

Farmaceutický korespondenční seminář





Milí řešitelé,

konečně se Vám do rukou dostává 4. sada 3. soutěžního ročníku FARMAKOSu. Doufáme, že pro vás bude zajímavá, dozvíte se nové informace a celkově si její řešení užijete. Pokud narazíte na nějaký problém nebo nejasnost v zadání, ozvěte se nám na stejný email, na který budete posílat i vypracované úlohy a pokusíme se to vyjasnit.

Vzhledem k tomu, že odevzdávat úlohy můžete až do konce ledna, bych Vám také ráda popřála klidné prožití Vánoc a hodně štěstí do nového roku. Pevně doufám, že v příštím roce již epidemiologická situace umožní i konání závěrečného soustředění přímo na Farmaceutické fakultě v Hradci Králové.

Za organizátory Vám přeji hodně úspěchů při hledání řešení

Mgr. Štefan Kosturko

Jak odevzdávat řešení?

Řešení úloh vypracujte pro každou úlohu zvlášť do souboru Word a odešlete na e-mail farmakos@faf.cuni.cz. Do názvu souboru uveďte ročník-číslo sady-číslo úlohy a své příjmení, takže například 3-4-5-Příjmení. Stejně jako název souboru vyplňte i předmět e-mailu, aby se autorům úloh lépe hledalo Vaše řešení. Pro každou úlohu zašlete nový e-mail.

Termín odevzdání úloh: 19. května 2023

Autor grafické podoby soutěžního zadání:

Magdalena Goldmannová (IG @magdalenagoldmannova)



Diabetes mellitus

Úloha 1 (20 bodů)

Júlia Minarovičová

Diabetes mellitus (ľudovo nazývaný „cukrovka“) je heterogénne metabolické ochorenie charakterizovaná chronickou hyperglykémiou s poruchami metabolizmu sacharidov, tukov a bielkovín. Vzniká v dôsledku absolútneho či relatívneho nedostatku inzulínu. Jedná sa o ochorenie s rastúcou prevalenciou, takže sa v súčasnosti môžeme stretnúť s termínom „epidémia diabetu“. Celosvetovo trpí diabetom viac ako 400 miliónov pacientov. Podľa predpokladu WHO ním bude v roku 2030 trpieť 550-600 miliónov ľudí po celom svete a stane sa 7.najčastejšou príčinou úmrtí. Súčasná klasifikácia zahŕňa 4 skupiny diabetu a 2 skupiny označované ako poruchy hraničné poruchy glukózovej homeostázy (prediabetes).

Doplňte tabuľku prehľadu klasifikácie diabetu.

Diabetes mellitus	Používaná skratka
Diabetes mellitus 1.typu	DM1
a) imunitne podmienený (pozitívne protilátky)	Pozitívne protilátky
b) idiopatický	Negatívne protilátky
Diabetes mellitus 2.typu	DM2
Gestačný diabetes	GDM
Ostatné špecifické typy DM	monogénny diabetes – MODY; pri chronickom ochorení pankreasu; pri imunosupresii, endokrinopatiách apod.
Prediabetes	Používaná skratka
Zvýšená glykémia nalačno	IFG (impaired fasting glucose)
Porušená glukózová tolerancia	IGT (impaired glucose tolerance)
Kombinácia oboch porúch	IFG (impaired fasting glucose) + IGT (impaired glucose tolerance)

Diagnostika diabetu prebieha na základe merania glykémie vo venóznej plazme štandardnými laboratórnymi metódami. Prítomnosť klinických symptómov nie je konštantná, preto jej chýbanie prítomnosť diabetu nevylučuje. Možno ho diagnostikovať 3 rôznymi spôsobmi.

Napište akými spôsobmi možno diagnostikovať diabetes mellitus a konkrétne hodnoty hladiny glykémie pre potvrdenie DM. Je možné na základe jedného merania spoľahlivo diagnostikovať ochorenie?

Diabetes mellitus môže byť diagnostikovaný tromi rôznymi spôsobmi:

- prítomnosť klasických príznakov diabetu + náhodná glykémia $\geq 11,1$ mmol/l



- b) glykémia nalačno $\geq 7,0$ mmol/l
- c) glykémia v 120. minúte oGTT $\geq 11,1$ mmol/l (75g glukózy)

Nie, na základe jedného merania nemožno ochorenie potvrdiť. Merania musia byť minimálne 2.

Typickými príznakmi je smäd, polydypsia, polyúria (spolu s nyktúriou), ktoré sa vyskytujú najmä u rozvinutého ochorenia. Môže sa prejavovať aj stratou váhy pri normálnej chuti k jedlu, únavou, nevykonnosťou, malátnosťou či kolísaním zrakovej ostrosti. V prípade neliečeného ochorenia často dôjde až k prejavu komplikácií diabetu. Tieto možno rozdeliť na akútne a chronické.

3. Napíšte aspoň 3 akútne a 3 chronické komplikácie diabetu, príp. jeho liečby.

Akútne komplikácie: hypoglykémia, diabetická ketoacidóza, laktátová acidóza, hyperglykemický hyperosmolárny stav

Chronické komplikácie: parestézie a nočné bolesti dolných končatín, gastroparéza, hnačka, zápcha, poruchy vyprázdňovania močového mechúra, erektilná dysfunkcia, retinopatia, nefropatia, parodontóza, aterosklerotické komplikácie (zhoršenie ICHS, stenokardie, SS).

Za hlavný cieľ liečby diabetu považujeme dosiahnutie dlhodobej normoglykémie, popr. priblíženie sa k nej. Liečba taktiež zahŕňa rôzne nefarmakologické odporúčania, ku ktorým patrí vhodná diéta a fyzická aktivita s ohľadom na vek, typ diabetu, hmotnosť pacienta či prítomnosť pridružených komplikácií. Liečba je pre jednotlivé typy diabetu rozdielna. Zatiaľ čo v prípade DM1 sa jedná o liečbu inzulínov, pre terapiu DM2 využívame perorálne antidiabetiká, parenterálne antidiabetiká a v pokročilých štádiách aj inzulín. Je dôležité myslieť aj na liečbu pridružených ochorení, ktoré by mohli stav pacienta zhoršovať.

4. Pre liečbu DM1 využívame humánny inzulín, popr. jeho analógy s výhodnejšími vlastnosťami. Možno ho aplikovať v intenzifikovaných či konvenčných inzulínových režimoch. Humánny inzulín zaradíme medzi krátkopôsobiaci až stredne dlhopôsobiaci. Rozdeľte analógy podľa dĺžky trvania pôsobenia na krátkodobé a dlhodobé.

