

Farmakokinetický profil perorálnej aplikácie meflochínu u klinicky normálnych mačiek: Predbežná in vivo štúdia potenciálnej liečby mačacej infekčnej peritonitídy (FIP).

Jane Yu, Benjamin Kimble, Jacqueline M. Norris a Merran Govendir

Sydney School of Veterinary Science, Faculty of Science, The University of Sydney, Sydney, NSW 2006, Austrália; jane.yu@sydney.edu.au (J.Y.); benjamin.kimble@sydney.edu.au (B.K.); jacqui.norris@sydney.edu.au (J.N.); merran.govendir@sydney.edu.au

Pôvodný článok: [Pharmacokinetic Profile of Oral Administration of Mefloquine to Clinically Normal Cats: A Preliminary In-Vivo Study of a Potential Treatment for Feline Infectious Peritonitis \(FIP\)](#)

8.6.2020

Stručný obsah:

Pri hľadaní antivírusových látok proti mačacím koronavírusom a mačacím kalicivírusom sa preukázalo, že meflochín, ľudský antimalarický liek, znižuje vírusovú nálož mačacích koronavírusov a mačacieho kalicivírusu v infikovaných bunkách. V tejto štúdií sa meflochín podával perorálne siedmim klinicky zdravým mačkám dvakrát týždenne v štyroch dávkach a merali sa koncentrácie meflochínu v krvi, aby sa zistil farmakokinetický profil – pohyb liečiva v tele. Maximálna koncentrácia

meflochínu v krvi bola 2,71 ug / ml a dosiahla sa 15 hodín po podaní jednej perorálnej dávky. Medzi vedľajšie účinky meflochínu patrilo u niektorých mačiek zvracanie po podaní bez potravy a mierne zvýšenie symetrického dimetylarginínu (SDMA), ranného biomarkera obličiek. Táto štúdia poskytuje cenné informácie o profile meflochínu u mačiek ako úvodný krok k jeho výskumu ako novej liečby mačacieho koronavírusu a mačacej kalicivírusovej infekcie u mačiek.

Abstrakt: Farmakokinetický profil meflochínu bol skúmaný za účelom predbežnej štúdie potenciálnej liečby infekcií spôsobených mačacím koronavírusom (ako je infekčná peritonitída mačiek) alebo infekcií spôsobených mačacím kalicivírusom. Meflochín sa podával perorálne v dávke 62,5 mg siedmim klinicky zdravým mačkám dvakrát týždenne v počte štyroch dávok a koncentrácie meflochínu v plazme v priebehu 336 hodín sa merali pomocou vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie (HPLC). Maximálna plazmatická koncentrácia (C_{max}) po jednorazovej perorálnej dávke meflochínu bola 2,71 ug/ml a čas do dosiahnutia C_{max} (T_{max}) bol 15 h. Eliminačný polčas bol 224 h. Plazmatická koncentrácia dosiahla vyššiu úroveň 4,06 ug/ml, keď sa meflochín podával s krmivom. Nežiaduce účinky dávkovania zahŕňali u niektorých mačiek vracanie po podaní bez potravy. Pozorovalo sa mierne zvýšenie sérových koncentrácií symetrického dimetylarginínu (SDMA), ale nie kreatinínu. Meflochín môže poskytnúť bezpečnú účinnú liečbu infekcií spôsobených koronavírusom a kalicivírusom u mačiek.

Kľúčové slová: meflochín; mačacia infekčná peritonitída; farmakokinetika; koronavírus; kalicivírus

Úvod

Mačací koronavírus (FCoV) je alfa koronavírus, ktorý sa vyskytuje v dvoch odlišných patotypoch, ktoré možno rozlíšiť podľa biologického správania, ale nie podľa morfológie [1].

Hoci tieto dva patotypy patria k tomu istému druhu vírusu, používajú sa rôzne názvy – mačací enterický koronavírus (FECV) a vírus mačacej infekčnej peritonitídy (FIPV). FECV je vysoko nákazlivý fekálno-orálnou cestou. Infekcia je väčšinou asymptomatická alebo môže spôsobiť miernu hnačku [1,2]. FIP je smrteľné, imunitne sprostredkované ochorenie vyvolané virulentnými biotypmi FCoV známymi ako vírus mačacej infekčnej peritonitídy (FIPV) u domácich a voľne žijúcich mačiek. Keď sa u mačiek s FIP objavia klinické príznaky, priemerná dĺžka života sa pohybuje od niekoľkých dní do niekoľkých týždňov v prípade efuzívnej formy a od niekoľkých týždňov do niekoľkých mesiacov v prípade neefuzívnej formy [3-6]. Existuje však malý počet mačiek, ktoré môžu prežiť niekoľko rokov [7,8]. Možnosti liečby sú tradične obmedzené, avšak nedávne experimentálne liečby s použitím inhibítorov proteáz a nukleozidových analógov priniesli sľubné výsledky [9-13], hoci tieto možnosti liečby ešte nie sú registrované pre liečbu mačiek. Nedostatok dostupných možností liečby stupňuje potrebu skúmať ďalšie dostupné antivírusové liečby. Okrem toho má terapeutickú hodnotu hľadanie liečby zameranej na rôzne aspekty replikácie FCoV, keďže kombinovaná liečba pri iných vírusových infekciách sa spája s vyššou mierou potlačenia patogénu a minimalizáciou rozvoja antivírusovej rezistencie [14,15].

Kalicivírus mačiek je dôležitou a bežnou príčinou ochorenia horných dýchacích ciest a ulcerácie ústnej dutiny u mačiek, pričom v poslednom čase sa objavujú virulentnejšie formy vírusu, ktoré vedú k prepuknutiu systémového ochorenia, ktoré je často smrteľné a podobne ako FIP nemá účinnú antivírusovú liečbu. [16]

Pri hľadaní antivírusových látok proti mačaciemu koronavírusu a mačaciemu kalicivírusu sa ukázalo, že meflochín, ľudské antimalarikum, inhibuje vírusovú nálož FCoV v infikovaných Crandellových mačacích obličkových bunkách bez cytotoxických účinkov [17]. Jeho inhibícia cytopatických účinkov a vírusovej replikácie pri nízkych koncentráciách podporuje ďalšie

skúmanie tohto liečiva ako potenciálneho antivírusového terapeutického prostriedku. V našom predchádzajúcom projekte sme vyvinuli in vitro model na určenie rozsahu a rýchlosti hepatálneho klírensu (Cl) meflochínu [18]. Meflochín u mačky podlieha pečenej fáze I, ale nie konjugatívnemu metabolizmu fázy II [18]. Neexistujú dôkazy, že by meflochín vykazoval oneskorenú elimináciu u klinicky zdravých mačiek. Väzba meflochínu na plazmatické bielkoviny je približne 99 % v plazme klinicky normálnych mačiek aj v plazme mačiek s FIP [19].

Keďže meflochín sa v súčasnosti používa na profylaxiu malárie, sú dostupné informácie o jeho dispozícii vrátane absorpcie, distribúcie a rýchlosti a rozsahu eliminácie liečiva u dospelých ľudí a dojčiat, pričom niektoré informácie sú k dispozícii aj u psov [20], ale v tejto fáze nie sú k dispozícii žiadne informácie o farmakokinetickom profile (PK) meflochínu u mačiek okrem väzby na plazmatické bielkoviny [19]. Preto na posúdenie, či má podávanie meflochínu ako antivirotika nejakú terapeutickú výhodu, je potrebné stanoviť farmakokinetický profil meflochínu u klinicky normálnych mačiek, aby bolo možné vypracovať dávkovanie a frekvenciu dávok. Poznanie farmakokinetického profilu meflochínu u klinicky normálnej mačky je prechodným krokom, ktorý premostuje predklinické pozorovania meflochínu k medikácii mačiek v budúcnosti. Cieľom tejto štúdie bolo preskúmať farmakokinetický profil meflochínu pri perorálnom podávaní 62,5 mg (10 – 12 mg/kg) dvakrát týždenne. Druhým cieľom bolo zdokumentovať akékoľvek zmeny hematologických a/alebo biochemických analytov a fyziologických reakcií na meflochín pri tomto dávkovacom režime.

Materiály a metódy

Zvieratá

Osem dospelých mačiek (4 samice, 4 kocúri) získala spoločnosť Invetus Pty Ltd. (Casino, Nový Južný Wales, Austrália), zariadenie na výskum zvierat, z jej klinicky normálnych zvierat. Telesná hmotnosť sa pohybovala od 5,0 do 5,8 kg (priemer 5,4 kg). Mačky boli vo veku 3 až 7 rokov (priemer 5,5 roka). Mačky boli vybrané na základe klinicky normálneho fyzického vyšetrenia, normálneho skóre telesnej kondície a telesnej hmotnosti ≥ 5 kg. Medzi vylučovacie kritériá patrili mačky s abnormálnym nálezom pri fyzikálnom vyšetrení, mačky s podváhou alebo mačky, ktoré užívali lieky. Do štúdie bolo pôvodne vybraných sedem mačiek. Mačky boli umiestnené jednotlivo v boxoch v chovateľskej stanici a boli zásobované krmivom a vodou ad libitum. Výber klinicky normálnych mačiek, ich dávkovanie meflochínom, odber krvi a prístrešie realizovala spoločnosť Invetus. Táto štúdia bola schválená Výborom pre etiku zvierat Výskumného centra Wongaburra ako projekt USY F 18120 W dňa 29. augusta 2019 a Výborom pre etiku zvierat Univerzity v Sydney ako protokol 2019/1662.

