

NSFT

Norsk Selskap for Farmakologi og Toksikolog

Norwegian Society of Pharmacology and Toxicology

c/o Department of Biology, University of Oslo, P.O.Box 1066 Blindern, N-0316 Oslo, Norway

Member of EPHAR IUPHAR EUROTOX IUTOX

www.nsft.net

Vintermøtet på Beitostølen

2008

Velkommen til NSFTs Vintermøte nr. 36

NSFTs Vintermøter har pågått siden 1973, det vil si at årets møte er nummer 36 i rekken. Selskapets styre gikk i 1972 sterkt inn for å få i gang nasjonale møter, som både kunne bli et kontaktforum og en faglig arena for selskapets voksende antall medlemmer fra de ulike deler av landet.

I 2008 er det påmeldt 143 deltakere til møtet (ledsagere og barn ikke inkludert) og det er 24 inviterte foredragsholdere fordelt på 7 symposier. Tilsammen er det meldt inn 24 frie foredrag og 36 postere fordelt på basal farmakologi, klinisk farmakologi og toksikologi.

Styret i NSFT takker for året som har gått og håper at deltakerne får både faglig og sosialt påfyll på årets vintermøte.

*Vennlig hilsen
Styret*

Oversikt over styremedlemmer i NSFT

NSFTs hovedstyre

Leder: Hassan Khiabani
 Sekretær: Anders Åsberg
 Kasserer: Laila Sortvik Nilssen
 Styremedlem: Jannike Mørch Andersen
 Representant for bedriftsmedlemmer: Atle Skattebøl
 Representanter fra seksjonsstyrene: Finn Olav Levy og Vibeke Thrane
 Varamedlemmer: Gro Cecilie Havnen og Heidi L. Wold

Seksjon for basal og klinisk farmakologi

Leder: Finn Olav Levy
 Sekretær: Trude Giverhaug
 Kasserer: Knut Hjelmeland
 Styremedlem: Tone Westergren

Kontaktpersoner for seksjon for basal og klinisk farmakologi

Bergen: Bettina Riedel
Trondheim: Ola Dale
Tromsø: Thrina Loennechen

Seksjon for toksikologi

Leder: Vibeke Thrane
 Sekretær: Hege Stubberud
 Styremedlem: Inger-Lise Steffensen
 Styremedlem: Roger Holten
 Styremedlem: Julie Tesdal Håland
 Styremedlem: Line Sverdrup
 Styremedlem Marianne van der Hagen
 Varamedlemmer: Steinar Øvrebø

Kontaktpersoner for seksjon for toksikologi

Bergen: Anders Goksøyr
Trondheim: Åse Krøkje

Innholdsfortegnelse

Velkommen til NSFTs Vintermøte nr. 36	2
Oversikt over styremedlemmer i NSFT	2
NSFTs Vintermøter	6
Program	8
Hotelloversikt	16
INVITERTE FOREDRAG	17
IF 6 Risikovurdering av kosttilskudd i Den norske mor og barn undersøkelsen.....	17
IF 12 Signifikans og sannhet.....	18
IF 13 Signifikans og repetisjon.....	19
IF 14 Har clusterutredninger noen verdi? Eksemplet kreftsaken ved Rosenborg, NTNU	20
IF 17 Hva er det som styrer det kjemiske arbeidsmiljøet for gravide arbeidstakere?	21
IF 19 Effects of petroleum-related compounds on benthos from arctic and temperate areas	22
IF 21 Effekter av miljøgifter på hormonbalansen hos isbjørn	23
FRIE FOREDRAG	24
Frie foredrag – toksikologi	25
FT 1 Risk assessment of polyfluorinated organic compounds with emphasis on reproductive toxicity	25
FT 2 Has increased availability of paracetamol had any effects on inquiries received by the National Poisons Information Centre in Norway?.....	26
FT 3 Dietary levels of vitamin A and D may influence the development of cancer	27
FT 4 Dietary exposure to polybrominated diphenyl ethers in a selected group of Norwegians with a wide range of seafood consumption.....	28
FT 5 Biotilgjengelighet av akrylamid fra knekkebrød	29
FT 6 Vitellogenin profiling in liver, plasma and mucus of carp (<i>Cyprinus carpio</i>) exposed to endocrine disrupting chemicals: New FACETS of an old biomarker GEM.....	30
FT 7 A proteomics strategy for protein expression profiling and biomarker discovery in wildlife: studies with frog (<i>X. laevis</i>) and atlantic cod (<i>G. morhua</i>)	31
FT8 Metabolitter i torsk eksponert for PAH og alkylfenoler.....	32
FT9 PAHer og fisk: Metabolisme og toksisitet.....	33
FT10 Signaling pathways involved in cadmium-induced apoptosis and cytokine release in primary lung cells	34
FT11 Role of MAP-kinases and NFkB activation in fluoride- and TPA-induced and IL-8 synthesis in human epithelial lung cells.....	35
Frie foredrag – basal farmakologi	36
FBF 1 Antagonist-mediated down-regulation of 5-HT ₇ receptors by the atypical antipsychotics clozapine and olanzapine: Evidence for functional selectivity	36
FBF 2 Evidence for an unidentified kinase activity phosphorylating myosin light chain-2 in quiescent cardiomyocytes	37
FBF 3 Phosphodiesterases regulating the negative inotropic response of C-type natriuretic peptide in heart failure	38
FBF 4 The regulatory role of phosphodiesterase subtypes is differentially altered in failing myocardium	39
Frie foredrag – klinisk farmakologi	40
FKF 1 Forskjeller i kardiovaskulære effekter av glitazoner	40
FKF 2 Chlorthalidone or hydrochlorothiazide as monotherapy for hypertension? Comments on a current discussion.....	41
FKF 3 Medikamentell behandling av diabetes mellitus i Norge	42

FKF 4	Introduction of low dose transdermal buprenorphine (Norspan®) – did it influence use of potentially addictive drugs in chronic non-malignant pain patients?.....	43
FKF 5	Co-medication of statins and CYP3A4 inhibitors in Norway before and after introduction of new reimbursement policy, a pharmacoepidemiological study with data from the Norwegian Prescription Database	44
FKF 6	Prescription drug use among fathers and mothers before and during pregnancy. A population-based cohort study of 106,000 pregnancies in Norway 2004-06	45
FKF 7	Pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenetics of glucocorticoids in liver transplant recipients.....	46
FKF 8	Acute rejection early after renal transplantation is associated with elevated pre-transplant <i>IMPDH2</i> expression in CD4+ cells.....	47
FKF 9	Strong suppression of <i>IMPDH</i> in CD4+ cells by the immunosuppressant mycophenolic acid: a single-dose crossover exposure-response study in healthy individuals	48
POSTERE.....		49
Postere – toksikologi		50
TOX 1	DNA damage and repair in human lymphocytes after exposure to glycidamide, the toxic metabolite of acrylamid.....	50
TOX 2	Kan akrylamid indusere svulster i tarmen hos mus?	51
TOX 3	Modifications of DNA repair enzymes.....	52
TOX 4	Does benzo(a)pyrene affect the level of oxidative DNA damage in testicular cells from mOgg1-/- mice in vivo?.....	53
TOX 5	Carbon particle interactions with zinc- and iron-induced IL-8 release and intracellular signalling in bronchial epithelial cells.....	54
TOX 6	Determination of the Reliability of Total Oxyradical Scavenging Capacity for the marine polychaete <i>Arenicola marina</i>	55
TOX 7	Effekter av miljøgifter i sediment på børstemark, <i>Hediste diversicolor</i>	56
TOX 8	Miljøgifter og eutrofiering i marine overflatelag – metodeutvikling for studier av interaksjoner	57
TOX 9	Overvåkning av fotosyntetisk effektivitet i makroalger	58
TOX 10	Effects of atorvastatin and simvastatin on <i>Lemna gibba</i>	59
TOX 11	Overførsel av miljøgifter til torsk fra sediment	60
TOX 12	Effects of produced water components on Atlantic cod: kidney lysosomal membrane stability and peroxisomal acyl-CoA oxidase activity	61
TOX 13	PAH metabolitter i galle fra torsk eksponert for produsert vann komponenter gjennom føden ...	62
TOX 14	Narkotika i miljøet.....	63
Postere – basal farmakologi		64
BF 1	Comparison of the <i>in vitro</i> inhibitory potential of six trade herbal products on CYP3A4 metabolism and P-glycoprotein efflux transport in vitro.....	64
BF 2	Effekter av Rosenrot (<i>Rhodiola rosea</i>) på P-glycoprotein og CYP3A4 <i>in vitro</i>	65
BF 3	The impact of Aloe vera juice on P-glycoprotein transport of digoxin in Caco-2 cells.....	66
BF 4	Displacement of bilirubin from albumin by Chinese herbs and ibuprofen. Method development and clinical views	67
BF 5	Identification of herb-drug combinations used by cancer patients.....	68
BF 6	Mycophenolic acid vs <i>IMPDH</i> –pharmacodynamics to the next level?	69
BF 7	Stimulation of JNK activity by agonists activating G _q -protein-coupled receptors in hepatocytes is independent of Ca ²⁺ and protein kinase C	70
BF 8	Somatic mutations in the GPCR-like protein Smoothened	71
BF 9	Kjernerreseptorar og hormonforstyrrende stoff: etablering av luciferase transfeksjonsassay for studier av ligandaktivering av human pregnan X reseptor (hPXR)	72
BF 10	Neurotensin-induced intracellular signalling in HCT116 involves both epidermal growth factor receptor-dependent and -independent mechanisms	73
BF 11	Increased nitric oxide in heart failure cardiomyocytes during hypoxia-reoxygenation and noradrenaline exposure.....	74
BF 12	Determination of heroin and the metabolites in blood by LC-MS/MS.....	75
BF 13	Effekter av morfin metabolittene morfin-6-glukuronid (M6G) og morfin-3-glukuronid (M3G) på dopamin frisetting i nucleus accumbens	76

BF 14	Does the heroin metabolite morphine-3-glucuronide, play a role in the development of heroin addiction?.....	77
Postere – klinisk farmakologi		78
KF 1	Bivirkningskasuistikker og sikkerhetsprofil for linezolid	78
KF 2	Nevrologiske bivirkninger av TNF-alfahemmere.....	79
KF 3	Høyere følsomhet for statinindusert myotoksisitet hos pasienter med påvist statininduserte bivirkninger enn i friske frivillige undersøkt i humane skjellettmuskelceller <i>in vitro</i>	80
KF 4	Metabolisme av quetiapin via CYP3A4 og CYP3A5 <i>in vitro</i>	81
KF 5	Serum concentration of N-desalkylquetiapin in psychiatric patients.....	82
KF 6	Reduced elimination of cyclosporine A in elderly (>65) kidney transplant recipients	83
KF 7	Metodeutvikling i urinproteomikk – Fokus på prøveopparbeidelse	84
KF 8	Emnebibliotek forgiftninger – ny informasjonskilde om akutte forgiftninger og forgiftningsbehandling	85
Deltakerliste		86
Stipendmottakere 2008		89
NSFT takker for økonomisk støtte til Vintermøtet 2007 fra:		90

NSFTs Vintermøter

Hentet fra NSFTs historikkside på internett. Skrevet av Ivar Øye og Erik Dybing.

Selskapets første vintermøte, Farmakologisk vintermøte¹, ble holdt på Rauland Høyfjellshotell i Telemark i januar/februar 1973. Programmet for det første farmakologiske vintermøte omfattet både korte innlegg (presentasjon av forskningsresultater) og oversiktsforedrag av generell interesse. Det var viktig for å skape det omtalte forum der den yngre generasjon kunne melde på innlegg etter eget ønske og få anledning til å presentere sine arbeider på norsk, samt få anledning til å svare på spørsmål fra et stort og kresent antall tilhørere på sitt eget morsmål. Det var også viktig å samle farmakologinteresserte fra kliniske og akademiske institusjoner, offentlige myndigheter og legemiddelindustrien. Deltakerlisten på det første vintermøtet omfattet i alt 80 personer, ledsagere og noen barn medregnet. Det første vintermøtet ble vurdert som vellykket også fra den sosiale synsvinkelen, og vintermøtene ble etter dette en fast årlig begivenhet.

Rauland ble stedet også for vintermøte nr. 2 (1974). Deltakerantallet hadde nå steget til 120 og pensjonsprisen til runde kr 100 pr døgn! Et forholdsvis stort deltakerantall var nødvendig både for å sikre økonomien og for at møtet skulle få den ønskede karakter av en seriøs fagkongress. Vintermøtene bidro utvilsomt til at antallet støttemedlemmer økte. Styret så dette som verdifullt både fra faglig og sosial synsvinkel, og det styrket Selskapets økonomi slik at man etter hvert kunne tillate seg å invitere utenlandske foredragsholdere, fortrinnsvis fra våre naboland. Det var i utgangspunktet et ønske at "kongress-språket" skulle være norsk/skandinavisk, og man var derfor tilbakeholdende med å invitere foredragsholdere fra andre land enn de nordiske de første årene. Vintermøtene ble således ikke bare kontaktmøter for selskapets medlemmer, men skapte også bedre kontakt med nordiske kolleger.

Helt problemfrie har imidlertid ikke vintermøtene vært. Bergens-farmakologene kunne fortelle om ekstremt vanskelige kjøreforhold over fjellet til Rauland på denne tiden av året. Dette var en av grunnene til at det 3. møtet ble lagt til Ustaoset. På Ustaoset hadde selskapet sine første inviterte foredragsholdere fra utlandet: professorene Jens Schou fra København og Erik Anggård fra Karolinska institutet i Stockholm. Anggårds beskrivelse av vintermøtenes karakteristiske form blir nok husket av mange: "*Først åker man skidor til man er trøtt, så går man i badstu og slukker tørsten med en pilsner, etter dette nyter man en bedre lunsj og så går man i foredragssalen og slukker lyset*". Denne særnorske møteform setter helt spesielle krav til kvalitet både hos foredragsholdere og tilhørere. Det er grunn til å være stolt av at Farmakologisk vintermøte hadde innebygd en kvalitetssikring allerede fra starten.

Det at vintermøtet ble lagt til Ustaoset førte ikke til den ventede invasjon av deltakere fra fiskeværerne i vest, og hotellet var heller ikke et typisk kongresshotell, bla. måtte man ut i vinterkulda for å komme til plenumssalen. Det 4. vintermøtet ble derfor igjen lagt til Rauland. Antallet deltakere hadde nå steget til over 200 og pensjonsprisen til kr 120!

Det var tydelig at vintermøtene nå hadde funnet sin form. Vintermøtene var blitt populære: problemet var ikke lenger å lokke et tilstrekkelig antall til å delta, nå var problemet at hotellet ikke lenger var stort nok! *Rauland Fjellstoge* måtte benyttes for å innkvartere noen av

¹ Omdøping av Norsk Farmakologisk Selskap (NFS) til Norsk Selskap for Farmakologi og Toksikologi (NSFT) og seksjonering i toksikologi og klinisk farmakologi skjedde ikke før i 1981.

deltakerne i 1977, mens andre måtte bo i hytter. Ikke alle var like begeistret for hytteliv i denne spesielle sammenheng. Per Løkken gikk derfor i bresjen for å finne et nytt stamkvarter for vintermøtene, og valget falt til slutt på *Beito Høyfjellshotell*.

Med et lite opphold i 1990 og 1991, da møtet ble arrangert på *Lillehammer Turisthotell*, har de fleste av vintermøtene siden blitt holdt på Beitostølen. Forflyttingen til Lillehammer skyldtes dels ønsket om å oppleve et nytt møtested som var noe mer tilgjengelig fra Bergen, Trondheim og Tromsø, dels fordi de tekniske forhold på Beito etter hvert ikke fungerte fullt ut tilfredsstillende. Etter to års erfaringer fra Lillehammer med usikre leieforhold fremover mot olympiaden, samt at Beitostølen hadde utbygget sine møtelokaler, valgte styret å vende tilbake til Beito i 1992. Dette falt heldig ut, rent fortsett fra at snøforholdene ikke var ideelle. Men det er kanskje ikke styrets ansvar alene!

Det faglige programmet på vintermøtene har stort sett fulgt samme faglige lest, med symposier, frie foredrag og posters. Etter at seksjoneringen ble innført i 1981 valgte man de nærmeste årene å la basalfarmakologien, den kliniske farmakologien og toksikologien være ansvarlige for hvert sitt symposium. Mot slutten av perioden varierte man dette opplegget noe, idet man hadde større, gjennomgående temaer der man begynte basalt og sluttet klinisk.

Samlet vurdert har vintermøtene fungert meget bra, noe som ikke minst kommer til uttrykk når våre nordiske kolleger har vært på besøk hos oss og beklaget at man ikke har noe tilsvarende i eget land.

Program

Torsdag 24. januar	
13:00-15:00	Lunsj
15:00-15:10	Velkommen v/ NSFT's leder Hassan Khiabani BEITOHALLEN
Reaktive oksygenforbindelser <i>Møteleder:</i> Mohammad N. Sharikabad, Ullevål universitetssykehus BEITOHALLEN	
15:10-15:35	Reaktive oksygenforbindelser og signaloverføring i farmakologi og toksikologi Mohammad N. Sharikabad, Ullevål universitetssykehus
15:35-16:00	Oksidativt stress og kardiovaskulær sykdom - utfordringer ved forebygging og behandling Kirsti Ytrehus, UiT
16:00-16:20	Kaffe
16:20-16:55	Reaktive oksygenforbindelser og neurodegenerative sykdommer Frode Fonnum, UiO
16:55-17:20	Reaktive oksygenforbindelser og kreft - farmakologiske aspekter Odd Brørs, Ullevål universitetssykehus
Kaffe	

Bruk av biobanker for å studere betydningen av arv og miljø for neste generasjon <i>Møteleder:</i> Inger-Lise Steffensen, FHI BITIHORN		Inkretiner: fysiologi, farmakologi og klinisk anvendelse <i>Chairman:</i> Atle Skattebøl, MSD BEITOHALLEN	
17:30 - 18:00	NewGeneris. Hvordan kan vi studere livsstilen til foreldrene og deres betydning for barnets helse? Kristine Bjerve Gutzkow, FHI	17:30 - 18:00	Incretins: what are they and what do they do Carolyn Deacon, University of Copenhagen
18:00 - 18:30	Risikovurdering av kosttilskudd i Den norske mor og barn undersøkelsen Anne Lise Brantsæter, FHI	18:00 - 18:30	The development of DPP-IV inhibitors Richard Carr, MSD
18:30 - 19:00	RNA-stabilitet i blodprøver i store biobanker - kan vi stole på genespresjonsdata? Gunnar Brunborg, FHI	18:30 - 19:00	Inkretiner, kliniske aspekter Atle Skattebøl, MSD
19:30	Drink		
20:00	Middag		
22:00	<i>Kveldsnytt</i> Lite mat, lite søvn og utrolig kald – hva gjør det med oss? Per Kristian Opstad, FFI BITIHORN		

Fredag 25. januar	
12:30-14:00	Lunsj
<p>Statistikk i praksis - fra data til konklusjon</p> <p><i>Møteleder: Eva Skovlund, UiO</i></p> <p style="text-align: right;">BEITOHALLEN</p>	
14:00-14:25	<p>Signifikans og sannhet Eva Skovlund, UiO</p>
14:25-14:50	<p>Signifikans og repetisjon Thore Egeland, UiO</p>
14:50-15:10	Kaffe
15:10-15:35	<p>Har clusterutredninger noen verdi? Eksemplet kreftsaken ved Rosenborg, NTNU Petter Kristensen, UiO</p>
15:35-16:00	<p>Kausalitet og årsaksammenhenger: En statistikers bekjennelser Erik Bølviken, UiO</p>
Kaffe	

Frie foredrag 1		
	Toksikologi <i>Møteleder:</i> Vibeke Thrane, Giftinformasjonen BITIHORN 1	Farmakologi <i>Møteleder:</i> Odd Brørs, UUS BEITOHALLEN
16:15 - 16:27	Har clusterutredninger noen verdi? Erfaringer fra Medisinsk fødselsregister Lorentz M. Irgens, UiB	Antagonist-mediated down-regulation of 5-HT₇ receptors by the atypical antipsychotics clozapine and olanzapine: Evidence for functional selectivity Kjetil W Andressen, UiO
16:27 - 16:39		Evidence for an unidentified kinase activity phosphorylating myosin light chain-2 in quiescent cardiomyocytes Hilde Eikemo, UiO
16:39 - 16:51	Risk assessment of polyfluorinated organic compounds with emphasis on reproductive toxicity Christine Maass, IFI	Forskjeller i kardiovaskulære effekter av glitazoner Ivar Aursnes, UiO
16:51 - 17:03	Has increased availability of paracetamol had any effects on inquiries received by the National Poisons Information Centre in Norway? Helga Ruus Lorentzen, Giftinformasjonen	Chlorthalidone or hydrochlorothiazide as monotherapy for hypertension? Comments on a current discussion Jan-Bjørn Osnes, UiO
17:03 - 17:15	Dietary levels of vitamin A and D may influence the development of cancer Ragna B Hetland, FHI	Medikamentell behandling av diabetes mellitus i Norge Hanne Strøm, FHI
17:15 - 17:27	Dietary exposure to polybrominated diphenyl ethers in a selected group of Norwegians with a wide range of seafood consumption Helle Katrine Knutsen, FHI	Introduction of low dose transdermal buprenorphine (Norspan®) – did it influence use of potentially addictive drugs in chronic non-malignant pain patients? Svetlana Skurtveit, FHI
17:27 - 17:39	Biotilgjengelighet av akrylamid fra knekkebrød Jan Erik Paulsen, FHI	Co-medication of statins and CYP3A4 inhibitors in Norway before and after introduction of new reimbursement policy, a pharmacoepidemiological study with data from the Norwegian Prescription Database Helene Devold, FHI
17:39 - 17:51		Prescription drug use among fathers and mothers before and during pregnancy. A population-based cohort study of 106,000 pregnancies in Norway 2004-06 Kari Furu, FHI

Postervisning			
18:00 - 19:30	Toksikologi <i>Møteleder:</i> Merete Grung, NIVA KONFERANSEAVD.	Basal farmakologi <i>Møteleder:</i> Finn Olav Levy, UiO BEITOHALLEN	Klinisk farmakologi <i>Møteleder:</i> Ivar Aursnes, UiO BEITOHALLEN
20:00	Middag		

Lørdag 26. januar			
Generalforsamling			
09:00 - 10:00	Seksjon for toksikologi BITIHORN	09:30 - 10:00	Seksjon for basal og klinisk farmakologi BESSEGGEN
10:00 - 11:00	NSFT		BITIHORN
12:30-14:00 Lunsj			
Fostrets omgivelser – legemidler, arbeidsmiljø og etanol <i>Møteleder:</i> Gro C. Havnen, Giftinformasjonen BEITOHALLEN			
14:00-14:30	Deprimerte gravide eller gravide på lykkepiller. Hva utgjør størst risiko? Hedvig Nordeng, UiO		
14:30-15:00	Hva er det som styrer det kjemiske arbeidsmiljøet for gravide arbeidstakere? Petter Kristensen, UiO		
15:00-15:30	Skader ved lavt etanolinntak – påvist risiko eller skremsepropaganda? Astrid Alvik, UiO		
Kaffe			

Frie foredrag 2		
	Toksikologi <i>Møteleder:</i> Steinar Øvrebø, STAMI BITIHORN	Farmakologi <i>Møteleder:</i> Jan-Bjørn Osnes, UiO BEITOHALLEN
16:00 - 16:12	A proteomics strategy for protein expression profiling and biomarker discovery in wildlife: studies with frog (<i>X. laevis</i>) and atlantic cod (<i>G. morhua</i>) Anders Goksøyr, UiB	Phosphodiesterases regulating the negative inotropic response of C-type natriuretic peptide in heart failure Lise R. Moltzau, UiO
16:12 - 16:24	Vitellogenin profiling in liver, plasma and mucus of carp (<i>Cyprinus carpio</i>) exposed to endocrine disrupting chemicals: New FACETS of an old biomarker GEM Anders Goksøyr, UiB	The regulatory role of phosphodiesterase subtypes is differentially altered in failing myocardium Eirik Qvigstad, UiO
16:24 - 16:36	Metabolitter i torsk eksponert for PAH og alkylfenoler Merete Grung, NIVA	Pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenetics of glucocorticoids in liver transplant recipients Ingjerd Sæves, Rikshospitalet
16:36 - 16:48	PAHer og fisk: Metabolisme og toksisitet Ketil Hylland, UiO	Acute rejection early after renal transplantation is associated with elevated pre-transplant <i>IMPDH2</i> expression in CD4+ cells Sara Bremer, Rikshospitalet
16:48 - 17:00	Signaling pathways involved in cadmium-induced apoptosis and cytokine release in primary lung cells Marit Låg, FHI	Strong suppression of <i>IMPDH</i> in CD4+ cells by the immunosuppressant mycophenolic acid: a single-dose crossover exposure-response study in healthy individuals Nils Tore Vethe, Rikshospitalet
17:00 - 17:12	Role of MAP-kinases and NFκB activation in fluoride- and TPA-induced and IL-8 synthesis in human epithelial lung cells Magne Refsnes, FHI	
Kaffe		

Arktisk økotoksikologi		Akutt koronarsyndrom	
<i>Møteleder: Ketil Hylland, UiO</i>		<i>Møteleder: Benedikte Akre, BMS</i>	
BITIHORN		BEITOHALLEN	
17:30 - 18:00	Er arktiske bunndyr spesielt følsomme for olje? Gro Olsen, NIVA	17:30 - 18:10	Blodplaten, dobbeltrolle som helt og skurk Frank Brosstad, Rikshospitalet
18:00 - 18:30	Metabolitter i torsk eksponert for PAH og alkylfenoler Merete Grung, NIVA	18:10 - 19:00	Medikamentell behandling ved AKS - virkningsmekanismer og valg av medikamenter i 2008 Sigrun Halvorsen, UUS
18:30 - 19:00	Effekter av miljøgifter på hormonbalansen hos isbjørn Bjørn Munro Jenssen, NTNU		
20:00	Festmiddag		
Søndag 27. januar			
08:00-12:00	Brunsj		

Hotelloversikt

Første gang en er på Beitostølen høyfjellshotell (Radisson SAS Resort Beitostølen) kan det være vanskelig å vite hvilken retning en skal gå for å få med seg de første foredragene.

Dersom det ikke er en folkemengde å følge etter foreslås følgende:

Beitohallen: Andre etasje, ta til venstre. Beitohallen er i enden av korridoren.

Konferanseavdelingen: Andre etasje, gå rett frem gjennom glasshallen. Her finner du rommene Bitihorn og Besseggen.