Krátkodobé inzulíny: lispro, glulisin, aspart

Dlhodobé inzulíny: degludec, determir, glargin

5. Má inzulín nejaké nežiadúce účinky? Ak áno, aké?



Áno. Medzi nežiadúce účinky inzulínu patrí hypoglykémia, priberanie na váhe, alergia (typická najmä pre staršie prípravky) či rezistencia (spôsobená protilátkami, či genetickými mutáciami)

6. Aký spôsobom možno pacientovi podať inzulín?

Keďže inzulín je hormón bielkovinovej povahy, možno ho podať len parenterálne.

Po stanovení diagnózy DM2 zahajujeme súčasne s režimovými opatreniami aj liečbu metformínom (ak nie je kontraindikovaný). Pri nedostatočnom efekte môžeme liečbu intenzifikovať k dosiahnutiu cieľových hodnôt glykovaného hemoglobínu pridaním iným antidiabetík, príp. inzulínu.

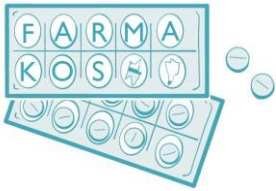
7. Doplňte tabuľku.

Skupina	Zástupcovia	Mechanizmus účinku
Biguanidy	Metformín	Senzitizér
Glitazony (thiazolidindiony)	Pioglitazon	Senzitizéry- selektívny agonizmus PPAR γ receptorov
Deriváty sulfonylurey	Glimepirid, gliklazid, gliquidon, glipizid	Sekretagoga- blokáda ATP-senzitívnych K ⁺ kanálov
Glinidy	Nateglinid, repaglinid	Sekretagoga- blokáda ATP-senzitívnych K ⁺ kanálov
Inhibítory alfa-glukosidázy	Akarbóza	Inhibícia alfa-glukosidázy v čreve
Gliflozíny	Dapagliflozín, empagliflozín, ertugliflozín	selektívna/reverzibilná inhibícia sodíkového a glukózového kotransportéru 2 (SGLT2) v proximálnom tubule v obličkách
Analógy GLP-1	Liraglutid, exenatid, exenatid, dulaglutid,	Väzba na membránový receptor pre GLP-1
Inhibítory DPP-4	Sitagliptín, vildagliptín, saxagliptín, linagliptín, alogliptín	Inhícia dipeptidylpeptidázy, čo vedie k zvýšeniu množstva inkretínov v krvi

8. Napíšte 3 skupiny perorálnych antidiabetík, ktorých nežiadúcim účinkom je priberanie na váhe. Ktoré skupiny sa naopak vyznačujú pozitívnym vplyvom na hmotnosť pacienta? Uveďte aspoň 2.

Priberanie na váhe: thiazolidindiony (glitazony), deriváty sulfonylurey a glinidy
 Pozitívny vplyv na hmotnosť: gliflozíny, analógy GLP-1

9. V prípade že podáme pacientovi rovnakú dávku glukózy i.v. a p.o., ktorá dávka vyvolá vyššie vylúčenie inzulínu a prečo?



Vyššie vylúčenie inzulínu vyvolá podanie p.o. keďže dôjde a aktivácií inkretínov, ktoré podporia vylúčenie inzulínu.

10. V prípade, že pacient užíva akarbózu, možno mu v prípade hypoglykémie podať akýkoľvek cukor?

Nie, keďže akarbóza pôsobí ako inhibítor alfa-glukosidázy v čreve- Tá rozkladá zložité cukry na monosacharidy, ktoré sa v čreve následne vstrebávajú. Pacientovi je nutné v takomto prípade podať jednoduché cukry (glukóza, fruktóza,...)



Alkaloidy

Úloha 2 (20 bodů)

Nikola Lebeková

ALKALOIDY OBECNĚ

Na začátek začneme pojmem alkaloidy. Jedná se o přírodní, organické, dusík obsahující sloučeniny, které mají výrazné, zpravidla velmi specifické účinky, a to jak na rostlinný druh, v kterém se biosyntetizují, tak na živočichy, které tyto rostlinné druhy zužitkovávají. Proč se tyto sloučeniny jmenují alkaloidy? Důvod je jednoduchý. Může za to jejich alkalická povaha. Tudíž jsou to látky, které jsou schopny tvořit soli s kyselinami. Ačkoliv je tato vlastnost společná pro většinu alkaloidů, existují také výjimky, které tuto vlastnost postrádají. Jejich biosyntéza probíhá obvykle modifikací prekurzorových molekul – aminokyselin. Třízení alkaloidů je složité a využívá několika rozličných systémů. Oblíbený systém jejich třízení je založen na základě jejich struktury, konkrétně na přítomnosti bazického dusíku v molekule. Podle toho je rozlišujeme na tři základní skupiny, a to na *protoalkaloidy* (deriváty benzylaminu, β -fenylethylaminu a β -aminofenylpropanu), které nemají heterocyklicky vázaný dusík, *vlastní „pravé“ alkaloidy*, kterých bazický dusík je součástí heterocyklu, *pseudoalkaloidy* (steroidní a terpenické alkaloidy), jejichž biosyntéza nevychází z aminokyselin a jejich bazický dusík je vnášen do molekuly pomocí transaminačních reakcí na konci jejich biosyntézy a také skupinu *purinových bází* (dříve purínové alkaloidy), které se biosyntetizují spojováním jedno- a dvouuhlíkatých sloučenin (glycin, glutamin, kyselina mravenčí, oxid uhličitý a aspartat) a následně jsou methylovány pomocí s-adenosylmetioninu.

Jak bylo zmíněno výš, tak se alkaloidy biosyntetizují z aminokyselin. Najděte jednotlivé skupiny a dozvíte se, jak se jednotlivé alkaloidy dělí na základě jejich biosyntetických prekurzorů. Odpovědi uvádějte ve tvaru: Typ alkaloidu (Aminokyselina) – alkaloid, alkaloid, alkaloid ...

- **Typ alkaloidu:** Imidazolový typ; Pyridinový typ; Chinolizidinový typ; Protoalkaloidy; Tropanový typ; Indolový typ; Isochinolinový typ; Chinolinový typ; Piperidinový typ; Purínové alkaloidy