Podávanie liekov a odber vzoriek

Na odber krvi sa mačkám nasadila maska a anestézia izofluránom v 100 % kyslíku a z krčných žíl sa pomocou ihly s priemerom 22 mm odobrali 2-4 ml krvi. Krv sa odoberala do skúmaviek s lítiovým heparínom, skúmaviek s kyselinou etyléndiamíntetraoctovou (EDTA) a skúmaviek so sérom na kvantifikáciu koncentrácie meflochínu, hematológiu a biochémiu. 250 mg tableta meflochínu (Lariam, Roche, Millers Point, Nový Južný Wales, Austrália) sa rozštvrtila pozdĺž ryhy na tablete. Pre každú mačku bola dávkou štvrtina tablety alebo 62,5 mg meflochínu. Hmotnosť každej štvrtiny tablety sa zaznamenala kvôli dôslednosti dávkovania. Meflochín (62,5 mg) sa podával každej mačke perorálne v dňoch 0, 4 (čo zodpovedá 96 h), 7 (168 h) a 10 (240 h). Mačky boli potom 2 h po podaní dávky monitorované na prípadné nežiaduce reakcie. Na

stanovenie plazmatickej koncentrácie meflochínu sa odoberali sériové vzorky krvi do lithiových heparínových skúmaviek v čase 0 (pred liečbou), 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 168, 240 a 336 h po podaní lieku. V iné dni podávania meflochínu ako v prvý deň podávania ($t = 96, 168$ a 240 h) sa vzorky krvi odoberali pred podaním dávky meflochínu, po ktorom nasledovalo podanie mokrého alebo suchého krmiva podávané v trvaní niekoľkých niekoľkých minút. Krv sa tiež odobrala do skúmaviek EDTA a séra na hematologické a biochemické vyšetrenie v 168 a 336 h. Vzorky sa odstredili do 1 h po odbere krvi. Plazma a sérum sa okamžite uskladnili v mrazničke (-20 °C) do 90 minút od odberu krvi. Skúmavky s EDTA boli okamžite odoslané do laboratória Idexx East Brisbane, Qld. Austrália, na hematologickú analýzu. Skúmavky so sérom sa poslali do Veterinary Pathology Diagnostic Services, The University of Sydney a do referenčného laboratória Idexx na biochemickú analýzu. Sérum bolo tiež zaslané do referenčného laboratória Idexx na analýzu sérového symetrického dimetylarginínu (SDMA) a kreatinínu. Na stanovenie koncentrácie meflochínu v plazme sa vzorky analyzovali vo veterinárnom farmakologickom laboratóriu, Sydney School of Veterinary Science, The University of Sydney, do dvoch mesiacov od odberu krvi.

Metóda analýzy liečiv a spracovanie vzoriek

Koncentrácia meflochínu sa vo vzorkách kvantifikovala pomocou vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie (HPLC), pričom vzorky plazmy boli upravené podľa validovanej metódy [19].

Chemikálie

Meflochín, verapamil (ako vnútorný štandard [IS]), fosforečnan sodný, trimetylamín a kyselina fosforečná boli zakúpené od spoločnosti Sigma-Aldrich (Castle Hill, Sydney, Nový Južný Wales, Austrália). Acetonitril a metanol triedy HPLC boli zakúpené od spoločnosti Thermo Fisher Scientific (Macquarie

Park, NSW, Austrália).

Podmienky HPLC

System HPLC pozostával z podávacej jednotky Shimadzu LC-20AT, podávacej jednotky DGU-20A3 HT na odplynenie rozpúšťadla, automatického injektora SIL-20A, UV detektora SPD-20A a kolónovej pece CT0-20A. Na chromatografické riadenie, zber a spracovanie údajov sa používal softvér Shimadzu LC Solution (Kyoto, Japonsko). Chromatografická separácia sa uskutočnila pomocou kolóny Polaris C18-A (5 μ m, 150 \times 4,6 mm) s predkolónou Optic-guard C 18 s priemerom 1,0 mm (Choice Analytical, Thornleigh, NSW, Austrália), pričom teplota kolóny bola nastavená na 35 °C. Izokratická mobilná fáza obsahovala zmes 25 mM fosforečnanu sodného s 0,5 % trietylamínu upraveného na pH 6,0 s kyselinou fosforečnou, acetonitrilom a metanolom (50:25:25) pri prietoku 0,8 ml/min. Pre každú vzorku bol objem nástreku 10 μ l a celkový čas trvania bol 15 min. Detektor s diódovým poľom bol nastavený na vlnovú dĺžku 220 nm.

Na prípravu vzoriek sa sériovým riedením pripravili plazmatické koncentrácie meflochínu 0,156, 0,313, 0,625, 1,25, 2,50 a 10,0 μ g/ml. Roztok IS sa pripravil v 100 % acetonitrile s konečnou koncentráciou 10 μ g/ml. Na prípravu štandardnej krivky sa použili vzorky mačacej plazmy pred liečbou.

Na extrakciu proteínov zo vzoriek plazmy sa do 100 μ l vzoriek mačacej plazmy pridalo 100 μ l acetonitrilu s obsahom 10 μ g/ml IS. Vzorky sa potom vortexovali a centrifugovali pri 14 000 g počas 10 minút. Pre potrebu analýzy sa do systému HPLC vstreklo desať mikrolitrov supernatantu.

Farmakokinetická analýza

Údaje sa vyhodnotili pomocou nekompartmentovej analýzy, keďže eliminačná fáza bola zrejماً len v dvoch časových bodoch, t. j. 48 a 96 h. Priemerná maximálna plazmatická koncentrácia (C

max) a čas do dosiahnutia C max (T max) prvej dávky sa určili vizuálnou kontrolou krivky plazmatickej koncentrácie jednotlivých mačiek v závislosti od času v priebehu 96 h. Rozdiel prirodzeného logaritmu plazmatických koncentrácií v 24. a 96. h, t. j. sklon krivky od 24. do 96. h dal ke. Polčas eliminácie sa odhadol pomocou $\ln 2/ke$. Plocha pod krivkou (AUC_{0-t}) v 96 h sa vypočítala k poslednej merateľnej koncentrácii pomocou lineárnej lichobežníkovej metódy. Zdanlivý distribučný objem sa vypočítal ako:

$$V/F = (Dávka/AUC) \times (1/ke), (1)$$

kde F je biologická dostupnosť pri perorálnom podávaní, ktorú nie je možné určiť, pretože intravaskulárne (intravenózne) podávanie meflochínu mačkám sa neuskutočnilo. Zdanlivý klírens sa vypočítal ako:

$$Cl/F = V \times ke. (2)$$

Plocha pod krivkou momentu ($AUMC_{0-96h}$) sa vypočítala ako súčet AUC, keď sa každý z údajov o koncentrácii vynásobil časom. Priemerný rezidenčný čas sa vypočítal ako $1/ke$.

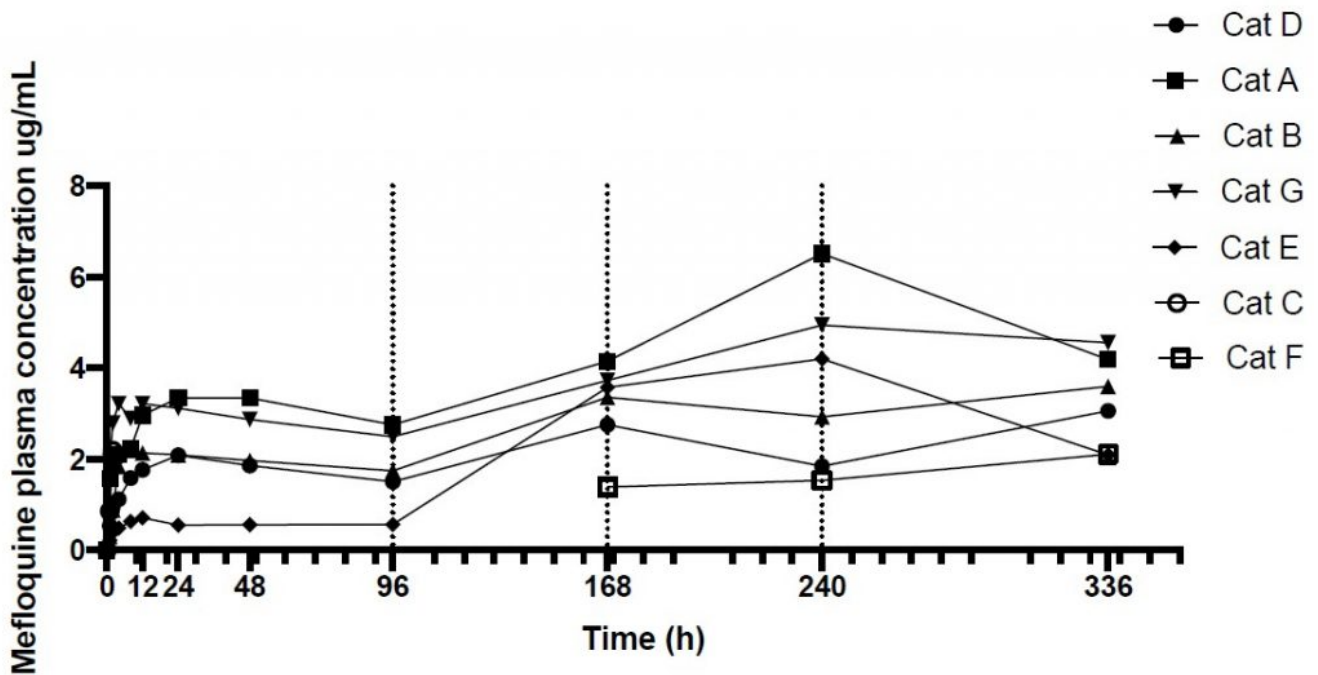
Štatistická analýza

Dve mačky boli zo štatistickej analýzy vylúčené z dôvodu zvracania. Údaje o plazmatickej koncentrácii meflochínu pre päť mačiek (vrátane mačky E) v 24, 96, 168, 240 a 336 h boli podrobené Shapiro-Wilkovmu testu normality a všetky rozdelenia boli normálne. Koncentrácie SDMA však neboli normálne v čase $t = 0$ h, ale boli normálne v čase 168 a 336 h. Koncentrácie kreatinínu boli normálne v čase 0, 168 a 336 h. Priemerné koncentrácie meflochínu v plazme sa porovnávali v čase 24, 96, 168, 240 a 336 h a prešli opakovaným meraním on-way ANOVA, rovnako ako priemerné koncentrácie SDMA a kreatinínu v čase 0, 168 a 336 h. Tukeyho test viacnásobného porovňovania sa použil na preukázanie, či sa priemerné hodnoty v jednotlivých časových bodoch významne líšia. Štatistická analýza bola

