphylococcus aureus* CCM 4516 dosáhly hodnot 31,25 resp. 31,25 až 62,5 mg/l, MIC pro *Bacillus subtilis* CCM 1999 dosáhly 31,25 resp. 16,9 mg/l a MIC pro *Escherichia coli* CCM 4517 byly 62,5 resp. 31,25 mg/l. Nejméně aktivní se ukázaly paroxetin a fluoxetin proti *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961, MIC pro paroxetin i fluoxetin 250 mg/l za 24 hodin a 500 mg/l za 48 hodin.

Paroxetin a fluoxetin vykazaly v pokusech shodnou aktivitu proti klinicky izolovaným kmenům *Stenotrophomonas* sp. - MIC 125 mg/l, viz. tab. 5.

Citlivost klinických izolátů *Staphylococcus aureus*, se ukázala rozdílná, jak zobrazuje tab. 6, MIC pro obě látky jsou v rozmezí od 62,5 mg/l do 500 mg/l.

Kmeny *Pseudomonas aeruginosa* jsou velmi odolné vůči působení paroxetinu a fluoxetinu. Tabulka 7 zobrazuje výsledné MIC pohybující se od 250 mg/l fluoxetinu do 500 mg/l paroxetinu po inkubaci 24 hodiny.

Citlivost *Acinetobacter calcoaceticus*, vyjádřená hodnotami MIC, se výjma dvou odolnějších kmenů (MIC 500 mg/l) pohybovala v rozmezí 62,5 až 250 mg/l pro obě léčiva, viz. tab. 8.

Paroxetin a fluoxetin inhibují růst kmenů *Enterobacter cloacae* v koncentracích 62,5 až 125 mg/l a 250 až 500 mg/l u jednoho kmene, jak zobrazuje tabulka 9.

Růst kmenů *Escherichia coli* je inhibován koncentracemi léčiv 62,5 až 125 mg/l, výsledky zobrazuje tab. 10.



Kmeny *Klebsiella pneumoniae* ukázaly odolnost proti působení zkoumaných SSRI, MIC 250 až 1000 mg/l. Jen jeden kmen byl citlivější, 62,5 až 125 mg/l, viz. tab. 11.

Růst kmene *Serratia marcescens* byl potlačen 250 až 500 mg/l zkoumaných látek. MIC paroxetinu a fluoxetinu pro kmen *Morganella morganii* a *Citrobacter* sp. dosáhly hodnot 500 mg/l. Citlivost kmene *Burkholderia cepacia* vyjádřená MIC zkoumaných SSRI je 62,5 mg/l, viz. tab. 12.

Tabulka 4 – MIC (mg/l) paroxetinu a fluoxetinu pro testované standardní bakteriální kmeny po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4516	31,25	31,25-62,5	31,25-62,5	62,5
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 1999	31,25	31,25	16,9	16,9
<i>Escherichia coli</i> CCM 4517	62,5	62,5	31,25	62,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 1961	250	500	250	500

Tabulka 5 – MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Stenotrophomonas* sp. po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Stenotrophomonas</i> sp. 169	125	125	125	125
<i>Stenotrophomonas</i> sp.193	125	125	125	125
<i>Stenotrophomonas</i> sp. 298	125	125	125	125
<i>Stenotrophomonas</i> sp. 624	125	125	125	125

Tabulka 6 - MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Staphylococcus aureus*. po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

Kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Staphylococcus aureus</i> 52	62,5	125	62,5	62,5
<i>Staphylococcus aureus</i> 319	62,5-125	500	500	500
<i>Staphylococcus aureus</i> 942	125	125	62,5	62,5

Tabulka 7 - MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

Kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 29	500	500-1000	500	500-1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 41	500	500	500	500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 53	500	500	250	250-500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 169	500	500-1000	250	250-500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 299	500	500-1000	500-1000	500-1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 330	500	500	500-1000	500-1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 695	500	500	500-1000	500-1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 771	500	500	500-1000	500-1000

Tabulka 8 - MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Acinetobacter calcoaceticus*. po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

Kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 196	500	500	250	250
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 280	62,5	62,5	125	125
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 292	500	500	500	500
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 309	62,5	62,5	62,5	62,5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 624	62,5	62,5	62,5	62,5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 675	62,5	62,5	62,5	62,5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 699	62,5-125	62,5-125	62,5	62,5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 939	125	125	250	250

Tabulka 9 - MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Enterobacter cloacae* po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Enterobacter cloacae</i> 79	62,5	62,5-125	62,5	125
<i>Enterobacter cloacae</i> 299	62,5	62,5	62,5	62,5
<i>Enterobacter cloacae</i> 522	62,5	62,5	62,5-125	125
<i>Enterobacter cloacae</i> 622	250-500	250-500	250	250-500