- **Aminokyselina:** Fenylalanin a Tyrosin; Fenylalanin a Tyrosin; Tryptofan; Tryptofan; Histidin; Ornithin a Lysin; Ornithin a Lysin; Ornithin a Lysin; Ornithin a Lysin; Glycin
- **Alkaloidy:** Narcimatulin; Brucin; Kapsaicin; Tigloidin; Eserin; Lupanin; Thebain; Nikotin; Pilosin; Kokusaginin; Narcein; Spartein; Anabasin; Kofein; Lobelin; Atropin; Narwedín; Emetin; Kuskohygrin; Meskalin; Kolumbamin; Pilocarpin; Theofylin; Lykoramin; Yohimbin; Meteloidin; Chinin; Chavicin; Kokain; Arekolin.
 - **Imidazolový typ (Histidin)** – Pilosin, Pilocarpin
 - **Pyridinový typ (Ornithin a Lysin)** – Nikotin, Anabasin, Arekolin
 - **Chinolizidinový typ (Ornithin a Lysin)** – Spartein, Lupanin
 - **Protoalkaloidy (Fenylalanin a Tyrosin)** – Meskalin, Kapsaicin
 - **Tropanový typ (Ornithin a Lysin)** – Tigloidin, Meteloidin, Kuskohygrin, Atropin, Kokain
 - **Indolový typ (Tryptofan)** – Eserin, Brucin, Yohimbin
 - **Isochinolinový typ (Fenylalanin a Tyrosin)** – Narcimatulin, Lykoramin, Narwedín, Thebain, Narcein, Kolumbamin, Emetin
 - **Chinolinový typ (Tryptofan)** – Kokusaginin, Chinin
 - **Piperidinový typ (Ornithin a Lysin)** – Lobelin, Chavicin
 - **Purínové alkaloidy (Glycin)** – Kofein, Theofylin

Přiradte k názvu alkaloidu účinek, pro který je využíván, resp. by mohl být používán v humánní medicíně.

Alkaloid	Využití / účinek
Atropin	Mydriaticum
Chinidin	Antiarytmikum
Galanthamin	Kognitivum a antiglaukomatikum
Kodein	Antitusikum a mírné sedativum
Homoharringtonin	Antineoplastikum
Pseudoefedrin	Periferní analeptikum
Rhoeadin	Sedativum
Emetin	Emetikum

Přiradte k názvu alkaloidu správnou matečnou rostlinu a čeleď.

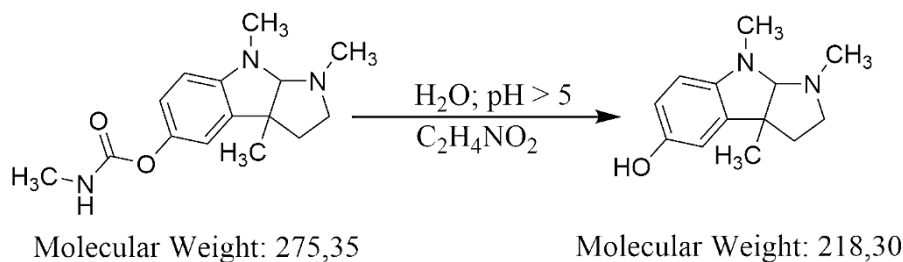
Alkaloid	Matečná rostlina	Čeleď
Lobelanin	<i>Lobelia inflata</i> L.	Campanulaceae
Voacangin	<i>Voacanga grandifolia</i> (Miq.) Rolfe	Apocynaceae
Protoverin	<i>Veratrum album</i> L.	Melanthiaceae
Strychin	<i>Strychnos nux-vomica</i> L.	Loganiaceae
Narcimatulin	<i>Narcissus pseudonarcissus</i> L.	Amaryllidaceae
Jatrorrhizin	<i>Jateorhiza palmata</i> (Lam.) Miers	Menispermaceae



Kolchicin	<i>Colchicum autumnale</i> L.	Colchicaceae
Vinblastin	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don	Apocynaceae

INDOLOVÉ ALKALOIDY

Semena západoafrické liány, *Physostigma venenosum* Balf. z čeledi **Fabaceae**, poskytují drogu, která je známa pod lidovým názvem **kalabarské boby**. Tato droga je významným přírodním zdrojem **indolových alkaloidů**, a to zejména hexahydropyrrolo[2,3-b]indolových derivátů. Mezi tyto deriváty patří také eserolin-methylkarbamát, který se používá jako **antidotum** při předávkování **antimuskariniky** (např. atropin), které se projevuje xerostomií, tachykardií, **mydriázou nebo zvýšenou retencí moči** a zvýšeným nitroočním tlakem.



Eserolin-methylkarbamát je poměrně nestabilní sloučenina. V lidské plasmě se během několika minut rozkládá na metabolity, které rovněž jako eserolin-methylkarbamát, působí jako inhibitory **AChE**.

Jaký je triviální název sloučeniny eserolin-methylkarbamát?

Fysostigmin nebo eserin.

Má eserolin-methylkarbamát také jiné, než výše zmíněné, použití?

Prevence otravy organofosfáty.

Sloučenina s MW = 218,30 je primárním metabolitem eserolin-methylkarbamátu. Jaký je její triviální název?

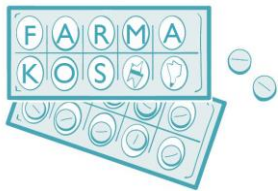
Eserolin.

Na jaké receptory se tento primární metabolit váže?

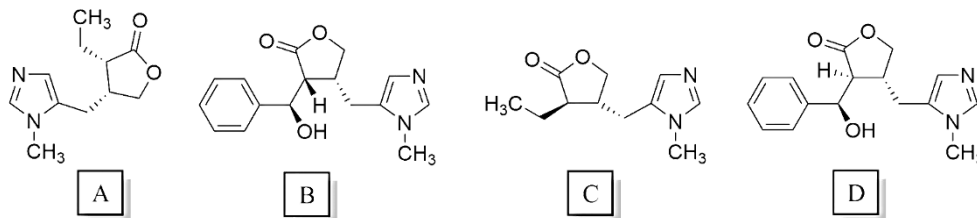
μ-opioidní receptor.

IMIDAZOLOVÉ ALKALOIDY

Lichospeřené listy keřů rodu *Pilocarpus* Vahl, domácí v Jižní Africe, poskytují drogu, která je známa pod latinským názvem **Jaborandi folium**. Drogu poskytují například druhy *Pilocarpus racemosus* Vahl nebo *Pilocarpus spicatus* A. St. Hill. Druhy



Pilocarpus jaborandi Holmes a *Pilocarpus microphyllus* Srapf ex Wardleworth se pro svůj značný obsah **imidazolových** alkaloidů a extenzivní geografické rozšíření využívají jako zdroje k izolaci těchto přírodních látek. Hlavní obsahová látka této drogy je alkaloid **pilocarpin**, který nalez své uplatnění v humánní medicíně jako **antiglaukomatikum**.



Jaké jsou triviální názvy jednotlivých sloučenin (A, B, C, D)?

Pilocarpin, Pilosin, Isopilocarpin, isopilosin.

Jaký je mechanismus terapeutického účinku pilokarpinu u zvýšeného nitroočního tlaku?

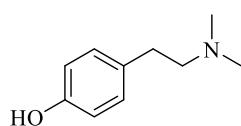
Neselektivní agonista M (muskarinových) receptorů; M₃ – antiglaukomatikum (snížení produkce komorové vody).

Je pravda že pilokarpin je schopen antagonizovat účinky atropinu?