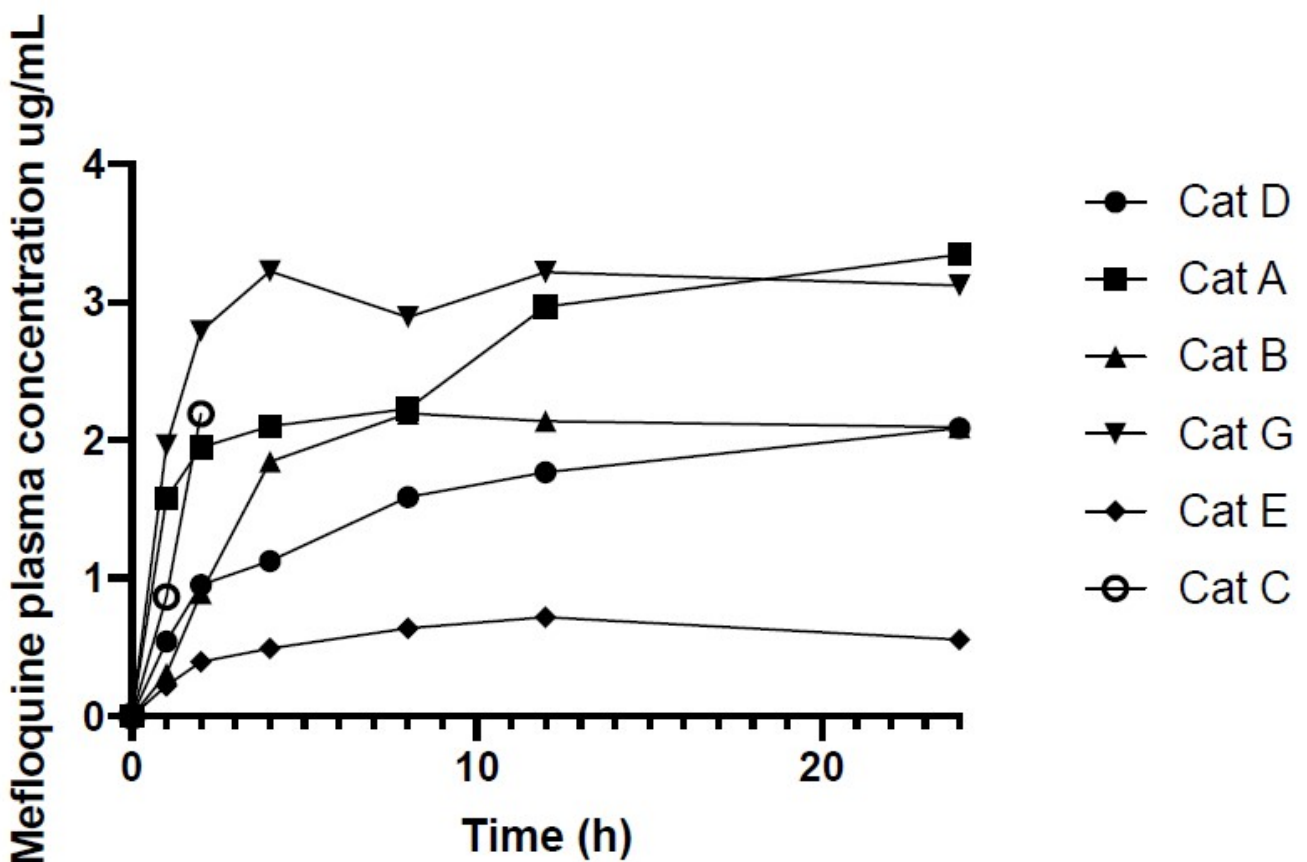
prijatá, ak $p < 0,05$. Štatistická analýza sa vykonala pomocou programu Graphpad Prism 8 (San Diego, California, CA, USA).

Výsledky

Po podaní 62,5 mg meflochínu na mačku bola priemerná dávka 11,8 mg/kg (medián 12,3, rozpätie 10,8-12,5). Zmena plazmatických koncentrácií meflochínu v priebehu 336 h (14 dní) u siedmich mačiek je zobrazená na obrázku 1 a aktuálne plazmatické koncentrácie meflochínu každej mačky v každom časovom bode sú uvedené v tabuľke 1. Na obrázku 2 sú znázornené plazmatické koncentrácie meflochínu ($\mu\text{g/ml}$) počas prvých 24 h. Jednorazová perorálna dávka meflochínu vedie k C_{max} 2,71 $\mu\text{g/ml}$ po prvej dávke, v priemere o 15 h (T_{max}). Zvýšenie plazmatických koncentrácií meflochínu sa pozorovalo po 168, 240 a 336 h (obrázok 1), po druhej dávke podanej tesne po 96 h, tretej dávke podanej tesne po 168 h a štvrtej dávke podanej tesne po 240 h, v uvedenom poradí, keď sa meflochín podával s jedlom, pričom vrcholové plazmatické koncentrácie dosiahli 4,06 $\mu\text{g/ml}$ (priemer) po 240 h. Jedna mačka (mačka C) zvracala 15 min po podaní dávky v deň 0 (liečba 1). Tejto mačke bol meflochín opätovne podaný v 4. deň (liečba 2), ale zvracala približne hodinu po podaní dávky, a preto bola zo štúdie vyradená. Ďalšia mačka (mačka F) zvracala 5 minút po podaní dávky v deň 1 (liečba 1). Tejto mačke bola úspešne podaná dávka meflochínu po kŕmení v nasledujúci deň liečby (96 h) a bola znovu zaradená do štúdie. Tentoraz sa po podaní dávky nepozorovalo žiadne zvracanie. Vzorky krvi boli mačke F odobraté o 168, 240 a 336 h, ako je uvedené v tabuľke 1.



Obrázok 1. Plazmatické koncentrácie meflochínu (ug/ml) u siedmich mačiek v priebehu 336 hodín (14 dní po prvej dávke). Mačky boli liečené dávkou 62,5 mg na mačku (10 – 12 mg/kg) po $t = 0, 96, 168$ a 240 h. Krv bola odobratá tesne pred liečbou, ako je vyznačené zvislými bodkovanými čiarami.



Obrázok 2. Plazmatické koncentrácie meflochínu (ug/ml) počas prvých 24 hodín po podaní mačkám 62,5 mg (10-12 mg/kg)

meflochínu pri $t = 0$.

	Mačka D	Mačka A	Mačka B	Mačka G	Mačka E	Mačka C	Mačka F
H	Samec kastrovaný	Samec kastrovaný	Samica kastrovaná	Samica kastrovaná	Samec kastrovaný	Samica kastrovaná	Samica kastrovaná
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.54	1.58	0.31	1.97	0.22	0.86	-
2	0.95	1.95	0.89	2.79	0.40	2.19	-
4	1.13	2.10	1.84	3.23	0.49	-	-
8	1.59	2.23	2.20	2.89	0.64	-	-
12	1.77	2.97	2.14	3.22	0.72	-	-
24	2.9	3.35	2.9	3.12	0.56	-	-
48	1.86	3.34	1.97	2.88	0.56	-	-
96	1.51	2.76	1.75	2.50	0.57	-	-
168	2.75	4.15	3.36	3.73	3.58	-	1.39
240	1.85	6.51	2.93	4.94	4.20	-	1.54
336	3.7	4.19	3.60	4.56	2.9	-	2.11

Tabuľka 1. Plazmatické koncentrácie meflochínu u jednotlivých mačiek (ug/ml). Mačky C a F boli vylúčené z farmakokinetickej analýzy (PK) z dôvodu neúplných údajov. Mačka C bola zo štúdie vyradená z dôvodu zvracania, zatiaľ čo mačka F zvracala po prvej dávke, ale bola úspešne znovu zaradená do štúdie v druhý deň liečby. Mačka E bola vylúčená z analýzy PK, pretože profil tejto mačky bol odľahlý a skresľoval údaje.

Farmakokinetické (PK) ukazovatele sú uvedené v tabuľke 2. Kočky C a F boli z analýzy PK vylúčené z dôvodu neúplných údajov. Keďže PK profil mačky E skresľuje údaje, indexy pre štyri mačky (mačka A, B, D a G) s konzistentnejšími profilmi boli použité na analýzu.

PK indexy	Jednotky	Priemer	SD	Medián	Min	Max
k_e (48-96 h)	1/h	0.003	0.001	0.003	0.003	0.005
$t_{1/2}$	h	224.18	51.60	233.94	153.24	275.60
T_{max}	h	15.00	10.52	16.00	4.00	24.00
C_{max}	$\mu\text{g/ml}$	2.71	0.66	2.71	2.09	3.35
AUC 0-96 h	$\mu\text{g/ml} \times \text{h}$	228.30	62.23	228.18	166.59	290.25

PK indexy	Jednotky	Priemer	SD	Medián	Min	Max
AUMC 0-96 h	$\mu\text{g/ml} \times \text{h}^2$	10737	2971.7	10576	7826.0	13968
MRT 0-96 h	h	326.50	13.60	337.46	221.17	397.47
V/Fobs (vypočítané za 0-96 h)	L/kg	17.41	4.08	15.74	14.73	23.41
Cl/Fobs (vypočítané za 0-96 h)	L/h/kg	0.06	0.02	0.052	0.04	0.085

Tabuľka 2. Farmakokinetické ukazovatele mačiek A, B, D a G počas prvých 96 hodín.