Tabulka 10 - MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Escherichia coli* po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Escherichia coli</i> 13	125	125	125	125
<i>Escherichia coli</i> 278	62,5	62,5	125	125
<i>Escherichia coli</i> 712	62,5	62,5	125	125

Tabulka 11 - MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Klebsiella pneumoniae* po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

kmen bakterie	MIC paroxetin mg/l/24h	MIC paroxetin mg/l/48h	MIC fluoxetin mg/l/24h	MIC fluoxetin mg/l/48h
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11	500	500	250	250-500
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 229	62,5-125	125	62,5-125	125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 362	500	500	250-500	250-500
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 695	500	500	500	500
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 6	500	1000	500	1000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 8	500	>1000	500	1000

Tabulka 12 - MIC paroxetinu a fluoxetinu (mg/l) pro klinicky izolované kmeny *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Morganella morganii*, *Citrobacter* sp. po 24 a 48 hodinové inkubaci při 37°C

<b>kmen bakterie</b>	<b>MIC paroxetin mg/l/24h</b>	<b>MIC paroxetin mg/l/48h</b>	<b>MIC fluoxetin mg/l/24h</b>	<b>MIC fluoxetin mg/l/48h</b>
<i>Serratia marcescens</i> 206	250	250	250-500	250-500
<i>Burkholderia cepacia</i> 686	62,5	62,5	62,5	62,5
<i>Morganella morganii</i> 312	500	500	500	500
<i>Citrobacter</i> sp. 992	500	1000	500	1000

## 6. Diskuse

Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu vykazují *in vitro* aktivitu proti bakteriím a houbám, jsou schopny *in vitro* potencovat účinek antimikrobiálních látek u bakterií a *Plasmodium falciparum*. *In vivo* působí na kvasinková onemocnění způsobená rodem *Candida*.

Výsledky našich pozorování potvrzují, že SSRI jsou *in vitro* aktivní proti poměrně širokému spektru bakterií.

Dosavadní výzkumy prokázaly účinnost SSRI *in vitro* proti gram-pozitivním (G+) bakteriím, především stafylokokům a enterokokům i proti G+ tyčkáům, např. *Corynebacterium urealyticum*, neúčinné jsou zřejmě proti streptokokům. SSRI působí také na některé gram-negativní (G-) bakterie, např. *Haemophilus influenzae*, *Morganella catarrhalis*, *Campylobacter jejuni*, rody *Brucella* a *Bacteroides*. Autoři uvádí, že SSRI jsou neúčinné proti enterobakteriím s výjimkou rodů *Citrobacter*, *Morganella* a *Pseudomonas aeruginosa* (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Naše výzkumy dokázaly *in vitro* aktivitu SSRI – paroxetinu a fluoxetinu proti G+ kokům (*Staphylococcus aureus*, MIC 62,5 mg/l až 500 mg/l) i G+ tyčkáům (*Bacillus subtilis*, MIC 31,25 a 15,6 mg/l).

Zkoumané látky pozastavovaly růst také G- aerobních bakterií (*Pseudomonas aeruginosa*, MIC 250 až 500 mg/l; *Stenotrophomonas* spp., MIC 125 mg/l; *Acinetobacter calcoaceticus* MIC 62,5 až 250 mg/l a *Burkholderia cepacia*, MIC 67,5 mg/l).

Paroxetin a fluoxetin se překvapivě v našem pozorování ukázaly být účinné proti enterobakteriím, inhibovaly růst nejen kmenů *Pseudomonas aeruginosa* (MIC 500 a 250 mg/l), *Morganella morganii* (MIC 500 mg/l) a *Citrobacter* spp. (MIC 500 mg/l) ale i dalších, jako jsou *Escherichia coli* (MIC 62,5 až 125 mg/l), *Serratia marcescens* (MIC 250 až 500 mg/l), *Enterobacter cloacae* (MIC 62,5 až 125 mg/l) a *Klebsiella pneumoniae* (MIC 250 až 1000 mg/l).

Jak je zřejmé, dosažené hodnoty minimálních inhibičních koncentrací (MIC) paroxetinu a fluoxetinu u jednotlivých kmenů bakterií jsou rozdílné, pohybují se řádově od desítek po stovky mg léčiva na litr rozpouštědla.

Porovnáme-li hodnoty MIC s průměrnými koncentracemi léčiv v plazmě - paroxetin 10 až 600 µg/l, fluoxetin 90 až 300(max. 1000) µg/l (DeVane, 1999),

dojdeme k závěru, že hodnoty MIC jsou minimálně 10-krát vyšší. To se jeví jako výrazný omezující faktor při systémové terapii bakteriálních onemocnění. Plazmatické koncentrace SSRI však mohou být dostačující k inhibici faktorů virulence bakterií, např. tvorby slizu u stafylokoků a skupinového pohybu u rodu *Proteus* (Munoz-Criado a kol., 1995; Munoz-Criado a kol., 1998). Inhibice virulenčních faktorů snižuje patogenitu mikroorganismu.