INVITERTE FOREDRAG

IF 6

Risikovurdering av kosttilskudd i Den norske mor og barn undersøkelsen

BRANTSÆTER AL

Nasjonalt folkehelseinstitutt, Divisjon for Miljømedisin, Postboks 4404 Nydalen, N-0403 Oslo
Anne.Lise.Brantsaeter@fhi.no

Problemstilling:

Det finnes få studier som har undersøkt inntaket av kosttilskudd blant gravide og beregnet bidraget av næringsstoffer fra kosttilskudd i forhold til det totale inntaket. Målet med denne undersøkelsen var å kartlegge bruken av kosttilskudd blant kvinner som deltar i Den norske mor og barn-undersøkelsen og å vurdere inntaket av vitaminer, mineraler og fettsyrer fra kosttilskudd og totalt næringsinntak i forhold til Nordiske næringsstoffanbefalinger.

Metode:

Inntaket av næringsstoffer fra henholdsvis kost og kosttilskudd ble beregnet på grunnlag av kostholdsspørreskjema¹ utfyllt av 40 108 gravide kvinner i Den norske mor og barn-undersøkelsen. Kvinnene ble bedt om å rapportere navn, frekvens og mengde av ulike typer kosttilskudd de hadde brukt. Det ble utviklet en database over næringsstoffinnholdet i mer enn 1000 ulike kosttilskudd. Det beregnede inntaket av næringsstoffer fra henholdsvis kost² og kosttilskudd³ er validert ved bruk av relevante biomarkører i blod og urin.

Resultater:

Av gravide kvinner i Den norske mor og barn-undersøkelsen oppga 81 % at de brukte et eller flere kosttilskudd og 59 % at de brukte to eller flere. De mest brukte kategoriene av tilskudd var tran og fiske-olje, enten flytende eller i kapsler (59 %), folat som enkelttilskudd (36 %), multivitamin tilskudd (31 %) og jern tilskudd (22 %). Bidraget av næringsstoffer fra tilskudd varierte fra 65 % for folat og vitamin D til 1 % for kalium. Medregnet kosttilskudd nådde medianinntaket det anbefalte inntak for de fleste næringsstoffer. Svært få kvinner hadde inntak av vitamin D, retinol, folat og sink som var høyere enn øvre grense for trygt inntak. Blant kvinner som ikke tok tilskudd hadde 99 % lavere enn anbefalt inntak av vitamin D, 97 % lavere enn anbefalt inntak av folat, og 80 % lavere enn anbefalt inntak av jod. Blant kvinner som tok kosttilskudd hadde likevel 45 % lavere enn anbefalt inntak av vitamin D, 34 % lavere enn anbefalt inntak av folat og 28 % lavere enn anbefalt inntak av jod.

Konklusjoner:

Sett i forhold til Nordiske Næringsstoffanbefalinger var inntaket av næringsstoffer tilfredsstillende bortsett fra for vitamin D, folat, jod og jern. Kosttilskudd bidro betydelig til det totale inntaket av disse næringsstoffene, men ikke nok til at inntaket nådde anbefalt mengde for alle. For lave inntak av enkelte næringsstoffer ser ut til å representere en større risiko enn for høye inntak blant gravide norske kvinner.

Referanser

1. Meltzer HM, Brantsæter AL, Ydersbond TA, Alexander J. Maternal and Child Nutrition 2008; 4:14-27.
2. Brantsæter AL, Haugen M, Alexander J, Meltzer HM. Maternal and Child Nutrition 2008;4:28-43.
3. Brantsæter AL, Haugen M, Hagve TA, Aksnes L, Rasmussen SE, Julshamn K, Alexander J, Meltzer HM. Ann Nutr Metab 2007;51:146-54.

IF 12**Signifikans og sannhet**

SKOVLUND E

Farmasøytisk institutt, Pb 1068 Blindern, 0316 Osloeva.skovlund@farmasi.uio.no

Et signifikant funn er alltid spennende, men hva betyr det egentlig at noe er statistisk signifikant? En p -verdi svarer kun på følgende spørsmål: Hva er sannsynligheten for å observere en så stor effekt som den som er vist i forsøket (eller en enda større effekt) bare på grunn av tilfeldighet?

p -verdier spiller trolig en ufortjent stor rolle i medisinsk og farmasøytisk forskning. Det betyr ikke at de er verdiløse, men at man må være forsiktig med å overfortolke funn eller mangel på funn bare basert på en p -verdi. For det første er p -verdier avhengige av utvalgsstørrelse; en p -verdi vil bli mindre jo flere observasjoner vi har i en studie. For det andre kan høye p -verdier ikke nødvendigvis fortolkes som mangel på effekt. Kanskje har man for få observasjoner til å observere en forskjell som ville vært av betydning å avdekke. Det er helt nødvendig å sørge for at et forsøk har tilstrekkelig *teststyrke*, dvs. evne til å avdekke forskjell mellom grupper dersom det faktisk *er* forskjell.

Et ytterligere problem er *multiplisitet*. Vanligvis betrakter vi p -verdier under 5 % som statistisk signifikante. Men dersom vi har flere enn én effektvariabel, sammenligner flere enn to grupper, studerer subgrupper eller gjør interimanalyser, blir sannsynligheten for en eller annen gang å observere en lav p -verdi bare på grunn av tilfeldighet mye større enn 5 %. Sannsynligheten for falske positive funn øker.

En p -verdi alene sier ingenting om størrelsen av en effekt. I tillegg til å beregne en p -verdi, bør man derfor estimere effektforskjell med et tilhørende 95 % *konfidensintervall*. Da får man informasjon om hvorvidt en eventuell effekt er stor nok til å ha betydning og i tillegg et anslag for usikkerheten i dette effektestimatet.

IF 13

Signifikans og repetisjon

EGELAND T

Ullevål Universitetssykehus, Avdeling for medisinsk genetikk, 0407 Oslo

Thore.Egeland@medisin.uio.no

Problemstilling

I kliniske prøvninger randomiseres ofte forsøkspersoner til forskjellige grupper. Ofte vil det være nødvendig å følge gruppene over lang tid og registrere mange målinger per individ. Dette forsøksopplegget introduserer avhengighet i data: Registreringer fra samme individ er typisk ikke uavhengige. Dermed er en sentral antagelse for mange statistiske metoder brutt. I eksemplet over oppstår avhengighet fordi målinger repeteres i tid. Imidlertid er det viktige eksempler der tid ikke inngår. Dersom eksempelvis mange forskjellige kognitive tester utføres på hvert individ, oppstår også avhengighet: Testresultater fra samme individ er vanligvis positivt korrelert.

Metode

Heldigvis kan avhengighet i data håndteres i våre dager i de vanlige statistikkpakkene. Analysene går under forskjellige navn som kan bety nesten det samme. Blant annet brukes betegnelsene ‘mixed models’, ‘multilevels models’ og ‘random coefficients model’. Detaljer om metodene vil ikke bli presentert. I stedet vil det bli lagt på å diskutere figurer og noen hovedidéer.

Resultater

Vi vil presentere noen figurer og analyser basert på studien ‘Treatment of Lead-exposed Children (TLC)’. Dette eksemplet er også brukt i læreboken Fitzmaurice, Laird og Ware (2004).

Konklusjoner

Det er viktig å legge vekt på gode figurer. De såkalte ‘mixed’ modellene er fleksible og tilgjengelige i mange statistikkpakker og er derfor ofte velegnet når målinger er repetert i en eller annen forstand. Hvis derimot avhengigheten i data ignoreres, kan det lede til misvisende p-verdier og feilaktige konklusjoner.

Referanse

Fitzmaurice, Laird og Ware, 2004. *Applied Longitudinal Analysis*. NJ, USA, John Wiley & Sons Inc.

IF 14**Har clusterutredninger noen verdi? Eksemplet kreftsaken ved Rosenborg, NTNU**

KRISTENSEN P

Statens arbeidsmiljøinstitutt, Oslo. petter.kristensen@stami.no

Midt på 1990-tallet ble det oppdaget fire tilfelle av leukemi og lymfom blant tidligere studenter og ansatte ved Botanisk institutt, NTNU. Nok fire tilfelle kom til i de nærmeste årene, og de som var berørt mistenkte et sykdomscluster forårsaket av eksponering (benzen, radionuklider, fikseringsmidler) ved de kjemiske og biologiske laboratoriene på Rosenborg. Flere av de åtte fikk skadeerstatning i årene som fulgte. Saken ble belyst og fulgt opp av regionale media, Saken tok en helt ny vending 4. desember 2006 da VG slo opp saken som ”kreftskandalen ved NTNU”. Etter 2-3 uker ble det oppnevnt to departementale utvalg, et juridisk granskingsutvalg og et medisinsk ekspertutvalg. I løpet av få måneder ble det gjennomført en kartlegging på kjemisk/biologiske laboratorier ved utdanningsinstitusjoner i Norge. Man blåste støvet av forslag til forskning som hadde vært planlagt 8-10 år tidligere, og en utredning av kreftisiko blant studenter og ansatte ved Rosenborg som hadde blitt initiert i 2004 ble, i to omganger, rapportert i løpet av måneder. VG satte dagsorden.

Basert på lister fra NTNU ble insidensen for leukemi og lymfom registrert blant 8153 studenter og ansatte som ble fulgt opp ca. 130 000 personår i Krefregisteret. I alt 25 tilfelle ble identifisert, hvilket var nær forventningsverdien (SIR 1.1, 95% KI 0.7-1.7). Distinkte rateforskjeller ble funnet i undergrupper. Ansatte/stipendiater som hadde deltatt som studenter i et grunnkurs i organisk kjemi hadde høyest kreft-rate (4 observerte tilfelle, rate 114,3 per 100 000 personår) mens de som kun hadde vært studenter og som ikke hadde kurset i organisk kjemi hadde lavest rate (6 tilfelle, rate 7,5). Deltakere på kurset i organisk kjemi var en av to forhåndsdefinerte grupper fordi dette var det eneste kurset hvor NTNU anga at det hadde vært brukt benzen.

Utredningen viste at de observerte krefttilfellene som var utgangspunkt for Rosenborgsaken ikke var toppen av et isfjell. Det er vanskeligere å vurdere og tolke de sterke rateforskjellene mellom undergrupper. Den høye forekomsten i undergrupper kan gi støtte til de mistankene som hadde vært reist i saken, men tolkninger om eventuelle kausale sammenhenger blir usikre på grunn av metodiske problemer, blant annet mangel på eksponeringsdata, små tall og utredningens *post-hoc* karakter. På den annen side var mønsteret med høy forekomst knyttet til status som ansatt/stipendiat og deltakelse i kjemikurset ganske likt i undersøkelsene i begge de to omgangene.

De primære målgruppene er de som er direkte berørt som pasienter, pårørende, studenter, ansatte eller arbeidsgivere. Formidling til disse har av flere grunner vært vanskelig. Saken var i stor grad allmennhetens eie hvor media stemplet saken som ”kreftskandalen”. De sterke kontrastene i undergrupper ble vektlagt av media, mens en totalrisiko nær forventningsverdien fikk liten oppmerksomhet. Denne vektleggingen av det dramatiske er en vanlig erfaring i clustersaker. Rosenborgsaken har også spesielle sider, blant annet at myndighetene har fulgt saken særlig tett og også har involvert seg i utredningen. Et eksempel på dette er habilitetsspørsmål som ble brakt på bane av det juridiske granskingsutvalget, og som siden ble fulgt opp av Kunnskapsdepartementet.

Rosenborgsaken er eksempel på en clusterutredning som har bidratt til å gi svar på spørsmål av allmenn interesse, selv om den hadde begrenset verdi med hensyn til kausale vurderinger. Formidlingen av resultatene ble vanskelig gjort av en betydelig grad av støy fra media og i det offentlige rom. Myndighetene, som i dette tilfelle er arbeidsgiver, har spilt en særegen rolle som bør vurderes nærmere.

IF 17**Hva er det som styrer det kjemiske arbeidsmiljøet for gravide arbeidstakere?**

KRISTENSEN P

Statens arbeidsmiljøinstitutt, Oslo

petter.kristensen@stami.no

Informasjon og rådgiving som vedrører miljø og graviditet gis av flere instanser i Norge. Statens arbeidsmiljøinstitutt har et tilbud som omfatter arbeidsmiljø og gravide arbeidstakere. Det er flere særegne forhold som skiller settingen med den gravide som arbeidstaker fra situasjonen hvor det er spørsmål som gjelder legemiddelbruk, kosthold eller kjemisk fritidseksposering.

Den viktigste forskjellen er Arbeidsmiljøloven og de føringene som ligger i den. En arbeidsgiver har en *styringsrett* som innebærer at hun/han kan bestemme forhold som angår arbeidet og hvordan det utføres. Denne styringsretten innebærer også et spesielt *ansvar* og *forpliktelser* for arbeidsgiver. De viktigste bestemmelsene er angitt i selve Arbeidsmiljøloven og tilhørende forskrifter. De viktigste spesifiseringene gis i Internkontrollforskriften og Forskrift om forplantningsskader. Formålsparagrafen i Arbeidsmiljøloven slår fast at målet er ”å sikre et arbeidsmiljø ... som gir full trygghet mot ... skadevirkninger”. Forskrift om forplantningsskader slår fast at denne tryggheten også skal omfatte det ufødte barnet. Det er arbeidsgivers ansvar å risikovurdere arbeidsmiljøet også for gravide arbeidstakere. §10 i forskriften slår fast ” Gravide og ammende arbeidstakere må under ingen omstendighet settes til arbeid når risikovurderingen viser at arbeidet kan medføre risiko for forplantningsskade.” Videre heter det i §12: ” Arbeidsgiver skal sørge for at gravide og ammende arbeidstakere omplasseres til annet arbeid dersom påvirkninger i arbeidsmiljøet kan gi risiko for forplantningsskade på barnet”. Arbeidsgiver har et ansvar som innebærer at hun/han kan bestemme hvilke arbeidsoppgaver en gravid arbeidstaker kan gjøre eller ikke gjøre.

Disse generelle forholdene mellom arbeidsgiver og arbeidstaker er supplert med spesielle bestemmelser som angår det kjemiske arbeidsmiljøet. Det er en egen Kjemikalieforskrift som spesifiserer Arbeidsmiljølovens bestemmelser. Det er praktisk viktig at 74 kjemiske stoffer i SFTs stoffliste er klassifisert ”kan gi fosterskade” (R61) mens 39 stoffer er klassifisert ”mulig fare for fosterskade” (R63). Arbeidstilsynets veiledende administrative normer inneholder en rekke stoffer som er klassifisert som reproduksjonsskadelige.

Alt dette gir føringer i konkret informasjon og rådgiving om det kjemiske arbeidsmiljøet for gravide arbeidstakere. I det vesentlige vil man unngå at den gravide bruker og potensielt er eksponert for stoffer som er merket fosterskadelige, også når den toksikologiske dokumentasjonen er usikker. Slik dokumentasjon er gjennomgående mer usikker for industrikjemikalier enn for kjemikalier hvor det kreves testing (for eksempel legemidler, kosmetika og plantevernmidler). Risikovurdering for den gravide arbeidstakeren vil derfor fortendere til å bli mer forsiktig enn ellers.

Nyttig informasjon finnes på www.arbeidstilsynet.no og på SFTs stoffliste www.miljostatus.no/datasok/stoffliste/stoffliste.asp?topmenuindex=2&leftmenuindex=1&page=Stofflisten.

IF 19**Effects of petroleum-related compounds on benthos from arctic and temperate areas**

OLSEN GH

^a *Akvaplan-niva, Polar Environmental Center, N-9296 Tromsø, Norway*^b *Norwegian College of Fishery Science, University of Tromsø, N-9037 Tromsø, Norway*gho@akvaplan.niva.no

The petroleum industry is increasing their activities in the Arctic Barents Sea, and it is thus important to assess responses of Arctic marine organisms to oil compounds. We compare effects on benthos at community, individual, cellular and biochemical levels to petroleum compounds for benthic organisms from Arctic and temperate areas. Whole cores and individual organisms were collected from the Barents Sea, and in Oslofjord and exposed to water-based drill cuttings and oil. Respiration, bioturbation and sediment characteristics (PAH concentrations, fatty acids) were measured in whole cores while cellular energy allocation and malformations studies were applied to individual bivalves and amphipods. At the community level, we observed significantly higher respiration and a decrease in bioturbation activity in the oil and DC treatments compared to controls in the Arctic location, but not in the temperate Oslofjord. On individual and cellular level, energy consumption parameters were altered in the Arctic species *Gammarus setosus* and *Onisimus litoralis* while no effects were observed on temperate individuals. Our results indicate different responses between Arctic and temperate benthic species and communities, probably due to differences in sensitivity among species and different contaminant input histories at the two studied locations.

IF 21**Effekter av miljøgifter på hormonbalansen hos isbjørn**

JENSSEN BM

Institutt for biologi, NTNU, Høgskoleringen 5, 7491 Trondheim

bjorn.munro.jensen@bio.ntnu.no

Problemstilling

Isbjørn er den ultimate topp-predatoren i det marine Arktiske økosystemet. På grunn av biomagnifisering og fordi isbjørn i hovedsak ernærer seg på spekket til seler, akkumulerer isbjørn høye konsentrasjoner av de mest persistente organiske miljøgiftene. Fordi isbjørn har høy kapasitet til å metabolisere enkelte lipdløselige forbindelser, er også konsentrasjonen av metaboliserte former av f.eks PCBer høye. Dette gjelder spesielt OH-PCBer. Det er vist negative sammenhenger mellom innhold av PCBer i isbjørn og plasma-nivåer av thyroidhormoner og kjønnshormoner.

Metode

I en undersøkelse ledet av Danske Miljøundersøgelser, Århus Universitet, ble det samlet inn prøver av om lag 100 isbjørner som var avlivet av Grønlandske fangstmenn. Nivåer av miljøgifter ble analysert i fettprøver ved University of Windsor, Canada, og ved NTNU ble hormonnivåer i blod analysert. Vi undersøkte sammenhenger mellom en rekke klorerte og bromerte organiske forbindelser og blod-nivåer av testosteron hos hanner. Det ble også undersøkt om det var sammenhenger mellom miljøgiftnivåene og triiodothyronin i blod hos hunner av isbjørn. Ved bruk av statistiske metoder har vi forsøkt å identifisere hvilke forbindelser som påvirker variasjonen i testosteron og triiodothyronin nivåer i blod hos unge og voksne hanner av isbjørn.

Resultater

Resultatene viste at det var ulike forbindelser som påvirket testosteron-nivåene hos unge og voksne hanner. Det ble ikke funnet sammenhenger mellom miljøgiftnivåer og triiodothyronin i blod hos hunner av isbjørn.

Konklusjoner

Resultatene kan ha stor betydning for å forstå hvilke menneskeskapte persistente miljøgifter som er de mest potente med hensyn til hormonforstyrrende effekter.

Studiene er del av IPY-prosjektet BearHealth i forbindelse med det Internasjonale Polaråret 2007-2008.

FRIE FOREDRAG

FBF = Basal farmakologi
FKF = Klinisk farmakologi
FT = Toksikologi

De frie foredragene er på 12 minutter hver, hvorav 10 minutter er til foredraget og 2 minutter er til spørsmål og diskusjon. Møteledere av frie foredrag i toksikologi er Vibeke Thrane, Giftinformasjonen (fredag) og Steinar Øvrebø, STAMI (lørdag). Frie foredrag i både basal og klinisk farmakologi avholdes i samme sesjoner. De to første foredragsene i hver sesjon tilhører kategorien basal farmakologi. Møteledere av frie foredrag i farmakologi er Odd Brørs, UiO (fredag) og Jan-Bjørn Osnes, UiO (lørdag).

NSFTs pris for beste frie foredrag 2007

I fjor ble det opprettet en pris til beste foredragsholder innen respektive fagområde. En priskomiteé vil vurdere alle bidrag og finne en vinner innen hvert fag. Hver vinner får tildelt en vandreplakett under festmiddagen lørdag 26. januar. Priskomiteéen består av Odd Georg Nilsen, NTNU (basal farmakologi), Anders Åsberg, UiO (klinisk farmakologi) og Inger-Lise Steffensen, FHI (toksikologi).

Frie foredrag – toksikologi

FT 1

Risk assessment of polyfluorinated organic compounds with emphasis on reproductive toxicity

MAASS C, ANDREASSEN Å K, LINDEMAN B, OLSEN A-K, BRUNBORG G, SØDERLUND E

Norwegian Institute of Public Health, Department of Environmental Medicine, P.O.Box 4404 Nydalen, 0403 Oslo, Norway

Christine.Maass@fhi.no

Objectives

In recent years, polyfluorinated compounds (PFCs) have been found worldwide in nature, wildlife and humans. Because of their strong carbon-fluorine bond, PFCs are very stable, practically non-biodegradable and persistent in the environment. PFCs are used in paints, coatings, textiles, packaging materials, adhesives, waxes, polishes and electronics. Emission of PFCs from these products occurs both during processing and use. In this study we are looking into the DNA modifications in testicular cell DNA of three PFCs, namely 8-2-fluorotelomer alcohol (8-2 FTOH), 6-2 fluorotelomer (6-2 FTOH) and perfluorooctanoic acid (PFOA). 8-2 FTOH and 6-2 FTOH are both metabolised into PFOA, which is a non-genotoxic carcinogen in rats. We are investigating the effects of the three PFCs using three cell types: primary testicular cells from young rats, adult rat testicular cells, and a rat spermatogonial cell line (GC-6). We will be looking at acute toxicity, DNA damage, and inhibition of two members of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily, after *in vitro* exposure of the cells.

Methods

Cells are exposed in suspension to either 6-2 FTOH, 8-2 FTOH or PFOA at several doses (0, 10, 30, 100, 200 and 300 µM) for one hour at 32 °C (5% CO₂ atmosphere). Acute toxicity is evaluated after staining with Trypan Blue. Induction of DNA damage is analysed by means of the alkaline single cell gel electrophoresis assay (Comet assay).

Results

Our findings indicate that neither 6-2 FTOH nor 8-2 FTOH is acutely toxic to testicular cells at the chosen doses. This is in compliance with *in vitro* studies in hepatocytes, where doses up to 200 µM produced no toxicity (Martin, Mabury et al. 2005). Both 6-2 FTOH and 8-2 FTOH are expected to be non-genotoxic, and preliminary data suggest no DNA-damaging effects of 6-2 FTOH and 8-2 FTOH at the chosen doses.

The most studied metabolite of telomere alcohols, PFOA, has been shown to increase the level of oxidative DNA damage in liver but not in kidney (Takagi, Sai et al. 1991). Whether PFOA increases oxidative DNA damage in testicular cells will be studied in a later phase of the project.

Conclusion

Our preliminary data suggest no toxicity and no DNA damage caused by 6-2 FTOH and 8-2 FTOH at the chosen doses, in testicular cells from young and adult rats.

References

Martin, J. W., S. A. Mabury, et al. (2005). Chemico-Biological Interactions **155**: 165-180.
Takagi, A., K. Sai, et al. (1991). Cancer Letters **57**: 55-60.

FT 2**Has increased availability of paracetamol had any effects on inquiries received by the National Poisons Information Centre in Norway?**

ZIESLER TA, LORENTZEN HR, KNAPSTAD SE, MUAN B

Poisons Information, Directorate for Health and Social Affairs, Box 7000 St. Olavs Plass, 0130 Oslo, Norway

hrl@shdir.no

Objective: Paracetamol poisonings are considered the major acute poisoning problem among pharmaceuticals in Norway (1). In November 2003 a change in legislation allowed certain medicines, including paracetamol, to be sold outside pharmacies in Norway. The aim of this study was to ascertain whether there has been an increase in the number and severity of paracetamol poisonings presented to the National Poisons Information Centre (PIC) after 2003.

Methods: The PIC database was retrospectively searched for the years 2000 to 2007. Inquiries received by PIC regarding acute and chronic exposures in general, and acute and chronic exposures to paracetamol in particular, were recorded. The number of paracetamol inquiries in which the exposures were considered potentially severe by PIC were also extracted from this material.

Results: The mean increase in inquiries to PIC regarding acute and chronic exposures from 2000 to 2007 was 5,1 % (SD=2,1%) per year. For paracetamol this increase was respectively 5,5% (2001), 13,2% (2002), 7,5% (2003), 30,1% (2004), 7,7% (2005), 13,2% (2006) and 20,9% (2007). Over the three-year period (2001-2003) prior to the change in legislation the total increase in inquiries regarding acute and chronic exposures to paracetamol was 28,3%. Over the next three years (2004-2006) this increase was 61,6%. 4 years after change in legislation the number of inquiries has nearly doubled. In the period from 2000 to 2003, exposures to paracetamol were considered to be potentially severe in 30% of the inquiries. This number is consistent with the years 1996 to 2001 (1). From 2004 to 2006, 37% of the inquiries regarding paracetamol exposures were considered to be potentially severe. The number of potentially severe paracetamol exposures presented to PIC has nearly doubled from 2003 to 2006. This trend continued in 2007, where 40% of the inquiries were considered to be potentially severe.

Conclusion: In November 2003, paracetamol was made available in non-pharmacy outlets in Norway. In 2004 there was a considerable increase in inquiries to PIC regarding acute and chronic paracetamol exposures, and the number continues to increase. The number of inquiries regarding severe exposures to paracetamol is also increasing. PIC data should always be interpreted cautiously. It is too soon to draw definite conclusions, but these results indicate that easily accessible paracetamol may lead to an increase in the number and severity of paracetamol poisonings.

References: 1. Andrew E, Bøe GH, Haga C et al, 2004, Tidsskr Nor Lægeforen 124, 1624-1628.

FT 3**Dietary levels of vitamin A and D may influence the development of cancer**

HETLAND RB, PAULSEN JE, BERG JP, SVENDSEN C, ALEXANDER J

Folkehelseinstituttet, Postboks 4404 Nydalen, 0403 Osloragna.hetland@fhi.no

Colon cancer is one of the most frequent forms of cancer in the western world. High vitamin D status in the blood seems to protect against several types of cancer including colon cancer. However, a western style diet combined with little exposure of the skin to sunlight may result in a lower vitamin D status than recommended. Vitamin A at moderate levels has also been shown to protect against several types of cancer, but at higher levels negative health effects have been demonstrated. Antagonistic effects between vitamin A and D have been demonstrated in bone formation, but it has not been studied in cancer development. We wanted to see if diets with reduced vitamin D, increased vitamin A or the combination of both would enhance the development of intestinal tumours in *Apc*^{Min/+} mice, a model for the inherited form of colon cancer, familial adenomatous polyposis (FAP). Groups of females were given diets with different levels of vitamin A and D from four weeks before mating. The offspring were continued on the same diet, sacrificed at the age of 12 weeks, and examined for intestinal tumours. Blood levels of 25(OH)vitamin D₃ measured in all animals showed mean values of 105 and 23 nM in mice given standard and reduced vitamin D, respectively. A significant increase in intestinal tumour load was found among offspring given the diet with increased vitamin A and among offspring given the diet with the combination of increased vitamin A and reduced vitamin D.

