

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát **Mgr. Jana Mandíková**

Školitel **doc. PharmDr. František Trejtnar, CSc.**

Název disertační práce **Interakce antimikrobiálních látek s lékovými ledvinnými transportními systémy in vitro**

Řada významných a často užívaných antimikrobiálních léčiv je po podání z organismu vylučována ledvinami. Během tohoto exkrečního procesu může docházet k interakcím s různými membránovými transportními systémy (transportéry), které jsou v ledvinné tkáni exprimovány. Tyto interakce jsou často určujícími faktory jak pro ledvinnou exkreci, tak pro toxické působení těchto léčiv v ledvinách. Mezi transportéry s vysokou expresí v ledvinné tkáni patří např. influxní přenašeče pro organické anionty (OATs), organické kationty (OCTs) či koncentrační nukleosidové transportéry (CNTs) a efluxní transportéry BCRP (Breast Cancer Resistance Protein) a P-glykoprotein (P-gp). Přes velký význam ledvinných lékových transportérů pro eliminaci a nefrotoxické působení léčiv a intenzivní výzkum v této oblasti, nejsou interakce řady důležitých antimikrobiálních látek s lékovými transportéry v ledvinách popsány dostatečně nebo nejsou známy vůbec. Cílem této práce bylo zkoumat interakce vybraných antivirotik a antibiotik s důležitými lidskými ledvinnými lékovými transportéry in vitro, posoudit potenciál těchto transportních interakcí pro lékové interakce s vybranými léčivy a zjistit význam nalezených transportních mechanismů pro toxicitu studovaných látek. Důležitou součástí práce bylo zavedení optimalizovaných metod využívajících buněčné modely s přechodně zvýšenou expresí studovaných transportérů. Tyto metody byly využity v inhibičních a transportních experimentech, které sloužily ke stanovení kvantitativních parametrů interakcí studovaných látek s transportéry OAT1, OCT2, CNT2 a CNT3. Interakce BCRP a P-gp se studovanými látkami byly zkoumány s využitím buněčných linií se stabilně vysokou expresí těchto transportérů. Výzkum v rámci této práce byl koncentrován na vývojová antivirotika ze skupiny acyklických nukleosidových fosfonátů (ANPs), na novější antivirotikum entecavir pro léčbu virové hepatitidy a na významné antimykotikum amfotericin B ve formě komplexu s deoxycholátem (AmB/DOC). Ledvinami vylučovaná antivirotika adefovir, tenofovir a cidofovir, která mohou být v klinické praxi podávána současně se studovanými léčivy, byla použita pro porovnání intenzity interakce studovaných látek s vybranými transportéry a byla studována i z hlediska možných lékových interakcí s testovanými látkami.

Buněčné in vitro studie ukázaly, že entecavir (ETV) je inhibitorem a substrátem hOAT1, hCNT2 a hCNT3. ETV inhiboval buněčný uptake adefoviru, tenofoviru a cidofoviru prostřednictvím hOAT1. Účinná inhibice transportu byla ovšem pozorována až při koncentracích ETV vyšších, než jsou terapeutické hladiny. Ve srovnání s adefovirem, tenofovirem a cidofovirem působil ETV méně toxičticky na buňky transfekované hOAT1. ETV vykazoval mírný inhibiční vliv na BCRP/ABCG2 a P gp/ABCB1.

Většina testovaných ANPs se vyznačovala určitou interakcí s hOAT1. Afinita látky GS 9191 k hOAT1 byla poměrně vysoká a srovnatelná s afinitou známých substrátů hOAT1 adefovirem a tenofovirem. Míra interakce s hOAT1 nekorelovala s lipofilitou těchto látek. Zatímco látka GS-9191 vykazovala silné inhibiční účinky na funkci P gp a BCRP, látka PMEODAPY inhibovala pouze P gp. Většina testovaných ANPs způsobila významný pokles viability buněk transfekovaných hOAT1. Cytotoxický účinek ANPs in vitro, s výjimkou relativně lipofilní látky GS 9191, odpovídal jejich schopnosti interagovat s hOAT1. Vyšší cytotoxicita ANPs s afinitou k hOAT1 je nepřímým důkazem, že tyto látky jsou nejen inhibitory, ale i substráty tohoto transportéru.

Provedené akumulární studie potvrdily aktivní transport AmB do buněk. Komplexní preparát AmB/DOC inhiboval jak hOAT1, tak i hOCT2. Jako složka odpovědná za interakci s OAT1 byla identifikována DOC. AmB neinteragoval s hOAT1, avšak výrazně inhiboval hOCT2. Buněčný uptake AmB prostřednictvím hOAT1 a hOCT2 jsme neprokázali. AmB/DOC v supratherapeutických koncentracích interagoval s adefovirem,

tenofovirem a cidofovirem v buňkách transfekovaných hOAT1.

Na základě zjištěných experimentálních dat lze konstatovat, že ETV má ve srovnání s nefrotoxicky působícími antiviroty jen relativně slabé interakce se studovanými ledvinnými transportéry, které pravděpodobně nemohou mít význam pro transportéry zprostředkovanou cytotoxicitu ani být podkladem lékových interakcí. V případě ANPs byly zjištěny mezilátkově rozdílné interakce především s OAT1, které by mohly mít význam pro jejich ledvinovou exkreci in vivo. Provedené studie vedly k prvním popsáním informacím o interakci AmB s SLC membránovými transportními systémy, které se sice na jeho sekreci v ledvinných tubulech pravděpodobně nepodílí, avšak jejich význam pro lékové interakce a toxicitu léčiva by měl být dále ověřen.