

**FARMAKOKINETIKAI PARAMÉTEREKET
BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK**

PhD ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

DR. BOJCSEV SZTOJAN

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
PÉCS**

2015

FARMAKOKINETIKAI PARAMÉTEREKET BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Dr. Bojcsev Sztojan

**Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet**

**Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Iskolavezető: Prof. Dr. Barthó Loránd
Prof. Dr. Pintér Erika**

Programvezető: Prof. Dr. Fischer Emil

Témavezető: Prof. Dr. Fischer Emil

PÉCS

2015

Rövidítések:

ADP: adenzin 5'-difoszfát

APS: adenzin 5'-foszfoszulfát

ATP: adenzin-trifoszfát

AUC: Area under the curve (plazmakoncentráció görbe alatti terület)

CYP: citokrórn P- 450 enzimrendszer

MDR 1: Multidrug resistance protein 1

n: kísérletek száma

PAP: 3'-foszfoadenzin-5'-foszfát (adenzin 3'5'-bifoszfát)

PAPS: 3'-foszfoadenzin 5'-foszfoszulfát

PEP: p-etilfenol

PNP: p-nitrofenol

PNP-G: p-nitrofenol glukuronid

PNP-S: p-nitrofenol szulfát

PPI: pirofoszfát

S.E.: Standard error

STZ: streptozotocin

T_m: transzport maximum

UDP: uridinidfoszfát

UDPGA: uridinfoszfoglukuronsav

UGT: uridin glukuroniltranszferáz

1. Bevezetés – Probléma felvetés - Célkitűzés

1.1. A farmakokinetika jelentősége a gyógyszerek hatásában

Farmakokinetikán definíciószerűen a gyógyszereknek a szervezeten belüli sorsát értjük, melynek során az alkalmazott vegyületek mozgásuk folyamán különböző biológiai membránokon áthatolva transzportálódnak (felszívódás, eloszlás, kiválasztás), illetve egyes szervekben, szövetekben kémiaiilag átalakulnak (metabolizmus, biotranszformáció). Mindezen folyamatok összessége határozza meg tehát a szájon keresztül (per os) beadott gyógyszer aktuális koncentrációját a vérben (plazmában), illetve a különböző szervekben és szövetekben, valamint a hatás helyén, a receptoroknál vagy azok környezetében.

1.2. Farmakokinetikai paraméterek szerepe per os történő gyógyszerbevitel esetén: első passzázs effektus, biológiai hasznosulás

A gyógyszerek adagolása során a leggyakoribb beviteli forma a szájon keresztül történő (orális, per os) adás, a gyógyszerek legnagyobb mennyiségben ilyen módon kerülnek a szervezetünkbe. A béltraktus felszívódási és eliminációs viszonyaitól, a máj raktározási és biotranszformációs valamint exkréciós tevékenységétől és kapacitásától függően a per os beadott gyógyszer mennyiségének csak egy része, egy bizonyos hányada éri el a véráramot, azaz az első passzázs effektustól függően kisebb vagy nagyobb mértékű farmakológiai hatás, illetve biológiai hasznosulás várható.

1.3. Fenolos karakterű vegyületek sorsa a gyomor-béltraktusban, a p-nitrofenol (PNP), mint modellvegyület

Az értekezéssel kapcsolatos kísérletek során elsősorban a szájon keresztül történő gyógyszerbevitellel összefüggő kérdéseket vizsgáltuk, ezért olyan kísérleti elrendezést állítottunk össze, illetve alkalmaztunk, amely lényegében ennek a helyzetnek felel meg vagy ehhez nagyon hasonló. Az állatkísérletek során egy in vivo kipreparált bélszakaszt perfundáltunk olyan fiziológias oldattal, amely különböző koncentrációjú PNP-t tartalmazott. A perfúziós médiumból különböző időpontokban mintákat vettünk és azokban meghatároztuk az anyavegyület és a metabolitok koncentrációját, illetve kiszámítottuk azok mennyiségét.

A p-nitrofenolt azért választottuk modellvegyületnek, mert számos farmakon és xenobiotikum tartalmaz fenolos strukturát és hidroxil csoportot, ezért ezek metabolizmusa a p-nitrofenoléhoz hasonló. Joggal feltételezhető tehát, hogy a PNP vizsgálatával kapott eredmények és következtetések a hasonló strukturájú más vegyületekre és gyógyszerekre is érvényesek és mértékadóak lehetnek. Továbbá a p-nitrofenolról ismert, hogy szinte kizárólag konjugációs reakciókkal metabolizálódik és ezek révén két metabolit keletkezik: glukuronsavval történő konjugációval p-nitrofenol glukuronid (PNP-G), szulfáttal történő konjugációval pedig p-nitrofenol szulfát (PNP-S). A két metabolit meghatározására ismert és megbízható módszerek állnak rendelkezésre, ezeket bizonyos tekintetben magunk tovább is fejlesztettük. A glukuronid képződését a glukuroniltranszferáz (UGT) katalizálja, hidrolízisében pedig a béta-glukuronidáz játszik szerepet. A szulfátképzést katalizáló enzim a szulfotranszferáz, a konjugátum hidrolízisében pedig az arilszulfatáz vesz részt.

1.4. A farmakokinetikai paramétereket befolyásoló vizsgált tényezők:

Ismert, hogy farmakokinetikai paramétereket számos tényező befolyásolja ezek közül három olyat vizsgáltunk, amelyek mindegyike gyakorlati, farmakoterápiás szempontból is fontos: (1) az alkalmazott gyógyszer mennyisége (dózis), (2) a patológiás állapotok közül a hiperglikémia, amely a diabétesz vezető tünete, (3) valamint a vékonybél különböző szegmenseinek a metabolikus aktivitása.

1.4.1. A gyógyszer adagja (dózis)

A gyógyszerek dózisa a farmakológiában az egyik legfontosabb paraméter, alapvetően befolyásolja és meghatározza a farmakológiai és terápiás hatásokat. A dózis emelésével a farmakológiai hatás növelhető, de a dózis változásával természetesen a farmakokinetikai paraméterek is jelentősen módosulhatnak. A gyógyszerhatás erőssége adott körülmények mellett (felszívódás, elimináció) az adagolás módjától (p.o.; sc.; im.) és az adag nagyságától függ.

