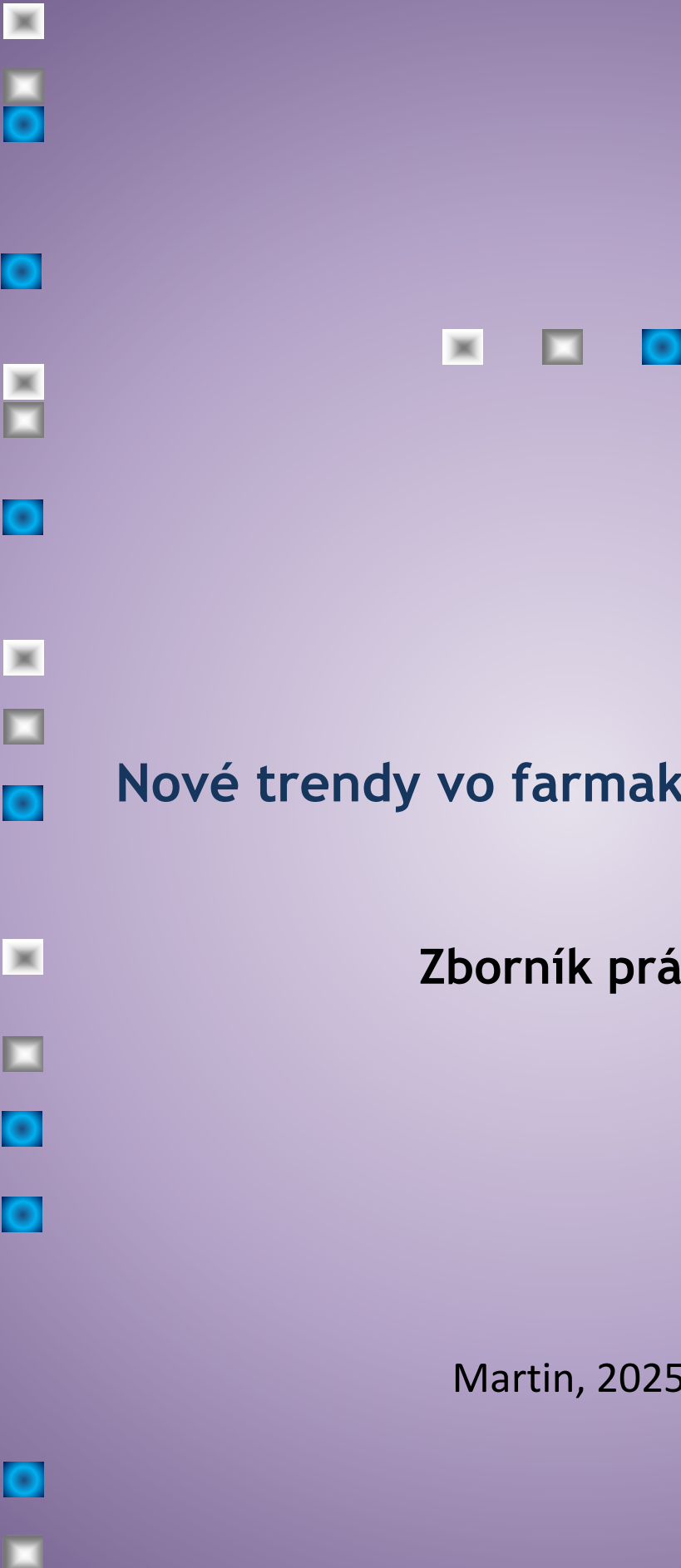




Nové trendy vo farmakoterapii XVII.

Zborník prác

Martin, 2025

Nové trendy vo farmakoterapii XVII.

Recenzovaný zborník prác

Zostavovatelia:

prof. MUDr. Juraj Mokrý, PhD., Ústav farmakológie, JLF UK Martin

prof. RNDr. Soňa Fraňová, PhD., Ústav farmakológie, JLF UK Martin

Recenzenti:

prof. MUDr. Jana Plevková, PhD., Ústav patologickej fyziológie, JLF UK Martin

prof. MUDr. Martin Wawruch, PhD., Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety
v Bratislave, n. o.

Zborník neprešiel jazykovou korektúrou.

Za jazykovú a gramatickú stránku zodpovedajú autori jednotlivých príspevkov.

Miesto a rok vydania: Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine, 2025

Počet strán: 69

Dostupné online: https://www.ifmed.uniba.sk/fileadmin/jlf/Pracoviska/ustav-farmakologie/zborniky/Nove_trendy vo_farmakoterapii_XVII.pdf

ISBN: 978-80-8187-180-1 **EAN:** 9788081871801

Obsah

	Predhovor	4
Gondáš et al.	Efekt selektívneho inhibítora ROCK kinázy na remodelačné markery sledovaných na experimentálnom modeli astmy	5
Hromníková et al.	Význam trombocytov a ich molekúl pri tuberkulóze	11
Javoríková et al.	Úloha fekálnej mikrobiálnej transplantácie v terapii ulceróznej kolitídy	16
Jošková et al.	Personalizované zásahy do mikrobiómu dýchacích ciest ako stratégia na zlepšenie mukociliárneho klírensu	25
Kačková a Jošková	Ovplyvnenie pohybu riasiniek ako nový terapeutický prístup v liečbe CHOCHP	32
Krivošová et al.	Nové prístupy k terapeutickému monitorovaniu liečiv v psychiatrii - od klasických po alternatívne biologické materiály	38
Marcinčák et al.	Cielená liečba <i>asthma bronchiale</i> : prechod od <i>stepwise</i> prístupu k personalizovanej terapii	46
Mäsiarová et al.	„ <i>Double trouble</i> “ – tuberkulóza u tehotných žien a ich boj o dva životy	53
Sadloňová et al.	Vplyv <i>Salvia officinalis</i> L. na sérové hladiny cytokínov TGF- β , IL-6, IL-10 a TNF- α v modeli experimentálnej mamárnej karcinogenézy	58
Štrba et al.	Genomická analýza izolátov <i>Mycobacterium tuberculosis</i> fenotypovo rezistentných na pretomanid a delamanid	62

Predhovor

Predložené ďalšie vydanie zborníka „**Nové trendy vo farmakoterapii**“ obsahuje originálne a prehľadové práce z oblastí farmakológie a respirológie. Autori sa v nich zameriavajú na výsledky práce, ktorej sa dlhodobo venujú v rámci svojej výskumnej činnosti, a to najmä na respiračnú farmakológiu, ftizeológiu, imunofarmakológiu, pediatrickú farmakológiu, ale aj terapeutické monitorovanie liečiv.

Pevne veríme, že prečítanie jednotlivých príspevkov prispeje k spoznaniu riešených výskumných úloh na našich pracoviskách a k získaniu inšpiráciu do ďalšej vedeckej práce.

V Martine, 16. decembra 2025

Zostavovatelia

Efekt selektívneho inhibítora ROCK kinázy na remodelačné markery sledovaných na experimentálnom modeli astmy

Eduard Gondáš¹, Jozef Mažerík¹, Soňa Báľentová², Mária Kovalská², Terézia Kozáková³, Soňa Fraňová¹

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martine

²Ústav histológie a embryológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin,

³Klinika pneumológie a ftizeológie, Jesseniova lekárska fakulta UK a UNM, Martin

E-mail: eduard.gondas@uniba.sk

Úvod

Alergická astma predstavuje chronické zápalové ochorenie dýchacích ciest, ktorého prevalencia celosvetovo narastá a je významnou príčinou morbiditu u detí aj dospelých. Patofyziologicky je charakterizovaná perzistujúcim typom zápalovej odpovede sprostredkovanvej najmä Th2 lymfocytmi, eozinofilmi a mastocytmi. Výsledkom tejto imunitnej aktivácie je zvýšená bronchokonstrikcia, hyperreaktivita dýchacích ciest, nadprodukcia hlienu a progresívna remodelácia pľúcneho tkaniva (Yuan et al., 2025). MUC5AC je dominantný mucín produkovaný pohárikovými bunkami v epiteli bronchiolov a jeho nadmerná expresia patrí medzi kľúčové mechanizmy obštrukcie dýchacích ciest pri astme (Kesimer, 2022). Okrem zápalových zmien dochádza aj k štruktúrnej prestavbe extracelulárneho matrixu, pričom zvýšené množstvo kolagénu (vrátane kolagénu V), buniek hladkej svaloviny, fibronektínu a ďalších prispievajú k trvalému zúženiu a remodelácii dýchacích ciest (Saglan & Lloyd, 2015).

V posledných rokoch sa pozornosť výskumu alergickej astmy sústreďuje na signalizačné dráhy riadiace bunkovú morfológiu, migráciu zápalových buniek a procesy zodpovedné za remodeláciu tkanív. Jednou z týchto kľúčových dráh je systém RhoA/ROCK, ktorý je aktivovaný prostredníctvom mnohých receptorov spojených s G-proteínmi (Y. Zhang et al., 2020). Rho-asociovaná proteínkináza (ROCK) existuje v dvoch izoformách, ROCK1 a ROCK2, pričom je preukázané, že obe izoformy sa zapájajú pri potlačení hyperreaktivity dýchacích ciest a zníženia zápalu v dýchacích cestách (M. Zhu et al., 2011). Zvýšená aktivita ROCK2 bola pozorovaná v modeli alergickej astmy u zvierat (Schaafsma et al., 2004), ale aj v klinických vzorkách získaných od pacientov s astmou (Wang et al., 2020), čo podporuje jej úlohu v patogenéze ochorenia.

Farmakologická inhibícia ROCK predstavuje perspektívnu terapeutickú stratégiu schopnú zasiahnuť nielen samotnú svalovinu dýchacích ciest, ale aj zápalové procesy (Zanin-Zhorov & Blazar, 2021). Liečivo H1152 patrí medzi selektívne inhibítory ROCK kinázy (Tamura et al., 2005), pričom jeho účinky boli doposiaľ skúmané najmä z pohľadu relaxácie hladkej svaloviny dýchacích ciest (Hanazaki et al., 2008). Menej údajov však existuje o jeho vplyve na remodelačné markery ako produkciu hlienu a ukladanie kolagénu pri alergickej astme.

Cieľom tejto štúdie bolo preto analyzovať účinok selektívnej inhibície ROCK pomocou H1152 v modeli OVA indukovanej alergickej astmy u morčiat. Konkrétne sme hodnotili množstvo pohárikových buniek exprimujúcich mucín MUC5AC v epiteli bronchiolov a obsah kolagénu V v pľúcnom tkanive ako markery hypersekrécie mucínu a remodelácie dýchacích ciest. Tieto parametre poskytujú čiastočný dôkaz, či inhibícia ROCK by mohla v budúcnosti predstavovať terapeutickú stratégiu zameranú na zníženie remodelácie dýchacích ciest — konkrétne redukciu depozície kolagénu a hlienovej obštrukcie spojených s alergickým zápalom.

Experimentálne skupiny

Morčatá boli náhodne rozdelené do nasledujúcich skupín:

1. Zdravá (kontrolná) skupina (OVA-): ôsmim zvieratám bol podávaný 0,9 % fyziologický roztok počas 28 dní.
 2. Pozitívna kontrolná skupina (OVA+): osem zvierat bolo senzibilizovaných ovalbumínom (OVA) počas 28 dní.
 3. Prvá terapeutická skupina (H1152 1 mg/kg): osem zvierat bolo senzibilizovaných OVA počas 28 dní a liečených denne látkou H1152 o dávke 1 mg/kg, *i.p.* počas posledných 14 dní.
 4. Druhá terapeutická skupina (H1152 5 mg/kg): osem zvierat bolo senzibilizovaných OVA počas 28 dní a liečených denne H1152 o dávke 5 mg/kg, *i.p.* počas posledných 14 dní.
- Zvieratá boli humanne usmrtené 1 deň po poslednej inhalácii OVA a liečbe.

Všetky protokoly opísané v štúdiu boli schválené miestnou etickou komisiou (IRB00005636, rozhodnutie č. EK 11/2024) a boli v súlade so smernicou Európskeho parlamentu a Rady 2010/63/EÚ o ochrane zvierat používaných na experimentálne a iné vedecké účely a so slovenským zákonom upravujúcim experimenty na zvieratách.

Dizajn vzniku alergickej astmy u morčiat

Experimentálny model alergickej astmy je dlhodobo zaužívaný na Ústave farmakológie JLFUK, pričom jeho podrobný postup je opísaný v predchádzajúcich prácach (Mažerik et al., 2023; Molitorisova et al., 2021). V skratke - OVA bol podávaný *s.c.*, *i.p.*, a *inh.* v rôznych časových intervaloch počas 28 dní. Od 14. dňa boli prvá aj druhá terapeutická skupina liečená príslušným liečivom (H1152) o dávke 1 alebo 5 mg/kg *i.p.* každých 24 hodín až do 28. dňa.

Materiál

Testovaný selektívny inhibítor Rho-kinázovej dráhy (ROCK) H1152 bol získaný od spoločnosti MedChemExpress (USA). Hydroxid hlinitý, ktorý slúžil ako adjuvans pre senzibilizáciu OVA, a chemikálie na parafrináciu a deparafrináciu tkaniva boli získané z Centralchem (Slovensko). OVA z kuracieho vaječného albumínu triedy V a sterilný fosfátový pufor (DPBS) boli získané od spoločnosti Sigma Aldrich Chemicals (USA).

Metódy

Stanovenie koncentrácie kolagénu V z homogenátov pľúc

Koncentrácia sledovaného proteínu bola meraná komerčne dostupnou ELISA súpravou: „guinea pig collagen type V“ (MyBio-Sorce, USA). Homogenáty boli pripravené odvážením 100 mg pľúcneho tkaniva. Tkanivo sa následne premylo v ľadovo chladenom 0,01 M fosfátovom pufri (DPBS) s pH = 7,0–7,2 a ihneď sa homogenizovalo v 1000 µl lyzačného roztoku „TissueExtraction Reagent I“ (Invitrogen, Thermo FisherScientific, USA) pomocou laboratórneho homogenizátora Stuart SHM2/EURO (Bibby Scientific, Veľká Británia). Homogenáty sa centrifugovali pri 9000 G počas 10 minút pri 4 °C, supernatant sa odoberal a uložil do sterilných skúmaviek pri -80 °C. Následná analýza bola vykonaná podľa pokynov výrobcu, pričom vzniknuté absorbancie boli merané spektrofotometricky pri 450 nm na Varioskan FlashSpectral Scanning Multimode Reader (Thermo FisherScientific, USA). Konečné koncentrácie kolagénu V vo vzniknutých homogenátoch boli analyzované a vypočítané pomocou kalibračnej krivky so softvérom SkanIt Software pre Varioskan Flash verzia 2.4.5 (Thermo Fisher Scientific, USA).

Imunohistochemické farbenie pohárikovitých buniek v pľúcnych rezoch morčiat

Rezy zaliate v parafíne boli odparafinované, revitalizované a rehydratované. Po týchto krokoch boli sklíčka inkubované s 3 % roztokom peroxidu vodíka počas 10 minút pri izbovej teplote, aby sa blokoval možný účinok endogénnej peroxidázy. Následne boli sklíčka premyté 50 mM roztokom Tris doplneným 0,1 % TRITON-X 100 (TBS-T). Primárna myšia protilátka proti MUC5AC (Abcam, Veľká Británia) boli zriedené v pomere 1:250 v TBS-T a aplikované individuálne na rezy počas 2 hodín pri izbovej teplote. Sklíčka boli potom prepláchnuté a inkubované počas 10 minút s LSAB2 System-HRP (Dako, Dánsko). V ďalšom kroku sa sklíčka premyli TBS-T a inkubovali 5 minút s 3,3'-diaminobenzidín (DAB) substrátom (Dako, Dánsko). Na dofarbenie jadier buniek sa použil Mayerov hematoxylín (Bio-optica, Taliansko). V poslednom kroku boli rezy zafixované krycím sklíčkom použitím média Entellan (Merck, USA). Rezy boli pozorované a fotené pomocou mikroskopu OlympusBX43 (Olympus, Japonsko) vybaveného fotoaparátom Canon EOS 2000D. Kvantitatívna analýza exprese MUC5AC v nafotených preparátoch bola vyhodnotená pomocou verejne dostupného programu Image J (NIH, Bethesda, MD, USA). Na meranie počtu MUC5AC-pozitívnych buniek v definovanej oblasti záujmu boli vybrané pohárikovité bunky v bronchiolách pľúcneho parenchýmu.

Štatistická analýza

Predložené údaje sú uvedené vo forme priemerov $\pm$ SEM. Na určenie štatistickej významnosti bola použitá jednosmerná analýza Anova pomocou softvéru GraphPad Prism 9.3.1 (GraphPad, USA). Štatistická významnosť bola považovaná za dosiahnutú, ak hodnota p bola nižšia ako 0,05.

Výsledky

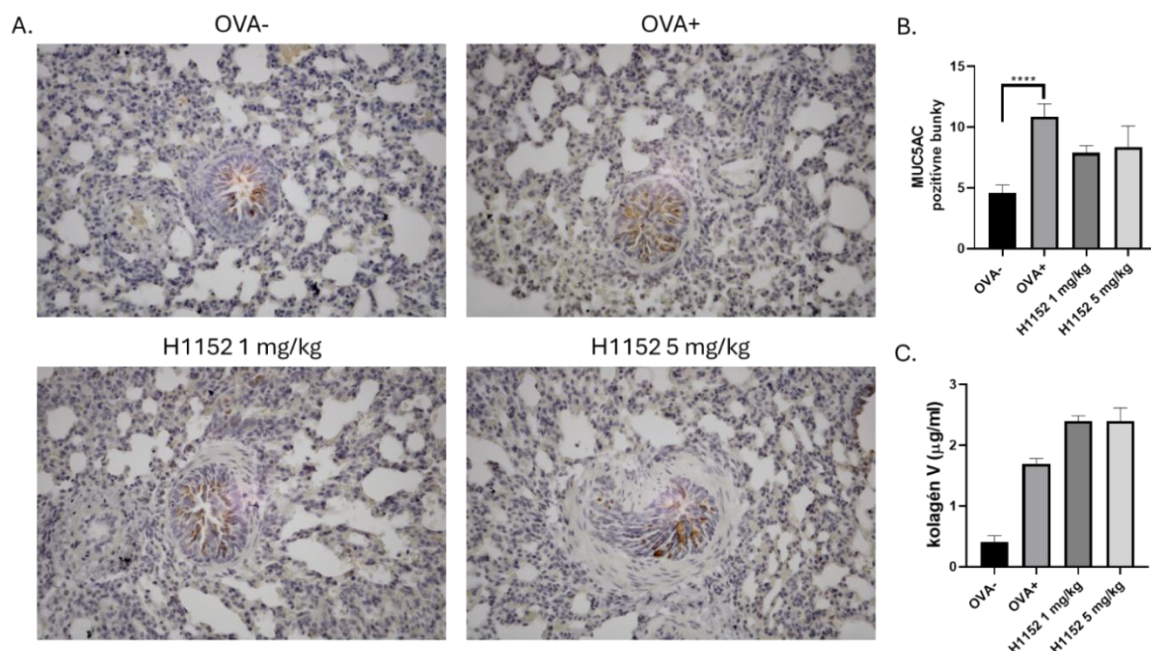
Imunohistochemická analýza (obr. 1A) a následne kvantifikácia pomocou softvéru ImageJ (obr. 1B) preukázala signifikantné zvýšenie počtu pohárikovitých buniek produkujúcich mucín MUC5AC v bronchiolách morčiat senzibilizovaných ovalbumínom (OVA+) v porovnaní s kontrolnou skupinou senzibilizovanou fyziologickým roztokom (OVA-). V skupine OVA+ boli pohárikové bunky početné a koncentrované v epitelovej výstelke dýchacích ciest (obr. 1A, OVA+). Liečba selektívnym inhibítorom ROCK, H1152, od 15. dňa senzibilizácie viedla k zníženiu zastúpenia pohárikovitých buniek v oboch dávkach (1 mg/kg a 5 mg/kg) v porovnaní so skupinou OVA+, avšak v oboch prípadoch nešlo o signifikantné zníženie (obr. 1B).

Množstvo kolagénu V v pľúcnom tkanive bolo merané metódou ELISA (obr. 1C). V skupine zvierat senzibilizovaných ovalbumínom (OVA+) došlo k výraznému nárastu obsahu kolagénu V v porovnaní s kontrolnou skupinou OVA-. Podávanie inhibítora ROCK, H1152, v dávkach 1 mg/kg a 5 mg/kg malo len mierny vplyv na hodnoty kolagénu V, ktoré zostávali zvýšené a porovnateľné so skupinou OVA+. Tieto výsledky naznačujú, že aplikácia H1152 od 15. dňa senzibilizácie nebola dostatočná na zníženie kolagénovej depozície spojennej s remodeláciou dýchacích ciest.

Diskusia

Výsledky našej štúdie potvrdzujú, že senzibilizácia morčiat frakčiovým ovalbumínom vedie k rozvoju typických znakov alergickej astmy, medzi ktoré patrí okrem zvýšenej reaktivity dýchacích ciest a zápalu aj zvýšená produkcia hlienu a remodelácia dýchacích ciest (Kato & Kita, 2025). V skupine morčiat, ktoré boli senzibilizované OVA bez liečby (OVA+), sme pozorovali významné zvýšenie počtu pohárikovitých buniek exprimujúcich MUC5AC v bronchioloch v

porovnaní so zdravou kontrolnou skupinou (OVA-), čo korešponduje s predchádzajúcimi experimentálnymi modelmi alergického zápalu (Gondáš et al., 2024; Mažerik et al., 2024). MUC5AC je hlavný mucín zodpovedný za zvýšenú viskozitu hlienu a jeho nadprodukcia je považovaná za kľúčový faktor zhoršujúci priechodnosť dýchacích ciest u pacientov s astmou (Zhu et al., 2025).



Obr. 1: Imunohistochemické stanovenie počtu pohárikových buniek pomocou protilátky proti MUC5AC v reze pľúc (A). Chromogénne farbenie protilátkou MUC5AC bolo vykonané na reze pľúc morčiat senzibilizovaných fyziologickým roztokom (OVA-), ovalbumínom (OVA+) a senzibilizovaných ovalbumínom pričom od 15. dňa bol každodenne intraperitoneálne podávaný inhibítor H1152 o koncentrácii 1 mg/kg (H1152 1 mg/kg) alebo 5 mg/kg (H1152 5 mg/kg). Program Image J bol použitý na stanovenie pohárikových buniek v bronchioloch (B). Množstvo kolagénu V (C) v homogenátoch pľúc bolo stanovené pomocou metódy ELISA. Údaje sú uvedené ako priemer $\pm$ SEM; **** $p < 0,0001$, pričom všetky skupiny boli porovnávané voči OVA+ skupine.

Selektívny inhibítor ROCK, H1152, ktorý bol podávaný od 15. dňa senzibilizácie, síce viedol k miernemu poklesu počtu pohárikových buniek v oboch použitých dávkach, avšak tento efekt nedosiahol štatistickú významnosť. Je pravdepodobné, že intervencia až v neskoršom štádiu alergického zápalu už nepostačuje na ovplyvnenie plne rozvinutej hyperplázie pohárikových buniek a zmeny fenotypu epitelu dýchacích ciest. Epitelová prestavba a hlienová (mucinózna) hypersekrécia sa rozvíjajú pomerne rýchlo po alergickej senzibilizácii a po ich etablovaní môže byť terapeutický zásah limitovaný (Evans et al., 2009).

Otázka, do akej miery inhibícia Rho/ROCK dráhy dokáže potlačiť tvorbu MUC5AC, však naďalej zostáva predmetom diskusií. Dostupné práce prinášajú rozdielne výsledky – viacero štúdií opisuje, že neselektívne inhibítory ROCK fasudil (Xie et al., 2015) a Y27632 (Zhang et al., 2019) a selektívny inhibítor ROCK2, KD025 (Wu et al., 2022), dokážu potláčať hypersekrečnú odpoveď a expresiu mucínu, zatiaľ čo iné práce tento efekt nepotvrdzujú (Pazhoohan et al., 2017). Podobný rozpor sa objavuje aj pri našich predchádzajúcich experimentoch s iným neselektívnym inhibítorom ROCK, GSK429286A, ktorý taktiež nevedol k zníženiu počtu pohárikových buniek (Gondáš et al., 2024). Tieto poznatky podporujú hypotézu, že účinok na MUC5AC môže byť závislý od typu inhibítora, jeho selektivity voči izoformám ROCK, dávkovania, ale aj od načasovania liečby v priebehu alergického procesu.

Navyše, naše dáta preukázali výrazné zvýšenie kolagénu V v OVA-senzibilizovanej skupine oproti zdravým kontrolám, čo potvrdzuje prítomnosť remodelácie dýchacích ciest s fibróznou prestavbou extracelulárneho matrixu (Rasouli & Rasouli, 2025). Podávanie H1152 však nebolo schopné znížiť depozíciu kolagénu a hodnoty kolagénu V zostali porovnateľné so skupinou OVA+. Tieto výsledky sú v rozpore s našimi predchádzajúcimi experimentmi, v ktorých neselektívne inhibítory ROCK — hydroxyfasudil a GSK429286A — znižovali množstvo kolagénu V v homogenátoch pľúc v rovnakom modeli alergickej astmy (Franova et al., 2023; Gondáš et al., 2024). Môžeme predpokladať, že anti-fibrotické účinky selektívnej inhibície ROCK v tomto nastavení neboli dostatočné, alebo potlačenie syntézy kolagénu vyžaduje dlhší terapeutický interval, inú cestu podania, koncentráciu, prípadne kombináciu s ďalšími liečebnými postupmi, ako sú glukokortikoidy alebo β_2 -agonisty.

Celkovo naše výsledky naznačujú, že inhibícia ROCK dráhy pomocou H1152, aplikovaná od 15. dňa senzibilizácie, nemusí byť dostatočne účinná na potlačenie pokročilých patologických zmien remodelácie dýchacích ciest pri alergickej astme. Budúci výskum by sa mal zamerať na skoršie načasovanie liečby, použitie vyšších dávok, kombinovanú terapiu alebo využitie selektívnejších ROCK2, prípadne ROCK1 inhibítorov s cieľom presnejšie objasniť terapeutický potenciál cielej inhibície ROCK pri alergickej astme.

Práca Mgr. Eduarda Gondáša, PhD. bola Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00012 (GUKPOST/44/2025), práca MUDr. Terézií Kozákovej a Mgr. Jozefa Mažerika, PhD. grantom VEGA 1/0042/24 a práce prof. Soni Fraňovej grantami VEGA 1/0060/25, APVV-19-0033 a APVV-23-0261.

Zoznam použitej literatúry

1. Evans, C. M., Kim, K., Tuvim, M. J., & Dickey, B. F. (2009). Mucus hypersecretion in asthma: causes and effects. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, 15(1), 4. <https://doi.org/10.1097/MCP.0B013E32831DA8D3>
2. Franova, S., Molitorisova, M., Kalmanova, L., Palencarova, J., Joskova, M., Smiesko, L., Mazerik, J., & Sutovska, M. (2023). The anti-asthmatic potential of Rho-kinase inhibitor hydroxyfasudil in the model of experimentally induced allergic airway inflammation. *European Journal of Pharmacology*, 938, 175450. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2022.175450>
3. Gondáš, E., Mažerik, J., Dohál, M., Báľentová, S., Pokusa, M., Vargová, D., Smieško, L., Šutovská, M., Jošková, M., & Fraňová, S. (2024). Anti-asthmatic effect of ROCK inhibitor, GSK429286 A, in experimentally induced allergic airway inflammation. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 38, 03946320241282949. <https://doi.org/10.1177/03946320241282949>
4. Hanazaki, M., Yokoyama, M., Morita, K., Kohjitani, A., Sakai, H., Chiba, Y., & Misawa, M. (2008). Rho-kinase inhibitors augment the inhibitory effect of propofol on rat bronchial smooth muscle contraction. *Anesthesia and Analgesia*, 106(6), 1765–1771. <https://doi.org/10.1213/ANE.0B013E31816F1FBA>
5. Kato, A., & Kita, H. (2025). The immunology of asthma and chronic rhinosinusitis. *Nature Reviews Immunology* 2025 25:8, 25(8), 569–587. <https://doi.org/10.1038/s41577-025-01159-0>
6. Kesimer, M. (2022). Mucins MUC5AC and MUC5B in the Airways: MUCing around Together. *https://doi.org/10.1164/Rccm.202208-1459ED*, 206(9), 1055–1056. <https://doi.org/10.1164/RCCM.202208-1459ED>
7. Knipe, R. S., Probst, C. K., Lagares, D., Franklin, A., Spinney, J. J., Brazee, P. L., Grasberger, P., Zhang, L., Black, K. E., Sakai, N., Shea, B. S., Liao, J. K., Medoff, B. D., & Tager, A. M. (2018). The Rho Kinase Isoforms ROCK1 and ROCK2 Each Contribute to the Development of Experimental Pulmonary Fibrosis. *https://doi.org/10.1165/Rcmb.2017-0075OC*, 58(4), 471–481. <https://doi.org/10.1165/Rcmb.2017-0075OC>
8. Mažerik, J., Gondáš, E., Dohál, M., Smieško, L., Jošková, M., Fraňová, S., & Šutovská, M. (2024). Targeting TMEM16A ion channels suppresses airway hyperreactivity, inflammation, and remodeling in an experimental Guinea pig asthma model. *Journal of Pharmacological Sciences*, 156(4), 239–246. <https://doi.org/10.1016/J.JPHS.2024.10.004>

9. Mažerik, J., Gondáš, E., Smieško, L., Fraňová, S., & Šutovská, M. (2023). Effects of TRPV4 channel blocker on airway inflammation and airway defense reflexes in experimentally induced model of allergic asthma. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 316, 104123. <https://doi.org/10.1016/J.RESP.2023.104123>
10. Molitorisova, M., Sutovska, M., Kazimierova, I., Barborikova, J., Joskova, M., Novakova, E., & Franova, S. (2021). The anti-asthmatic potential of flavonol kaempferol in an experimental model of allergic airway inflammation. *European Journal of Pharmacology*, 891, 173698. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2020.173698>
11. Pazhoohan, S., Raoufy, M. R., Javan, M., & Hajizadeh, S. (2017). Effect of Rho-kinase inhibition on complexity of breathing pattern in a guinea pig model of asthma. *PLOS ONE*, 12(10), e0187249. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0187249>
12. Rasouli, S., & Rasouli, S. (2025). Airway Remodeling and Pulmonary Fibrosis in Asthma. *Asthma - Diagnosis, Management and Comorbidities [Working Title]*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.1011765>
13. Saglani, S., & Lloyd, C. M. (2015). Novel concepts in airway inflammation and remodelling in asthma. *European Respiratory Journal*, 46(6). <https://doi.org/10.1183/13993003.01196-2014>
14. Schaafsma, D., Gosens, R., Bos, I. S. T., Meurs, H., Zaagsma, J., & Nelemans, S. A. (2004). Allergic sensitization enhances the contribution of Rho-kinase to airway smooth muscle contraction. *British Journal of Pharmacology*, 143(4), 477. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJP.0705903>
15. Tamura, M., Nakao, H., Yoshizaki, H., Shiratsuchi, M., Shigyo, H., Yamada, H., Ozawa, T., Totsuka, J., & Hidaka, H. (2005). Development of specific Rho-kinase inhibitors and their clinical application. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1754(1–2), 245–252. <https://doi.org/10.1016/J.BBAPAP.2005.06.015>
16. Wang, L., Chitano, P., Paré, P. D., & Seow, C. Y. (2020). Upregulation of smooth muscle Rho-kinase protein expression in human asthma. *European Respiratory Journal*, 55(3). <https://doi.org/10.1183/13993003.01785-2019>
17. Wu, D., Jiang, W., Liu, C., Liu, L., Li, F., Ma, X., Pan, L., Liu, C., Qu, X., Liu, H., Qin, X., & Xiang, Y. (2022). CTNNB1 participates in the regulation of mucus overproduction in HDM-induced asthma mouse model through the YAP-ROCK2 pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 26(5), 1656–1671. <https://doi.org/10.1111/JCMM.17206;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION>
18. Xie, T., Luo, G., Zhang, Y., Wang, X., Wang, X., Wu, M., & Li, G. (2015). Rho-kinase inhibitor fasudil reduces allergic airway inflammation and mucus hypersecretion by regulating STAT6 and NFκB. *Clinical and Experimental Allergy : Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 45(12), 1812–1822. <https://doi.org/10.1111/CEA.12606>
19. Yuan, L., Tao, J., Wang, J., She, W., Zou, Y., Li, R., Ma, Y., Sun, C., Bi, S., Wei, S., Chen, H., Guo, X., Tian, H., Xu, J., Dong, Y., Ma, Y., Sun, H., Lv, W., Shang, Z., ... Zhang, M. (2025). Global, regional, national burden of asthma from 1990 to 2021, with projections of incidence to 2050: a systematic analysis of the global burden of disease study 2021. *EClinicalMedicine*, 80, 103051. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2024.103051>
20. Zanin-Zhorov, A., & Blazar, B. R. (2021). ROCK2, a Critical Regulator of Immune Modulation and Fibrosis Has Emerged as a Therapeutic Target in Chronic Graft-versus-Host Disease. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 230, 108823. <https://doi.org/10.1016/J.CLIM.2021.108823>
21. Zhang, W., Li, X., & Zhang, Y. (2019). Rho-kinase inhibitor attenuates airway mucus hypersecretion and inflammation partly by downregulation of IL-13 and the JNK1/2-AP1 signaling pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 516(2), 571–577. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2019.06.072>
22. Zhang, Y., Saradna, A., Ratan, R., Ke, X., Tu, W., Do, D. C., Hu, C., & Gao, P. (2020). RhoA/Rho-kinases in asthma: from pathogenesis to therapeutic targets. *Clinical & Translational Immunology*, 9(5). <https://doi.org/10.1002/CTI2.1134>
23. Zhu, M., Liu, P. Y., Kasahara, D. I., Williams, A. S., Verbout, N. G., Halayko, A. J., Fedulov, A., Shoji, T., Williams, E. S., Noma, K., Shore, S. A., & Liao, J. K. (2011). Role of Rho kinase isoforms in murine allergic airway responses. *European Respiratory Journal*, 38(4), 841–850. <https://doi.org/10.1183/09031936.00125010>
24. Zhu, X., Cheng, F., Duan, H., Fu, S., & Zhao, C. (2025). Novel insights into the study of goblet cell hypersecretion in allergic rhinitis. *Frontiers in Immunology*, 16. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2025.1525928>

Význam trombocytov a ich molekúl pri tuberkulóze

Simona Hromníková¹, Michaela Krivošová², Simona Mäsiarová¹, Marek Štrba¹, Juraj Mokrá¹, Matúš Dohál²

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

²Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

E-mail: hromnikova9@uniba.sk

Úvod

Tuberkulóza (TBC) patrí aj v 21. storočí medzi najzávažnejšie infekčné ochorenia, pričom v roku 2024 bolo na celom svete odhadovaných približne 10,7 milióna nových prípadov, čo je stále vyššia hodnota než pred pandémiou COVID-19. Napriek tomu však incidencia postupne klesá. V roku 2024 na TBC zomrelo celosvetovo približne 1,23 milióna ľudí, čím predstavuje globálne najčastejšiu príčinu úmrtia spomedzi všetkých infekčných ochorení (WHO, 2025). Významná časť úmrtí sa vyskytuje u pacientov, ktorí užívali vhodné antituberkulotiká, čo je do značnej miery spôsobené zvýšenou zápalovou imunitnou odpoveďou na *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Napriek náznakom, že zvýšená imunitná aktivita pri TBC ovplyvňuje jej chorobnosť a úmrtnosť, súčasné liečebné režimy cielia primárne na baktérie (Kirwan et al., 2021).