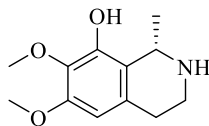
Ano.

PROTOALKALOIDY

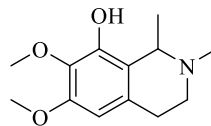
Mezi deriváty β-fenylethylaminu patří také alkaloid **meskalin**, který je možné nalézt v některých druzích patřících do čeledi Cactaceae. Je to halucinogen a zneužívá se pro svoje agonistické účinky na **serotoninových** receptorech.



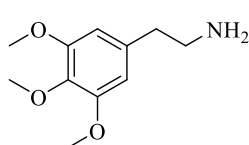
Anhaline



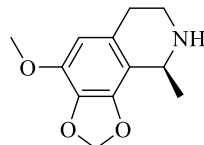
Anhalonidine



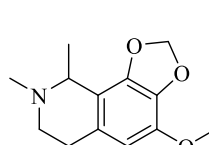
Pellotine



???



Anhalonine



Lophophorine





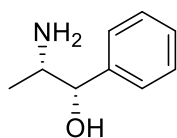
Uveďte latinský název alespoň jednoho rostlinného druhu z čeledi Cactaceae, s obsahem výše zmíněného alkaloidu.

Lophophora williamsii (Lem. ex Salm-Dyck) J.M. Coult.

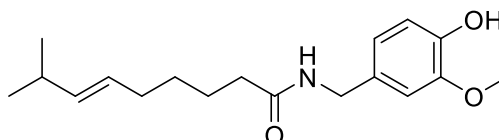
Jaké je tradiční použití těchto halucinogenních kaktusů?

Entheogen využíván domorodými Američany při náboženských obřadech.

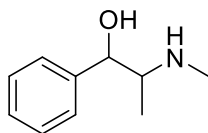
Z dalších alkaloidů, strukturně podobných derivátům β -fenylethylaminu, lze uvést například deriváty β -aminofenylpropanu (kathin, kathinon, efedrin) nebo deriváty benzylaminu (kapsaicin), které rovněž patří mezi protoalkaloidy.



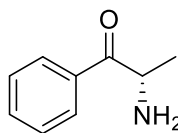
A



B



C



D

K jednotlivým vzorcům alkaloidů přiřadte strukturní typ (deriváty β -fenylethylaminu nebo β -aminofenylpropanu nebo benzylaminu).

(A) – β -aminofenylpropan

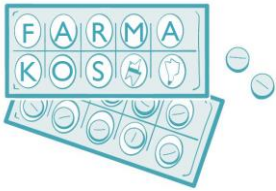
(B) – benzylamin

(C) – β -aminofenylpropan

(D) – β -aminofenylpropan

PSEUDOALKALOIDY

Některé alkaloidy se vyznačují svou začnou cytotoxickou aktivitou vůči nádorovým buňkám. Mezi takovéto alkaloidy patří například diterpenické polyacyloxylované alkaloidy označované jako **taxany**. Prvním zástupcem této skupiny látek je alkaloid paklitaxel, prvně izolovaný v roce 1969 z kůry pacifického tisu *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae), který vzniká v důsledku symbiózy tohoto tisu s endofytickou houbou *Taxomyces adreanae* (undefined).



V mikrobiologické laboratoři

Úloha 3 (20 bodů)

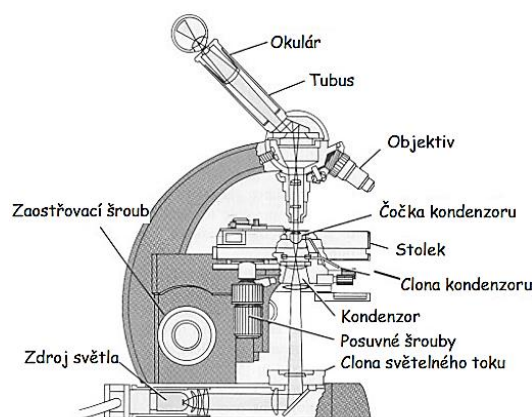
Tadeáš Stein

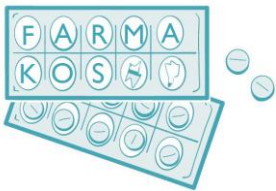
Obor mikrobiologie se zabývá studiem mikroskopických organismů, které mohou být jednobuněčné (např. bakterie, kvasinky) nebo mnohobuněčné (např. houby, helminti) a acelulární (viry, priony.) Mikroorganismy mají nezastupitelnou roli v přírodě díky jejich obrovské metabolické a genetické diverzitě. V potravinářství je využíváme již tisíce let - v pekařství, pivovarnictví, vinařství kvasinky (*Saccharomyces*), u sýrů, jogurtů, másla - *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Penicillium*. Dále v rámci biotechnologie - produkce enzymů, kyselin, geneticky modifikované mikroorganismy (GMO) – tvorba léčiv, hormonů, bioremediace. Mikrobi jsou tedy i producenti mnoha léčiv a antibiotik.

Bakterie se nachází i v našem těle – je to náš lidský mikrobiom. Počet bakterií v lidském organismu převyšuje počet lidských buněk (poměr asi 1:10). Náš mikrobiom nás ochraňuje tím, že soutěží o životní prostor s patogenními organismy (produkce látek inhibující ostatní mikroorganismy, snížení pH – limituje růst ostatních mikrobů, produkce vitamínů K, B12, posílení imunitního systému). Méně než 1 % známých mikroorganismů je schopno vyvolat onemocnění u člověka, nicméně v rámci farmaceutické mikrobiologie nás právě tyto druhy zajímají.

K pozorování používáme mikroskop. Základ mikroskopii dal Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723). Jde o nizozemského průkopníka „ve světě mikroskopie“. Sám vyráběl jednoduché mikroskopy a čočky do nich vsazené. V roce 1676 jako první pozoroval bakterie. Označil je pojmem „animalcules“, neboli zvířátka. Mimo jiné pozoroval krevní buňky, hmyz, listy rostlin, sperma... Nejlevnější a nepoužívanější je světelný mikroskop. Základ mikroskopu tvoří optická soustava čoček, zdroj světla, stolek, kam se upíná preparát apod. První optickou čočkou je frontální čočka objektivu, poslední čočkou optické soustavy je čočka vsazená do okuláru, do kterého nahlíží oko pozorovatele. Klasické světelné mikroskopy využívají bílého světla (klasická, či halogen žárovka, či LED osvětlení). Mikroskopy lze dále dělit na monokulární (pouze jeden okulár, nahlížíme pouze jedním okem)/binokulární/trinokulární... Je třeba si uvědomit, že objekt, který pozorujeme prostřednictvím mikroskopu, kdy nahlížíme okem do okuláru je vždy v reálu stranově a výškově převrácený a samozřejmě i zvětšený.