A karrier-mediált transzportfolyamatok telíthetők, azaz a transzport maximum (T_m) elérése után már nincs további növekedés a transzportban a dózis emelésével. Lényegében ugyanez a helyzet az enzimreakciónál is, a szaturációt követően nem képződik a dózis növelésével arányosan több metabolit, következményként ugrásszerűen megemelkedik az anyavegyület koncentrációja, esetleg pregnánsan fokozódó farmakológiai hatással, néha pedig toxikológiai következményekkel is számolnunk kell. Többek között ezért is vizsgáltuk, hogy a PNP dózisének az emelésével a vékonybél metabolikus aktivitása (PNP-G és PNP-S megjelenése) és intesztinális eliminációja hogyan változik, illetve milyen mértékben növelhető.

1.4.2. Patológiás változások (hiperglikémia)

Patológiás állapotok, különböző betegségek is módosíthatják a farmakokinetikai paramétereket és a gyógyszerek eliminációját. Az értekezésben ismertetett kísérletek a diabéteszrel kapcsolatos egyik fő tünet, a hiperglikémia hatásának a vizsgálatára irányultak. A diabétesz krónikus megbetegedés, amely egy komplex anyagcsere zavart jelent hormonális, transzport és egyéb változásokkal. Ennek egyik vezető tünete kétségkívül a magas vércukorszint, a hiperglikémia. A diabéteszrel kapcsolatban ismert, hogy ennek során a különböző vegyületek, de a gyógyszerek hatása és a farmakokinetikája is változhat. Azt a kérdést kívántuk vizsgálni, hogy az akutan, glukóz infúzióval létrehozott hiperglikémia befolyásolja-e a biotranszformációs folyamatokat, konkrétan a PNP metabolizmusát a vékonybélben. Ez a kérdés, illetve ennek a megközelítése és vizsgálata akkor is érdekes, ha szem előtt tartjuk azt a tényt, hogy a hiperglikémia nem azonos minden tekintetben a klinikailag manifesztálódó cukorbetegséggel, de még a streptozotocinnal (STZ) kiváltott experimentális diabéteszrel sem.

1.4.3. Eltérések a gyógyszermetabolizmusban a vékonybél különböző szakaszaiban

Bizonyos adatok arra utalnak, hogy a béltraktus különböző szakaszai eltérő módon vesznek részt nemcsak olyan fiziológiai folyamatokban, mint a felszívódás, hanem például differenciák figyelhetők meg a farmakonok intesztinális eliminációjában is. A kérdés gyakorlati jelentőségét még hangsúlyosabbá teszi az a tény, hogy

különböző betegségek jellegzetesen vagy döntő mértékben érintik a gasztrointesztinális rendszer egyes szegmentumait, pl.: gyomor- vagy duodenális fekély, enteritis, gyulladás a vastagbélben (colitis ulcerosa, Crohn-betegség) stb. Bizonyos rezekciós műtéti eljárásoknál pedig egyes bélszakaszok kerülnek eltávolításra, így különböző funkciók eshetnek ki vagy változhatnak meg. A kísérleteink során azt a konkrét kérdést kívántuk vizsgálni, hogy a vékonybél különböző szegmensei (proximális-, disztális jejunum, valamint a terminális ileum) milyen mértékben vesznek részt a gyógyszerek metabolizmusában, van-e kimutatható eltérés a PNP biotranszformációjában, a PNP-G és a PNP-S megjelenésében a béllumenben a különböző bél- szakaszok esetében.

2. Vizsgálati módszerek: Kísérleti modellek - Analitikai vizsgálatok

2.1. Kémiai anyagok, a mérésekhez használt vegyszerek

A p-nitrofenolt, a metabolitjait (p-nitrofenol glukuronid és szulfát), valamint a hiperglikémia létrehozásához szükséges glukózt a Sigma Aldrich cégtől (Budapest) szereztük be. Az összes többi vegyszer és reagens analitikai vagy HPLC tisztaságú, illetve minőségű volt. A bélperfúzióhoz használt izotóniás oldat a következő összetételű volt (mmol/l): NaCl 96,4; KCl 7,0; CaCl₂ 3,0; MgSO₄ 1,0; Nátrium foszfát puffer (pH 7,4) 0,9; TRIS puffer (pH 7,4) 29,5; glukóz 14,0; mannitol 14,0.

2.2. Állatkísérletek: a vizsgált bélszakaszok perfúziója, a hiperglikémia létrehozása, az epefolyás vizsgálata

A vizsgálatokat 220-250 g-os hím Wistar patkányokon végeztük. Az állatokat uretánnal (1,2 g/kg i.p.) narkotizáltuk. A hasfalat a középvonalban hosszanti irányú metszéssel felnyitottuk és a duodenum utáni jejunális szegmentumot (proximális jejunum), egyes kísérletekben a disztális jejunumot, illetve a terminális ileumot (valamennyi esetben kb. 10 cm hosszban) kanüláltuk in vivo. A szegmentális különbségek vizsgálatára irányuló kísérletek kivételével valamennyi esetben a duodenum utáni (proximális jejunum) bélszakasz perfúziója történt. A béllument átöblítettük meleg (37°C-os) izotóniás oldattal a bélben lévő táplálék maradványok eltávolítása céljából, majd 4-5 ml levegő átfújásával üressé tettük. A béllument ezt követően 13 ml/min. sebességű izotóniás médiummal perfundáltuk a kipreparált bélszegmentum két végébe helyezett kanül segítségével recirkulációs módszerrel, az oldat különböző koncentrációjú PNP-t tartalmazott. A kontroll állatoknál a béllument PNP-t nem tartalmazó izotóniás oldattal perfundáltuk. A kanülált szegmentumból kifolyó perfúziós folyadékból 250 µl-es mennyiségű mintákat vettünk különböző időpontokban. A kezdeti perfúziós volumen 15 ml volt, a perfúzió 90 percig tartott. Az állatokat és a perfúziós oldat hőmérsékletét 37°C-on tartottuk. A kísérleti állatok a vizsgálat előtt 16-20 óráig éheztek, vizet azonban szabadon fogyaszthattak.

A hiperglikémia létrehozására a v. jugularisba kötött kanülon keresztül különböző koncentrációjú (10-20-30 %) glukóz oldatot infundáltunk. A hiperglikémia gyorsabb elérése érdekében egy kezdeti glukóz mennyiséget adtunk az állatoknak intravénásan, ilymódon a kívánt magas vércukorszintet gyorsan el tudtuk érni, illetve a glukóz infúzióval a szükséges időtartamban fenn tudtuk tartani.