Zreteľnú medzeru pozorujeme aj v detekcii a diagnostike TBC, obzvlášť u detí, kde zostáva neodhalený veľký podiel prípadov v porovnaní s dospelou populáciou. Súčasný diagnostický nástroj používaný v klinickej praxi majú u detských pacientov nižšiu citlivosť a diagnostické obmedzenia navyšuje aj skutočnosť, že získanie vhodnej vzorky, najmä spúta, je v tejto vekovej skupine problematické (Vaezipour et al., 2022). Navyše, testy uvoľňovania interferónu γ (IGRA) u detí často poskytujú limitované a neurčité výsledky, čo zdôrazňuje potrebu vývoja dostupnejších a presnejších diagnostických metód (Kay et al., 2018).

V tomto príspevku sme sa zamerali na význam trombocytov a ich molekúl počas TBC a poukázali na ich účasť v regulácii zápalu, ako aj na možnosti ich využitia v diagnostike a monitorovaní aktivity ochorenia.

Úloha trombocytov v imunitnej odpovedi pri TBC

V posledných rokoch sa čoraz viac ukazuje, že aktívnu úlohu v imunitnej odpovedi pri TBC zohrávajú aj trombocyty, napríklad prostredníctvom regulácie zápalových mediátorov, interakciou s monocytmi či moduláciou granulomatóznej reakcie (Kirwan et al., 2021; Schildkraut et al., 2024). Počas infekcie pozorujeme nárast počtu aj aktivity trombocytov (Lee et al., 2016). Trombocyty obsahujú rôzne molekuly ako sú rastové faktory, chemokíny, cytokíny, proteázy, adhézne molekuly či koagulačné faktory, ktoré sú uložené v intracelulárnych granulách. Aktivovaním trombocytov sú tieto molekuly uvoľňované do obehu alebo premiestnené na ich povrch a ako mediátory priťahujú a modulujú efektorové bunky vrodenej imunitného systému (Ali et al., 2015; Tian et al., 2025). Vybrané molekuly trombocytov podieľajúce sa na imunitnej odpovedi sú zosumarizované v tab. 1.

Viacere z týchto molekúl vykazujú u pacientov s aktívnou TBC zvýšené hladiny, čo podporuje ich možné využitie ako diagnostické biomarkery, prípadne biomarkery reflektujúce účinnosť terapeutického režimu (Kirwan et al., 2021; Pavan Kumar et al., 2025). Pri TBC sú

najlepšie preskúmané a klinický potenciál ukazujú matrixové metaloproteinázy (MMP), doštičkový faktor 4 (PF4) a vaskulárny endotelový rastový faktor A (VEGF- A) (Kathamuthu et al., 2020a; Urbán-Solano et al., 2022).

Tab. 1: Prehľad molekúl produkovaných trombocyty s významom v imunitnej odpovedi (Gresele et al., 2017; Tian et al., 2025).

Komponenty komplementu	C1, C3, C4
Proteázy a inhibítory proteáz	MMP
	TIMP
	Antichymotrypsín
	Antitrypsín
Membránové proteíny	P-selektín
	TLT-1
	PECAM-1/CD31
	CD40L
Cytokíny a chemokíny	PF4 (CXCL4)
	IL-1
	TNF
	CXCL1/5/7/8/12, CCL2/3/5
Rastové faktory	PDGF, TGF- β , VEGF, IGF, EGF, FGF, ANG-1, CTGF, HGF

Vysvetlivky: ANG-1 – angiopoetín-1; CCL2/3/5 – chemokín (C-C motíť ligand 2/3/5); C1, C3, C4 – komplementové proteíny C1, C3, C4; CD40L – CD40 ligand; CXCL1/5/7/8/12 – chemokín (C-X-C motíť ligand 1/5/7/8/12); CTGF – rastový faktor spojivového tkaniva; EGF – epidermálny rastový faktor; FGF – fibroblastový rastový faktor; HGF – hepatocytárny rastový faktor; IGF – inzulínu podobný rastový faktor; IL-1 – interleukín-1; MMP – matrixová metaloproteináza; PDGF – doštičkový rastový faktor; PECAM-1/CD31 – trombocytovo-endotelová adhezívna molekula-1; PF4 (CXCL4) – doštičkový faktor 4; TGF- β – transformujúci rastový faktor beta; TIMP – tkanivový inhibítor metaloproteináz; TLT-1 – trombocytový leukocytový tetraspanín- 1; TNF – tumor nekrotizujúci faktor; VEGF – vaskulárny endotelový rastový faktor

Matrixové metaloproteinázy (MMP)

MMP sú zinok-dependentné proteázy schopné degradovať všetky zložky extracelulárnej matrix vrátane kolagénu. Podieľajú sa na remodelácii tkanív, motilite buniek či regulácii imunity a zápalu. Nadmerné zvýšenie týchto enzýmov sa ukázalo byť spojené s deštrukciou pľúcneho tkaniva a pľúcnymi patológiami (Elkington et al., 2011; Greenlee et al., 2007).

Existuje niekoľko štúdií skúmajúcich úlohy MMP aj pri TBC, pričom sa ukázalo, že mnohé sú počas ochorenia výrazne zvýšené. V štúdii Kathamuthu et al., 2020 zistili, že pacienti s pľúcnou formou TBC vykazujú výrazne vyššie hladiny MMP-1, MMP-8, MMP-9 a MMP-12 v porovnaní s pacientmi s extrapulmonárnou TBC, latentnou TBC alebo zdravými kontrolami, čo poukazuje na ich schopnosť odlíšiť pľúcnu TBC od ostatných foriem. Na tieto výsledky nadväzujú aj ďalšie klinické dáta, podľa ktorých môžu koncentrácie rôznych MMP a ich inhibítorov (TIMP) predstavovať užitočné biomarkery závažnosti zápalového procesu pri pľúcnej TBC a

pomáhajú rozlišovať medzi aktívnou a latentnou formou ochorenia (Kathamuthu et al., 2020; Kumar et al., 2020; Lavrova et al., 2019).

Podobné štúdie naznačujú, že pediatrickí pacienti s bakteriologicky potvrdenou aj klinicky diagnostikovanou TBC majú v plazme významne zvýšené hladiny viacerých MMP, čo poukazuje na ich diagnostický potenciál. Najmä kombinované panely pozostávajúce z MMP-1/MMP-2/MMP-9 preukázali vysokú citlivosť a špecificitu. Tieto výsledky podporujú využitie MMP ako sľubného diagnostického nástroja aj v pediatickej populácii (Pavan Kumar et al., 2013, 2025).

Doštičkový faktor 4 (PF4)

PF4 je chemokín produkovaný a uvoľňovaný špecificky aktivovanými trombocyty a u pacientov s TBC sa popisujú jeho zvýšené hladiny, ktoré korelujú s klinickou a rádiologickou závažnosťou ochorenia (Büyükaşık et al., 1998). Používa sa preto ako marker aktivácie trombocytov. Zaujímavé sú zistenia, že PF4 pôsobí aj ako zápalový mediátor, pričom dokáže aktivovať monocyty, indukovať uvoľňovanie prozápalových cytokínov a chemokínov a zároveň meniť expresiu ich chemokínových receptorov, čím významne ovplyvňuje smerovanie a charakter zápalovej odpovede (Schwartzkopff et al., 2012). PF4 je zároveň schopný sprostredkovať migráciu CCR1⁺ monocytov (C-C chemokínový receptor 1 monocytov), čo predstavuje mechanizmus presunu monocytov do miesta infekcie a udržiavania lokálneho zápalu (Urbán-Solano et al., 2022). Pri aktívnej TBC sa aktivované trombocyty vo veľkom množstve hromadia v pľúcnych granulómoch, kde uvoľňujú viaceré mediátory vrátane PF4. Tieto trombocytové produkty následne modulujú aj funkciu makrofágov zvýšením ich schopnosti obmedzovať rast a replikáciu Mtb (La Manna et al., 2022).

Ukazuje sa, že hladiny PF4 sú vyššie u pacientov s aktívnou TBC v porovnaní s latentnou formou, kde vzostup odráža zvýšenú prítomnosť aktivovaných trombocytov, ktoré podporujú zápalovú odpoveď (Urbán-Solano et al., 2022).

Vaskulárny endotelový rastový faktor (VEGF)

VEGF-A je kľúčový angiogénny a imunomodulačný faktor, ktorý reguluje vaskulárnu permeabilitu, proliferáciu a viabilitu endotelových buniek, interakcie s extracelulárnou matrix, a zároveň moduluje zápal tým, že podporuje chemotaxiu a aktiváciu imunitných buniek a ovplyvňuje tvorbu cytokínov (Failla et al., 2025). Je produkovaný mnohými typmi buniek, vrátane trombocytov či makrofágov (Duffy et al., 2013). Trombocyty predstavujú významný zdroj cirkulujúceho VEGF, ktorý je uložený najmä v α -granulách a uvoľňuje sa pri ich aktivácii (Banks et al., 1998). Pri TBC sa pozorujú zvýšené hladiny VEGF-A v krvi, ktoré korelujú so zápalovou aktivitou, počtom trombocytov a monocytov, čo naznačuje jeho úlohu v patofyziológii aktívneho ochorenia.

Okrem toho sa ukazuje, že Mtb dokáže indukovať VEGF-mediovanú angiogénzu, ktorá môže podporovať lokálny zápal a potenciálne uľahčovať šírenie baktérii z primárneho ložiska. Tieto zistenia zdôrazňujú úzke prepojenie medzi angiogenezou, trombocyty a imunitnou odpoveďou pri TBC (Harding et al., 2019; Urbán-Solano et al., 2022).

Záver

Doterajšie poznatky ukazujú, že trombocyty a nimi produkované molekuly, ako MMP, PF4 a VEGF-A, zohrávajú v patofyziológii TBC významne aktívnejšiu úlohu, než sa pôvodne predpokladalo. Ich zvýšené hladiny odrážajú intenzitu zápalovej odpovede, stupeň poškodenia

tkanív a poskytujú bližšie informácie o prebiehajúcej imunitnej odpovedi na infekciu. Vzhľadom na svoju dostupnosť v periférnej krvi predstavujú tieto molekuly možné biomarkery s potenciálom zlepšiť diagnostiku, rozlíšiť rôzne klinické formy TBC či podporiť monitorovanie liečby.

Okrem ich diagnostickej hodnoty poukazujú súčasné štúdie aj na ich funkčnú účasť v regulácii imunitnej odpovede, či už ide o moduláciu aktivity makrofágov, migráciu monocytov alebo ovplyvňovanie angiogenézy.

Táto práca bola podporená z grantov APVV-18-0084, APVV-22-0342, VEGA-1/0093/22, VEGA-1/0093/22, VEGA-1/0049/25.

Zoznam použitej literatúry

1. Ali, R. A., Wuescher, L. M., & Worth, R. G. (2015). Platelets: Essential components of the immune system. *Current trends in immunology*, 16, 65–78.
2. Banks, R. E., Forbes, M. A., Kinsey, S. E., Stanley, A., Ingham, E., Walters, C., & Selby, P. J. (1998). Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: Significance for VEGF measurements and cancer biology. *British Journal of Cancer*, 77(6), 956–964. <https://doi.org/10.1038/bjc.1998.158>
3. Büyükaşık, Y., Soylu, B., Soylu, A. R., Özcebe, O. I., Canbakan, S., Haznedaroğlu, I. C., Kirazlı, S., Başer, Y., & Dündar, S. V. (1998). In vivo platelet and T-lymphocyte activities during pulmonary tuberculosis. *The European Respiratory Journal*, 12(6), 1375–1379. <https://doi.org/10.1183/09031936.98.12061375>
4. Duffy, A. M., Bouchier-Hayes, D. J., & Harmey, J. H. (2013). Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in Non-Endothelial Cells: Autocrine Signalling by VEGF. V Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Landes Bioscience. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6482/>
5. Elkington, P., Shiomi, T., Breen, R., Nuttall, R. K., Ugarte-Gil, C. A., Walker, N. F., Saraiva, L., Pedersen, B., Mauri, F., Lipman, M., Edwards, D. R., Robertson, B. D., D'Armiento, J., & Friedland, J. S. (2011). MMP-1 drives immunopathology in human tuberculosis and transgenic mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(5), 1827–1833. <https://doi.org/10.1172/JCI45666>
6. Failla, C. M., Carbone, M. L., Ramondino, C., Bruni, E., & Orecchia, A. (2025). Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Family and the Immune System: Activators or Inhibitors? *Biomedicines*, 13(1), 6. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13010006>
7. Greenlee, K. J., Werb, Z., & Kheradmand, F. (2007). Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted. *Physiological Reviews*, 87(1), 69–98. <https://doi.org/10.1152/physrev.00022.2006>
8. Gresele, P., Falcinelli, E., Sebastiano, M., & Momi, S. (2017). Matrix Metalloproteinases and Platelet Function. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 147, 133–165. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.01.002>
9. Harding, J. S., Herbath, M., Chen, Y., Rayasam, A., Ritter, A., Csoka, B., Hasko, G., Michael, I. P., Fabry, Z., Nagy, A., & Sandor, M. (2019). VEGF-A from Granuloma Macrophages Regulates Granulomatous Inflammation by a Non-angiogenic Pathway during Mycobacterial Infection. *Cell Reports*, 27(7), 2119–2131.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.072>
10. Kathamuthu, G. R., Kumar, N. P., Moideen, K., Nair, D., Banurekha, V. V., Sridhar, R., Baskaran, D., & Babu, S. (2020a). Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases Are Potential Biomarkers of Pulmonary and Extra-Pulmonary Tuberculosis. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00419>
11. Kathamuthu, G. R., Kumar, N. P., Moideen, K., Nair, D., Banurekha, V. V., Sridhar, R., Baskaran, D., & Babu, S. (2020b). Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases Are Potential Biomarkers of Pulmonary and Extra-Pulmonary Tuberculosis. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00419>
12. Kay, A. W., Islam, S. M., Wendorf, K., Westenhouse, J., & Barry, P. M. (2018). Interferon- γ Release Assay Performance for Tuberculosis in Childhood. *Pediatrics*, 141(6), e20173918. <https://doi.org/10.1542/peds.2017-3918>
13. Kirwan, D. E., Chong, D. L. W., & Friedland, J. S. (2021). Platelet Activation and the Immune Response to Tuberculosis. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.631696>
14. Kumar, N. P., Moideen, K., Nancy, A., Viswanathan, V., Thiruvengadam, K., Sivakumar, S., Hissar, S., Nair, D., Banurekha, V. V., Kornfeld, H., & Babu, S. (2020). Association of Plasma Matrix Metalloproteinase and Tissue

- Inhibitors of Matrix Metalloproteinase Levels With Adverse Treatment Outcomes Among Patients With Pulmonary Tuberculosis. *JAMA Network Open*, 3(12), e2027754. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.27754>
15. La Manna, M. P., Orlando, V., Badami, G. D., Tamburini, B., Shekarkar Azgomi, M., Lo Presti, E., del Nonno, F., Petrone, L., Belmonte, B., Falasca, L., Di Carlo, P., Dieli, F., Goletti, D., & Caccamo, N. (2022). Platelets accumulate in lung lesions of tuberculosis patients and inhibit T-cell responses and *Mycobacterium tuberculosis* replication in macrophages. *European Journal of Immunology*, 52(5), 784–799. <https://doi.org/10.1002/eji.202149549>
 16. Lavrova, A. I., Esmedljaeva, D. S., Belik, V., & Postnikov, E. B. (2019). Matrix Metalloproteinases as Markers of Acute Inflammation Process in the Pulmonary Tuberculosis. *Data*, 4(4), 137. <https://doi.org/10.3390/data4040137>
 17. Lee, M. Y., Kim, Y. J., Lee, H. J., Cho, S. Y., & Park, T. S. (2016). Mean Platelet Volume in *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *BioMed Research International*, 2016, 7508763. <https://doi.org/10.1155/2016/7508763>
 18. Pavan Kumar, N., Anuradha, R., Andrade, B. B., Suresh, N., Ganesh, R., Shankar, J., Kumaraswami, V., Nutman, T. B., & Babu, S. (2013). Circulating Biomarkers of Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis in Children. *Clinical and Vaccine Immunology*, 20(5), 704–711. <https://doi.org/10.1128/CVI.00038-13>
 19. Pavan Kumar, N., Hissar, S., Nancy, A., Thiruvengadam, K., Banurekha, V. V., Balaji, S., Elilarasi, S., Gomathi, N. S., Ganesh, J., Aravind, M. A., Baskaran, D., Swaminathan, S., & Babu, S. (2025). Plasma Matrix Metalloproteinases Signature as Biomarkers for Pediatric Tuberculosis Diagnosis: A Prospective Case-Control Study. *Diseases (Basel, Switzerland)*, 13(6), 171. <https://doi.org/10.3390/diseases13060171>
 20. Schildkraut, J. A., Köhler, N., Lange, C., Duarte, R., & Gillespie, S. H. (2024). Advances in tuberculosis biomarkers: Unravelling risk factors, active disease and treatment success. *Breathe*, 20(3). <https://doi.org/10.1183/20734735.0003-2024>
 21. Schwartzkopff, F., Petersen, F., Grimm, T. A., & Brandt, E. (2012). CXC chemokine ligand 4 (CXCL4) down-regulates CC chemokine receptor expression on human monocytes. *Innate Immunity*, 18(1), 124–139. <https://doi.org/10.1177/1753425910388833>
 22. Tian, Y., Zong, Y., Pang, Y., Zheng, Z., Ma, Y., Zhang, C., & Gao, J. (2025). Platelets and diseases: Signal transduction and advances in targeted therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 10(1), 159. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02198-8>
 23. Urbán-Solano, A., Flores-Gonzalez, J., Cruz-Lagunas, A., Pérez-Rubio, G., Buendia-Roldan, I., Ramón-Luing, L. A., & Chavez-Galan, L. (2022). High levels of PF4, VEGF-A, and classical monocytes correlate with the platelets count and inflammation during active tuberculosis. *Frontiers in Immunology*, 13, 1016472. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1016472>
 24. Vaezipour, N., Fritschi, N., Brasier, N., Bélard, S., Domínguez, J., Tebruegge, M., Portevin, D., & Ritz, N. (2022). Towards Accurate Point-of-Care Tests for Tuberculosis in Children. *Pathogens*, 11(3), 327. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030327>
 25. WHO. (2025, 11). Global Tuberculosis Report 2025. <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2025>

Úloha fekálnej mikrobiálnej transplantácie v terapii ulceróznej kolitídy

Laura Javoríková¹, Martin Kertys¹, Nela Žideková²

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin,

²Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

E-mail: nela.zidekova@uniba.sk

Úvod

Gastrointestinálny trakt (GIT) človeka je osídlený rôznorodou a dynamickou populáciou mikroorganizmov, ktoré spolu vytvárajú komplexný ekosystém. Narušenie jej rovnováhy, tzv. dysbióza, môže viesť k rozvoju rôznych ochorení, vrátane ulceróznej kolitídy (UC) (Gooma, 2020; Das a Nair, 2019; Ye et al., 2022).

UC patrí medzi nešpecifické zápalové ochorenia čriev (IBD) s charakteristickým zápalom sliznice hrubého čreva, ktorý začína v rekte a šíri sa proximálnym smerom. Medikamentózna liečba UC nedokáže zabezpečiť trvalé vyliečenie, preto sa terapeutické postupy zameriavajú na dosiahnutie a udržanie dlhodobej remisie (Češka et al., 2020; Segal, LeBlanc a Hart, 2021).

V posledných rokoch sa fekálna mikrobiálna transplantácia (FMT) stala významným predmetom výskumu ako potenciálna liečba širokého spektra ochorení. Spočíva v prenose fekálneho materiálu od zdravého darcu pacientovi s črevnou dysbiózou. Jej cieľom je obnoviť rovnováhu črevného mikrobiómu a potlačiť zápalové mechanizmy. V tomto kontexte sa FMT javí ako nádejná terapeutická alternatíva liečby UC (Chehade et al., 2023; Wang et al., 2019).

Ulcerózna kolitída

UC je chronické, nešpecifické zápalové ochorenie hrubého čreva, ktorého incidencia má celosvetovo stúpajúci trend. Hoci sa môže manifestovať v akomkoľvek veku, najčastejšie je diagnostikovaná u mladých dospelých vo veku od 20 do 30 rokov. Druhý vrchol ochorenia je zaznamenaný u osôb vo veku 50 až 60 rokov. Pomer mužov a žien postihnutých UC je približne rovnaký (Češka et al., 2020; Du a Ha, 2020).

UC je multifaktoriálne ochorenie a jej vznik je ovplyvnený kombináciou genetických, mikrobiálnych a environmentálnych faktorov. Infekcie, napr. infekcia *Clostridium difficile* (CDI), môžu spustiť vzplanutie UC, avšak súčasné dôkazy naznačujú, že ochorenie vzniká predovšetkým v dôsledku nadmernej imunitnej reakcie sliznice na črevnú dysbiózu. Environmentálne faktory, ako stravovacie návyky, fajčenie, industrializovaný životný štýl a niektoré liečivá zvyšujú riziko a modulujú priebeh ochorenia (Fang et al., 2021; Preda a Istrătescu, 2022; Zou et al., 2021).

Hlavnými príznakmi UC sú tenezmy, stolica s prímесou krvi, hlienu alebo hnisu, systémové príznaky ako chudnutie, horúčka a bolesti brucha alebo extraintestinálne príznaky (napr. primárna sklerotizujúca cholangitída). V dôsledku spomenutých príznakov pacienti uvádzajú zhoršenú kvalitu života, depresiu, úzkosť, poruchy spánku a sexuálnu dysfunkciu (Češka et al., 2020; Dubinsky, 2023; Voelker, 2024).

Stanovenie diagnózy UC si vyžaduje komplexný prístup zahŕňajúci klinické hodnotenie, laboratórne testy a zobrazovacie, endoskopické ako aj histopatologické vyšetrenie (Češka et al., 2020).

Hodnotenie aktivity ulceróznej kolitídy

Na hodnotenie aktivity UC sa používa tzv. Mayo skóre, ktoré zahŕňa štyri hlavné parametre: frekvenciu stolice, prítomnosť rektálneho krvácania, endoskopický obraz sliznice a celkové klinické zhodnotenie lekárom. Každá položka je bodovaná od 0 do 3, pričom celkové skóre môže dosiahnuť maximálne 12 bodov. V praxi sa však často používa modifikované Mayo skóre, ktoré neobsahuje endoskopické hodnotenie, preto je jeho maximálne skóre 9 bodov (Danese et al., 2025; Sandborn et al., 2022).

Tradičná liečba ulceróznej kolitídy

Výber farmakologickej liečby závisí od zápalovej aktivity ochorenia a rozsahu postihnutia čreva. Cieľom terapie je dosiahnuť a udržať čo najdlhšiu remisiu a zabezpečiť čo najlepšiu kvalitu života pacienta (Češka et al., 2020; Raine et al., 2022).

Do základnej farmakologickej liečby UC patria aminosalicyláty, lokálne a systémové kortikosteroidy, tiopuríny, biologická liečba (napr. inhibítory tumor nekrotizujúceho faktora alfa, inhibítory interleukínu 23 či anti-integríny), inhibítory Janusovej kinázy 1 alebo inhibítory kalcineurínu (Ferreti et al., 2022).

Fekálna mikrobiálna transplantácia

FMT, označovaná aj ako „transplantácia stolice či fekálna baktérioterapia“, predstavuje terapeutický postup, pri ktorom sa spracovaný fekálny materiál od zdravého darcu aplikuje do GIT pacienta. Hlavným cieľom tejto metódy je obnoviť narušenú rovnováhu črevného mikrobiómu, zvýšiť jeho diverzitu, a tým podporiť zlepšenie priebehu črevných ochorení (Hou et al., 2025).

V súčasnosti sa FMT považuje za štandardnú terapeutickú metódu pri liečbe rekurentnej infekcie spôsobenej CDI. Okrem toho vykazuje sľubné výsledky aj pri iných ochoreniach, ako je napríklad aj UC. Predpokladá sa, že FMT zasahuje do črevného prostredia obnovením mikrobiálnej rovnováhy, čím znižuje nadmernú antigénnu stimuláciu imunitného systému a obnoví synergické vzťahy medzi hostiteľom a jeho črevným mikrobiómom (Chehade et al., 2023).

FMT patrí medzi relatívne bezpečné terapeutické postupy, pri ktorých sa výskyt nežiaducich účinkov (NÚ) zaznamenáva len zriedkavo. Väčšina rizík je spojená predovšetkým so spôsobom podania transplantátu. NÚ spojené s FMT môžeme rozdeliť na mierne až stredne závažné, ako sú hnačka, bolesť brucha, krče, nadúvanie, plynatosť, zápcha a horúčka, a závažné, kam patria perforácia čreva, aspirácia, bakteriémia, vzplanutie IBD a prenos infekcií (Gulati et al., 2023; Merrick et al., 2020; Wang et al., 2019).

Výber a skrining darcu pre fekálnu mikrobiálnu transplantáciu

Správny výber darcu a jeho dôkladný skrining predstavujú kľúčové kroky pri zabezpečení kvality a bezpečnosti FMT. Podľa pôvodu fekálneho materiálu rozlišujeme darcov alogénnych (cudzie osoby) a autológnych (vlastná stolica pacienta). V klinickej praxi sú preferovaní alogénni darcovia, keďže ich transplantáty vykazujú vo všeobecnosti vyššiu účinnosť a možnosť využitia pre väčšie spektrum príjemcov. Proces výberu darcov je komplexný a zahŕňa napr. hodnotenie demografických údajov darcu, indexu telesnej hmotnosti (BMI) a geografického pôvodu. Každý darca musí podstúpiť detailný skrining na infekčné agensy a potenciálne patogénne baktérie, aby sa minimalizovalo riziko prenosu infekcie na príjemcu. Z procesu darcovstva sú vylúčené osoby s aktívnymi ochoreniami, užívajúce drogy, s dlhodobou farmakoterapiou imunosupresívami alebo antimikrobiálnymi látkami/probiotikami v predchádzajúcich 3

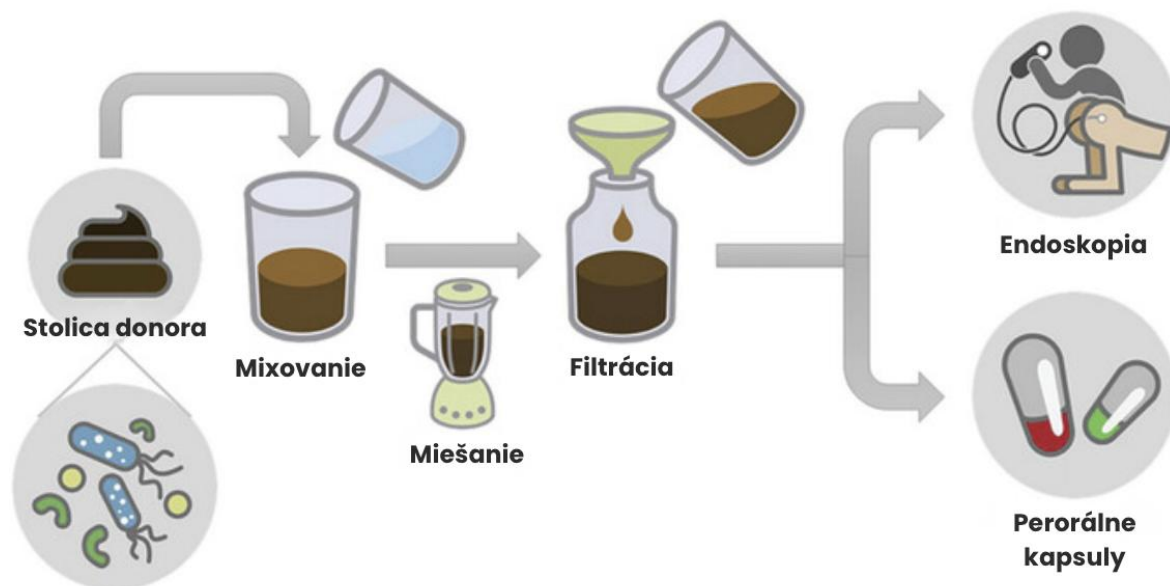
mesiacoch. Nevhodní sú aj darcovia, ktorí v posledných 6 mesiacoch absolvovali tetovanie či *piercing*. Dôsledná selekcia a štandardizovaný skríning darcov sú preto základnými predpokladmi na vytvorenie bezpečného, reprodukovateľného a klinicky účinného FMT produktu. Z tohto dôvodu by mali byť vypracované špecifické regulačné usmernenia týkajúce sa výberu darcov a ich skríningu, ktoré umožnia jednotný prístup k týmto kľúčovým aspektom (EMA, 2025; Wang et al., 2019; Wang et al., 2022).

Spracovanie stolice na prípravu transplantátu

Kroky potrebné na prípravu suspenzií stolice zahŕňajú odber vzoriek, prípravu suspenzného pufru, homogenizáciu, čistenie (filtráciu, centrifugáciu), kryokonzerváciu, dávkovanie, zabezpečenie vhodného pracovného prostredia a samotnú transplantáciu (obr. 1). Príprava stolice darcu by mala prebiehať v anaeróbných podmienkach (Gong a Liu a Huang, 2025).

Pri zbere čerstvých vzoriek ľudskej stolice sa odporúča vykonávať odber sterilnými jednorazovými pomôckami určenými na manipuláciu s biologickým materiálom. Počas odberu je nevyhnutné zabrániť kontaminácii vzorky krvou alebo močom. Vzorky sa následne v čo najkratšom časovom intervale transportujú do laboratória pri teplote približne 4 °C. V klinickej praxi sa fekálny materiál môže používať vo forme čerstvej, mrazenej alebo lyofilizovanej suspenzie (Gong a Liu a Huang, 2025).

Prípravený transplantát črevného mikrobiómu je možné aplikovať podľa cieľového miesta v tráviacom trakte. Využívajú sa perorálne kapsuly, suspenzie, nazogastričná sonda, endoskopia, transendoskopická enterálna tuba alebo perkutánna endoskopická gastrojejunostómia (PEG-J). Podaná dávka FMT závisí od množstva darcovho materiálu, nie od presne stanovenej koncentrácie mikroorganizmov (Wang et al., 2019; Wang et al., 2022).



Obr. 1: Ilustrácia krokov pri prevedení FMT terapie (upravené podľa Hou et al., 2025).

Praktické možnosti aplikácie FMT v liečbe UC

Cieľom tejto práce je poukázať na možnosť aplikácie FMT u pacientov s UC, ktorí podstúpili tento zákrok. Práca bola realizovaná formou rozhovorov s dvomi pacientmi, ktoré boli vedené v polo-štruktúrovanom formáte, kombinujúci systematicky pripravený súbor otázok s možnosťou respondentov poskytovať otvorené a voľné odpovede. Tento metodologický prí-

stup umožňuje zachytiť nielen faktické informácie, ale aj subjektívne vnímanie, postoje a individuálne skúsenosti účastníkov. Zároveň poskytuje priestor pre identifikáciu nových a nepredvídaných tém, ktoré môžu rozšíriť interpretačný rámec skúmanej problematiky. Obsah rozhovorov bol zameraný na diagnostiku a liečbu UC pred FMT, rozhodovanie o podstúpení FMT a očakávania pacientov, skúsenosti s FMT a hodnotenie jej účinnosti. Práca bola schválená Etickou komisiou Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Martine (číslo rozhodnutia: EK 11/2025).

Porovnanie účinnosti tradičnej liečby ulceróznej kolitídy a fekálnej mikrobiálnej transplantácie

Využitie FMT pri liečbe UC je stále predmetom aktívneho výskumu. Súčasná liečba UC sa zameriava predovšetkým na tlmenie nadmernej imunitnej odpovede (Chehade et al., 2023). Tabuľka 1 uvádza základné rozdiely a porovnanie medzi FMT a tradičnou farmakologickou liečbou UC.

Tab. 1: Hlavné rozdiely medzi fekálnou mikrobiálnou transplantáciou a tradičnou liečbou ulceróznej kolitídy.

KRITÉRIUM	FEKÁLNA MIKROBIÁLNA TRANSPLANTÁCIA	TRADIČNÁ LIEČBA ULCERÓZNEJ KOLITÍDY
Mechanizmus účinku	Úprava črevnej mikrobióty príjemcu s cieľom obnoviť jej rovnováhu	Potlačenie zápalu liečivami
Účinnosť	Porovnateľná s tradičnou liečbou, prítomné limitácie	Účinná, častá strata odpovede, potrebná eskalácia liečby
Bezpečnosť	Nižší výskyt nežiaducich účinkov	Časté nežiaduce účinky
Personalizácia	Zohľadňuje genetické, mikrobiálne a imunitné vlastnosti	Individuálny výber liečby podľa aktivity a priebehu ochorenia

Upravené podľa Březina et al., 2021; Česka et al., 2020; Tkach et al., 2023; Wang et al. 2019; Yaqub et al. 2025.

Klinický prípad 1

Prvý rozhovor bol uskutočnený so 62-ročným mužom na dôchodku bez závažných komorbidít, s BMI 31. V rodinnej anamnéze uviedol výskyt Crohnovej choroby u sesternice.

Prvé ťažkosti sa u pacienta objavili v roku 2011, a to vo forme častého vyprázdňovania s prímiesou jasnočervenej krvi, bez prítomnosti bolesti, hlienu, nauzey či vracania. Pacient mal subfebrílie, pociťoval dyspnoe a výraznú slabosť, ktorá mu znemožňovala vykonávanie bežných aktivít. Taktiež došlo k poklesu telesnej hmotnosti o 20 kg. V roku 2012 mu bola diagnostikovaná ľavostranná UC, pre ktorú bol hospitalizovaný. Počas hospitalizácie vyžadoval opakované transfúzie erytrocytov z dôvodu anémie.

V úvode liečby bol pacient nastavený na perorálne podávaný mesalazín, systémový kortikosteroid prednizón a lokálny kortikosteroid budezonid vo forme rektálnej klyzmy (7 dní). Súčasťou manažmentu bola aj nutričná terapia (Modulen IBD 0,5 – 1 balenia denne). V priebehu nasledujúcich rokov bola liečba viackrát zmenená na rôzne biologické liečivá a malé molekuly, a to: infliximab (2016), adalimumab (2017), vedolizumab (2018 – 2022), ustekinumab (2022 – 2023), filgotinib (2023) a upadacitinib (september 2024).