1) Popište jednotlivé části světelného mikroskopu na následujícím obrázku.





V zásadě se rozlišují dva typy preparátů – nativní a barvené. Nativní preparáty obsahují vždy mikrobiální agens v nativní podobě – mikrobi jsou zde živé, většinou nikterak barvené. V těchto preparátech pak lze pozorovat pohyb mikrobů, jejich dělení, také tvar buněk atd. Příkladem jsou nativní preparáty parazitů (ve stolici), či hub (studium morfologických znaků plísní). Jednou z technik vedoucích k přípravě nativního preparátu je i tzv. vitální barvení, kde například k suspenzi kvasinkových buněk je přidán indikátor, který prostupuje skrze stěnu/membránu poškozených/mrtvých buněk a na základě tohoto lze pak odlišit živé vs. mrtvé buňky (či buňky s kompromitovanou membránou). Především v bakteriologii se připravují barvené preparáty. Zde před vlastním barvením dochází k fixaci (ukotvení mikrobiálního agens ke sklíčku, usmrcení agens). Fixaci lze provést teplem, tedy s užitím plamene plynového hořáku, či chemicky, například glutaraldehydem. Takto zafixované preparáty jsou pak barveny vhodnou barvicí technikou dle toho, jaké agens ve vzorku předpokládáme a co chceme studovat/pozorovat.

V rámci bakteriologie je nejvýznamnější technikou barvení dle Grama. Zde jsou v rámci tohoto barvení rozlišovány (diferenciovány) dvě základní skupiny, tzv. Gram-pozitivní a Gram-negativní bakterie. Zatímco Gram-pozitivní buňky mají velmi silnou stěnu tvořenou zejména peptidoglykanem, spolu s tím jsou zastoupeny kys. teichoová, či lipoteichoová, u Gram-negativních buněk je rozlišena tzv. vnitřní a vnější membrána, kde vnější membrána je tvořena jen slabou vrstvou peptidoglykanu a lipopolysacharidovou vrstvou.

2) Jaký je postup barvení podle Grama? Jak poznáme jestli se jedná o G+/- kmen?

Lze využít mnemotechnickou pomůcku – barvení na VLAS (violet, Lugol, alkohol/acetón, safranin), či na VLAK (violet, Lugol, alkohol/acetón, karbolfuchsin).

První krok – fixace bakteriální suspenze ke sklíčku (například teplem). Nalítí krystalové violeť na fixovaný preparát. Ta se většinou neslévá (postupy na různých pracovištích se mohou lišit) a po určitém krátkém čase (několik desítek sekund, maximálně minutu či dvě) se přidává navíc Lugolův roztok (mořidlo). V případě Gram-pozitivních bakterií Lugol s krystalovou violetí vytvoří barevný komplex, který lze jen nesnadno odmyt pomocí alkoholu, či acetonu – je pevně vázán k buněčné stěně Gram-pozitivních bakterií. V případě Gram-negativních bakterií se nevytváří stabilní komplex a po vymývání alkoholem se krystalová violet' vyplavuje. Následuje krok promývání preparátu pomocí alkoholu či acetonu. Obecně v postupech stojí –odmývání, dokud se neustále vyplavuje barvička, nicméně by nemělo být prováděno promývání více jak 20 sekund – i u Gram-pozitivních bakterií by mohlo vlivem velmi intenzivního odbarvování dojít k uvolnění barevného komplexu! Sklíčko se nechá okapat a překryje se dále buď safraninem či karbolfuchsinem. Zde se nechá opět působit po dobu několika desítek sekund, či pár minut. Kroku, kdy se přidává karbolfuchsin či safranin se také říká kontrastní dobarvování. Je třeba mít na paměti, že Gram-pozitivní bakterie si udrží barvičku – krystalovou violet', ale v případě Gram-negativních, pokud by nenásledoval tento krok kontrastního dobarvení bychom nebyli schopni řádně pozorovat Gram-negativní bakterie prostřednictvím světelné mikroskopie, právě proto, že by nebyly zvýrazněny/barveny. Tedy, ve finále: Gram-pozitivní bakterie se mikroskopu díky barvení dle Grama jeví jako tmavě fialové/modrofialové struktury,



zatímco Gram-negativní (díky kontrastnímu dobarvení) mají barvu růžovou až červenou.

3) Vypiš alespoň 5 G+ bakteriálních rodů a 5 G- bakteriálních rodů.

G+ koky (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*); **tyčky** (*Corynebacterium*, *Clostridium*, *Listeria*, *Bacillus*).

G- koky (*Neisseria*); kokobacilus (*Haemophilus*, *Bordetella*, *Legionella*, *Brucella*); **tyčky** (*Klebsiella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Helicobacter*, *Yersinia*, *Salmonella*).

Kromě Gramova barvení můžeme tloušťku buněčné stěny rychle a přesně určit i pomocí KOH testu. KOH test slouží k rychlému rozlišení na grampozitivní/negativní tím, že hydroxid naruší tenkou peptidoglykanovou vrstvu u gramnegativních bakterií. Lyzované bakterie tvoří viskózní suspenzi, která se táhne za kličkou. Tuto metodu nelze použít u bakterií produkujících sliz. K určení neznámých vzorků můžeme dále využít katalázový test. Ten využívá přítomnost peroxidázy, což je enzym rozkládající peroxid. Po jeho přidání k bakteriální kultuře přímo na médiu nebo sklíčku dojde při pozitivnímu výsledku k reakci peroxidu a objeví se bublinky kyslíku. Stafylokoky jsou na katalázu pozitivní, streptokoky negativní.

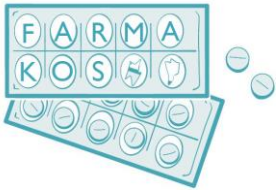
4) Na základě výsledků testu odhadněte bakteriální kmen a popište jaké onemocnění může způsobit.

Kmen	KOH (+/-)	G (+/-)	Kataláza	Předpokládaný kmen
A	+	G-	+	<i>Neisseria spp</i>
B	-	G+	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>
C	-	G+	+	<i>Staphylococcus epidermis</i>

Kmen A reagoval na KOH test pozitivně, takže se jedná o gramnegativní bakterii. Katalázový test byl pozitivní. Pravděpodobně jde o rod *Neisseria*. *Neisseria spp.* jsou parazitické, ve volné přírodě se nevyskytují. Některé druhy jsou primárně patogenní pro člověka a můžeme je najít na sliznicích respiračního a genitálního traktu. Ke klinicky významným druhům patří: *N. gonorrhoeae* – původce kapavky, a *N. meningitidis* – primární původce epidemické hnisavé meningitidy.

Kmen B reagoval na KOH test negativně, jde o grampozitivní bakterii a negativní katalázový test potvrdil rod *Streptococcus*. Může se jednat o kmen *Streptococcus pyogenes*, který způsobuje respirační, systémové a kožní infekce.