Az epefolyás vizsgálatára irányuló kísérletekben az epevezeték egy vékony műanyagcsővel (PE-10) kanüláltuk, amelyen keresztül az epét folyamatosan (15 perces periódusokban) gyűjtöttük.

2.3. Műszerek, analitikai eljárások, meghatározások: vércukorszint mérés, a PNP és a PNP metabolitok (PNP-G, PNP-S) szeparálása és mérése

A meghatározásokhoz használt HPLC -rendszer Varian 2010 pumpából, Rheodyne 7725 i injektorból és UV-Detector 308 detektorból állt. Az adatok gyűjtése és integrálása Power Chrom 280 adat modul és software segítségével történt. Az elválasztásokhoz Nucleosil 100 C₁₈ fordított fázisú oszlopot (250 mm x 4,6 mm I.D., 10 µm részecske nagyság) használtunk.

A minták analízise és kvantifikációja (mennyiségi meghatározása) a korábbi hasonló kísérleteink során kifejlesztett és alkalmazott módszerekkel történt. Röviden összefoglalva: a mobil fázis metanolt és desztillált vizet tartalmazott (50:50, v/v %) illetve 0,01 M tetrabutil-ammonium bromidot a PNP metabolitok meghatározására a perfuzátumból vett mintákban. A mintákat hűtőszekrényben (-20 °C) tároltuk, az analízis előtt a perfuzátumokat felráztuk és 3000 g-vel centrifugáltuk 10 percig. Az eluens áramlási sebessége 1,2 ml/min. volt. A mintákból 20µl-t használtunk a detektáláshoz, amely 290 nm-nél történt, mert előzetes mérések során ez a hullámhossz bizonyult optimálisnak a PNP, a PNP-G és a PNP-S egyidejű mérése szempontjából. Az analízis előtt a minták hőmérséklete a szobahőmérséklettel azonos volt.

A vércukorszintet Accu-Chek® digitális vércukor mérővel (Roche) mértük.

3. Számítások, statisztikai analízis

A PNP jelenlétét, illetve a PNP metabolitok megjelenését a béllumenben a mért luminális koncentrációjuk és az aktuális perfúziós volumen szorzatával számítottuk ki.

A metabolitok szeparálása és a mennyiségének a meghatározása a perfuzátumból vett mintákból HPLC módszerrel történt a metodikai fejezetben leírtaknak megfelelően. Ezeknek a méréseknek az alapján számítottuk ki a metabolitok koncentrációját a perfúziós oldatban. A perfúziós médium kezdeti volumene 15 ml volt, amely a perfúzió időtartama alatt a mintavételek következtében csökkent, illetve a bél folyadékot exkretáló vagy felszívó tevékenysége révén is módosulhatott. Mindkét tényező figyelembevételével történő korrekció segítségével számítottuk ki az aktuális perfúziós volument egy adott időpontra vonatkozólag. Az ily módon meghatározott volumen és a mért koncentráció szorzatával pontosan ki tudtuk számítani a bármely időpontra vagy időtartamra vonatkozó luminális megjelenését, illetve jelenlétét a metabolitoknak. Az adatok az átlagértékeket és az S.E.-t jelölik (n = a kísérletek, illetve a mérések száma). A kumulatív luminális megjelenés egy adott időtartamra vagy a kísérlet teljes idejére (90 perc) vonatkozó összesített értéket jelenti.

A szignifikanciát az egymintás Student-féle t -teszttel számítottuk ki.

4. Eredmények

4.1. A vékonybél biotranszformációs tevékenysége: glukuronid (PNP-G) és szulfát (PNP-S) képzés a p-nitrofenol (PNP) perfúziója során

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy tengerimalac vékonybélben a PNP luminális perfúziója során viszonylag gyorsan és nagy mennyiségben megjelennek a metabolitok (PNP-G, PNP-S) a bél biotranszformációs aktivitása következtében. Tengerimalac esetén a meghatározó metabolit a szulfát konjugátum volt, melynek a

mennyisége 90 perc alatt az alkalmazott PNP-nek mintegy 50 %-át tette ki az 500 μM -os koncentrációjú PNP perfúziója során.

4.1.1. Metabolitok megjelenése a vékonybélben különböző koncentrációjú PNP intesztinális perfúziója esetén: a dózis - függés vizsgálata

Jelen kísérlet sorozatban, patkányban vizsgáltuk a PNP intesztinális metabolizmusát különböző koncentrációjú (20-100-500-1000 μM) PNP luminális perfúziója esetén és azt tapasztaltuk, hogy a PNP-metabolitok ez esetben is megjelentek a béllumenben. Érdekes módon patkányban azonban a tengerimalacnál megfigyelt változásokkal ellentétben a glukuronid konjugátum jelent meg nagyobb mértékben a vékonybél lumenében és csak jóval kisebb arányban tudtuk kimutatni a szulfát konjugátumot. Mások is találtak eltéréseket a metabolikus reakciókban, például az UDP-glukuroniltranszferáz aktivitásban különböző állatfajoknál.

A kísérleti adatok egyértelműen mutatják, hogy a PNP mennyisége folyamatosan és gyorsan esett a perfúziós médiumban, a kísérleti periódus végére a PNP kezdeti mennyiségének már csak mintegy 10-15 %-a volt kimutatható a perfúziós folyadékban. Ezzel szemben megjelent a glukuronid metabolit, amely folyamatosan emelkedő tendenciát mutatva a kísérlet végére az induló PNP mennyiség 21,4; 16,1; 5,66 illetve 3,33 %-át tette ki a 20, 100, 500 és az 1000 μM -os PNP koncentrációjú izotóniás oldat perfúziója esetén. Ezek az adatok egyrészt azt mutatják, hogy a PNP koncentrációjának az emelésével a perfúziós oldatban a PNP-G képződés fokozatosan nőtt ugyan, de nem olyan arányban, mint ahogy a dózist növeltük, az induló PNP mennyiség százalékában kifejezett értékek ugyanis egyre kisebbek lettek, ami egyértelműen a szaturációra utal.

Alacsonyabb koncentrációjú (20-100 μM) PNP perfúziója során a szulfát konjugátum alig volt kimutatható a vékonybél lumenében, de a magasabb PNP koncentrációk (500-1000 μM) esetén is csak egy töredéke volt ez az érték a glukuronid konjugátuménak és összességében is kevesebb, mint 1 %-a volt az alkalmazott PNP mennyiségének.