FT 4**Dietary exposure to polybrominated diphenyl ethers in a selected group of Norwegians with a wide range of seafood consumption**

KNUTSEN HK, KVALEM HE, THOMSEN C, FRØSHAUG M, HAUGEN M, BECHER G, ALEXANDER J, MELTZER HM

Nasjonalt folkehelseinstitutt , PB 4404 Nydalen, 0304 Oslo

helle.knutsen@fhi.no

Brominated flame retardants (BFRs), such as polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclododecane (HBCD), are lipophilic and have the potential to bioaccumulate. Human exposure routes to BFRs have not been fully established. This study investigates dietary exposure and serum levels of PBDEs and HBCD in a group of Norwegians (n = 184). The group had a wide range of seafood consumption (4 to 455 g/day), assessed by a quantitative food frequency questionnaire. Mean dietary exposure to sum 5 PBDEs (1.4 ng/kg body weight/day) was among the highest reported. Since concentrations in foods were similar to what is found elsewhere in Europe, this may be explained by high seafood consumption among Norwegians. Oily fish was the main dietary contributor both to sum PBDEs and to the considerably lower HBCD intake (0.3 ng/kg body weight/day). Milk products appeared to contribute most to the BDE-209 intake (1.4 ng/kg body weight/day). BDE-209 and HBCD exposures are based on few food samples and need to be confirmed. Serum levels (mean sum 7 PBDE = 5.2 ng/g lipid) and congener patterns (BDE-47>BDE-153>BDE-99) were comparable with other European reports. Correlations between individual congeners were higher for the calculated dietary exposure than for serum levels. Further, significant but weak correlations were found between dietary exposure and serum levels for sum PBDEs, BDE-47 and BDE-28 in males. This indicates that other sources in addition to diet need to be addressed.

FT 5**Biotilgjengelighet av akrylamid fra knekkebrød**

BJELLAAS T, ØLSTØRN HBA, BECHER G, ALEXANDER J, KNUTSEN SH, PAULSEN JE

Avdeling for mattrygghet og ernæring, Folkehelseinstituttet, P.O. Box 4404 Nydalen, NO-0403 Oslo

jan.erik.paulsen@fhi.no

Problemstilling: Det er en kjent sak at karbohydratrike matvarer basert korn og poteter som har vært utsatt for oppvarming kan få et høyt innhold av akrylamid. I forbindelse med dette er flatbrød og liknende produkter en signifikant bidragsyter til inntak av akrylamid i Norden. Vi ønsket å undersøke i hvilken grad urinmetabolitter fra akrylamid kan måles og benyttes som biomarkører for inntak og intern eksponering for akrylamid i mus. I tillegg ønsket vi å undersøke om gjenvunnet akrylamid som urinmetabolitt kunne gi informasjon om biotilgjengeligheten av akrylamid.

Metoder: Modellsystemet som ble benyttet var knekkebrød med ulikt innhold av akrylamid samt direkte injeksjon av akrylamid (subkutan). Knekkebrødene ble bakt under eksperimentelle betingelser som gav tre ulike nivåer av akrylamid i relevante nivåer man normalt finner i slike produkter. Akrylamidkonsentrasjonene var henholdsvis 190, 1020 og 2650 mikrogram/kg. Musene ble foret kun på knekkebrød samt vann og fikk da inn akrylamiddoser som tilsvarte en eksponering for akrylamid på 0.024, 0.14 og 0.29 mg/kg kroppsvekt pr dag.

Resultater: En lineær sammenheng ble funnet mellom eksponering for akrylamid og metabolitter. I gjennomsnitt ble 55% av inntatt dose fra knekkebrød gjenfunnet som akrylamidmetabolitter i urin. Tilsvarende gjenfinning etter subkutan injeksjon var 54%, noe som kan indikere at biotilgjengeligheten av akrylamid fra knekkebrød kunne være tilnærmet fullstendig. Forholdet mellom ulike metabolitter var likt uavhengig av eksponeringsdose. Differanse mellom gjenfunnet akrylamid i urin detektert med radioaktive målinger (92%) og gjenfinning målt som urin metabolitter med dagens metodikk (55%), ble forklart med ikke detekterte metabolitter, mest sannsynlig glyceramid.

Konklusjon: Urinmetabolitter er en god biomarkør for nylig eksponering av akrylamid. Biotilgjengeligheten av akrylamid fra knekkebrød er stor.

FT 6**Vitellogenin profiling in liver, plasma and mucus of carp (*Cyprinus carpio*) exposed to endocrine disrupting chemicals: New FACETS of an old biomarker GEM**

GOKSØYR A^{1,2}, TOLFSEN C^{1,6}, SØFTELAND T¹, SUNDBÄCK L¹, EIDEM JK², VIGANÓ L³, MASSARI A⁴, MANDICH A⁴ & GRØSSVIK BE^{1,5}

¹Department of Molecular Biology, University of Bergen, Norway; ²Biosense Laboratories AS, Norway; ³Water Research Institute-CNR, Milan, Italy; ⁴Department of Biology, University of Genova, Italy; ⁵Institute of Marine Research, Bergen, Norway; ⁶Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway

anders.goksoyr@mbi.uib.no

Vitellogenin (Vtg) is a well established plasma biomarker for estrogenic endocrine disrupting compounds in fish. In the EU-project EASYRING, carp were exposed to estrogens (17 α -ethynyl-estradiol, EE2), anti-estrogens (tamoxifen), androgens (17 α -methyl-dihydrotestosterone), and anti-androgens (flutamide), as well as to caging in polluted stretches of the River Po, Northern Italy. Monoclonal antibodies to carp Vtg were used for detection of Vtg in 1D- and 2D-western blotting, and in a quantitative sandwich ELISA and a qualitative lateral flow immunoassay (LFIA), for measuring Vtg levels in plasma and mucus. Proteomic-based analysis using 2D-gel electrophoresis and mass spectrometry (MALDI-TOF, LC-MS/MS) identified Vtg as a prominent protein in liver, plasma, and mucus after EE2 exposure. At 64 ng EE2/l induction of multiple Vtg forms was observed in all tissues analyzed. In plasma a total of 30 EE2 inducible Vtg spots was identified, accompanied by alterations in the levels of other proteins identified as novel biomarker candidates. The induction of numerous Vtg forms was confirmed by 1-D and 2-D western blot analysis. Quantitative Vtg ELISA showed a dose-dependent increase in plasma and mucus-Vtg, significantly different from control after 4 ng EE2/l in mucus, and 16 ng EE2/l in plasma. Regression analysis of plasma vs. mucus Vtg levels gave strong positive correlations for all groups, except for the fish from tamoxifen and field exposure. Analysis of river sediments using YES revealed a mixture of estrogens and anti-androgens, suggesting that plasma vs. mucus Vtg profiles may be influenced by the nature of endocrine disrupting chemicals present in the environment.

Supported by the EU FP5 programme, grant QLK4-2002-02286 'EASYRING'.

FT 7**A proteomics strategy for protein expression profiling and biomarker discovery in wildlife: studies with frog (*X. laevis*) and atlantic cod (*G. morhua*)**GOKSØYR A^{1,2}, TOLFSEN CC^{1,3}, KJERSEM AB¹, MIDTUN T¹, & GRØSVIK BE^{1,4}¹Department of Molecular Biology, University of Bergen, Bergen, Norway; ²Biosense Laboratories AS, Bergen, Norway ³Department of Biology, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway; ⁴Institute of Marine Research, Bergen, Norway
anders.goksoyr@mbi.uib.no

Environmental contaminants may affect endocrine functions in many wildlife species and negatively impact reproduction and development by mimicking the action of natural hormones. To be able to assess the effects of chemical induced endocrine disruption and its impact on wildlife species there is a need to develop suitable monitoring tools. We have used a proteomics strategy based on two-dimensional gel electrophoresis (2-DE) and mass spectrometry (MS) to identify novel biomarkers for endocrine disrupting compounds (EDC) in frog and various fish species. In controlled aquaria exposures African clawed frog (*Xenopus laevis*) was treated with selected model compounds: 17 α -ethynylestradiol (EE2), tamoxifen (TAM), 17 α -methylidihydrotestosterone (MDHT), flutamide (FLU), and with water from Lambro, a polluted tributary to the River Po (Italy). Plasma and liver samples were analyzed by two-dimensional electrophoresis (2-DE) and image analysis software, and differentially regulated proteins were identified by mass spectrometry based methods (MALDI-TOF and LC-MS/MS) and subsequent Mascot searches in the NCBIInr database. The most marked effect of EDC exposure in frog was seen in the protein pattern of plasma from EE2 treated animals. In liver, altered protein expression was observed in response to all test compounds used. In a partial mapping of the *Xenopus laevis* plasma proteome, a total of 179 proteins were analyzed by MS. Of these, 123 were successfully identified, 55 by MALDI-TOF and 68 by LC-MS/MS. In the *X. laevis* liver proteome, MALDI-TOF MS and subsequent Mascot searches in the NCBIInr database successfully identified 193 out of 241 analyzed protein spots yielding a success rate for identification of 80 %. Collectively EE2, TAM, MDHT, FLU and LAM affected 86 % of the 501 protein spots detected in the *X. laevis* liver proteome. Used either singly or in combination, these proteins may be interesting as putative biomarker candidates for EDC with (anti)estrogenic and (anti)androgenic activity. Similar studies with Atlantic cod (*Gadus morhua*) exposed to produced water effluents have yielded similar results, pointing at interesting biomarker candidates, although identification success rate has been much less (generally around 50%). In application of proteomics to ecotoxicology the lack of sequence information on non-model organisms pose a challenge to protein identification. E.g. for blue mussel (*Mytilus edulis*) and cod (*Gadus morhua*) there are at present no more than 874 and 1585 protein sequences in the NCBIInr database. Specific antibodies are currently being tested to validate responses. In this context both standard quantitative ELISA assays as well as novel protein array technology should be explored as formats for high-throughput standardized screening.

The studies being reported was supported by EC grant QLK4-2002-02286 'EASYRING' (FP5), Total E&P, and the Norwegian Research Council.

FT8**Metabolitter i torsk eksponert for PAH og alkylfenoler**

GRUNG M, HOLTH TF, RINDAL JACOBSEN M* & HYLLAND K

NIVA, Gaustadalléen 21, 0349 Oslo, *Universitetet i Oslo

mgr@niva.no

Bakgrunn

PAH-metabolitter i galle fra fisk har blitt brukt som en biomarker for eksponering for PAH siden begynnelsen av 80-tallet. Studier både i felt og i laboratoriet har vist at det er samsvar mellom eksponering for PAH og nivå av PAH-metabolitter i galle. I forbindelse med olje- og gass-produksjon i Nordsjøen, slippes det ut store mengder produsertvann som blant annet inneholder PAH og alkylfenoler. I denne undersøkelsen ser vi nærmere på torsk som er eksponert for en syntetisk blanding av PAH og alkylfenoler. Torsk ble eksponert for stoffene både oralt og ved eksponering i vannet.

Material og metode

Atlantehavstorsk ble eksponert for en blanding av PAH og alkylfenoler både gjennom eksponering i vann og ved oral eksponering. Eksponering via vannet besto av en syntetisk blanding av alle stoffene som ble gitt i en lav, en høy, og en pulset høy eksponering i tillegg til kontroll. Ved oral eksponering fikk de ulike gruppene enten en høy eller lav konsentrasjon av alle komponentene, en høy konsentrasjon av kun PAH, eller en høy konsentrasjon av alkylerte PAH, eller en høy konsentrasjon av alkylfenoler. Den syntetiske blandingen av PAH og alkylfenoler ble sammensatt slik at forholdet mellom de individuelle stoffene var mest mulig likt det en finner i produsertvann fra Nordsjøen. Galle fra de eksponerte fiskene ble analysert for PAH-metabolitter og alkylfenol-metabolitter ved bruk av HPLC, GC/MS og GC/MS-ToF med henblikk på identifikasjon, karakterisering og kvantifisering av de enkelte metabolittene.

Resultat og diskusjon

Analysert via GC/MS og GC/MS-ToF av galle fra torsk eksponert via vannet viste at de fleste PAH-er ga opphav til målbare mengder av metabolitter som ble identifisert og kjemisk karakterisert. Gallematerialet for vann-eksponering ble kvantitativt målt både ved bruk av HPLC og ved bruk av GC/MS-ToF, mens materialet fra oral eksponering ble analysert ved bruk av GC/MS-ToF. Resultater fra forsøkene viser at PAH tas opp og metaboliseres effektivt av torsk, samt at det er mulig å gi en karakterisering av metabolitter.

FT9**PAHer og fisk: Metabolisme og toksisitet**HYLLAND K^{a,b}, HOLTH TF^{a,b}, GRUNG M^b^a *Biologisk Institutt, Universitetet i Oslo, Oslo*, ^b *Norsk Institutt for Vannforskning (NIVA), Oslo*
ketilhy@bio.uio.no

Polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH) er trolig den mest studerte gruppen av organiske miljøgifter innen akvatisk økotoksikologi. De fleste studiene har fokusert på tyngre PAH, og særlig de karsinogene slik som benzo(a)pyren. Tyngre PAH har lav vannløselighet og de høyeste konsentrasjonene i akvatiske miljø vil være i sediment, mens størstedelen av PAH i vannfasen vil være 2- og 3-ring forbindelser. Selv om det er artsforskjeller er det et omfattende datagrunnlag som støtter en kobling mellom petrogene PAH i sediment og induksjon av fase-I enzymer, dannelse av DNA addukter og økt prevalens av leverkreft hos fisk (se f. eks. 1). Det er mindre kunnskap om hvordan 2- og 3-ring PAHer påvirker fisk og det er faktisk eksperimentelle data som tyder på at de vil hemme fase-I aktivitet (2). Målet med denne presentasjonen er å gi en oversikt over kunnskapsstatus for metabolisme og toksisitet hos fisk for ulike PAH.

- 1 Myers, M.S., Johnson, L.L., Hom, T., Collier, T.K., Stein, J.E., Varanasi, U. 1998. Toxicopathic hepatic lesions in subadult English sole (*Pleuronectes vetulus*) from Puget Sound, Washington, USA: Relationships with other biomarkers of contaminant exposure. *Mar. Environ. Res.*, **45**, 47-67.
- 2 Willett K.L., Wassenberg D., Lienesch L, Reichert W., Di Giulio R.T. 2001. *In vivo* and *in vitro* inhibition of CYP1A-dependent activity in *Fundulus heteroclitus* by the polynuclear aromatic hydrocarbon fluoranthene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **177**, 264-271.

FT10**Signaling pathways involved in cadmium-induced apoptosis and cytokine release in primary lung cells**

LÅG M, REFSNES M, LILLEAAS E, SKULAND T, SCHWARZE PE AND HOLME JA
*Division of Environmental Medicine, Norwegian Institute of Public Health, P.O.Box 4404
Nydalén, N-0403 Oslo, Norway*
marit.lag@fhi.no

The lung is a target organ for cadmium toxicity. Inhalation of cadmium has been reported to result in lung tumors, pulmonary fibrosis and emphysema in human as well as in experimental animals. Inflammation, apoptosis, necrosis and subsequent proliferation of epithelial lung cells are suggested to be important part of these processes. Cadmium acetate (Cd) induced apoptosis in primary epithelial lung cells, alveolar type 2 cells and Clara cells isolated from rat. The apoptosis seemed to be partly caspase-independent in the two cell types. The release of the cytokine interleukin (IL)-6 was increased with low concentrations of Cd in type 2 cells, but diminished by increasing concentrations of Cd in Clara cells. Cd induced phosphorylation of the MAPKs ERK, p38 and JNK. The p38 inhibitor SB202190 reduced the Cd-induced apoptosis, in contrast to the ERK- (PD98059) and JNK- (JNKI1 and SP600125) inhibitors. All three types of MAPK-inhibitors decreased the IL-6 release from type 2 cells. The PKC inhibitors, GF109203X and rottlerin, partially reduced the Cd-induced apoptosis in both cell types and the Cd-induced IL-6 release was reduced efficiently. Exposure to GF109203X diminished the phosphorylation of p38 in Clara cells, but not in type 2 cells. In conclusion, the apoptotic process induced by Cd seems to be similar in type 2 cells and Clara cells, whereas the cytokine releases appeared to be quite different. The MAPK, p38 was found to have a role in the Cd-induced apoptosis in Clara cells and type 2 cells. Furthermore, all the MAPKs (p38, ERK, JNK) seemed to be involved in the Cd-induced IL-6 release in type 2 cells.

FT11**Role of MAP-kinases and NFkB activation in fluoride- and TPA-induced and IL-8 synthesis in human epithelial lung cells**

REFSNES M, SKULAND T, ØVREVIK J, HOLME J, SCHWARZE P, LÅG M

Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norway

magne.refsnnes@fhi.no

Background:

We have previously shown that exposure of volunteers to hydrogen fluoride (HF) induced inflammatory responses, as analysed in bronchoalveolar and nasal lavage fluid. Furthermore, sodium fluoride (NaF)-induced synthesis of the cytokine interleukin 8 (IL-8) in the human epithelial lung cell line (A549), and involves a combined activation of the MAP kinases ERK1/2, p38 and JNK1/2. We have also shown that the phorbol ester TPA induces a strong IL-8 response. Activation of the NFkB-system is also known to contribute to cytokine formation.

Aim:

The aim in the present study was to examine the relative contribution of NFkB- and MAP-kinase activation in fluoride- and TPA-induced IL-8 release, the role of acute versus sustained signals and whether MAP-kinases act up-stream to the NFkB response.

Methods:

A549 cells were cultured in Ham's medium with 10% serum. Before exposure to 3.75 mM fluoride or 100 nM TPA the cells were in some experiments pre-treated with inhibitors of the MAP-kinase and NFkB-system for 30 min. IL-8 was determined by ELISA. Activation of and MAP-kinases were analysed by Western blotting technique. NFkB activation was indirectly determined by degradation of IκB-α, phosphorylation and translocation of p65 as assessed by Western blotting.

Results:

Fluoride induced a sustained phosphorylation of MAP-kinases ERK, JNK and p38, whereas TPA induced a strong and sustained phosphorylation of ERK, and a transient phosphorylation of JNK and p38. Fluoride induced a sustained phosphorylation of IκBα-degradation, p65 phosphorylation and translocation, whereas TPA-induced even stronger, but more transient effects. Inhibitors of the ERK, p38 and JNK partly inhibited fluoride-induced IL-8 response, whereas inhibition of ERK reduced the TPA-induced IL-8 response. A proteasomal inhibitor of the NFkB-system abolished the IκBα-degradation, p65 phosphorylation and translocation, and also the IL-8 response induced by both fluoride and TPA. Inhibition of the MAP-kinases did not affect the activation of the NFkB-system.

Conclusions:

Our findings suggest that fluoride-induced IL-8 release occurs via mechanisms that involve MAP-kinases (ERK, p38, JNK) and NFkB-activation, whereas TPA mediate its effects on IL-8 via ERK- and NFkB-activation. The magnitude of the IL-8 response (TPA>fluoride) may partially be ascribed to the magnitude the ERK-and NFkB-activation. Furthermore, the data suggest that the fluoride- and TPA-induced NFkB-activation is mediated via MAP-kinase-independent pathways.

Frie foredrag – basal farmakologi**FBF 1****Antagonist-mediated down-regulation of 5-HT₇ receptors by the atypical antipsychotics clozapine and olanzapine: Evidence for functional selectivity**

ANDRESSEN KW, BREVIK CH, VANHOENACKER P, LEVY FO AND KROBERT KA
Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo, Postboks 1057, Blindern, 0316 Oslo
kjetilwa@medisin.uio.no

Classically, ligands of G protein-coupled receptors have been classified primarily upon their affinity and efficacy to activate a signal transduction pathway. More recent reports indicate that the efficacy of a particular ligand can vary depending on the receptor mediated response measured (*e.g.* activating G protein(s), other down-stream responses, inducing internalization). Previously, we have reported that inverse agonists induce both homo- and heterologous desensitization, similar to agonist stimulation, at the G_s-coupled 5-HT₇ receptor. The primary objective of this study was to determine whether different antagonists/inverse agonists at the 5-HT₇ receptor also induced receptor internalization and/or degradation of 5-HT₇ receptors. The agonist 5-HT and three out of four inverse agonists tested induced internalization, but only the atypical antipsychotics clozapine and olanzapine (inverse agonists) induced degradation of 5-HT₇ receptors (~60% reduction within 24 h). Incubation with only clozapine or olanzapine targeted 5-HT₇ receptors to lysosomes and inhibiting lysosomal degradation with chloroquine blocked the down regulation of 5-HT₇ receptor density. Incubation with SB269970 decreased both 5-HT_{7(b)} internalization and receptor density but increased 5-HT_{7(d)} receptor density, indicating differential regulation among the 5-HT₇ splice variants. Taken together, the results show that various ligands differentially activate regulatory processes governing receptor internalization and degradation in addition to signal transduction. Thus, these data provide support for functional selectivity at the 5-HT₇ receptor.

FBF 2**Evidence for an unidentified kinase activity phosphorylating myosin light chain-2 in quiescent cardiomyocytes**

EIKEMO H, NGUYEN CHT, LEVY FO, SKOMEDAL T, OSNES J-B

Dept of Pharmacology and Center for Heart Failure Research, University of Oslo, Norway

hilde.eikemo@medisin.uio.no

Myosin light chain-2 (MLC-2, regulatory myosin light chain) is a 20 kDa protein located in the hinge region of the heavy myosin molecule. In cardiac tissue, increased MLC-2 phosphorylation leads to modulation of muscle contraction through increased sensitivity to Ca^{2+} . The degree of cardiac MLC-2 phosphorylation has so far been believed to be dictated by the opposing effects of myosin light chain kinase (MLCK) and myosin light chain phosphatase (MLCP). The aim of this study was to estimate the in situ basal kinase activity with respect to MLC-2 phosphorylation. Working on quiescent adult cardiomyocytes, we developed a sensitive assay for measuring MLC-2 kinase activity by preincubating (45 min) the cells with various kinase inhibitors before maximally inhibiting MLCP (calyculin A, 10^{-7} M, 0-80 min). We were able to unmask a kinase activity completely inhibited by staurosporine (10 μM), but insensitive to inhibition of MLCK (ML-7, 10 μM and ML-9, 60 μM) and Rho kinase (Y27632, 50 μM). However, the activity was reduced by 32% upon calmodulin antagonism (W7, 50 μM). Reducing intracellular Ca^{2+} by chelating this ion extracellularly (EGTA, 2 mM) reduced basal phosphorylation by 33%. We conclude that other kinase(s) exist, distinct from MLCK, which phosphorylate MLC-2 at ser¹⁵ in quiescent cardiomyocytes.

FBF 3**Phosphodiesterases regulating the negative inotropic response of C-type natriuretic peptide in heart failure**

MOLTZAU LR^{1,2}, ARONSEN M³, SJAASTAD I³, AFZAL F^{1,2}, SKOMEDAL T^{1,2}, OSNES J-B^{1,2}, LEVY FO^{1,2}, QVIGSTAD E^{1,2}

¹Department of Pharmacology, University of Oslo, PO Box 1057 Blindern, 0316 Oslo, Norway,

²Center for Heart Failure Research, University of Oslo, Oslo, Norway, ³Institute for

Experimental Medical Research, University of Oslo, Oslo, Norway

l.r.moltzau@medisin.uio.no

Problem

The circulating levels of natriuretic peptides, including C-type natriuretic peptide (CNP) and brain natriuretic peptide (BNP), are increased in heart failure. CNP and BNP activate NPR-B and NPR-A receptors, respectively. The role of CNP in heart failure is not fully understood. Earlier studies have shown that CNP elicits a negative inotropic response by activating the cGMP - protein kinase G (PKG) pathway. The phosphodiesterases (PDEs) potentially degrading cGMP in the heart are PDE1, 2, 3 and 5. The role of PDEs in the regulation of the negative inotropic response to CNP has not been investigated. In this study we address the role of PDE2 and PDE3 in the regulation of the negative inotropic response to CNP. We also investigated the negative inotropic response to BNP.

Methods

Muscle contraction and total cGMP levels were measured in left ventricular muscle strips from Wistar rats with congestive heart failure (CHF) 6 weeks after myocardial infarction.

Results

In a concentration-dependent manner, CNP increased cGMP levels and caused a negative inotropic response, which was reduced by the PKG blocker Rp-8-Br-PET-cGMP (1 μ M), demonstrating involvement of PKG. BNP also increased cGMP levels concentration-dependently, but elicited no negative inotropic response. The presence of the PDE2 inhibitor EHNA (10 μ M) or the PDE3 inhibitor cilostamide (1 μ M) did not enhance the cGMP increase to CNP beyond an additive effect, whereas the negative inotropic effect of CNP was increased by inhibition of PDE3, but not PDE2. Combined PDE2 and PDE3 inhibition indicates an amplified cGMP increase by CNP with no further increase in negative inotropic response compared to the effect of CNP in the presence of PDE3 inhibitor alone.

Conclusions

Despite comparable effects on cGMP levels, CNP and BNP stimulation do not cause the same negative inotropic response in CHF muscle strips, indicating compartmentation of the signal. This is supported by a mismatch between the effects of PDE inhibition on cGMP levels and negative inotropic response after CNP stimulation. We conclude that there is a strong compartmentation of the cGMP activating the PKG pathway and causing negative inotropic response in failing hearts.

FBF 4**The regulatory role of phosphodiesterase subtypes is differentially altered in failing myocardium**

QVIGSTAD E, AFZAL F, ARONSEN M, SJAASTAD I, SKOMEDAL T, LEVY FO, OSNES J-B

Department of Pharmacology, University of Oslo, PO Box 1057 Blindern, 0316 Oslo
eirik.qvigstad@medisin.uio.no

Beta-adrenoceptors(β -ARs) mediate their effect through a pathway involving G_s /AC/cAMP/PKA in the heart. Phosphodiesterases(PDEs) play a key regulatory role in modulating the cAMP levels and the signals that are mediated through cAMP. Several reports have shown the importance of PDE isoforms in the pathophysiology of congestive heart failure(CHF). PDEs represent a “barrier” for the cAMP diffusion, giving rise to specific compartments for PKA-mediated effects and a mechanism for differential modulation. PDE3 and PDE4 constitute about 90% of the PDE activity in the heart, with the activity of PDE4 being twice that of PDE3. PDE4 is thus regarded as the key PDE involved in regulation of β -AR mediated responses.