Lass-Flörl a kol. (2001a, 2001b) přinášejí důkazy také o účinku SSRI *in vitro* i *in vivo* na houby, zejména rody *Candida* a *Aspergillus*. Minimální fungicidní koncentrace SSRI dosahují řádů jednotek a desítek(stovek) mg/l, zkoumané kmeny hub jsou tedy citlivější než bakterie. SSRI dokonce v koncentracích desetín mg/l výrazně potlačovali některé fyziologické vlastnosti *Candida species*, jež se vyskytují u kmenů s vyšším patogenním potenciálem. Plazmatické hladiny léčiv jsou tedy dostatečné k ovlivnění virulenčních faktorů hub a SSRI jsou schopny potlačit mykotické infekce v živém organismu.

Vědci se rozcházejí v určení přímého antimikrobiálního mechanismu účinku SSRI. Jejich antidepresivní působení spočívá v inhibici serotoninového transportního systému (SERT), který vycytává serotonin ze synaptické štěrbinny neuronu. Podobně mohou SSRI ovlivňovat membránové systémy mikroorganismů a zamezovat vyplavení klasických antibiotik z těla mikroba, zvyšují tak účinek klasických antibiotik a navracejí citlivost rezistentním mikroorganismům.

Přímý účinek *in vitro* na bakterie se předpokládá na úrovni ovlivnění biochemických buněčných pochodů (Munoz-Bellido a kol., 2000), nebo ovlivnění propustnosti vnější membrány bakterií (Kaatz a kol., 2003). Ani u hub nebyl popsán konkrétní mechanismus antifungálního působení. Young a kol. (2003) uvádí, že vzhledem k lipofilnímu charakteru SSRI, lze uvažovat o nepřímém cytotoxickém účinku na buňky hub, obzvláště když bylo zjištěno, že SSRI působí toxicky *in vitro* na lidské epitelální buňky v koncentracích nižších svých MIC.

Vedle přímého antimikrobiálního účinku SSRI působí v těle na děje, které vedou k aktivaci imunitního systému. Terapie SSRI způsobí zvýšení hladiny serotoninu v těle. Samotný serotonin se ukázal být *in vitro* aktivní proti *Candida spp.* a *Aspergillus spp.* v koncentracích vyšších, než jsou obvyklé hladiny v plazmě, i ty ovšem mohou stačit k ovlivnění virulenčních faktorů hub, podobně jako je tomu u SSRI. Serotonin také stimuluje některé buňky imunitního systému a podporuje schopnost organismu bránit se infekci. Zvýšení hladiny seroto-

ninu v těle následkem užívání SSRI může působit přímo i nepřímo antimikrobiálně (Lass-Flörl a kol., 2002, 2003b).

SSRI dále zasahují do metabolismu kyseliny arachidonové, inhibicí cyklooxygenázy brání vzniku eikosanoidů, především prostaglandinů. Prostaglandiny mají mimo jiné negativní vliv na buněčné složky imunity, mikroorganismy indukují jejich syntézu v těle. Inhibice syntézy prostaglandinů je dalším možným způsobem antimikrobiálního působení SSRI *in vivo* (Lieb, 2004).

Systémové užití samotných SSRI, perorální či injekční, jako účinných antibiotických látek je zatím sporné vzhledem k rozdílům mezi MIC a plazmatickými koncentracemi, nejasnosti v mechanismu působení a především k nedostatku výzkumů v této oblasti. Lokální aplikace přípravků s potřebnou mikrobicidní nebo mikrobistatickou koncentrací SSRI by mohla být účinná, je však nutné dříve provést dermatologické zkoušky těchto látek s ohledem na jejich cytotoxicitu.

Nadějnější shledáváme použití SSRI v kombinaci s klasickými antibiotiky. SSRI inhibují efluxní pumpy G+ bakterií (*S. aureus*) a zvyšují tak koncentraci antibiotika v bakteriální buňce. K potenciaci účinku klasických antibiotik stačí koncentrace SSRI nižší, než jsou jejich MIC. Ke kombinaci s SSRI připadají v úvahu především tetracyklinová antibiotika a fluorchinolony, jež jsou substráty pro bakteriální efluxní pumpy (Kaatz a kol., 2003).

SSRI jsou schopny zvrátit rezistenci *Plasmodium falciparum* vůči chlorochinu. Tento synergický účinek ovšem zřejmě není založen na inhibici efluxních pump, ale je přikládán více lipofilitě SSRI a jejich vlivu na buněčné membrány. Odolnost plasmodií proti působení chlorochinu je způsobena spíše nižší průchodností léčiva do buňky než jeho následnou eliminací (Taylor a kol., 2000).