A PNP-G luminális megjelenése növekedett a PNP dózisének az emelésével, azonban a növekedés mértéke egyre kevésbé volt pregnáns, azaz szaturáció irányába tendált: pl.: az 5-ször magasabb PNP koncentráció (100 μM) 3,8-szeres növekedést produkált a 20 μM -os koncentrációnál mért 90 perces értékhez viszonyítva, további 5-szörös PNP dózis emelés (100-ról 500 μM -ra) 76%-os fokozódást mutatott, majd a PNP dózisének a duplázása (500-ról 1000 μM -ra) már csak 15 %-al emelte a PNP-G luminális megjelenését. Ezek az adatok egyértelműen jelzik a PNP intesztinális glukuronidációjának és a PNP-G luminális megjelenési folyamatának a telíthetőségét, illetve a tendálást a szaturáció irányába.

4.1.2. A hiperglikémia hatása a PNP metabolizmusára a vékonybélben

A 10 %-os glukóz koncentrációjú infúzió jelentős emelkedést hozott létre a vércukorszintben, amely kb. 2 óra alatt állandósult és mintegy 300 mg/dl értéket ért el, ami 17 mM-nak felel meg. A 20 %-os, illetve a 30 %-os glukóz infúzió természetesen még magasabbra emelte a vércukorszintet nagyjából az infundált mennyiséggel arányosan. A 20 %-os glukóz infúziójával kiváltott vércukorszint nagyságrendileg kb.

megfelel a patkánynál streptozotocinnal (STZ) létrehozott experimentális diabéteszben mért értékeknek: 300-600 mg/dl (17-34 mM).

A hiperglikémia, mint a diabétesz egyik vezető tünete önmagában is képes létrehozni bizonyos változásokat az egyes szervekben és transzport folyamatokban. A glukóz infúzióval kiváltott hiperglikémia a vércukorszint emelkedésével nagyjából párhuzamosan növelte az epében a glukóz koncentrációt és ezzel ellentétes irányban befolyásolta az epefolyást.

Az adatok egyértelműen mutatják, hogy az epefolyás a hiperglikémiás állatokban csökkent. A változás a vércukorszint emelkedéssel ellentétes irányú és nagyjából arányos a hiperglikémia mértékével, de a 20 és 30 %-os glukóz infúzió során mért értékek már nem mutatnak jelentős eltérést egymástól.

A PNP-G luminális megjelenésében a 15 perces érték kivételével nem volt szignifikáns különbség a kontroll és a hiperglikémiás patkányok között, más szóval a hiperglikémia a vékonybél glukuronidációs aktivitását lényegesen nem befolyásolta.

A PNP-S megjelenése lényegesen alacsonyabb szintű volt, mint a PNP-G-é, azonban a hiperglikémia a szulfát konjugátum megjelenését a vékonybélben szignifikánsan megnövelte valamennyi vizsgált időpont esetén.

A metabolitok összesített adataiból egyértelműen kiolvasható, hogy a 15 perces érték kivételével nem volt különbség a két csoport adatai között, azaz, hogy a hiperglikémia hatására az össz-metabolitok luminális megjelenése nem változott. Ez döntően azzal magyarázható, hogy a metabolitok zömét a PNP-G adta, emellett szinte eltörpül a PNP-S értéke, amelynek a változása ezért nem tudta módosítani a lényegesen nagyobb mennyiségben megjelenő PNP-G-nél megfigyelt tendenciát, amely nem mutatott lényeges eltérést hiperglikémia hatására.

4.1.3. Eltérések a különböző bélszakaszok biotranszformációs aktivitásában

Ebben a kísérletsorozatban a proximális jejunum, a disztális jejunum és a terminális ileum biotranszformációs aktivitását vizsgáltuk, illetve hasonlítottuk össze abból a célból, hogy van-e különbség a PNP metabolizmusában az egyes bélszakaszok között.

A domináns metabolit az alacsonyabb PNP dózisoknál a PNP-G volt, a PNP-S lényegesen kisebb mennyiségben jelent meg a különböző bélszakaszok lumenében. Egy határozott és egyértelmű csökkenő tendencia figyelhető meg a PNP-G luminális megjelenésében a vékonybél proximális szakaszától a disztális szegmentumok irányába haladva. Érdekes módon a PNP-S esetében inkább egy enyhe emelkedés látható ugyanebben az irányban.

Magasabb koncentrációjú (500 μ M) PNP luminális perfúziójánál is hasonló tendenciát figyelhetünk meg a PNP metabolitok luminális megjelenésében: például a terminális ileumban a proximális jejunumban mért PNP-G mennyiségének csak mintegy 23 %-a volt kimutatható. Nem volt azonban csökkenés észlelhető a PNP-S esetében a vékonybél különböző szegmentjeiben proximálistól disztális irányba haladva az 500 μ M-os PNP perfúziója során.

Az 1000 μ M-os PNP perfúziója során is a proximális jejunumban mértük a legnagyobb PNP-G koncentrációt, ez a metabolit a disztális jejunumban és a terminális ileumban lényegesen kisebb mértékben jelent meg. Ha a proximális jejunumban mért PNP-G mennyiséget (525 nmol) összevetjük a 10-szer alacsonyabb PNP-koncentrációnál (100 μ M) kapott értékkel (242 nmol PNP-G), akkor megállapíthatjuk, hogy a 10 x magasabb dózisu PNP-nél csak mintegy 2,2-szeres növekedést látunk a

glukuronid képzésben, ami arra utal, hogy a PNP-G luminális megjelenése szubsztrátkoncentráció függő, de szaturációt mutat.

A PNP-S kumulatív megjelenése valamennyi vizsgált szegmentumban lényegesen alacsonyabb volt, mint a PNP-G-é. A PNP-G-nél megfigyelhető szaturációs tendencia lényegében a szulfát konjugátumnál is megfigyelhető volt. A glukuronidációs aktivitás csökkenésével szemben azonban a szulfátképzés nem bizonyult alacsonyabbnak, sőt egy enyhe emelkedés volt inkább detektálható a PNP-S-nek a béllumenben való megjelenését illetően a proximálistól a disztális irányba haladva: a PNP-S luminális megjelenése a disztális szegmentumokban (disztális jejunum és terminális ileum) magasabb, egyes esetekben statisztikailag is kimutathatóan nagyobb volt, mint a proximális jejunumban.