Napriek intenzívnej liečbe bol klinický obraz pacienta dlhodobo nepriaznivý. V roku 2023 mal pacient 3 až 8 stolíc denne, pričom po prekonaní cytomegalovírusovej infekcie sa jeho stav výrazne zhoršil a v roku 2024 mal až 15 stolíc denne, sprevádzaných bolesťou brucha.

FMT bola indikovaná v októbri 2024 pre ťažkú formu UC. Pacient sa o tejto metóde prvýkrát dozvedel od kolegu, ktorý ju podstúpil a opísal ako život meniacu, preto boli jeho očakávania veľmi vysoké. Darcom stolice bola jeho dcéra.

Procedúra bola vykonaná počas kolonoskopie bez komplikácií a bola pacientom dobre tolerovaná. Po výkone sa nevyskytli žiadne NÚ a okamžité zmeny neboli zaznamenané. Pri bližšie po piatich mesiacoch došlo k výraznému zlepšeniu – počet stolíc klesol na dve denne, vymizlo krvácanie aj bolesti a hospitalizácia už nebola potrebná.

Pacient zhodnotil FMT ako vysoko efektívnu liečbu výrazne zlepšujúcu kvalitu života, ktorú by v prípade potreby opätovne podstúpil.

Laboratórne a endoskopické nálezy v klinickom prípade 1:

V roku 2012 bola u pacienta počas hospitalizácie diagnostikovaná anémia a zvýšená hodnota C-reaktívneho proteínu, ktorá dosiahla hodnotu 41,8 mg/l (referenčná hodnota < 5 mg/l). V tomto období pacient absolvoval prvú kolonoskopiu, pri ktorej boli dokumentované ťažko aktívne proktokolické ulcerácie.

V roku 2023 bola u pacienta potvrdená ťažká forma UC (Mayo skóre 3) a v októbri 2024 bolo pacientovi počas výkonu cez kanál endoskopu podaných 300 ml roztoku stolice upravenej pre potreby FMT. Hodnoty fekálneho kalprotektínu, signalizujúceho črevný zápal, postupne klesali z 1076 µg/g (7/2023) na 293,9 µg/g (9/2024) – referenčná hodnota: 0 – 120 µg/g. V roku 2025 bola pacientovi preukázaná endoskopicky pozorovaná remisia UC.

Klinický prípad 2

Druhý rozhovor bol realizovaný so 49-ročnou ženou, ktorá pracuje ako účtovníčka, je bez závažných komorbidít, s hodnotou BMI 25. V rodinnej anamnéze neudáva výskyt IBD.

Prvé ťažkosti sa u pacientky objavili v júni 2013 vo forme častej stolice (päťkrát denne) bez prímеси krvi či hlienu. V novembri 2013 jej bola diagnostikovaná UC, ktorá bola iniciálne liečená perorálne podávaným mesalazínom. Táto terapia neviedla k úprave klinického stavu, a tak bola následne liečba zmenená na systémový kortikosteroid metylprednizón, imunosupresívum azatioprín a mesalazín. Po úvodnej odpovedi na kortikosteroid došlo po jeho vysadení k relapsu ochorenia, ktorý sa manifestoval nárastom frekvencie stolíc s prímесou čerstvej krvi (8 denne), výrazným úbytkom hmotnosti na 39 kg (BMI 16), sideropenickou anémiou a polievkovou alopeciou. Pacientka taktiež pociťovala naliehavú potrebu vyprázdnenia, ktorá výrazne obmedzovala jej spoločenský život, hoci pracovnú činnosť dokázala vykonávať.

Napriek liečbe nedošlo k zlepšeniu zdravotného stavu a v priebehu nasledujúcich rokov bolo pacientke podaných viacero biologických liečiv. V roku 2014 bol nasadený infliximab, na ktorý mala najskôr dobrú odpoveď, avšak liečba musela byť pre vznik infúznej reakcie ukončená. Následne bola liečba zmenená na vedolizumab (2016 – 2019), ku ktorému bol v roku 2018 pridaný systémový kortikosteroid prednizón. Podobne ako pri predchádzajúcej systémovej kortikoterapii, aj tentoraz došlo pri redukcii dávky k relapsu ochorenia. Pre nedostatočnú odpoveď na liečbu bola indikovaná kolektómia, ktorú pacientka odmietla.

O možnosti FMT sa prvýkrát dozvedela v roku 2019 od rodičov, ktorí sa o tejto inovatívnej liečbe dozvedeli z internetu. Pacientka následne FMT konzultovala s odborníkmi, pričom jej táto metóda bola prezentovaná ako jedna z posledných terapeutických možností. Vnímala ju tak ako príležitosť na zlepšenie zdravotného stavu a vyhnutie sa chirurgickému zákroku, a rozhodla sa zákrok FMT podstúpiť. Darcami stolice boli jej otec a syn. Transplantácia bola realizovaná kolonoskopicky v celkovej anestézii a prebehla bez komplikácií. Bezprostredne po výkone pacientka nepociťovala žiadne nežiaduce účinky ani subjektívne zmeny zdravotného

stavu. Z dlhodobého hľadiska nepozorovala výrazné zlepšenie ani zhoršenie ochorenia. Frekvencia stolíc pretrvávala okolo päť denne, avšak bez bolesti a nutnosti hospitalizácie.

Krátko po FMT bol pacientke nasadený nový inhibítor Janusovej kinázy 1 tofacitinib, po ktorom došlo k stabilizácii ochorenia a dlhodobému udržaniu remisie. Pacientka hodnotí FMT neutrálne – zákrok vnímala ako bezpečný, avšak bez terapeutického prínosu, a tak by ho opakovane nepodstúpila. Odporučila by ju skôr pacientom s miernejšou formou UC.

Laboratórne a endoskopické nálezy v klinickom prípade 2:

Prvá kolonoskopia bola realizovaná v roku 2013 a potvrdila ľavostrannú UC. V nasledujúcich rokoch preukázali kolonoskopické vyšetrenia ťažký stupeň UC s ulceráciami a pseudopolypmi (Mayo skóre 7). V tomto období bola u pacientky diagnostikovaná sideropenická anémia. Počas kolonoskopie v roku 2019 bolo pacientke cez kanál endoskopu podaných 180 ml roztoku stolice upravenej pre potreby FMT. Kalprotektín po tomto výkone dosahoval hodnotu 1524,7 µg/g a o mesiac neskôr stúpol na > 2500 µg/g. Posledná kolonoskopia v roku 2024 preukázala len minimálnu aktivitu ochorenia s pozápalovými zmenami a 12 mm polypom v sigme. Údaje z rokov 2013 – 2018 nie sú dostupné.

Diskusia

FMT predstavuje sľubnú terapeutickú možnosť liečby UC, a to najmä u pacientov s miernou až stredne ťažkou formou ochorenia. Táto inovatívna terapeutická metóda dosahuje účinnosť porovnateľnú s tradičnou farmakologickou liečbou UC, pričom jej výhodou je nižší výskyt NÚ. Účinnosť FMT je však značne ovplyvnená výraznou interindividuálnou variabilitou, čo potvrdzujú aj výsledky našich klinických prípadov.

U pacienta č. 1 bolo po FMT pozorované výrazné klinické aj endoskopické zlepšenie bez závažných NÚ. Toto zistenie korešponduje so štúdiami (Chehade et al., 2023; Feng et al., 2023; Tkach et al., 2023) popisujúcimi pokles zápalovej aktivity po FMT. V randomizovanej klinickej štúdii od Tkach et al. (2023) skúmali účinnosť a bezpečnosť jednorazovej aplikácie FMT u pacientov s ľahkou až stredne ťažkou UC. Autori uvádzajú, že FMT môže predstavovať účinnú terapeutickú možnosť, ktorá zvyšuje efektivitu základnej terapie UC už v priebehu 4 až 8 týždňov, a zároveň vedie k signifikantnému zvýšeniu diverzity črevnej mikrobioty už 4 týždne po jej podaní. V našom prípade však došlo k zlepšeniu až približne po piatich mesiacoch, čo mohlo byť ovplyvnené aj zmenou liečby na inhibítor Janusovej kinázy 1 upadacitinib. U pacienta hľadina fekálneho kalprotektínu začala klesať ešte pred zákrokom, ale po FMT nedošlo k relapsu ochorenia, čo poukazuje na stabilizáciu stavu. Vo všeobecnosti pacient hodnotil túto liečebnú metódu ako komfortnú, efektívnu a odporúča ju ďalším pacientom s UC.

Naopak, u pacientky č. 2 nebolo po FMT pozorované klinické zlepšenie. Za možnú príčinu zlyhania možno považovať vysokú zápalovú aktivitu, nízku diverzitu darcovho mikrobiómu, imunitnú dysreguláciu a aplikáciu len jednej dávky FMT. Biazzo a Deidda vo svojej práci publikovanej v roku 2022 podobne nepreukázali významný prínos jednorazového podania FMT u pacientov s UC. Ak však jednorazové podanie využíva vysoko diverzifikovanú FMT (kombinácia dvoch darcov), môže u približne 35 % pacientov dosiahnuť klinickú remisiu a súčasne zvýšiť mikrobiálnu diverzitu (Biazzo a Deidda, 2022). U našej pacientky došlo k stabilizácii až po nasadení tofacitinibu.

Výsledky oboch kazuistík potvrdzujú výraznú individuálnu variabilitu odpovede na vykonanie FMT u pacientov s UC, na čo poukazuje aj Tikunov et al. (2023). Je možné, že rozdiely medzi pacientom č. 1 a pacientom č. 2 sú spôsobené odlišnou kompatibilitou črevného mik-

robiómu darcu a príjemcu. Pinto et al. (2024) uvádzajú, že úspech FMT nemusí súvisieť s úplnou náhradou mikrobiómu, ale skôr jeho komplementaritou medzi darcom a príjemcom. Okrem toho sa ukazuje, že prítomnosť špecifických bakteriálnych čľadí môže predikovať klinickú odpoveď. Napríklad čľade *Ruminococcaceae* a *Lachnospiraceae* sú spájané s úspešnou odpoveďou, zatiaľ čo *Prevotellaceae* sú spojené so slabou odpoveďou na FMT. Monitorovanie dynamiky týchto mikrobiálnych čľadí tak môže potenciálne informovať o úspechu liečby v ranom štádiu FMT.

Tieto klinické prípady naznačujú, že kombinácia FMT a vhodnej farmakoterapie môže zosilniť terapeutický účinok a podieľať sa na stabilizácii ochorenia. Pre širšie klinické uplatnenie je však nevyhnutná štandardizácia postupov, vrátane harmonizácie protokolov prípravy darcovskej stolice, spôsobu aplikácie a frekvencie podania (Lopetuso et al., 2025).

Záver

FMT predstavuje perspektívnu, no zatiaľ experimentálnu terapeutickú možnosť liečby UC. Na základe kazuistík dvoch pacientov sme ilustrovali rozdielnú odpoveď FMT – od úplnej remisie (pacient č. 1) po absenciu odpovede (pacient č. 2). Tieto zistenia zdôrazňujú význam individuálnej variability účinnosti liečby a potrebu ďalšieho výskumu zameraného na personalizáciu prístupu, optimalizáciu výberu darcov a frekvencie podaní. Táto metóda sa javí ako potenciálne sľubný doplnok v manažmente liečby UC, avšak na potvrdenie jej efektivity a bezpečnosti sú potrebné ďalšie dlhodobé sledovania a klinické štúdie.

Táto práca bola financovaná a podporená grantom Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaM SR VEGA 1/0029/24.

Zoznam použitej literatúry

1. BIAZZO, Manuele a DEIDDA, Gabriele. Fecal microbiota transplantation as new therapeutic avenue for human diseases. *Journal of clinical medicine* [online]. 2022, 11(14), s. 4119. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jcm11144119>
2. BŘEZINA, Jan, et al. Fecal microbial transplantation versus mesalamine enema for treatment of active left-sided ulcerative colitis - results of a randomized controlled trial. *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2021, 10, 2753. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jcm10132753>
3. ČEŠKA, Richard, et al. Interna. 3., aktualizované vydanie. Praha: Triton, 2020, 964 s. ISBN 9788075537829
4. DANESE, Silvio, et al. Disease clearance in ulcerative colitis: a narrative review. *United European gastroenterology journal* [online]. 2025, 13(6), s. 902–910. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ueg2.12714>
5. DAS, Bhabatosh, NAIR, G. Balakrish. Homeostasis and dysbiosis of the gut microbiome in health and disease. *Journal of Biosciences* [online]. 2019, 44, 117. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9926-y>
6. DU, Lillian a Ha, Christina. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis. *Gastroenterology clinics of North America* [online]. 2020, 49(4), s. 643–654. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.07.005>
7. DUBINSKY, Marla, et al. Bowel urgency in ulcerative colitis: current perspectives and future directions. *The American journal of gastroenterology* [online]. 2023, 118(11), s. 1940–1953. Dostupné z: <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000002404>
8. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Fecal microbiota transplantation – EU-IN horizon scanning report [online]. Amsterdam: European Medicines Agency, 2022 [cit. 2025-11-13] Dostupné z: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/faecal-microbiota-transplantation-eu-horizon-scanning-report_en.pdf
9. FANG, Jian, et al. Slimy partners: the mucus barrier and gut microbiome in ulcerative colitis. *Experimental & Molecular Medicine* [online]. 2021, 53, s. 772–787. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00617-8>

10. FENG, Jing, et al. Efficacy and safety of fecal microbiota transplantation in the treatment of ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports* [online]. 2023, 13(1), 14494. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41182-6>
11. FERRETTI, Francesca, et al. An update on current pharmacotherapeutic options for the treatment of ulcerative colitis. *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2022, 11(9), 2302. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jcm11092302>
12. GOMAA, Eman Zakaria. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek* [online]. 2020, 113, s. 2019–2040. ISSN 0003-6072. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>
13. GONG, Jinhua, LIU, Yuchi a HUANG, Liuye. Laboratory preparation methods for human-derived fecal microbial suspensions for fecal microbiota transplantation: a review and standardization perspectives. *Frontiers in microbiology* [online]. 2025, 16, 1637673. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1637673>
14. GULATI, Ajay S., et al. Fecal microbiota transplantation across the lifespan: balancing efficacy, safety, and innovation. *The American journal of gastroenterology* [online]. 2023, 118(3), s. 435–439. Dostupné z: <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000002167>
15. HOU, Shuna, et al. Advances in fecal microbiota transplantation for gut dysbiosis-related diseases. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)* [online]. 2025, 12(13), e2413197. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adv.202413197>
16. CHEHADE, Nabil El Hage, et al. Efficacy of fecal microbiota transplantation in the treatment of active ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis of double-blind randomized controlled trials. *Inflammatory Bowel Diseases* [online]. 2023, 29(5), s. 808–817. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ibd/izac135>
17. LOPETUSO, Loris R., et al. Guidance for fecal microbiota transplantation trials in ulcerative colitis: The second ROME consensus conference. *Inflammatory bowel diseases* [online]. 2025, 31(9), s. 2408–2419. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ibd/izaf013>
18. MERRICK, Blair, et al. Regulation, risk and safety of faecal microbiota transplant. *Infection Prevention in Practice* [online]. 2020, 2(3), 100069. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2020.100069>
19. PINTO, Susanne, et al. Dynamics of gut microbiota after fecal microbiota transplantation in ulcerative colitis: success linked to control of prevotellaceae. *Journal of Crohn's & colitis* [online]. 2024, 19(2), jjae137 [cit. 2025-06-20]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjae137>
20. PREDA, Carmen-Monica a ISTRĂTESCU, Doina. Etiology of ulcerative colitis. *IntechOpen* [online]. 2022. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.106842>
21. RAINE, Tim, et al. ECCO guidelines on therapeutics in ulcerative colitis: medical treatment. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2022, 16(1), s. 2–17. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjab178>
22. SANDBORN, William J., et al. Modified Mayo score versus Mayo score for evaluation of treatment efficacy in patients with ulcerative colitis: data from the tofacitinib OCTAVE program. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* [online]. 2022, 15. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/17562848221136331>
23. SEGAL, Jonathan P., LEBLANC, Jean-Frédéric a HART, Ailsa L. Ulcerative colitis: an update. *Clinical medicine (London, England)* [online]. 2021, 21(2), s. 135–139. Dostupné z: <https://doi.org/10.7861/clin-med.2021-0080>
24. TIKUNOV, Artem. Y., et al. Intestinal microbiome changes and clinical outcomes of patients with ulcerative colitis after fecal microbiota transplantation. *Journal of clinical medicine* [online]. 2023, 12(24), s. 7702. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jcm12247702>
25. TKACH, Sergii, et al. Efficacy and safety of fecal microbiota transplantation via colonoscopy as add-on therapy in patients with mild-to-moderate ulcerative colitis: a randomized clinical trial. *Frontiers in medicine* [online]. 2023, 9, 1049849. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.1049849>
26. VOELKER, Rebecca. What Is Ulcerative Colitis? *JAMA* [online]. 2024, 331(8), 716. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/jama.2023.23814>
27. WANG, Jiunn-Wei, et al. Fecal microbiota transplantation: Review and update. *Journal of the Formosan Medical Association* [online]. 2019, 118(1, Suppl), s. 23–S31. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.08.011>
28. WANG, Yun, et al. Encyclopedia of fecal microbiota transplantation: a review of effectiveness in the treatment of 85 diseases. *Chinese medical journal* [online]. 2022, 135(16), s. 1927–1939. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000002339>

29. YAQUB, Muneer Oladipupo, et al. Microbiome-driven therapeutics: from gut health to precision medicine. *Gastrointestinal Disorders* [online]. 2025, 7(1), 7. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/gi-disord7010007>
30. YE, Lianwei, et al. High-resolution metagenomics of human gut microbiota generated by nanopore and illumina hybrid metagenome assembly. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2022, 13, 801587. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.801587>
31. ZOU, Junfeng, et al. Cross talk between gut microbiota and intestinal mucosal immunity in the development of ulcerative colitis. *Infection and Immunity* [online]. 2021, 89(1). Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/iai.00014-21>

Personalizované zásahy do mikrobiómu dýchacích ciest ako stratégia na zlepšenie mukociliárneho klírensu

Marta Jošková¹, Karin Kačková¹, Vladimíra Sadloňová², Soňa Fraňová¹

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin,

²Ústav mikrobiológie a imunológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

E-mail: marta.joskova@uniba.sk

Úvod

Účasť mikroorganizmov na udržiavaní respiračného zdravia je známa nielen v kontexte vzniku chronických ochorení a akútnych exacerbácií, ale aj vďaka ich schopnosti vytvárať stabilné formy koexistencie s ľudským hostiteľom. Práve rozmanitosť týchto interakcií viedla k vzniku viacerých hypotéz, podľa ktorých prospešné vzťahy medzi hostiteľom a jeho mikrobiálnymi komunitami prispievajú k prevencii ochorení, zatiaľ čo strata kľúčových mikrobiálnych druhov, často ako dôsledok moderného životného štýlu, nadmernej hygieny či častého používania antibiotík, môže podporovať ich rozvoj.

V ostatných rokoch sa mikrobióm človeka stal jednou z najintenzívnejšie skúmaných oblastí biomedicíny. Kým črevný mikrobióm je tradične v centre vedeckej pozornosti, mikrobióm dýchacích ciest (DC) sa čoraz výraznejšie ukazuje ako dôležitý regulátor zdravia respiračného traktu. Vyznačuje sa nižšou druhovou diverzitou, vyššou stabilitou a priamym kontaktom s vonkajším prostredím, čo z neho robí dynamické, no zároveň zraniteľné ekologické spoločenstvo (Ge et al., 2025).

Vzhľadom na nárast chronických respiračných ochorení a rastúcu záťaž spojenú s bakteriálnymi a vírusovými infekciami sa preto čoraz väčšia pozornosť sústreďuje na možnosti jeho modulácie. Cílené zásahy do ekosystému DC predstavujú sľubnú stratégiu, ktorá môže výrazne ovplyvniť budúci vývoj personalizovanej terapie zameranej na úpravu respiračného mikrobiómu.

Mikrobióm dýchacích ciest: homeostáza a dysbióza

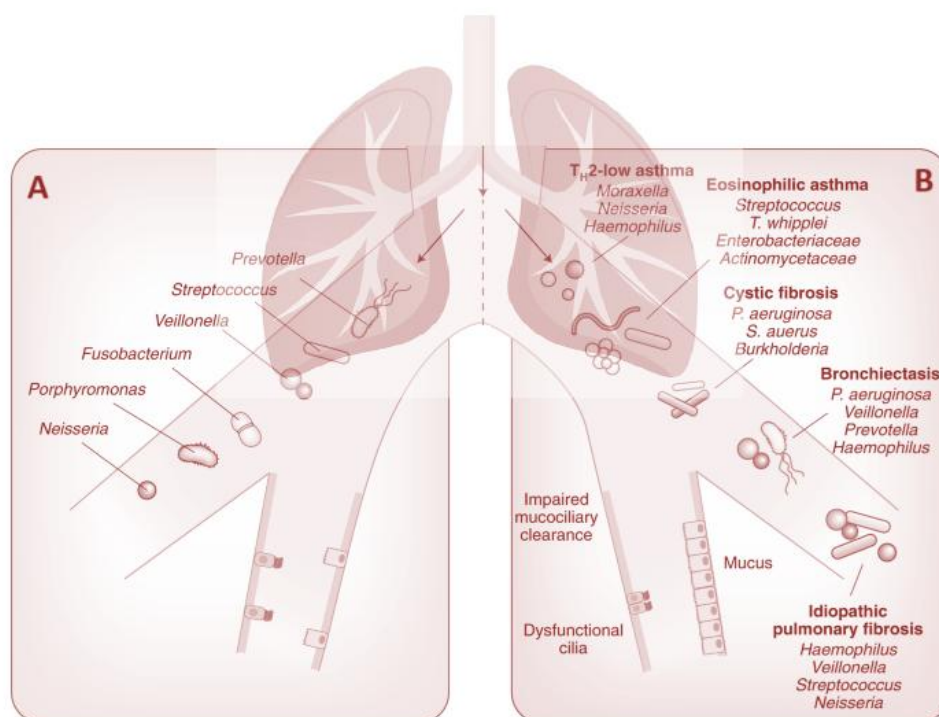
Mikrobiálne spoločenstvá osídľujúce DC predstavujú dynamický ekosystém (obr. 1), ktorý ovplyvňuje zdravie človeka už od najskorších štádií života. Hoci mikrobióm DC zahŕňa baktérie, vírusy aj huby, väčšina doterajších výskumov sa sústreďuje najmä na bakteriálnu zložku. Krátko po narodení začnú horné DC osídľovať mikroorganizmy pochádzajúce od matky, takže ich skoré zloženie odráža mikrobióm vagíny, kože alebo čriev. V prvých dňoch a týždňoch života sa postupne formuje spoločenstvo mikroorganizmov prispôbovaných prostrediu bohatému na kyslík, v ktorom prevažujú *Staphylococcus spp.*, *Cornebacterium spp.*, *Dolosigranulum spp.* a *Moraxella spp.* Mikrobiálne zloženie horných DC sa následne mení v detstve a adolescencii, až sa v dospelosti stabilizuje na profil typický najmä pre *Staphylococcus spp.*, *Cornebacterium spp.*, *Haemophilus spp.* a *Streptococcus spp.* (Gallacher and Kotecha, 2016; Bosch et al., 2016).

O mikrobióme dolných DC máme menej poznatkov najmä preto, že odber vzoriek z tohto prostredia je náročnejší a samotná bakteriálna hustota je výrazne nižšia než v horných častiach dýchacieho traktu. Keďže vývoj alveolárnej štruktúry prebieha až do približne 3. roku života, predpokladá sa, že špecifická kolonizácia dolných DC prebieha postupnejšie. V dospe-

losti môže byť jeho zloženie ovplyvňované mikroaspiráciou z ústnej a nosovej dutiny, no dlhodobo sa udržiavajú najmä anaeróbne rody *Prevotella spp.* a *Veillonella spp.*, považované za kľúčové ekologické druhy typické pre prostredie dolných DC (Filho et al., 2023).

Z hľadiska bakteriálnej hustoty sú DC výrazne menej osídlené než črevo, čo súvisí s obmedzeným množstvom živín. Mikroorganizmy sa viažu najmä na povrch epitelu, z ktorého čerpajú základné metabolické substráty vrátane uhlíkových zdrojov, aminokyselín, vitamínov a železa. Za fyziologických podmienok eubiotické mikrobiálne spoločenstvá podporujú zdravie hostiteľa produkciou ochranných metabolitov, súťažením s patogénmi o priestor a živiny a moduláciou imunitných odpovedí. Stabilné zloženie mikrobiómu je tak udržiavané súhrou fyzikálnych, imunitných a metabolických faktorov, ktoré bránia nekontrolovanému premnoženiu mikroorganizmov.

Pri chronických respiračných ochoreniach však dochádza k narušeniu tejto rovnováhy. Zápal, zvýšená vaskulárna permeabilita a súvisiaci prísun živín umožňujú expanziu druhov, ktoré za bežných okolností zostávajú v úzadí, napríklad zástupcov *Gammaproteobacteria spp.* (Huffnagle et al., 2017). Tento posun často vedie k ústupu prospešných mikroorganizmov a nárastu patogénov, čím vzniká začarovaný kruh, v ktorom mikrobiálna nerovnováha podporuje zápal a zápal následne prehlbuje dysbiózu. Longitudinálne štúdie navyše ukazujú, že zmeny v mikrobióme často predchádzajú akútnym exacerbáciám, čo naznačuje, že mikrobiálne posuny nie sú len dôsledkom ochorenia, ale môžu sa aktívne podieľať na jeho rozvoji a progresii. Obnovenie mikrobiálnej rovnováhy preto môže priaznivo ovplyvniť celkové fungovanie epitelu, znížiť riziko infekcií a obmedziť chronický zápal.



Obr. 1: Mikrobióm dýchacích ciest: (A) homeostáza a (B) dysbióza (upravené podľa Wypych et al., 2019).

Kľúčovým prvkom epitelovej funkcie je mukociliárny klírens (MCC). Ide o proces, pri ktorom riasinky posúvajú hlien a v ňom zachytené mikroorganizmy smerom von z DC. Funkcia riasiniek je však mimoriadne citlivá na zmeny mikrobiálneho prostredia, ako aj na oxidačný stres, ktorý sa uplatňuje pri chronických respiračných ochoreniach. Dysbióza môže modifiko-

vať tvorbu hlienu, meniť viskozitu mukózných sekrétov a produkovať metabolity, ktoré ovplyvňujú kinematiku cílií. Súčasne zápal a zvýšená produkcia reaktívnych foriem kyslíka môžu cílie priamo poškodzovať, redukovať ich počet, dĺžku, narúšať ich synchronizovaný pohyb a tým znižovať účinnosť mukociliárneho čistenia (Joskova et al., 2025).

Terapeutické stratégie modulácie mikrobiómu dýchacích ciest

Keďže mikrobiálna nerovnováha priamo ovplyvňuje MCC a obranné mechanizmy DC, jej cielenej modulácii sa pripisuje rastúci terapeutický potenciál. Intervencie môžu siahť od lokálnych zásahov a irigácie až po modifikáciu celého mikrobiómu alebo aplikáciu chemických a abiotických prostriedkov. Nasledujúca časť poskytuje prehľad týchto prístupov a ich možnosti obnovy mikrobiálnej rovnováhy s cieľom podporiť prirodzenú ochranu DC.

Irigácia a lokálne zásahy do mikrobiómu

DC sú kontinuálne vystavené environmentálnym faktorom, ktoré môžu narušiť mikrobiálnu rovnováhu a podporiť rozvoj rinosinuitídy, astmy či chronickej obštrukčnej choroby pľúc (CHOCHP). Jednoduchým spôsobom, ako znížiť množstvo mikróbov a odstrániť kontaminanty, je irigácia fyziologickým roztokom alebo biocídnymi látkami. V praxi sa často používajú aj ústne výplachy s chlórhexidínom, ktoré znižujú bakteriálne zaťaženie a riziko aspirácie do dolných DC, hoci metaanalýzy naznačujú iba obmedzený účinok na prevenciu pneumónie u ventilovaných pacientov alebo mortalitu (Koeman et al., 2006). Rastie preto záujem o probiotické irigácie, ktoré môžu podporiť obnovu zdravej mikrobiálnej diverzity. Klinická štúdia autorov Endam et al. (2020) ukázala, že intranazálna aplikácia *Lactococcus lactis* W136 zlepšila symptómy sinusitídy, stav slizníc a zvýšila zastúpenie protektívneho druhu *Dolosigranulum pigrum*, čo naznačuje potenciál probiotík na moduláciu mikrobiómu horných DC.

Celotelový prenos mikrobiómu

Kolonizácia DC začína už pri pôrode, keď sa mikroorganizmy matky dostávajú do ústnej a nosovej dutiny novorodenca. Počas života sa zloženie mikrobiómu ďalej mení v dôsledku opakovaného kontaktu s mikróbmami z prostredia a mikroaspiráciou z horných DC. Až 58,5 % skorého mikrobiómu pochádza od matky, preto spôsob pôrodu významne ovplyvňuje mikrobiálne osídlenie a zdravotné následky dieťaťa. Deti narodené cisárskym rezom častejšie vykazujú dysbiózu a vyššie riziko respiračných infekcií, astmy či respiračnej tiesne (Bosch et al., 2016).

Snaha napodobniť prirodzenú kolonizáciu viedla k používaniu vaginálneho „seedu“, ktorý môže čiastočne obnoviť mikrobiálne profily podobné tým pri vaginálnom pôrode. Jeho účinnosť a bezpečnosť sú však stále predmetom diskusií, keďže existuje riziko prenosu patogénov (LaPoint et al., 2025). Prebiehajúce klinické štúdie skúmajú vplyv tejto intervencie na imunitu a riziko alergií či astmy (<https://clinicaltrials.gov/study>), no systematické hodnotenie účinku na respiračný mikrobióm zatiaľ chýba.

Experimentálne štúdie naznačujú, že cielene upravený prenos celého mikrobiómu môže chrániť pred ochoreniami DC. Napríklad aerosolový transfer upraveného pľúcneho mikrobiómu u myší znižoval metastázy v pľúcach. Podobný prístup by teoreticky mohol znížiť riziko re-kolonizácie transplantovaných pľúc patogénmi u pacientov s cystickou fibrózou (CF) a podporiť udržanie „protektívneho“ fenotypu mikrobiómu.

Chemické a ďalšie abiotické intervencie

Chemické a ďalšie abiotické intervencie patria medzi najúčinnnejšie, no zároveň najrizikovejšie spôsoby širokospektrálneho ovplyvnenia respiračného mikrobiómu. Antibiotiká, používané vyše storočia, spoľahlivo menia mikrobiálnu diverzitu, pričom celkový počet baktérií často zostáva približne rovnaký. To naznačuje, že jednotlivé druhy dokážu vzájomne zastupovať svoje funkcie v komunite. Zloženie mikrobiómu zároveň moduluje ich účinnosť. Napríklad pacienti s CF kolonizovaní *Staphylococcus spp.*, *Prevotella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.* či *Fusobacterium spp.* reagujú slabšie na aztreonam (Heirali et al., 2019), čo poukazuje na vzájomnú mikrobiálnu ochranu. Hoci antibiotiká môžu znižovať prenos patogénov, ako ukázalo intranazálne podávanie mupirocínu, ich dlhodobé používanie limituje riziko rezistencie aj nepresný zásah do komunit, ktorý môže eliminovať aj protektívne druhy (Samreen et al., 2021). Podobne zasahujú do mikrobiómu aj kortikosteroidy, CFTR (*cystic fibrosis conductance regulator*) modulátory či dokonca kyslík, ktoré dokážu meniť jeho zloženie alebo množstvo. Tieto poznatky zdôrazňujú potrebu hodnotiť interakcie medzi chemickými zásahmi a cielenejšími mikrobiómovými prístupmi, keďže ich kombinácia môže mať odlišné účinky v závislosti od typu liečby a mikrobiálneho prostredia.

Inhalácia probiotík

Inhalované probiotiká predstavujú sľubný prístup k obnove rovnováhy mikrobiómu DC, hoci ich vývoj a presná charakterizácia zostávajú náročné. Priamy prenos týchto mikroorganizmov do nosa alebo úst môže znižovať riziko bakteriálnych a vírusových infekcií, astmy, zápalov a alergií. Účinok probiotík je založený na modulácii imunitnej odpovede hostiteľa a na zasahovaní do vzťahov medzi baktériami, napríklad tvorbou inhibičných metabolitov, zmenou pH či odoberaním živín patogénom. Terapeutický prínos jednotlivých kmeňov však býva veľmi rozdielny, čo zdôrazňuje význam starostlivého výberu vhodných organizmov, ako sú *Lactobacillus spp.*, *Prevotella spp.* či *Corynebacterium spp.* Hoci doterajšie výsledky vyzerajú priaznivo, je potrebný ďalší výskum mechanizmov účinku, interakcií s pôvodným mikrobiómom a bezpečnostných aspektov, vrátane horizontálneho prenosu génov a evolúcie probiotík v hostiteľovi (Tran et al., 2024).

Bakteriofágy

Bakteriofágy predstavujú vysoko presný prístup k modulácii mikrobiómu DC, hoci vyžadujú personalizáciu pre konkrétneho pacienta. Ide o vírusy, ktoré cielene napádajú bakteriálne bunky. Lytické fágy okamžite likvidujú svojho hostiteľa, zatiaľ čo lyzogénne sú schopné integrovať svoj genetický materiál do bakteriálneho genómu. Vďaka týmto mechanizmom je možné eliminovať problematické baktérie bez narušenia ostatných členov mikrobiálnej komunity. Respiračné fágy ovplyvňujú lokálne mikrobiálne prostredie aj imunitnú odpoveď hostiteľa, čo môže výrazne meniť priebeh ochorenia a terapeutické výsledky. Významným príkladom je prípadová štúdia pacienta s CF a rezistentnou infekciou *Mycobacterium abscessus*, kde intravenózne podanie kombinácie troch geneticky upravených fágov viedlo k úplnému odstráneniu infekcie. Fágová terapia sa dá využiť nielen na selektívne odstránenie škodlivých mikroorganizmov, ale aj na dodanie prospešných metabolitov prostredníctvom lyzogénnych fágov. Medzi hlavné obmedzenia patria rýchla evolúcia rezistencie, neutralizácia fágov imunitným systémom a potreba personalizovaného návrhu liečby. Kombinácia s antibiotikami či probiotikami však môže zvýšiť presnosť, stabilitu a celkovú účinnosť terapie (Chan et al., 2025).