Kmen C reagoval na KOH test negativně, takže jde o grampozitivní bakterii a pozitivní katalázový test potvrdil rod *Staphylococcus*. K určení konkrétního kmene bychom museli vykonat další testy jako například plazmakoagulázový



test. Mohlo by se jednat o *Staphylococcus epidermis*, který fyziologicky osidluje kůži a sliznice člověka. Je to oportunní patogen, který napadá imunokompromitované pacienty a choroby bývají nemocničního původu.

Kultivační průkaz je zlatým standardem po dlouhá léta a je běžnou součástí mikrobiologické praxe. Je založen na schopnosti mikroorganismů růst i mimo živý organismus na bezbuněčných půdách obsahujících základní živiny – zde je rozdíl od virů, ta nelze na tomto typu půd kultivovat (pouze na tzv. buněčných kulturách). Účelem kultivace je získání čisté kultury mikroba – to znamená vyizolování jednotlivých kmenů ze vzorku biologického materiálu pomocí různých technik, což umožňuje další identifikaci a stanovení např. citlivosti k antimikrobním látkám. O největší rozvoj kultivace se postarali 2 vědci, prakticky zakladatelé mikrobiologie jako samostatného oboru. Louis Pasteur je považován za zakladatele oborů stereochemie, mikrobiologie a imunologie. Zabýval se kultivací v bujónech – nevýhodou tohoto typu kultivace je nemožnost odlišit různé kmeny, výhodou pak lepší přístup k živinám a tím i rychlejší a lepší růst mikroorganismů. Robert Koch byl objevitel původců mnoha onemocnění – např. antrax, TBC, cholera (potvrdil *Vibrio cholerae* jako původce) a obdržel Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství; formuloval tzv. Kochovy postuláty (průkaz příčinné souvislosti mezi původcem a onemocněním). Zavedl pěstování čistých bakteriálních kultur na pevných půdách; začínal s plátky brambor, na nich ale rostla pouze část bakterií a tak přešel na želatinové půdy. U těch však byla nevýhoda, že při 37°C (teplota lidského těla) ztrácely pevnost a část bakterií želatinu trávila. Walther Hesse – spolupracovník R. Kocha; nahradil želatinu agarem na radu manželky Fanny – agar je tuhý i při vyšších teplotách, není degradován většinou bakterií a je bezbarvý a poměrně pevný.

5) Vyjmenuj aspoň 4 podmínky pro úspěšnou kultivaci.

- **Živiny** – uhlík, dusík, vitamíny a minerály (produkce živé hmoty a buněčného materiálu, růst a množení, získávání energie)
- **Teplota** – běžné bakterie rozdělujeme na psychofilní (pod 20°C), mezofilní (20-40°C) a termofilní (50-55°C). Většina patogenních bakterií roste při 37°C
- **Vlhkost** – mikrobi přijímají živiny celým povrchem těla (rozpuštěné ve vodě), proto k růstu potřebují dostatečnou vlhkost (např. do termostatu dáme nádobku s vodou)
- **pH** - optimum pro většinu mikrobů -> 7,2 – 7,6; existují i výjimky: acidofilní bakterie mají růstové optimum kolem pH 5,6 a acidotolerantní bakterie snášejí i nižší pH
- **Osmotický tlak** – pro většinu nutné izotonické prostředí



- **Redoxní potenciál** - poměr mezi oxidovanými a redukovanými látkami. Pozitivní redoxní potenciál (200 – 300 mV) vyžadují aerobní bakterie; negativní redoxní potenciál (0 - 100 mV) anaerobní bakterie.
- **Koncentrace kyslíku** – mikroorganismy dělíme na obligátně aerobní (21 % O₂), obligátně anaerobní (0 % O₂), fakultativně anaerobní (s i bez O₂), aerotolerantní anaerob (přítomnost O₂ nevadí) a mikroaerofilní (vyžadují nižší tenzi O₂)

6) Co je hlavní složka čokoládového agaru?

Je druh krevního agaru, který je velmi výživný (kultivace neisserií a hemofilů). Rozdíl mezi čokoládovým a krevním agarem spočívá ve způsobu přípravy – u krevního se krev přidává k chladnoucemu agaru (cca 56 °C), agar tak zůstává jasně červený; u čokoládového se krev přidává za horka (80 °C, dojde k hemolýze a popraskání krvinek a uvolnění živin (vitamínů a minerálů, faktorů); pokud ještě za horka směs zfiltrujeme vzniká bezbarvý Lewinthalův agar (nejvýživnější). Krevní agar řadíme mezi diagnostické půdy, protože umožňuje rozlišení mezi různými typy hemolýz a tím diagnostikovat G+ koky.

7) Vyberte správné dvojice.

- a) živný bujón - základní půda
- b) Amiesova půda - transportní půda
- c) krevní agar - transportní půda
- d) McConkey - selektivně diagnostická půda
- e) Mueller-Hinton - pomnožovací půda

8) Mezi přirozeně sterilní materiály patří:

- a) výtěr z uretry
- b) vzorky dolních dýchacích cest
- c) biopsie tkáně
- d) sputum
- e) krev

9) Mezi přirozeně nesterilní materiály patří:

- a) výtěr z uretry
- b) vzorky dolních dýchacích cest
- c) krev
- d) sputum
- e) vzorek stolice



Fytofarmaká v lekárni

Úloha 4 (20 bodů)

Denisa Bučová

Pacienti do lekárne prichádzajú s rôznymi zdravotnými komplikáciami, ale často dodajú, že nechcú „chemické lieky“, ale „niečo prírodné“. O správnosti takéhoto tvrdenia si každý človek musí spraviť svoj názor, ale pri rôznych symptómoch vieme pacientovi túto požiadavku splniť. V nasledujúcich úlohách si predstavíme zopár fytofarmák s ktorými sa môžeme stretnúť v praxi.