SD – štandardná odchýlka; k_e – konštanta rýchlosti eliminácie; $t_{1/2}$ – polčas eliminácie; T_{max} – čas do dosiahnutia maximálnej plazmatickej koncentrácie; C_{max} – maximálna plazmatická koncentrácia; $AUC_{0-96\text{ h}}$ – plocha pod krivkou počas 96 h; $AUMC_{0-96\text{ h}}$ – plocha pod krivkou momentu počas 96 h; $MRT_{0-96\text{ h}}$ – stredný rezidenčný čas; V/Fobs – zdanlivý distribučný objem; Cl/Fobs – zdanlivý klírens.

Hematológia a biochémia séra šiestich mačiek (mačky A, B, D, E, F a G) sa vykonali pred liečbou (0 h), po 168 a 336 h. Mačka C bola zo štúdie vyradená po prvých dvoch kontrolných bodoch, a preto sa v odbere krvi nepokračovalo. Hematologické výsledky boli vo všetkých šiestich časových bodoch bez pozoruhodností. Výsledky biochémie sú uvedené v tabuľke 3.

Biochemický analyt	Jednotky	0h	0h	168h	168h	336h	336h	Referenčný interval (referenčné laboratórium Idexx)
		Priemer	Rozsah	Priemer	Rozsah	Priemer	Rozsah	
Glukóza	mmol/l	–	–	5.10	3.90-6.30	4.50	3.40-5.40	3.20-7.50
SDMA	ug/dl	6.70	1.00-8.00	11.0	8.00-13.0	13.5	10.0-16.0	0.00-14.0
Kreatinín	umol/l	115	90.0-140.	122	80.0-160.	120.	100.-140.	80.0-200.
Močovina	mmol/l	8.00	6.80-10.2	7.70	6.90-9.10	8.08	6.90-9.20	5.00-15.0
Fosfor	mmol/l	1.70	1.40-2.00	1.40	1.17-1.63	1.32	1.20-1.60	0.00-2.30
Vápnik	mmol/l	2.40	2.30-2.50	2.40	2.40-2.60	2.30	2.20-2.40	2.10-2.80
Sodík	mmol/l	152	149-153	154	152-156	151	148-153	144-158
Draslík	mmol/l	5.10	4.50-5.20	4.50	4.10-5.20	4.40	4.10-4.70	3.70-5.40
Chlorid	mmol/l	115	111-117	123	120-125	118	116-120	106-123

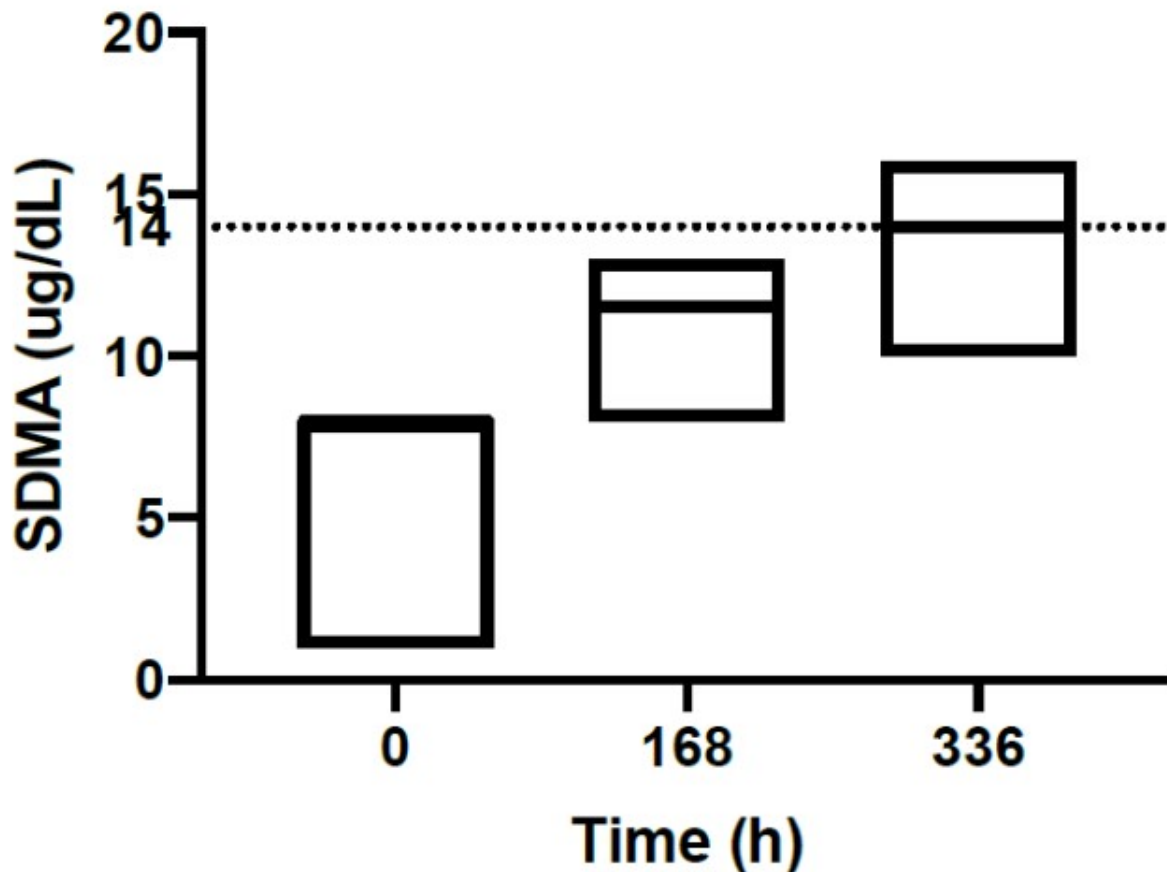
Biochemický analyt	Jednotky	0h	0h	168h	168h	336h	336h	Referenčný interval (referenčné laboratórium Idexx)
		Priemer	Rozsah	Priemer	Rozsah	Priemer	Rozsah	
Hydrogénuhličitan	mmol/l	16.0	15.0-18.0	–	–	16,3 (4 mačky)	15.0-18.0	12.0-24.0
Aniónová medzera	mmol/l	25.8	25.2-27.1	–	–	20,6 (4 mačky)	20.1-21.3	15.0-31.0
Celkový proteín	g/L	75.3	67.0-86.0	71.0	65.2-80.7	71.3	65.0-83.7	60.0- 84.0
Albumín	g/l	31.7	29.0-36.0	28.9	27.8-30.0	30.0	28.0-32.0	25.0-38.0
Globulín	g/L	43.7	35.0-37.0	42.3	35.3-52.9	41.2	33.0-55.7	31.0-52.0
ALT	U/L	79.2	43.0-161	47.3	26.0-116	58.7	22.0-166	19.0-100.
AST	U/L	47.8	25.0-83.0	29.7	22.0-53.0	29.8	20.0-42.0	0.00-62.0
ALP	U/L	39.8	21.0-75.0	37.0	24.0-72.0	41.8	27.0-87.0	5.00-50.0
GGT	U/L	0.70	0.00-1.00	–	–	0.50	0.00-2.00	0.00-5.00
Celkový bilirubín	umol/l	3.00	3.00	2.10	0.40-2.70	2.60	2.00-3.00	0.00-7.00
Cholesterol	mmol/l	3.85	2.60-4.90	3.90	3.00-4.80	3.10	0.00-4.70	2.20-5.50
CK	U/L	299	133-735	178	97.0-398	148	17.0-248	64.0-400
TT4	nmol/l	32.5	21.0-39.0	32.6	28.6-36.7		32.4-35.4	10.0-60.0

Tabuľka 3. Biochemické výsledky (priemer a rozsah) v 0, 168 a 336 h. Čísla mimo referenčných intervalov sú zvýraznené tučným písmom. Neboli uvedené všetky biochemické analyty z dôvodu dostupnosti rôznych biochemických analytov v rôznych laboratóriách, preto sú prázdne políčka.

SDMA-symetrický dimetylarginín; ALT-alaníntransamináza; AST-aspartáttransamináza; ALP-alkalínfosfatáza; GGT-gama-glutamyltranspeptidáza; CK-kreatínkináza; TT4-celkový tyroxín. Čísla mimo referenčných intervalov sú zvýraznené tučným písmom.

Biochemické vyšetrenie ukázalo trend zvyšovania koncentrácií SDMA v 168. a 336. hodine u všetkých šiestich mačiek. Jednosmerná ANOVA s opakovaným meraním, porovnávajúca SDMA vo všetkých časových bodoch, bola štatisticky významná $p < 0,002$. Tukeyho testy viacnásobného porovnávania ukazujú, že priemerná hodnota SDMA v každom časovom bode bola štatisticky odlišná: 0 vs 168 h $p = 0,002$; 168 vs 336 h $p = 0,005$. Obrázok 3 zobrazuje medián koncentrácií SDMA v každom časovom bode s horným a dolným rozsahom od šiestich mačiek. Medián SDMA v 0 h bol 8,0 g/dl (rozsah 1,0 – 8,0), medián SDMA v 168 h bol 11,5 g/dl (rozsah 8,0 – 13,0) a v 336 h bol 14,0 g/dl (rozsah 10,0

– 16,0). Koncentrácie kreatinínu sa v 0, 168 a 336 h u šiestich mačiek významne nelíšili. Tri mačky mali pred liečbou zvýšené pečeňové parametre vrátane ALT, AST a ALP. Z týchto troch mačiek mala jedna mačka (mačka G) hodnotu ALT až 161 U/L a ALP bola pred liečbou 75,0 U/L, ALT a ALP zostali zvýšené na 166 U/L a 87,0 U/L v uvedenom poradí v 336 h. Táto mačka nemala počas štúdie žiadne nežiaduce účinky. Jedna mačka s mierne zvýšenou ALT (142 U/L) bola zo štúdie vyradená kvôli zvracaniu (mačka C). Ďalšia mačka s mierne zvýšenou ALT (144 U/L) a AST (83,0 U/L) pred liečbou zostala klinicky zdravá počas celej štúdie a oba pečeňové parametre sa vrátili do normálneho rozsahu po 168 a 336 h. Ostatné biochemické analytické zmeny boli bez pozoruhodností. Glukóza v krvi v 0 h nebola poskytnutá, pretože vo všetkých vzorkách bola pozorovaná arteficiálna hypoglykémia. Bolo podozrenie, že je to dôsledok problematickej metódy odberu vzoriek krvi pre stanovenie glukózy.