Limitácie stratégií modulácie mikrobiómu DC

Terapeutická modulácia respiračného mikrobiómu naráža na viaceré prekážky. Chýbajú jasne definované ciele: nie je zrejmé, či sa zamerať na jednotlivé kmene, celkovú bakteriálnu záťaž, mikrobiálne interakcie alebo funkčný efekt, ktorý DNA-sekvenovanie zatiaľ nedokáže spoľahlivo zachytiť. Univerzálna stratégia nie je realistická, pretože vzťahy medzi hostiteľom a mikrobiómom sa líšia podľa ochorenia a jeho endotypu. Úspech vyžaduje podrobné hodnotenie mikrobiómu pred a po intervencii, ideálne s doplnením imunologických a funkčných ukazovateľov epitelu. Interpretáciu komplikuje aj variabilita mikrobiálnych spoločenstiev medzi jednotlivými úsekmi DC a limitácie invazívnych odberov.

Aj pri definovaných cieľoch stále chýbajú presné nástroje modulácie. Antibiotiká síce menia štruktúru komunity, no často neznižujú celkovú bakteriálnu záťaž. Neantibiotické zásahy, ako oxygenoterapia, kortikosteroidy, intubácia, fyzioterapia či orálna dekontaminácia, ovplyvňujú mikrobióm neraz neúmyselne. Experimentálne prístupy, ako inhalované probiotiká, majú prechodné ekologické účinky, no imunologické benefity môžu pretrvávať, zatiaľ čo otázky bezpečnosti ostávajú kľúčové.

Osobitné skupiny pacientov pridávajú komplexitu. Intervencie v útlom detstve môžu priniesť trvalé benefity, no vyžadujú definíciu vekovo špecifického zdravého profilu DC. U pacientov s pokročilým ochorením alebo kriticky chorých s vysokou bakteriálnou záťažou je riziko vyššie, keďže zhoršený MCC a štrukturálne poškodenie znižujú odolnosť voči zásahom (Chotirmall et al., 2022).

Tieto prekážky naznačujú, že klinické štúdie zamerané na moduláciu mikrobiómu budú úspešné len pri presnej špecifikácii cieľov, optimalizácii odberov, presnosti terapeutických nástrojov a integrácii mikrobiómových dát do klinickej praxe.

Mukociliárny klírens a mikrobióm DC

DC sú neustále vystavené vdychovaným mikróbom a environmentálnym časticiam, ktoré sú normálne odstraňované mukociliárnym transportom. Tento systém pozostáva z pohyblivých rytmicky kmitajúcich riasiniek a z hlienu produkovaného hlienovými bunkami a podslizničnými žľazami, ktorý zachytáva mikroorganizmy a nečistoty. Poruchy MCC, či už vrodené ako CF alebo primárna ciliárna dyskinéza (PCD), alebo získané v dôsledku fajčenia, astmy či CHOCHP, výrazne zvyšujú riziko kolonizácie a opakovaných infekcií. U pacientov s CF dochádza k hromadeniu hustého hlienu v dôsledku defektu CFTR proteínu, čím je výrazne sťažená kinematika ciliárneho pohybu. Na druhej strane PCD je spôsobená genetickými mutáciami ciliárnych komponentov, ktoré vedú k dyskinetickým alebo statickým riasinkám. Získané poruchy pri astme alebo CHOCHP sú sprevádzané zníženou pohyblivosťou riasiniek, zmenou ich pohybového vzorca, skrátením riasiniek a remodeláciou epitelu. Patogény ako *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hemophilus influenzae* či mykotoxíny *Aspergillus flavus* využívajú tieto defekty MCC na kolonizáciu epitelu, podobne ako vírusy vrátane koronavírusu, chrípky či rinovírusu. Intervencie modulujúce mikrobióm, vrátane chemických intervencií, celotelového prenosu mikrobiómu, inhalovaných probiotík či fágovej terapie, môžu nepriamo podporovať integritu MCC tým, že redukovujú zápal, eliminujú patogény poškodzujúce riasinky a obnovujú fyziologickú mikrobiálnu rovnováhu, čo vedie k zlepšeniu celkovej ochrany DC (Kuek and Lee, 2020).

Okrem svojej mechanickej funkcie sa ukazuje, že pohyblivé riasinky zohrávajú aj dôležitú chemosenzorickú a imunoregulačnú úlohu. Respiračný epitel exprimuje receptory horkej chuti (T2R), vaniloidné receptory podtypu 4 (TRPV4) aj „Toll-like“ receptory (TLR), vďaka čomu dokáže detegovať mikrobiálne či vírusové signály z vonkajšieho prostredia. Stimulácia TRPV4

sprostredkúva okamžitú odpoveď na lipopolysacharidy, ktorá vedie k rýchlemu zvýšeniu frekvencie kmitania cilií a produkcii baktericídneho oxidu dusnatého (NO) (Alpizar et al., 2017). Aktivácia TLR3 pri kontakte s vírusovou RNA naproti tomu vyvoláva rýchle uvoľnenie extracelulárneho ATP, ktoré cez autokrinnú purínergickú signalizáciu zvyšuje pohyb riasiniek a podporuje včasnú antivírusovú obranu DC (Kamiya et al., 2020). Podobne aj stimulácia T2R receptorov zvyšuje intracelulárnu koncentráciu Ca^{2+} , čo spúšťa činnosť Ca^{2+} -dependentnej syntázy NO a vedie k tvorbe NO. NO pôsobí priamo antimikrobiálne a zároveň aktivuje guanylátcyklázu, čím zvyšuje koncentráciu cyklického guanozínmonofosfátu (cGMP). Následným zapojením proteínkinázy G (PKG) a fosforyláciou proteínov riasiniek sa zvyšuje frekvencia ich kmitania aj celková účinnosť MCC (Harris et al., 2024).

Z terapeutického hľadiska môžu zásahy modulujúce mikrobióm, ako inhalované probiotiká alebo bakteriofágy, nepriamo podporiť nielen integritu MCC, ale aj chemosenzorické a imunitné funkcie riasiniek tým, že redukovujú zápal a odstraňujú patogény poškadzujúce epitel. Ďalší výskum je potrebný na lepšie pochopenie poškodenia cilií vyvolaného patogénmi a na vývoj terapií, ktoré by mohli modulovať signálne dráhy motilných riasiniek aj bez priamej obnovy ich mechanickej funkcie.

Záver

Mikrobiálne spoločenstvá DC zohrávajú kľúčovú úlohu v udržiavaní optimálnej funkcie respiračného traktu, pričom ich stabilita môže podporovať správnu funkciu MCC a zabráňovať kolonizácii patogénov. Poruchy MCC, či už vrodené alebo získané, zvyšujú riziko opakovaných infekcií a poskytujú patogénom a vírusom priestor na osídlenie epitelu. Personalizované zásahy do mikrobiálneho ekosystému, vrátane chemických intervencií, celotelového prenosu mikrobiómu, inhalovaných probiotík a bakteriofágovej terapie, predstavujú perspektívne stratégie na obnovenie rovnováhy, redukciu zápalu a elimináciu patogénov, čím by mohli sekundárne podporiť integritu a funkciu riasiniek. Takéto prístupy by mohli nielen modulovať lokálny mikrobióm, ale aj posilniť prirodzenú obranu DC a potenciálne spomaliť progresiu chronických respiračných ochorení.

Práca vznikla za podpory projektov APVV-19-0033, APVV-23-0261, VEGA 1/0060/25 a VEGA 1/0042/24.

Zoznam použitej literatúry

1. Alpizar YA, Boonen B, Sanchez A, Jung C, López-Requena A, Naert R, Steelant B, Luyts K, Plata C, De Vooght V, Vanoirbeek JAJ, Meseguer VM, Voets T, Alvarez JL, Hellings PW, Hoet PHM, Nemery B, Valverde MA, Talavera K. TRPV4 activation triggers protective responses to bacterial lipopolysaccharides in airway epithelial cells. *Nat Commun* 2017; 8: 1059.
2. Bosch AATM, Levin E, van Houten MA, Hasrat R, Kalkman G, Biesbroek G, de Steenhuijsen P, WAA, de Groot PCM, Pernet P, Keijser BJF, Sanders EAM, Bogaert D. Development of Upper Respiratory Tract Microbiota in Infancy is Affected by Mode of Delivery. *EBioMedicine* 2016; 9: 336-345.
3. Endam LM, Alromaih S, Gonzalez E, Madrenas J, Cousineau B, Renteria AE, Desrosiers M. Intranasal Application of *Lactococcus lactis* W136 Is Safe in Chronic Rhinosinusitis Patients With Previous Sinus Surgery. *Front Cell Infect Microbiol* 2020; 10: 440.
4. Filho FSL, Peters CM, Sheel AW, Yang J, Nislow C, Lam S, Leung JM, Sin DD. Characterization of the Lower Airways and Oral Microbiota in Healthy Young Persons in the Community. *Biomedicine* 2023; 11: 841.
5. Gallacher DJ, Kotecha S. Respiratory Microbiome of New-Born Infants. *Front Pediatr* 2016; 4: 10.
6. Ge Y, Tang G, Fu Y, Deng P, Yao R. The impact of environmental factors on respiratory tract microbiome and respiratory system diseases. *Eur J Med Res* 2025; 30: 236.
7. Harris JC, Lee RJ, Carey RM. Extragustatory bitter taste receptors in head and neck health and disease. *J Mol Med (Berl)* 2024; 102: 1413-1424.

8. Heirali AA, Acosta N, Storey DG, Workentine ML, Somayaji R, Laforest-Lapointe I, Leung W, Quon BS, Berthiaume Y, Rabin HR, Waddell BJ, Rossi L, Surette MG, Parkins MD. The effects of cycled inhaled aztreonam on the cystic fibrosis (CF) lung microbiome. *J Cyst Fibros* 2019; 18: 829-837.
9. [https://clinicaltrials.gov/study - NCT03298334](https://clinicaltrials.gov/study/NCT03298334), NCT03567707, NCT03809390
10. Huffnagle GB, Dickson RP, Lukacs NW. The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street. *Mucosal Immunol* 2017; 10: 299-306.
11. Chan BK, Stanley GL, Kortright KE, Vill AC, Modak M, Ott IM, Sun Y, Würstle S, Grun CN, Kazmierczak BI, Rajagopalan G, Harris ZM, Britto CJ, Stewart J, Talwalkar JS, Appell CR, Chaudary N, Jagpal SK, Jain R, Kanu A, Quon BS, Reynolds JM, Tenenback CC, Mai QA, Shabanova V, Turner PE, Koff JL. Personalized inhaled bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Nat Med* 2025; 31: 1494-1501.
12. Chotirmall SH, Bogaert D, Chalmers JD, Cox MJ, Hansbro PM, Huang YJ, Molyneaux PL, O'Dwyer DN, Pragman AA, Rogers GB, Segal LN, Dickson RP. Therapeutic Targeting of the Respiratory Microbiome. *Am J Respir Crit Care Med* 2022; 206: 535-544.
13. Joskova M, Sadlonova V, Mokra D, Kocan I, Sutovska M, Kackova K, Franova S. Respiratory Ciliary Beat Frequency in COPD: Balancing Oxidative Stress and Pharmacological Treatment. *Antioxidants* 2025; 14: 1340.
14. Kamiya Y, Fujisawa T, Katsumata M, Yasui H, Suzuki Y, Karayama M, Hozumi H, Furuhashi K, Enomoto N, Nakamura Y, Inui N, Setou M, Ito M, Suzuki T, Ikegami K, Suda T. Influenza A virus enhances ciliary activity and mucociliary clearance via TLR3 in airway epithelium. *Respir Res* 2020; 21: 282.
15. Koeman M, van der Ven AJ, Hak E, Joore HC, Kaasjager K, de Smet AG, Ramsay G, Dormans TP, Aarts LP, de Bel EE, Hustinx WN, van der Tweel I, Hoepelman AM, Bonten MJ. Oral decontamination with chlorhexidine reduces the incidence of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1348-55.
16. Kuek LE, Lee RJ. First contact: the role of respiratory cilia in host-pathogen interactions in the airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2020; 319: L603-L619.
17. LaPoint P, Banks K, Bacorn M, Prasad R, Romero-Soto HN, Namasivayam S, Chen Q, Patel A, Levy S, Hourigan SK. Can Vaginal Seeding at Birth Improve Health Outcomes of Cesarean Section-Delivered Infants? A Scoping Review. *Microorganisms* 2025 ;13: 1236.
18. Samreen, Ahmad I, Malak HA, Abulreesh HH. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. *J Glob Antimicrob Resist* 2021; 27: 101-111.
19. Tran TT, Cheow WS, Pu S, Park JW, Hadinoto K. Dry Powder Inhaler Formulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG Targeting *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Bronchiectasis Maintenance Therapy. *Pharmaceutics* 2024; 16: 980.
20. Wypych TP, Wickramasinghe LC, Marsland BJ. The influence of the microbiome on respiratory health. *Nat Immunol* 2019; 20: 1279-1290.

Ovplyvnenie pohybu riasiniek ako nový terapeutický prístup v liečbe CHOCHP

Karin Kačková, Marta Jošková

Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

E-mail: kackova8@uniba.sk

Úvod

Mukociliárny klírens (MCC) je základným obranným mechanizmom dýchacích ciest, zabezpečujúcim odstránenie hlienu, patogénov a cudzorodých častíc. Koordinovaný pohyb riasiniek epitelu je pre jeho efektivitu kľúčový. Pri chronickej obštrukčnej chorobe pľúc (CHOCHP) je MCC často narušený, čo vedie k akumulácii hlienu, perzistencii infekcií a prispieva k zvýšenej frekvencii exacerbácií.

Súčasná liečba CHOCHP (bronchodilatanciá, protizápalová terapia, mukolytiká) zlepšuje symptómy, no priamy efekt na pohyb riasiniek je len zriedkavo sledovaný a hodnotený. S využitím vysokorýchlostnej videomikroskopie (HSVM) možno kvantitatívne sledovať frekvenciu úderov (CBF), amplitúdu, trajektóriu a metachrónnu koordináciu riasiniek, čím sa otvára možnosť farmakologickej modulácie ciliárnej motility ako nového terapeutického prístupu.

Cieľom článku je preskúmať mechanizmy ovplyvňovania pohybu riasiniek, prezentovať farmakologické možnosti a diskutovať o perspektíve využitia tohto prístupu pri liečbe CHOCHP.

Zmeny kinematiky riasiniek pri CHOCHP

Pri CHOCHP dochádza k výrazným zmenám v pohybe riasiniek, ktoré priamo ovplyvňujú efektivnosť MCC. Pri tomto ochorení je dominantný neutrofilový zápal, ktorý vedie k poškodeniu dyneínových ramien cytoskeletu riasiniek a narušeniu metachrónnej koordinácie, čo výrazne zhoršuje transport hlienu a zvyšuje riziko perzistencie infekcií a exacerbácií (Ancel et al. 2021).

Patofyziologické procesy spojené s **neutrofilovým zápalom** zahŕňajú:

- zvýšenú aktivitu proteáz (neutrofilová elastáza, matrixová metaloproteináza 9) degradujúcich dyneínové ramienka, čo vedie k zníženiu CBF, skráteniu riasiniek a narušeniu metachrónnych vln (Ancel et al. 2021; Chalmers et al. 2017; McKelvey et al. 2021; Vorynow a Shinbashi 2021),
- prítomnosť voľných kyslíkových radikálov (ROS), schopných ovplyvniť riasinky kvantitatívne, pričom dochádza k ich úbytku, ale taktiež kvalitatívne skracovaním dĺžky riasiniek a zhoršením synchronizácie (Jošková et al. 2020),
- tvorbu zápalových cytokínov, ako sú interleukín 8 (IL-8) a tumor-nekrotizujúci faktor α (TNF- α), ktoré ovplyvňujú intracelulárne signálne dráhy riadiace pohyb riasiniek (González et al. 2016),
- zvýšenú tvorbu neutrofilových extracelulárnych pascí (NET) prispievajúcich k zvýšenej viskozite hlienu (Trivedi et al. 2021).

Okrem priamych deštruktívnych účinkov zápalu dochádza aj k narušeniu bazálneho regulačného systému, ktorý udržiava fyziologickú aktivitu riasiniek. Jedným z modulátorov funkcie riasiniek je **extracelulárne ATP**, ktoré sa za fyziologických podmienok uvoľňuje z epitelových buniek a pôsobí ako signálna molekula regulujúca CBF. Pri CHOCHP dochádza k jej nadmernému uvoľňovaniu. Uvoľnená extracelulárna ATP aktivuje purínergické P2Y₂ receptory

spriahnuté s G_q -proteínom. Aktivácia purínergickej signalizácie vedie k uvoľneniu Ca^{2+} z endoplazmatického retikula do cytoplazmy, čím sa rýchlo zvyšuje intracelulárna koncentrácia Ca^{2+} . Tento vzostup Ca^{2+} stimuluje aktivitu dyneínových motorických proteínov, čím priamo zvyšuje CBF, uhol ohnutia a zlepšuje ich koordináciu (Deterding et al. 2005). Nízke hladiny extracelulárneho ATP môžu viesť k významnému zníženiu efektivity MCC (Droguett et al. 2017).

Úloha **vápenatých katiónov** predstavuje zložitý komplex procesov v organizme vplývajúcich na motilitu riasiniek, predovšetkým na ich frekvenciu. Okrem spomínaného stimulačného účinku regulujú vápenaté katióny CBF aj nepriamo – prostredníctvom ovplyvnenia hladín cAMP, ktoré sú modulované Ca^{2+} -dependentnou aktivitou fosfodiesterázy 1 (PDE1). Konečná CBF je určený rovnováhou účinkov vápenatých katiónov (Kogiso et al. 2018).

Ďalším významným mediátorom motility riasiniek je **cyklický adenosínmonofosfát** (cAMP), ktorý pôsobí na relaxáciu hladkého svalstva, aktivitu riasiniek a protizápalové účinky. Pri CHOCHP je jeho hladina a účinnosť často znížená, či už kvôli chronickému zápalu, oxidatív- nemu stresu alebo dysregulácii purínergických a β_2 -adrenergických dráh. To vysvetľuje čiastočnú stratu mukociliárnej funkcie a prispieva k progresii choroby (Schmid et al. 2015). Hladiny cAMP je možné ovplyvniť zvýšením tvorby stimuláciou adenylátcyklázy alebo znížením degradácie inhibíciou PDE.

Výsledkom týchto patologických zmien je znížená CBF, skrátená amplitúda a narušenie metachrónnych vln. Pohyb hlienu sa stáva chaotickým a neefektívnym, čo zvyšuje retenciu patogénov a prispieva k progresii ochorenia. Tieto mechanizmy predstavujú potenciálny nový terapeutický prístup ovplyvnenia kinematiky riasiniek.

Vysokorýchlostná videomikroskopia (HSVM)

HSVM je dnes považovaná za referenčnú metódu pre funkčné hodnotenie riasinkového epitelu. Umožňuje zachytiť rýchly pohyb riasiniek v reálnom čase pri frekvenciách 200–1000 snímok za sekundu, čo je nevyhnutné pre detailnú analýzu jednotlivých fáz úderu (Bricmont et al. 2021; Peabody et al. 2018). Na rozdiel od statických techník, ako sú napr. elektrónová mikroskopia alebo imunohistochemické metódy, HSVM umožňuje zachytiť dynamiku pohybu (CBF, amplitúdu, trajektóriu, metachrónnu koordináciu riasiniek) a jej zmeny, ktoré vznikajú v dôsledku patologických podmienok. Táto technika je dôležitá, práve z dôvodu, že funkcia riasiniek môže byť ovplyvnená aj v prípadoch, keď je ich ultraštruktúra zachovaná.

HSVM sa používa pri hodnotení funkcie riasiniek *in vitro* aj *ex vivo*, napr. v epitelových vzorkách z trachey alebo nosa. HSVM umožňuje sledovať vplyvy zápalových procesov a liečby na dynamické parametre riasiniek a celkovú účinnosť MCC.

Z pohľadu nových terapeutických prístupov sa preto modulácia pohybu riasiniek javí ako sľubná stratégia, ktorá dopĺňa súčasnú liečbu a ponúka možnosť cielene ovplyvniť mechanizmus, ktorý je priamo zodpovedný za klírens hlienu a obranu dýchacích ciest.

HSVM predstavuje síce výkonnú metódu, avšak jej použitie má aj obmedzenia. Analýza je časovo náročná, vyžaduje skúseného hodnotiteľa a vysokokvalitnú optiku.

Nové smerovanie prinášajú pokročilé algoritmy strojového učenia, ktoré dokážu automaticky segmentovať riasinky a analyzovať ich pohyb s vysokou presnosťou (Dimauro et al. 2024; Hansen et al. 2021).

Súčasná farmakoterapia CHOCHP a jej vplyv na funkciu riasiniek

Aktuálne odporúčania liečby CHOCHP (GOLD 2025) kladú dôraz na individualizovanú farmakoterapiu podľa intenzity symptómov a rizika exacerbácií, pričom základom liečby zos-

távajú bronchodilatanciá. Súčasné lieky významne ovplyvňujú priechodnosť a zápalovú aktivitu v dýchacích cestách, no ich účinok na funkciu riasiniek a MCC je prevažne nepriamy a variabilný.

Bronchodilatanciá zo skupín dlhodobopôsobiacich β_2 -agonistov (LABA) a dlhodobopôsobiacich anticholínergík (LAMA), uvoľňujú hladké svalstvo bronchiálneho stromu a zlepšujú priechodnosť dýchacích ciest. **LABA** (napr. formoterol) môžu stimulovať CBF mechanizmom zvýšenia cAMP (Lindberg et al. 1995). Podľa niektorých starších štúdií by sa dalo predpokladať, že anticholínergické pôsobenie LAMA môže mierne znižovať CBF v dôsledku blokády parasympatiku (Workman a Cohen 2014). Novšie experimenty, vrátane *in vitro* modelov ľudských bronchiálnych epitelov a *ex vivo* modelov trachey, však ukazujú, že LAMA (napr. tiotropium, glykopyrónium) nemajú negatívny vplyv na CBF a dokonca môžu mierne zvýšiť alebo stabilizovať frekvenciu úderov riasiniek (Katsumata et al. 2022). Nové duálne molekuly – muskarínové antagonisy β_2 -agonisty MABA (napr. bafenterol) kombinujú β_2 -agonistické a anticholínergické pôsobenie v jednej molekule. Liečivá z tejto skupiny však nie sú dostupné v klinickej praxi a ich vplyv na MCC a motilitu riasiniek zatiaľ nebol preukázaný.

Inhalačné kortikosteroidy (ICS) sú indikované najmä u pacientov s častými exacerbáciami a zvýšeným počtom eozinofilov. Pri CHOCHP neprinášajú výrazný protizápalový benefit a ich vplyv na MCC je nejednoznačný. U pacientov s astmou preukázali niektoré štúdie zlepšenie MCC po dlhobodej liečbe ICS (Altintas et al. 2013), zatiaľ čo krátkodobá terapia významnú zmenu nepriniesla (Shah et al. 2006). ICS svojim účinkom tlmia zápal a oxidatívny stres, čím nepriamo podporujú udržanie iónovej signalizácie a správnej ciliárnej funkcie. Napriek tomu však stále neexistujú dostatočné a spoľahlivé údaje o ich priamom vplyve na CBF alebo štruktúru riasiniek pri CHOCHP.

Mukolytiká a expektoranciá pôsobia predovšetkým na fyzikálne vlastnosti hlienu. Zníženie viskozity a zvýšenie hydratácie hlienu vedie k zlepšeniu reologických vlastností hlienu, čím sa znižuje mechanické zaťaženie riasiniek a nepriamo podporuje ich pohyblivosť. Niektoré mukolytiká, vrátane N-acetylcysteínu, karbocysteínu alebo erdosteínu, majú zároveň antioxidantné účinky, ktoré redukujú tvorbu ROS a tým prispievajú k ochrane ciliárnej funkcie. V experimentálnom modeli alergického zápalu bolo zistené, že N-acetylcysteín znižuje CBF (Smieško et al. 2025), zatiaľ čo erdosteín ju zvyšuje (Pappová et al. 2018). Účinok týchto mukolytík pri neutrofilovom zápale zatiaľ nebol skúmaný, čo predstavuje priestor pre ďalší výskum.

Roflumilast je indikovaný u pacientov s častými exacerbáciami CHOCHP a pôsobí ako selektívny inhibítor PDE4, čím zvyšuje dostupnosť cAMP a zároveň znižuje neutrofilový zápal v dýchacích cestách. Klinické štúdie preukázali, že jeho podávanie vedie k redukcii neutrofilov a zápalových mediátorov v spúte, čím znižuje zápalové zaťaženie bronchiálneho epitelu (Grotendorst et al. 2007; Buenestado et al. 2012).

Perspektívne terapeutické ciele modulácie riasiniek pri CHOCHP

V súčasnosti sa skúmajú rôzne prístupy, ktoré by mohli modulovať pohyblivosť riasiniek, a tým zlepšiť MCC u pacientov s CHOCHP, ale aj inými ochoreniami ako je napr. cystická fibróza (CF) alebo primárna ciliárna dyskinéza (PCD). Tieto stratégie cielia na mechanizmy ovplyvňované neutrofilovým zápalom, oxidatívnym stresom a dysreguláciou intracelulárnych signálnych dráh.

1. Agonisty purínergických receptorov P2Y₂

ATP fyziologicky stimuluje frekvenciu aj uhol ohnutia riasiniek, čím udržiava efektívny MCC. Neutrofilový zápal však znižuje dostupnosť ATP a narúša purínergickú signalizáciu. Agonisty P2Y₂, napr. **denufosol**, vyvíjané pre terapiu cystickej fibrózy, preukázali konzistentné zvýšenie CBF v dýchacích cestách aj iných epitelocho, čo naznačuje ich potenciál obnoviť poškodený MCC (Deterding et al. 2005).

2. Aktivácia adenylátcyklázy

Aktivátory adenylátcyklázy ako je napr. **forskolin** preukázateľne zvyšujú CBF v zdravých bunkách epitelu (Braiman et al. 1998; Schmid et al. 2006). Je však zatiaľ málo dát, ktoré by ukazovali, že forskolin dokáže obnoviť funkciu riasiniek poškodených zápalom alebo chronickým stresom, čo znamená, že jeho reálny terapeutický prínos v ochoreniach ako CHOCHP zostáva hypotetický a je potrebný ďalší výskum tejto prírodnej látky.

3. Inhibícia PDE4

Roflumilast je inhibítorom PDE4, ktorý predstavuje reálnu a z vedeckého hľadiska podloženú možnosť farmakologickej modulácie motility riasiniek prostredníctvom zvýšenia dostupnosti cAMP pri poškodení epitelu z dôvodu fajčenia či zápalu (Schmid et al. 2015; Milara et al. 2012). Jeho presný vplyv na kinematiku riasiniek pri CHOCHP zatiaľ nie je dostatočne objasnený, najmä pokiaľ ide o parametre presahujúce samotnú CBF.

4. Antagonisty neutrofilovej elastázy

Ďalšou perspektívnou možnosťou ovplyvnenia kinematiky riasiniek je cielená inhibícia neutrofilovej elastázy. Predklinické štúdie naznačujú, že inhibítory neutrofilovej elastázy, ako **alvelestat**, dokážu znižovať zápal, degradáciu matrix, poškodenie pľúc a tkanivovú remodeláciu (Stevens et al. 2011; Chen a Stockley 2022). Tento prístup je sľubný najmä u pacientov s neutrofilovým zápalom, hoci klinické údaje u pacientov s CHOCHP zatiaľ nie sú dostupné.

5. Antioxidanty a sirtuin 1 (SIRT1) modulátory

Neutrofilmi indukované ROS poškadzujú mitochondrie riasiniek, čím znižujú dostupnú energiu v podobe ATP pre dyneínové proteíny a efektívnu ciliárnu motilitu. Molekuly ako **resveratrol** pôsobia prostredníctvom mitochondriálnej SIRT1 dráhy, znižujú oxidatívny stres a zápal epitelu (Alexander et al. 2011). Hoci priame údaje o vplyve resveratrolu na CBF respiračného epitelu zatiaľ chýbajú, mechanizmus naznačuje potenciál na podporu funkcie riasiniek.

Záver

Porucha kinematiky riasiniek predstavuje dôležitý, no často prehliadaný patofyziologický mechanizmus prispievajúci k zníženému mukociliárnemu klírensu u pacientov s CHOCHP. Súčasná farmakoterapia síce ovplyvňuje bronchokonstrikciu, zápal a reológiu hlienu, avšak jej účinkov na samotnú motilitu riasiniek je prevažne nepriamy a nie vždy klinicky významný. Pokroky v zobrazovaní, najmä využitie HSVM, umožnili detailnejšie pochopiť dynamické zmeny riasinkového pohybu a identifikovať nové terapeutické ciele.

Perspektívne prístupy, ako modulácia purínergických receptorov, aktivácia adenylátcyklázy, inhibícia neutrofilovej elastázy či ovplyvnenie mitochondriálneho stresu prostredníctvom SIRT1, ponúkajú potenciál cielene zasahovať mechanizmy poškodené neutrofilovým zápalom a oxidatívnym stresom. Väčšina týchto intervencií je však zatiaľ v predklinickom alebo skorom klinickom štádiu výskumu a ich reálny prínos pre pacientov s CHOCHP nie je dostatočne preskúmaný.

Modulácia pohybu riasiniek sa tak javí ako sľubný doplnok k štandardnej liečbe, ktorý by v budúcnosti mohol zlepšiť účinnosť MCC, znížiť zápalové zaťaženie a potenciálne prispieť

k redukcii exacerbácií. Na potvrdenie týchto predpokladov sú však potrebné systematické klinické štúdie, ktoré zhodnotia bezpečnosť, efektivitu a dlhodobý vplyv týchto stratégií na funkciu riasiniek aj klinické výsledky pacientov s CHOCHP.

Táto práca bola podporená grantmi VEGA 1/0042/24, VEGA 1/0060/25, APVV-19-0033 a APVV-23-0261.

Zoznam použitej literatúry

1. Alexander NS, Hatch N, Zhang S, Skinner D, Fortenberry J, Sorscher EJ, Woodworth BA. Resveratrol has salutary effects on mucociliary transport and inflammation in sinonasal epithelium. *Laryngoscope* [online] 2011; 121(6): 1313–1319. ISSN 1531-4995. Dostupné z: [doi:10.1002/lary.21798].
2. Altintas N, Yildiran I, Aslan E, Helvacı A. Mucociliary dysfunction in bronchial asthma and effect of inhaled corticosteroids treatment on mucociliary clearance. *Eur Arch Med Res* [online] 2013; 29(3): 127. Dostupné z: [doi:10.5222/otd.2013.127].
3. Ancel J, Belgacemi R, Diabasana Z, Perotin JM, Bonnomet A, Dewolf M, Launois C, Mulette P, Deslée G, Polette M, Dormoy V. Impaired ciliary beat frequency and ciliogenesis alteration during airway epithelial cell differentiation in COPD. *Diagnostics* [online] 2021; 11(9): 1579. ISSN 2075-4418. Dostupné z: [doi:10.3390/diagnostics11091579].
4. Braiman A, Zagoory O, Priel Z. PKA induces Ca^{2+} release and enhances ciliary beat frequency in a Ca^{2+} -dependent and -independent manner. *Am J Physiol Cell Physiol* [online] 1998; 275(3): C790–C797. ISSN 0363-6143. Dostupné z: [doi:10.1152/ajpcell.1998.275.3.c790].
5. Bricmont N, Alexandru M, Louis B, Papon JF, Kempeneers C. Ciliary videomicroscopy: a long beat from the European Respiratory Society guidelines to the recognition as a confirmatory test for primary ciliary dyskinesia. *Diagnostics* [online] 2021; 11(9): 1700. ISSN 2075-4418. Dostupné z: [doi:10.3390/diagnostics11091700].
6. Buenestado A, Grassin-Delyle S, Guitard F, Naline E, Faisy C, Israël-Biet D, Sage E, Bellamy JF, Tenor H, Devillier P. Roflumilast inhibits the release of chemokines and TNF- α from human lung macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Br J Pharmacol* [online] 2012; 165(6): 1877–1890. ISSN 0007-1188. Dostupné z: [doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01667.x].
7. Deterding R, Retsch-Bogart G, Milgram L, Gibson R, Daines C, Zeitlin PL, Milla C, Marshall B, Lavange L, Engels J, Mathews D, Gorden J, Schaberg A, Williams J, Ramsey B, Cystic Fibrosis Foundation Therapeutics Development Network. Safety and tolerability of denufosal tetrasodium inhalation solution, a novel P2Y2 receptor agonist: results of a phase 1/phase 2 multicenter study in mild to moderate cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* [online] 2005; 39(4): 339–348. ISSN 8755-6863. Dostupné z: [doi:10.1002/ppul.20192].
8. Dimauro G, Barbaro N, Camporeale MG, Fiore V, Gelardi M, Scalera M. DeepCilia: automated, deep-learning based engine for precise ciliary beat frequency estimation. *Biomed Signal Process Control* [online] 2024; 90: 105808. ISSN 1746-8094. Dostupné z: [doi:10.1016/j.bspc.2023.105808].
9. Droguett K, Rios M, Carreño DV, Navarrete C, Fuentes C, Villalón M, Barrera NP. An autocrine ATP release mechanism regulates basal ciliary activity in airway epithelium. *J Physiol* [online] 2017; 595(14): 4755–4767. ISSN 0022-3751. Dostupné z: [doi:10.1113/JP273996].
10. GOLD 2025. <https://goldcopd.org/2025-gold-report/>
11. González C, Droguett K, Rios M, Cohen NA, Villalón M. TNF α affects ciliary beat response to increased viscosity in human pediatric airway epithelium. *BioMed Res Int* [online] 2016; 2016: 3628501. ISSN 2314-6133. Dostupné z: [doi:10.1155/2016/3628501].
12. Grootendorst DC, Gauw SA, Verhoosel RM, Sterk PJ, Hoppers JJ, Bredenbröker D, Bethke TD, Hiemstra PS, Rabe KF. Reduction in sputum neutrophil and eosinophil numbers by the PDE4 inhibitor roflumilast in patients with COPD. *Thorax* [online] 2007; 62(12): 1081–1087. ISSN 0040-6376. Dostupné z: [doi:10.1136/thx.2006.075937].
13. Hansen JN, Rassmann S, Stüven B, Jurisch-Yaksi N, Wachten D. CiliaQ: a simple, open-source software for automated quantification of ciliary morphology and fluorescence in 2D, 3D, and 4D images. *Eur Phys J E* [online] 2021; 44(2): 18. ISSN 1292-895X. Dostupné z: [doi:10.1140/epje/s10189-021-00031-y].
14. Chalmers JD, Moffitt KL, Suarez-Cuartin G, Sibila O, Finch S, Furrer E, Dicker A, Wrobel K, Elborn JS, Walker B, Martin SL, Marshall SE, Huang JTJ, Fardon TC. Neutrophil elastase activity is associated with exacerbations and lung function decline in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [online] 2017; 195(10): 1384–1393. ISSN 1073-449X. Dostupné z: [doi:10.1164/rccm.201605-1027OC].