1. Na obrázku je rastlina, ktorá je súčasťou prípravku určeného na terapiu akútnych infekcií horných dýchacích ciest. **Napiš názov rastliny (česky, latinsky), čeľad' (latinsky) a názov liečivého prípravku – napiš všetky liekové formy (ich skratku aj vysvetlenie čo skratka znamená) v ktorých je dostupný na českom trhu.**



Česky: pelargónie

Latinsky: *Pelargonium sidoides*

Čeľad': *Geraniaceae*

Liečivé prípravky: Kaloba por gtt sol – perorálne kvapky, Kaloba 20mg tbl flm – poťahované tablety, Kaloba 20mg/7,5ml sir – sirup

2. **Napiš z akých rastlinných drog (česky, latinsky) sa skladá liečivý prípravok Iberogast por gtt sol. Napiš indikácie prípravku.**

- tekutý lékočicový extrakt (*Liquiritiae extractum fluidum*)
- tekutý heřmánkový extrakt (*Matricariae extractum fluidum*)
- tekutý extrakt z andělikového kořene (*Angelicae radices extractum fluidum*)
- tekutý extrakt z meduňkového listu (*Melissae folii extractum fluidum*)
- tekutý extrakt z čerstvé natě iberky hořké (*Iberidis amarae herbae recentis extractum fluidum*)
- tekutý ostropestřecový extrakt (*Silybi mariani extractum fluidum*)
- tekutý extrakt z listu máty peprné (*Menthae piperitae folii extractum fluidum*)



- tekutý vlašovičnickový extrakt (*Chelidonii extractum fluidum*)
- tekutý kmínový extrakt (*Carvi extractum fluidum*)

indikácia: rastlinný liek na liečbu gastrointestinálnych ochorení (syndróm dráždivého žalúdka a dráždivého čreva) a na podpornú liečbu ťažkostí pri gastritíde. Tieto ochorenia sa prejavujú prevažne ťažkosťami ako sú bolesti žalúdka a brucha, pálenie záhy, pocit plnosti, žalúdočno-črevné kŕče a nevoľnosť. Iberogast reguluje tonus a motilitu čriev.

3. Nájdi liečivý prípravok registrovaný v kategórii fytofarmák (ATC skupina: V11), ktorý zvyšuje sekréciu žlče, uvoľňuje kŕče žlčových ciest. Liek sa odporúča na liečbu pečeno - žlčkových ochorení a na rozpúšťanie žlčových kameňov. Tiež je vhodný ako doplnok liečby cukrovky. Napiš jeho zloženie (aj jednotky), liekové formy (skratka, vysvetlenie skratky) a farmakodynamické vlastnosti.

Rowachol cps etm (slovenský ekvivalent: cps mol) – eneterosolventné mäkké kapsuly,

Rowachol por gtt sol – perorálne kvapky, roztok

Zloženie: alfa-pinén 13,6 mg; beta-pinén 3,4 mg, kamfén 5,0 mg; cineol 2,0 mg; mentón 6,0 mg; mentol 32,0 mg; borneol 5,0 mg.

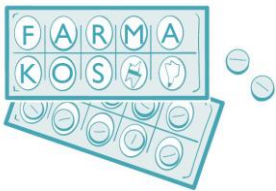
Farmakodynamické vlastnosti: Rowachol podporuje rozpad, rozpustenie a vyplavovanie žlčových kameňov, znižuje saturačný index cholesterolu v žlči a súčasne bráni tvorbe nových kameňov. Signifikantne zvyšuje cholerézu, obmedzuje cholestázu a má spazmolytický účinok, znižujúci kolikovitú bolesť. Inhibuje aktivitu MGCoA v pečeni a tým znižuje endogennú tvorbu cholesterolu. Je účinný i proti rade grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií.

4. Vyhľadaj viaczložkový liečivý čaj T.....N indikovaný pri hnačkách (průjmoch). Čajová zmes pôsobí protizápalovo, proti nadúvaniu, plynatosti a kŕčom žalúdočno-črevného traktu. Napiš zloženie – rastlinné drogy obsiahnuté v preparáte a zároveň dohľadaj názvy matečných rastlín (česky, latinsky) + čeľad' (latinsky). Napiš mechanizmus účinku akým čajovina pôsobí.

TORMENTAN spc – liečivý čaj

Zloženie:

- heřmánkový květ (*Matricariae flos*) – *Matricaria chamomilla*, heřmánek pravý, *Asteraceae*
- lékořicový kořen (*Liquiritiae radix*) – *Glycyrrhiza glabra*, lékořice lékařská, *Fabaceae*



- list šalvĕje lékařské (*Salviae officinalis folium*) – *Salvia officinalis* – šalvĕj lékařská, *Lamiaceae*
- sušený borůvkový plod (*Myrtilli fructus siccus*) – *Vaccinium myrtillus* – brusnice borůvka, *Vacciniaceae*
- nař máty peprné (*Menthae piperitae herba*) – *Mentha x piperita* – máta peprná, *Lamiaceae*
- krvavcový kořen (*Sanguisorbae radix*) – *Sanguisorba officinalis* – krvavec toten, *Rosaceae*
- nátržníkový oddenek (*Tormentillae rhizoma*) – *Potentilla erecta* – mochna nátržník, *Rosaceae*

Mechanismus účinku: hlavným nositeľom účinku sú triesloviny. Tvoria na slizniciach koagulačnú membránu, zachytávajúcu mikróby. Tým sa vysvetľuje lokálny protektívny účinok záparov Tormentanu, ktorým sa chránia postihnuté tkanivá proti vonkajšiemu dráždeniu a súčasne sa znižuje ich sekrécia. Triesloviny majú tiež antiflogistický účinok, ktorý zabraňuje vzniku zápalov prípadne ich ďalšiemu rozširovaniu. Účinok trieslovín dopĺňajú siličné a flavonoidné drogy. Silice majú spazmolytický a antiseptický účinok.

5. Porovnaj liečivé prípravky Bronchipret tymián a prvosienka / Bronchipret tymián a brečtan – napíš kompletne zloženia (aj pomocné látky), liekové formy, v akej indikácii sa používajú.

Bronchipret tymián a prvosienka

- suchý prvosienkový extrakt (*Primulae extractum siccum* 6 - 7 : 1)
- suchý tymiánový extrakt (*Thymi extractum siccum* 6 - 10: 1)
- PL: mikrokryštalická celulóza, monohydrát laktóza, tekutá glukóza disperzne sušená, koloidný bezvodý oxid kremičitý, polyakrylátová disperzia 30%, krospondón, hypromelóza, mastenec, povidón K 25, stearan horečnatý, oxid titaničitý (E171), propylénglykol, mäťová aróma (obsahuje arabskú gumu, maltodextrín, laktózu), chlorofylín meďnatý E 141 (obsahuje glukózový sirup), sodná soľ sacharínu, simetikón, dimetikón, riboflavín (E101)
- lieková forma: tablety

Bronchipret tymián a brečtan

- tekutý tymiánový extrakt 1:2-2,5 (*Thymi extractum fluidum* 1:2-2,5)
- tekutý extrakt z brečťanového listu 1:1 (*Hederae folii extractum fluidum* 1:1)
- PL: maltitol, roztok, hydroxypropylbetadex, 7 obj. % etanolu, kyselina citrónová, monohydrát, čistená voda, sorbát draselný
- lieková forma: sirup

Indikácia - expektorans - používa sa pri produktívnom kašli a na uľahčenie vykašliavania hustého hlienu.