5. Megbeszélés - Következtetések

Az értekezésben bemutatott vizsgálatok a farmakokinetika jelentőségével, pontosabban a farmakokinetikai paramétereket befolyásoló néhány tényezővel foglalkoznak.

Napjainkban a részben anyagi szempontokat is szem előtt tartó megfontolások következtében egyre inkább előtérbe kerül a generikumok alkalmazása. Ez a körülmény aktuálisan még hangsúlyosabbá teszi a farmakokinetikai paraméterek jelentőségét és az azokat befolyásoló tényezők vizsgálatát.

A farmakokinetika egyes lépéseit számos tényező befolyásolhatja, például faji, genetikai különbségek, eltérések a kísérleti állatok és az embernél megfigyelt reakciókban (pl. metabolizmus), betegségekből, káros behatásokból adódó differenciák azoknak a szerveknek a működésében, amelyek a gyógyszerek transzport folyamataiban és a biotranszformációjukban fontosak.

A farmakokinetikai változásokat tekintve gyakorlati és klinikai szempontból is nagyon jelentősek a patológiás változások vagy a különböző betegségek, végül, de nem utolsósorban egyéb xenobiotikumok jelenléte, más gyógyszerek egyidejű adása. A gyógyszereléssel kapcsolatban több szempont is felmerülhet, illetve fontos lehet, pl. a gyógyszerek adagja (dózis), gyógyszeres interakciók (például enzimindukció, enzimgátlás) lényegesen módosíthatják a farmakokinetikai paramétereket. Az értekezésben tárgyalt kísérletek a farmakokinetikát befolyásoló tényezők közül három, mind elméleti, mind gyakorlati (klinikai) szempontból is fontos tényezővel foglalkoztak, nevezetesen a dozírozás, a patológiás változások, illetve a vékonybél különböző szegmentumainak a szerepét és relatív jelentőségét vizsgáltuk.

A béltraktus ilyen irányú tevékenységére azért esett a választásunk, mert bár általánosan ismert és elfogadott, hogy a testidegen anyagok metabolizmusában és exkréciójában a májnak és a vesének kiemelkedő szerepe van, az utóbbi időben egyre több olyan adat került nyilvánosságra, amelyek a farmakonok eliminációja szempontjából más szervek fontosságára is felhívják a figyelmet. Ezek az adatok utalnak például a bélrendszer szerepére is az extrahepatikus metabolizmust illetően. A bélben képződött metabolitok általában polárosabbak és vízdékonyabbak az anyavegyületeknél, biológiai és farmakológiai aktivitásuk pedig rendszerint alacsonyabb azokénál. A bélhámsejtek az általuk képzett metabolitokat képesek gyorsan és hatékonyan exkretálni, azaz visszajuttatni a béltraktus lumenébe, megteremtve ezzel annak a lehetőségét, hogy a kémiai átalakulásból származó produktumok (metabolitok) a széklettel elhagyják a szervezetet, más szóval eliminálódnak. A vékonybél eliminációs tevékenységének az ad különleges jelentőséget, hogy a szájon keresztül

bevett xenobiotikumok először a bélcsatornát érik el. Csak azok a molekulák juthatnak a felszívódást követően változatlan formában a májba, illetve a szisztémás keringésbe, amelyek a bélben nem metabolizálódtak és nem exkrétálódtak a béllumenbe. Ez az oka annak, hogy a per os adott gyógyszerek biológiai hasznosíthatóságának a bél ezen tevékenysége az egyik legfontosabb tényezője.

A vékonybél metabolizáló és exkréciós tevékenysége rendkívül sokrétű, a biotranszformációban a májhoz hasonlóan a bélben is számos reakciótípus játszik szerepet. Az intesztinális metabolizmusban fontos helyet foglalnak el a konjugációs jellegű átalakulások, melyek során a gyógyszerek egy, a szervezetünkben jelenlévő (endogén) vegyülettel vagy csoporttal (pl. glukuronsav, glutation, aminosavak, szulfát, metil, acetyl stb.) kapcsolódnak össze. Az értekezésben bemutatott kísérletekben a glukuronsavval és a szulfáttal történő konjugációt, azaz a glukuronid és a szulfát képzés jelentőségét vizsgáltuk a xenobiotikumok intesztinális eliminációjában.

A p-nitrofenolt modellvegyületként használtuk, amelyről ismert, hogy szinte kizárólag a fenti konjugációs reakciókkal metabolizálódik, ezért optimális az ilyen irányú vizsgálatokban szubsztrátként történő alkalmazása. További előny, hogy a metabolitok (PNP-G, PNP-S) meghatározására pontos és megbízható módszerek állnak a rendelkezésünkre. A PNP in vivo luminális perfúziója a vékonybélben pedig olyan kísérleti elrendezést jelent, amely lényegében megfelel a per os történő gyógyszeradásnak, ezt követően ugyanis a gyógyszer molekulák ugyancsak a vékonybélbe kerülnek.

A PNP különböző dózisban (koncentrációban) történő perfúziója során kapott eredményekből megállapítható, hogy patkányban viszonylag gyorsan megjelentek a vékonybélben a PNP-metabolitok, és pedig döntő mértékben glukuronid formájában (PNP-G), a szulfát (PNP-S) ennél lényegesen kisebb mértékben volt kimutatható. Ez a megállapítás eltér a tengerimalacnál észlelt eredményektől több szempontból is. Irodalmi adatok és korábbi saját kísérletek is azt mutatják, hogy tengerimalacnál a biotranszformáció mértéke jóval nagyobb mértékű és a döntő metabolit a PNP-S. A különbség oka nem kellően ismert, a mennyiségi és a minőségi differenciát esetleg magyarázhatja a speciestek közötti eltérés a táplálkozásban, illetve a különbség az elfogyasztott táplálékok összetételében. A dózis-függő változások vizsgálata során azt találtuk, hogy a PNP mennyisége folyamatosan és gyorsan esett a perfúziós médiumban, a kísérleti periódus (90 perc) végére a kiinduló PNP mennyiségének már csak mintegy 10-15 százaléka volt kimutatható. A bélben megjelent glukuronid metabolit folyamatosan emelkedő tendenciát mutatott ugyan, de az egyes, növekvő dózisoknál mért értékek összehasonlítása során azt tapasztaltuk, hogy a PNP-G képződés nem a dózisz-növelés arányában fokozódott, az induló PNP mennyiség százalékában kifejezett adatok ugyanis egyre kisebbek lettek, ami egyértelműen szaturációra utal.