15. Chen CH, Stockley RA. Targeting neutrophil serine proteinases in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Rare Dis Orphan Drugs J* [online] 2022; 1(4): N/A. ISSN 2771-2893. Dostupné z: [doi:10.20517/rdodj.2022.18].
16. Jošková M, Mokřý J, Fraňová S. Respiratory cilia as a therapeutic target of phosphodiesterase inhibitors. *Front Pharmacol* [online] 2020; 11. ISSN 1663-9812. Dostupné z: [doi:10.3389/fphar.2020.00609].
17. Katsumata M, Fujisawa T, Kamiya Y, Tanaka Y, Kamiya C, Inoue Y, Hozumi H, Karayama M, Suzuki Y, Furuhashi K, Enomoto N, Nakamura Y, Inui N, Maekawa M, Setou M, Watanabe H, Ikegami K, Suda T. Effects of long-acting muscarinic antagonists on promoting ciliary function in airway epithelium. *BMC Pulm Med* [online] 2022; 22(1): 186. ISSN 1471-2466. Dostupné z: [doi:10.1186/s12890-022-01983-3].
18. Kogiso H, Hosogi S, Ikeuchi Y, Tanaka S, Inui T, Marunaka Y, Nakahari T. $[Ca^{2+}]_i$ modulation of cAMP-stimulated ciliary beat frequency via PDE1 in airway ciliary cells of mice. *Exp Physiol* [online] 2018; 103(3): 381–390. ISSN 1469-445X. Dostupné z: [doi:10.1113/EP086681].
19. Lindberg S, Khan R, Runer T. The effects of formoterol, a long-acting beta 2-adrenoceptor agonist, on mucociliary activity. *Eur J Pharmacol* [online] 1995; 285(3): 275–280. ISSN 0014-2999. Dostupné z: [doi:10.1016/0014-2999(95)00416-i].
20. McKelvey MC, Brown R, Ryan S, Mall MA, Weldon S, Taggart CC. Proteases, mucus, and mucosal immunity in chronic lung disease. *Int J Mol Sci* [online] 2021; 22(9): 5018. ISSN 1422-0067. Dostupné z: [doi:10.3390/ijms22095018].
21. Milara J, Armengot M, Bañuls P, Tenor H, Beume R, Artigues E, Cortijo J. Roflumilast N-oxide, a PDE4 inhibitor, improves cilia motility and ciliated human bronchial epithelial cells compromised by cigarette smoke in vitro. *Br J Pharmacol* [online] 2012; 166(8): 2243–2262. ISSN 1476-5381. Dostupné z: [doi:10.1111/j.1476-5381.2012.01929.x].
22. Peabody JE, Shei RJ, Bermingham BM, Phillips SE, Turner B, Rowe SM, Solomon GM. Seeing cilia: imaging modalities for ciliary motion and clinical connections. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* [online] 2018; 314(6): L909–L921. ISSN 1040-0605. Dostupné z: [doi:10.1152/ajplung.00556.2017].
23. Pappová L, Kazimierová I, Jošková M, Šutovská M, Fraňová S. Acute and chronic effects of oral erdosteine on ciliary beat frequency, cough sensitivity and airway reactivity. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1023:1–10. Dostupné z: [doi:10.1007/5584_2017_48].
24. Shah RV, Amin M, Sangwan S, Smaldone GC. Steroid effects on mucociliary clearance in outpatient asthma. *J Aerosol Med* [online] 2006; 19(2): 208–220. ISSN 0894-2684. Dostupné z: [doi:10.1089/jam.2006.19.208].
25. Schmid A, Bai G, Schmid N, Zaccolo M, Ostrowski LE, Conner GE, Fregien N, Salathe M. Real-time analysis of cAMP-mediated regulation of ciliary motility in single primary human airway epithelial cells. *J Cell Sci* [online] 2006; 119(Pt 20): 4176–4186. ISSN 0021-9533. Dostupné z: [doi:10.1242/jcs.03181].
26. Schmid A, Baumlín N, Ivonnet P, Dennis JS, Campos M, Krick S, Salathe M. Roflumilast partially reverses smoke-induced mucociliary dysfunction. *Respir Res* [online] 2015; 16(1): 135. ISSN 1465-993X. Dostupné z: [doi:10.1186/s12931-015-0294-3].
27. Smieško L, Mažerik J, Gondáš E, Dohál M, Jošková M, Šutovská M, Fraňová S. N-Acetylcysteine and its therapeutic potential in an animal model of allergic asthma. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*. 2025;38(3):118–126. Dostupné z: [doi:10.1089/jamp.2024.0049].
28. Stevens T, Ekholm K, Gränse M, Lindahl M, Kozma V, Jungar C, Ottosson T, Falk-Håkansson H, Churg A, Wright JL, Lal H, Sanfridson A. AZD9668: pharmacological characterization of a novel oral inhibitor of neutrophil elastase. *J Pharmacol Exp Ther* [online] 2011; 339(1): 313–320. ISSN 1521-0103. Dostupné z: [doi:10.1124/jpet.111.182139].
29. Trivedi A, Khan MA, Bade G, Talwar A. Orchestration of neutrophil extracellular traps (NETs), a unique innate immune function during chronic obstructive pulmonary disease (COPD) development. *Biomedicines* [online] 2021; 9(1): 53. ISSN 2227-9059. Dostupné z: [doi:10.3390/biomedicines9010053].
30. Voynow JA, Shinbashi M. Neutrophil elastase and chronic lung disease. *Biomolecules* [online] 2021; 11(8): 1065. ISSN 2218-273X. Dostupné z: [doi:10.3390/biom11081065].
31. Workman AD, Cohen NA. The effect of drugs and other compounds on the ciliary beat frequency of human respiratory epithelium. *Am J Rhinol Allergy* [online] 2014; 28(6): 454–464. ISSN 1945-8932. Dostupné z: [doi:10.2500/ajra.2014.28.4092].

Nové prístupy k terapeutickému monitorovaniu liečiv v psychiatrii – od klasických po alternatívne biologické materiály

Michaela Krivošová¹, Petra Jurášeková^{2,3}, Zuzana Mačková⁴, Simona Hromníková⁵, Martin Kertys⁵, Nela Žideková¹, Juraj Mokry⁵

¹Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin,

²Súdnolekárske a patologicko-anatomické pracovisko ÚDZS, Martin,

³Ústav súdneho lekárstva a medicínskych expertíz JLF UK a UNM, Martin,

⁴Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, ⁵Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

E-mail: michaela.krivosova@uniba.sk

Terapeutická odpoveď u pacientov s psychiatrickým ochorením je často ovplyvnená individuálnou variabilitou vychádzajúcou z rozdielov v metabolizme liečiv, liekových interakcií či prítomnosti komorbidít, ako aj z faktorov životného štýlu, akými sú konzumácia alkoholu, kofeínových produktov, fajčenie a užívanie iných návykových látok (Biso et al. 2024; Bahji 2024). Terapeutické monitorovanie hladín liečiv (TDM, z angl. *therapeutic drug monitoring*) predstavuje cenný nástroj personalizácie a optimalizácie farmakoterapie v klinickej praxi, vrátane liečby pacientov s psychiatrickými ochoreniami. Umožňuje správne nastavenie dávky a dávkovacieho intervalu indikovaného lieku, pomôže odhaliť subterapeutické aj supratherapeutické koncentrácie liečiv v organizme, a tým predchádzať terapeutickému zlyhaniu či výskytu nežiaducich účinkov. Kvantifikáciou aktívnej zložky liečiva podporuje TDM klinické rozhodovanie okrem dávky aj o výbere vhodného liečiva, čím prispieva k zvyšovaniu bezpečnosti a účinnosti indikovanej farmakoterapie. Zároveň slúži ako kľúčový nástroj pre monitorovanie miery adheencie pacientov a významnú úlohu zastáva aj v oblasti farmakoekonomiky, nakoľko môže výrazne prispieť k celkovému zvýšeniu nákladovej efektívnosti farmakoterapie. V oblasti neuropsychofarmakológie boli pre využitie TDM vytvorené odborné odporúčania (Baumann et al. 2004), ktoré boli neskôr aktualizované (Hiemke et al. 2018). Tieto odporúčania zaraďujú psychiatrické liečivá do štyroch skupín podľa miery preukázanej asociácie medzi plazmatickou koncentráciou a terapeutickou odpoveďou, resp. dosiahnutím remisie, prevenciou relapsov, či rizikom nežiaducich účinkov. Liečivá v skupine 1 majú dobre definované terapeutické rozmedzie a TDM pri nich slúži na titráciu dávky, pravidelné monitorovanie a zaistenie bezpečnosti. Pri liečivách zo skupiny 2 sú terapeutické intervaly odvodené z koncentrácií dosiahnutých pri účinných dávkach; TDM je preto vhodné najmä pri titrácii dávky alebo riešení klinických problémov. V skupine 3 sa už neodporúča rutinné monitorovanie hladín, ale TDM má svoje opodstatnenie v špeciálnych indikáciách. V skupine 4 zatiaľ neboli preukázané jasné prínosy využívania TDM v bežnej klinickej praxi (Schoretsanitis et al. 2020; Hiemke et al. 2018). Napriek dostatočným dôkazom o prínose TDM pri určitých liečivách zostáva jeho širšia implementácia v klinickej praxi stále obmedzená viacerými faktormi, ako sú finančná náročnosť, zameranie najmä na vysokorizikové liečivá (napríklad lítium, valproát), či nedostatočná interpretácia výsledkov meraní, čo následne znižuje jeho klinickú využiteľnosť (Biso et al. 2024).

Jedným z kľúčových aspektov aplikácie TDM je dostupnosť presných a validovaných analytických postupov zabezpečujúcich spoľahlivú kvantifikáciu liečiv, ktorá tvorí predpoklad pre správnu interpretovateľnosť výsledkov a následnú optimalizáciu farmakoterapie (Kacirova et al. 2012). V súčasnosti medzi najčastejšie využívané prístupy patria imunochemické (RIA, z angl. *radioimmunoassay*; EMIT, z angl. *enzyme multiplied immunoassay technique*; FPIA,

z angl. *fluorescence polarization immunoassay*) a chromatografické metódy v prevedení vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC, z angl. *high performance liquid chromatography*) a plynovej chromatografie (GC, z angl. *gas chromatography*). Imunochemické metódy využívajúce vysokoafinitnú špecifickú interakciu medzi antigénom (cieľový analyt – liečivo alebo jeho metabolit) a protilátkou majú v TDM významné uplatnenie. Medzi výhody imunoanalýzy patrí najmä jednoduchosť a rýchlosť prevedenia, relatívne nízka potreba špecializovaného vybavenia a možnosť automatizácie v podobe imunoanalyzátorov (Bekoe et al. 2022). Napriek širokej aplikovateľnosti majú imunochemické testy špecifické obmedzenia, a to najmä riziko krížovej reaktivity s látkami podobnej štruktúry vrátane metabolitov materského liečiva, vplyv matrice na väzbu protilátky a možnosť vzniku falošne pozitívnych alebo falošne negatívnych výsledkov. V súčasnosti sa preto uplatňujú najmä ako rýchle skríningové testy, zatiaľ čo presné terapeutické monitorovanie sa realizuje pomocou citlivejších analytických metód (Grundmann et al. 2014). Chromatografické metódy, ktorých princíp je založený na separácii a následnej detekcii analytov, umožňujú presné, selektívne a citlivé stanovenie širokého spektra liečiv a ich metabolitov v komplexných biologických matriciach. Spojenie chromatografických metód s hmotnostnou spektrometriou (MS, z angl. *mass spectrometry*) predstavuje univerzálny detekčný systém poskytujúci štruktúrnú informáciu o sledovanej molekule a súčasne možnosť jej kvantifikácie v stopových množstvách, čím umožňuje stanovenie liečiv aj pri nízkych terapeutických koncentráciách (Tuzimski a Petruczynik 2020). Výber vhodnej separačnej metódy závisí predovšetkým od prchavosti, polarizácie a chemickej stability stanovovaného liečiva. V dôsledku potreby splynenia kvapalnej vzorky sú pre analýzu metódou GC-MS vhodné najmä prchavé, termostabilné analyty nepolárneho charakteru, prípadne látky, ktoré je možné procesom derivatizácie previesť na štruktúrne vyhovujúce molekuly (Milone M. 2024). Z dôvodu možnosti aplikácie pre širšie spektrum analytov sa ako zlatý štandard v rámci TDM psychiatrických liečiv využíva metóda vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie s využitím rôznych typov detekcie. V súčasnosti najpokrokovejší analytický systém využívaný v rámci TDM predstavuje kombinácia kvapalinovej chromatografie s hmotnostnou detekciou v tandemovom zapojení (LC-MS/MS), ktorá umožňuje vysoko selektívne a citlivé simultánne stanovenie veľkého počtu liečiv spolu s ich metabolitmi (Kertys et al. 2020; Vecchione et al. 2012).

Najčastejšie používaným biologickým materiálom na monitorovanie hladín liečiv je krvná plazma, resp. sérum. Štúdie ukazujú, že u väčšiny psychiatrických liečiv plazmatické koncentrácie dobre korelujú s ich hladinami v centrálnom nervovom systéme (CNS). Naopak, podané dávky týchto liečiv sú len slabým prediktorom terapeutického efektu, čo súvisí s výraznou interindividuálnou variabilitou (Hiemke et al. 2018; Fiaturi a Greenblatt 2019; Cellini et al. 2022). Tieto zistenia potvrdili aj analýzy pomocou pozitronovej emisnej tomografie (PET), ktoré preukázali koreláciu medzi plazmatickými hladinami liečiva a obsadením D₂ receptorov v prípade antipsychotík, prípadne sérotonínového (5-HT) prenášača pri antidepresívach. Optimálna terapeutická odpoveď na liečivo bola dosiahnutá pri obsadenosti 70 – 80 % D₂ receptorov pri podávaní antipsychotík. Pri vyššej obsadenosti sa už začali objavovať nežiaduce účinky ako extrapyramídové príznaky. Pri podávaní antidepresív zo skupiny selektívnych inhibítorov spätného vychytávania sérotonínu (SSRI) je potrebná aspoň 80 % obsadenosť 5-HT transportéra pre dosiahnutie adekvátneho terapeutického účinku (Gründer et al. 2011).

V prípade liečiv, ktoré sú silnými substrátmi efluxných púmp (akou je napríklad P-glykoproteín) na hematoencefalickej bariére (HEB), môže byť korelácia medzi plazmatickými a mozgovými koncentraciami obmedzená. V praxi to znamená, že aj pacient s koncentraciou liečiva v terapeutickom rozmedzí nemusí odpovedať na liečbu, môže ísť o tzv. rezistenciu na

liečbu. Okrem toho je potrebné brať do úvahy, že funkcia HEB môže byť narušená pri neurodegeneratívnych ochoreniach, stavoch spojených s mikrovaskulárnym poškodením, akým je diabetes mellitus, resp. pri podávaní určitých liečiv. Okrem toho zhoršuje jej funkciu aj fyziologické starnutie (Pan a Nicolazzo 2018; Banks et al. 2024; Ozdemir, Vural a Godard, Beatrice 2025).

Súčasná odporúčania na monitorovanie plazmatických hladín antipsychotík sú zhrnuté v tabuľke 1 a odporúčania pre antidepresíva v tabuľke 2.

Tab. 1: Antipsychotiká a TDM odporúčania (*upravené podľa Schoetsanis et al. 2018 a Hiemke et al. 2018*).

Liečivo (+ aktívny metabolit)	Plazmatické terapeutické rozmedzie (ng/ml)	Kritická laboratórna hodnota (ng/ml)	Biologický polčas (hod)	Hlavné CYP enzýmy zahrnuté v metabolisme	MPR
Skupina liečiv 1 – TDM rozhodne odporúčané					
Amisulprid	100 - 320	640	12 - 20	-	
Flufenazín	1 - 10	15	16	CYP2D6	
Haloperidol	1 - 10	15	12 - 36	CYP2D6, CYP3A4	0,14 - 0,42
Klozapín	350 - 600	1000	12 - 16	CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4	0,45 - 0,79
Olanzapín	20 - 80	100	30 - 60	CYP1A2, CYP2D6	0,1 - 0,3
Skupina liečiv 2 – TDM odporúčané					
Aripiprazol (dehydroaripiprazol)	150 - 500	1000	60 - 80	CYP2D6, CYP3A4	0,3 - 0,5
Chlórpromazín	30 - 300	600	15 - 30	CYP1A2, CYP2D6	
Flupentixol	0,5 - 5	15	20 - 40	CYP2D6	
Paliperidón	20 - 60	120	17 - 23	CYP3A4	
Kvetiapín	100 - 500	1000	6 - 11	CYP2D6, CYP3A4	0,54 - 3,1
Risperidón (9-hydroxyrisperidón)	20 - 60	120	2 - 4 (17 - 23)	CYP2D6, CYP3A4	3,6 - 22,7
Sertindol	50 - 100	200	55 - 90	CYP2D6, CYP3A4	1,1 - 2,7
Sulpirid	200 - 1000	1000	8 - 14	-	
Ziprasidón	50 - 200	400	4 - 8	CYP3A4	
Skupina liečiv 3 – TDM užitočné					
Brexiprazol	40 - 140	280	91	CYP2D6, CYP3A4	
Chlórprotixén	20 - 300	400	8 - 12	CYP2D6, CYP3A4	
Kariprazín	10 - 20	40	48 - 120	CYP2D6, CYP3A4	3 - 6
Levomepromazín	30 - 160	320	16 - 78	CYP3A4	
Lurasidón	15 - 40	120	20 - 40	CYP3A4	
Zotepín	10 - 150	300	13 - 16	CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4	
Zuklopentixol	4 - 50	100	15 - 25	CYP2D6	

CYP - cytochróm P450, MPR - pomer metabolitu k materskému liečivu.

Čo sa týka monitorovania hladín antidepresív, väčšina liečiv zo skupiny tricyklických antidepresív (TCA) má odporúčané pravidelné TDM, najmä kvôli riziku vzniku nežiaducich účinkov, ako napríklad kardiotoxicita (Baumann et al. 2005). Jediné liečivo zo skupiny SSRI – citalopram – patrí tiež do tejto skupiny, nakoľko bola potvrdená významná korelácia medzi plazmatickými koncentráciami a terapeutickou odpoveďou (Ostad Haji et al. 2011).

Tab. 2: Antidepresíva a TDM odporúčania (*upravené podľa Hiemke et al. 2018*).

Liečivo (+ aktívny metabolit)	Plazma- tické tera- peutické rozmedzie (ng/ml)	Kritická la- boratórna hodnota (ng/ml)	Biologický polčas (hod)	Hlavné CYP enzýmy zahrnuté v metabo- lizme	MPR
Skupina liečiv 1 – TDM rozhodne odporúčané					
Amitriptylín (nortriptylín)	80 - 200	300	10 - 28 (18 - 44)	CYP2C19, CYP2D6	0,2 - 1,8
Citalopram	50 - 110	220	38 - 48	CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4	0,31 - 0,60
Imipramín (dezipramín)	175 - 300	300	11 - 25 (15 - 18)	CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4	0,6 - 3,2
Klomipramín (N-dezmetylkломipra- mín)	230 - 450	450	16 - 60 (37 - 43)	CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4	0,8 - 2,6
Nortriptylín	70 - 170	300	18 - 44	CYP2D6	
Skupina liečiv 2 – TDM odporúčané					
Bupropión (hydroxybupropión)	850 - 1500	2000	1 - 15 (17 - 47)	CYP2B6, CYP2C19	11,2 - 21,0
Duloxetín	30 - 120	240	9 - 19	CYP1A2, CYP2D6	
Escitalopram	15 - 80	160	27 - 32	CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4	0,3 - 1,0
Fluvoxamín	60 - 230	500	21 - 43	CYP1A2, CYP2D6	0 - 1,2
Maprotilín	75 - 130	220	20 - 58	CYP1A2, CYP2D6	1,1 - 3,7
Milnacipran	100 - 150	300	5 - 8	CYP3A4	
Mirtazapín	30 - 80	160	20 - 40	CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4	0,2 - 1,2
Sertralín	10 - 150	300	22 - 36	CYP2B6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	1,7 - 3,4
Trazodón	700 - 1000	1200	4 - 11	CYP2D6, CYP3A4	0,04 - 0,22
Trimipramín	150 - 300	600	23 - 24	CYP2C19, CYP2D6, CYP2C9, CYP3A4	0,26 - 0,56
Venlafaxín (O-dezmetylvenlafaxín)	100 - 400	800	4 - 14 (10 - 20)	CYP2C19, CYP2D6, CYP2C9, CYP3A4	2,7 - 7,7
Vortioxetín	10 - 40	80	57 - 66	CYP2D6, CYP3A4, CYP2A6, CYP2C9	
Skupina liečiv 3 – TDM užitočné					
Fluoxetín (norfluoxetín)	120 - 500	1000	4 - 6 dní (4 - 15 dní)	CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6	0,7 - 1,9
Levomilnacipran	80 - 120	200	6 - 9	CYP3A4	
Mianserín	15 - 70	140	14 - 33	CYP2D6, CYP1A2, CYP3A4	0,5 - 0,8
Moklobemid	300 - 1000	2000	2 - 7	CYP2C19, CYP2D6	0,8 - 2,5
Paroxetín	20 - 65	120	12 - 44	CYP2D6, CYP3A4	
Reboxetín	60 - 350	700	8 - 12	CYP3A4	< 0,1
Tianeptín	30 - 80	160	2,5 - 3	-	
Vilazodón	30 - 70	140	18 - 32	CYP3A4	
Skupina liečiv 4 – TDM potenciálne užitočné					
Agomelatín	7 - 300	600	1 - 2	CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4	

CYP - cytochróm P450, MPR - pomer metabolitu k materskému liečivu.

V prípade iných liečiv zo skupiny SSRI sú dôkazy o niečo menej presvedčivé, ale stále je TDM výhodným nástrojom na monitorovanie adherencie, určenie typu metabolizátora, či stanovenie prítomnosti metabolitu po vysadení liečiva, napríklad v prípade fluoxetínu s dlhým biologickým polčasom (Fiaturi a Greenblatt 2019). TDM pri venlafaxíne a duloxetíne zo skupiny inhibítorov spätného vychytávania sérotonínu a noradrenalínu (SNRI) sa ukázal ako užitočný nástroj hlavne pri nastavovaní terapie u starších pacientov (Hansen et al. 2017; Waldschmitt et al. 2009).

V klinickej praxi býva odber venózneho krvi u pacientov s psychiatrickými ochoreniami často limitovaný, keďže ide o populáciu so zvýšenou citlivosťou na invazívne zákroky, úzkostnými reakciami či zníženou ochotou spolupráce. Z týchto dôvodov je na mieste voľba alternatívneho biologického materiálu ako sú napríklad sliny, resp. orálna tekutina, pri ktorých je možné pristúpiť k odberu biologického materiálu menej invazívnym spôsobom. Aby sa však dali takto namerané hladiny interpretovať do klinickej praxe, je potrebné nájsť konverzný faktor medzi hladinami v plazme a koncentráciami liečiva v slinách. Prechod liečiv z krvi do slín je ovplyvnený viacerými faktormi ako sú lipofilita liečiva, veľkosť molekuly, hodnota pKa a miera väzby na proteíny (Neumann et al. 2018). Viaceré štúdie úspešne validovali metódu na kvantifikáciu antidepresív či antipsychotík a ich metabolitov v slinách (Dziurkowska a Wesolowski 2023; 2019), chýba však klinická aplikácia, nakoľko hladiny v slinách, resp. orálnej tekutine sú veľmi variabilné a často niekoľko násobne nižšie (Fisher et al. 2013).

Hoci stanovovanie látok v moči sa využíva predovšetkým na posúdenie užívania nelegálnych substancií, tento biologický materiál má svoje opodstatnenie aj pri detekcii psychiatrických liečiv. Panel expertov identifikoval 15 rôznych klinických situácií, pri ktorých odporúča realizovať TDM v moči u pacientov so závažným psychiatrickým ochorením užívajúcich antipsychotiká. Ide o situácie ako napríklad prechod zo starostlivosti v ambulancii na hospitalizáciu, zhoršenie symptómov (napr. zvýšenie paranoje), zníženie úrovne „fungovania“ pacienta (napr. zlé stravovanie), nedodržiavanie psychosociálnej liečby (zmeškané termíny) a neočakávané výsledky predchádzajúceho monitorovania moču (zistenie prítomnosti nepredpísaných liekov, nelegálnych látok a absencia hladín predpísaných liekov). Ďalším z klinických využití je kontrola adherencie u pacientov užívajúcich antipsychotiká (Cohen et al. 2018), ako napríklad v prípade metódy na kvantifikáciu liečiv haloperidol, risperidón, kvetiapín a olanzapín a ich metabolitov pomocou HPLC-MS/MS (Miller et al. 2015). Z koncentrácií antipsychotík v moči sa vypočítavali referenčné rozmedzia, ktoré vysoko korelovali so sérovými hladinami a mohli napovedať o stupni adherencii k farmakoterapii (Cohen et al. 2018). Na kvantifikáciu antidepresív fluoxetín, nortripytlín, maprotilín a paroxetín v plazme aj moči bola vytvorená GC-MS metóda, ktorá by vďaka vysokej selektivite a senzitivite, nízkej finančnej náročnosti, rýchlosti aj jednoduchosti mohla byť podľa autorov vhodná aj v rutinej klinickej praxi (Feng et al. 2019).

Novinku v TDM predstavuje tzv. mikrovzorkovanie (z angl. *microsampling*), teda odber mikrovzorky s definovaným objemom pomocou absorpčného média (VAMS, z angl. *volumetric absorptive microsampling*). Biologickou vzorkou môže byť okrem krvi aj orálna tekutina. Nedávno sa podarilo vytvoriť i validovať metódu na mikrovzorku krvi i orálnej tekutiny na kvantifikáciu SSRI a vortioxetínu u psychiatrických pacientov (Marasca et al. 2020). Suchá kvapka krvi (DBS, z angl. *dried blood spot*) predstavuje minimálne invazívnu formu odberu, ktorej ďalšími výhodami je potreba len malého objemu krvi a dobrá skladnosť vzorky, čo zjednodušuje transport, uchovávanie a dáva možnosť odberu pacientom v domácom prostredí (Zailani a Ho 2023). Aby sa tieto metódy mohli využívať v klinickej praxi, musia byť validované a súčasťou by malo byť aj porovnanie a určenie pomeru medzi koncentráciami v plazme a DBS, teda

v kapilárnej krvi. Takéto pomery sú jedinečné pre každé liečivo, vychádzajú z väzby na bielkoviny a z koeficientu určujúceho distribúciu liečiv medzi krvnými bunkami a plazmou. Avšak dôležité sú aj faktory jedinca, hlavne aktuálna hodnota hematokritu (HCT), ktorý sa vyznačuje variabilitou na základe pohlavia, veku, prípadne komorbidít ako je napríklad anémia. Navyše, hodnoty HCT boli namerané vyššie z kapilárnej krvi ako v krvi venóznej (Li a Tse 2010). Ďalej hrá rolu aj objem kvapky krvi, materiál odberového papiera či samotná analytická metóda (Zailani a Ho 2023). Simultánna LC-MS/MS metóda na kvantifikáciu 15 antipsychotík a ich 7 metabolitov z DBS sa podarila validovať autorom podľa EMA aj FDA kritérií (Patteet et al. 2015). Iným autorom sa podarilo validovať metódu na analýzu TCA z kvapky krvi (Berm et al. 2015), SSRI a reboxetínu (Déglon et al. 2010), prípadne ďalších antidepresív či antipsychotík (Weber et al. 2017). Autori upozorňujú, že pred implementáciou do klinickej praxe by mala byť korelovaná koncentrácia v plazme a DBS u každého pacienta (Tron et al. 2017). Otázkou zostáva, či by táto metóda odberu v budúcnosti mohla úplne nahradiť konvenčné monitorovanie plazmatických koncentrácií liečiv.

Záver

TDM predstavuje cenný nástroj v klinickej psychiatrii, ktorý umožňuje individualizovať liečbu, optimalizovať dávkovanie liečiv a minimalizovať riziko nežiaducich účinkov. Umožňuje tiež odhaliť nedostatočne adherentných pacientov k terapii, čo môže viesť k zbytočnému zvyšovaniu dávky liečiv, predpisovaniu adjuvantnej terapie a mylnej identifikácii pacientov ako rezistentných na liečbu (Eaddy et al. 2005; Velligan et al. 2003). Správne nastavené hladiny liečiv prispievajú k lepšej účinnosti terapie, a tým prispievajú aj k lepšej spolupráci pacienta s lekárom, čo z TDM robí významnú súčasť modernej psychiatrickej praxe.

Táto práca bola financovaná EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V04-00207 a grantom Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaM SR VEGA 1/0029/24.

Zoznam použitej literatúry

1. Bahji, Anees. 2024. "Navigating the Complex Intersection of Substance Use and Psychiatric Disorders: A Comprehensive Review". *Journal of Clinical Medicine* 13 (4): 999. <https://doi.org/10.3390/jcm13040999>.
2. Banks, William A., Elizabeth M. Rhea, May J. Reed, a Michelle A. Erickson. 2024. "The penetration of therapeutics across the blood-brain barrier: Classic case studies and clinical implications". *Cell Reports Medicine* 5 (11): 101760. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101760>.
3. Baumann, P., C. Hiemke, S. Ulrich, et al. 2004. "The AGNP-TDM Expert Group Consensus Guidelines: Therapeutic Drug Monitoring in Psychiatry". *Pharmacopsychiatry* 37 (6): 243–65. <https://doi.org/10.1055/s-2004-832687>.
4. Baumann, Pierre, Sven Ulrich, Gabriel Eckermann, et al. 2005. "The AGNP-TDM Expert Group Consensus Guidelines: focus on therapeutic monitoring of antidepressants". *Dialogues in Clinical Neuroscience* 7 (3): 231–47. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2005.7.3/pbaumann>.
5. Bekoe, Samuel O., Samuel Asare-Nkansah, a Kwabena F. M. Opuni. 2022. "Analytical Techniques for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology". V *Recent Advances in Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology*, zostavil Seth Kwabena Amponsah a Yashwant V. Pathak. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-12398-6_2.
6. Berm, E.J.J., J. Paardekooper, E. Brummel-Mulder, E. Hak, B. Wilffert, a J.G. Maring. 2015. "A Simple Dried Blood Spot Method for Therapeutic Drug Monitoring of the Tricyclic Antidepressants Amitriptyline, Nortriptyline, Imipramine, Clomipramine, and Their Active Metabolites Using LC-MS/MS". *Talanta* 134 (marec): 165–72. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.10.041>.
7. Biso, Letizia, Stefano Aringhieri, Marco Carli, Marco Scarselli, a Biancamaria Longoni. 2024. "Therapeutic Drug Monitoring in Psychiatry: Enhancing Treatment Precision and Patient Outcomes". *Pharmaceuticals* 17 (5): 642. <https://doi.org/10.3390/ph17050642>.

8. Cellini, Lorenzo, Domenico De Donatis, Gerald Zernig, et al. 2022. "Antidepressant efficacy is correlated with plasma levels: mega-analysis and further evidence". *International Clinical Psychopharmacology* 37 (2): 29–37. <https://doi.org/10.1097/YIC.0000000000000386>.
9. Cohen, Amy N., Gretchen Collins, Frederick Charles Nucifora, Roddy Strobel, David B. Wait, a Alexander S. Young. 2018. "Clinical Consensus Recommendations for Urine Testing of Adherence to Antipsychotics Among People With Serious Mental Illness". *Psychiatric Services (Washington, D.C.)* 69 (3): 345–48. <https://doi.org/10.1176/appi.ps.201700082>.
10. Déglon, Julien, Estelle Lauer, Aurélien Thomas, Patrice Mangin, a Christian Staub. 2010. "Use of the Dried Blood Spot Sampling Process Coupled with Fast Gas Chromatography and Negative-Ion Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry: Application to Fluoxetine, Norfluoxetine, Reboxetine, and Paroxetine Analysis". *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396 (7): 2523–32. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3412-6>.
11. Dziurkowska, Ewelina, a Marek Wesolowski. 2019. "Simultaneous Quantification of Antipsychotic and Antiepileptic Drugs and Their Metabolites in Human Saliva Using UHPLC-DAD". *Molecules* 24 (16): 2953. <https://doi.org/10.3390/molecules24162953>.
12. Dziurkowska, Ewelina, a Marek Wesolowski. 2023. "Isolation of Antidepressants and Their Metabolites from Saliva Using Supported Liquid Extraction (SLE)". *Biomedicines* 11 (3): 708. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030708>.
13. Eaddy, Michael, Amy Grogg, a Julie Locklear. 2005. "Assessment of Compliance with Antipsychotic Treatment and Resource Utilization in a Medicaid Population". *Clinical Therapeutics* 27 (2): 263–72. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2005.02.003>.
14. Feng, Yanru, Min Zheng, Xue Zhang, et al. 2019. "Analysis of four antidepressants in plasma and urine by gas chromatography-mass spectrometry combined with sensitive and selective derivatization". *Journal of Chromatography A* 1600 (august): 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.04.038>.
15. Fiaturi, Najla, a David J. Greenblatt. 2019. "Therapeutic Drug Monitoring of Antidepressants". *Handbook of Experimental Pharmacology* 250: 115–33. https://doi.org/10.1007/164_2018_161.
16. Fisher, Danielle S., Gerrit I. van Schalkwyk, Soraya Seedat, Sarah R. Curran, a Robert J. Flanagan. 2013. "Plasma, Oral Fluid, and Whole-Blood Distribution of Antipsychotics and Metabolites in Clinical Samples". *Therapeutic Drug Monitoring* 35 (3): 345. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318283eaf2>.
17. Gründer, G., C. Hiemke, M. Paulzen, T. Veselinovic, a I. Vernaleken. 2011. "Therapeutic Plasma Concentrations of Antidepressants and Antipsychotics: Lessons from PET Imaging". *Pharmacopsychiatry* 44 (6): 236–48. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1286282>.
18. Grundmann, Milan, Ivana Kacirova, a Romana Urinovska. 2014. "Therapeutic Drug Monitoring of Atypical Antipsychotic Drugs". *Acta Pharmaceutica (Zagreb, Croatia)* 64 (4): 387–401. <https://doi.org/10.2478/acph-2014-0036>.
19. Hansen, Morten Rix, Ida Berglund Kuhlmann, Anton Pottegård, a Per Damkier. 2017. "Therapeutic Drug Monitoring of Venlafaxine in an Everyday Clinical Setting: Analysis of Age, Sex and Dose Concentration Relationships". *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 121 (4): 298–302. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12796>.
20. Hiemke, C., N. Bergemann, H. W. Clement, et al. 2018. "Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017". *Pharmacopsychiatry* 51 (1–02): 9–62. <https://doi.org/10.1055/s-0043-116492>.
21. Kacirova, Ivana, Milan Grundmann, a Romana Urinovska. 2012. "General principles of therapeutic monitoring of psychoactive drugs". *Klinicka Farmakologie a Farmacie* 26 (január): 131–34.
22. Kertys, Martin, Michaela Krivosova, Igor Ondrejka, Igor Hrtanek, Ingrid Tonhajzerova, a Juraj Mokry. 2020. "Simultaneous Determination of Fluoxetine, Venlafaxine, Vortioxetine and Their Active Metabolites in Human Plasma by LC-MS/MS Using One-Step Sample Preparation Procedure". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 181 (march): 113098. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113098>.
23. Li, Wenkui, a Francis L. S. Tse. 2010. "Dried Blood Spot Sampling in Combination with LC-MS/MS for Quantitative Analysis of Small Molecules". *Biomedical Chromatography: BMC* 24 (1): 49–65. <https://doi.org/10.1002/bmc.1367>.
24. Marasca, Camilla, Michele Protti, Roberto Mandrioli, et al. 2020. "Whole Blood and Oral Fluid Microsampling for the Monitoring of Patients under Treatment with Antidepressant Drugs". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 188 (september): 113384. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113384>.
25. Miller, Jennifer, Heidi Wehring, Robert P. McMahon, et al. 2015. "Urine Testing for Antipsychotics: A Pilot Trial for a Method to Determine Detection Levels". *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental* 30 (5): 350–55. <https://doi.org/10.1002/hup.2482>.