We wanted to investigate the involvement of PDEs in the regulation of β_1 - and β_2 -AR mediated positive inotropic responses(PIRs) in control and post-infarction failing rat hearts.

In control hearts PDE3 inhibition with cilostamide($1\mu\text{M}$) or PDE4 inhibition with rolipram($10\mu\text{M}$) sensitized β_1 -AR mediated PIRs to the same extent suggesting that both PDE families represent an equally important barrier for the cAMP signal eliciting the contractile response. Concomitant PDE3/PDE4 inhibition sensitized the β_1 -AR mediated PIR beyond that of an additive effect of the inhibitors supporting the notion of a double PDE “barrier”.

In failing hearts rolipram did not sensitize β_1 -AR mediated PIRs whereas the sensitizing effect of cilostamide was essentially unaltered compared to control. The apparent lack of effect of PDE4 inhibition in regulation of PIRs in CHF was accompanied by a corresponding reduction of total PDE4 activity in failing hearts compared to control. An involvement of PDE4 in the regulation of β_1 -AR mediated PIRs was demasked by concomitant PDE3 inhibition. A similar pattern was observed for β_2 -AR mediated PIRs in failing hearts.

We conclude that PDE4 activity regulating the β_1 - and β_2 -AR-mediated PIRs is reduced and that contractility is primarily regulated by PDE3 in the failing heart.

Frie foredrag – klinisk farmakologi**FKF 1****Forskjeller i kardiovaskulære effekter av glitazoner**

GJERTSEN MK, DAHL FA, STÜRMER T, AURSNES I

Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo pb 1057 Blindern, 0316 Oslo

Marianne.Klemp.Gjertsen@kunnskapssenteret.no

Problemstilling: Siden 2001 har vi på det norske markedet hatt to tiazolidindioner: rosiglitazon (Avandia, GSK) and pioglitazon (Actos, Takeda) med indikasjonen diabetes 2. Siden 2004 er det gitt refusjon på kontraktbasis. Begge er peroksisom-prolifererende aktivator-reseptoragonister, reduserer insulinresistens og nedsetter blodsukkeret. Pioglitazon har imidlertid de mest gunstige lipideffektene og svarende hertil er det funnet tendens til nedsatt kardiovaskulær sykkelighet i placebokontrollerte undersøkelser mens rosiglitazon er blitt knyttet til en mulig motsatt rettet effekt. Vi ønsket å se om denne mulige forskjellen kunne gjenfinnes ved å observere et norsk pasientmateriale innsamlet gjennom Reseptregisteret.

Metode: Vi samlet data vedrørende 4766 personer som fikk for første gang utlevert et glitazon fra apotek mellom 1. juli 2004 og 31. desember 2005. Til sammen 20 kovariabler knyttet til pasienten, første foreskrivende lege og tilleggsmedisasjon, ble benyttet til å matche 588 brukere av pioglitazon til det dobbelte antall rosiglitazon-brukere ved å beregne sannsynligheter for å bli gitt det ene middelet frem for det andre (propensity score). De to gruppene ble fulgt ved hjelp overlevelsesanalyse med endepunktene: førstegangs bruk av henholdsvis warfarin, blodplateaggregasjonshekkere, beta-blokkere, renin-angiotensinhekkere, lipidmodifiserende legemidler og slyngediuretika.

I en parallell analyse registrerte vi bruken av kardiovaskulære legemidler før og etter et førstegangs hjerteinfarkt hos 221 pasienter innlagt i 2005-2006 ved Lovisenberg sykehus, Oslo.

Resultater: De to gruppene med glitazonpasienter var i utgangspunktet like og hadde likt forbruk av legemidler. Markører på akutt hjerteinfarkt, slik det gjenspeilte seg i Lovisenberg-materialet, var like også etter start av glitazon-medisasjon. Derimot var relativ risiko for å benytte midler som benyttes ved påvist koronarsykdom, lipidmodifiserende midler og plateaggregasjonshekkere, nedsatt hos brukere av pioglitazon med henholdsvis med 9,5 % (ikke signifikant) og 30 % (P= 0,018, Log rank test) bedømt i tiden mer enn 200 dager etter oppstart av medisasjonen. Det var ingen forskjell i bruk av slyngediuretika.

Konklusjon: Vår observasjonelle kohortanalyse støtter mistanken om at det er forskjeller i kliniske effekter av glitazoner.

FKF 2**Chlorthalidone or hydrochlorothiazide as monotherapy for hypertension? Comments on a current discussion**

OSNES J-B, SKOMEDAL T

Department of Pharmacology, Faculty division Rikshospitalet, University of Osloj.b.osnes@medisin.uio.no

Problems. Although a subject of debate thiazide-diuretics or thiazide-like diuretics at low doses are recommended as first drug of choice for therapy of uncomplicated hypertension. This is primarily based on the ALLHAT study comparing an ACE-inhibitor, a calcium channel blocker and the thiazide-like diuretic chlorthalidone (The ALLHAT Research Group 2002). Another hypertension study indicated, however, that treatment based on an ACE-inhibitor was more favourable than a treatment based on hydrochlorothiazide (The Second Australian Blood Pressure Group 2003). Important questions arising are: Is chlorthalidone more favourable than hydrochlorothiazide in treatment of hypertension or are these diuretics clinically equivalent? Do thiazide-type diuretics possess class-effects that are valid for all of them?

Approach and comments. Some observations in a recent study may contribute to answering these questions (Ernst et al. 2006). The authors conducted a single-blinded study comparing effects equivalent doses of chlorthalidone and hydrochlorothiazide. After treatment for 8 weeks these two agents reduced the office systolic and diastolic blood pressure (BP) by a similar degree although the effects of hydrochlorothiazide developed faster than those of chlorthalidone. Mean 24-hour ambulatory systolic BP was, however, lower during treatment with chlorthalidone than with hydrochlorothiazide. This difference was primarily caused by additional antihypertensive efficacy observed throughout the nighttime hours (Ernst et al 2006). A difference was not found when the efficacy was based on daytime office BP readings alone. The authors suggest that the longer elimination halftime for chlorthalidone than for hydrochlorothiazide may account for the observed difference in efficacy. But some pharmacodynamic differences may also exist. An editorial commentary on this study stated current and perhaps future underutilization of chlorthalidone compared to hydrochlorothiazide (Sica 2006). Another commentary (Bloch & Basile 2006) suggested that insufficient nighttime BP control might have contributed to the less favourable effects of hydrochlorothiazide compared to ACE-inhibitor based therapy and that the concept of "class effect" within the thiazide-type diuretic class should be reexamined. This would require a head-to-head comparison between the effects of chlorthalidone and hydrochlorothiazide, respectively, on mortality rate and morbidity in hypertensive patients.

Suggestion. Nevertheless it may be proper to differentiate between various drugs in this class in a similar way as has recently been found for beta-adrenoceptor antagonists (Aursnes et al. 2007).

Aursnes I, Osnes JB, Tvette IF, Gåsemeyr J, Natvig B, 2007, BMC Clin Pharmacol 7:4

Bloch MJ, Basile J, 2006, J Clin Hypertension 8, 452-454

Ernst ME, Carter BL, Goerdt CJ, Steffensmeier JJG, Phillips BP, Zimmermann MB, Bergus GR, 2006, Hypertension 47, 352-358

Sica DA, 2006, Hypertension 47, 321-322

The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group, 2002, JAMA 288, 2981-2997

The Second Australian National Blood Pressure Group 2003, N Engl J Med 348, 583-92

FKF 3**Medikamentell behandling av diabetes mellitus i Norge**

STRØM H, SAKSHAUG S, SKURTVEIT S

Avdeling for legemiddelepidemiologi, Divisjon for epidemiology, Nasjonalt folkehelseinstitutt
hanne.strom@fhi.no

Problemstilling

Prevalensen (utbredelsen) av type 1- og type 2-diabetes er økende, både globalt og nasjonalt. I Norge er salget (målt i doser; DDD) av legemidler til behandling av diabetes mellitus, mer enn doblet i siste tiårperiode. Økt insidens (nye tilfeller) av type 2-diabetes, som er mest utbredt, og intensivt behandling kan være hovedårsaker til økningen.

Hensikten med undersøkelsen var å studere utviklingen i forbruket av antidiabetika de tre siste årene og sammenstille med prevalens og insidens i 2006 og 2007 av medikamentelt behandlet diabetes i Norge.

Metode

Data er hentet fra Reseptregisteret (2004-2007) og den Grossistbaserte statistikken (2004-07). Prevalens er beregnet ut fra antall pasienter som hadde hentet ut minst én resept på midler til behandling av diabetes. Hvilken type antidiabetika pasientene fikk forskrevet, f.eks. hvor mange som kun fikk insulin eller tablett og hvor mange som stod på kombinasjons-behandling, ble også studert.

Resultater

Salg av legemidler til behandling av diabetes (ATC kode A10) økte med 16,7 % fra 2004 til 2006 (målt i doser). Forbruket av tablett (A10B) økte med 26,3 %, mens salget av insulin og analoger (A10A) økte med 5,9 % i samme periode. Metformin (Glucophage®) og glimepirid (Amaryl®) utgjorde i 2006 henholdsvis 45 % og 43 % av totalsalget av perorale midler målt i doser.

I 2006 ble 124 649 pasienter behandlet med antidiabetika. Ettårsprevalensen for medikamentelt behandlet diabetes var 2,9 % blant menn og 2,5 % blant kvinner. 48 123 pasienter hentet minst én resept på insulin, mens 91934 pasienter ble behandlet med tablett. 76 500 pasienter fikk forskrevet kun tablett. Insidensraten i 2006 for orale antidiabetika i totalbefolkningen, beregnet ut fra antall nye brukere, var 343 per 100 000 personår.

Oppdaterte tall for 2007 tall vil bli presentert.

Konklusjoner

Salg av midler til behandling av diabetes kan betraktes som et godt surrogatendepunkt for utbredelsen av diabetes. I perioden 2004-2006 har det vært en vekst i antall pasienter som får antidiabetika, på 12,5 %. Ettårsprevalensen for medikamentelt behandlet diabetes har økt fra 2,6 % til 2,9 % blant menn og fra 2,2 % til 2,5 % blant kvinner.

Salget av orale antidiabetika (målt i doser) har økt betydelig de siste tre årene. I 2006 var det 15646 nye brukere av tablett. Økningen kan skyldes mer intensiv behandling og økt utbredelse av type 2-diabetes. Økningen i prevalens kan forklares både ut fra at pasientene lever lenger, og at insidensen øker.

Referanse: Strøm H et al, 2006, Tidsskr Nor Lægeforen nr.6, 126: 768-70.

FKF 4**Introduction of low dose transdermal buprenorphine (Norspan®) – did it influence use of potentially addictive drugs in chronic non-malignant pain patients?**

SKURTVEIT S, FURU K, KAASA S, BORCHGREVINK PC

Department of Pharmacoepidemiology, Division of Epidemiology, Norwegian Institute of Public Health, PO Box 4404 Nydalen, 0403 Oslo

svetlana.skurtveit@fhi.no

Background

Low dose transdermal buprenorphine (LD-TD-BUP) was introduced in 2004 exclusively designed and marketed for patients suffering chronic non-malignant pain with the intention to stabilize their opioid consumption. We hypothesize that a majority of patients who start with LD-TD-BUP continue their previous use of other opioids and potentially addictive drugs as benzodiazepine or carisoprodol. Our research question is what is the co-medicating use of opioids or other potentially addictive drugs for 1) patients who were opioids naïve before start of LD-TD-BUP and 2) patients who already used opioids before start of LD-TD-BUP.

Methods

The Norwegian Prescription Database containing information on prescription drugs dispensed to all individual non-institutionalised patients in the country made it possible to include and follow all individuals receiving LD-TD-BUP after registration on the Norwegian market 15th of November 2005 known as Norspan®. We studied all their prescriptions during 2004-2006. Poisson regressions were run with concomitant use of co-medicated drugs (yes, no) as endpoint.

Results

Overall, 3663 individuals, 2630 women and 1033 men received at least one prescription of LD-TD-BUP medications after 15 November 2005 until 31 December 2006. Of the 3663 LD-TD-BUP users, 322 persons were registered as cancer patients. Among patients without cancer, the female users were older than male (mean 70 vs 62 years) and women received a smaller number of patches of LD-TD-BUP than men (mean 15 versus 17). Among those who were prescribed LD-TD-BUP, over 40 % received only one prescription during the study period (N=1457). Among the 1884 patients who received more than one prescription of LD-TD-BUP, 91.7 % received prescriptions of opioids before the prescription of LD-TD-BUP, 58.6 % in addition had used BZD/carisoprodol. Among the patients without any prescription of opioids beforehand (N=156), 39.1 % had previously used BZD/carisoprodol. Among those who received prescription of opioids before prescription of LD-TD-BUP proportion of individuals who received at least one co-medicated drugs with LD-TD-BUP was 63.1 %. Co-medication in opioids naïve patients before prescription of LD-TD-BUP was found in 31.4 % of individuals. In the multivariate analysis the variables being associated with a higher likelihood of using co-medicated drugs with LD-TD-BP were: previously use of benzodiazepines/carisoprodol relative risk (RR)= 16.7 (95%CI 9.5-18.6), previously use of opioids 4.0 (1.9-8.7) and younger age 20-40 years 1.9 (1.6-2.3).

Conclusion

It can be questioned if the introduction of low dose TD-BUP has stabilised the opioid consumption or complicated and increased the consumption of potentially addictive drugs.

FKF 5**Co-medication of statins and CYP3A4 inhibitors in Norway before and after introduction of new reimbursement policy, a pharmacoepidemiological study with data from the Norwegian Prescription Database**

DEVOLD H, SKURTVEIT S, MOLDEN E, FURU K

Avdeling for legemiddelepidemiologi, Divisjon for Epidemiologi, Nasjonalt folkehelseinstitutt
helene.devold@fhi.no

Background: Inhibition of cytochrome P450 (CYP) enzymes, in particular CYP3A4, is an important drug-interaction mechanism. HMG-CoA reductase inhibitors (“statins”) are frequently used in the treatment of dyslipidaemia. Some statins (simvastatin, lovastatin and atorvastatin) are metabolized by CYP3A4, and co-medication of CYP3A4 inhibitors is associated with increased risk of statin-induced myotoxicity. Pravastatin and fluvastatin are not metabolized by CYP3A4 and thereby not affected by this drug-drug interaction. Data collected in the Norwegian Prescription Database (NorPD) makes it possible to analyse co-medication at an individual level in the entire Norwegian population. The present study was performed to assess the co-medication prevalence of statins and CYP3A4 inhibitors in an outpatient population before and after introduction (June 2005) of a new reimbursement policy.

Method: Data from patients receiving statins in 2004 and 2006 were retrieved from NorPD covering the total population in Norway. Information about co-medication of potent CYP3A4 inhibitors to statin users was also retrieved and the inhibitors included was clarithromycin, erythromycin, itraconazole, fluconazole, ketoconazole, verapamil, diltiazem, amiodarone, saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, lopinavir, fosamprenavir, atazanavir and tipranavir. Key measurements were prevalence of overall statin use, proportion of co-medication, and the proportion of statins *and* CYP3A4 inhibitors prescribed from the same medical doctor. The analysis was carried out with the statistics programme SPSS.

Results: In 2004 6.7 % (n= 306 364) patients received statins at a pharmacy and 7.8 % (n= 360 894) patients in 2006. In 2004 and 2006 ~ 90 % of these patients received ≥ 2 prescriptions on one statin. CYP3A4 inhibitors were prescribed to 17 079 patients (6.3 %) in 2004 and 20 418 patients (6.3 %) in 2006. More than half of the patients co-medicated with CYP3A4 inhibitors *and* statins received prescriptions from the same doctor. Most frequently co-medicated statin were simvastatin (7 706 patients in 2004 and 13 367 patients in 2006) and ~30 % decrease in number of patients co-medicated with pravastatin (2 587 patients in 2004 and 1 776 patients in 2006) was observed from 2004 till 2006.

Conclusion: The percentage of patients co-medicated with statins and CYP3A4 inhibitors was the same before and after introduction of the new reimbursement policy, but the number of patients exposed to this drug-drug interaction increased. Among these patients an increasingly number received simvastatin and fewer patients received pravastatin. Alertness by physicians and pharmacists when statins and CYP3A4 inhibitors are prescribed is a prerequisite to detect these drug combinations with potential interaction risk.

FKF 6**Prescription drug use among fathers and mothers before and during pregnancy.
A population-based cohort study of 106,000 pregnancies in Norway 2004-06**

FURU K, BRAMNESS J, DALTVEIT AK, RØNNING M, SKURTVEIT S, ENGELAND A
*Avdeling for legemiddelepidemiologi, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Postboks 4404 Nydalen,
0403 OSLO*
kari.furu@fhi.no

Aims: The primary aim of this study was to describe the use of prescribed drugs in both fathers and mothers before, during and immediately after pregnancy in Norway.

Methods: This population-based cohort study was based on data from the Medical Birth Registry of Norway and the Norwegian Prescription Database. These registries cover the entire population of Norway. Information on more than 100,000 births during 2004-2006 in the birth registry was linked to prescription data. Prescriptions issued to mothers just prior to, during and after the pregnancies as well as prescriptions to fathers just prior to conception were identified.

Results: Among the mothers, 83% received at least one prescription during the period from three months prior to estimated conception until three months after giving birth. The mothers who received drugs were prescribed on average 3.3 different ATC codes (range: 1-38). During the pregnancy, 57% were prescribed drugs. In the first trimester, 33% of the mothers were dispensed drugs, while the figure was 29% of the mothers in the last trimester. Among the fathers, 25% used prescribed drugs during the three months prior to conception, with on average 1.9 different ATC codes (range: 1-22).

Conclusion: Large proportions of both fathers and mothers were dispensed drugs prior to conception or during pregnancy. While there is a high awareness of the issues involved in maternal drug use in pregnancy, possible teratogenic effects of drug use in fathers shortly before conception should be further explored.

FKF 7**Pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenetics of glucocorticoids in liver transplant recipients**

SÆVES I, VETHE N T, BREMER S, MELTEVIK T J, LINE P-D, BERGAN S

Department of Medical Biochemistry, Rikshospitalet University Hospital, Oslo.

Institute of Clinical Biochemistry, University of Oslo, Norway.

ingjerd.saeves@rikshospitalet.no

Objective: Biological activity of glucocorticoids relates to the presence of a hydroxyl group at position C11 (e.g. cortisol) of the steroid structure. Oxidation of this group to an 11-keto group inactivates the steroid (e.g. cortisone). This interconversion between the active and inactive state is catalysed by the two isoenzymes of hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase, HSD11B1 and HSD11B2, where HSD11B1 activates and HSD11B2 inactivates the steroid. Tissue-specific expression of the isoenzymes is important in corticosteroid physiology by regulating glucocorticoid and mineralocorticoid receptor activation.

The purpose of the study “Steroid pharmacogenomics, pharmacokinetics and pharmacodynamics in liver tx” (Sterophix) is to describe the pharmacokinetics of glucocorticoids in liver transplant recipients, and characterize the intra- and inter-patient-variability the first weeks after transplantation. The relationship between the active and inactive (e.g. prednisolone and prednisone) forms of the steroid will be compared to the regulation by the HSD11B isoenzymes.

Material and methods: The Sterophix-study is descriptive, open and non-randomized without any intervention. The aim is to include 30 liver transplant recipients. The blood samples are collected at four different days post transplant, 1- 30 days after operation, in 12 hours dose-intervals.

We have developed a LC-MS/MS-method (HPLC coupled to tandem mass spectrometry) to quantify prednisolone, prednisone, cortisol, cortisone, methylprednisolone and methylprednisone in the plasma samples. This method is now under optimization and validation.

Genotyping of *HSD11B1* and *HSD11B2* will be performed according to polymorphisms described by collaborators at the Mayo Clinic, Rochester. Results from the pharmacokinetic studies will be compared to the pharmacogenetic data. The correlation between pharmacokinetic, pharmacogenetic and other biochemical parameters will be investigated.

Results and conclusions: Pilot investigations for the study indicate large variability in prednisolone and prednisone pharmacokinetics in the immediate post liver transplantation weeks. This emphasizes the need for systematic investigations and a detailed characterization of the parameters underlying the variability in the clinical pharmacokinetics of these drugs.

FKF 8**Acute rejection early after renal transplantation is associated with elevated pre-transplant *IMPDH2* expression in CD4+ cells**

BREMER S, MANDLA M, VETHE NT, RASMUSSEN I, ROOTWELT H, LINE P-D, MIDTVEDT K, BERGAN S

Department of Medical Biochemistry, Rikshospitalet University Hospital, Oslo and Institute of Clinical Biochemistry, University of Oslo

sara.bremer@rikshospitalet.no

Background and objectives: Mycophenolic acid (MPA) mediates immunosuppressive effects by inhibiting inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH). Measurement of IMPDH activity has been suggested as a pharmacodynamic approach for individualization and improvement of MPA treatment. However, IMPDH enzyme activity, as well as gene expression, is influenced by factors like the current immune status and immunosuppressive therapy, displaying wide inter- and intra-individual variability.

The objective was to examine the expressions of two *IMPDH* isoforms, *type 1* and *2*, in blood cells from renal allograft recipients pre- and post-transplantation and initiation of immunosuppressive therapy, including MPA. Possible associations between the *IMPDH 1* and *2* expression, acute rejection episodes, dialysis pre-transplant and the current immunosuppressive treatment were investigated.

Materials and methods: Whole blood, CD4+ cell and reticulocyte samples were collected from 30 renal transplant patients pre- and post-transplantation. The expressions of *IMPDH 1* and *2* were analyzed by real time RT-PCR and quantified using a housekeeping gene index.

Results: During the follow-up (12–19 days post-transplant), 11 patients (37%) experienced acute rejection (median day 12, range 3–19 days). The patients with rejection demonstrated higher *IMPDH2* expression in CD4+ cells pre-transplant than non-rejecting patients (median expression 1.26 vs. 0.87 respectively, P=0.017). There was a trend towards higher rejection rates in the population receiving dialysis pre-transplant (n=16) having 8 (50%) rejection episodes, while 3 (21%) of the patients without dialysis (n=14) experienced rejection.

Conclusions: Elevated *IMPDH2* expression in CD4+ cells pre-transplant may be an indicator of increased immune activation, caused by e.g. pre-sensitized lymphocytes, and thus explain the association to higher risk of acute rejection. Exposure to dialysis is associated with non-specific cellular activation, alloreactivity and increased risk of rejection early post-transplant. This supports the observed trend towards more frequent rejections among the patients receiving dialysis pre-transplant compared to non-dialysis patients.

Characterization of *IMPDH 1* and *2* expression in transplant patients is important considering the action of MPA on IMPDH and the potential for pharmacodynamic monitoring of MPA by measuring IMPDH activity. Further studies are, however, needed to evaluate the clinical implications of different *IMPDH* expression levels.

FKF 9**Strong suppression of IMPDH in CD4+ cells by the immunosuppressant mycophenolic acid: a single-dose crossover exposure-response study in healthy individuals**

VETHE NT, BREMER S, ROOTWELT H, BERGAN S

*Department of Medical Biochemistry, Rikshospitalet University Hospital, Oslo**Institute of Clinical Biochemistry, University of Oslo*nils.tore.vethe@rikshospitalet.no

Background: Mycophenolate mofetil (MMF) is frequently used in immunosuppressive regimens after allograft transplantation. It is a prodrug of mycophenolic acid (MPA) which inhibits inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH), a key enzyme in the guanine nucleotide synthesis. A considerable proportion of patients experience gastrointestinal and haematological adverse effects related to MMF therapy. Due to highly variable pharmacokinetics and pharmacodynamics, it is hypothesized that personalized MPA treatment may improve the clinical outcome. The aim of our study was to characterize the exposure-response relationship for MPA at the molecular level, in order to guide future strategies of individualized treatment based on pharmacodynamic monitoring.

Methods: A single-dose (100, 250, 500 and 1000 mg MMF) crossover exposure-response study of MPA pharmacodynamics in CD4+ cells (T-lymphocyte subpopulation) was performed in five healthy individuals. IMPDH activity, IMPDH gene expression and purine nucleotides were examined in relation to MPA plasma concentration.

Results: IMPDH was strongly inhibited by MPA; median EC_{50} was 2.5 (range 1.3 to 4.3) mg/L. At the standard dose of 1000 mg MMF, the median C_{max} was 27 (range 17 to 43) mg/L. The overall IMPDH activity (area under the curve; AUC) approached maximum suppression at MPA AUC_{0-12h} 22 mg×h/L (corresponding to MMF 500 mg), and MPA plasma concentrations exceeding 6 mg/L did not increase the IMPDH inhibition any further. The suppression of IMPDH was associated with reduced IMPDH gene expression. In contrast to expected reduction of guanosine triphosphate (GTP), an increasing trend was observed in response to MPA.

Conclusions: The standard dose of 1000 mg MMF was in the upper range of the response curve. Reduced IMPDH gene expression adds to the mechanism-of-action of MPA. The absence of GTP reduction indicates that the cells possess mechanisms counteracting the expected molecular effect of MPA, and suggests that GTP may not serve as an immediate response biomarker of MPA pharmacodynamics in circulating lymphocytes. The high incidences of adverse effects that are related to MPA therapy may be a consequence of MPA overexposure in a considerable proportion of patients. Pharmacodynamic monitoring of IMPDH activity may help identify these patients.

POSTERE

T = Toksikologi

BF = Basal farmakologi

KF = Klinisk farmakologi

Toksikologi

14 stk postere er meldt inn innen toksikologi. Disse skal henges opp på anvist plass i **glasshallen før konferanseavdelingen**. Skilt er merket med TOX 1 til TOX 14.

Postervisningen ledes av: Merete Grung, NIVA.

Basal farmakologi

14 stk postere er meldt inn innen basal farmakologi. Disse skal henges opp på anvist plass på skillevegger **bak i Beitohallen**. Merket med skilt fra BF 1 til BF 14.

Postervisningen ledes av: Finn Olav Levy, UiO.

Klinisk farmakologi

8 stk postere er meldt inn innen klinisk farmakologi. Disse skal henges opp på anvist plass på skillevegger **langs veggen i Beitohallen**. Merket med skilt fra KF 1 til KF 8.

Postervisningen ledes av: Ivar Aursnes, UiO.

Hver poster får plass tilsvarende en plakat på rundt 80 x 120 cm (bredde x høyde). Alle postere må henges opp med tape. Tape vil bli lagt ut ved merkede plasser.

Presentasjon

1) 3-minutters poengtert presentasjon av posteren.

Dette er markedsføring av posterens budskap. Pek på hovedpoengene og få frem:

- Hva posteren dreier seg om.
- Problemstillingen.
- Hvordan studien er utført.
- Hovedfunn.
- Hovedkonklusjon.