Obrázok 3. Výsledky SDMA (ug/dl) šiestich mačiek v 0, 168 a

336 h. Medián koncentrácie SDMA v každom časovom bode je zobrazený s horným a dolným rozsahom. Prerušovaná čiara predstavuje referenčný interval (0,00 – 14,0).

Hoci mačky C a F pri prvom podaní meflochínu zvracali, všetky ostatné mačky pri ďalšom podaní, keď sa meflochín podával s potravou, liek dobre tolerovali. Počas dvoch týždňov liečby neboli u žiadnej mačky pozorované ďalšie nežiaduce účinky.

Diskusia

Toto je prvá farmakokinetická štúdia meflochínu u mačiek. Jediné hlásené použitie meflochínu u zvierat je ako antimalarikum pre dravce a tučniaky [21,22]. Okrem použitia ako antimalarikum bola zaznamenaná úspešná liečba týmto liekom u ľudí s progresívnou multifokálnou leukoencefalopatiou spôsobenou vírusom Johna Cunninghama (JCV) [23,24]. Jeho antivírusový účinok sa preukázal in vitro pri FCoV [17], mačacom kalicivírusu [25], víruse dengue typu 2 a víruse Zika u ľudí [26] a nedávno aj pri pangolinskom koronavírusu GX_P2X, ktorý je modelom pre SARS-CoV-2, pôvodcu COVID-19 u ľudí [27]. Presné mechanizmy jeho pôsobenia ako antimalarickej alebo antivírusovej látky nie sú známe [17,28,29].

Keďže meflochín je antimalarická profylaxia a liečba ľudí, bol zdokumentovaný jeho farmakokinetický profil. U zdravých dobrovoľníkov je polčas perorálnej absorpcie meflochínu 1 – 4 h (priemer 2,1 h) [30]. Perorálna biologická dostupnosť meflochínu u mačiek nie je známa, pretože požadovaná IV AUC potrebná na výpočet nebola u mačiek vykonaná. Zistilo sa však, že perorálna biologická dostupnosť meflochínu u psov je približne 67 – 90 % (priemer 78 %) [20]. Meflochín dosahuje maximálne plazmatické koncentrácie približne po 6-24 h (medián 17,6 h) u ľudí [30]. Pri perorálnom podávaní mačkám je čas dosiahnutia maximálnych plazmatických koncentrácií (T_{max}) porovnateľný s ľuďmi, v priemere 15 h. Odhadovaný celkový zdanlivý distribučný objem u zdravých ľudí je približne 19,2-22,1 l/kg a systémový klírens je 0,026-0,042 l/h/kg [31],

zatiaľ čo zdanlivý priemerný \pm SD distribučný objem u mačiek je $17.4 \pm 4,08$ l/kg a zdanlivý klírens je $0,060 \pm 0,020$ l/h/kg pri výpočte za 0 až 96 h. Väzba plazmatických bielkovín bola 98 % u zdravých ľudských dobrovoľníkov a pacientov s nekomplikovanou maláriou falciparum [30] a tiež 99 % v plazme mačiek z klinicky normálnych mačiek a plazme mačiek s FIP [19]. U ľudí je eliminačný polčas meflochínu približne 20 dní u zdravých osôb, 10 až 14 dní u pacientov s nekomplikovanou maláriou falciparum [32,33] a 20 dní v prípadoch zahrňajúcich ťažkú maláriu [33,34]. U ľudí sa odporúča nasycovacia dávka a potom liečba raz týždenne [35,36]. Meflochín sa z tela vylučuje pomaly prostredníctvom stolice a moču [31,37]. V našej štúdií sme odhadli, že eliminačný polčas meflochínu u klinicky zdravých mačiek je približne 224 h alebo približne 9,3 dňa, podobne ako u zdravých ľudí. Výpočet polčasu vylučovania bol založený len na časových úsekoch 24 až 96 h; ďalšie štúdie, s odberom vzoriek pri podávaní jednorazovej dávky meflochínu dlhšie ako 96 h u mačiek, môžu poskytnúť jednoznačnejší výsledok.

Pri podávaní meflochínu s jedlom sa zvýšila perorálna absorpcia. Farmakokinetická analýza ukázala, že priemerná plazmatická koncentrácia bola vyššia ($4,06$ ug/ml) po 240 h, keď sa meflochín podával s jedlom, v porovnaní s plazmatickou koncentráciou $2,71$ ug/ml po 15 h, keď sa meflochín podával bez jedla. Medzi ďalšie faktory ovplyvňujúce vyššiu plazmatickú koncentráciu po 240 h patrí kumulatívny účinok lieku pri viacnásobnom podávaní a možná enterohepatálna cirkulácia lieku. U ľudí ovplyvňuje prítomnosť potravy v gastrointestinálnom trakte farmakokinetické vlastnosti meflochínu tým, že výrazne zvyšuje rýchlosť a rozsah absorpcie [38].

Ukázalo sa, že meflochín v koncentrácii 10 μ M vykazoval výraznú inhibíciu voči dvom biotypom FCoV, FIPV WSU 79-1146 (FIPV1146) a FECV WSU 79-1683 (FECV1683), získaným z American Type Culture Collection (Virginia, USA), [17]. Vzhľadom na to,

že molekulová hmotnosť meflochínu je 378 g/mol, pri použití 10 μ M meflochínu sa dosiahne plazmatická koncentrácia 10 μ M = 3,78 μ g/ml [17]. Táto štúdia ukázala, že pri podaní jednorazovej perorálnej dávky meflochínu ~12,5 mg/kg sa dosiahne maximálna plazmatická koncentrácia (C_{max}) 2,71 μ g/ml. Na inhibíciu vírusu FIP môže byť potrebná vyššia dávka meflochínu. Je však možné, že pri podávaní meflochínu s jedlom bude C_{max} oveľa vyššia, ako sa uvádza po 12 až 24 h. Posúdenie účinnosti meflochínu voči vírusu FCoV si zasluhuje klinickú štúdiu. Okrem toho sa ukázalo, že meflochín inhibuje cytopatické účinky v bunkách infikovaných koronavírusom príbuzným SARS-CoV-2a (GX_P2X), čo z neho robí potenciálny liek na použitie u mačiek s infekciou SARS-CoV-2 [27].

Chlorochín, 4-aminochinolín s podobným spôsobom účinku ako meflochín [39], preukázal inhibičný účinok proti replikácii FIPV a protizápalový účinok in vitro a zlepšil klinické hodnotenie experimentálne vyvolanej FIP mačiek [40]. Hoci sa preukázalo, že meflochín inhibuje FIPV in vitro [17], jeho klinická účinnosť u mačiek s FIP zostáva neznáma. Chlorochín však spôsobil zvýšenie hladiny ALT, keď sa použil u mačiek infikovaných FIP. V tejto štúdii meflochín nespôsobil zvýšenie hladín ALT. Hoci niektoré mačky mali pred podaním dávky meflochínu zvýšenú hladinu ALT, ďalšie zvýšenie po štyroch dávkach meflochínu dvakrát týždenne nebolo pozorované. Hydroxychlorochín sa skúmal v klinickej štúdii na liečbu COVID-19 u ľudí [41] a nedávno sa skúmali aj jeho antivírusové vlastnosti proti FIPV in vitro [42]. Pri použití s rekombinantným mačacím IFN- ω preukázal hydroxychlorochín zvýšenú antivírusovú aktivitu proti infekcii FIPV [42]. Na overenie jeho klinickej účinnosti a bezpečnosti u mačiek s koronavírusovou alebo kalicivírusovou infekciou sú potrebné ďalšie klinické štúdie. Výskyt nežiaducich účinkov po podaní meflochínu u ľudí je bežný, pričom 47 – 90 % ľudí má nejaké mierne alebo stredne závažné nežiaduce účinky [30,43,44]. Výskyt nežiaducich účinkov sa znižuje pri dlhodobom užívaní, zo 44 % počas prvých 4 mesiacov na 19 % po jednom roku

[30,45]. Medzi najčastejšie nežiaduce účinky patria neuropsychiatrické účinky [46-48], gastrointestinálna dysfunkcia [49], dermatologické príznaky [50], hematologické zmeny [51] alebo kardiovaskulárna dysfunkcia [30,33]. U ľudí sú nevoľnosť a vracanie bežnými nežiaducimi účinkami a môžu byť závislé od dávky a veku, pričom najvyššie riziko je u mladších detí [49,52]. V tejto štúdií dve mačky zvracali po prvom podaní meflochínu bez jedla. Jednej mačke (mačka F) bol meflochín po nakŕmení úspešne znovu podaný, a preto bola táto mačka znovu zaradená do štúdie. Mačke C bola tiež opätovne podaná druhá dávka meflochínu (4. deň); táto mačka však pred druhou dávkou odmietla potravu. Meflochín sa preto dávkoval bez potravy. Táto mačka opäť zvracala a bola zo štúdie vyradená. Keď sa meflochín podával s potravou, ďalšie zvracanie sa nepozorovalo. U mačiek v našej štúdií neboli pozorované žiadne iné klinické nežiaduce účinky. Naše mačky však boli pozorované len 14 dní. Akékoľvek oneskorené alebo dlhodobé nežiaduce účinky meflochínu u mačiek zostávajú neznáme. Je tiež možné, že výskyt nežiaducich účinkov by sa mohol znížiť pri dlhodobom podávaní, ako sa pozorovalo u ľudí [30,45].