26. Milone M. 2024. "Analytical Techniques Used in Therapeutic Drug Monitoring". V *Therapeutic Drug Monitoring*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18649-3.00009-4>.
27. Neumann, Jasna, Olof Beck, Norbert Dahmen, a Michael Böttcher. 2018. "Potential of Oral Fluid as a Clinical Specimen for Compliance Monitoring of Psychopharmacotherapy". *Therapeutic Drug Monitoring* 40 (2): 245. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000493>.
28. Ostad Haji, Elnaz, André Tadić, Stefanie Wagner, et al. 2011. "Association between Citalopram Serum Levels and Clinical Improvement of Patients with Major Depression". *Journal of Clinical Psychopharmacology* 31 (3): 281–86. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e318218f503>.
29. Ozdemir, Vural a Godard, Beatrice. 2025. "Crossing the Blood-Brain Barrier: Integrating Scientific Innovation With Socio-Ethical Reflection in Predictive Medicine | Psychiatric Times". *Psychiatric Times* 24 (10). <https://www.psychiatrictimes.com/view/crossing-blood-brain-barrier-integrating-scientific-innovation-socio-ethical-reflection-predictive>.
30. Pan, Yijun, a Joseph A. Nicolazzo. 2018. "Impact of Aging, Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease on the Blood-Brain Barrier Transport of Therapeutics". *Advanced Drug Delivery Reviews* 135: 62–74. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.009>.
31. Patteet, Lisbeth, Kristof E. Maudens, Christophe P. Stove, et al. 2015. "The Use of Dried Blood Spots for Quantification of 15 Antipsychotics and 7 Metabolites with Ultra-High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry". *Drug Testing and Analysis* 7 (6): 502–11. <https://doi.org/10.1002/dta.1698>.
32. Schoetsanis, Georgios, John M. Kane, Christoph U. Correll, et al. 2020. "Blood Levels to Optimize Antipsychotic Treatment in Clinical Practice: A Joint Consensus Statement of the American Society of Clinical Psychopharmacology and the Therapeutic Drug Monitoring Task Force of the Arbeitsgemeinschaft Für Neuropsychopharmakologie Und Pharmakopsychiatrie". *The Journal of Clinical Psychiatry* 81 (3): 19cs13169. <https://doi.org/10.4088/JCP.19cs13169>.
33. Tron, Camille, Sanne M. Kloosterboer, Bart C. H. van der Nagel, et al. 2017. "Dried Blood Spots Combined With Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry for the Quantification of the Antipsychotics Risperidone, Aripiprazole, Pipamperone, and Their Major Metabolites". *Therapeutic Drug Monitoring* 39 (4): 429. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000411>.
34. Tuzimski, Tomasz, a Anna Petruczynik. 2020. "Review of Chromatographic Methods Coupled with Modern Detection Techniques Applied in the Therapeutic Drugs Monitoring (TDM)". *Molecules* 25 (17): 4026. <https://doi.org/10.3390/molecules25174026>.
35. Vecchione, Gennaro, Bruno Casetta, Antonella Chiapparino, et al. 2012. "A Reliable and Rapid Tool for Plasma Quantification of 18 Psychotropic Drugs by ESI Tandem Mass Spectrometry". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 67–68: 104–13. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.04.016>.
36. Velligan, Dawn I., Francis Lam, Larry Ereshefsky, a Alexander L. Miller. 2003. "Psychopharmacology: Perspectives on Medication Adherence and Atypical Antipsychotic Medications". *Psychiatric Services (Washington, D.C.)* 54 (5): 665–67. <https://doi.org/10.1176/appi.ps.54.5.665>.
37. Waldschmitt, C., F. Vogel, B. Pfuhlmann, a C. Hiemke. 2009. "Duloxetine Serum Concentrations and Clinical Effects. Data from a Therapeutic Drug Monitoring (TDM) Survey". *Pharmacopsychiatry* 42 (5): 189–93. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1220890>.
38. Weber, Johanna, Stefanie Oberfeld, Andrea Bonse, Klaus Telger, Rainer Lingg, a Georg Hempel. 2017. "Validation of a Dried Blood Spot Method for Therapeutic Drug Monitoring of Citalopram, Mirtazapine and Risperidone and Its Active Metabolite 9-Hydroxyrisperidone Using HPLC-MS". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 140 (jún): 347–54. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.02.061>.
39. Zailani, Nur Nabihah Binte, a Paul Chi-Lui Ho. 2023. "Dried Blood Spots—A Platform for Therapeutic Drug Monitoring (TDM) and Drug/Disease Response Monitoring (DRM)". *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 48 (5): 467–94. <https://doi.org/10.1007/s13318-023-00846-4>.

Cielená liečba *asthma bronchiale*: prechod od *stepwise* prístupu k personalizovanej terapii

Miloš Marcincák, Karin Kačková, Eduard Gondáš

Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

E-mail: marcincak2@uniba.sk

Asthma bronchiale (AB) patrí medzi najrozšírenejšie chronické ochorenia dýchacích ciest, pričom jeho prevalencia neustále rastie (Odler a Müller 2016). AB je charakterizovaná zápalom dýchacích ciest, bronchiálnou hyperreaktivitou a epizodickými prejavmi obštrukcie. Napriek tomu, že ide o relatívne dobre popísanú klinickú jednotku, patofyziológia AB je extrémne variabilná (Mims 2015). V súčasnosti nie je vnímaná ako jednotné ochorenie, ale ako súbor fenotypov a endotypov, ktoré si vyžadujú rozdielne terapeutické stratégie. Táto skutočnosť zásadným spôsobom ovplyvnila aj smerovanie vývoja terapie v posledných rokoch (Kuvilla et al. 2019).

Global Initiative for Asthma 2025 (GINA) v dokumente *Global Strategy for Asthma Management and Prevention* z roku 2025 predstavila jednu z najvýznamnejších revízií odporúčaní za posledné desaťročia. Hlavným cieľom aktualizácie je dôraz na bezpečnosť a efektivitu liečby, minimalizáciu rizika exacerbácií a podpora individualizovaného prístupu k pacientovi. Staršie terapeutické koncepty, napr. používanie krátkodobo pôsobiacich β_2 -agonistov (SABA) ako uvoľňovačov v monoterapii, sú dnes označované za zastarané a potenciálne nebezpečné. Zároveň dochádza k výraznému rozšíreniu možností biologickej liečby, vďaka ktorých mechanizmom účinku je možné cielene modulovať a eliminovať zápalové dráhy zodpovedné za klinickú deterioráciu. Popri biologikách narastá aj význam malých molekúl a nových kombinovaných inhalačných režimov, ktoré poskytujú flexibilitu a možnosť prispôbenia farmakoterapie konkrétnemu pacientovi.

Personalizovaná liečba a fenotypizácia

V modernej praxi sa AB už nepovažuje za jednotné ochorenie, ale za heterogénny súbor stavov, ktoré sa líšia klinickými prejavmi, mechanizmami zápalu a odpoveďou na medikáciu (Kaur a Chupp 2019). Preto sa pri rozhodovaní o terapii neopierame len o univerzálne terapeutické schémy a protokoly, ale zameriavame sa na vysoko individualizovaný prístup, ktorý vychádza z hodnotenia fenotypov (klinicky pozorovateľné charakteristiky ochorenia) a endotypov (patofyziologické mechanizmy ochorenia), čo uľahčuje zvoliť vhodný terapeutický postup (Cazzola et al. 2021; Zedan et al. 2013; Lötvall et al. 2011), napr. pacient s eozinofilnou AB reaguje veľmi dobre na biologickú liečbu cielenú proti interleukínu 5 (IL-5) (mepolizumab, benralizumab), zatiaľ čo pre pacienta s non-T2 AB nie sú inhibítory IL-5 tak efektívne, a preto vyžaduje odlišný terapeutický prístup (Alfaro et al. 2025; Dragonieri a Carpagnano 2021).

Úloha biomarkerov T2 zápalu

Biomarkery sú kľúčovým nástrojom pri identifikácii pacientov vhodných pre moderné, cielene zamerané terapeutické postupy. V manažmente AB podľa GINA 2025 tieto ukazovatele neplnia už iba doplnkovú diagnostickú funkciu, ale tvoria integrálnu súčasť klinického rozhodovania.

- **FeNO (*Fractional exhaled NO*)** – neinvazívny marker eozinofilného zápalu, ktorého zvýšené hodnoty indikujú aktivitu T2 zápalu a predpovedajú dobrú odpoveď na ICS (inhalačné kortikosteroidy) a inhibítory IL-4/IL-13 (Pianigiani et al. 2023).
- **Eozinofily v krvi** – významný biomarker pri indikácii anti-IL-5 biológik (Lavere et al. 2025).
- **IgE (imunoglobulín E) a alergická senzibilizácia** – rozhodujú o vhodnosti anti-IgE liečby (omalizumab) a napomáhajú cielenému výberu terapie u alergického fenotypu AB.

Správne hodnotenie týchto biomarkerov umožňuje lekárovi presne identifikovať T2-endotypy zápalu a cielene nasadiť personalizovanú terapiu, čo zvyšuje jej účinnosť a znižuje riziko exacerbácií (Chen et al. 2024).

Fenotypizácia AB v klinickej praxi

Fenotypy slúžia ako klasifikácia AB podľa klinických a biologických charakteristík, čo uľahčuje prispôbiť farmakoterapiu individuálnym potrebám pacienta (Grunwell a Fitzpatrick 2025). Medzi najdôležitejšie fenotypy patria:

- **Alergická AB** – typicky s nástupom v detstve, spojená s pozitívnou alergickou anamnézou a IgE senzibilizáciou (Bakakos 2022).
- **Eozinofilná AB** – charakterizovaná zvýšeným počtom eozinofilov v krvi alebo dýchacích cestách, dobre reaguje na biologickú liečbu zameranú proti IL-5 alebo IL-4/IL-13 (Bakakos 2022).
- **AB s komorbiditami** – napr. chronická rinosinuitída s nosovými polypmi (CRSwNP), ktorá môže zmeniť klinický priebeh a vyžadovať cielenejšiu terapiu (Novelli et al. 2018).
- **Non-T2 AB** – menej typický zápalový profil, často neutrofilný, so zvýšenou odolnosťou voči kortikosteroidom (CS) (Espuela-Ortiz et al. 2023).
- **AB asociovaná s obezitou** – astmatici s obezitou môžu mať horšiu kontrolu symptómov, no zápal nemusí byť typicky eozinofilný (Björkander et al. 2023).
- **Hormonálne modulovaná AB** – prejavy sú viazané na hormonálne cykly alebo graviditu (Mokra et al. 2023).

Presná identifikácia fenotypu uľahčuje cielenú farmakoterapiu, optimalizuje odpoveď na terapeutický postup a minimalizuje riziko exacerbácií, a preto je fenotypizácia základom moderného manažmentu AB, ako aj predpokladom pre úspešnú personalizovanú liečbu (García-Rivero a García-Moguel 2024).

ICS ako základ liečebných režimov

Jedným z najvýznamnejších posunov v manažmente AB je zásadné prehodnotenie užívania SABA (Kuprys-Lipinska et al. 2020). GINA označuje používanie SABA ako úľavového liečiva v monoterapii za zastarané, neefektívne a potenciálne rizikové. Dlhodobo prevládal model, v ktorom pacienti s miernou AB užívali SABA podľa potreby, bez antiflogistickej medikácie. Keďže SABA pôsobia iba bronchodilatačne a neovplyvňujú zápal, tak dochádza k paradoxu, keď pacient pociťuje úľavu, ale zápalová aktivita pokračuje a zvyšuje náchylnosť k destabilizácii AB (Canonica et al. 2021). Výsledky niekoľkých štúdií ukázali trend, že SABA-monoterapia je spojená so zvýšeným rizikom exacerbácií, vyšším výskytom akútnych zhoršení vyžadujúcich urgentnú starostlivosť, rýchlejšou progresiou zápalu a so zvýšenou mortalitou (Sriprasart et al. 2023; Reddel et al. 2022).

GINA preto označuje ICS za fundamentálny základ terapie AB, ktoré cielene a efektívne potláčajú zápal v dýchacích cestách — stabilizujú epitel, znižujú eozinofilný infiltrát, tlmia pro-

dukciu zápalových cytokínov a redukovujú bronchiálnu hyperreaktivitu. Vďaka tomu dokážu modifikovať prirodzený priebeh AB, a nielen zmierniť symptómy (Williams 2001). V súlade s odporúčaniami GINA z roku 2025 by mal pacient dostať dávku ICS už pri najmiernejších formách ochorenia, dokonca aj pri ojedinelom výskyte príznakov. Tento terapeutický koncept vychádza z faktu, že AB je chronické zápalové ochorenie aj v období zdanlivého klinického pokoja a včasná supresia zápalu je esenciálna pre prevenciu remodelácie dýchacích ciest a na zníženie dlhodobého rizika exacerbácií (Tiotiu et al. 2025). Na základe toho možno konštatovať, že ICS zásadne ovplyvňujú prognózu pacienta a nie sú len liečivami udržiavacej terapie (Kurashima et al. 2008).

Významným terapeutickým míľnikom je zavedenie kombinácie ICS–formoterol ako preferovaného režimu pre úľavovú aj udržiavaciu terapiu (Rayner et al. 2025). V klinickej praxi ide najmä o kombinácie formoterolu s ICS budesonidom alebo beklometazónom. Formoterol má rýchly nástup účinku (porovnateľný so SABA) a v kombinácii s ICS každá úľavová dávka okamžite dilatuje bronchy a zároveň pôsobí protizápalovo (Jonkers et al. 2006). Vďaka tomu kombinácia ICS–formoterol znižuje riziko, že symptómy prerastú do závažného zhoršenia (Beasley et al. 2022). Tento prístup predstavuje významný pokrok v manažmente AB, zvyšuje bezpečnosť liečby pre pacientov, zlepšuje dlhodobé výsledky a zodpovedá súčasnému chápaniu AB ako chronického zápalového ochorenia.

Biologická liečba – revolúcia v terapii ťažkej AB

Biologické lieky predstavujú prelom v prístupe k ťažkej AB tým, že umožňuje cielejší zásah do zápalových mechanizmov podľa konkrétnych fenotypov a endotypov. Terapia ťažkej AB tak nie je založená len na navyšovaní dávok inhalačných liečiv, ale na cielenej modulácii konkrétnych patofyziologických dráh zodpovedných za klinické zhoršenia (Korn et al. 2023).

Medzi najpoužívanjšie patrí anti-IgE látka (omalizumab), určená pre pacientov s alergickou AB. U pacientov s eozinofilnou AB sú dostupné anti-IL-5 lieky (mepolizumab, reslizumab) a anti-IL-5R liek (benralizumab, protilátka proti receptoru pre interleukín-5 – IL-5R), ktoré výrazne znižujú počet exacerbácií a zlepšujú dlhodobú kontrolu ochorenia. Pacienti so súčasnou T2 AB a dermatitídou alebo CRSwNP profitujú z podania anti-IL-4R α lieku (dupilumab, protilátka proti α -podjednotke receptora pre IL-4), ktorý blokuje signálne dráhy IL-4 a IL-13. Novšou generáciou sú anti-TSLP lieky (tezepelumab), ktoré účinkujú aj u astmatikov s nižšími hodnotami T2 biomarkerov, čím rozširujú okruh indikovaných na biologickú liečbu (Gyawali et al. 2025). Prehľad biologických liekov, ich mechanizmov účinku a indikácie podľa typu AB je uvedený v tabuľke 1.

Tab. 1: Prehľad biologických liekov pri ťažkej AB podľa mechanizmu účinku a typu AB.

LÁTKA	MECHANIZMUS ÚČINKU	TYP AB
omalizumab	anti-IgE protilátka – viaže voľný IgE a bráni jeho naviazaniu na Fc ϵ RI receptory mastocytov a bazofilov	alergická AB
mepolizumab	anti-IL-5 protilátka – blokuje IL-5	eozinofilná AB
reslizumab	anti-IL-5 protilátka – blokuje IL-5	eozinofilná AB
benralizumab	anti-IL-5R protilátka – viaže sa na IL-5 receptor na eozinofilo	eozinofilná AB
dupilumab	anti-IL-4R α protilátka – blokuje α -podjednotku receptora pre IL-4, čím inhibuje signálne dráhy IL-4 a IL-13	T2 AB s dermatitídou alebo CRSwNP
tezepelumab	anti-TSLP protilátka – blokuje thymic stromal lymphopoietin (TSLP)	ťažká AB s nižšími hodnotami T2 biomarkerov

Správne nasadenie biologickej liečby umožňuje redukovať počet exacerbácií a zlepšiť kvalitu života pacientov s ťažkou AB, pričom minimalizuje potrebu systémových CS a riziko komplikácií (Kimura et al. 2021; Kyriakopoulos et al. 2024; Kayser et al. 2024).

Nové perspektívne ciele v terapii AB

Najnovšie klinické štúdie sa zameriavajú na intracelulárne signalizačné dráhy, ktoré regulujú zápal v dýchacích cestách. JAK-STAT (*Janus kinase – signal transducer and activator of transcription*) dráha sprostredkúva aktiváciu viacerých cytokínov, ktoré sú kľúčové v patogeneze AB. JAK inhibítory môžu efektívne zasiahnuť všetky tieto dráhy naraz, čo je vhodné najmä pri heterogénnych fenotypoch AB, pričom nejde o biologickú liečbu. Štúdie ukazujú, že JAK inhibítory znižujú zápal a hyperreaktivitu dýchacích ciest a môžu zlepšiť účinok CS u kortikorezistentných pacientov (Georas et al. 2021). Lomolimocitinib (AZD4604) je inhalačne podávaný selektívny inhibítor JAK-1 navrhnutý tak, aby potlačil T2 aj non-T2 zápalové dráhy, ktoré často nereagujú na ICS. Dostupné štúdie ukazujú, že podávanie lomolimocitinibu viedlo k výraznému zníženiu exspirovaného FeNO u pacientov s miernou AB (Dosanjh et al. 2025). Štúdie však boli vykonané na malej vzorke pacientov a počas krátkeho časového obdobia, čo zdôrazňuje potrebu ďalšieho výskumu na potvrdenie účinnosti a bezpečnosti látky.

Ďalším možným cieľom je RhoA–ROCK (*Ras homolog family member A – Rho-associated protein kinase*) dráha, ktorá reguluje kontrakciu hladkej svaloviny dýchacích ciest, zápal a remodeláciu epitelu. ROCK inhibítory znižujú bronchokonstrikciu, mediátory zápalu a remodelačné procesy, čo naznačuje ich potenciál súčasne ovplyvniť viaceré patomechanizmy AB (Gondáš et al. 2024).

Je možné konštatovať, že aktuálne trendy vo farmakoterapii AB smerujú k liečivám typu malých molekúl, ako JAK a ROCK inhibítory, ktoré dokážu komplexne modulovať zápal, bronchokonstrikciu a remodeláciu dýchacích ciest. Inhalačné podanie týchto látok umožňuje dosiahnuť efektívny lokálny účinok pri súčasnom minimalizovaní systémových nežiaducich účinkov.

Farmakoterapia AB v pediatrickej populácii

V liečbe AB v detskom veku sa kladie dôraz na individualizovaný prístup podľa vekových skupín. U detí vo veku 6–11 rokov je podstatná správna technika inhalácie (Gillette et al. no date), pričom ICS zostávajú pilierom liečby. Pri akútnom zhoršení kontroly ochorenia je možné využiť režim ICS–formoterol umožňujúci rýchlu úľavu pri zachovaní protizápalového účinku (Aziz a Viqar 2025). U detí mladších ako 5 rokov je rozhodujúce klinické hodnotenie symptómov, nakoľko objektívne merania funkcie pľúc sú často limitované. V tejto vekovej kategórii sa odporúča terapeutický test krátkodobého podania ICS, ktorý pomáha overiť vhodnosť a účinnosť protizápalovej liečby a určiť ďalší optimálny terapeutický plán (*Global Initiative for Asthma* 2025).

Záver

Manažment AB prechádza zásadnou transformáciou, ktorú určujú poznatky o heterogénite ochorenia, jeho fenotypoch a endotypoch, ako aj dostupnosť moderných terapeutických možností. GINA 2025 jednoznačne upúšťa od tradičného krokového (*stepwise*) modelu a presadzuje prístup založený na individualizácii liečby, kde hlavnú úlohu zohrávajú biomarkery T2 zápalu, správna identifikácia fenotypu a racionálne využitie ICS v každom štádiu ochorenia. Zásadný posun predstavuje aj preferencia režimu ICS–formoterol ako úľavovej a udržiavacej

terapie (MART – *Maintenance and Reliever Therapy*), ktorá znižuje riziko exacerbácií a reflekтуje chronickú zápalovú povahu ochorenia.

Biologická liečba ďalej rozširuje spektrum možností, najmä u pacientov s ťažkou AB nereagujúcou na štandardnú terapiu. Cielená modulácia zápalových dráh podľa fenotypu prináša výrazné zlepšenie kontroly ochorenia, redukciu exacerbácií a pomáha minimalizovať užívanie systémových CS. Personalizovaný prístup má význam aj v pediatrickej populácii, kde je potrebné zohľadniť vekové špecifiká a limitácie funkčných vyšetrení.

Súčasná odporúčania preto zdôrazňujú, že optimálna liečba AB spočíva v presnej diagnostike, cielene zvolených farmakologických intervenciách a dlhodobej kontrole zápalu. Takto koncipovaný manažment vedie k lepším klinickým výsledkom, vyššej bezpečnosti a zásadnému zlepšeniu kvality života astmatikov.

Táto práca vznikla za podpory projektov VEGA 1/0042/24, VEGA 1/0060/25, APVV-19-0033 a APVV-23-0261.

Zoznam použitej literatúry

1. ALFARO, Anaiza Odalis Villalobos, Haydee Carolina Gutiérrez VARGAS, Juan Manuel DÍAZ, Jonathan Alvarez PINTO, Diana Cristina García CAMBERO, Eduardo Hernandez CUELLAR, Julio Augusto Palma ZAPATA, Alondra Esthefania Llamas DOMÍNGUEZ, Juliana Palma ZAPATA a Silvia Denise PONCE-CAMPOS, 2025. Anti-IL-5 and anti-IL-5 receptor therapy significantly improves quality of life and FEV1 values in patients with severe asthma. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology* [online]. 2025, roč. 21, č. 1. ISSN 17101492. Dostupné na: doi:10.1186/s13223-025-00979-y
2. AZIZ, Danish Abdul a Werdah VIQUAR, 2025. Role of inhaled corticosteroids/formoterol in relieving acute asthma as compared to traditional salbutamol in children 6 to 11 years old on maintenance and reliever therapy step 3 and above as per the Global Initiative for Asthma guideline. *Monaldi Archives for Chest Disease* [online]. 2025. ISSN 1122-0643. Dostupné na: doi:10.4081/monaldi.2025.3355
3. BAKAKOS, Petros, 2022. Asthma: From Phenotypes to Personalized Medicine [online]. 1. november 2022. B.m.: MDPI. Dostupné na: doi:10.3390/jpm12111853
4. BEASLEY, Richard, Tim HARRISON, Stefan PETERSON, Per GUSTAFSON, Angus HAMBLIN, Thomas BENTGSSON a Malin FAGERÅS, 2022. Evaluation of Budesonide-Formoterol for Maintenance and Reliever Therapy Among Patients With Poorly Controlled Asthma A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open* [online]. 2022, roč. 5, č. 3. ISSN 25743805. Dostupné na: doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.0615
5. BJÖRKANDER, Sophia, Susanna KLEVEBRO, Natalia HERNANDEZ-PACHECO, Maura KERE, Sandra EKSTRÖM, Maria SPARREMAN MIKUS, Marianne VAN HAGE, Anna JAMES, Inger KULL, Anna BERGSTRÖM, Jenny MJÖSBERG, Christopher Andrew TIBBITT a Erik MELÉN, 2023. Obese asthma phenotypes display distinct plasma biomarker profiles. *Clinical and Translational Allergy* [online]. 2023, roč. 13, č. 3. ISSN 20457022. Dostupné na: doi:10.1002/ct2.12238
6. CANONICA, Giorgio Walter, Pierluigi PAGGIARO, Francesco BLASI, Antonino MUSARRA, Luca RICHELDI, Andrea ROSSI a Alberto PAPI, 2021. Manifesto on the overuse of SABA in the management of asthma: new approaches and new strategies. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease* [online]. 2021, roč. 15 [cit. 25.11.2025]. ISSN 17534666. Dostupné na: doi:10.1177/17534666211042534
7. CAZZOLA, Mario, Josuel ORA, Francesco CAVALLI, Paola ROGLIANI a Maria Gabriella MATERA, 2021. Treatable Mechanisms in Asthma. *Molecular Diagnosis and Therapy* [online]. 2021, roč. 25, č. 2, s. 111–121. ISSN 11792000. Dostupné na: doi:10.1007/s40291-021-00514-w
8. DOSANJH, Davinder Paul Singh, Erika DARRAH, Tina Jellesmark JENSEN, Zala JEVNIKAR, Alese HALVORSON, Mathias CARDNER, Rod HUGHES, Sarah S. GRANT, Adam PLATT a Chris E. BRIGHTLING, 2025. ARTEMISIA: a mechanistic study of a novel Janus kinase 1 inhibitor to advance molecular understanding and precision medicine in asthma. *Respiratory Research* [online]. 2025, roč. 26, č. 1. ISSN 1465993X. Dostupné na: doi:10.1186/s12931-025-03309-3
9. DRAGONIERI, Silvano a Giovanna Elisiana CARPAGNANO, 2021. Biological therapy for severe asthma. *Asthma Research and Practice* [online]. 2021, roč. 7, č. 1. Dostupné na: doi:10.1186/s40733-021-00078-w

10. ESPUELA-ORTIZ, Antonio, Elena MARTIN-GONZALEZ, Paloma POZA-GUEDES, Ruperto GONZÁLEZ-PÉREZ a Esther HERRERA-LUIS, 2023. Genomics of Treatable Traits in Asthma [online]. 1. september 2023. B.m.: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). Dostupné na: doi:10.3390/genes14091824
11. GARCÍA-RIVERO, Juan Luis a Ismael GARCÍA-MOGUEL, 2024. Personalized Medicine in Severe Asthma: Bridging the Gaps [online]. 1. október 2024. B.m.: Elsevier Espana S.L.U. Dostupné na: doi:10.1016/j.opresp.2024.100368
12. GEORAS, Steve N., Patrick DONOHUE, Margaret CONNOLLY a Michael E. WECHSLER, 2021. JAK inhibitors for asthma [online]. 1. október 2021. B.m.: Elsevier Inc. Dostupné na: doi:10.1016/j.jaci.2021.08.013
13. GILLETTE, Chris, Nicole ROCKICH-WINSTON, Jobeth A KUHN, Susan FLESHER a Meagan SHEPHERD, no date. SYSTEMATIC REVIEW Inhaler Technique in Children With Asthma: A Systematic Review [online]. Dostupné na: <http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>
14. GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA, 2025. Global Strategy for Asthma Management and Prevention [online]. [cit. 24.11.2025]. Dostupné na: <https://ginasthma.org/2025-gina-strategy-report/>
15. GONDÁŠ, Eduard, Jozef MAŽERIK, Matúš DOHÁL, Soňa BÁLENTOVÁ, Michal POKUSA, Daniela VARGOVÁ, Lukáš SMIEŠKO, Martina ŠUTOVSKÁ, Marta JOŠKOVÁ a Soňa FRAŇOVÁ, 2024. Anti-asthmatic effect of ROCK inhibitor, GSK429286 A, in experimentally induced allergic airway inflammation. International Journal of Immunopathology and Pharmacology [online]. 2024, roč. 38. ISSN 20587384. Dostupné na: doi:10.1177/03946320241282949
16. GRUNWELL, Jocelyn R, a Anne, M. FITZPATRICK, 2025. Asthma Phenotypes and Biomarkers. Respiratory care. 2025, roč. 70,6, s. 649–674.
17. GYAWALI, Bishal, Steve N. GEORAS a Sandhya KHURANA, 2025. Biologics in severe asthma: a state-of-the-art review [online]. 1. január 2025. B.m.: European Respiratory Society. Dostupné na: doi:10.1183/16000617.0088-2024
18. CHEN, Chun Yu, Kang Hsi WU, Bei Cyuan GUO, Wen Ya LIN, Yu Jun CHANG, Chih Wei WEI, Mao Jen LIN a Han Ping WU, 2024. Personalized Medicine in Severe Asthma: From Biomarkers to Biologics [online]. 1. január 2024. B.m.: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). Dostupné na: doi:10.3390/ijms25010182
19. JONKERS, René E., Theo A. BANTJE a René AALBERS, 2006. Onset of relief of dyspnoea with budesonide/formoterol or salbutamol following methacholine-induced severe bronchoconstriction in adults with asthma: A double-blind, placebo-controlled study. Respiratory Research [online]. 2006, roč. 7. ISSN 14659921. Dostupné na: doi:10.1186/1465-9921-7-141
20. KAUR, Ravdeep a Geoffrey CHUPP, 2019. Phenotypes and endotypes of adult asthma: Moving toward precision medicine. Journal of Allergy and Clinical Immunology [online]. 2019, roč. 144, č. 1, s. 1–12 [cit. 24.11.2025]. ISSN 0091-6749. Dostupné na: doi:10.1016/J.JACI.2019.05.031
21. KAYSER, Moritz Z., Hendrik SUHLING, Jan FUGE, Christopher A. HINZE, Nora DRICK, Nikolaus KNEIDINGER, Jürgen BEHR, Christian TAUBE, Tobias WELTE, Ina HAASLER a Katrin MILGER, 2024. Long-term multicenter comparison shows equivalent efficacy of monoclonal antibodies in severe asthma therapy. BMC Pulmonary Medicine [online]. 2024, roč. 24, č. 1. ISSN 14712466. Dostupné na: doi:10.1186/s12890-024-02964-4
22. KIMURA, Yuya, Maho SUZUKAWA, Norihiko INOUE, Shinobu IMAI, Manabu AKAZAWA a Hirotohi MATSUI, 2021. Real-world benefits of biologics for asthma: Exacerbation events and systemic corticosteroid use. World Allergy Organization Journal [online]. 2021, roč. 14, č. 11. ISSN 19394551. Dostupné na: doi:10.1016/j.waojou.2021.100600
23. KORN, Stephanie, Bill COOK, Lisa J. SIMPSON, Jean Pierre LLANOS a Christopher S. AMBROSE, 2023. Efficacy of Biologics in Severe, Uncontrolled Asthma Stratified by Blood Eosinophil Count: A Systematic Review [online]. 1. júl 2023. B.m.: Adis. Dostupné na: doi:10.1007/s12325-023-02514-0
24. KUPRYS-LIPINSKA, Izabela, Marta KOLACINSKA-FLONT a Piotr KUNA, 2020. New approach to intermittent and mild asthma therapy: Evolution or revolution in the GINA guidelines? [online]. 3. jún 2020. B.m.: BioMed Central. Dostupné na: doi:10.1186/s13601-020-00316-z
25. KURASHIMA, Kazuyoshi, Tetsu KANAUCHI, Toshiko HOSHI, Yotaro TAKAKU, Takashi ISHIGURO, Noboru TAKAYANAGI, Mikio UBUKATA a Yutaka SUGITA, 2008. Effect of early versus late intervention with inhaled corticosteroids on airway wall thickness in patients with asthma. Respiriology [online]. 2008, roč. 13, č. 7, s. 1008–1013. ISSN 13237799. Dostupné na: doi:10.1111/j.1440-1843.2008.01384.x
26. KURUVILLA, Merin E., F. Eun Hyung LEE a Gerald B. LEE, 2019. Understanding Asthma Phenotypes, Endotypes, and Mechanisms of Disease [online]. 15. apríl 2019. B.m.: Humana Press Inc. Dostupné na: doi:10.1007/s12016-018-8712-1
27. KYRIAKOPOULOS, Christos, Athena GOGALI, Georgios MARKOZANNES a Konstantinos KOSTIKAS, 2024. Biologic agents licensed for severe asthma: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled

- trials [online]. 30. apríl 2024. B.m.: European Respiratory Society. Dostupné na: doi:10.1183/16000617.0238-2023
28. LAVERE, Philip F., Kaitlin M. PHILLIPS, Nicola A. HANANIA a Muhammad ADRISH, 2025. Established and Emerging Asthma Biomarkers with a Focus on Biologic Trials: A Narrative Review [online]. 1. august 2025. B.m.: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). Dostupné na: doi:10.3390/jpm15080370
29. LÖTVALL, Jan, Cezmi A. AKDIS, Leonard B. BACHARIER, Leif BJERMER, Thomas B. CASALE, Adnan CUSTOVIC, Robert F. LEMANSKE, Andrew J. WARDLAW, Sally E. WENZEL a Paul A. GREENBERGER, 2011. Asthma endotypes: A new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2011, roč. 127, č. 2, s. 355–360. ISSN 00916749. Dostupné na: doi:10.1016/j.jaci.2010.11.037
30. MIMS, James W., 2015. Asthma: Definitions and pathophysiology. *International Forum of Allergy and Rhinology* [online]. 2015, roč. 5, s. S2–S6. ISSN 20426984. Dostupné na: doi:10.1002/alr.21609
31. MOKRA, Daniela, Romana BAROSOVA a Juraj MOKRY, 2023. Sex-Based Differences in Bronchial Asthma: What Are the Mechanisms behind Them? [online]. 1. február 2023. B.m.: MDPI. Dostupné na: doi:10.3390/app13042694
32. NOVELLI, Federica, Elena BACCI, Manuela LATORRE, Veronica SECCIA, Maria Laura BARTOLI, Silvana CIANCHETTI, Federico Lorenzo DENTE, Antonella Di FRANCO, Alessandro CELI a Pierluigi PAGGIARO, 2018. Comorbidities are associated with different features of severe asthma. *Clinical and Molecular Allergy* [online]. 2018, roč. 16, č. 1. ISSN 14767961. Dostupné na: doi:10.1186/s12948-018-0103-x
33. ODLER, Balázs a Veronika MÜLLER, 2016. Asthma-COPD overlap szindróma [online]. 1. august 2016. B.m.: Akademiai Kiado Rt. Dostupné na: doi:10.1556/650.2016.30520
34. PIANIGIANI, Tommaso, Lorenzo ALDERIGHI, Martina MEOCCI, Maddalena MESSINA, Beatrice PEREA, Simona LUZZI, Laura BERGANTINI, Miriana D'ALESSANDRO, Rosa Metella REFINI, Elena BARGAGLI a Paolo CAMELI, 2023. Exploring the Interaction between Fractional Exhaled Nitric Oxide and Biologic Treatment in Severe Asthma: A Systematic Review [online]. 1. február 2023. B.m.: MDPI. Dostupné na: doi:10.3390/antiox12020400
35. RAYNER, Daniel G., Dario M. FERRI, Gordon H. GUYATT, Paul M. O'BYRNE, Romina BRIGNARDELLO-PETERSEN, Farid FOROUTAN, Bradley CHIPPS, Kaharu SUMINO, Tamara T. PERRY, Sharmilee NYENHUIS, John OPPENHEIMER, Elliot ISRAEL, Flavia HOYTE, Katherine RIVERA-SPOLJARIC, Ellen MCCABE, Susana RANGEL, Lindsay E. SHADE, Valerie G. PRESS, Lisa HALL, Dia SUE-WAH-SING, Angel MELENDEZ, Hilary ORR, Tonya WINDERS, Donna D. GARDNER, Kathryn PRZYWARA, Matthew A. RANK, Leonard B. BACHARIER, Giselle MOSNAIM a Derek K. CHU, 2025. Inhaled Reliever Therapies for Asthma. *JAMA* [online]. 2025, roč. 333, č. 2, s. 143–152. ISSN 15383598. Dostupné na: doi:10.1001/jama.2024.22700
36. REDDEL, Helen K., Leonard B. BACHARIER, Eric D. BATEMAN, Christopher E. BRIGHTLING, Guy G. BRUSSELLE, Roland BUHL, Alvaro A. CRUZ, Liesbeth DUIJTS, Jeffrey M. DRAZEN, J. Mark FITZGERALD, Louise J. FLEMING, Hiromasa INOUE, Fanny W. KO, Jerry A. KRISHNAN, Mark L. LEVY, Jiangtao LIN, Kevin MORTIMER, Paulo M. PITREZ, Aziz SHEIKH, Arzu A. YORGANCIOGLU a Louis Philippe BOULET, 2022. Global Initiative for Asthma Strategy 2021: executive summary and rationale for key changes. *European Respiratory Journal* [online]. 2022, roč. 59, č. 1. ISSN 13993003. Dostupné na: doi:10.1183/13993003.02730-2021
37. SRIPRASART, Thitiwat, Grant WATERER, Gabriel GARCIA, Adalberto RUBIN, Marco Antonio Loustaunau ANDRADE, Agnieszka ROGUSKA, Abhay PHANSALKAR, Sourabh FULMALI, Amber MARTIN, Lalith MITTAL, Bhumika AGGARWAL a Gur LEVY, 2023. Safety of SABA Monotherapy in Asthma Management: a Systematic Review and Meta-analysis [online]. 1. január 2023. B.m.: Adis. Dostupné na: doi:10.1007/s12325-022-02356-2
38. TIOTIU, Angelica, Paschalis STEIROPOULOS, Silviya NOVAKOVA, Denislava NEDEVA, Plamena NOVAKOVA, Herberto CHONG-NETO, Guillermo Guidos FOGELBACH a Krzysztof KOWAL, 2025. Airway Remodeling in Asthma: Mechanisms, Diagnosis, Treatment, and Future Directions [online]. 1. január 2025. B.m.: Sociedad Espanola de Neumologia y Cirugia Toracica (SEPAR). Dostupné na: doi:10.1016/j.arbres.2024.09.007
39. WILLIAMS, D. M., 2001. Clinical considerations in the use of inhaled corticosteroids for asthma. V: *Pharmacotherapy* [online]. B.m.: Pharmacotherapy Publications Inc. Dostupné na: doi:10.1592/phco.21.4.38s.34260
40. ZEDAN, M., G. ATTIA, M. M. ZEDAN, A. OSMAN, N. ABO-ELKHEIR, N. MAYSARA, T. BARAKAT a N. GAMIL, 2013. Clinical Asthma Phenotypes and Therapeutic Responses. *ISRN Pediatrics* [online]. 2013, roč. 2013, s. 1–7. Dostupné na: doi:10.1155/2013/824781

„Double trouble“ – tuberkulóza u tehotných žien a ich boj o dva životy

Simona Mäsiarová¹, Matúš Dohál², Juraj Mokrá¹

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin,

²Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

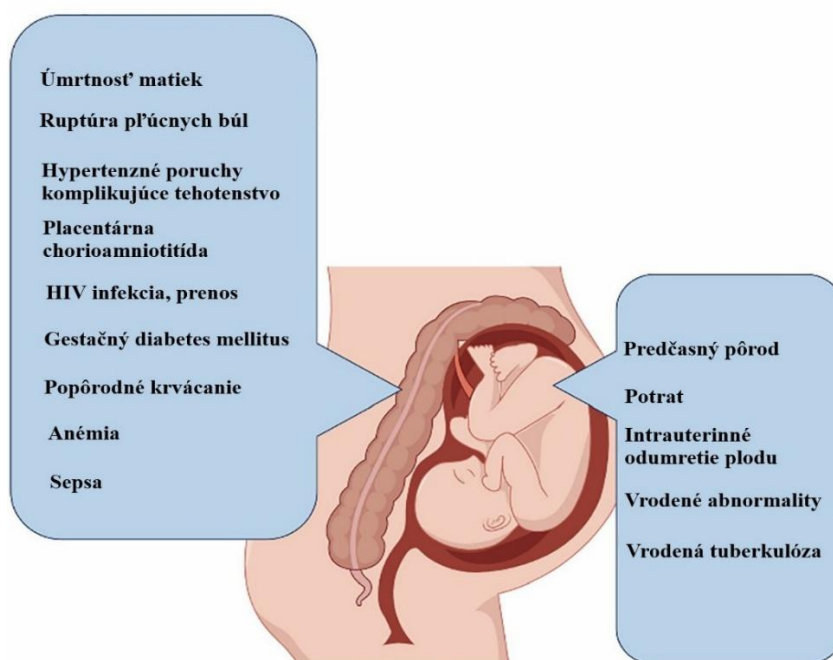
E-mail: masiarova18@uniba.sk

Úvod

Tuberkulóza (TBC) patrí celosvetovo medzi najzávažnejšie infekčné ochorenia. Predstavuje hlavnú príčinu úmrtí spôsobených infekčným agensom a v roku 2024 bola zároveň najčastejšou príčinou úmrtí spojených s antimikrobiálnou rezistenciou. Podľa svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) bolo v roku 2024 odhadovaných 10,7 milióna ľudí s TBC, pričom významnú časť z nich tvorili zraniteľné skupiny populácie (*Global Tuberculosis Report, 2025*). Do tejto skupiny patrí približne 533 000 detí do 5 rokov a 655 000 starších detí a adolescentov vo veku 5-14 rokov. Z epidemiologického hľadiska však TBC predstavuje výraznú záťaž aj pre ženy v reprodukčnom veku. V roku 2024 bolo ochorením postihnutých 2,15 milióna žien vo veku 15-45 rokov, pričom 239 300 tehotných žien a 97 600 žien v období po pôrode tvorilo osobitne rizikovú skupinu (*Global Tuberculosis Report, 2025*).

Tuberkulóza v tehotenstve a jej liečba

Tehotenstvo, pôrod a popôrodné obdobie prinášajú ženám špecifické riziká, ktoré môžu viesť k rôznym klinickým komplikáciám. Diagnostika počas tehotenstva býva náročná, nakoľko príznaky sa môžu pripisovať práve tomuto obdobiu. Dochádza k dočasnému maskovaniu úbytku hmotnosti, čo je typický symptóm spojený s TBC. U pacientiek sa zvyšuje riziko spontánneho potratu, predčasného pôrodu a v prípade novorodencov riziko úmrtia (obr. 1) (Loto & Awowole, 2012).



Obr. 1: Komplikácie TBC u tehotných žien (upravené podľa Su et al., 2025).

V prípade zriedkavej, vrodenej TBC je stav pacientky spojený s vysokou perinatálnou úmrtnosťou (Loto & Awowole, 2012). Ide o infikovanie plodu od matky počas vnútromaternicového vývoja alebo počas pôrodu. K nákaze dochádza pri infikovaní placenty alebo mater-ského genitálneho traktu, odkiaľ sa *Mycobacterium (M.) tuberculosis* šíri z placenty do pupočnej žily, aspiráciou alebo požitím kontaminovanej plodovej vody. Pri hematogénnom šírení vzniká jeden alebo viacero primárnych komplexov v pľúcach alebo v pečeni. U plodu, ktorý aspiroval alebo požil kontaminovanú plodovú vodu, vznikajú primárne komplexy v pľúcach alebo v gastrointestinálnom trakte (Li et al., 2019). V štúdiu Li a kol. sledovali stav narodených detí u pacientiek s TBC, ako aj priebeh ochorenia žien počas liečby. Ukázalo sa, že z 92 detí väčšina malo pľúcnu TBC ($n = 89$; 96,74 %). Z celkového počtu zomrelo 40 detí (43,48 %). Najčastejšími príčinami úmrtia boli respiračné zlyhanie – 26 detí (65 %), syndróm multiorgánovej dysfunkcie – 3 deti (7,5 %), intrakraniálne krvácanie – 1 dieťa (2,5 %) a úmrtie z neznámej príčiny, ktoré bolo zaznamenané u 10 prípadov (25 %). V tej istej štúdiu dostalo 65 tehotných pacientiek liečbu antituberkulotikami. Z nich bolo 8 vyliečených (12 %), u 39 (60 %) došlo k zlepšeniu stavu a 16 (25 %) z celkovej skupiny zomrelo. Aj tieto výsledky zdôrazňujú, aké dôležité je včasné odhalenie ochorenia a správne zvolená liečba pacientov (Li et al., 2019).

Pri liečbe aktívnej TBC v tehotenstve sa ako liečivá prvej voľby používajú izoniazid (INH), rifampicín (RIF) a etambutol (EMB), pri ktorých sa preukazuje nízky teratogénny potenciál. Pyrazinamid (PZA) sa v minulosti neodporúčal z dôvodu nedostatku údajov o jeho teratogenite (Karabay & Gozdas, 2013). V súčasnosti je však podľa odporúčaní WHO PZA súčasťou liečby, keďže dostupné dôkazy podporujú jeho bezpečnosť a jeho zaradenie umožňuje skrátenie liečebného režimu (Gupta et al., 2016). Po pôrode by mali novorodenci profylakticky užívať INH počas 6 mesiacov, po ktorých sa pri negatívnych testoch na TBC odporúča podať BCG vakcínu (Loto & Awowole, 2012).

Počas tehotenstva sa mení fyziológia matky a s tým aj farmakokinetické parametre liečiv. Dochádza k zväčšeniu objemu plazmy, extracelulárnej tekutiny a celkového množstva telesnej vody, čo ovplyvňuje distribúciu najmä hydrofilných liečiv, ku ktorým patria aj EMB či PZA. Znižuje sa koncentrácia plazmatického albumínu a tým sa zvyšuje podiel voľnej frakcie liečiv viazaných na bielkoviny, čo je klinicky významné najmä u RIF. Takisto dochádza k zmenám v srdcovom výdaji, renálnej filtrácii a gastrointestinálnom trakte (spomalené vyprázdňovanie žalúdka, spomalená motilita čriev a zvýšené pH žalúdka). Ďalej sa mení hladina aj aktivita pečňových enzýmov, najmä cytochrómov CYP450, ktoré sa podieľajú na metabolizme liečiv, predovšetkým INH a RIF. Tieto zmeny sú najvýraznejšie v treťom trimestri (Frederiksen, 2001). V prípade prvolínových antituberkulotík, Schalkwyk a kol. vo svojej štúdiu dokázali, že plocha pod krivkou koncentrácie liečiva v čase od 0 do 24 hodín (AUC₀₋₂₄) a maximálna koncentrácia liečiva v plazme (C_{max}) RIF a PZA boli počas tehotenstva a po pôrode podobné, pričom AUC₀₋₂₄ a C_{max} INH a EMB boli počas tehotenstva nižšie v porovnaní s obdobím po pôrode, čo naznačuje ich zníženú expozíciu v tomto období (Van Schalkwyk et al., 2023).

Liečba tehotných pacientiek zahŕňa režimy zamerané na aktívnu citlivú/rezistentnú a latentnú TBC. V prípade aktívnej formy citlivej na prvolínové antituberkulotiká sa pre väčšinu tehotných pacientiek používa štandardný režim WHO, pri ktorom sa indikuje úvodná dvojmesačná – HRZE (INH+RIF+PZA+EMB) a následne štvormesačná liečba – HR (štandardný režim liečby TBC u mužov aj u žien). V niektorých krajinách sa PZA v liečbe nepoužíva, ale ako bolo spomenuté vyššie, WHO ho odporúča (*WHO Consolidated Guidelines on Tuberculosis*, 2025).

Diagnostika latentnej TBC sa nerobí u všetkých tehotných žien, ale len u rizikových: blízky kontakt s aktívnym prípadom TBC, vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV), imunosupresia (kortikoidy, biologická liečba), pôvod z krajiny s vysokou prevalenciou daného

ochorenia alebo práca v rizikovom prostredí (*Review of Reviews and Guidelines on Target Groups, Diagnosis, Treatment and Programmatic Issues for Implementation of Latent Tuberculosis Management*, 2018). V takom prípade sa indikuje liečba, ktorá je uvedená v tabuľke 1.

Tab. 1: WHO TBC liečebné režimy – a) 6H – preventívna liečba latentnej TBC (najjednoduchší klasický režim), nevýhoda: nižšia adherencia pri 6 mesiacoch, riziko hepatotoxicity pri dlhšom podávaní; b) 3HP – latentná TBC (preventívna terapia), výhoda: veľmi dobrá adherencia, krátke trvanie, vysoká účinnosť, nevýhoda: rifapentín nemusí byť dostupný vo všetkých krajinách; c) 3HR – latentná TBC, výhoda: kratší režim než 6H, dobrá účinnosť; d) 4R – latentná TBC u ľudí, ktorí netolerujú INH, výhoda: lepšia tolerancia než INH režimy; e) 1HP – najkratší odporúčaný režim pre latentnú TBC, výhoda: krátky režim, veľmi dobrá adherencia; f) H+CPT+B6(Q-TB) – režim pre preventívnu liečbu TBC u pacientov s HIV (*Latent Tuberculosis Infection*, 2018; Sterling, 2020)

Charakteristika	6H	3HP	3HR	4R	1HP	H+CPT+B6 (Q-TB)	6Lfx
Liečivá	Isoniazid	Isoniazid + rifapentín	Isoniazid + rifampicín	Rifampicín	Isoniazid + rifapentín	Isoniazid + kotrimoxazol	Levofloxacin
Trvanie liečby (mesiace)	6	3	3	4	1	6	6
Frekvencia	Denná	Týždenná	Denná	Denná	Denná	Denná	Denná
Tehotné ženy	Bezpečné pre použitie	Neznáme	Bezpečné pre použitie	Môže byť bezpečné. Chýbajúce dáta ohľadom bezpečnosti a účinnosti pre túto populáciu.	Neznáme	Bezpečné pre použitie	Môže byť bezpečné. Chýbajúce dáta ohľadom bezpečnosti a účinnosti pre túto populáciu.

Osobitnou skupinou sú pacientky s rezistentnými formami TBC, ako je napríklad: a) rifampicín-rezistentná forma TBC (RR-TBC), b) multi-rezistentná forma TBC (MDR-TBC) – rezistencia na RIF a INH, a c) extenzívne-rezistentná (XDR-TBC) forma TBC – rezistencia na RIF, INH, aspoň jeden fluorochinolón a aspoň ďalšie jedno liečivo zo skupiny A.

Liečba týchto foriem je náročná, pretože teratogénne a bezpečnostné profily liečiv druhej línie nie sú úplne známe – tehotné a dojčiace ženy sú vo väčšine klinických štúdií systematicky vylúčené. Odporúčania sú založené najmä na malých observačných štúdiách. Celkovo je dostupné len veľmi obmedzené množstvo kvalitných údajov a odporúčaní (Lotia Farrukh et al., 2024).

Vzhľadom na obmedzené možnosti prevencie a liečby TBC v tehotenstve je jednou z ďalších priorít WHO vývoj účinnej vakcíny. Imunizácia počas tehotenstva by mohla znížiť riziko progresie latentnej infekcie do aktívnej formy najmä v popôrodnom období, keď je incidencia ochorenia približne dvojnásobná, najmä počas 3-6 mesiacov po pôrode. Súčasne by sa znížila aj expozícia novorodencov a dojčiat infekcii zo strany matky (Quincer et al., 2025). Vakcíny, ktoré obsahujú živé atenuované patogény, ako napríklad BCG vakcína, sú počas tehotenstva kontraindikované (3.2.1.3. *Contraindications for BCG | TB Knowledge Sharing*, 2018; Psarris et al., 2019).

Tab. 2: Liečivá používané pri MDR- TBC, XDR-TBC a ich bezpečnosť v tehotenstve (Research, 2025; *WHO Consolidated Guidelines on Tuberculosis. Module 4*, 2022).

Liečivo	FDA usmernenie
Skupina A:	
Fluorochinolóny (levofloxacín, moxifloxacín)	Neodporúča sa počas tehotenstva alebo dojčenia
Pretomanid	Nie sú dostupné žiadne údaje o používaní tohto lieku v tehotenstve
Bedachilín	Štúdie na zvieratách naznačujú, že liek nie je škodlivý
Linezolid	Neodporúča sa v tehotenstve
Skupina B:	
Klofazimín	Neodporúča sa v tehotenstve
Cykloserín alebo terizodón	Neodporúča sa v tehotenstve
Skupina C:	
Etambutol	Pravdepodobne bezpečný v tehotenstve
Delamanid	Liek ešte nie je zaradený do oficiálnej kategórie bezpečnosti v tehotenstve, ale nespôsobuje vrodené chyby (teratogenu)
Pyrazinamid	Nedostatočné dáta

Záver

Bezpečná a včasná liečba TBC v tehotenstve výrazne znižuje riziko komplikácií pre matku aj plod. Prvolíniové režimy sú vo všeobecnosti bezpečné, zatiaľ čo liečba RR/MDR/XDR-TB vyžaduje individualizovaný prístup a preferenciu perorálnych režimov s najlepším bezpečnostným profilom (napríklad injekčné aminoglykozidy sú ototoxické pre plod) (Xie et al., 2011). Farmakokinetické zmeny v gravidite podporujú potrebu monitorovania hladín a personalizácie terapie, najmä pri liekoch s preukázanou zníženou expozíciou počas tehotenstva (INH a EMB).

Táto práca vznikla za podpory projektov APVV-18-0084, APVV-22-0342, VEGA-1/0093/22, VEGA- 1/0049/25, EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V02-00036 a UK/1149/2025.

Zoznam použitej literatúry

- 3.2.1.3. *Contraindications for BCG | TB Knowledge Sharing.* (2018). https://tbksp.who.int/en/node/2052?utm_source=chatgpt.com
- Frederiksen, M. C. (2001). Physiologic changes in pregnancy and their effect on drug disposition. *Seminars in Perinatology*, 25(3), 120–123. <https://doi.org/10.1053/sper.2001.24565>
- Global tuberculosis report.* (2025). <https://www.who.int/publications/i/item/9789240116924>
- Gupta, A., Mathad, J. S., Abdel-Rahman, S. M., Albano, J. D., Botgros, R., Brown, V., Browning, R. S., Dawson, L., Dooley, K. E., Gnanashanmugam, D., Grinsztejn, B., Hernandez-Diaz, S., Jean-Philippe, P., Kim, P., Lyster, A. D., Mirochnick, M., Mofenson, L. M., Montepiedra, G., Piper, J., ... White, A. (2016). Toward Earlier Inclusion of Pregnant and Postpartum Women in Tuberculosis Drug Trials: Consensus Statements From an International Expert Panel. *Clinical Infectious Diseases*, 62(6), 761–769. <https://doi.org/10.1093/cid/civ991>
- Karabay, O., & Gozdas, H. T. (2013). Should pyrazinamide be preferred in tuberculosis treatment during pregnancy? *The Indian Journal of Medical Research*, 138(1), 147.
- Latent tuberculosis infection: Updated and consolidated guidelines for programmatic management.* (2018). <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550239>
- Li, C., Liu, L., & Tao, Y. (2019). Diagnosis and treatment of congenital tuberculosis: A systematic review of 92 cases. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 14(1), 131. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1101-x>
- Lotia Farrukh, I., Lachenal, N., Adenov, M. M., Ahmed, S., Algozhin, Y., Coutisson, S., Garavito, E. S., Hewison, C., Holtzman, D., Huerga, H., Janmohamed, A., Khan, P. Y., Jacques, G. L., Lomtadze, N., Melikyan, N., Mit-

- nick, C. D., Mussabekova, G., Osso, E., Perea, S., ... Khan, U. (2024). Pregnancy and Birth Outcomes in Patients With Multidrug-Resistant Tuberculosis Treated With Regimens That Include New and Repurposed Drugs. *Clinical Infectious Diseases*, 78(1), 144–148. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad445>
9. Loto, O. M., & Awowole, I. (2012). Tuberculosis in Pregnancy: A Review. *Journal of Pregnancy*, 2012, 379271. <https://doi.org/10.1155/2012/379271>
10. Psarris, A., Sindos, M., Daskalakis, G., Chondrogianni, M. E., Panayiotou, S., Antsaklis, P., & Loutradis, D. (2019). Immunizations during pregnancy: How, when and why. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 240, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.06.019>
11. Quincer, E. M., Gobezeayehu, A. G., Belew, M. L., Endalamaw, L. A., Tesfaye, Y. A., Shiferaw, M., Hussen, S. A., Cranmer, J. N., Omer, S. B., & Cranmer, L. M. (2025). High Intention to Vaccinate Against Tuberculosis During Pregnancy and Lactation: Understanding Vaccine-specific Maternal Immunization Acceptance in Amhara, Ethiopia. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 44(2S), S135. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000004699>
12. Research, C. for D. E. and. (2025). Pregnancy and Lactation Labeling Resources. FDA. <https://www.fda.gov/drugs/labeling-information-drug-products/pregnancy-and-lactation-labeling-resources>
13. *Review of reviews and guidelines on target groups, diagnosis, treatment and programmatic issues for implementation of latent tuberculosis management*. (2018, October 15). <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/review-reviews-and-guidelines-target-groups-diagnosis-treatment-and-programmatic>
14. Sterling, T. R. (2020). Guidelines for the Treatment of Latent Tuberculosis Infection: Recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC, 2020. *MMWR. Recommendations and Reports*, 69. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr6901a1>
15. Su, Y., Kong, X., Chen, Z., Wang, X., & Lu, S. (2025). Adverse pregnancy outcomes and complications of tuberculosis in pregnant women. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1550430. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1550430>
16. Van Schalkwyk, M., Bekker, A., Decloedt, E., Wang, J., Theron, G. B., Cotton, M. F., Eke, A. C., Cressey, T. R., Shapiro, D. E., Bacon, K., Knowles, K., George, K., Browning, R., Chakhtoura, N., Rungruengthanakit, K., Wiesner, L., Capparelli, E. V., Stek, A. M., Mirochnick, M., ... on behalf of the IMPAACT P1026s Protocol Team. (2023). Pharmacokinetics and safety of first-line tuberculosis drugs rifampin, isoniazid, ethambutol, and pyrazinamide during pregnancy and postpartum: Results from IMPAACT P1026s. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 67(11), e00737-23. <https://doi.org/10.1128/aac.00737-23>
17. *WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: Treatment - drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update*. (2022). <https://www.who.int/publications/i/item/9789240063129>
18. *WHO consolidated guidelines on tuberculosis: Module 4: treatment and care*. (2025). <https://www.who.int/publications/i/item/9789240107243>
19. Xie, J., Talaska, A. E., & Schacht, J. (2011). New developments in aminoglycoside therapy and ototoxicity. *Hearing Research*, 281(1–2), 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2011.05.008>

Vplyv *Salvia officinalis* L. na sérové hladiny cytokínov TGF- β , IL-6, IL-10 a TNF- α v modeli experimentálnej mamárnej karcinogenézy

Vladimíra Sadloňová¹, Elena Nováková¹, Peter Kubatka²

¹Ústav mikrobiológie a imunológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin,

²Centrum experimentálnej a klinickej regeneračnej medicíny, UVLF, Košice

E-mail: sadlonova3@uniba.sk

Úvod

V literatúre v rámci predklinického výskumu sú prezentované vedecké práce poukazujúce na pozitívne chemopreventívne účinky látok rastlinného pôvodu v experimentálnej mamárnej karcinogenéze (Haba et al., 2004; Raveoori et al., 2012; Jeyabalan et al., 2014; Aqil et al., 2017, 2021). Na druhej strane aj v rámci klinického výskumu sú známe štúdie, ktoré sa zaoberajú touto problematikou. Výsledky týchto štúdií popisujú, že dlhodobé a takmer každodenné užívanie látok rastlinného pôvodu môže znížiť riziko karcinómu prsníka (Fung et al., 2013; Castelló et al., 2014; Toledo et al., 2015; Vitelli-Storelli et al., 2020; González-Palacios Torres et al., 2023).

Salvia (*S.*) *officinalis* L. – šalvia lekárska demonštrovala štatisticky významné onkostatické účinky v modeli chemoprevenie premenopauzálnych mamárnej karcinogenézy u intaktných samíc potkanov kmeňa Sprague-Dawley (Kubatka et al., 2024). Histopatologická analýza mamárnych nádorov potkanov potvrdila signifikantne lepšiu prognózu nádorov po liečbe *S. officinalis*. Imunohistochemická analýza mamárnych nádorových buniek potkanov poukázala na proapoptotický a antioxidačný účinok *S. officinalis*. Imunohistochemické a molekulárne analýzy preukázali signifikantný pozitívny epigenetický vplyv, a tiež pozitívne zmeny markerov nádorových kmeňových buniek vplyvom *S. officinalis*. Protinádorové účinky *S. officinalis* boli potvrdené aj *in vitro* použitím dvoch bunkových línií MCF-7 a MDA-MB-231 (Kubatka et al., 2024). V rámci tohto experimentu sme sa zamerali aj na vplyv *S. officinalis* na hladiny cytokínov transformujúci rastový faktor-beta/transforming growth factor-beta (TGF- β), interleukín-6 (IL-6), interleukín-10 (IL-10) a tumor nekrotizujúci faktor-alfa (TNF- α) v sére v modeli experimentálnej mamárnej karcinogenézy.

Materiál a metódy

V experimente sme použili 75 intaktných samíc potkanov kmeňa Sprague-Dawley (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Nemecko) vo veku 5 týždňov s telesnou hmotnosťou 125 – 140 gramov. Potkany boli rozdelené do plexitových kliebok (5 zvierat/1 kliebka) a 7 dní boli adaptované na štandardné podmienky zverinca (teplota $23 \pm 2^\circ\text{C}$, relatívna vlhkosť 40 - 60 %, umelý svetelný režim svetlo : tma/12 : 12). Zvieratá prijímali štandardnú chovnú potravu pre potkany (Kocanda Mlýn, Praha, Česká republika; Ssniff® Spezialdiäten GmbH R-Z/M-Z low-phytoestrogen, Soest, Nemecko) a vodu *ad libitum*.

Na vyvolanie mamárnej karcinogenézy sme použili karcinogén N-metyl-N-nitrozoureu (NMU, Sigma, Deisenhofen, Nemecko), ktorý sme podávali intraperitoneálne v jednej dávke, t. j. 50 mg/kg telesnej hmotnosti zvierat na 42. postnatálny deň. Nami vytvorený model chemoprevenie rakoviny prsníka imitoval situáciu zdravých, ale z hľadiska výskytu rakoviny prsníka vysoko rizikových premenopauzálnych žien.

Na chemoprevenciu sme použili *S. officinalis*, (Calendula, Nová Ľubovňa, Slovensko, krajina pôvodu severovýchodné Slovensko), ktorú zvieratá prijímali v potrave. Chemoprevencia začala jeden týždeň pred podaním karcinogénu a trvala až do konca experimentu, t. j. 14 týždňov po aplikácii NMU. Zvieratá sme rozdelili do 3 skupín. 1. skupina zvierat - kontrolná s podaným karcinogénom NMU prijímala potravu bez chemoprevencie, 2. skupina zvierat s podaným karcinogénom NMU prijímala potravu s chemoprevenciou *S. officinalis* o nižšej koncentrácii (1 g/kg; SAL 0.1) a 3. skupina zvierat s podaným karcinogénom NMU prijímala potravu s chemoprevenciou *S. officinalis* o vyššej koncentrácii (10 g/kg; SAL 1).

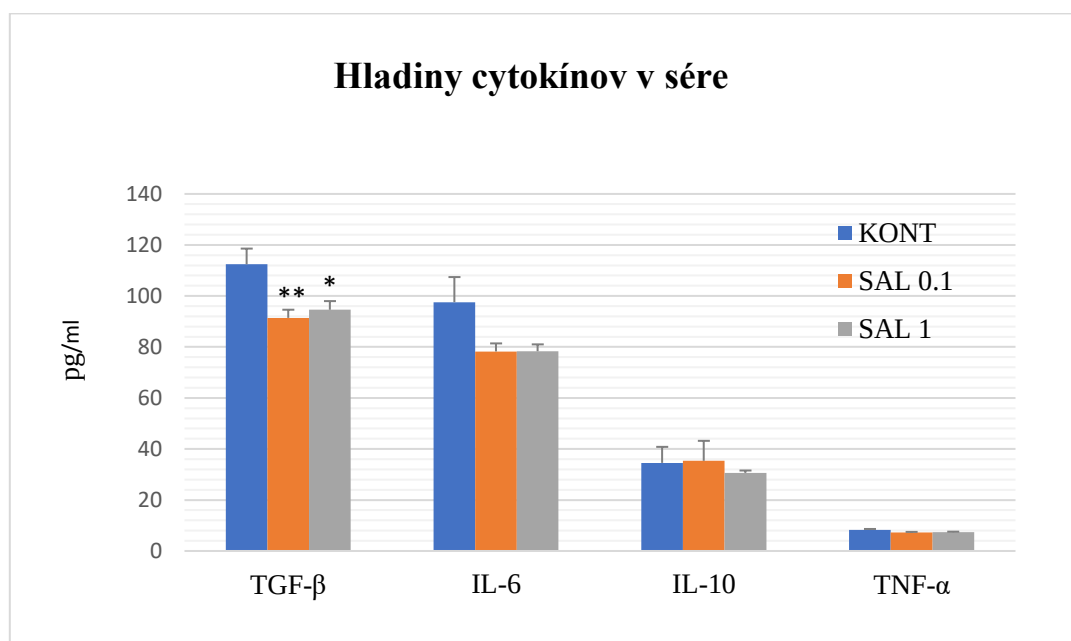
Potkany sme raz do týždňa vážili a palpovali. Sledovali sme prírastok telesnej hmotnosti a hodnotili lokálny mamárny nález – prítomnosť, počet, lokalizáciu a veľkosť nádorov. V 7. a 11. týždni experimentu sme merali príjem vody a potravy. V poslednom týždni experimentu, t. j. v 14. týždeň od podania NMU, sme zvieratá usmrtili rýchlou dekapitáciou a vykonali pitvu.

Odobrali sme krv na imunologické vyšetrenie sérových hladín cytokínov TGF- β , IL-6, IL-10 a TNF- α . Vzorky krvi boli po vytvorení zrazeniny centrifugované pri 2 000 x g počas 10 minút. Následne boli sérové hladiny cytokínov analyzované pomocou ELISA *in vitro* súprav určených na kvantitatívne meranie cytokínov v sére potkanov: súprava Rat TGF- β *in vitro* ELISA (ab119558), súprava Rat IL-6 *in vitro* ELISA (ab234570), súprava IL-10 *in vitro* ELISA (ab214566), súprava Rat TNF- α *in vitro* ELISA (ab236712) (Ústav mikrobiológie a imunológie, JLF UK v Martine; *in vitro* ELISA kits Abcam, Cambrige, MA, USA).

V štatistickom hodnotení boli použité Studentov *t*-test a ANOVA. Všetky postupy použité v experimentoch boli v súlade so smernicami EÚ a schválené Etickou komisiou JLF UK a Štátnou veterinárnou a potravinovou správou SR.

Výsledky

Hladiny zápalových cytokínov v sére v jednotlivých experimentálnych skupinách po chemoprevencii *S. officinalis* znázorňuje obrázok 1. *S. officinalis* v našom experimente nezávisle od dávky signifikantne znížila hladiny TGF- β (SAL 0.1 vs KONT, $p < 0,01$; SAL 1 vs KONT, $p < 0,05$) v sére potkanov v porovnaní s kontrolnou skupinou. Zníženie hladín IL-6 a TNF- α po liečbe *S. officinalis* bolo tesne na hranici signifikancie. Hladiny IL-10 v sére potkanov neboli ovplyvnené po chemoprevencii *S. officinalis*.



Obr. 1: Vplyv *S. officinalis* na sérové hladiny cytokínov TGF- β , IL-6, IL-10 a TNF- α u samíc potkanov v experimentálnej mamárnej karcinogéze. Vysvetlivky: KONT – kontrolná skupina, SAL 0.1 – skupina s aplikáciou *S. officinalis* v dávke 1 g/kg, SAL 1 – skupina s aplikáciou *S. officinalis* v dávke 10 g/kg. Dáta sú vyjadrené ako priemery $\pm$ SEM. Signifikantný rozdiel * $p < 0,05$ vs KONT; ** $p < 0,01$ vs KONT

Diskusia

Šalvia je zdrojom mnohých fytochemikálií prítomných v kvetoch, listoch a stonke. Ide o deriváty monoterpénov (gáfor, cineol, deriváty borneolu, thujón) a seskviterpénov (karyofylén), taníny (kyselina rozmarínová, kyselina salvianolová), diterpenoidy (deriváty karnosolu) a flavonoidy (cirsiliol, deriváty luteolínu a apigenínu a fenolové glykozidy). V literatúre sú popísané mnohé jej významné účinky na organizmus ako protizápalové, antioxidačné, antimikrobiálne, hypolipidemické, hypoglykemické, ale aj antimutagénne a protinádorové (Ghorbani et Esmaeilzadeh, 2017). Protizápalové a antioxidačné účinky šalvie sa dávajú do súvisu s jej protinádorovým pôsobením (Bonesi et al., 2017). Chemopreventívne pôsobenie rôznych rastlinných prirodzených potravín a ich fytochemikálií na viaceré signálne dráhy súvisiace s mamárnou karcinogézou sú popísané vo viacerých štúdiách (Singletary et al., 1996; Ravoori et al., 2012; Jeybalan et al., 2014; Bishayee et al., 2016). Fytochemikálie prítomné v *S. officinalis* ako sú cirsiliol, luteolín a karnosol sa ukázali ako významné inhibítory bunkovej signalizácie STAT3 (Yanagimichi et al., 2020). Etylacetátový extrakt *S. officinalis* a jeho zložky (kyselina karnosová, karnosol) inhibovali aj akumuláciu PGE2 (Bauer et al., 2012).