Ta opp hovedtrekkene og unngå detaljer. Dette er ikke et vanlig foredrag og målet er at tilskuerne skal få lyst til å studere posteren nærmere etterpå.

2) Ledet diskusjon/spørsmål/svar - så lenge diskusjonslederen tillater (ca 3 min).

3) Fri posterdiskusjon - når alle posterne er gjennomgått.

Her går man tilbake til de enkelte posterne og utfolder seg sammen med spesielt interesserte.

NSFTs posterpris 2007

En posterpriskomiteé vil vurdere alle bidrag og finne en vinner innen hvert fag. Hver vinner får tildelt en vandrepokal under festmiddagen lørdag 26. januar. Årets posterpriskomiteé består av Vigdis Aas, HiO (basal farmakologi), Stein Bergan, Rikshospitalet (klinisk farmakologi) og Frode Fonnum, UiO.

Postere – toksikologi**TOX 1****DNA damage and repair in human lymphocytes after exposure to glycidamide, the toxic metabolite of acrylamid**

ANSOK EB, GUTZKOW KB, BRUNBORG G

Norwegian Institute of Public Health (NIPH), P.O.Box 4404 Nydalen, N-0403 Oslo, Norway

Elin.Bakken.Ansok@fhi.no

Aim of study:

Exposure to environmental toxicants are contributing factors to health disorders for the individuals such as cancer, asthma, allergy, or – most important for the coming generations - disorders in the reproductive system. This may arise via DNA damage or altered DNA repair capabilities. Currently, our laboratory is involved in NewGeneris (Newborns and Genotoxic exposure risks), a 6FP integrated project. The goal of NewGeneris is to examine whether paternal or maternal exposure to genotoxic agents from the environment or through the diet during pregnancy leads to an increased risk of disorders later in childhood.

Methods and Results

A presentation of the NewGeneris project will be given, and some early results will be described. NewGeneris, a selection of different chemicals found in the environment such as acrylamide, B(a)P, PhIP and aflatoxin, are to be tested for their genotoxicity. Hence, we have exposed the different chemicals to human peripheral blood lymphocytes (HPBL) from healthy volunteers and tested these compounds for DNA damage. For this purpose we are using the comet method which is an efficient and sensitive method to measure the level of DNA strand breaks and alkali-labile sites. By using different DNA-repair enzymes available, more specific DNA-lesions can also be detected and quantified. For instance, the DNA repair enzyme Formamidopyrimidine-DNA-glycosylase (Fpg) recognises oxidised purines, typically 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoGua), and baseless sites. Results from the *in vitro* exposure studies will be presented. Further, we are studying the acrylamide metabolite, glycidamide, in more detail since glycidamid has shown to be a highly reactive metabolite that increases the DNA damage considerably at low doses as detected with the DNA-repair enzyme, Fpg. Quiescent and stimulated HPBL will be exposed to different concentrations of glycidamide for different time periods of time to assay cytotoxicity, cell viability and possible changes in cell cycle distribution. Furthermore, by using Western Blot analysis we will look for different cell cycle parameters known to respond to DNA damage. In addition, we will use RT-PCR to study the gene signature in lymphocytes after exposure to glycidamide. This may reveal changes in the gene expression profile providing more detailed answers to the observed increase in the DNA damage.

TOX 2**Kan akrylamid indukere svulster i tarmen hos mus?**

ØLSTØRN HBA, PAULSEN JE, ALEXANDER J.

Avd. for mattrygghet og ernæring, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Pb. 4404 Nydalen, 0403 Oslo
hege.benedikte.olstorn@fhi.no

Problemstilling: Akrylamid er en forbindelse som dannes i karbohydratrike matvarer når de varmebehandles, som for eksempel potetgull, pommes frites, kjeks, cerealer og kaffe. I kroppen metaboliseres akrylamid videre til glysidamid, en reaktiv forbindelse som sannsynligvis er grunnen til at det tidligere er vist at akrylamid inducerer svulster i flere forskjellige organer, bl.a. hud, lunger, testikler og bryst, hos mus og rotter^{1,2}. Det ble den gang ikke påvist svulstdannelse i tarmen på disse dyrene, og vi var interessert i å finne ut om dette kun skyltes at disse dyrene ble eksponert som voksne.

Metoder: I tre forsøk har vi eksponert mus (C57BL/6J *Min/+* og deres villtype søsken) subkutan for 50 mg/kg kroppsvekt akrylamid eller glysidamid i ukene rett før og rett etter fødsel. *Min/+* mus har en mutasjon i det ene allelet på *Apc*, et gen som normalt bl.a. regulerer cellevekst via kontroll av beta-katenin. Et mutert *Apc* fører til dannelse av mange svulster i tarmen og til økt sensibilitet for tarmkarsinogener, da kun ett ytterligere allel behøver muteres før man får fullstendig bortfall av *Apc*. 80% av humane tarmsvulster som har oppstått spontant har mutert *APC*³.

Resultater: De to første forsøkene viste at glysidamideksponering induserte tarmlesjoner både i *Min/+* musene og villtype musene, og at antall svulster var positivt korrelert med antall eksponeringer. I disse forsøkene hadde vi problemer med svært høye bakgrunnsnivåer, noe som kan ha bidratt til at resultatene var noe uklare, og vi tror dette skyltes ustabilitet i føret. Vi gjentok derfor glysidamidforsøkene med et mer stabilt føre, og brukte da i tillegg til BL/6 *Min/+* en annen musemodell, AJ *Min/+*. Resultatene fra dette forsøket er ikke klare før i januar, men foreløpige resultater tyder på at glysidamid inducerer svulstdannelse i tynntarm i begge disse musemodellene, og i tykktarmen hos deres villtype søsken.

Konklusjon: Akrylamids metabolitt, glysidamid, inducerer svulstdannelse i tarmen hos mus når disse eksponeres tidlig i livet.

1 Bull RJ, Robinson M and Stober JA. 1984, Cancer Lett 24: 209-212.

2 Robinson M, Bull RJ, Knutsen GL, Shields RP and Stober J. 1986, Env Health Perspect 68: 141-145.

3 Kinzler KW and Vogelstein B. 1996, Cell 87: 159-170.

TOX 3**Modifications of DNA repair enzymes**

WINCZURA, A¹, SWOBODA, M¹, DUDZINSKA, D², JANIK, J¹, KOMISARSKI, M¹, TUDEK, B^{1,2}

¹*Department of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences,* ²*Institute of Genetics and Biotechnology, University of Warsaw. Pawinskiego 5a, 02-106 Warsaw*

alawin@ibb.waw.pl

Background

Oxidative stress and lipid peroxidation (LPO) generates a plethora of DNA lesions, among which 1,*N*⁶-ethenoadenine (εA) and 3,*N*⁴-ethenocytosine (εC) have high miscoding potential and may be involved in carcinogenic processes. Two major enzymes involved in excision of εA and εC are ANPG (alkyl-N-purine DNA glycosylase) and TDG (thymine DNA glycosylase) which act in base excision repair (BER). Our previous studies showed that repair activities toward εA and εC were lower in leukocytes of colon cancer patients than in leukocytes of healthy volunteers.

Methods

We searched for mutations and polymorphisms in *h*TDG as well as in *h*ANPG genes of 42 colon cancer patients, in tumor and non-affected surrounding tissue. *h*TDG and *h*ANPG genes were screened in all exons using MSSCP method. We have examined *in vitro* influence of oxidative stress and LPO products (hydrogen peroxide and trans-4-hydroxy-2-nonenal; HNE) on BER proteins: ANPG, HAP1 and Mug.

Results

No polymorphism was found in *h*ANPG gene. In the *h*TDG gene, analysis revealed G/A substitution in exon 5 in normal and tumor tissues from three patients. Such substitution changes glycine199 to serine in protein sequence, but it does not change the enzyme activity (Sard et al, 1997).

Activity of BER enzymes may be regulated by protein interactions and modifications. HAP1 protein, as revealed by mass spectrometry, was modified by HNE on residues 91Ser, 52Lys and 151His. Such modifications do not have an impact on HAP1 endonuclease activity toward depurinated plasmid. HNE does not influence Mug activity either. We observed reduction of ANPG activity by HNE. This can be explained by the fact that HNE adduct was found at 136His located in the active center of the enzyme. It is possible that such modification may be relevant in living cells. Additionally ANPG was treated with H₂O₂, which decreased enzyme activity only at very high, non-physiological concentrations. For this reason H₂O₂ impact on ANPG protein may not be important *in vivo*.

Conclusions

These results suggest that the altered activity of TDG and ANPG does not depend on mutations and polymorphisms whereas impact of LPO products on ANPG activity may be an important factor, but needs further investigation.

References.

Sard, L, et al., Genomics, 1997, 44: 222-226.

TOX 4**Does benzo(a)pyrene affect the level of oxidative DNA damage in testicular cells from *mOgg1*^{-/-} mice *in vivo*?**

MEIER S, BRUNBORG G, ANDREASSEN Å, ØVREBØ S, OLSEN A-K

Department of Chemical Toxicity, The Norwegian Institute of Public Healthsilja.meier@fhi.no

Objectives: DNA damage in sperm is strongly associated with low sperm quality, early embryonic loss and disturbed foetal development. Smoking men exhibit higher levels of oxidative damage in their sperm DNA compared to non-smokers, and couples undergoing assisted fertilisation have a markedly lower chance of successful pregnancy when the father smokes. Bulky DNA adducts (BPDE-adducts) from benzo(a)pyrene (BaP), a component of cigarette smoke, are indeed present in sperm from smoking men, and such adducts persist even in the early embryo. In addition to BPDE-adducts, BaP may indirectly lead to oxidative DNA damage. So far, there is little knowledge concerning induction of oxidative DNA damage from BaP following *in vivo* exposure, except for the lung where such lesions have been detected. Our question is whether BaP leads to oxidative DNA lesions in testicular cells. We have previously shown, using an array of *in vitro* studies, that there is little or no repair of specific oxidative DNA lesions in human testicular cells as opposed to rodents.

Methods: In this work we make use of an oxidative repair deficient mouse model (*mOgg1*^{-/-}) that serves two purposes; i) to mimic the repair deficiency in the human testis, and ii) as a sensitive experimental model suitable for quantification of oxidative DNA lesions following *in vivo* exposure. Mice are exposed to BaP by i.p. administration, and nuclei of the testes and control organs are isolated by a rapid mechanical process at different times following exposure to BaP. DNA damage and its repair are measured using the comet assay in combination with a bacterial repair enzyme, the Formamidopyrimidine DNA-glycosylase (Fpg), to identify specific oxidative DNA lesions such as 8-oxoguanine. As positive controls, nuclei were exposed *in vitro* either to X-rays, or to the photosensitiser Ro 12-9786 plus visible light, to induce almost exclusively the DNA lesion of interest. The study design required methodological improvements which increased both the capacity and the sensitivity of the assay system.

Results: Methodological improvements have constituted a significant part of the project. The conventional comet assay makes use of single cells, most often generated following enzymatic digestion of tissue. When measuring DNA damage and repair in cells from animals exposed *in vivo*, it is crucial to minimise the possibility to repair the induced DNA lesions. Therefore the time from sacrifice of animals until genomic DNA is placed on ice to minimise DNA repair, is of great importance. In our modified protocol, nuclei are isolated by a rapid mechanical method performed on ice. The time until the DNA is placed on ice is therefore markedly reduced. The procedure has been tested for several organs including testicles, liver and lung. Furthermore, frozen nuclei could also be used, allowing large-scale animal experiments as well as inter-laboratory collaborations. The results show that the spontaneous levels of oxidative DNA lesions in the *mOgg1*^{-/-} mouse were significantly lower in the testis as opposed to in liver or lungs. The liver and lungs in *mOgg1*^{-/-} mice had higher spontaneous levels than liver and lungs in wild type mice. Furthermore, preliminary results suggest that oxidative DNA lesions are not induced in significant numbers in testicular nuclei following BaP exposure of *mOgg1*^{-/-} mice.

Conclusions: The modified comet approach facilitates rapid and large-scale studies of DNA repair in nuclei from *in vivo* exposed animals. Using this approach we conclude that BaP does not cause significant levels of oxidative DNA lesions in mice testes.

TOX 5**Carbon particle interactions with zinc- and iron-induced IL-8 release and intracellular signalling in bronchial epithelial cells**

OLSEN C, REFSNES M, LÅG M, SCHWARZE PE AND ØVREVIK J

Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norwaychristina.olsen@fhi.noIntroduction

Particulate air pollution (PM) consists of a mixture of components, including carbon-centred combustion particles and adhered compounds such as transition metals. Presently the relative contribution of the particle core or adhered components to the adverse health effects associated with PM exposure is not clear, and the combined effects of different compounds on lung cells have only briefly been investigated. The present project focuses on the effect of zinc, iron and carbon particles, alone and in combination on interleukin-8 (IL-8) release and activation of mitogen activated protein kinases (MAPKs) in bronchial epithelial cells.

Methods

The BEAS-2B cell line was used as a model system for human bronchial epithelial cells. The cell cultures were exposed to varying concentrations of ZnCl₂, Fe₂SO₄ and 14 nm carbon particles (CP), alone or in combination. After 24 h exposure culture medium were harvested and analysed for IL-8 by ELISA. Activation of MAP kinases were examined by Western blotting.

Results

Zinc and iron induced a concentration-dependent increase in IL-8 release from BEAS-2B cells. CPs did not induce IL-8 release alone, but in combination with zinc or iron CPs seemed to enhance the metal-induced IL-8 release. Notably, the effects of CPs on cytokine release are difficult to interpret as CPs appears to bind IL-8 released by the cells, potentially interfering with the cytokine-assay. Thus, the effects of zinc, iron and CPs on chemokine gene expression are currently examined to by-pass this problem. Furthermore, zinc and iron, but not CPs induced an increased phosphorylation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) extra-cellular signal-regulated kinase-1 and -2 (ERK1/2), which is known to be involved in the regulation of IL-8 release. However, CPs did not appear to increase zinc- or iron-induced ERK1/2 phosphorylation.

Conclusion

Our present results suggest that CPs alone has little effect on IL-8 release from bronchial epithelial cells, but that the particles may enhance IL-8 release induced by metals such as zinc and iron. The mechanisms through which CPs interact with zinc- and iron-induced IL-8 release does not seem to involve ERK1/2.

TOX 6**Determination of the Reliability of Total Oxyradical Scavenging Capacity for the marine polychaete *Arenicola marina***MACRAE K^{*}, KILE S^{*}, GRUNG M[†], HYLLAND K^{*†}^{*}*Department of Biology, University of Oslo, Oslo, Norway*[†]*Norwegian Institute for Water Research (NIVA), Oslo, Norway*sheltie90@yahoo.com*Background and aim*

Measurement of concentrations of chemicals in aquatic systems has been shown as an over simplified method of determining ecological effects of pollution. There is a need to develop methods to identify and quantify early effects of sediment-bound contaminants to sediment-dwelling organisms. One important mechanism of toxicity is the development of oxidative stress and depletion of cellular antioxidants. One of the most widely used methods to quantify the total capacity of tissues to absorb radicals is TOSC, Total Oxyradical Scavenging Capacity.

The aim of this study was to investigate whether contaminants in sediments would affect oxidative stress status, measured using TOSC, in a model polychaete species, *Arenicola marina*.

Methods

Single individual *Arenicola marina* were placed in 64 tanks, each containing sediment from either a known polluted source or a control site. Samples were taken at 0, 1, 2, 4 and 8 weeks to investigate changes in responses over time. Worm supernatant was reacted with 2,2'-azobis-amidinopropane (ABAP) which produces peroxy radicals that in turn oxidise α -keto- γ -methiolbutyric acid (KMBA) ethylene. Inhibition of this reaction was taken to be caused by antioxidants that were present in the worm.

Results and conclusions

The results indicated differences in the capacity of polychaete tissues to absorb oxidative stress generated by different oxidising agents. Although it is difficult to extrapolate changes in TOSC in terms of survival or reproduction, it is a biologically relevant method to monitor environmental conditions and for the risk assessment of sediment-bound chemicals. forskjeller mellom 2-, 4- og 5-ring PAHer.

TOX 7**Effekter av miljøgifter i sediment på børstemark, *Hediste diversicolor***KILE S^{*}, MACRAE K^{*}, GRUNG M[†], HYLLAND K^{*†}^{*}*Department of Biology, University of Oslo, Oslo, Norway*[†]*Norwegian Institute for Water Research (NIVA), Oslo, Norway*siljekile@msn.com*Problemstilling*

Ved å finne en god metode for å bestemme hvor skadelig miljøgifter er for sedimentlevende organismer, vil vi få økt kunnskap om effekter av miljøgifter som akkumulerer i marine sediment. I Norge er det nå pågående prosesser for risikovurdering og opprydding av forurenset sediment og det er derfor stort behov for å finne metoder som kan gi kunnskap om mulige *in situ* effekter. Målet med arbeidet var å kvantifisere eventuelle effekter av forurenset sediment på flerbørstemarken *Hediste (Nereis) diversicolor*.

Metode

Det ble samlet inn forurenset sediment fra Grenlandsområdet i tillegg til referansesediment fra to steder i ytre Oslofjord. Forsøkene ble gjennomført på forskningsstasjonen til NIVA på Solbergstrand. Det ble benyttet et oppsett med 64 kar, hvorav 28 kar inneholdt forurenset sediment fra Grenland og resten inneholdt referansesediment fra ytre Oslofjord. I hvert kar ble det tilsatt 5-10 børstemark. For å sjekke om tiden har noen innvirkning på prosjektet, ble det tatt prøver av marken i uke to, fire og åtte, i tillegg til prøver før eksponering. Eventuelle effekter på flerbørstemark har blitt kvantifisert med "total oxyradical scavenging capacity" (TOSC), et mål for evnen til å motstå oksidativ stress.

Resultater og konklusjon

Det var forskjeller i kapasitet i vevet til børstemarkene for evnen til å "fange opp" ulike radikaler, men det er ikke klart hvilke helsemessige konsekvenser dette kan ha for flerbørstemark som eksponeres for forurenset sediment.

TOX 8**Miljøgifter og eutrofiering i marine overflatelag – metodeutvikling for studier av interaksjoner**SVA E^{1*}, LARSEN A², THOMAS K³, THAIN J⁴, HYLLAND K^{1,3}¹*Biologisk institutt, Universitetet i Oslo, Oslo*²*Institutt for biologi, Universitetet i Bergen, Bergen*³*Norsk Institutt for Vannforskning, Oslo*⁴*CEFAS Burnham Laboratory, Burnham-On-Crouch, England*eirin.sva@bio.uio.no*Problemstilling*

Et overflatelag representerer kontaktflaten mellom vann og luft og er definert som de øvre 50 µm av vannsøylen. Naturlige prosesser fører til høyere konsentrasjoner av organisk materiale i dette laget, blant annet lipider, aminosyrer og karbohydrater. Dette gjør overflatelaget til et egnet mikrohabitat for en mengde ulike mikroorganismer, larver og fiskeegg og man kan ofte observere økt biologisk aktivitet i dette laget. Økte konsentrasjoner av organisk materiale gjør samtidig at hydrofobe stoffer vil konsentreres i overflatelaget. Dette kan føre til at tidlige livsstadier hos en rekke evertebrater og fiskearter blir eksponert for skadelige konsentrasjoner av miljøgifter på et tidspunkt hvor de er svært sårbare. Miljøgifter er ikke den eneste stressfaktoren som forekommer i kystnære strøk, ofte forekommer eutrofiering i de samme områdene. Det er grunn til å tro at interaksjoner mellom effektene av disse to stressfaktorene forekommer, men man vet lite om hvordan dette skjer. Vi vil derfor utvikle og teste metoder for å studere interaksjoner mellom effekter av miljøgifter og eutrofiering i overflatelag.

Materialer og metoder

Flowcytometri er en metode som måler lysspredning og fluorescenskarakteristikk fra individuelle partikler og ansees for å være en rask og pålitelig metode for å telle celler i en prøve. Vi vil bruke denne metoden for å detektere endringer i alge- og bakteriepopulasjoner etter eksponering for ulike nivåer av miljøgifter og eutrofiering. Preliminære studier har blitt gjort med prøver av overflatelag og dypere vann samlet inn utenfor Solbergstrand (Oslofjorden). Flowcytometri ble benyttet til å beskrive bakteriepopulasjoner i de ulike prøvene. Vi vil også tilpasse metoder for å måle respirasjon i overflatelaget, for å kunne anslå samfunnsmetabolisme og kartlegge endringer etter eksponering til de utvalgte stressfaktorene.

Preliminære resultater

Flowcytometri viste en noe høyere tetthet av bakterier i overflatelaget sammenliknet med det underliggende vannet. Det var også en større andel av bakterier med et høyt fluorescenssignal i prøvene fra overflatelaget sammenliknet med vannsøylen under. Dette indikerer et høyere innhold av DNA og kan teoretisk sett indikere at bakteriepopulasjonen i overflatelaget er mer aktiv og i bedre kondisjon enn i det underliggende vannet.

TOX 9**Overvåkning av fotosyntetisk effektivitet i makroalger**HEIAAS H¹, FREDRIKSEN K¹, HYLLAND K^{1,2}, THOMAS K²¹ *Biologisk institutt, Universitetet i Oslo, Oslo*² *Norsk Institutt for Vannforskning, Oslo*haraldhh@bio.uio.no

Tidligere studier har vist at fotosyntese effektiviteten hos makroalger kan være redusert i områder forurenset av biocider. Redusert fotosyntetisk effektivitet kan redusere veksten hos makroalgene, dette vil gi økologiske konsekvenser. Måling av fotosyntetisk effektivitet vil kunne bli brukt som et enkelt verktøy for å overvåke effekten av fotosynteseinhibitorer i kystøkosystemet. Målet med dette studiet var å finne ut om målinger av fotosyntese effektivitet er en god markør for biocid forurensing *in situ*.

Fotosyntese effektivitet ble bestemt med fluorescens målinger av et frond utsatt for et lysglimt (650nm) etter en mørketilpasning. Dette ble foretatt med en Hansatech Handy Photosynthetic Efficiency Analyser (PEA). Målinger ble foretatt på tre *Fucus* arter fra seks stasjoner i Indre Oslofjord fra april til desember. Lysintensitet og temperatur ble logget kontinuerlig over hele måleperioden på alle stasjonene. I tillegg er det gjort tre forsøk under kontrollerte forhold for å se påvirkningen av temperatur, lysintensitet og salinitet på fotosyntetisk effektivitet.

Det er statistisk signifikant forskjell mellom stasjonene ved forskjellige målingstidspunkt, men disse forskjellene er ikke konsistente gjennom måleperioden. Det var ikke statistisk signifikant forskjell mellom de forskjellige parametrene i verken temperatur-, lysintensitets- eller salinitetsforsøket.

Det er en sesongvariasjon og en variasjon mellom målestasjonene i fotosyntese effektivitet som vanskelig kan forklares av abiotiske faktorer som lysintensitet, temperatur og salinitet.

Konsentrasjonen av biocider er ikke kjent fra målestasjonene over hele prøvetagningsperioden, dette gjør det vanskelig å konkludere om dette er en god markør for biocid forurensing. Det bør bemerkes at analysene av datamaterialet er nylig startet.

TOX 10**Effects of atorvastatin and simvastatin on *Lemna gibba***ELLESAT K¹, AARNES H¹, ÅSBERG A², HYLLAND K¹¹*Department of Biology, University of Oslo*²*School of Pharmacy, University of Oslo*kathrin.ellesat@bio.uio.no*Background and aim*

Statins are pharmaceuticals used in human medicine to lower low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels. They block the mevalonic acid (MVA) pathway and consequently cholesterol biosynthesis by competitively inhibiting 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR). The biochemical pathway affected by statins appears to be present not only in humans but in all eukaryotes and possibly also in prokaryotes. Some authors detected effects of pharmaceuticals in plants (Brain et al. 2004). Lichtenthaler (1997) described two distinct pathways for isoprenoid biosynthesis in plants, one cytosolic MVA pathway and one chloroplastic methylerythriol phosphate (MEP) pathway. Brain (2006) has earlier investigated the effect of statins on *Lemna gibba*. Atorvastatin and lovastatin were dosed to *L. gibba* and an accumulation of plastoquinone and surprisingly also ubiquinone was noted. Ubiquinone is an endproduct of the MVA pathway and the authors concluded that there was an exchange of intermediate products from the MEP to the MVA pathway. The aim of this study was to investigate whether selected statins would affect photosynthesis, growth and selected cellular parameters in the model plant *Lemna gibba*.

Experimental setup

Lemna gibba L. (duckweed) was grown on modified Hoagland E-medium in 6-well plates (10 ml per well). Plants are exposed to five different concentrations of atorvastatin and simvastatin (0.03 µg/L, 1 µg/L, 10 µg/L, 100 µg/L, 1000 µg/L) for up to seven days. Four replicates are used for each trial.

In the present study, alterations in growth rate and morphology of *L. gibba* was investigated. Moreover, measurements of photosynthetic activity by Pulse Amplitude Modulated Fluorometry (PAM) and investigation of selected enzyme activities were quantified. Finally, flow cytometry was used to quantify effects on nuclei and chloroplasts.

References

- Brain RA, Johnson DJ, Richards SM, Hanson ML, Sonderson J, Lam MW, Young C, Mabury SA, Siberley PK, Solomon KR (2004) Microcosm evaluation of the effects of an eight pharmaceutical mixture to the aquatic macrophytes *Lemna gibba* and *Myriophyllum sibiricum*. *Aquatic Toxicology* 70: 23-40
- Brain RA, Reitsma TS, Lissemore LI, Bestari KJ, Sibley PK, Solomon KR (2006) Herbicidal effects of statin pharmaceuticals in *Lemna gibba*. *Environmental Science & Technology* 40: 5116-5123
- Lichtenthaler HK, Schwender J, Disch A, Rohmer M (1997) Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate-independent pathway. *FEBS Letters* 400: 271-274

TOX 11**Overførsel av miljøgifter til torsk fra sediment**AARRE I*, RUUS A[†], HYLLAND K^{**†}**Biologisk Institutt, Universitetet i Oslo, Oslo*†*Norsk Institutt for Vannforskning (NIVA), Oslo*ingriaa@student.matnat.uio.no*Bakgrunn og mål*

I mange norske fjorder er det anbefalt et begrenset konsum av fisk, på bakgrunn av forhøyede konsentrasjoner av miljøgifter. De fleste miljøgifter har affinitet for organisk materiale og partikler, og vil derfor ende opp i sedimenter langs norskekysten. Miljøgifter kan tas opp rett fra vannet, direkte fra sedimentet via resurspensjon, eller via føden.