Hodnocení potenciálu SSRI uplatnit se v terapii infekčních onemocnění je zatím obtížné, přihlédneme-li k dostupným poznatkům. K použití SSRI jako samostatně účinných antibiotických látek se stavíme rezervovaně. Antimikrobiální působení *in vitro* je prokázáno u mnoha bakteriálních kmenů i u některých hub. Mechanismus účinku není zcela objasněn a zatím nelze uvažovat o nějakém specifickém cíli. Přímé působení je spíše připisováno jejich lipofilitě a nespecifické cytotoxicitě. V běžných terapeutických dávkách při léčbě deprese jsou SSRI bezpečné, plazmatické koncentrace však nejsou dostatečné k rychlému a

účinnému zásahu proti patogenu. Je otázkou, zda se podaří připravit substance schopné kumulace při systémovém podání.

Lokální aplikací vhodných přípravků je možné dosáhnout mikrobicidní koncentrace v místě infekce, např. při vulvovaginální kandidóze. Omezení spatřujeme však v toxickém působení SSRI na epitelální buňky a také široké spektrum účinku těchto látek není žádoucí kvůli nepříznivému vlivu na přirozenou mikroflóru.

Další výzkum by se měl soustředit spíše než na dosažení hodnot MIC v plasmě na posouzení, zda SSRI ve svých plazmatických koncentracích ovlivňují významně virulenční faktory mikrobů *in vivo* a jsou vhodnými léčebnými prostředky např. při infekčních onemocněních způsobených oportunními patogeny.

Mnohem nadějněji vyznívají poznatky o schopnosti SSRI potencovat účinek antibiotik, zejména proto, že výskyt rezistentních mikroorganismů je stále častější a léčení jimi způsobených infekcí je velmi zdlouhavé a problematické. I zde je však nutné detailněji prostudovat mechanismus účinku a provést pokusy u zvířecích modelů. Domníváme se, že zde by se mohlo nalézat jedno z těžišť dalších výzkumů.

Poznatky o antimikrobiálním účinku SSRI nás také nutí k úvaze o vlivu dlouhodobého podávání těchto látek při léčbě deprese, především o ovlivnění přirozené mikroflóry. Prokázali jsem účinnost SSRI proti enterobakteriím. Gastrointestinální diskomfort je jedním ze zmiňovaných nežádoucích účinků těchto látek (Suchopár a kol., 1999). Negativní ovlivnění přirozené mikroflóry jistě není žádoucí. Je třeba prozkoumat, zda je takový nežádoucí vliv SSRI možný a výrazný. Navíc dlouhodobé vystavení mikroorganismů subinhibičním koncentracím (plazmatickým hladinám SSRI) antibiotik vede k rozvoji rezistence. Otázkou je, zda takový vliv nemohou mít SSRI právě při dlouhodobém užívání pacientů trpících depresemi.

Další kroky ve výzkumu by měly také využít faktu, že SSRI jsou schopna kumulace v CNS. Naskýtá se velká možnost uplatnit tato léčiva při terapii závažných a těžko léčitelných neuroinfekcí, např. meningokokových infekcí.

Je třeba zvážit i farmakoekonomické hledisko. Vzhledem ke své ceně a prozatím zdrženlivě hodnoceným antimikrobiálním účinkům se SSRI zřejmě nestanou léky volby např. při léčbě vulvovaginální kandidózy. Mohou se však



stát vyhrazenými alternativami u těžších případů, kde opakovaná a neúspěšná aplikace levnějších antimykotik nepřináší úspěch.

Velmi zajímavé jsou přesahy z poměrně úzkého výzkumu antimikrobiálního účinku SSRI směrem k antimikrobiálním vlastnostem serotoninu, vlivu stresu a deprese na imunitní systém a úloze prostaglandinů v modulaci imunitních dějů a v patofyziologii infekčních onemocnění. Domníváme se, že jedině komplexní přístup k terapii (nejen) infekčních onemocnění povede k plnému a rychlému uzdravení. K tomu je ovšem nutné nahlédnout do spletitostí vztahů a zákonitostí mezi funkcemi centrálního nervového a imunitního systému a jejich interakcemi s mikroorganismy. Dosavadní zjištění nám pouze pootevírají dveře a směřují nás k dalším výzkumům.

Jestliže nyní používaná léčiva mají svá omezení a jejich antimikrobiální vlastnosti nejsou dostačující je třeba hledat látky účinnější. K tomu by mělo přispět především hledání farmakoforů zodpovědných za antimikrobiální účinek a syntéza nových substancí. Dále je nutné přesně definovat mechanismus antimikrobiálního účinku u jednotlivých druhů mikroorganismů a stanovit aktivitu u širšího spektra mikroorganismů. Těžiště výzkumu by se mělo přesunout z úzké oblasti *in vitro* k pokusům na zvířecích modelech.