Príčina nižšej krivky plazmatickej koncentrácie Mačky E počas prvého dávkovacieho intervalu (0-96 h) ostala neznáma (obrázky 1 a 2). Vekový rozdiel môže vysvetľovať nižšiu krivku plazmatickej koncentrácie mačiek D a E, keďže tieto dve mačky sú mladšie ako ostatné (3 roky oproti 6 – 7 rokom). Zníženie hepatálneho klírensu, zvýšenie distribučného objemu liečiv rozpustných v lipidoch s predĺženým polčasom a zvýšená perorálna biologická dostupnosť boli navrhnuté ako vysvetlenie, prečo majú starší ľudia odlišnú farmakokinetiku v porovnaní s mladšími dospelými, a tieto príčiny by potenciálne mohli prispieť k rozdielom v plazmatickej koncentrácii u mačiek D a E [53,54]. Zvýšenie distribučného objemu a predĺžený polčas sa však u starších mačiek (mačky A, B, C a G) nepozorovali. U ľudí sú síce koncentrácie meflochínu v krvi počas gravidity nižšie ako u dospelých bez gravidity, ale vo

farmakokinetických profiloch sa nezistili žiadne rozdiely v plazmatických koncentráciách meflochínu v závislosti od veku [55,56]. Zaujímavé je, že maximálne koncentrácie v krvi sú 2 – 3-krát vyššie u ázijských dospelých v porovnaní s neázijskými dobrovoľníkmi, pričom dôvod tohto etnického rozdielu nie je jasný [30,57]. Predpokladá sa, že k vyšším plazmatickým koncentráciám mohol prispieť menší distribučný objem sekundárne spôsobený nižším obsahom telesného tuku alebo rozdiely v enterohepatálnej cirkulácii liečiva u ázijských dobrovoľníkov [58]. V našej štúdií nebolo možné identifikovať rozdiely v plazmatických koncentráciách medzi pohlavím, kastročným stavom a telesnou hmotnosťou. Kocúr E mal tiež normálne biochemické analyty pred liečbou, v 168 a 336 h. Dysfunkcia pečene spôsobujúca zmenený metabolizmus lieku je nepravdepodobná; nemožno ju však úplne vylúčiť bez stanovenia hladiny žlčových kyselín pred a po liečbe na posúdenie funkcie pečene. U ľudí je meflochín metabolizovaný cytochrómom P450 3A (CYP 3A) v pečeni [59]. U mačiek sa zistilo, že aktivita CYP 3A je nižšia u mačiek v porovnaní s kocúrmí [60]. Zvláštnu krivku plazmatickej koncentrácie mačky E však nemožno vysvetliť. Ďalším vysvetlením by mohlo byť, že mačka E mohla po prvom podaní meflochínu zvracať bez toho, aby bola pozorovaná.

Rozdiel vo farmakokinetickom profile sa pozoruje u zdravých ľudí v porovnaní s ľuďmi infikovanými maláriou. U ľudí sú plazmatické koncentrácie meflochínu 2 – 3-krát vyššie u nekomplikovanej malárie falciparum v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi. Nekomplikovaná malária falciparum má tiež skráteneý polčas [30,31,33,61]. Príčina nie je úplne objasnená. Jednou z možných príčin skráteneého polčasu u pacientov s maláriou je zníženie enterohepatálnej cirkulácie a väčší fekálny klírens. Ďalším vysvetlením rozdielov vo farmakokinetickom profile medzi oboma skupinami je rozdiel vo väzbe meflochínu na plazmatické bielkoviny. Meflochín sa vo veľkej miere viaže na plazmatické bielkoviny, najmä na bielkoviny akútnej fázy, ako je alfa-1-kyslý glykoproteín

(AGP) [62]. Predpokladá sa, že zvýšenie AGP pri malárii vedie k zvýšeniu väzby meflochínu na plazmatické bielkoviny, čo ovplyvňuje zdanlivý distribučný objem [61]. Vysoké hladiny AGP sa preukázali u experimentálne vyvolanej FIP [63] a prirodzene infikovaných mačiek s FIP [64,65] a v praxi sa bežne používa ako diagnostický nástroj FIP [66]. Je teda možné, že vysoká hladina AGP a potenciálne aj iných proteínov akútnej fázy u mačiek infikovaných FIP zvyšuje väzbu meflochínu na plazmatické proteíny, čo mení farmakokinetický profil u týchto mačiek. Väzba meflochínu na plazmatické bielkoviny u klinicky normálnych a FIP infikovaných mačiek bola skúmaná in vitro; rozdiel však bol nejednoznačný kvôli neznámej biologickej variabilite testu [19]. U mačiek s FIP sú potrebné ďalšie štúdie farmakodynamiky a farmakokinetiky meflochínu.

Počas tejto štúdie sa u všetkých mačiek pozoroval trend zvyšovania SDMA bez zmeny kreatinínu (obrázok 3). Ukázalo sa, že SDMA je v porovnaní s kreatinínom včasným renálnym biomarkerom [67 – 69] a zvyšuje sa pri akútnom poškodení obličiek a chronickom ochorení obličiek [70]. Zvýšené sérové koncentrácie SDMA boli u mačiek spojené so zníženou funkciou obličiek meranou pomocou rýchlosti glomerulárnej filtrácie (GFR) [71]. Na základe výsledku našej štúdie je možné, že meflochín môže spôsobiť zníženú funkciu obličiek u mačiek. Renálna toxicita z podávania antimalarík je u ľudí zriedkavá [72]. Ďalším vysvetlením zvýšených koncentrácií SDMA je vplyv celkovej anestézie a kumulatívny účinok izofluránu počas štúdie. Ukázalo sa, že sérové hladiny SDMA namerané po úvode do anestézie (17,11 g/dl) sú výrazne vyššie ako hladiny namerané pred úvodom do anestézie (12,39 g/dl) [73]. Keďže mačky boli počas odberov krvi anestézované izofluránom, mohlo to potenciálne prispieť k zvýšeniu koncentrácií SDMA. Metóda odberu krvi, dávkovanie meflochínu a nábor mačiek boli z dôvodu nedostatočnej dostupnosti subjektov zadané externému určenému zariadeniu na výskum zvierat (Invetus Pty, Ltd., Casino, NSW, Austrália) a táto štúdia sa uskutočnila podľa štandardných pracovných postupov spoločnosti Invetus.

Jedným z obmedzení tejto štúdie bolo, že nie všetky mačky mali pred liečbou normálne pečeňové enzýmy. Tri mačky mali pred liečbou zvýšené hladiny ALT, AST a ALP. Keďže odber krvi, krvné testy pred liečbou a liečba boli vykonané v externom zariadení, vyšetrovatelia nevedeli o zvýšených pečeňových parametroch pred liečbou. Vyšetrovatelia tiež neboli zapojení do procesu náboru týchto mačiek a nebola známa lieková história a predchádzajúce záznamy o ochoreniach týchto mačiek. Napriek tomu sa významné zvýšenie ALT a ALP po liečbe meflochínom nevyskytlo. ALT a ALP zostali nezmenené po 336 hodinách u jednej mačky (mačka G). Krivka plazmatickej koncentrácie meflochínu u mačky G sa podstatne nelíšila od ostatných mačiek (mačky A, B a D).

Ďalším obmedzením je malý počet mačiek v našej štúdií. Len päť mačiek malo kompletne plazmatické koncentrácie meflochínu a do farmakokinetickej analýzy boli zahrnuté len štyri mačky (krivka nízkej koncentrácie mačky E bola vynechaná). Napriek malému počtu mačiek použitých v analýze sa poskytol dôležitý opis profilu liečiva meflochínu u klinicky normálnej mačky. Tieto predbežné informácie sú kľúčové pre všetky ďalšie výskumné projekty, ktoré zahŕňajú použitie meflochínu u mačiek.

Závery

Štúdia poskytuje predbežné údaje o farmakokinetickom profile meflochínu u mačiek a poskytuje užitočné informácie na plánovanie klinických skúšok meflochínu na liečbu mačiek s infekciami mačacím koronavírusom (vrátane FIP) a mačacím kalivicivírusom a prípadne, ak to bude potrebné, na COVID-19 na potenciálne zníženie vylučovania vírusov. Na určenie terapeutickéhó výhody meflochínu u mačiek s týmito ochoreniami sú potrebné ďalšie štúdie o jeho terapeutických účinkoch.

Autorské príspevky: Konceptualizácia, J.M.N. a M.G.; metodika, M.G. a B.K.; softvér, B.K. a M.G.; validácia, M.G. a B.K.;

formálna analýza, M.G. a B.K.; vyšetovanie, M.G., B.K. a J.Y.; zdroje, M.G. a B.K.; kurátori údajov, M.G., J.Y. a B.K.; príprava pôvodného návrhu, J.Y.; písanie – recenzia a editovanie, J.Y., M.G. a J.M.N.; vizualizácia, M.G. a J.Y.; dohľad, J.M.N. a M.G.; administrácia projektu, M.G.; získavanie finančných prostriedkov, J.M.N., M.G. a B.K. Všetci autori si prečítali publikovanú verziu rukopisu a súhlasili s ňou.