Målet med studien har vært å kvantifisere overførselen av miljøgifter i sedimenter i indre Oslofjord til juvenil torsk (*Gadus morhua*), direkte fra sedimentet eller gjennom føden.

Metoder

Flerbørstemark *Nereis virens* ble eksponert for homogenisert sediment fra indre Oslofjord eller et kontrollsediment i minimum 2 måneder før de ble føret til torsk (1-2% av kroppsvekten per dag). Prøver ble tatt av torsk på en rekke tidspunkt for å undersøke akkumuleringen av miljøgifter, særlig PCB. I tillegg ble det tatt prøver for å fastslå innholdet av PAH-metabolitter i fiskens galle, samt leverprøver til analyse av biomarkører.

Resultater og konklusjoner

Studiens resultater indikerer at hovedkilden til eksponering for miljøgifter fra sedimentet i indre Oslofjord synes å være torskens konsum av fødeorganismer, men det er også et opptak av miljøgifter direkte fra sediment. Det var en kontinuerlig akkumulering av PCB gjennom hele forsøksperioden (128 d) og data for PAH-metabolitter tydet også på økende akkumulering av PAH gjennom perioden.

TOX 12**Effects of produced water components on Atlantic cod: kidney lysosomal membrane stability and peroxisomal acyl-CoA oxidase activity**

BECKIUS J^{*}, CAJARAVILLE M[#], ZORITA I[#], HOLTH TF^{*†}, HYLLAND K^{*†}

^{*} *Department of Biology, University of Oslo, Oslo, Norway*

[#] *Section for Cell Biology, University of the Basque Country, Bilbao, Spain*

[†] *Norwegian Institute for Water Research (NIVA), Oslo, Norway*

jeanebec@student.uio.no

Background and objective

Discharge from offshore activity in the North Sea contains organic chemicals that can have serious impacts on the flora and fauna surrounding the oil- and gas platforms. The aim of the study was to quantify effects of produced water components (PAHs and alkylphenols) on lysosomal membrane stability and peroxisomal acyl-CoA oxidase activity in head kidney of Atlantic cod (*Gadus morhua*).

Methods

Fish were exposed to produced water components (containing PAHs, NPD and alkylphenols) for a total period of 10 months. The exposure consisted of three different treatments; low (2000 x diluted produced water), high (200 x diluted produced water) and pulse (alternating control and high on a weekly basis). Samples from the head kidney of chosen time periods and treatments were used for the measurement of lysosomal membrane stability using acid phosphatase and peroxisomal acyl-CoA oxidase activity (AOX).

Results and conclusions

Values of lysosomal membrane labilisation period were significantly lower at high dose treatment in sampling after 16 weeks and 33 weeks of exposure compared with control treatment in males, but there were no significant differences between controls and treated groups in the case of females for all time periods. In general females seemed less affected than males. AOX levels found in males at sampling after 33 weeks were lower than those observed at sampling after 2 weeks and 16 weeks, and the results indicated that the AOX activity in males was reduced during the exposure period, rather than showing an increase as expected. There were no significant differences between controls and treatments for females. The results show that even low concentrations of produced water components may have subtle effects on the health of fish in receiving waters.

TOX 13**PAH metabolitter i galle fra torsk eksponert for produsert vann komponenter gjennom føden**

JACOBSEN MR^{*}, ØXNEVAD S[#], GRUNG M[#], HYLLAND K^{*#}

^{*} *Biologisk Institutt, Universitetet i Oslo*

[#] *Norsk Institutt for Vannforskning (NIVA), Oslo*

marterj@bio.uio.no

Bakgrunn og mål

Det er begrenset kunnskap om i hvor stor grad ulike komponenter i olje og produsert vann i føde tas opp av fisk. Målet med dette arbeidet var å kvantifisere metabolisme og eventuelle effekter etter eksponering for utvalgte PAHer, alkylerte PAHer, alkylfenoler og to blandinger av alle stoffene hos torsk (*Gadus morhua*).

Metoder

Torsk ble ukentlig gitt føde med produsert vann komponenter. Fisken ble merket individuelt med pit-tags slik at de kunne følges opp mht til føring og kondisjon. Etter fire ukers eksponering ble fisken drept med et slag til hodet og prøve tatt av galle, plasma og lever. Konsentrasjonen av PAH metabolitter ble kvantifisert mot standarder med faste bølgelengder for pyren og med GC/MC etter dekonjugering for 2- og 3-ring PAHer, alkylfenoler og alkylerte 2- og 3-ring PAHer. Aktivitet og konsentrasjon av CYP1A i lever ble bestemt med katalytisk assay (EROD) og ELISA. Plasma-konsentrasjoner av østrogen-responsive markører (vitellogenin og zona radiata protein) ble bestemt med ELISA.

Resultater og konklusjoner

Resultatene viste at de fleste PAHene og alkylfenolene i føret ble tatt opp via tarmen og metabolisert. Antall metabolitter for hvert enkelt stoff varierte fra en til tre. De mest flyktige stoffene (fenol, naftalen) ble funne i alle prøver, også fra kontroll-fisk, mens mønsteret av metabolitter for alkylerte PAHer, 3-ringer og alkylfenoler var i god overensstemmelse med innholdet i føret for enkeltfisk. Behandlingen påvirket ikke hverken CYP1A i lever eller konsentrasjonene av østrogen-markører i plasma.

Resultatene viser at analyser av metabolitter i galle er et godt verktøy til å beskrive eksponering til PAHer og alkylfenoler via føden, men at metodene fungerer best for alkylerte PAHer og 3-ring PAHer.

TOX 14**Narkotika i miljøet**

GRUNG M, PAULL B*, BONES J*, LANGFORD K, THOMAS KV

NIVA, Gaustadalléen 21, 0349 Oslo, *Dublin University, Irland

mgr@niva.no*Bakgrunn*

Tilførsel av legemidler til miljøet har i de senere årene gitt opphav til bekymring. Avløpsvann har blitt identifisert som hovedkilde for tilførsel av legemidlene til miljøet. Legemidlene kan gjenfinnes i overflatevann, grunnvann og sedimenter, og konsentrasjonene varierer fra nanogram til mikrogram pr. liter. Også rusmidler kan gjenfinnes i avløpsvann, og dette har blitt rapportert fra Italia og UK (Bones *et al.* 2007; Zuccato *et al.* 2005). I den italienske undersøkelsen ble det gjenfunnet kokain og metabolitter av kokain, i tillegg til bl.a. morfin og amfetamin. På bakgrunn av disse analysene ble det beregnet hvor mye kokain som ble brukt i området som sognet til det aktuelle avløps-systemet. På bakgrunn av rapporterte brukerdata fra Norge ønsket vi å estimere hvor mye narkotika som slippes ut i avløpssystemene i Norge, samt å gjøre en sammenligning med målte mengder.

Material og metode

For å beregne estimerte miljøkonsentrasjoner (PEC) av narkotika, tok vi utgangspunkt i prevalensen av narkotikabruk i Norge. Denne er publisert av European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) (<http://www.emcdda.europa.eu>). For opiat er fant vi brukerprevalens fra UN drug report 2007 (UNODC, 2007). Informasjon om hvilke mengder som brukes i en typisk brukssituasjon, samt informasjon om typiske brukerdoser, fant vi i en rapport fra UK Home Office Online report (2006). Renheten på beslaglagte stoffer er basert på beslag av illegale stoffer (Kripos, Narkotikastatistikk 2006, <http://www.politi.no>). Til sammen gir dette en bakgrunn for å estimere hvor mye narkotika som slippes ut i avløpssystemene i Norge, samt hvilke konsentrasjoner vi kan forvente å finne i avløpsvann.

Resultat og diskusjon

Stoff	Brukerfrekvens (%) *	Antall brukere	Mengde som brukes pr dag	Brukerdose (g)	Renhet (2006)	Estimert utslipp (kg/år)	PEC (µg/L)
Cannabis	4,6	137 658	0,7 g (THC)			35 172	10,29
Opiater	0,4	11 970	2,09g	0,25	0,29	662	0,19
Amfetamin	1,1	32 918	9,71 points	0,1	0,43	4 871	1,43
Kokain	0,8	23 940	3,17 hits	0,1	0,38	1 053	0,31
Ecstasy	0,5	14 963	1,47 tabletter	0,1	1	803	0,23

* 15-65 år

Basert på disse estimatene, vil det med vanlig analyseteknikker være mulig å verifisere dette estimatet ved å analysere avløpsvann for disse komponentene. For kokain vil det bli presentert en sammenligning mellom estimerte konsentrasjoner og målte konsentrasjoner i avløpsvann.

Referanser

Bones, J., Thomas, K. V., and Paull, B. (2007). Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J Environ Monit* **9**, 701-7.

Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., and Fanelli, R. (2005). Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environmental Health* **4**, 14.

Postere – basal farmakologi**BF 1****Comparison of the *in vitro* inhibitory potential of six trade herbal products on CYP3A4 metabolism and P-glycoprotein efflux transport *in vitro***

HELLUM BH, NILSEN OG

Department of Cancer Research and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Norwegian University of Science and Technology (NTNU,) Trondheim, Norwaybent.h.hellum@ntnu.no

Introduction: The cytochrome P-450 (CYP) enzymes play important roles in the oxidation of a range of xenobiotics. CYP3A4 is qualitatively the most abundant of these enzymes, predominantly expressed in liver, but there is also a vast amount in the small intestine. CYP3A4 is involved in the metabolism of approximately 50% of all marketed drugs. P-glycoprotein is a drug efflux protein responsible for transporting xenobiotics out of cells. It is expressed in the cell membranes of epithelial cells in different tissues, also in the small intestine. CYP3A4 and P-gp share many substrates and inhibitors, they are functionally co-localized in the small intestine, and it is believed that they serve as a presystemic barrier, in order to limit the amount of xenobiotics gaining systemic access. The herbal products used in this study are all classified as natural herbal remedies by the Norwegian Medicine Agency, and are commonly used in Norway. The herb in each product is: St. John's Wort, Common Sage, Common Valerian, *Ginkgo Biloba*, *Echinacea Purpurea* and Horse Chestnut.

Aim of study: To evaluate and compare the inhibitory potential of the six trade herbal products on CYP3A4 metabolism and P-gp transport.

Methods: The herbal products are extracted in the same solvent used by the manufacturer. For P-gp experiments, each product was applied in three concentrations, covering the anticipated *in vivo* levels in humans. An extended range of concentrations was tested for CYP3A4 metabolism. Thirty nM ³H-digoxin was used as substrate for P-gp and verapamil was used as a positive control inhibitor. Transport of ³H-digoxin was measured for both Apical to Basolateral and Basolateral to Apical directions over 90 minutes and the samples were counted in a scintillation counter. Testosterone (0.1 mM) was used as substrate for CYP3A4. Ketoconazole was used as positive control inhibitor. Twenty nM CYP3A4 was incubated with herbs, co-factors and 0.1 mM testosterone for 10 minutes, and the formation of the metabolite 6-β-OH-testosterone was analyzed using HPLC. IC₂₅ and IC₅₀ values were calculated from inhibition plots.

Results: Both P-gp transport activity and CYP3A4 metabolism were affected by the herbs. *Ginkgo Biloba*, St. John's Wort and Horse Chestnut inhibited P-gp transport the most, with IC₅₀-values of 23.6, 77.9 and 139 µg/ml. St. John's Wort, Common Sage and *Ginkgo Biloba* were the most potent CYP3A4 inhibitors, with IC₅₀ values of 15.4, 483 and 668 µg/ml, respectively. Although all herbs had effect on both systems, there was no correlation between the inhibition of P-gp and CYP3A4, using IC₂₅-values as a basis, for the different herbs.

Conclusions: Both P-gp and CYP3A4 were inhibited by all the herbal preparations investigated, but no correlation was found between the two systems with respect to inhibition sensitivity. Besides St. John's Wort, the herbs *Ginkgo Biloba* and Common Sage are suggested to be the most probable herbs for possible *in vivo* drug interactions.

BF 2**Effekter av Rosenrot (*Rhodiola rosea*) på P-glycoprotein og CYP3A4 *in vitro***

*HØYBAKK K, *TØSSE A, **NILSEN T, *ENGDAL S, *HELLUM BH, ***ROHLOFF J, ***THOMSEN MG, *NILSEN OG

Institutt for kreftforskning og molekylær medisin*, *Institutt for sirkulasjon og bildediagnostikk, Det Medisinske Fakultetet (DMF)*, ****Institutt for biologi, Fakultetet for naturvitenskap og teknologi, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU), Trondheim, Norge.* **** *Norsk institutt for planteforskning, Bioforsk avd. Øst. Kise, Nes på Hedemark*

kathrih@stud.ntnu.no

Problemstilling: Bruken av naturlegemidler og naturmidler er i sterk vekst både nasjonalt og internasjonalt. Rosenrot er en populær urt og det omsettes i dag like store mengder av denne som av Ginseng. I Norge er den vanlig i så vel kyststrøk som i fjellområdene. Finnes ellers i fjellområder i Finland og Sverige, samt i Nord Amerika, Grønland, Europa og Asia. Den blir benyttet for å fremme kroppens fysiske og mentale prestasjonsevne og tilhører klassen av de såkalte adaptogene planter. Det vil si at de aktive virkestoffene i Rosenrot tilpasser virkningen etter kroppens behov, samt at den oppfyller flere fastsatte kriterier. Naturlegemidler, som for eksempel Johannesurt, har vist seg å inhibere og indusere både P-glycoprotein (P-gp) og Cytokrom P450 3A4 (CYP3A4) *in vitro*, hvilket har vist seg å ha betydning for farmakokinetikken av flere legemidler *in vivo* ved samtidig dosering. Vi var derfor interessert i å undersøke om Rosenrot kan ha noen av de samme *in vitro* virkningene og om Rosenrot effekten var avhengig av vekststedet.

Metode: Effekten på P-gp og CYP3A4 ble undersøkt for åtte kloner av Rosenrot. Disse stammer fra ulike steder i Norge og er dyrket ved Bioforsk Øst, Kise på Hedemark. Rhizom delen av klonene ble ekstrahert med 96% etanol, fordampet til tørrhet, veid og løst i 50% etanol. For å undersøke hemmerpotensialet av P-gp *in vitro* har vi benyttet et monolag av polariserte Caco-2 celler. Transporten av P-gp substratet Digoxin, 30nM ³H-Digoxin (21.8 µCi/mmol), gjennom celledlaget ble målt etter 90 minutter. Seks ulike konsentrasjoner (0,05µg/mL - 1000µg/mL) av hver Rosenrot klon ble undersøkt. 100µM Verapamil og 77,9µg/mL Johannesurt ble begge benyttet som positive inhiberingskontroller. Levedyktigheten, paracellulær transport og celle integritet ble målt og kontrollert av henholdsvis MTT-assay, mannitol transport og TEER målinger.

Hemmer potensialet av Rosenrot klonene på CYP3A4 metabolismen ble undersøkt ved seks ulike konsentrasjoner (0,5µg/mL - 10µg/mL) av Rosenrot. Testosteron ble brukt som CYP3A4 substrat og dannelsen av 6-β-OH-testosteron ble kvantifisert ved hjelp av High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). Ketoconazol og Johannesurt ble brukt som positive inhiberingskontroller.

Resultat: Rosenrot har en markant inhiberende virkning på både P-gp og CYP3A4. Basisaktiviteten for transport av Digoxin gjennom Caco-2 membranen var 24 nmol/cm²/time og en 50% hemming (IC₅₀) ble funnet ved Rosenrot-konsentrasjoner omkring 3 µg/mL. Basisaktiviteten for dannelsen av 6-β-OH-testosteron 357nmol metabolitt/(nmol CYP*min) og IC₅₀ ble funnet ved Rosenrot konsentrasjoner omkring 7 µg/mL.

Konklusjon: Rosenrot synes å ha sterk inhiberende virkning på både P-gp og CYP3A4, hvilket en bør være oppmerksom på ved et samtidig inntak av Rosenrot og legemidler som er P-gp og/eller CYP3A4 substrat.

BF 3**The impact of Aloe vera juice on P-glycoprotein transport of digoxin in Caco-2 cells**

DJUV A, NILSEN OG

Department of Cancer Research and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norwaydjuv@stud.ntnu.no**Problem**

The latest year's drug-herb interactions are taken more and more seriously. There are discovered severe pharmacokinetic interactions between life saving drugs and common herbs (e.g. Cyclosporine and St. John's wort). Aloe vera (*Barbadensis*) is an old medicine plant used as a topical and oral therapeutic against many illnesses, as well as in a myriad of cosmetic products. This herb is expected to achieve a further heavy increase in trade. The aim of this study was to determine if Aloe vera juice (AVJ) possesses any effect on P-glycoprotein (P-gp) mediated drug transport *in vivo*.

Method

Bidirectional [³H]-digoxin (30 nM, 23.4 µg/L) fluxes across Caco-2 monolayers were determined for digoxin alone (reference control), in the presence of a positive inhibitor control, verapamil (100 µM), or seven AVJ concentrations (0.00001-1.0 mg/ml), the latter range anticipated to cover physiological relevant concentrations. The juice was evaporated to dryness and redissolved in water and DMSO (1%). AVJ and substrate toxicity was evaluated by the tetrazolium bromide (MTT) assay, based on intracellular lactate dehydrogenase (LDH) activity. Transport linearity, transepithelial electrical resistance (TEER) and mannitol (55 µM) transport were measured to secure cell integrity and quality. Only monolayers with TEER values > 200 Ω/cm² and mannitol < 1.0 × 10⁻⁶ cm/s were included. The apparent permeability coefficient (P_{app} (cm/s)), net P_{app} (P_{app}Net (cm/s)) and the net flux (J_{Net} (nmol/h/cm²)) were determined for the digoxin transport.

Results

The mean digoxin J_{Net} when co-incubated with AVJ at seven different concentrations was 1.6±0.11×10⁻³ nmol/h/cm² while the control, digoxin alone, was 1.4±0.14×10⁻³ nmol/h/cm², hence no significant difference. The digoxin J_{Net} with the inhibitor control verapamil added was 0.3±0.07×10⁻³ nmol/h/cm², statistically significant lower than the control. The same patterns were found also for P_{app} and P_{app}Net values for digoxin transport. All quality measurements (transport linearity, TEER and mannitol) were within accepted limits. Digoxin caused a linear concentration-dependent reduction of lactate dehydrogenase (LDH) activity, up to 60 % at 5.0 µM, statistically significant at concentrations ≥ 3 µM. AVJ showed cytotoxicity only at the highest concentration applied (10.0 mg/ml).

Conclusions

The quality and integrity of the Caco-2 cell system was satisfactory during the AVJ inhibition studies. It is advised, however, to take precautions when concentrations of digoxin ≥ 3 µM are used in this cell culture. AVJ did not inhibit the P-gp efflux of digoxin in the investigated AVJ concentration range, and an *in vivo* inhibition of P-gp mediated digoxin flux by AVJ, might seem unlikely.

BF 4**Displacement of bilirubin from albumin by Chinese herbs and ibuprofen. Method development and clinical views**

§SOLIGARD H, #CAO C, *BRATLID D, §NILSEN OG

§*Department of Cancer Research and Molecular Medicine, * Department of Laboratory Medicine, Children's and Women's Health, Faculty of Medicine, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norway, #Chinese Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, China*

hanneteg@stud.ntnu.no

Introduction: Albumin has been identified as the main binding protein for acidic drugs in human serum. Displacement of drugs from plasma proteins by herbs or other drugs will increase the free fraction of the drug. Bilirubin is also highly bound to human serum albumin. Some Chinese herbal medicines, sulfisoxazole and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) like and ibuprofen, have been reported to displace bilirubin from its binding site on albumin, thus increasing the free unbound bilirubin serum levels *in vitro*. High bilirubin levels are often seen in newborns and are the cause of jaundice (hyperbilirubinemia). If untreated, jaundice together with increased free fractions of bilirubin could potentially cause, among other effects, encephalopathy (kernicterus) because of the fat soluble properties of bilirubin and the only partially developed blood-brain barrier of the newborn. The purpose of this study is to investigate the bilirubin-albumin displacement potential of four selected Chinese herbs probably soon available in Europe, and ibuprofen which is currently being used on newborns.

Method: Plasma samples from 279 newborns (sick and healthy, preterm and term, boys and girls) were pooled and collected at St. Olavs hospital in Trondheim, Norway between October 2006 and April 2007. Bilirubin measurements (total and free) were performed with an UB-Analyzer, based on the peroxidase method. The Chinese herbal extracts LZX-A (C₃₈H₄₄N₂O₆, MW: 646 g/mol), QTJ (C₁₉H₂₃NO₄, MW: 329 g/mol), YHS (C₂₁H₂₅NO₄, MW: 355 g/mol) and SQZG (MW: 932 g/mol), all with purities ≥ 97%, were a gift from China Academy of Chinese Medical Sciences (CACMS), Institute of Chinese Materia Medica, Beijing, China. Ibuprofen sodium salt was provided by Sigma Aldrich and Sulfisoxazole with a purity ≥ 99.0 % was chosen as a positive displacement control based on its well known displacement potential of bilirubin from human albumin, both *in vitro* and *in vivo*.

Results: The basic total and free concentrations of plasma bilirubin were 10.3±0.13 mg/dl and 0.63±0.03 µg/dl, respectively. Sulfisoxazole (plasma concentration: 350 µg/ml) increased the free bilirubin plasma concentration by 87.3 %. No displacement effects were found on bilirubin for any of the Chinese herbs when added at anticipated therapeutic levels and 10 to 100 times these concentrations. Ibuprofen (plasma concentrations of 0, 100, 200, 300, 400, 600 µg/ml) increased the free bilirubin in a linear dose related manner from 0 % to 59 %. A double reciprocal plot indicated a competitive displacement of bilirubin from human serum albumin.

Conclusions: None of the four investigated Chinese herbal extracts displaced bilirubin from its plasma albumin binding sites in newborns, and will as such probably not cause encephalopathy. However, free bilirubin should in general be more frequently monitored in plasma of the newborns. Ibuprofen, and probably also other drugs, should be paid more attention due to its potential to displace bound bilirubin from albumin binding sites. Further knowledge is necessary to fully understand these effects of Ibuprofen in the newborns.

BF 5**Identification of herb-drug combinations used by cancer patients**

*ENGDAL S, **KLEPP O, *NILSEN OG

*Department of Cancer Research and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Norwegian University of Science and Technology (NTNU) Trondheim, Norway and **Dep. of Oncology, Sunnmøre public hospital enterprise, Ålesund hospital, 6026 Ålesund, Norway
Silje.engdal@ntnu.no

Introduction: Herbal use is increasing among cancer patients. Although some herbal remedies, as St John's Wort, are known to cause clinically relevant herb-drug interactions, the knowledge on such interactions is insufficient. To prioritize research in the field it is important to know which herb-drug combinations that are used. Therefore, the aim of this survey was to register the herbal use among Norwegian cancer patients and to identify herb-chemotherapy combinations used.

Method: A cross-sectional descriptive survey was performed at two out patient clinics in a rural area on the west coast of Central Norway in the period mars 2006 – mars 2007. One hundred and twelve adult (>18 years old) cancer patients currently undergoing chemotherapeutic treatment answered the questionnaire after giving a written informed consent.

Results: Herbal remedies were used concurrent with chemotherapeutic treatment by 42 (38 %) of the patients. Green tea (15), Garlic (11) and Noni Juice (6) were most popular. We identified 101 different (136 in all) two agent herb-drug combinations, giving a mean of 3.2 (95 % CI 2.43-4.05, range 1-12) combinations pr patient. Garlic (13), Green tea (11), Ginger (10) were most often part of combinations. Among the combinations involving the top 5 herbal remedies 48 % had theoretical evidence for possible pharmacokinetic herb-drug interactions. Few clinical studies have, however, been performed for evaluating the clinical relevance of these.

Conclusion: This survey showed that cancer patients often use herbal remedies concurrent with chemotherapy. *In vitro* knowledge is available for some of the most frequently used combinations, but research on the clinical relevance is lacking. Therefore, our knowledge on the interaction potential of herbal remedies with chemotherapeutic agents should be increased by both *in vitro* investigations, but more important, also by clinical studies.

BF 6**Mycophenolic acid vs IMPDH –pharmacodynamics to the next level?**

BRODTKORB E, BREMER S, ROOTWELT H, VETHE NT, BERGAN S.

Dept. of Medical Biochemistry, Rikshospitalet University Hospital; Institute of Clinical Biochemistry, University of Oslo; 0027 Oslo

else.brodtkorb@rikshospitalet.no

Objective: The objective of the present study is to investigate the detailed mechanism of the immunosuppressant mycophenolic acid (MPA) as an inhibitor of inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH). The results of our recent research on the pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenomics of the MPA –IMPDH relationship, indicate that the effects of MPA are rapid, rapidly reversed and significant at very low doses. On the other hand, the findings reported by Ji et al, suggest that inactivation of IMPDH may be mediated by MPA induced formation of intracellular macroaggregates of IMPDH protein. We wanted to test whether this hypothesis is compatible with our observations of MPA concentrations and IMPDH inhibition in clinical samples.

Method: In the in vitro experiments, cultured cells (COS-1) were transfected with hemagglutinin (HA)-tagged IMPDH gene constructs, incubated with MPA and investigated for macroaggregates by immunofluorescence microscopy. Briefly, gene constructs of the isoenzymes IMPDH1 (variants) and IMPDH2 were amplified, HA-tagged and cloned into the expression vector pCR3.1/V5-His-TOPO. After sequence confirmation, the constructs were transfected into COS-1 cells, using TransFast Transfection Reagent (Promega). Successful transfection was confirmed by IMPDH enzyme activity measurement. Cells in exponential growth were incubated with MPA 0 to 6µmol/L for 2 to 4 hrs. Transfected IMPDH was stained using mouse monoclonal anti-HA primary antibody and goat anti-mouse secondary antibody with Alexa 594, and visualized by fluorescence microscopy.

Results: In cells with high expression of HA-tagged IMPDH variants, fluorescent microscopy revealed IMPDH macroaggregates that were qualitatively different in cells exposed to MPA and control cells, respectively.

Conclusions: Using cultured cells, transfected to high expression of HA-tagged IMPDH gene variants, we have confirmed that macroaggregates of IMPDH proteins are formed when these cells are exposed to MPA.

Further experiments including clinical samples from transplanted patients exposed to MPA, are planned as a follow up to the findings reported here. These studies may confirm whether the observed molecular mechanisms of MPA on its target enzyme IMPDH does contribute to the inhibition of the enzyme activity.

References

1. Ji Y, Gu J, Makhov AM, Griffith JD, Mitchell BS, 2006, J Biol Chem 281, 206-12.
2. Vethe NT, Mandla R, Line PD, Midtvedt K, Hartmann A, Bergan S, 2006, Scand J Clin Lab Invest 66, 31-44.
4. Bremer S, Mandla R, Vethe NT, Rasmussen I, Rootwelt H, Line PD, Midtvedt K, Bergan S, 2008, Transplantation 85, in press.