Pokračujeme dále v nastoupené cestě a nezalekněme se nových a nezvyklých zjištění a netradičních přístupů k léčbě infekčních onemocnění.

## 7. Závěr

Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu, používané běžně jako moderní antidepresiva, jsou *in vitro* a také *in vivo* účinné proti poměrně širokému spektru mikroorganismů. Cílem naší práce bylo potvrdit antimikrobiální aktivitu *in vitro* paroxetinu a fluoxetinu – látek ze skupiny SSRI.

Paroxetin a fluoxetin se v našem pozorování ukázaly být *in vitro* aktivní proti G+ kokům (*Staphylococcus aureus*) i G+ tyčkám (*Bacillus subtilis*). Dále inhibovaly růst G- aerobních bakterií (*Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas* spp., *Acinetobacter calcoaceticus* a *Burkholderia cepacia*). Paroxetin a fluoxetin jsou účinné *in vitro* na enterobakterie (*Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii*, *Citrobacter* sp., *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* a *Klebsiella pneumoniae*).

Minimální inhibiční koncentrace paroxetinu a fluoxetinu u testovaných bakteriálních kmenů dosahovaly řádově desítek až stovek mg/l. Průměrné plazmatické koncentrace těchto látek se pohybují v řádech desítek až stovek µg/l (De Vane, 1999). Tento rozdíl se zdá být omezením pro použití SSRI *in vivo*.

SSRI se však mohou kumulovat v některých tkáních jako např. v CNS (D Vane, 1999) a dosáhnout tak hladin blízkých MIC. Průměrné plazmatické hladiny SSRI mohou být dostačující pro ovlivnění virulencních faktorů, které souvisí úzce s patogenitou daného mikroorganismu (Munoz-Criado, 1998). SSRI jsou schopny potencovat účinek klasických antibiotik a vrátit mikroorganismy dříve rezistentní do skupiny senzitivních (Taylor a kol., 2000).

SSRI působí také nepřímo antimikrobiálně, ovlivňují funkci imunitního systému prostřednictvím zvýšení hladiny serotoninu v těle (Lass-Flörl a kol., 2002) a inhibicí tvorby prostaglandinů (Lieb, 2004).

Další výzkum by se měl soustředit na detailní prostudování antimikrobiálního mechanismu působení SSRI u jednotlivých typů mikrobů, na studie účinku SSRI *in vivo* a také na objasnění zákonitosti vztahů mezi SSRI, serotoninem a imunitním systémem, popř na syntézu nových účinnějších struktur. Je třeba ještě uskutečnit mnohá pozorování a výzkumy, než budeme schopni posoudit, zda jsou selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu vhodnou skupinou látek pro uplatnění v léčbě infekčních onemocnění.

## 8. Souhrn

V naší práci jsme prokázali, že paroxetin a fluoxetin, látky ze skupiny selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu (SSRI), mají antibakteriální účinek proti širokému spektru bakteriálních kmenů. Stanovili jsme minimální inhibiční koncentrace (MIC) obou látek mikrodiluční metodou v bujónu. MIC pro jednotlivé kmeny se pohybovaly v řádech desítek až stovek mg/l.

Hodnoty MIC jsou vyšší v porovnání s průměrnými plazmatickými hladinami paroxetinu a fluoxetinu (desítky až stovky  $\mu\text{g/l}$ ). Plazmatické hladiny však mohou stačit k ovlivnění patogenity mikroorganismu. Za určitých okolností, např. při kumulaci v centrálním nervovém systému se mohou koncentrace *in vivo* blížit MIC stanoveným *in vitro*.

SSRI vykazují aktivitu i proti houbám, rodům *Candida* a *Aspergillus*. Tyto látky jsou schopny potencovat účinek klasických antibiotik a zvrátit rezistenci odolných mikroorganismů. Svým působením na hladinu serotoninu v těle a inhibicí tvorby prostaglandinů ovlivňují a podporují činnost imunitního systému.

SSRI mohou být nadějnou skupinou pro léčbu infekčních nemocí, mohou se stát užitečným doplňkem a alternativou stávajícím terapeutickým postupům, je však třeba je podrobit dalším a detailnějším výzkumům.