Antidepressiva

Úloha 5 (20 bodů)

Kryštof František Tománek

Antidepressiva jsou léčiva ovlivňující patologicky změněnou depresivní náladu a příznaky s ní spojené. Jako například rozličné fobie, strachy a poruchy spánku. Dle mechanismů účinku dělíme antidepressiva na inhibitory zpětného vychytávání monoaminů a inhibitory monoaminoxidáz.

1) Inhibitory zpětného vychytávání monoaminů

Tato léčiva mají schopnost inhibovat zpětné vychytávání dopaminu, serotoninu a noradrenalinu.

1.1) Přiřaď receptor k danému hormonu:

Adrenergní α receptor	Noradrenalin
5-HT receptor	Serotonin
D receptor	Dopamin

1.2) Kde inhibují + jakou vlastnost mají antidepressiva následkem?

Ze synaptické štěrbině do presynaptického zakončení - Tím dochází ke zvýšení koncentrace mediátoru v synaptické štěrbině - postupné snižování počtu i hypersenzitivity receptorů – k ovlivnění poměrů v synaptické štěrbině je nutno 10 i více dnů.

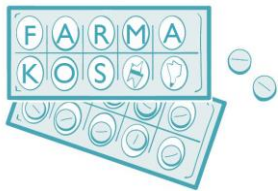
1.3) U tohoto druhu léčiv jsou známy 4 generace. – Uveď nejzásadnější charakteristické rozdíly + zařaď jednotlivá léčiva do skupin.

A. Dosulepin – kromě kardiotoxického a anticholinergního působení může i zvyšovat chuť k jídlu

B. Viloxazin – silnější účinek a lepší snášenlivost (viz. první generace). Nepůsobí kardiotoxicky ani anticholinergně.

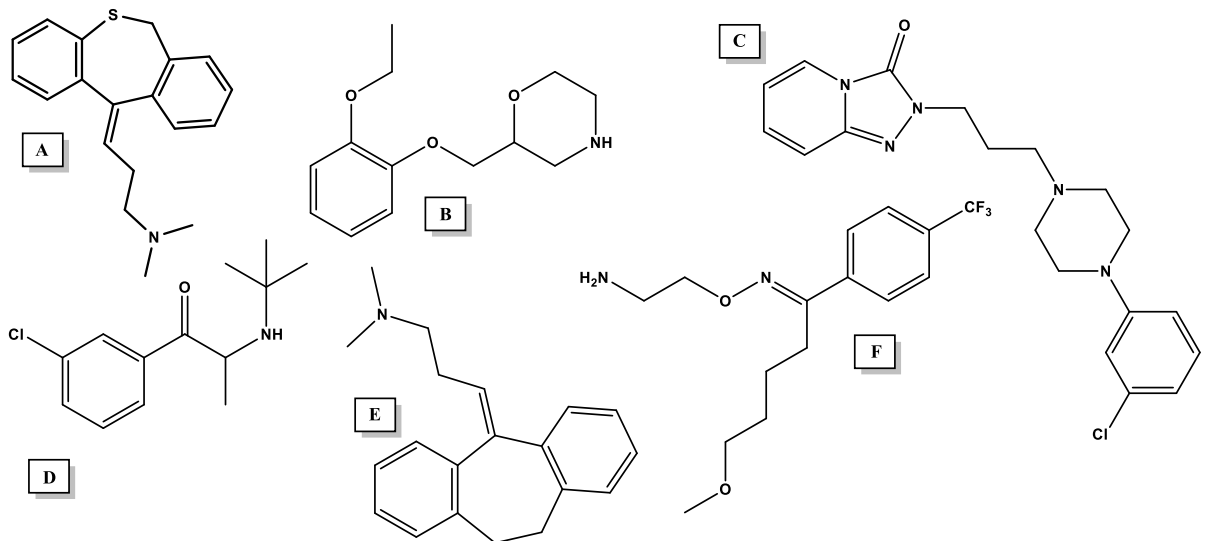
C. Trazodon – inhibuje vychytávání jen jednoho z neurotransmiterů

D. Bupropion – menší nežádoucí sedativní účinek



E. Nortriptylin – kromě kardiotoxického a anticholinergního působení může i zvyšovat chuť k jídlu

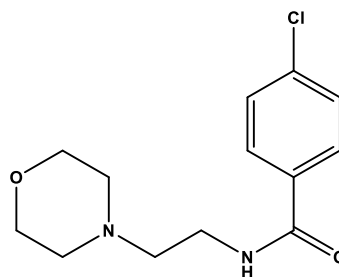
F. Fluvoxamin – inhibuje vychytávání jen jednoho z neurotransmiterů



2) Inhibitory monoaminoxidáz

2.1) Pokus se zjednodušeně vysvětlí mechanismus účinku těchto léčiv.

Zabraňují brání degradaci neurotransmiterů uvnitř buňky – intracelulárně zvýšená koncentrace neurotransmiterů vede k jejich zvýšené sekreci do štěrbin a k regulaci hypersenzitivních adrenergních a serotoninových receptorů.



2.2) Urči, o jakou látku se jedná + vyjádři se k acidobazickým vlastnostem.

Moklobemid. Slabá báze.



3) Fytofarmaka a jejich využití v léčbě depresivních poruch

Jedná se o léčiva, která obsahují jakožto účinnou složku, nejméně jeden rostlinný metabolit. Oproti syntetickým lékům se tyto sloučeniny vyznačují především nižší četností nežádoucích účinků. Mezi rostlinné druhy s prokázaným antidepresivním účinkem patří například *Hypericum perforatum* L. a *Crocus sativus* L. Některé rostlinné druhy se pro své sedativní a anxiolytické účinky uplatňují při mírnění přidružených symptomů deprese jako je například úzkost nebo nespavost. K mírnění těchto symptomů se využívají např. *Valeriana officinalis* L. nebo *Lavandula angustifolia* Mill.

3.1.) Přiřaď názvy rostlin k odpovídajícím termínům.

Valeriana officinalis L., *Passiflora incarnata* L., *Hypericum perforatum* L., *Crocus sativus* L., *Piper methysticum* G.Forst.

Interakce s digoxinem	<i>Hypericum perforatum</i> L.
Nápoj kava-kava	<i>Piper methysticum</i> G.Forst.
Ovlivnění GABA receptorů	<i>Valeriana officinalis</i> L.
Prodloužení REM fáze + vnitřně ve formě nálevu při hysterických stavech	<i>Passiflora incarnata</i> L.
Inhibice zpětného vychytávání serotoninu	<i>Crocus sativus</i> L.

4) Úkol

4.1) Představ si pacienta trpícího těžkou depresí, u kterého je nezbytné zvýšit dynamogenní (= zvýšit schopnost vyvíjet energii). Jaké léčivum by mohlo být vhodné? (patří do SNRI) Jaké se mohou objevit nežádoucí účinky?

Reboxetin. NÚ: nespavost a poruchy srdeční činnosti.