BF 7**Stimulation of JNK activity by agonists activating G_q-protein-coupled receptors in hepatocytes is independent of Ca²⁺ and protein kinase C**AKHTAR K^{1,2}, THORESEN G H², CHRISTOFFERSEN T¹ and SANDNES D¹¹Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and ²Institute of Pharmacy, University of Oslo, P.O Box 1057 Blindern, 0316 Oslokanwala@student.matnat.uio.no*Background*

Several agonists, including vasopressin, angiotensin II, norepinephrine, and prostaglandins, activate G_q-protein-coupled receptors in cultured rat hepatocytes, leading to activation of phospholipase C and downstream elevation of intracellular calcium and activation of protein kinase C (Dajani et al., 1996). We have previously found that these agonists stimulate the MAP kinase ERK by mechanisms that involve Ca²⁺ and protein kinase C (Dajani et al., 1999, Melien et al., 2002). Recently, we found that vasopressin also activated JNK activity in the hepatocytes (Sandnes et al., unpublished). The aim of the present study was to examine the pathways by which agonists acting on G_q-protein-coupled receptors in hepatocytes activate JNK.

Methods

Hepatocytes were cultured for 5 hours before stimulation with agonists. Activation of JNK was determined by western blotting and kinase assay as described earlier (Dajani et al., 1999, Dixon et al., 1999, Melien et al., 2002). The phospho-specific antibody used in western blotting was phospho SAPK/JNK (Cell Signaling Technology, England). The specific antibody used in the kinase assay was JNK-1 (Santa Cruz, USA), and c-Jun (Santa Cruz, USA) was the substrate.

Results

Phosphorylation of JNK, determined by western blotting, was sustained for at least five hours following vasopressin stimulation, and JNK activity, determined by kinase assay, was sustained for at least one hour. Angiotensin II, norepinephrine, and prostaglandin E₂ also stimulated JNK activity. JNK activity was also induced by thapsigargin, which elevates the intracellular Ca²⁺-level by inhibiting the SERCA pump. However, while chelation of extracellular Ca²⁺ inhibited thapsigargin-induced activation of JNK, vasopressin-stimulated activity was not affected. Stimulation of protein kinase C with TPA had no significant effect on JNK activity, and inhibition of protein kinase C with GF109203X did not affect vasopressin-stimulated activity.

Conclusions

Taken together, these observations suggest that G_q-coupled receptors stimulate JNK activity in the hepatocytes in a Ca²⁺- and PKC-independent manner.

References

- Dajani O F et al., 1996, J. Cell. Physiol. 168, 608-617
Dajani O F et al., 1999, Cell. Physiol. 180, 203-214
Dixon M et al., 1999, Hepatology 29, 1418-1424
Melien Ø et al., 2002, BMC Cell. Biol. 2002;3:5

BF 8**Somatic mutations in the GPCR-like protein Smoothened**

NORUM JH¹, NGUYEN C¹, LEVY FO¹ and MARAIS R²

¹*Department of Pharmacology, University of Oslo, P.O.Box 1057 Blindern, N-0316 Oslo, Norway*

²*Signal Transduction Team, Cancer Research UK Centre for Cell and Molecular Biology, The Institute of Cancer Research, 237 Fulham Road, London SW3 6JB, UK*

h.c.t.nguyen@medisin.uio.no

The Hedgehog (Hh) signalling pathway plays a central role during development, regulating cell fate and proliferation in a time- and position-dependent fashion. Insufficient Hh signalling during embryonic development may have dramatic consequences, e.g. resulting in holoprosencephaly. Recently, Hh signalling has been assigned roles in driving tumourigenesis and cancer development in several tissues. On the target cell of Hh signalling, in the absence of the Hh ligand, the membrane protein Patched (Ptch) represses the activity of the G protein-coupled receptor (GPCR)-like protein Smoothened (Smo). Upon Hh ligand binding to the receptor Ptch the repression of Smo is discontinued and signalling is initiated resulting in activation of the Gli transcription factors.

Uncontrolled activation of the Hh pathway has been reported to result in distinct cancers of the skin (basal cell carcinoma, BCC), brain (medulloblastoma) and muscle (rhabdomyosarcoma). Mutations in Smo occur in approximately 10-20% of sporadic BCCs. These mutations may be so called gain-of-function mutations resulting in constitutively active proteins and subsequent activation of the Hh pathway. Mutations in Smo have also been reported to occur in medulloblastoma. However, the function and role of these mutations have not been closely addressed.

In the Smo gene, to date 15 different mutations have been reported to occur in various types of cancers. Using various biochemical assays, e.g. gene reporter and differentiation assays, we have addressed the effect of 13 of these mutations on the signalling properties of Smo. In addition to the previously known W535L Smo mutation we have identified at least one mutation resulting in increased Smo signalling in the absence of the Hh ligand.

BF 9**Kjernereseptorar og hormonforstyrrende stoff: etablering av luciferase transfeksjonsassay for studier av ligandaktivering av human pregnan X reseptor (hPXR)**

SØRLAND GT¹, LILLE-LANGØY R¹, RUSTEN M¹, MALE R¹, MELLGREN G²,
GOKSØYR A¹

¹Molekylærbiologisk institutt, Universitetet i Bergen; ²Inst. for indremedisin, Universitetet i Bergen

Gunn-therese.sorland@student.uib.no

Det er kjent frå *in vitro* studiar at meir enn 40 - 50 % av markedsførte legemiddel blir metabolisert via cytokrom P450 3A4 enzymesystemet (Thummel and Wilkinson 1998). Ulike ligandar, både legemiddel og miljøgifter, kan binde kjernereseptoren hPXR og indusere transkripsjon av CYP3A4 enzym. Dette kan føre til interaksjonar mellom ulike miljøgifter og legemiddel. Av den grunn er det viktig med økt kunnskap om korleis hPXR blir aktivert og interagerer med andre kjernereseptorer for å regulere uttrykket av CYP3A4. T.d er det vist at nokon av PXR ligandane kan aktivere østrogen reseptor α (ER α) og det er kjent at østrogenligandar kan aktivere hPXR (Mnif et al. 2007). I denne masteroppgåva i farmasi ønskjer eg å undersøke korleis ulike ligandar og ligandkonsentrasjonar påvirker hPXR avhengig transkripsjon og korleis hPXR interagerer med ER α i et slikt system

Assaysystemet inneber subkloning av responselement for hPXR og ER α i ildflue og renilla luciferase vektorar som saman med ekspresjonsvektorar for hPXR og ER α vert transfektert inn i COS-1 celler som så vert eksponert for ligandar i ulike konsentrasjonar. Ved å kotransfekte renilla-luciferase plasmidet kan ein seie noko om transfeksjonsvariasjonar. Luciferaseaktivitet målast på eit luminometer. Når assaysystemet er etablert vil aktivering av hPXR verte undersøkt med både klassiske farmakologiske ligandar (rifampicin, hyperforin, pregnenolon-16a-carbonitril) og aktuelle miljøgifter og hormonforstyrrende stoff (eks. nonylfenol, bisfenol A, PCB og PBDE). Masteroppgåva inngår i prosjektet "Nuclear receptor targets for endocrine disrupting effects – mechanisms of action for emerging pollutants?" og her vil resultatata frå human PXR verte samanlikna med evna desse stoffa har til å aktivere PXR hjå andre artar, m.a. fisk, amfibia og sjøpattedyr.

Prosjektet er støtta av Noregs forskingsråd (NFR).

Referanser

Mnif, W., J.-M. Pascussi, et al. (2007). *Toxicology Letters* **170**(1): 19-29.

Thummel, K. E. and G. R. Wilkinson (1998). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **38**: 389-430.

BF 10**Neurotensin-induced intracellular signalling in HCT116 involves both epidermal growth factor receptor-dependent and -independent mechanisms**

MÜLLER KM, DAWOOD M, RAUDSTEIN IK, CHRISTOFFERSEN T and SANDNES D
Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Oslo
k.m.mueller@medisin.uio.no

Background

Neurotensin (NT) is a neuropeptide with actions both in the central nervous system and in the gastrointestinal tract, and acts on G protein-coupled receptors coupled to phospholipase C, NT1 and NT2. The aim of the present study was to examine signalling induced by NT in a human colon carcinoma cell line, HCT116.

Methods

DNA synthesis was estimated by measuring the amount of radioactivity incorporated into DNA. Accumulation of inositol phosphates was determined in cells labelled with [³H]inositol. Activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and Akt was determined by immunoblotting using phospho-specific antibodies.

Results

NT dose-dependently stimulated DNA synthesis and induced accumulation of inositol phosphates. Epidermal growth factor (EGF) did not stimulate DNA synthesis above basal levels and we did not detect any additive effect between NT and EGF on DNA synthesis. The proliferative response induced by NT was completely abolished by inhibiting protein kinase C (PKC) with GF109203X, whereas inhibiting the EGF receptor tyrosine kinase with gefitinib or AG1478 did not have any effect. Inhibition of mitogen-activated protein kinase kinase (MEK) with PD98059, or PI3 kinase (PI3K) with wortmannin, inhibited both basal DNA synthesis and DNA synthesis induced by NT.

NT stimulated phosphorylation of ERK. The effect was evident after one minute and lasted throughout the time investigated, 60 minutes. Phosphorylation of Akt induced by NT also lasted throughout the time investigated, but did not appear until three minutes after addition of the agonist. Addition of GF109203X reduced NT-induced ERK phosphorylation whereas no effect was seen on pAkt. Instead, activation of Akt was inhibited by adding gefitinib. No effect of gefitinib was detected on activation of ERK.

Conclusions

The results suggest that NT stimulates ERK activation in a PKC-dependent manner independent of EGF receptor activation, whereas NT-induced activation of Akt is dependent on transactivation of the EGF receptor. NT-stimulated DNA synthesis is mediated mainly through PKC-dependent activation of ERK independently of EGF receptor activation. However, PI3K-activity appears to be required for optimal DNA synthesis.

BF 11**Increased nitric oxide in heart failure cardiomyocytes during hypoxia-reoxygenation and noradrenaline exposure**

SHARIKABAD MN, AASS HCD, LUND K, HAUGEN E, ARONSEN M, SJAASTAD I, SEJERSTED OM and BRØRS O

Ullevål universitetsklinikk

m.n.sharikabad@medisin.uio.no

Purpose: The role of nitric oxide (NO) in heart failure is debated as it could either promote or prevent cellular damage during stress. The aim of the present work was to investigate NO levels during hypoxia-reoxygenation or noradrenaline stimulation of cardiomyocytes from rats with congestive heart failure (CHF) following myocardial infarction.

Methods: Myocardial infarction was induced in Wistar rats by ligation of the left coronary artery during isoflurane anesthesia. After 6 weeks, the rats had developed CHF. SHAM-operated animals (SHAM) were subjected to the same surgical procedures, but not coronary ligation. Cardiomyocytes were isolated by Langendorff perfusion with collagenase and trypsin, the cells were grown for 24 hours and subsequently exposed to 4 hours of hypoxia and 15 min of reoxygenation or stimulation with 10 μ M noradrenaline for 1 h. Cell viability and NO were determined by flow cytometry after trypsin detachment, using propidium iodide and 4,5-diaminofluorescein diacetate (DAF-2 diacetate), respectively. DAF-2 diacetate is membrane permeant and is deacetylated by intracellular esterases to 4,5-diaminofluorescein (DAF-2). Mean DAF-2 fluorescence signal of each sample was normalised to normoxic non-treated SHAM values from the same experiment.

Results: DAF-2 fluorescence was 30 % higher in CHF cells than in SHAM cell during normoxia ($p < 0.05$). DAF-2 fluorescence was significantly higher in CHF cells compared to SHAM cells after hypoxia-reoxygenation (216 % vs. 134 %, $p < 0.05$) and noradrenalin exposure (162 % vs. 113 %, $p < 0.05$). CHF and SHAM cell viability was similar in normoxia (12 % and 10 % dead cells, respectively). There were significantly fewer dead cells in CHF compared to SHAM after 4 h of hypoxia and 15 min of reoxygenation (25.6 % versus 34.6 %, $p < 0.05$).

In conclusion, CHF cardiomyocytes have higher NO levels during normoxia, after hypoxia-reoxygenation and after noradrenaline exposure. This was associated with fewer dead CHF cells after exposure to hypoxia-reoxygenation compared to SHAM cells. NO may have a role in hypoxia-reoxygenation tolerance in CHF cardiomyocytes.

BF 12**Determination of heroin and the metabolites in blood by LC-MS/MS**

RIPEL Å, HASVOLD I, KARINEN R, ANDERSEN JM and CHRISTOPHERSEN SA
 Nasjonalt folkehelseinstitutt, Divisjon for retts toksikologi og rusmiddelforskning, Postboks 4404
 Nydalen, 0403 OSLO
Ase.Ripel@fhi.no

Introduction

The purpose of this project was to make a sensitive method for determination of heroin (diacetylmorphine) in blood. Heroin is very unstable in human blood and is rapidly hydrolysed to 6-monoacetylmorphine (6-MAM) and morphine (MOR), and finally conjugates to morphine-6-glucuronide (M6G) and morphine-3-glucuronide (M3G).

Methods

Blood sample tubes were added fluoride before sample collection to inhibit the blood esterase activity and to stabilise heroin. After collection, the blood samples were immediately mixed with ice cold 5mM ammoniumformate buffer (pH 3.1) Blood samples were mixed with ice-cold acetonitrile/methanol and centrifugated before evaporated to dryness and redissolved in mobile phase. The opiates were separated on a XTerra® MS C18 column using gradient elution with a mobile phase consisting of acetonitrile and 5 mM ammonium formate buffer (pH 3.1). The analysts were monitored on a triple quadrupole liquid chromatography mass spectrometer (LC-MS/MS) equipped with an ES (electro ion spray) source operated in the positive ionisation and multiple reaction monitoring (MRM) mode. The calibration standards for heroin were handled separately from the metabolites to investigate the stability of heroin during sample preparation and analyse.

Results

The results for limits of detection (LOD), limits of quantification (LOQ) and precision are presented in the table. The accuracy and precision were evaluated at three concentration levels for the different compounds.

Substance	MRM (m/z)	LOD (µg/l)	LOQ (µg/l)	Intra-day SD (%)
Heroin	370.0 > 268.0	1.5	3.8	5.7 - 10.2
6-Monoacetylmorphine	328.0 > 211.0	0.2	0.2	1.0 - 5.2
Morphine	286.0 > 201.0	0.4	1.0	1.8 - 4.1
Morphine-6-glucuronide	462.0 > 286.0	0.7	1.7	1.5 - 1.9
Morphine-3-glucuronide	462.0 > 286.0	1.0	2.8	1.4 - 2.7

Conclusion

The routines established to prevent hydrolysis of heroin during sample preparation and analysis by using fluoride, to prevent the esterase effect, combined with immediately storage at low temperatures and low pH, resulted in that less than <10% of heroin in the calibration standards were hydrolysed to 6-MAM.

A LC-MS/MS method with high precision, selectivity and sensitivity for analysis of heroin and the major metabolites 6-MAM, MOR, M6G and M3G in blood has been developed.

BF 13**Effekter av morfin metabolittene morfin-6-glukuronid (M6G) og morfin-3-glukuronid (M3G) på dopamin frisetting i nucleus accumbens**

GOTTÅS A, VINDENES V, PETTERSEN B, LIENG N, BOIX F, MØRLAND J
 Avd. for rusmiddelforskning, Nasjonalt folkehelseinstitutt, Pb 4404 Nydalen, 0403 Oslo
andrego@bio.uio.no

Problemstilling: Rusmidler (for eksempel heroin og morfin) aktiverer dopaminergiske nevroner i hjernes ventrale tegmentale området (VTA). Aktivering av disse nevroner fører til dopamin frisetting i "Nucleus accumbens" (NA). Dette er et viktig ledd i atferds belønning /forsterknings prosesser, som medierer ønske om å bruke rusmiddelet igjen, og kan føre til rusmisbruk. Heroin metaboliseres raskt etter administrasjon til 6-monoacetylmorfin (6MAM), Morfin, M3G og M6G. Flere studier antyder at heroins ruseffekt blir mediert via disse.

På vårt institutt er det vist at M6G, som Morfin og andre rusmidler, også har en belønnende effekt, som målt i en dyreatferdsmodell ("Conditioned Place Preference" (CPP)), og derfor har et avhengighets potensial. M3G viser ingen belønnende effekt, men derimot en aversjons tendens i CPP modellen, i tillegg til interaksjon med morfin og M6G.

I denne studie ønsker vi å studere dopamin frisetting i NA etter morfin, M6G og M3G administrering. Endringer i ekstracellulær nivået av dopamin kan måles ved implantering av en mikrodialysesonde i NA på mus (C57BL6). Dialysesonden består av en semipermeabel membran som har en kontinuerlig gjennomstrømning med en fysiologisk saltløsning. Ekstracellulært dopamin diffunderer over mikrodialysemembranen i henhold til konsentrasjonsgradienten. Slik kan prøver samles opp i bestemte tidsintervall, og forandringer i dopamin frisettingen følges.

Metode: 1-2 dager før mikrodialyse, implanteres en "guid kanyle" i NA. Analyse dagen føres dialysesonden inn i NA via kanylen. Basalnivået av dopamin måles i 80minutter før musene får administrert morfin (10 eller 30 $\mu\text{mol/kg}$), M6G (10 eller 30 $\mu\text{mol/kg}$) eller M3G (50 eller 100 mmol/kg). Deretter måles dopamin i 3timer. Hver prøve består av dialysat samlet i 20minutter. Dopamin blir så analysert ved HPLC med elektrokjemiske deteksjon. Musene avlives kort tid etter siste prøve, hjernen tas ut og fryses straks ned. Disse benyttes senere til histologisk analyse av hjernesnitt, som kontroll på at sonden er plassert i NA.

Resultater: Administrering av M6G gir en økning av ekstracellulært dopamin på 75 - 125 % over basalnivå. Den markante økningen ses 20min etter administrering, og holder seg forholdsvis stabilt på dette nivået i 160min.

Morfin gir økning av dopamin, noe forsinket i forhold til M6G. Økningen kommer gradvis til 50 % over basalnivå i løpet av de første 60min, for så å stige opp til verdier rundt 75 - 100 % økning den resterende tiden.

Foreløpige resultater for M3G viser ingen eller en minimal økning, mindre en 50 %, i dopamin.

Konklusjon: M6G, i likhet med morfin, medfører frigjøring av dopamin i NA, og dette kan forklare den belønnende/forsterkende effekten M6G har vist seg å ha i CPP modellen. Fravær av en økt dopaminfrisetting ved M3G administrering vil kunne forklare at M3G ikke viser belønnings/forsterknings egenskaper i CPP modellen.

BF 14**Does the heroin metabolite morphine-3-glucuronide, play a role in the development of heroin addiction?**

VINDENES V, HANDAL M, RIPEL Å, THAULOW CH, SKURTVEIT S, BOIX F, MØRLAND J

Norwegian Institute of Public Health, Division of Forensic Toxicology and Drug Abuse
vigids.vindenes@fhi.no

Background and aim

Heroin is metabolized to morphine and subsequently to morphine-6-glucuronide (M6G) and morphine-3-glucuronide (M3G), which reach higher concentrations than morphine. In pain models M3G has been considered inactive or an antagonist, but its role in development of heroin/morphine addiction is unknown. M6G has analgesic and probably reward activity. Conditioned Place Preference (CPP) and behavioural sensitization are two models that are central in drug abuse research. CPP is an important model to study the reinforcing properties of drugs of abuse, but aversive (CPA) properties can also be investigated.

Behavioral sensitization is a progressive and persistent increase in the psychomotor response following repeated, intermittent drug exposure. Many drugs of abuse induce behavioral sensitization and this phenomenon is thought to be linked to central aspects of drug addiction such as drug craving and the persistence of compulsive drug seeking behavior. Behavioral sensitization is often assessed in terms of locomotor activity.

Previously we have shown that M3G does not induce LA, but influences morphine and M6G induced LA. The aim of this study was to explore M3Gs role in CPP and sensitization models.

Methods

Behavioural sensitization: In the sensitization model mice (n=32) received three sc injections at six days interval. The two first injections were either saline, M3G or M/M6G, while the third injection was either morphine or M6G. LA was registered for 240 min. ANOVA and t-test was used for statistically analysis of CPP and LA, respectively.

CPP was investigated for M3G in C57BL/6J-Bom mice (n=87), using an unbiased 2 compartment paradigm with different conditioning procedures. CPP was recorded on the 4th day, after 3 consecutive days with conditioning and recording of LA.

Results

Behavioural sensitization: One injection of M3G did not increase LA, but the second injection resulted in a sensitized response (fig 1). M3G induced LA sensitization to morphine (fig 2) but not to M6G (fig 3).

CPP: A tendency of CPA was seen for mice conditioned for 20 minutes immediately after injections with 100 or 400 µmol/kg M3G (fig 4). Treatment with 400 µmol/kg M3G induced CPP when injections were delayed for 15 minutes before the 20 minutes conditioning sessions (fig 5).

Conclusion

A high M3G concentration is obtained after heroin/morphine administration. Taken together with the fact that it induces morphine sensitization, although probably aversive, this indicates that it might be of importance in the development of addiction. The mechanisms are unknown, and probably complex.

Postere – klinisk farmakologi**KF 1****Bivirkningskasuistikker og sikkerhetsprofil for linezolid**

WESTERGREN T, STENBERG-NILSEN H

Regionalt legemiddelinformasjonsenter (RELIS Sør), Rikshospitalet, Oslo

tone.westergren@rikshospitalet.no

Problemstilling: I spontanrapporteringsystemet for bivirkninger er det mottatt rapporter om polynevropati og muskelsvinn, assosiert med eksponering for linezolid (Zyvoxid®, Pfizer). Enkelte meldinger gjaldt svært syke pasienter med multiorgansvikt, der polynevropati og myopati var en viktig medvirkende årsak til langvarige og kompliserte intensivopphold.

Kasuistikker: Det beskrives tre pasienter med multiorgansvikt, herunder redusert nyrefunksjon og alvorlig lungesviktsyndrom (ARDS), som ble behandlet med blant annet linezolid. Alle pasientene fikk svær polynevropati og massivt muskelsvinn kort tid etter eksponering. Linezolidbehandlingen varte i fra 6-21 dager med dosering 600 mg x 2 (to pasienter) og 600 mg x 3 (en pasient). Etter nedtrapping av sederende behandling ble det bemerket en påfallende immobilitet. Det ble påvist en aksonal polynevropati og myopati som i to av tilfellene vedvarte i flere måneder. To av pasientene er senere døde på grunn av organsvikt og en pasient er i live med sekvele, etter langvarig respiratorbehandling.

Diskusjon: Pasientene hadde flere risikofaktorer for aksonal nevropati og ble behandlet med flere legemidler, deriblant linezolid. Linezolid er et relativt nytt antimikrobielt middel som hindrer dannelse av funksjonelle ribosomer og hemmer bakteriell proteinsyntese. Mitokondrier hos pattedyr kan være sårbare fordi de har proteinsyntese og ribosomer som kan ligne de man finner hos bakterier. I materiale fra mennesker og dyr er det påvist direkte hemming av mitokondriell proteinsyntese og forstyrret cellulær energiproduksjon. Linezolid er kjent for å kunne forårsake nevropati, i første rekke optikusnevropati. Mulige risikofaktorer, som genetikk, organfunksjon etc. er ikke fullstendig kartlagt, men det er sett en økt forekomst av bivirkninger hos alvorlig syke pasienter. I preparatomtalen sies det at dosejustering ved nyresvikt ikke er nødvendig fordi AUC for aktiv substans ikke øker. Pasientene som beskrives her fikk derfor ikke redusert dosen. På den annen side vil nyresvikt øke eksponering for metabolitter i stor grad, men det kliniske betydningen av dette er ikke kjent. Nyresvikt øker blant annet risikoen for trombocytopeni. Det er sett en stor farmakokinetisk variasjon hos kritisk syke, respiratorbehandlede pasienter. For å redusere risiko for bivirkninger er det fastsatt flere forsiktighetsregler, blant annet en maksimal behandlingstid på 28 dager og forsiktighet ved nyre- og leversvikt.

Konklusjon: Linezolid kan gi nevrologiske bivirkninger. Pasientene som beskrives her hadde flere risikofaktorer for nevropati, slik at årsakssammenhengen ikke kan fastslås med sikkerhet. Det er mistanke om at legemidlet har medvirket til dødsfall og langvarig sykehusopphold og intensivbehandling. Meldingene gjaldt et nytt preparat, der den kliniske erfaringen er begrenset. Det ble gitt til pasienter med multiorgansvikt, som fikk den mulige bivirkningen etter kort tids behandling.

KF 2**Nevrologiske bivirkninger av TNF-alfahemmere**

STENBERG-NILSEN H, WESTERGREN T

Regionalt legemiddelinformasjonscenter (RELIS Sør), Rikshospitalet, 0027 Oslo

tone.westergren@rikshospitalet.no

Problemstilling

Til spontanrapporteringssystemet ble det i Norge i 2006 mottatt én bivirkningsmelding om en pasient som utviklet Miller-Fisher syndrom etter å ha blitt behandlet med efalizumab (Raptiva®, Serono Europe Ltd, Storbritannia) mot psoriasis.

På bakgrunn av den norske bivirkningsmeldingen foretok EUs legemiddelmyndigheter (EMA) en gjennomgang av litteratur- og bivirkningsdatabaser for å se etter rapporter om liknende reaksjoner (Guillain Barré syndrom, akutt inflammatorisk polyradikulonevropati). Man identifiserte seks, muligens syv, tilfeller på verdensbasis.

Kasuistikk

Det beskrives en pasient (mann, 70 år) med invalidiserende psoriasis som fikk behandling med efalizumab med utmerket effekt og uten åpenbare bivirkninger. Etter ca. to måneders behandling ble han forkjølet, og behandlingen ble midlertidig stoppet. Noen uker senere fikk han svimmelhet, diplopi og problemer med å gå. Han ble innlagt på sykehus og man stilte etter hvert diagnosen alvorlig progredierende Miller-Fisher syndrom. Pasienten fikk plasmaforesebehandlinger og senere opptrening. Omtrent et halvt år etter var han i bedring, men ikke fullstendig restituert.