## 9. Seznam použité literatury

- ABDULLA, Y., HAMADAH, K.: Effect of ADP on prostaglandin E1 formation in blood platelets from patients with depression, mania and schizophrenia. *Br. J. Psychiat.*, 1975, roč. 127, s. 591-595. Převzato z Lieb, 2004.
- AMARAL, L., KRISTIANSEN, J.E., ABEBE, L., MILLET, W.: Inhibition of the respiration of multi-drug resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* by thioridazine: potential use for initial therapy of freshly diagnose tuberculosis. *J. Antimikrob. Chemother.*, 1997, roč. 38, s. 1049-1053. Převzato z Kristiansen a Amaral, 1997.
- BACSO, L., LE BRAS, J.: In vitro activities of chloroquine in combination with chlorpromazine or prochlorperazine against isolates of *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1992, roč. 36, s. 209-213. Převzato z Taylor a kol., 2000.
- BRAY, P.G., JANNEH, O., RAYNES, K.J., MUNGTHIN, M., GINSBURG, H., WARD, S.A.: Cellular uptake of chloroquine is dependent on binding to ferriprotoporphyrin IX and is independent of NHE activity in *Plasmodium falciparum*. *J. Cell. Biol.*, 1999, roč. 145, s. 363-376. Převzato z Taylor a kol., 2000.
- COVER, P., SLATER, D., BUCKINGHAM, J.: Expression of cyclooxygenase enzymes in rat hypothalamo-pituitary-adrenal axis: effects of endotoxin and glucocorticoids. *Endocrine.*, 2001, roč. 16, s. 123-131. Převzato z Lieb, 2004.
- CROWIE, A.J., DOUVAS, G.S., MAY, M.H.: Chlorpromazine: a drug useful for treating mycobacterial infections. *Exp. Chemother*, 1992, roč. 38, s. 409, 410. Převzato z Kristiansen a Amaral, 1997.
- DE VANE, C.L.: Pharmacokinetics of the selective serotonin reuptake inhibitors. *J. Clin. Psychiat.*, 1992, roč. 53, s. 13-20. Převzato z Lass-Flörl a kol, 2001a.
- DE VANE, C.L.: Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Cell. Molec. Neurobiol.*, 1999, roč. 19, č. 4, s. 443-466.
- DIMMOCK, P.W., WYATT, K.M., JONES, P.W., O'BRIAN, P.M.: Efficacy of selective serotonin reuptake inhibitors in premenstrual syndrome: a systemic review. *Lancet*, 2000, roč. 368, s. 1131-1136. Převzato z Lass-Flörl a kol., 2003b.

- DUMAIS, N., BARBEAU, B., OLIVIER, M., a kol.: Prostaglandin E2 up-regulates HIV-1 long terminal repeat-driven gene activity in T cells via NF-kappa B-dependent and independent signaling pathways. *J. Biol. Chem.*, 1998, roč. 273, s. 27306-27314. Převzato z Lieb, 2004.
- FRANK, M., HENDRICKS, S., JOHNSON, D., a kol.: Antidepressants augment natural killer cell activity: in vivo and in vitro. *Neuropsychobiology*, 1999, roč. 39, 18-24. Převzato z Lieb, 2004.
- FRIEDMAN, E., IRWIN, M.: Modulation of immune cell function by the autonomic nervous system. *Pharmacol. Ther.*, 1997, roč. 741, s. 27-38. Převzato z Lieb, 2004.
- GERENA, L., BASS, G.T., KYKE, D.E., ODUALA, A.M.J., MILHOUS, W.K., MARTIN, R.K.: Fluoxetine hydrochloride enhances in vitro susceptibility to chloroquine in resistant *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1992, roč. 36, s. 2761-2765. Převzato z Taylor a kol., 2000.
- GRIFFIN, D., WESSELINGH, S., MC ARTHUR, J.: Elevated central nervous system prostaglandins in human immunodeficiency virus-associated dementia. *Ann. Neurol.*, 1998, roč. 35, s. 592-597. Převzato z Lieb, 2004.
- HARENBE, J., HUHLE, G., GIESE, C., WANG, L., FEURING, M., SONG, X., HOFFMAN, U.: Determination of serotonin release from platelets by enzyme immunoassay in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Br. J. Haematol.*, 2000, roč. 109, s. 2203-2208. Převzato z Lass-Flörl a kol., 2003b.
- HELLER, I., LEITNER, S., DIERICH, M.P., LASS-FLÖRL, C.: Serotonin (5-HT) enhances the activity of amphotericin B against *Aspergillus fumigatus* in vivo. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2004, roč. 24, s. 401-404.
- HELMESTE, D., TANG, S.W., VU, R.: Inhibition of platelet serotonin uptake by cytochrome P 450 inhibitors miconazole and econazole. *Life Sci.*, 1998, roč. 62, s. 2203-2208. Převzato z Lass-Flörl a kol., 2003b.
- CHRISTIN, L., WYSONG, T., MESHULAN, R., HASTEY, E., SIMONS, E.R., DIAMOND, R.: Human platelets damage *Aspergillus fumigatus* hyphae and may supplement killing neutrophils. *Infect. Immun.*, 1998, roč. 66, s. 1181-1189. Převzato z Lass-Flörl a kol., 2003b.
- KAATZ, G.W., SEO, S.: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1997, roč. 41, 2733-2737. Převzato z Wei a kol., 2004.