Financovanie: Tento výskum bol financovaný nadáciou Winn Feline Foundation, číslo grantu 2019_027, dar z pozostalosti Christine Gai Atkinsovej a z odkazu Lesley Muir zo Sydney School of Veterinary Science.

Podakovanie: Autori sú vďační spoločnosti Invetus za podporu pri náboe mačiek, poskytnutie prístrešku, medikácie a odberu krvi mačiek.

Konflikt záujmov: Autori neuvádzajú žiadny konflikt záujmov. Financujúci sa nepodieľali na návrhu štúdie, na zbere, analýzach ani interpretácii údajov, na písaní rukopisu ani na rozhodnutí o uverejnení výsledkov.

Niektorí veterinári vo svete už používajú meflochín ako off-label liečbu FIP, zatiaľ čo formálny výskum a klinické testy pokračujú.

Dávkovanie podľa jedného z týchto výskumníkov: „Použitá dávka je 10 až 12 mg/kg dvakrát týždenne perorálne a musí sa podávať s malým množstvom jedla, aby sa zabránilo zvracaniu. To sa zvyčajne rovná u mnohých mačiek 1/4 250 mg tablety Lariam. Liek vykazuje dobrú penetráciu do centrálného nervového systému u ľudí, preto dúfame, že môže byť prospešnejší aj pre ťažké neurologické prípady FIP. “

Vedci sa zaujímajú o všetky mačky s FIP v liečbe. Kontaktujte ma prosím súkromne prostredníctvom e-mailu na adrese defeatfip@verizon.net. Ďakujem.

Susan E Gingrich, zakladateľka fondu Bria pre výskum FIP, 12. 12. 2020

Poznámka: Celé balenie lieku Lariam s 8 tabletami (každá s obsahom 250mg meflochinu) stojí v prepočte cca 700 Kč (cca 27€). Jednalo by sa teda u veľmi lacnú formu liečby FIP. Dvojtyždenná liečba jednej mačky je teda lacnejšia ako 100Kč/4 €.

Literatúra

1. Felten, S.; Hartmann, K. Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis: A Review of the Current Literature. *Viruses* **2019**, *11*, 1068.
2. Pedersen, N.C.; Allen, C.E.; Lyons, L.A. Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J. Feline Med. Surg.* **2008**, *10*, 529–541.
3. Addie, D.; Belak, S.; Boucraut-Baralon, C.; Egberink, H.; Frymus, T.; Gruffydd-Jones, T.; Hartmann, K.; Hosie, M.J.; Lloret, A.; Lutz, H.; et al. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.* **2009**, *11*, 594–604.
4. Pedersen, N.C. A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963–2008. *J. Feline Med. Surg.* **2009**, *11*, 225–258.
5. Pedersen, N.C., An update on feline infectious peritonitis: Diagnostics and therapeutics. *Vet. J.* **2014**, *201*, 133–141.
6. Tsai, H.Y.; Chueh, L.L.; Lin, C.N.; Su, B.L. Clinicopathological findings and disease staging of feline infectious peritonitis: 51 cases from 2003 to 2009 in Taiwan. *J. Feline Med. Surg.* **2011**, *13*, 74–80.
7. Hugo, T.B.; Heading, K.L. Prolonged survival of a cat diagnosed with feline infectious peritonitis by immunohistochemistry. *Can. Vet. J.* **2015**, *56*, 53–58.
8. Ishida, T.; Shibanaï, A.; Tanaka, S.; Uchida, K.;

Mochizuki, M. Use of recombinant feline interferon and glucocorticoid in the treatment of feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.* **2004**, *6*, 107–109.

9. Kim, Y.; Liu, H.; Galasiti Kankanamalage, A.C.; Weerasekara, S.; Hua, D.H.; Groutas, W.C.; Chang, K.O.; Pedersen, N.C. Reversal of the progression of fatal coronavirus infection in cats by a broad-spectrum coronavirus protease inhibitor. *PLoS Pathog.* **2016**, *12*, e1005531.
10. Kim, Y.; Mandadapu, S.R.; Groutas, W.C.; Chang, K.O. Potent inhibition of feline coronaviruses with peptidyl compounds targeting coronavirus 3C-like protease. *Antiviral Res.* **2013**, *97*, 161–168.
11. Murphy, B.G.; Perron, M.; Murakami, E.; Bauer, K.; Park, Y.; Eckstrand, C.; Liepnieks, M.; Pedersen, N.C. The nucleoside analog GS-441524 strongly inhibits feline infectious peritonitis (FIP) virus in tissue culture and experimental cat infection studies. *Vet. Microbiol.* **2018**, *219*, 226–233.
12. Pedersen, N.C.; Kim, Y.; Liu, H.; Galasiti Kankanamalage, A.C.; Eckstrand, C.; Groutas, W.C.; Bannasch, M.; Meadows, J.M.; Chang, K.O. Efficacy of a 3C-like protease inhibitor in treating various forms of acquired feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.* **2018**, *20*, 378–392.
13. Pedersen, N.C.; Perron, M.; Bannasch, M.; Montgomery, E.; Murakami, E.; Liepnieks, M.; Liu, H. Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.* **2019**, *21*, 271–281.
14. Hsieh, L.E.; Lin, C.N.; Su, B.L.; Jan, T.R.; Chen, C.M.; Wang, C.H.; Lin, D.S.; Lin, C.T.; Chueh, L.L., Synergistic antiviral effect of Galanthus nivalis agglutinin and nelfinavir against feline coronavirus. *Antiviral Res.* **2010**, *88*, 25–30.
15. Strasfeld, L.; Chou, S., Antiviral drug resistance: Mechanisms and clinical implications. *Infect. Dis. Clin.*

North. Am. **2010**, *24*, 413–437.

16. Radford, A. D.; Addie, D.; Belak, S.; Boucraut-Baralon, C.; Egberink, H.; Frymus, T.; Gruffydd-Jones, T.; Hartmann, K.; Hosie, M. J.; Lloret, A.; Lutz, H.; Marsilio, F.; Pennisi, M. G.; Thiry, E.; Truyen, U.; Horzinek, M. C., Feline calicivirus infection. ABCD guidelines on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.* **2009**, *11* (7), 556–564.
17. McDonagh, P.; Sheehy, P.A.; Norris, J.M. Identification and characterisation of small molecule inhibitors of feline coronavirus replication. *Vet. Microbiol.* **2014**, *174*, 438–447.
18. Izes, A.M.; Kimble, B.; Norris, J.M.; Govendir, M. In vitro hepatic metabolism of mefloquine using microsomes from cats, dogs and the common brush-tailed possum (*Trichosurus vulpecula*). *PLoS One* **2020**, *15*, e0230975.
19. Izes, A.M. Comparative studies of in vitro hepatic metabolism of mefloquine by feline microsomes and those of other selected species. PhD Thesis, The University of Sydney, Camperdown, NSW, Australia, November 2019.
20. Schwartz, D.E.; Weber, W.; Richard-Lenoble, D.; Gentilini, M., Kinetic studies of mefloquine and of one of its metabolites, Ro 21-5104, in the dog and in man. *Acta. Trop.* **1980**, *37*, 238–242.
21. Remple, J.D. Intracellular Hematozoa of Raptors: A Review and Update. *J. Avian Med. Surg.* **2004**, *18*, 75– 88.
22. Grilo, M.L.; Vanstreels, R.E.; Wallace, R.; Garcia-Parraga, D.; Braga, E.M.; Chitty, J.; Catao-Dias, J.L.; Madeira de Carvalho, L.M. Malaria in penguins - current perceptions. *Avian Pathol.* **2016**, *45*, 393–407.
23. Hamaguchi, M.; Suzuki, K.; Fujita, H.; Uzuka, T.; Matsuda, H.; Shishido-Hara, Y.; Arai, S.; Nakamura, T.; Kikuchi, S.; Nakamichi, K.; et al. Successful treatment of non-HIV progressive multifocal leukoencephalopathy: Case report and literature review. *J. Neurol.* **2020**, *267*, 731–738.
24. Nambirajan, A.; Suri, V.; Kataria, V.; Sharma, M.C.;

- Goyal, V. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a 44-year old male with idiopathic CD4+ T-lymphocytopenia treated with mirtazapine and mefloquine. *Neurol. India* **2017**, *65*, 1061–1064.
25. McDonagh, P.; Sheehy, P.A.; Fawcett, A.; Norris, J.M., Antiviral effect of mefloquine on feline calicivirus in vitro. *Vet. Microbiol.* **2015**, *176*, 370–377.
 26. Balasubramanian, A.; Teramoto, T.; Kulkarni, A.A.; Bhattacharjee, A.K.; Padmanabhan, R. Antiviral activities of selected antimalarials against dengue virus type 2 and Zika virus. *Antiviral Res.* **2017**, *137*, 141– 150.
 27. Fan, H.H.; Wang, L.Q.; Liu, W.L.; An, X.P.; Liu, Z.D.; He, X.Q.; Song, L.H.; Tong, Y.G. Repurposing of clinically approved drugs for treatment of coronavirus disease 2019 in a 2019-novel coronavirus (2019nCoV) related coronavirus model. *Chin. Med. J. (Engl)* **2020**, *133* (9), 1051–1056.
 28. Brickelmaier, M.; Lugovskoy, A.; Kartikeyan, R.; Reviriego-Mendoza, M.M.; Allaire, N.; Simon, K.; Frisque, R.J.; Gorelik, L. Identification and characterization of mefloquine efficacy against JC virus in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 1840–1849.
 29. Owen, A.; Janneh, O.; Hartkoorn, R.C.; Chandler, B.; Bray, P.G.; Martin, P.; Ward, S.A.; Hart, C.A.; Khoo, S.H.; Back, D.J. In vitro synergy and enhanced murine brain penetration of saquinavir coadministered with mefloquine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *314*, 1202–1209.
 30. Palmer, K.J.; Holliday, S.M.; Brogden, R.N. Mefloquine. A review of its antimalarial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* **1993**, *45*, 430–475.
 31. Karbwang, J.; White, N.J., Clinical pharmacokinetics of mefloquine. *Clin. Pharmacokinet.* **1990**, *19*, 264–279.
 32. Desjardins, R.E.; Pamplin, C.L., 3rd; von Bredow, J.;