Diskusjon

TNF-alfahemmere kan gi nevrologiske bivirkninger som demyeliniserende sykdommer (multippel sklerose, Guillain-Barré/Miller-Fisher syndrom med flere), CNS-manifestasjoner av systemisk vaskulitt, kramper og meningitt. Bivirkningene antas å være mindre vanlige eller sjeldne, og ved seponering av legemidlet blir pasientene bedre eller fullstendig restituert. De fleste rapportene foreligger som enkeltkasus, og dokumentasjonen er derfor begrenset. I kliniske studier med disse legemidlene var gjerne behandlingstiden for kort eller pasientantallet for lite til å kunne avsløre sjeldne bivirkninger eller bivirkninger som oppsto etter lang behandlingstid (senbivirkninger).

Pasienten hadde flere risikofaktorer for å utvikle Miller-Fisher syndrom; både behandling med et legemiddel som kan gi denne typen bivirkning og virusinfeksjon. Det er kjent at forutgående infeksjon eller influensavaksinasjon kan utløse Guillain-Barré/Miller-Fisher syndrom.

Konklusjon

Pasienten som beskrives i den norske bivirkningsmeldingen her hadde flere risikofaktorer for å utvikle Miller-Fisher syndrom, og sammenheng med bruk av efalizumab kan derfor ikke fastslås med sikkerhet.

Meldingen gjaldt et nytt preparat, der den kliniske erfaringen er begrenset. En EU-gjennomgang viste at det er rapportert noen få liknende tilfeller på verdensbasis.

KF 3**Høyere følsomhet for statinindusert myotoksisitet hos pasienter med påvist statininduserte bivirkninger enn i friske frivillige undersøkt i humane skjelettmuskelceller *in vitro***

SKOTTHEIM IB, HOEL K, GEDDE-DAHL A, ÅSBERG A

Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo, Postboks 1068 Oslo, Norge

i.b.skottheim@farmasi.uio.no*Problemstilling*

HMG-CoA reductasehemmere (statiner) er kolesterolsenkende legemidler. De tolereres generelt godt, men en signifikant andel av pasientene utvikler muskelbivirkninger. Mekanismen bak den statinutløste myotoksisiteten er ikke fullt utredet, men kliniske data indikerer økte plasmanivåer av laktonformen hos pasienter med myopati sammenlignet med friske frivillige. *In vitro* viser også laktonformen av statinene høyere myotoksisk potensial sammenlignet med syreformene.

Metode

Primære humane skjelettmuskelceller, fra henholdsvis friske frivillige og pasienter diagnostisert med statin induserte muskelbivirkninger, ble inkubert med økende konsentrasjoner av henholdsvis syre og laktonform av atorvastatin og simvastatin. Etter inkubasjon i 24, 48 eller 72 timer, ble cellene farget med fluorescerende stoffer og forskjeller i levende og døde celler kvantifisert.

Resultater

Atorvastatinsyre ($p < 0.001$) og -lakton ($p = 0.016$) samt simvastatinsyre ($p = 0.004$) induserte signifikant større grad av myotoksisitet på muskelceller fra pasienter med statininduserte muskelbivirkninger sammenlignet med muskelceller fra friske frivillige. Simvastatinlakton har et høyere myotoksisk potensiale enn atorvastatinsyre og -lakton og simvastatinsyre, men det ble ikke påvist noen forskjell i myotoksisitet av simvastatinlakton mellom pasienter med statininduserte muskelbivirkninger og friske frivillige ($p = 0.844$).

Konklusjoner

Den kliniske betydningen av resultatene er ikke kjent, men indikerer at muskelceller fra pasienter med påvist statininduserte muskelbivirkninger, har en genotype som i cellemodellen medfører økt følsomhet for statinindusert myotoksisitet.

KF 4**Metabolisme av quetiapin via CYP3A4 og CYP3A5 *in vitro***

BAKKEN V^{1,2}, RUDBERG I¹, HERMANN M¹, MOLDEN E^{1,2}, CHRISTENSEN H²

¹ Psykofarmakologisk avdeling, Diakonhjemmet Sykehus

² Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo

gryvb@student.matnat.uio.no

Problemstilling

Quetiapin (Seroquel[®]) er et atypisk antipsykotikum som har vist betydelig interindividuell variasjon i serumkonsentrasjon. Quetiapin metaboliseres til flere ulike metabolitter via CYP3A4. Det polymorfe enzymet CYP3A5, som uttrykkes hos 10-25% av kaukasiske befolkning, viser imidlertid overlapp i substratspesifisitet med CYP3A4. I hvilken grad CYP3A5 bidrar til metabolisme av quetiapin er lite studert. Metabolisme av quetiapin via CYP3A4 og CYP3A5 *in vitro* ble derfor sammenliknet.

Metode

Metabolisme av quetiapin ble undersøkt med CYP3A4- og CYP3A5-insektmikrosomer. Forbruk av quetiapin i tidsintervallet 0-60 minutter ble bestemt, og intrinsisk clearance (CL_{int}) ble beregnet ut fra en monofasisk nedbrytningsmodell. I tillegg ble fire quetiapinmetabolitter kvantifisert (quetiapinsulfoksid, N-dealkylquetiapin, O-dealkylquetiapin og 7-hydroxyquetiapin), og metabolittmønsteret for de to mikrosommodellene etter 60 minutters inkubasjon ble undersøkt. Kvantifisering av quetiapin og metabolitter ble utført vha LC-MS/MS.

Resultat

CL_{int} for CYP3A5 var minst 30 % av CL_{int} for CYP3A4. Det ble observert ulikt metabolittmønster via CYP3A4 og CYP3A5. Det ble dannet mer N-dealkylquetiapin og quetiapinsulfoksid via CYP3A4 i forhold til via CYP3A5, mens det motsatte var tilfelle for O-dealkylquetiapin.

Konklusjon

Studien viser at quetiapin metaboliseres via CYP3A5 *in vitro*. CYP3A5-polymorfisme kan derfor være en faktor som bidrar til de store interindividuelle variasjonene i serumkonsentrasjon av quetiapin som er observert. Forsøkene viser også at metabolittmønsteret for quetiapin er forskjellig ved metabolisme via CYP3A4 sammenliknet med CYP3A5. Kliniske studier er nødvendig for å fastslå betydningen av CYP3A5 polymorfisme for metabolisme av quetiapin *in vivo*.

KF 5**Serum concentration of N-desalkylquetiapin in psychiatric patients**

RUDBERG I, BAKKEN V, LUNDE H, REFSUM H, HERMANN M

Psykofarmakologisk avdeling, Diakonhjemmet Sykehus

ida.rudberg@diakonsyk.no

Quetiapine is an atypical antipsychotic drug used in the treatment of schizophrenia and manic episodes associated with bipolar disorder. In October 2006, FDA additionally approved quetiapine for the treatment of depressive episodes associated with bipolar disorder. Quetiapine is metabolized by CYP3A4 to several metabolites.¹ Unlike the parent compound, one of the metabolites, N-desalkylquetiapine, have shown potent inhibition of noradrenaline reuptake,^{2;3} which is regarded as a mechanism of antidepressant activity. Additionally, administration of N-desalkylquetiapine to mice has demonstrated antidepressant-like activity.³ This implies that the antidepressant effect of quetiapine may be mediated, at least in part, by its N-desalkyl metabolite. However, there are no published data on the pharmacokinetics of N-desalkylquetiapine during treatment with quetiapine. The objective of this study was therefore to investigate the pharmacokinetic variability of N-desalkylquetiapin in psychiatric patients treated with quetiapine.

Psychiatric patients who have been referred to serum concentration measurement for follow-up of quetiapine treatment at Department of Psychopharmacology, Diakonhjemmet Hospital, between 15th september 2007 and 31st december 2007 were included in the study. Dose-adjusted serum concentrations (nM/mg) of quetiapine and N-desalkylquetiapine and the metabolic ratio of N-desalkylquetiapine/quetiapine were used to describe pharmacokinetic variability.

Preliminary results indicate that the serum concentrations of quetiapine and N-desalkylquetiapine were comparable. High serum concentrations of N-desalkylquetiapine indicate that this metabolite may contribute to the antidepressant effects of quetiapine. However the dose-adjusted serum concentrations of both compounds varied several folds among different patients. Additionally, the metabolic ratio seemed to be dose dependent. Pharmacokinetic variability of the N-desalkyl metabolite might therefore contribute to variable clinical outcome during treatment with quetiapine.

1. DeVane CL, Nemeroff CB. Clinical pharmacokinetics of quetiapine: an atypical antipsychotic. *Clin.Pharmacokinet.* 2001;40:509-522.
2. McIntyre RS, Soczynska JK, Woldeyohannes HO, Alsuwaidan M, Konarski JZ. A preclinical and clinical rationale for quetiapine in mood syndromes. *Expert.Opin.Pharmacother.* 2007;8:1211-1219.
3. Jensen NH, Rodriguiz RM, Caron MG et al. N-Desalkylquetiapine, a potent norepinephrine reuptake inhibitor and partial 5-HT(1A) agonist, as a putative mediator of quetiapine's antidepressant activity. *Neuropsychopharmacology* 2007 [Epub ahead of print].

KF 6**Reduced elimination of cyclosporine A in elderly (>65) kidney transplant recipients**FALCK P¹, MIDTVEDT K³, BYBERG K-T¹, REUBSAET L², ÅSBERG A¹

¹*Avdeling for Farmasøytisk Biovitenskap, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo,* ²*Avdeling for Farmasøytisk Kjemi, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo,* ³*Nyreseksjonen Medisinsk avdeling, Rikshospitalet-Radiumhospitalet, Oslo*

pal.falck@farmasi.uio.no

Background

The proportion of elderly renal transplant recipients is increasing. At older age many physiological functions are altered which may affect pharmacokinetics of drugs such as cyclosporine A (CsA). The current study was performed to elucidate the effect of age on CsA pharmacokinetics.

Method

12-hour pharmacokinetic profiles were assessed in 25 stable kidney transplant recipients during the first and second month after transplantation. The patients were divided into two groups based on age; A: 18-64 year (n=14) and B: >65 years (n=11). All patients were treated with CsA, mycophenolate and steroids and CsA doses were adjusted by C2-monitoring. Genotyping for *CYP3A5*1/*3* and *ABCB1* (C1236T, G2677T, C3435T) were performed in all patients. Pharmacokinetic parameters were estimated with a 2-compartment population model using Erlang distribution in the absorption phase (NONMEMTM), and data analysed with parametric statistics (SPSS).

Results

The two groups were both within the target C2 levels (A = 1749 ±543 vs. B = 1489 ±600 µg/L, P=0.26), but group B (age>65) needed a significantly lower CsA dose (4.3 ±0.8 vs group A; 6.1 ±2.1 mg/day/kg, P=0.025) to achieve the target C2 levels. Group B had significantly lower clearance (CL/F) of CsA compared to group A (22.7 ±5.1 vs. 30.5 ±11.1 L/h, P=0.031). Pearson correlation coefficient revealed a significant negative relation between age and CL/F (N=25, R²=0.18, P=0.036). Group B also tended to have longer half live (P=0.18) compared with group A, but no other pharmacokinetic parameters were different. Estimated creatinine clearance was similar in the two groups (A: 64.7 ±19.3, B: 69.6 ±17.5 mL/min). *CYP3A5*1* or *ABCB1* genotypes did not influence the pharmacokinetics.

Conclusion

We conclude that elderly patients have a significant lower elimination of CsA. They should therefore be dosed carefully to avoid side effects and be allowed longer time intervals between dose changes.

KF 7**Metodeutvikling i urinproteomikk – Fokus på prøveopparbeidelse**

LOFTHEIM H, NGUYEN T, ÅSBERG A OG REUBSAET L

Avdeling for farmasøytisk kjemi og avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslohavard.loftheim@farmasi.uio.no

Organtransplanterte pasienter blir behandlet med immundempende legemidler for å forhindre avstøtning av det transplanterte organet. Disse legemidlene har alvorlige bivirkninger som blant annet nefrotoksisitet, hypertensjon, diabetes og dyslipidemi. Balansegangen mellom for lite immundempende legemiddel (risiko for reaksjon) og for mye immundempende legemiddel (økt risiko for bivirkninger) er vanskelig. I dag brukes økt serumkreatinin som en indikasjon på akutt reaksjon. Det er ikke noen ideell biomarkør da den er lite spesifikk og like godt kan være et tegn på nefrotoksisitet (for høy dose kalsineurinhemmer). For å videre optimalisere behandlingen til hvert enkelt individ trengs en tidlig og spesifikk diagnose av en eventuell akutt reaksjon. Det er derfor et stort behov for en pålitelig non-invasiv biomarkør og urinproteomet vil kunne være en bra kilde for å finne en slik markør.

En akutt reaksjonsepisode setter i gang mange immunologiske prosesser i kroppen. Hypotesen er at assosierte proteiner blir skilt ut i urinen og vil være mulige å påvise hos de transplanterte pasientene.

For å finne aktuelle biomarkører for akutt reaksjon, analyseres urinproteomet. Urin er en kompleks matriks og proteininnholdet er lavt sammenlignet med plasma. Derfor må prøvene oppkonsentreres og saltinnholdet reduseres, før et depletion-steg brukes for å fjerne albumin. Proteinene blir deretter enzymatisk klippet før peptidproduktene separeres og detekteres i et todimensjonalt LC-MS/MS system. Aktuelle trinn i prøvehåndteringsprosedyren har blitt evaluert ved hjelp av LC-MS, gel-elektroforese og proteinmåling (Bradford assay).

Ulike trinn i prøvehåndteringsprosedyren er undersøkt og det viser seg at ved bruk av sentrifugefilter (5 kDa cut-off) oppnås et proteinutbytte på 97 % med relativt standard avvik (RSD) på 6 %. Bruk av sentrifugefilter gir en oppkonsentreringsfaktor på inntil 25 ganger. Gel-elektroforese av urin viser at albumin fjernes effektivt ved hjelp Vivapure Anti-HSA kit (Vivascience, VWR International, Norge). Proteasehemmere ble påvist å være til stede i urin og hemmer aktiviteten til trypsin. Den hemmende effekten ble redusert ved å denaturere urin.

Den evaluerte prøveopparbeidelseprosedyren viste godt proteinutbytte, lav variasjon og mulighet for høy grad av oppkonsentrering. Albumin fjernes effektivt ved hjelp av et depletion-kit og muliggjør lettere deteksjon av relevante proteiner som sannsynligvis forekommer i lavere konsentrasjoner i urin. Tilstedeværelse av proteasehemmere viser viktigheten av en nøye gjennomtenkt trypsineringsprosedyre, deriblant inkludering av et denatureringstrinn. Alle trinnene i prosessen er direkte kompatible og den opparbeidede prøven vil kunne injiseres direkte på et 2D LC-MS system. Utvikling og optimalisering av 2D LC-MS metode pågår for øyeblikket.

KF 8**Emnebibliotek forgiftninger – ny informasjonskilde om akutte forgiftninger og forgiftningsbehandling**

ZIESLER TA, SØRLID HK

Giftinformasjonen, Sosial- og helsedirektoratet, Postboks 7000 St. Olavs Plass, 0130 Oslo, Norge

toz@shdir.no

Problemstilling: Avdeling giftinformasjon (Giftinformasjonen) bistår helsepersonell med informasjon, råd og veiledning vedrørende forgiftningsrisiko og forgiftningsbehandling. Dette skjer først og fremst via Giftinformasjonens døgnåpne rådgivingstelefon. Giftinformasjonen utarbeider i tillegg skriftlig informasjon for helsepersonell, i form av behandlingsanbefalinger. Tidligere har disse blitt distribuert med post, per telefaks eller som e-post til blant annet sykehus og legekontorer. Alle akuttavdelinger på sykehus som behandler forgiftninger har hatt en perm fra Giftinformasjonen med disse anbefalingene. For å tilby mest mulig ny og oppdatert informasjon har Giftinformasjonen ønsket å etablere en egen nettside for helsepersonell. Helsepersonell har også uttrykt ønske om lettere tilgjengelighet på skriftlig informasjon fra Giftinformasjonen. Å gjøre en slik nettside kjent, godt tilgjengelig og brukt av målgruppen er en viktig utfordring. *Metode:* Giftinformasjonen vurderte det som lite hensiktsmessig å opprette en selvstendig nettside for helsepersonell, blant annet fordi dette ville kreve store tekniske ressurser. I tillegg ønsket en at nettsiden skulle være lett å finne for helsepersonell ved behandling av akutte forgiftningstilfeller. Helsebiblioteket (www.helsebiblioteket.no) ble vurdert som et nettsted som kunne ivareta Giftinformasjonens behov på en god måte. Helsebiblioteket ble lansert i juni 2006, og er en formidlingskanal for oppdatert faglig kunnskap til personell i helsetjenesten. Helsebiblioteket inneholder blant annet ulike emnebibliotek, der kunnskap om fagspesifikke områder gjøres tilgjengelig. Arbeidet med å få etablert emnebibliotek forgiftninger (www.helsebiblioteket.no/forgiftninger) startet høsten 2006 og fortsatte i 2007. *Resultater:* Emnebibliotek forgiftninger ble lansert 12. desember 2007. Hovedinnholdet i emnebiblioteket er Giftinformasjonens behandlingsanbefalinger. Behandlingsanbefalingene omhandler akutte forgiftninger med ulike kjemikalier, gasser, legemidler, rusmidler, planter, sopp, stikk og bitt, eliminasjonsmetoder ved forgiftning og antidoter. For øvrig inneholder emnebiblioteket lenker til databaser, oppsummert forskning, norske og internasjonale retningslinjer samt tidsskrifter relatert til fagområdet forgiftninger. I tillegg finnes aktuelle saker og en seksjon med spørsmål og svar. Emnebibliotek forgiftninger er en nettside med spesifikk informasjon til helsepersonell, og lever side om side med Giftinformasjonens hjemmeside for allmennheten (www.giftinfo.no). Giftinformasjonen er i gang med å informere brukere i målgruppen om emnebiblioteket. Dette skjer både skriftlig og muntlig. Det planlegges videre informasjonsrunder på sykehus og på møter og kongresser der målgruppen er representert. *Konklusjoner:* Nettsiden www.helsebiblioteket.no/forgiftninger er publisert og godt mottatt av brukere som har blitt kjent med den. For at emnebibliotek forgiftninger skal bli enda bedre kjent og være til best mulig nytte i akutte forgiftningssituasjoner er det nødvendig med utstrakt informasjon til potensielle brukere innen helsevesenet. Det kreves også kontinuerlig arbeid med oppdatering og tilfang av nytt og aktuelt innhold til nettsiden.

Deltakerliste

Kanwal Akhtar	Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo
Benedikte Thunes Akre	Bristol-Myers Squibb
Astrid Alvik	Universitetet i Oslo
Jannike Mørch Andersen	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Kjetil Wessel Andressen	Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo
Elin Bakken Ansok	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Salmana H. Ata	Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo
Ivar Aursnes	Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo
Tina Bakkebø	RELIS Vest
Gry Vibeke Bakken	Psykofarmakologisk avdeling, Diakonhjemmet sykehus
Jeanette Beckius	Universitetet i Oslo
Stein Bergan	Rikshospitalet
Ketil Berstad	MSD
Mona-Lise Binderup	Fødevareinstituttet, DTU, Danmark
Elin Bjørnhaug	Statens legemiddelverk
Fernando Boix	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Anne Lise Brantsæter	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Sara Bremer	Rikshospitalet
Else Karin Brodtkorb	Institutt for Klinisk biokjemi
Frank Brosstad	Rikshospitalet
Gunnar Brunborg	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Odd Brørs	Ullevål universitetssykehus
Erik Bølviken	Universitetet i Oslo
Richard Carr	MSD
Knut Helkås Dahl	Biosafe
Jon E. Dahl	NIOM
Carolyn Deacon	Danmark
Helene Devold	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Ane Djuv	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Thore Egeland	Universitetet i Oslo
Hilde Eikemo	Farmakologisk Institutt, Universitetet i Oslo
Elín Einarsdóttir	Statens arbeidsmiljøinstitutt
Leni Ekeren	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Kathrin Ellesat	Universitetet i Oslo
Silje Engdal	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Frode Fønnum	Universitetet i Oslo
Kari Furu	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Anders Goksøyr	Universitetet i Bergen, Molekylærbiologisk institutt
André Gottås	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Andreas Grimeland	LINK Medical Research AS
Merete Grung	NIVA
Ola Gudmundsen	LINK Medical Research AS
Kristine Bjerve Gutzkow	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Petter-Arnt Hals	Clavis Pharma
Sigrun Halvorsen	Ullevål universitetssykehus
Marte Handal	Nasjonalt folkehelseinstitutt/Diakonhjemmet sykehus
Mette Sollihagen Hauge	VETT, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo
Gro Cecilie Havnen	Giftinformasjonen
Harald Heiaas	Universitetet i Oslo
Bent Hellum	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Ragna Bogen Hetland	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Thor Hilberg	Fürst med lab
Knut Hjelmeland	Rikshospitalet HF
Edel Holene	Statens legemiddelverk
Mette Ree Holthe	Ullevål universitetssykehus

Ketil Hylland	Universitetet i Oslo
Kathrine Høybakk	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Lorentz Irgens	Universitetet i Bergen
Marte Rindal Jacobsen	Jotun
Bjørn Munro Jenssen	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Bente Jerkø	Statens legemiddelverk
Per Wiik Johansen	Ullevål Universitetssykehus
Øystein Karlstad	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Hassan Zare Khiabani	Statens legemiddelverk
Silje Kile	Universitetet i Oslo
Stein-Erik Knapstad	Giftinformasjonen
Helle Katrine Knutsen	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Petter Kristensen	STAMI
Elena Kvan	Avd. for klinisk farmakologi, Rikshospitalet
Kristin Thorseng Kvande	Statens legemiddelverk
Johnny Kvernstuen	Jotun
Børge Larsen	RELIS, Ullevål universitetssykehus
Finn Olav Levy	Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo
Nina Lieng	Nasjonalt Folkehelseinstitutt
Håvard Lofthheim	Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo
Helga Ruus Lorentzen	Giftinformasjonen
Ragnhild Marie Løberg	Algeta
Marit Låg	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Christine Maass	Universitet i Oslo / Nasjonal Folkehelseinstitutt
Kenneth Macrae	Universitet i Oslo
Steinar Madsen	Statens legemiddelverk
Randeep Mandla	Schering-Plough AS
Helene Mathisen	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Silja Meier	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Marianne Mjaaland	Bristol-Myers SqUniversitetet i Bergenb
Lise Román Moltzau	Universitetet i Oslo, Farmakologisk Institutt, Rikshospitalet
Ellen Morrison	det norske veritas
Kristin Meisdalen Müller	Farmakologisk institutt
Kirsten Myhr	RELIS Øst
Cam Nguyen	Farmakologisk institutt, Rikshospitalet
Odd Georg Nilsen	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Laila Sortvik Nilssen	Statens legemiddelverk
Hedvig Nordeng	Universitetet i Oslo
Per Trygve Normann	Nasjonal folkehelseinstitutt
Christina Olsen	Nasjonalt Folkehelseinstitutt
Rune Olsen	Bristol-Myers Squib
Gro Olsen	NIVA
Per Kristian Opstad	FFI
Jan-Bjørn Osnes	Farmakologisk institutt
Jan Erik Paulsen	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Björg Sjøgren Pettersen	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Eirik Qvigstad	Farmakologisk Institutt
Magne Refsnes	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Helge Refsum	Psykofarmakologisk avdeling, Diakonhjemmet sykehus
Nina Refsum	Sykehusapoteket ved Rikshospitalet
Randi Riise	LINK Medical Research AS
Åse Ripel	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Ida Rudberg	Psykofarmakologisk avdeling, Diakonhjemmet sykehus
Jo Sandbu	JSCR as
Dagny Sandnes	Farmakologisk institutt
Mohammad Nouri Sharikabad	Ullevål universitetssykehus
Atle Skattebøl	MSD
Torkild Skjelmerud	Norsk legemiddelhåndbok

Tor Skomedal	Farmakologisk institutt, Universitetet i Oslo.
Eva Skovlund	Universitetet i Oslo
Tonje Skuland	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Svetlana Skurtveit	Nasjonalt Folkehelseinstitutt
Hanne Soligard	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Inger-Lise Steffensen	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Kjell Torgeir Stokke	Fürst Medisinsk Laboratorium
Kari Struksnes	GlaxoSmithKline
Hanne Strøm	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Eirin Sva	Biologisk institutt, Universitetet i Oslo
Ingjerd Sæves	Rikshospitalet
Gunn-Therese Sørland	Universitetet i Bergen, Institutt for molekylærbiologi
Vibeke Thrane	Giftinformasjonen, SH-dir
Anita Tøsse	Norges Tekniske og Naturvitenskapelige Universitet
Marianne van der Hagen	Statens forurensningstilsyn
Nils Tore Vethe	Avd. for medisinsk biokjemi, Rikshospitalet
Vigdis Vindenes	Nasjonalt folkehelseinstitutt
Tone Westergren	RELIS Sør, Rikshospitalet
Alicja Winczura	Farmakologisk institutt
Ann Ingebord Wålen	LINK Medical Research AS
Kristi Ytrehus	Universitetet i Tromsø
Tora Alexandra Ziesler	Giftinformasjonen
Hege Benedikte Asvald Ølstørn	Nasjonalt Folkehelseinstitutt
Øivind Ørstavik	Farmakologisk Institutt, Rikshospitalet
Helene Hanssen Øverås	Multiconsult AS
Steinar Øvrebø	Biologisk institutt, Universitet i Oslo
Ingrid Aarre	Universitetet i Oslo
Vigdis Aas	Høgskolen i Oslo
Erik Aaserud	MSD (Norge) AS
Anders Åsberg	Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo

Stipendmottakere 2008

Ingrid Aarre
Kanwal Akhtar
Kjetil Wessel Andressen
Elin Bakken Ansok
Jeanette Beckius
Sara Bremer
Ane Djuv
Hilde Eikemo
Kathrin Ellesat
Silje Engdal
Andre Gottås
Harald Heiaas
Bent Hellum
Kathrine Høybakk
Silje Kile
Håvard Loftheim
Christine Maass
Kenneth MacRae
Silje Meier
Lise Roman Moltzau
Kristin Meisdalen Müller
Christian Olsen
Ingjerd Sæves
Hanne Soligard
Eirin Sva
Nils Tore Vethe
Vigdis Vindenes

NSFT takker for økonomisk støtte til Vintermøtet 2008 fra:



Gjennom å satse på forskning arbeider vi i Bristol-Myers Squibb med å virkeliggjøre vårt motto "å forlenge og forbedre liv".



Bristol-Myers Squibb Norway Ltd
PO box 464, NO-1323 Høvik
Telefon: 67 55 53 50
www.b-ms.no



Clavis Pharma ASA is a biopharmaceutical company focusing on the development of improved cancer therapeutics based on its patented Lipid Vector Technology (LVT). The company's leading drug candidate is in Clinical Phase II.