- KAATZ, G.W., MOUDGAL, V.V., SEO, S.M., HANSEN, J.B., KRISTIANSEN, J.E.: Phenylpiperidine selective serotonin reuptake inhibitors interfere with multidrug efflux pump activity in *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2003, roč. 22, s. 254-261.
- KRISTIANSEN, J.E.: The antimicrobial activity of non-antibiotics. *Act. Pathol., Microbiol. Immunol. Scand.*, 1992, roč. 30, s. 7-14. Převzato z Munoz-Bellido a kol., 1996.
- KRISTIANSEN, J.E., AMARAL, L.: The potential management of resistant infections with non-antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.*, 1997, roč. 40, s. 319-327.
- LARSSON, M., HAGBERG, L., NORKANS, G., FORSMAN, A.: Indole amine deficiency in blood and cerebrospinal fluid from patients with human immunodeficiency virus infection. *J. Neurosci. Res.*, 1989, roč. 23, s. 441-446. Převzato z Lass-Flörl a kol., 2003b.
- LASS-FLÖRL, C., DIERICH, M.P., FUCHS, D., SEMENITZ, E., LEDOCHOWSKI, M.: Antifungal activity against *Candida* species of the selective serotonin reuptake inhibitor, sertraline. *Clin. Infect. Dis.*, 2001a, roč. 33, s.135-136.
- LASS-FLÖRL, C., DIERICH, M.P., FUCHS, D., SEMENITZ, E., JENEWEIN, I., LEDOCHOWSKI, M.: Antifungal properties of selective serotonin reuptake inhibitors against *Aspergillus* species in vitro. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2001b, roč. 48, s. 775-779.
- LASS-FLÖRL, C., WIEDAUER, B., MAYR, A., KIRCHMAIR, M., JENEWEIN, I., LEDOCHOWSKI, M., DIERICH, M.P.: Antifungal properties of 5-hydroxytryptamine (serotonin) against *Aspergillus* spp. in vitro. *J. Medic. Microbiol.*, 2002, roč. 291, s. 665-667.
- LASS-FLÖRL, C., LEDOCHOWSKI, M., FUCHS, D., SPETH, C., KACANI, L., DIERICH, M.P., FUCHS, A., WÜRZNER, R.: Interaction of sertraline with *Candida* species selectively attenuates fungal virulence in vitro. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2003a, roč. 33, s. 11-15.
- LASS-FLÖRL, C., FUCHS, D., LEDOCHOWSKI, M., SPETH, C., DIERICH, M.P., WÜRZNER, R.: Antifungal properties of 5-hydroxytryptamine (serotonin) against *Candida* species in vitro. *J. Medical. Microbiol.*, 2003b, roč. 52, s. 169-171.

- LIEB, J., KARMALI, R., HORROBIN, D.: Elevated levels of prostaglandin E2 and tromboxane B2 in depression. *Prostagland. Leuk. Med.*, 1983, roč. 10, s. 361-368. Převzato z Leib, 2004.
- LIEB, J.: The immunostimulating and antimicrobial properties of lithium and antidepressants. *J. Infect.*, 2004, roč. 49, s. 88-93.
- LINNOILA, M., WHORTON, A., RUBINOW, D., a kol.: CSF prostaglandin levels in depressed and schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1983, roč. 40, s. 405-406. Převzato z Lieb, 2004.
- MARTIN, S., ODUOLA, A.M.J., MILHOUS, W.K.: Fluoxetine hydrochloride enhances in vitro susceptibility to chloroquine in resistant *Plasmodium falciparum*. *Science*, 1992, roč. 36, s. 2761-2765. Převzato z Taylor a kol., 2000.
- MUNOZ-BELLIDO, J.L., MUNOZ-CRIADO, S., GARCÍA-RODRÍGUEZ, J.A.: In vitro activity of psychiatric drugs against *Corynebacterium urealyticum*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 1996, roč. 37, s. 1005-1009.
- MUNOZ-BELLIDO, J.L., MUNOZ-CRIADO, S., GARCÍA-RODRÍGUEZ, J.A.: Antimicrobial activity of selective serotonin reuptake inhibitors. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2000, roč. 14, s. 177-180.
- MUNOZ-CRIADO, S., MUNOZ-BELLIDO, J.L., GARCÍA-RODRÍGUEZ, J.A.: Actividad antimicrobiana de fármacos no antibióticos. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 1995, roč. 8, s. 279-282. Převzato z Munoz-Bellido, 2000.
- MUNOZ-CRIADO, S., MUNOZ-BELLIDO, J.L., GARCÍA-RODRÍGUEZ, J.A.: In vitro activity of nonsteroidal anti-inflammatory agents, phenothiazines and antidepressants against *Brucella* species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1996, roč. 15, s. 418-420.
- MUNOZ-CRIADO, S., MUNOZ-BELLIDO, J.L., ALONZO-MANZARES, M.A., GUTÉRREZ-ZUFIAURRE, M.N., GARCÍA-RODRÍGUEZ, J.A.: Psychotropic drugs inhibit swarming in *Proteus* spp. and related genera. *Clin. Microbiol. Infect.*, 1998, roč. 4, č. 8, s. 447-449.
- NIKAIDO, H.: Preventing drug access to targets: cell surface permeability barriers and active efflux in bacteria. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 2001, roč. 12, s. 215-223. Převzato z Kaatz a kol., 2003.
- OHISHI, K., UENO, R., NISHINO, S., a kol.: Increased level of salivary prostaglandins in patients with major depression. *Biol. Psychiatry*, 1988, roč. 23, s. 236-334. Převzato z Lieb, 2004.