A diabétesz hátterében alapvetően hormonális változások (inzulin, glukagon) állnak és az egyik vezető tünet a magas vércukorszint, a hiperglikémia. Viszonylag kevesebb információ áll rendelkezésre a xenobiotikumok metabolizmusára és exkréciójára vonatkozólag a diabétesznel, még kevesebb a hiperglikémiával kapcsolatban. Az értekezés egy részét képező kísérletekben ezért a hiperglikémia hatását vizsgáltuk annak a tudatában, hogy a hiperglikémia ugyan az egyik vezető, kardinális tünete a diabétesznek, de természetesen nem azonos vele. Alapvető különbség többek között, hogy a diabétesz egy krónikus betegség bizonyos patológiai változásokkal és kompenzatórikus reakciókkal, a hiperglikémia pedig csak egy tünet és a bemutatott kísérletekben egy akutan létrehozott és fenntartott állapot. Mindezzel együtt is érdekes lehet, hogy egy-egy kardinális tünet vagy eltérés a diabéteszben önmagában is képes-e kiváltani bizonyos változásokat és hogy ezek mennyiben

azonosak a diabéteszben létrejövő működési zavarokkal. Az értekezésben demonstrált kísérleti adatok azt mutatják, hogy az epében mért glukóz koncentrációk gyakorlatilag párhuzamosan változtak a vércukorszinttel. Hasonló tendenciájú parallelitás volt megfigyelhető az epefolyásnál is csak éppen ellenkező előjellel, azaz a magas vércukorszintnél, illetve az epe emelkedett glukóz koncentrációja esetén alacsonyabb epefolyási értékeket mértünk, azaz a depresszív (kolesztatikus) hatás következtében csökkent az epefolyás.

A PNP-G luminális megjelenésében egyetlen időpont (15 perc) kivételével nem észleltünk szignifikáns különbséget a kontroll és a hiperglikémiás patkányok adatai között, ez azt jelenti, hogy a vékonybél glukuronidációs aktivitását a hiperglikémia lényegesen nem befolyásolta. Érdekes módon a béllumenben kisebb mértékben kimutatható PNP-S mennyiségét a hiperglikémia szignifikánsan fokozta. Minthogy a metabolitok zömét azonban a PNP-G adta, a metabolitok össz-megjelenése (PNP-G + PNP-S) a vékonybél lumenében patkányban nem változott számottevően hiperglikémia hatására. A streptozotocinnal kiváltott kísérletes diabéteszben saját vizsgálataink szerint a PNP-S a hiperglikémiás patkányokban megfigyeltékhez hasonló tendenciájú, de kisebb mértékű emelkedő tendenciát mutatott, a változás azonban nem volt szignifikáns. A PNP-G luminális megjelenése azonban STZ előkezelést követően nőtt, azaz eltérően változott, mint a hiperglikémiás állatokban. A különbségek okát és magyarázatát nem ismerjük, differenciák lehetnek a hormonszintekben (inzulin, glukagon stb.), feltehetően a STZ beadása után eltelt hosszabb idő alatt bizonyos kompenzációs mechanizmusok is létrejöhetnek, illetve egyéb faktorok is felelősek lehetnek az eltérésekért. Mindenesetre kísérleti adataink alapján megállapítható, hogy maga a hiperglikémia is létrehozhat bizonyos változásokat a xenobiotikumok eliminációjában, de eltérések találhatóak más transzportfolyamatokban, például a vékonybélben történő cukorfelszívódásban is hiperglikémia hatására.

Az egyes bélszakaszoknál kapott kísérleti eredmények egyértelműen demonstrálják a csökkenő glukuronid képző aktivitást a vékonybél proximális szakaszától (proximális jejunum) a disztális irányba (terminális ileum) haladva. Az első és második fázisú metabolikus reakciónál különböző modellvegyületek esetén a gyomortól a vastagbél irányába haladva csökkenő tendenciát más szerzők is leírtak. A glukuronid képzés csökkenésével szemben a szulfát konjugáció nem volt alacsonyabb, sőt inkább egy enyhe emelkedést észleltünk a PNP-S-nek a vékonybél lumenében történő megjelenését illetően a proximálistól a disztális irányba haladva, ami azt jelenti, hogy a disztális szegmentumokban (disztális jejunum és terminális ileum) a PNP-S luminális megjelenése magasabb volt, mint a proximális jejunumban.

6. Összefoglalás és új eredmények

1. Kísérleti eredményeink egyértelműen mutatják, hogy a farmakonok eliminációjában a vékonybélnek is fontos szerepe van a per os adott gyógyszerek esetében.
2. A modellvegyületként luminálisan perfundált PNP-t a vékonybél gyorsan és hatékonyan metabolizálja, a metabolitok megjelennek és kimutathatók a vékonybél lumenében.
3. A PNP esetében patkányban a fő metabolit a PNP-G, ennél sokkal kisebb mértékben jelenik meg a béllumenben a PNP-S.
4. A PNP-G béllumenben történő megjelenése a proximális jejunumban dózisfüggő, de a folyamat szaturáció felé tendál.

5. A diabétesz egyik fő tünetét reprezentáló hiperglikémia önmagában is produkál fontos változásokat, például csökkenti az epefolyást, növeli a PNP-S lumenális megjelenését, de nem változtatja meg lényegesen a PNP glukuronidációját és az össz-metabolitok lumenális megjelenését.
6. A PNP-G dózisfüggő megjelenése és a szaturációs tendencia nemcsak a vékonybél proximális szakaszában, de a disztálisabb szegmentumokban (disztális jejunum, terminális ileum) is megfigyelhető.
7. Egyértelmű gradiens mutatható ki a PNP-G intesztinális eliminációjában a vékonybél proximális szakaszától a disztális irányba haladva. A PNP-G lumenális megjelenése ebben az irányban kifejezetten csökken.
8. A PNP-S lumenális megjelenése a PNP-G-vel ellentétben nem csökken, a vékonybélben proximális-disztális irányba haladva, sőt ebben inkább egy enyhe emelkedést észleltünk: a disztális vékonybél szegmentumokban (disztális jejunum, terminális ileum) a PNP-S nagyobb mennyiségben volt jelen, mint a proximális jejunumban.