- Barry, K.G.; Canfield, C.J. Kinetics of a new antimalarial, mefloquine. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1979**, *26*, 372–379.
33. Karbwang, J.; Na-Bangchang, K., Clinical application of mefloquine pharmacokinetics in the treatment of *P falciparum* malaria. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **1994**, *8*, 491–502.
34. Juma, F.D.; Ogeto, J.O. Mefloquine disposition in normals and in patients with severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1989**, *14*, 15–17.
35. Tan, K.R.; Arguin, P.M.; Arguin, T. Travel related infectious disease. In *Centers for Disease Control and PRevention. CDC Yellow Book 2020: Health information for international travel* Available online: <https://www.cdc.gov/malaria/travelers/drugs.html> (Accessed on 21st April 2020)
36. Centers for Disease Control and Prevention, Malaria, how to choose a drug to prevent Malaria. Available online: <https://www.cdc.gov/malaria/travelers/drugs.html> (accessed on 21st April 2020).
37. White, N.J. Clinical pharmacokinetics of antimalarial drugs. *Clin. Pharmacokinet.* **1985**, *10*, 187–215.
38. Crevoisier, C.; Handschin, J.; Barre, J.; Roumenov, D.; Kleinbloesem, C. Food increases the bioavailability of mefloquine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1997**, *53*, 135–139.
39. Antony, H.A.; Parija, S.C. Antimalarial drug resistance: An overview. *Trop. Parasitol.* **2016**, *6*, 30–41.
40. Takano, T.; Kato, Y.; Doki, T.; Hohdatsu, T. Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection in vitro and in vivo. *Antiviral Res.* **2013**, *99*, 100–107.
41. Lundstrom, K. Coronavirus Pandemic-Therapy and Vaccines. *Biomedicines* **2020**, *8*, 109.
42. Takano, T.; Satoh, K.; Doki, T.; Tanabe, T.; Hohdatsu, T. Antiviral Effects of Hydroxychloroquine and Type I Interferon on In Vitro Fatal Feline Coronavirus

- Infection. *Viruses* **2020**, *12*, 576.
43. Lobel, H.O.; Bernard, K.W.; Williams, S.L.; Hightower, A.W.; Patchen, L.C.; Campbell, C.C. Effectiveness and tolerance of long-term malaria prophylaxis with mefloquine. Need for a better dosing regimen. *JAMA* **1991**, *265*, 361–364.
 44. Tin, F.; Hlaing, N.; Lasserre, R. Single-dose treatment of falciparum malaria with mefloquine: Field studies with different doses in semi-immune adults and children in Burma. *Bull. World Health Organ.* **1982**, *60*, 913– 917.
 45. Lobel, H.O.; Miani, M.; Eng, T.; Bernard, K.W.; Hightower, A.W.; Campbell, C.C. Long-term malaria prophylaxis with weekly mefloquine. *Lancet* **1993**, *341*, 848–851.
 46. Gribble, F.M.; Davis, T.M.; Higham, C.E.; Clark, A.; Ashcroft, F.M. The antimalarial agent mefloquine inhibits ATP-sensitive K-channels. *Br. J. Pharmacol.* **2000**, *131*, 756–760.
 47. Ringqvist, A.; Bech, P.; Glenthoj, B.; Petersen, E. Acute and long-term psychiatric side effects of mefloquine: A follow-up on Danish adverse event reports. *Travel Med. Infect. Dis.* **2015**, *13*, 80–88.
 48. Ritchie, E.C.; Block, J.; Nevin, R.L. Psychiatric side effects of mefloquine: Applications to forensic psychiatry. *J. Am. Acad. Psychiatry Law* **2013**, *41*, 224–235.
 49. Lee, S.J.; Ter Kuile, F.O.; Price, R.N.; Luxemburger, C.; Nosten, F. Adverse effects of mefloquine for the treatment of uncomplicated malaria in Thailand: A pooled analysis of 19, 850 individual patients. *PLoS One* **2017**, *12*, e0168780.
 50. Smith, H.R.; Croft, A.M.; Black, M.M. Dermatological adverse effects with the antimalarial drug mefloquine: A review of 74 published case reports. *Clin. Exp. Dermatol.* **1999**, *24*, 249–254.
 51. Stracher, A.R.; Stoeckle, M.Y.; Giordano, M.F. Aplastic anemia during malarial prophylaxis with mefloquine.

- Clin. Infect. Dis.* **1994**, *18*, 263–264.
52. Magnussen, P.; Bygbjerg, I.C. Treatment of Plasmodium falciparum malaria with mefloquine alone or in combination with i.v. quinine at the Department of Communicable and Tropical Diseases, Rigshospitalet, Copenhagen 1982–1988. *Dan. Med. Bull.* **1990**, *37*, 563–564.
 53. Klotz, U. Pharmacokinetics and drug metabolism in the elderly. *Drug Metab. Rev.* **2009**, *41*, 67–76.
 54. Mangoni, A.A.; Jackson, S.H. Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: Basic principles and practical applications. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2004**, *57*, 6–14.
 55. Singhasivanon, V.; Chongsuphajaisiddhi, T.; Sabcharoen, A.; Attanath, P.; Webster, H.K.; Wernsdorfer, W.H.; Sheth, U.K.; Djaja Lika, I. Pharmacokinetics of mefloquine in children aged 6 to 24 months. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1992**, *17*, 275–279.
 56. Vieira, J.L.; Borges, L.M.; Ferreira, M.V.; Rivera, J.G.; Gomes Mdo, S. Patient age does not affect mefloquine concentrations in erythrocytes and plasma during the acute phase of falciparum malaria. *Braz. J. Infect. Dis.* **2016**, *20*, 482–486.
 57. Karbwang, J.; Bunnag, D.; Breckenridge, A.M.; Back, D.J. The pharmacokinetics of mefloquine when given alone or in combination with sulphadoxine and pyrimethamine in Thai male and female subjects. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1987**, *32*, 173–177.
 58. Looareesuwan, S.; White, N.J.; Warrell, D.A.; Forgo, I.; Dubach, U.G.; Ranalder, U.B.; Schwartz, D.E. Studies of mefloquine bioavailability and kinetics using a stable isotope technique: A comparison of Thai patients with falciparum malaria and healthy Caucasian volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1987**, *24*, 37–42.
 59. Fontaine, F.; de Sousa, G.; Burcham, P.C.; Duchene, P.; Rahmani, R. Role of cytochrome P450 3A in the metabolism of mefloquine in human and animal hepatocytes. *Life Sci.* **2000**, *66*, 2193–2212.

60. Shah, S.S.; Sanda, S.; Regmi, N.L.; Sasaki, K.; Shimoda, M. Characterization of cytochrome P450-mediated drug metabolism in cats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **2007**, *30*, 422–428.
61. Reuter, S.E.; Upton, R.N.; Evans, A.M.; Navaratnam, V.; Olliaro, P.L. Population pharmacokinetics of orally administered mefloquine in healthy volunteers and patients with uncomplicated Plasmodium falciparum malaria. *J. Antimicrob. Chemother.* **2015**, *70*, 868–876.
62. Zsila, F.; Visy, J.; Mady, G.; Fitos, I. Selective plasma protein binding of antimalarial drugs to alpha-1-acid glycoprotein. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 3759–3772.
63. Stoddart, M.E.; Whicher, J.T.; Harbour, D.A. Cats inoculated with feline infectious peritonitis virus exhibit a biphasic acute phase plasma protein response. *Vet. Rec.* **1988**, *123*, 622–624.
64. Duthie, S.; Eckersall, P.D.; Addie, D.D.; Lawrence, C.E.; Jarrett, O. Value of alpha 1-acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Vet. Rec.* **1997**, *141*, 299–303.
65. Giordano, A.; Spagnolo, V.; Colombo, A.; Paltrinieri, S. Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Vet. J.* **2004**, *167*, 38–44.
66. Paltrinieri, S.; Giordano, A.; Tranquillo, V.; Guazzetti, S. Critical assessment of the diagnostic value of feline alpha-1-acid glycoprotein for feline infectious peritonitis using the likelihood ratios approach. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2007**, *19*, 266–272.
67. Hall, J.A.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Jewell, D.E. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* **2014**, *28*, 1676–1683.
68. Nabity, M.B.; Lees, G.E.; Boggess, M.M.; Yerramilli, M.;

- Obare, E.; Yerramilli, M.; Rakitin, A.; Aguiar, J.; Relford, R. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* **2015**, *29*, 1036–1044.
69. Yerramilli, M.; Farace, G.; Quinn, J.; Yerramilli, M. Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury: the role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* **2016**, *46*, 961–993.
70. Dahlem, D.P.; Neiger, R.; Schweighauser, A.; Francey, T.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Steinbach, S.M.L. Plasma symmetric dimethylarginine concentration in dogs with acute kidney injury and chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* **2017**, *31*, 799–804.
71. Braff, J.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Elliott, J.; Yerramilli, M. Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. *J. Vet. Intern. Med.* **2014**, *28*, 1699–1701.
72. Wiwanitkit, V. Antimalarial drug and renal toxicity. *J. Nephroarmacol.* **2016**, *5*, 11–12.
73. Namba, S.; Kitamura, R.; Amaha, T.; Befu, M.; Zama, T.; Moriwaki, T.; Kumono, S.; Shichijo, S. Impact of general anesthesia on serum symmetric dimethylarginine concentration in cats, American Association of Feline Practitioners Conference 2018, Charlotte, NC, USA, 27th–30th September 2018