- PAULSEN, I.T., BROWN, M.H., SKURRAY, R.A.: Proton-dependent multi-drug efflux systems. *Microbiol. Rev.*, 1996, roč. 60, s. 575-608. Převzato z Kaatz a kol., 2003.
- REITE, M., HARBECK, R., HOFFMAN, A.: Altered cellular immune response following peer separation. *Life. Sci.*, 1981, roč. 29, s. 1133-1136. Převzato z Lieb, 2004.
- RYDER, N.S.: Squalene epoxidase as a target for the allylamines. *Biochem. Soc. Trans.*, 1991, roč. 19, s. 774-777. Převzato z Silvestri a kol, 2004.
- SAFA, A.R.: Photoaffinity labeling of the multidrug-resistance-related p-lycoprotein with photoactive analogs of verapamil. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, roč. 85, s. 7187-7191. Převzato z Taylor a kol., 2000.
- SCHLOSS, P., WILIAMS, D.: The serotonin transporter: a primary target for antidepressant drugs. *J. Psychopharmacol.*, 1998, roč. 12, s. 115-121. Převzato z Lass-Flörl a kol., 2003b.
- SCHUFF-WERNER, P., SPLETTSTOESSER, W.: Antioxidative properties of serotonin and the bactericidal function of polymorphonuclear phagocytes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999, roč. 467, s. 321-325.
- SILVESTRI, R., ARTICO, M., LA REGINA, G., DI PASQUALI, A., DE MARTINO, G., D'AURIA, D., NENCIONI, L., PALAMARA, A.T.: Imidazole analogues of fluoxetine, a novel class of anti-Candida agents. *J. Med. Chem.*, 2004, roč. 47, s. 3924-3926.
- SUCHOPÁR, J., a kol.: *Remedia kompendium*. 3. vyd. Praha: Panax, 1999, s.198, 199. .ISBN 80-902126-5-4.
- TAYLOR, D., WALDEN, J.C., ROBINS, A.H., SMITH, P.J.: Role of the neurotransmitter reuptake-blocking activity of antidepressants in reversing chloroquine resistance in vitro in Plasmodium falciparum. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, roč. 44, s. 2689-2692.
- TILŠER, I.: ústní sdělení, 2005.
- VAN BAMBEKE, F., BALZI, E., TULKENS, P.M.: Antibiotic efflux pumps. *Biochem. Pharmacol.*, 2000, roč. 60, s. 457-470. Převzato z Kaatz a kol., 2003.
- WEI, P., KAATZ, G.W., KERNS, R.J.: Structural differences between paroxetine and femoxetine responsible for differential inhibition of Staphylococcus aureus efflux pumps. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, roč. 14, s. 3093-3097.



- WILLIAMS, J.D.: Selective toxicity and concordant pharmacodynamics of antibiotics and other drugs. *J. Antimikrob. Chemother.*, 1997, roč. 35, s. 721-737.  
Převzato z Kristiansen a Amaral, 1997.
- YARON, I., SHIRAZI, I., JUDOVICH, R., a kol.: Fluoxetine and amitriptiline inhibit nitric oxide, prostaglandin E2 and hyaluronic acid production in human synovial tissue cultures. *Arthritis. Rheum.*, 1999, roč. 42, s. 2561-2568.  
Převzato z Lieb, 2004.
- YOUNG, T.J., OLIVER, G.P., PRYDE, D., PERROS, M., PARKINSON, T.: Anti-fungal activity of selective serotonin reuptake inhibitors attributed to non-specific cytotoxicity. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2003, roč. 51, s. 1045-1047.