A fentiekben összefoglalt eredmények egyértelműen jelzik, illetve megerősítik azt az álláspontot, mely szerint a farmakonok eliminációjában a béltraktus is nagyon fontos szerepet játszhat. Ennek különleges jelentősége elsősorban természetesen a gyógyszerek per os történő bevitele esetén van, ilyenkor ugyanis ezek a folyamatok az első passzázs effektus, illetve a biológiai hasznosíthatóság döntő tényezői lehetnek, másszóval a korrekt dozírozás szempontjából alapvetően fontos az ismeretük és a figyelembevételük. A folyamatok hátterének és a változások mechanizmusának a részletesebb analízise valamint egyéb faktorok szerepének a tisztázása további vizsgálatokat igényel.

7. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom **Dr. Fischer Emil** egyetemi tanárnak, program- és témavezetőmnek, aki mindvégig támogatót és stimulált a PhD munkám során. Tanácsai, útmutatása, türelmes és segítőkész hozzáállása alapvetően hozzájárult ahhoz, hogy az értekezésben bemutatott kísérleteket eredményesen elvégezhettem és az adatokat az értekezésben összefoglalhattam.

Köszönöm **Dr. Barthó Loránd** és **Dr. Pintér Erika** egyetemi tanároknak, a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, valamint a Gyógyszertudományi Doktori Iskola vezetőinek, hogy lehetővé tették számomra a kísérletes munka elvégzését és a Doktori Iskola keretein belüli tevékenységet.

Köszönetemet szeretném kifejezni **Reiszné Horváth Mária** asszisztensnőnek, akitől nem csak az állatkísérletek kivitelezésében, de az értekezés összeállításának a technikai vonatkozásaiban is rendkívüli értékes segítséget kaptam.

Köszönöm **Kovács Péter** informatikusnak az értekezés összeállításában nyújtott értékes technikai segítségét.

Végül, de nem utolsósorban megköszönöm **feleségemnek** és **családomnak**, hogy mindvégig kitartó támogatásban részesítettek.

8. Közlemények

1. E. Fischer, A. Rafiei, S. Bojcsev: Intestinal elimination of p-nitrophenol in the rat. *Acta Physiol. Hung.* 83: 355-362, 1995.
2. E. Fischer, A. Rafiei, S. Bojcsev: Effect of hyperglycaemia on the hepatic metabolism and excretion of xenobiotics. *Acta Physiol. Hung.* 83: 363-372, 1995.
3. E. Fischer, A. Rafiei, S. Bojcsev: Effect of insulin on the biliary excretion of exogenous organic anions in control and hyperglycemic rats. *Ital. J. Gastroenterol.* 27: 155, 1995. (IF:0,430)
4. E. Fischer, A. Rafiei, S. Bojcsev: Effect of hyperglycemia on the intestinal elimination of p-nitrophenol in the rat. *Acta Physiol. Hung.* 84: 287-288, 1996.
5. S. Bojcsev, A. Rafiei, E. Fischer: Changes in the biliary excretion of exogenous organic anions by streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiol. Hung.* 84: 263-264, 1996.
6. A. Rafiei, S. Bojcsev, E. Fischer: Dose-dependent intestinal and hepatic glucuronidation and sulfatation of p-nitrophenol in the rat. *Acta Physiol. Hung.* 84: 333-335, 1996.
7. E. Fischer, A. Rafiei, S. Bojcsev, M. Beró: Intestinal and hepatic elimination of p-nitrophenol in the rat. *Z. Gastroenterol.* 36: 331, 1998. (IF:0,572)
8. S. Bojcsev, A. Almási, H. Simon, P. Perjési, E. Fischer: Investigation of drug metabolism in various segments of small intestine in the rat. *Acta Physiol. Hung.* 100: 115-123, 2013. (IF:0,747)
9. A. Almási, S. Bojcsev, T. Fischer, P. Perjési, E. Fischer: Metabolic enzyme activities and drug excretion in the small intestine and in the liver in the rat. *Acta Physiol. Hung.* 100: 478-488, 2013. (IF:0,747)
10. E. Fischer, A. Almási, S. Bojcsev, T. Fischer, Noémi Kovács, P. Perjési: Effect of experimental diabetes and insulin replacement on the intestinal metabolism and excretion of 4-nitrophenol in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol. Közlésre elfogadva.* (IF:1,546)
11. A. Almási, S. Bojcsev, T. Fischer, H. Simon, P. Perjési, E. Fischer: Changes in the metabolic enzyme activities and hepatic elimination of p-nitrophenol in streptozotocin-induced diabetes with or without insulin replacement in the rat. *Acta Physiol. Hung. Közlés alatt.*

9. Kongresszusi prezentációk

9.1. Angol nyelvű prezentációk

1. Fischer E., Rafiei A., Bojcev S.: Effect of insulin on the biliary excretion of exogenous organic anions in control and hyperglycemic rats. Congress of EITG, Lecce-Otranto (Italy), 1995. (Poster)
2. Rafiei A., Bojcev S., Fischer E.: Dose-dependent intestinal and hepatic glucuronidation and sulfatation of p-nitrophenol in the rat. Congress of the Hungarian, Polish and Italian Pharmacological Societies, Pécs (Hungary), 1996. (Poster)
3. Bojcev S., Rafiei A., Fischer E.: Changes in the biliary excretion of exogenous organic anions by streptozotocin-induced diabetes. Congress of the Hungarian, Polish and Italian Pharmacological Societies, Pécs (Hungary), 1996. (Poster)
4. Fischer E., Rafiei A., Bojcev S.: Effect of hyperglycemia on the intestinal elimination of p-nitrophenol in the rat. Congress of the Hungarian, Polish and Italian Pharmacological Societies, Pécs (Hungary), 1996. (Poster)
5. Bojcev S., Rafiei A., Fischer E.: Dose-dependent intestinal elimination of p-nitrophenol in the rat. Congress of the Hungarian and Romanian Physiological Societies, Szeged (Hungary), 1996. (Poster)
6. Fischer E., Rafiei A., Bojcev S.: Effect of hyperglycemia on the intestinal elimination of xenobiotics. Congress of the Hungarian and Romanian Physiological Societies, Szeged (Hungary), 1996. (Poster)
7. Bojcev S., Rafiei A., Fischer E.: Comparison of the hepatic and intestinal metabolism and excretion of p-nitrophenol in the rat. Congress of the Hungarian and Romanian Physiological Societies, Temesvár (Romania), 1996. (Poster)
8. Fischer E., Rafiei A., Bojcev S.: Gradient of conjugating activity in the small intestine in the rat. Congress of the Hungarian and Romanian Physiological Societies, Temesvár (Romania), 1996. (Poster)
9. Bojcev S., Rafiei A., Fischer E.: Relative importance of the liver and small intestine in the elimination of drugs. 13 th International Student Congress of Medical Sciences, Istanbul (Turkey), 1997. (Lecture)
10. Fischer E., Rafiei A., Bojcev S., Beró M.: Intestinal and hepatic elimination of p-nitrophenol in the rat. Congress of EITG, Sundvollen (Norway), 1998. (Lecture)
11. Fischer E., Bojcev S., Rafiei A.: Hepatic and intestinal transport of xenobiotics. Congress of English-Hungarian Societies of Physiology, Budapest (Hungary), 2000. (Poster)

9.2. Magyar nyelvű prezentációk

1. Fischer E., Rafiei A., Bojcev S.: A hiperglikémia hatása testidegen anyagok metabolizmusára és exkréciójára. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1995. (Előadás)

2. Rafiei A., Bojcsev S., Fischer E.: A p-nitrofenol metabolizmusa és exkréciója patkány vékonybélben. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1995. (Poszter)
3. Bojcsev S., Rafiei A., Fischer E.: A p-nitrofenol hepatikus és intesztinális eliminációja patkányban. MÉT Vándorgyűlés, Budapest, 1995. (Poszter)
4. Fischer E., Rafiei A., Bojcsev S.: A hiperglikémia hatása a xenobiotikumok metabolizmusára és exkréciójára patkány májban és vékonybélben. MÉT Vándorgyűlés, Budapest, 1995. (Poszter)
5. Rafiei A., Bojcsev S., Fischer E.: A p-nitrofenol dózis-függő eliminációja patkány vékonybélben. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1996. (Poszter)
6. Bojcsev S., Rafiei A., Fischer E.: A glukuronid- és a szulfátképzés jelentősége a p-nitrofenol biliáris exkréciójában lúminális bélperfúzió esetén. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1996. (Előadás)
7. Fischer E., Rafiei A., Bojcsev S.: Species különbségek a fenolos karakterű xenobiotikumok intesztinális eliminációjában. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1996. (Poszter)
8. Bojcsev S., Rafiei A., Fischer E.: A p-nitrophenol hepatikus eliminációja. POTE Tudományos Ülései, Pécs. 1996.
9. Fischer E., Rafiei A., Bojcsev S.: Az eliminációs kapacitás változása a vékonybélben a duodenumtól a coecumig. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1997. (Poszter)
10. Bojcsev S., Rafiei A., Fischer E.: A máj és a vékonybél relatív jelentősége a farmakonok eliminációjában. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1997. (Poszter)
11. Fischer E., Rafiei A., Bojcsev S.: A lúminális szulfát jelentősége a farmakonok intesztinális konjugációjában. MÉT Vándorgyűlés, Pécs, 1997. (Poszter)
12. Bojcsev S., Rafiei A., Fischer E.: A vékonybél szerepe a xenobiotikumok eliminációjában lúminális és intravénás adás esetén. MÉT Vándorgyűlés, Pécs, 1997. (Poszter)
13. Bojcsev S., Beró M., Fischer E.: A hiperglikémia hatása a farmakonok hepatikus és intesztinális eliminációjára. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1998. (Poszter)
14. Fischer E., Bojcsev S., Rafiei A., Beró M.: A xenobiotikumok vékonybélben történő metabolizmusát befolyásoló tényezők. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1998. (Poszter)
15. Bojcsev S., Beró M., Fischer E.: A hepatikus és intesztinális elimináció változása hiperglikémia hatására. MÉT Vándorgyűlés, Debrecen, 1998. (Poszter)
16. Fischer E., Bojcsev S., Rafiei A., Beró M.: A vékonybél és a máj szerepe az első passzázs effektusban. MÉT Vándorgyűlés, Debrecen, 1998. (Poszter)
17. Fischer E., Rafiei A., Bojcsev S.: A vékonybél szerepe az első passzázs effektusban, különös tekintettel a szulfát és a glukuronid képzésre. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 1999. (Poszter)
18. Fischer E., Rafiei A., Bojcsev S.: Az első passzázs effektus jelentősége: konjugációs molekulák a vékonybélben. MÉT Vándorgyűlés, Budapest, 1999. (Poszter)

19. Fischer E., Bojcsev S., Rafiei A.: Species és dózis különbségek okozta változások a gyógyszerek eliminációjában. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 2000. (Poszter)
20. Fischer E., Bojcsev S., Rafiei A.: A vékonybél és a máj eliminációs kapacitása fenolos karakterű gyógyszerek esetén. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 2001. (Poszter)
21. Fischer E., Bojcsev S., Rafiei A.: A vékonybél szerepe a farmakonok eliminációjában. MÉT Vándorgyűlés, Szeged, 2001. (Poszter)
22. Fischer E., Bojcsev S., Rafiei A.: Az első passzázs effektus jelentősége a farmakonok eliminációjában. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 2002. (Poszter)
23. Bojcsev S., Almási A., Simon H., Perjési P., Fischer E.: A metabolikus aktivitás vizsgálata a vékonybél különböző szegmentjeiben. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 2012. (Poszter)
24. Almási A., Takács Cs., Bojcsev S., Fischer T., Perjési P., Fischer E.: A p-nitrofenol metabolizmusa: a p-nitrofenol metabolitok (glukuronid, szulfát) a bélben, májban és a vérben. Membrán – Transzport Konferencia, Sümeg, 2013. (Poszter)
25. Fischer E., Fischer T., Almási A., Bojcsev S., Perjési P.: A vékonybél és a máj relatív jelentősége a gyógyszerek metabolizmusában különböző dózisok alkalmazása esetén. Membrán- Transzport Konferencia, Sümeg, 2014. (Poszter)
26. Fischer T., Almási A., Bojcsev S., Simon H., Fischer E., Perjési P.: A gyógyszermetabolizmus vizsgálata a vékonybélben perfúziós és recirkulációs módszerrel. Membrán- Transzport Konferencia, Sümeg, 2015. (Poszter)