Cytokíny ovplyvňujú rôzne signálne zápalové dráhy, ktoré prispievajú k mnohým bunkovým procesom. Patrí k nim aj regulácia imunitnej a zápalovej odpovede, bunkového rastu a apoptózy (Oeckinghaus et Ghosh, 2009). Cirkulujúce cytokíny sú diskutované aj ako možné prognostické markery u pacientov s rakovinou prsníka z hľadiska nádorovej proliferácie a invázie (Wang a Yang, 2017; Ahmad et al., 2018). TGF- β je multifunkčný cytokín, ktorý sa môže správať ako nádorový promótor alebo nádorový supresor, a to v závislosti od štádia bunkového cyklu. Vedecké údaje ukázali, že TGF- β je aktívne produkovaný nádorovými bunkami, hlavne v neskorších štádiách karcinogézy, a prispieva k rastu, migrácii a šíreniu metastáz, a potláča aj imunitné reakcie (Kim et al., 2021). Protinádorové pôsobenie *S. officinalis* v našej štúdii bolo spojené aj s poklesom cytokínov pravdepodobne cez protizápalové a antioxidačné vlastnosti fytochemikálií obsiahnutých v šalvii (Kolac et al., 2017).

Záver

Imunologická analýza sérových hladín cytokínov TGF- β , IL-6, IL-10 a TNF- α v chemopreventcii experimentálnej mamárnej karcinogézy u potkanov poukázala na protizápalový účinok *S. officinalis*.

Táto práca vznikla za podpory projektov VEGA 1/0045/23 a VEGA 1/0498/23.

Zoznam použitej literatúry

1. Ahmad N, Ammar A, Storr SJ, Green AR, Rakha E, Ellis IO, Martin SG. IL-6 and IL-10 are associated with good prognosis in early stage invasive breast cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 2018; 67: 537–549.
2. Aqil F, Jeyabalan J, Munagala R, Ravoori S, Vadhanam MV, Schultz DJ, Gupta RC. Chemoprevention of rat mammary carcinogenesis by Apiaceae spices. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 425.
3. Aqil F, Jeyabalan J, Munagala R, Ahmad I, Schultz DJ, Gupta RC. Cumin prevents 17 β -estradiol-associated breast cancer in ACI rats. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 6194.
4. Bauer J, Kuehn S, Rollinger JM, Scherer O, Northoff H, Stuppner H, Werz O, Koeberle A. Carnosol and carnosic acids from *Salvia officinalis* inhibit microsomal prostaglandin E2 synthase-1. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 342: 169–176.

5. Bishayee A, Mandal A, Bhattacharyya P, Bhatia D. Pomegranate exerts chemoprevention of experimentally induced mammary tumorigenesis by suppression of cell proliferation and induction of apoptosis. *Nutr Cancer* 2016; 68: 120–130.
6. Bonesi M, Loizzo MR, Acquaviva R, Malfa GA, Aiello F, Tundis R. Anti-inflammatory and antioxidant agents from *Salvia* Genus (Lamiaceae): An assessment of the current state of knowledge. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 2017; 16: 70–86.
7. Castelló A, Pollán M, Buijsse B, Ruiz A, Casas AM, Baena-Cañada JM, Lope V, Antolín S, Ramos M, Muñoz M, Lluch A, de Juan-Ferré A, Jara C, Jimeno MA, Rosado P, Díaz E, Guillem V, Carrasco E, Pérez-Gómez B, Vioque J, Boeing H, Martín M. GEICAM researchers. Spanish Mediterranean diet and other dietary patterns and breast cancer risk: Case-control EpiGEICAM study. *Br J Cancer* 2014; 111: 1454–1462.
8. Fung TT, Chiuve SE, Willett WC, Hankinson SE, Hu FB, Holmes MD. Intake of specific fruits and vegetables in relation to risk of estrogen receptor-negative breast cancer among postmenopausal women. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 138: 925–930.
9. Ghorbani A, Esmaeilzadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med* 2017; 7: 433–440.
10. González-Palacios Torres C, Barrios-Rodríguez R, Muñoz-Bravo C, Toledo E, Dierssen T, Jiménez-Moleón JJ. Mediterranean diet and risk of breast cancer: An umbrella review. *Clin Nutr* 2023; 42: 600–608.
11. Haba R, Watanabe S, Wada M, Udaka S. Effects of lactoferrin, soya germ and polyamine on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]-pyridine (PhIP)-induced breast carcinogenesis in rats. *Biofactors* 2004; 22: 127–131.
12. Jeyabalan J, Aqil F, Munagala R, Annamalai L, Vadhanam MV, Gupta RC. Chemopreventive and therapeutic activity of dietary blueberry against estrogen-mediated breast cancer. *J Agric Food Chem* 2014; 62: 3963–3971.
13. Kim BG, Malek E, Choi SH, Ignatz-Hoover JJ, Driscoll JJ. Novel therapies emerging in oncology to target the TGF- β pathway. *J Hematol Oncol* 2021; 14: 55.
14. Kolac UK, Ustuner MC, Tekin N, Ustuner D, Colak E, Entok E. The anti-inflammatory and antioxidant effects of *Salvia officinalis* on lipopolysaccharide-induced inflammation in rats. *J Med Food* 2017; 20: 1193–1200.
15. Kubatka P, Mazurakova A, Koklesova L, Kuruc T, Samec M, Kajo K, Kotorova K, Adamkov M, Smejkal K, Svajdlenska E, Dvorska D, Brany D, Baranovicova E, Sadlonova V, Mojzis J, Kello M. *Salvia officinalis* L. exerts oncostatic effects in rodent and in vitro models of breast carcinoma. *Front Pharmacol* 2024; 15: 1216199.
16. Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a000034.
17. Ravoori S, Vadhanam MV, Aqil F, Gupta RC. Inhibition of estrogen-mediated mammary tumorigenesis by blueberry and black raspberry. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 5547–5555.
18. Singletary K, MacDonald C, Walling M. Inhibition by rosemary and carnosolol of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. *Cancer Lett* 1996; 104: 43–48.
19. Toledo E, Salas-Salvadó J, Donat-Vargas C, Buil-Cosiales P, Estruch R, Ros E, Corella D, Fitó M, Hu FB, Arós F, Gómez-Gracia E, Romaguera D, Ortega-Calvo M, Serra-Majem L, Pintó X, Schröder H, Basora J, Sorlí JV, Bulló M, Serra-Mir M, Martínez-González MA. Mediterranean Diet and Invasive Breast Cancer Risk Among Women at High Cardiovascular Risk in the PREDIMED Trial: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med* 2015; 175 :1752–1760.
20. Vitelli-Storelli F, Zamora-Ros R, Molina AJ, Fernández-Villa T, Castelló A, Barrio JP, Amiano P, Ardanaz E, Obón-Santacana M, Gómez-Acebo I, Fernández-Tardón G, Molina-Barceló A, Alguacil J, Marcos-Gragera R, Ruiz-Moreno E, Pedraza M, Gil L, Guevara M, Castaño-Vinyals G, Dierssen-Sotos T, Kogevinas M, Aragonés N, Martín V. Association between Polyphenol Intake and Breast Cancer Risk by Menopausal and Hormone Receptor Status. *Nutrients* 2020; 12: 994.
21. Wang H, Yang X. Association between Serum Cytokines and Progression of Breast Cancer in Chinese Population. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e8840.
22. Yanagimichi M, Nishino K, Sakamoto A, Kurodai R, Kojima K, Eto N, Isoda H, Ksouri R, Irie K, Kambe T, Masuda S, Akita T, Maejima K, Nagao M. Analyses of putative anti-cancer potential of three STAT3 signaling inhibitory compounds derived from *Salvia officinalis*. *Biochem Biophys Rep* 2020; 25: 100882.

Genomická analýza izolátov *Mycobacterium tuberculosis* fenotypovo rezistentných na pretomanid a delamanid

Marek Štrba¹, Věra Dvořáková², Michaela Hromádková², Michaela Krivošová³, Simona Mäsiarová¹, Simona Hromníková¹, Juraj Mokry¹, Matúš Dohál³

¹Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin,

²Národní referenční laboratoř pro mykobakterie, Státní zdravotní ústav, Praha,

³Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin

E-mail: strba31@uniba.sk

Úvod

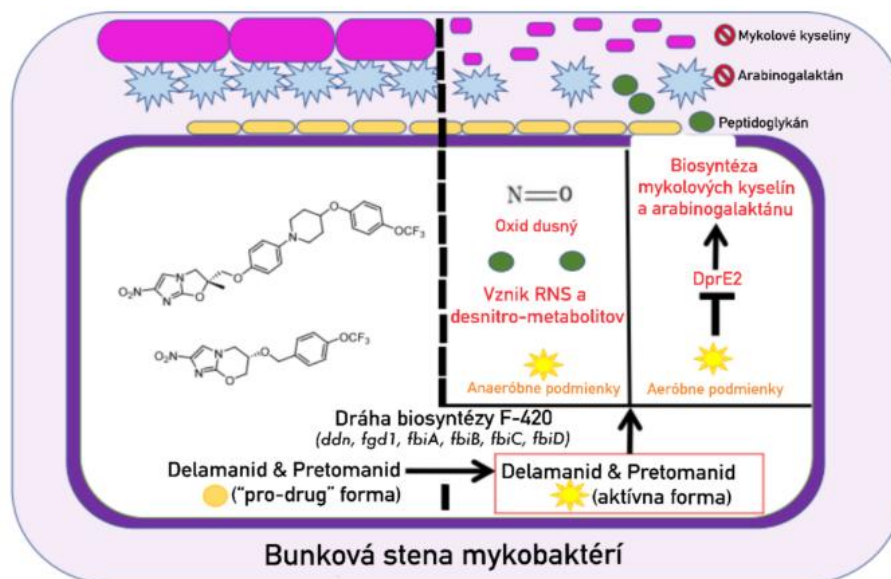
V súčasnej dobe sa tuberkulóza (TB) zaraďuje medzi najsmrteľnejšie infekčné ochorenia. Podľa štatistík Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) z roku 2024 bol počet pacientov s TB odhadovaných na 10,8 milióna a počet úmrtí na približne 1,25 milióna (WHO, 2024). Významným problémom v liečbe TB je výskyt multirezistentných foriem TB (MDR-TB), ktorých prevalencia v roku 2023 dosahovala približne 400 000 prípadov, ktoré tvorilo 175 923 novo-diagnostikovaných prípadov (WHO, 2024).

Podľa najnovších odporúčaní sa liečba rezistentných foriem TB realizuje kombináciami obsahujúcimi bedachilín, pretomanid (PTM) alebo delamanid (DLM) a linezolid – BPaL a BPaLM (BPaL + moxifloxacin) (Holger et al., 2024; WHO, 2024).

PTM a DLM patria medzi nitroimidazolové deriváty s antituberkulotickou aktivitou, ktorá je podmienená inhibíciou syntézy mykolových kyselín za aeróbnych podmienok (obr. 1). Na svoju aktiváciu využívajú F420-dependentnú dráhu, v ktorej zohráva kľúčovú úlohu enzým deazaflavín-dependentná nitroreduktáza (*ddn*) (Mudde et al., 2022; Nguyen et al., 2023; Negi et al., 2024). Za anaeróbnych podmienok sa po aktivácii PTM a DLM podieľajú na tvorbe oxidu dusnatého (NO) v bunkách *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) (obr. 1), čo vedie k narušeniu respiračných procesov a následnej bunkovej smrti (Mudde et al. 2022; Negi et al., 2024; Stancil et al., 2021). Mutácie v géne *ddn*, ako aj v ďalších génoch kódujúcich proteíny zapojené do tejto dráhy – *fgd1*, *fbiA*, *fbiB* a *fbiC* môžu byť asociované s rezistenciou na tieto liečivá (Liu et al., 2022).

V tejto súvislosti sa začali vyskytovať aj kmene vykazujúce rezistenciu na tieto liečivá, a to aj napriek chýbajúcej predchádzajúcej expozícii. Hoci ide celosvetovo o pomerne zriedkavý jav, v Číne bola zaznamenaná relatívne vysoká frekvencia takýchto kmeňov (Zhao et al., 2024). Nakoľko je rezistencia a jej prevalencia zatiaľ nedostatočne preskúmaná, je potrebné pravidelne vykonávať genotypizáciu kmeňov *Mtb* a paralelne stanovovať minimálnu inhibičnú koncentráciu (MIC) voči PTM a DLM (Battaglia et al., 2020; Timm et al., 2023).

Navyše, pomocou *in silico* modelovania proteínov boli identifikované mutácie, ktoré ovplyvňujú mono-rezistenciu alebo skríženú rezistenciu voči PTM a DLM. Tento fakt môže v budúcnosti významne skomplikovať manažment pacientov s MDR (Lee et al., 2020). Skrížená rezistencia medzi liečivami patriacimi do rovnakej chemickej skupiny bola doteraz pozorovaná najmä u aminoglykozidových antibiotík (Miller et al., 1997; Vakulenko & Mobashery, 2003). Pri rôznych mutáciách sa preto môžeme domnievať, že existuje skrížená rezistencia alebo mono-rezistencia. Súvisí to aj so štruktúrnymi modelmi enzýmu *ddn*, ktoré naznačujú, že PTM a DLM využívajú čiastočne odlišné väzbové interakcie v aktivačnom mieste (Kadura et al., 2020; Liu et al., 2022; Singh et al., 2023; Zhang et al., 2024).



Obr. 1: Schéma mechanizmu účinku PTM a DLM, spočívajúceho v dvojakých podmienkach: **anaeróbne** - vznik oxidu dusnatého toxického pre mykobakteriálnu bunku; **aeróbne** - inhibícia enzýmu dekaprenylfosforibóza-2'-epimeráza (**DprE2**), zodpovedného za syntézu mykolových kyselín a arabinogalaktánu, Negi et al., 2024; (upravené).

Okrem génov spojených s rezistenciou voči spomenutým nitroimidazolovým derivátom bola preukázaná prirodzená rezistencia (resp. zvýšené MIC) u kmeňov *Mtb* patriacich do Indo-Oceánskej línie (L1) (Rojas et al., 2025; Rupasinghe et al., 2024).

Cieľom tejto štúdie bolo identifikovať genetické mutácie kódujúce rezistenciu na DLM a PTM u fenotypovo rezistentných kmeňov a stanoviť frekvenciu výskytu skríženej rezistencie.

Materiál a metódy

Klinické izoláty *Mtb*. fenotypovo rezistentné na pretomanid a delamanid

Na realizáciu výskumu boli využité izoláty *M. tuberculosis* fenotypovo rezistentné na PTM alebo DLM, prípadne vykazujúce skríženú rezistenciu. Zber vzoriek prebiehal v spolupráci s Národným referenčným laboratóriom pre mykobaktérie v Prahe.

Celogenómové sekvenovanie (WGS) získaných izolátov

Pred samotnou sekvenačnou analýzou bola uskutočnená extrakcia DNA z tepelne inaktivovaných bakteriálnych kultúr pomocou reagenčnej sady DNA – QIAamp® DNA Mini Kit (Quiagen, Nemecko). Vyizolovaná DNA bola následne fluorometricky kvantifikovaná s využitím prístroja QuBit 4.0 (1X dsDNA HS Assay Kit) a zriedená na požadovanú koncentráciu. Sekvenačné knižnice boli pripravené s využitím Illumina Nextera XT Kit (Illumina, Kalifornia, USA).

Sekvenovanie bolo vykonané pomocou platformy Illumina MiniSeq, s použitím sekvenačnej reagentie MiniSeq High-Output Reagent Kit (300 cyklov). Generovanie sekvenačných dát prebehlo vo formáte FASTQ.

Bioinformatické spracovanie výstupných dát

Sekvence boli analyzované softvérom TB-Profler (v6.2.1 so zabudovanou databázou mutácií asociovaných s rezistenciou, ktoré sú zahrnuté v katalógu WHO (WHO, 2021; Verbovel et al., 2022).

Výsledky

Kvalita sekvenčných dát

Minimálne kritériá pre kvalitu sekvenčných dát zahŕňali nasledovné: priemerná hĺbka pokrytia čítaní 30x a minimálne 90 % referenčného genómu malo byť pokryté jednotlivou sekvenciou. Pre nami analyzované vzorky boli splnené všetky vyššie uvedené požiadavky.

Porovnanie profilov rezistencie

Okrem samotnej citlivosti na DLM a PTM bola hodnotená aj rezistencia na iné antituberkulotiká. Spomedzi ostatných antituberkulotík dominovala navyše rezistencia na rifampicín a izoniazid (tab. 1).

Tab. 1: Prehľad výsledkov genotypovej rezistencie izolátov s fenotypovou rezistenciou na PTM a DLM.

Fenotypová rezistencia na DLM/PTM	Počet izolátov	Fenotypová rezistencia na ostatné liečivá	Počet izolátov
Skrížená rezistencia	6	RIF + INH + EMB + ETH	1
		RIF + INH + ETH + KAN + STM	1
		RIF + INH + EMB + KAN + STM	1
		RIF + INH + EMB + PZA + KAN + STM + FQ	1
		RIF + INH + EMB + PZA + KAN + STM + FQ + PAS	1
		LZD	1
PTM	4	DS	4

PTM – pretomanid; PTM/DLM - skrížená rezistencia na pretomanid a delamanid; RIF – rifampicín; INH – izoniazid; EMB – etambutol; PZA - pyrazinamid; ETO – etionamid; LZD – linezolid; FQ – fluorochinolóny; STM – streptomycín; KAN – kanamycín; PAS – kyselina para-aminosalicylová; DS - citlivý na liečivá

Výstupy zo sekvenčných dát

Medzi analyzovanými izolátmi dominovala sub-línia *Beijing* 2.2.1 (70 %). Ostatné izoláty patrili do sub-línií (1.1.3.1 10 %; 1.1.1.1 10 %; 4.1.1.3 10 %) (tab. 2).

V 80 % izolátov boli identifikované genetické varianty asociované s rezistenciou voči ďalším antituberkulotikám: RIF (50 %), INH (50 %), EMB (40 %), PZA (20 %), ETO (30 %), LIN (10 %), FQ (20 %), KAN (40 %), STM (40 %) a PAS (10%). Všetky detegované mutácie boli podľa katalógu WHO klasifikované ako varianty zo Skupiny 1, teda mutácie s potvrdenou asociáciou s rezistenciou (tab. 2).

Z výsledkov zároveň vyplýva, že 57 % izolátov zo sub-línie *Beijing* 2.2.1 vykazovalo najrozsiahlejší profil rezistencie.

Okrem uvedených rezistencií boli identifikované aj dva varianty potenciálne asociované s rezistenciou na pretomanid a delamanid. Variant *ddn* p.Trp27* bol identifikovaný v izoláte patriacom do Indo-oceánskej sub-línie 1.1.3.1., ktorý bol fenotypovo rezistentný voči pretomanidu a delamanidu. Keďže tento variant vedie k strate funkcie proteínu, je podľa katalógu WHO zahrnutý do Skupiny 2.

Druhý variant *ddn* p.Gln58* bol detegovaný v izolátoch sublínie *Beijing* 2.2.1, fenotypovo rezistentných na pretomanid. Aj tento variant je podľa katalógu WHO klasifikovaný v Skupine 2, keďže zodpovedá "non-sense" mutácii enzýmu.

Nakoľko v prípade variantu *fgd1* c.960T>C ide o synonymickú mutáciu, nie je možné uvažovať o asociácii s rezistenciou na DLM alebo PTM.

Tab. 2: Genotypová charakterizácia jednotlivých izolátov: priradenie fylogenetickú sub-línie; profil rezistencie na antituberkulotiká všetkých línií.

pDST	ID vzorky	Sub-línia	gDST											
			PTM	DLM	RIF	INH	EMB	PZA	ETO	LZD	FQ	KAN	STM	PAS
DLM/PTM	157/25	1.1.3.1	<i>ddn</i> p.Trp27**	<i>ddn</i> p.Trp27**	<i>rpoB</i> L452P	<i>inhA</i> c.- 777C>T, I21T			<i>inhA</i> c.- 777C>T, I21T					
DLM/PTM	162/25	4.1.1.3								<i>rplC</i> C154A				
DLM/PTM	176/23	2.2.1	* <i>fgd1</i> c.960T>C	* <i>fgd1</i> c.960T>C	<i>rpoB</i> S450L, G761A	<i>katG</i> S315T	<i>embB</i> D354A		<i>ethA</i> c.- 7T>C			<i>eis</i> .-37G>T	<i>rrs</i> n.517C>T	
PTM	220/23	2.2.1	<i>ddn</i> p.Gln58**	<i>ddn</i> p.Gln58**										
DLM/PTM	279/19	2.2.1	* <i>fgd1</i> c.960T>C	* <i>fgd1</i> c.960T>C	<i>rpoB</i> S450L	<i>katG</i> S315T	<i>embB</i> T319C					<i>rrs</i> n.1401A>G	<i>rpsL</i> L43A	
DLM/PTM	305/22	2.2.1	* <i>fgd1</i> c.960T>C	* <i>fgd1</i> c.960T>C	<i>rpoB</i> S450L	<i>katG</i> S315T	<i>embB</i> M306V	<i>pncA</i> A140P	<i>ethA</i> c.703delT		<i>gyrA</i> D94T	<i>eis</i> c.- 10G>A	<i>rpsL</i> L43A	
PTM	326/23	2.2.1	<i>ddn</i> p.Gln58**	<i>ddn</i> p.Gln58**										
DLM/PTM	460/20	2.2.1	* <i>fgd1</i> c.960T>C	* <i>fgd1</i> c.960T>C	<i>rpoB</i> S450L	<i>katG</i> S315T	<i>embB</i> M306V	<i>pncA</i> AP54L			<i>gyrA</i> D94A	<i>eis</i> c.- 12C>T	<i>rpsL</i> L43A	<i>folC</i> p.I43T
PTM	718/23	2.2.1	* <i>fgd1</i> c.960T>C	* <i>fgd1</i> c.960T>C										
PTM	740/23	1.1.1.1	* <i>fgd1</i> c.960T>C	* <i>fgd1</i> c.960T>C										

pDST – fenotypové stanovenie citlivosti na liečivá;
 * - mutácia neasociovaná s rezistenciou
 ** - klinicky relevantné varianty, v katalógu WHO zahrnuté do Skupiny 2

Diskusia

V tejto štúdii sme sa zamerali na genotypovú analýzu izolátov vykazujúcich zvýšené hladiny MIC voči pretomanidu a delamanidu v období rokov 2019-2025. Fenotypová analýza ukázala rozdielnu úroveň skríženej rezistencie medzi oboma liečivami, keďže v súbore sa vyskytovali iba dva fenotypové profily: izoláty s mono-rezistenciou na pretomanid a izoláty vykazujúce skríženú rezistenciu na pretomanid aj delamanid. Podobný fenotypový vzorec bol opísaný aj v predchádzajúcich prácach (Battaglia et al., 2020; Lee et al., 2020).

Dominancia poly-rezistentných izolátov sub-línie *Beijing* 2.2.1 podporuje existujúce hypotézy o zvýšenej schopnosti tejto fylogenetické podlínie akumulovať mutácie asociované s rezistenciou, ako aj jej epidemiologickej úspešnosti (He et al., 2021; Silcocks et al., 2023).

Dva izoláty niesli mutáciu p.Gln58 v géne *ddn*. Tento variant bol už predtým asociovaný so zvýšenými hladinami MIC pretomanidu a delamanidu, približne na úrovni 4 µg/ml (Battaglia et al., 2020; Timm et al., 2023). Rovnako ako v uvedených štúdiách (Battaglia et al., 2020; Timm et al., 2023), aj naše izoláty niesli túto mutáciu v rámci pod-línie *Beijing* 2.2.1. Podobne mutácia *ddn* p.Trp27, ktorá tiež vedie k predčasnej terminácii proteínu *ddn*, bola nedávno opísaná v práci Chen et al. (2025). Obe mutácie boli v iných súboroch spájané aj s vyššími hodnotami MIC (8-16 µg/ml), a keďže boli dokumentované v rovnakých fylogenetických sub-líniách ako naše izoláty, je možné, že tieto varianty cirkulujú v špecifických líniách *M. tuberculosis* (Bateson et al., 2022).

Mutáciu *fgd1* c.960T>C, prítomnú v štyroch izolátoch, nemožno považovať za variant asociovaný s rezistenciou, keďže nemeň zloženie aminokyselinového reťazca proteínu a WHO ho vo svojom katalógu neuvádza (WHO, 2021). Hoci bol v štúdii Naufal et al., 2025 opísaný ako marker sub-línie *Beijing* 2.2.1, naše výsledky tento záver nepodporujú, keďže sme ho zazna-

menali aj v izoláte patriacom do *sub-línie 1.1.1.1*. Izoláty s týmto variantom mali navyše rovnaké hodnoty MIC ako referenčný kmeň *Mtb* H37Rv (Reichmuth et al., 2020), čo naznačuje, že variant neovplyvňuje fenotypovú citlivosť na PTM a DLM.

Potenciálne klinicky relevantné mutácie boli teda detegované najmä v izolátoch *sub-línie Beijing 2.2.1* a v jednom izoláte *sub-línie 1.1.3.1*, ktorý súčasne vykazoval rezistenciu voči RIF, INH a ETO. Hoci sa *Mtb* izoláty Indo-oceánskej línie 1 (L1) v posledných rokoch nepovažovali za epidemiologicky významné, v súlade s prácou Bateson et al. (2022) je naznačované, že aj L1 môže predstavovať potenciálny rezervoár mutácií asociovaných s rezistenciou na PTM/DLM. Na potvrdenie týchto trendov však bude potrebné analyzovať väčšie súbory dát.

Najväčšou limitáciou našej štúdie je malý počet klinických vzoriek a neúplne dostupné fenotypové údaje MIC pre obidve liečivá, čo môže čiastočne ovplyvniť interpretáciu jednotlivých variantov.

Záver

V tejto štúdii sa nám podarilo identifikovať mutácie v géne *ddn*, ktoré môžu súvisieť so vznikom rezistencie na PTM a DLM, liečivá kľúčové v liečbe MDR-TB a pre-XDR-TB. Ide o prvé takto zdokumentované prípady na území Českej republiky, čo podčiarkuje význam nášho pilotného sledovania a poukazuje na potrebu ďalšieho monitoringu. Budúce aktivity budú smerovať k rozšíreniu genotypovej analýzy na všetky izoláty so zvýšenými hodnotami MIC, ktoré budú v najbližších mesiacoch rutinne testované, s cieľom presnejšie charakterizovať spektrum mutácií spojených s rezistenciou na PTM/DLM.

Táto publikácia vznikla vďaka podpore grantov APVV-18-0084, APVV-22-0342, VEGA-1/0093/22, VEGA 1/0049/25, VEGA 1/0036/26 a Grant UK/1215/2025.

Zoznam použitej literatúry

1. Battaglia, S., Spitaleri, A., Cabibbe, A. M., Meehan, C. J., Utpatel, C., Ismail, N., Tahseen, S., Skrahina, A., Alikhanova, N., Mostofa Kamal, S. M., Barbova, A., Niemann, S., Groenheit, R., Dean, A. S., Zignol, M., Rigouts, L., & Cirillo, D. M. (2020). Characterization of Genomic Variants Associated with Resistance to Bedaquiline and Delamanid in Naïve Mycobacterium tuberculosis Clinical Strains. *Journal of clinical microbiology*, 58(11), e01304-20.
2. Bateson, A., Ortiz Canseco, J., McHugh, T. D., Witney, A. A., Feuerriegel, S., Merker, M., Kohl, T. A., Utpatel, C., Niemann, S., Andres, S., Kranzer, K., Maurer, F. P., Ghodousi, A., Borroni, E., Cirillo, D. M., Wijkander, M., Toro, J. C., Groenheit, R., Werngren, J., Machado, D., ... Timm, J. (2022). Ancient and recent differences in the intrinsic susceptibility of Mycobacterium
3. Chen, J., Fan, Q., Gong, S., Guo, J., Rao, Y., Chen, L., Wang, Y., Liao, R., Zhang, Z., Liu, C., Wu, M., Chen, S., & Ren, Y. (2025). Diagnosis of Drug-Resistant Tuberculosis: Rapid Evaluation of Drug Susceptibility with Nanopore Targeted Sequencing. *Clinical chemistry*, 71(8), 908–919.
4. He, W., Liu, C., Liu, D., Ma, A., Song, Y., He, P., Bao, J., Li, Y., Zhao, B., Fan, J., Cheng, Q., & Zhao, Y. (2021). Prevalence of Mycobacterium tuberculosis resistant to bedaquiline and delamanid in China. *Journal of global antimicrobial resistance*, 26, 241–248.
5. Holger, D. J., Althubyani, A., Morrisette, T., Rebold, N., & Tailor, M. (2024). Updates in pulmonary drug-resistant tuberculosis pharmacotherapy: A focus on BPaL and BPaLM. *Pharmacotherapy*, 44(3), 268–282. <https://doi.org/10.1002/phar.2909>
6. Kadura, S., King, N., Nakhoul, M., Zhu, H., Theron, G., Köser, C. U., & Farhat, M. (2020). Systematic review of mutations associated with resistance to the new and repurposed Mycobacterium tuberculosis drugs bedaquiline, clofazimine, linezolid, delamanid and pretomanid. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 75(8), 2031–2043.
7. Lee, B. M., Harold, L. K., Almeida, D. V., Afriat-Jurnou, L., Aung, H. L., Forde, B. M., Hards, K., Pidot, S. J., Ahmed, F. H., Mohamed, A. E., Taylor, M. C., West, N. P., Stinear, T. P., Greening, C., Beatson, S. A., Nuermberger, E. L., Cook, G. M., & Jackson, C. J. (2020). Predicting nitroimidazole antibiotic resistance mutations in Mycobacterium tuberculosis with protein engineering. *PLoS pathogens*, 16(2), e1008287.

8. Liu, Y., Shi, J., Li, L., Wu, T., Chu, P., Pang, Y., Guo, Y., Gao, M., & Lu, J. (2022). Spontaneous Mutational Patterns and Novel Mutations for Delamanid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 66(12), e0053122.
9. Miller, G. H., Sabatelli, F. J., Hare, R. S., Glupczynski, Y., Mackey, P., Shlaes, D., Shimizu, K., & Shaw, K. J. (1997). The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms--changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? Aminoglycoside Resistance Study Groups. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 24 Suppl 1, S46–S62.
10. Mudde, S. E., Upton, A. M., Lenaerts, A., Bax, H. I., & De Steenwinkel, J. E. M. (2022). Delamanid or pretomanid? A Solomonic judgement!. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 77(4), 880–902.
11. Naufal, F., Folkerts, M. D., Limberis, J. D., Streicher, E. M., Nalyvayko, A., Maartens, G., ... & Metcalfe, J. Z. (2025). Variant Subpopulations in Nitroimidazole Resistance Genes in DELIBERATE trial participants. *medRxiv*, 2025-09."
12. Negi, A., Perveen, S., Gupta, R., Singh, P. P., & Sharma, R. (2024). Unraveling Dilemmas and Lacunae in the Escalating Drug Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to Bedaquiline, Delamanid, and Pretomanid. *Journal of medicinal chemistry*, 67(4), 2264–2286.
13. Ness, T., Van, L. H., Petermane, I., Duarte, R., Lange, C., Menzies, D., & Cirillo, D. M. (2023). Rolling out new anti-tuberculosis drugs without diagnostic capacity. *Breathe (Sheffield, England)*, 19(2), 230084.
14. Nguyen, T. V. A., Nguyen, Q. H., Nguyen, T. N. T., Anthony, R. M., Vu, D. H., & Alffenaar, J. C. (2023). Pretomanid resistance: An update on emergence, mechanisms and relevance for clinical practice. *International journal of antimicrobial agents*, 62(4), 106953.
15. Reichmuth, M. L., Hömke, R., Zürcher, K., Sander, P., Avihingsanon, A., Collantes, J., Loiseau, C., Borrell, S., Reinhard, M., Wilkinson, R. J., Yotebieng, M., Fenner, L., Böttger, E. C., Gagneux, S., Egger, M., & Keller, P. M. (2020). Natural Polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* Conferring Resistance to Delamanid in Drug-Naïve Patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(11), e00513-20.
16. Rojas, V. M. R., Zwyer, M., Bouaouina, S., Brites, D., Borrell, S., & Gagneux, S. (2025). *Mycobacterium tuberculosis* complex Lineage 1: A neglected cause of tuberculosis. *PLoS neglected tropical diseases*, 19(10), e0013513.
17. Rupasinghe, P., Reenaers, R., Vereecken, J., Mulders, W., Cogneau, S., Merker, M., Niemann, S., Vally Omar, S., Rigouts, L., Köser, C. U., Decroo, T., & de Jong, B. C. (2024). Refined understanding of the impact of the *Mycobacterium tuberculosis* complex diversity on the intrinsic susceptibility to pretomanid. *Microbiology spectrum*, 12(3), e0007024.
18. Silcocks, M., Chang, X., Thuong Thuong, N. T., Qin, Y., Minh Ha, D. T., Khac Thai, P. V., Vijay, S., Anh Thu, D. D., Ngoc Ha, V. T., Ngoc Nhung, H., Huu Lan, N., Quynh Nhu, N. T., Edwards, D., Nath, A., Pham, K., Duc Bang, N., Hong Chau, T. T., Thwaites, G., Heemskerk, A. D., Chuen Khor, C., ... Dunstan, S. J. (2023). Evolution and transmission of antibiotic resistance is driven by Beijing lineage *Mycobacterium tuberculosis* in Vietnam. *Microbiology spectrum*, 11(6), e0256223.
19. Singh, R., Shaheer, M., & Sobhia, M. E. (2023). Molecular dynamic assisted investigation on impact of mutations in deazaflavin dependent nitroreductase against pretomanid: a computational study. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 41(10), 4421–4443.
20. Stancil, S. L., Mirzayev, F., & Abdel-Rahman, S. M. (2021). Profiling Pretomanid as a Therapeutic Option for TB Infection: Evidence to Date. *Drug design, development and therapy*, 15, 2815–2830.
21. Suárez, I., Fünfer, S. M., Kröger, S., Rademacher, J., Fätkenheuer, G., & Rybníček, J. (2019). The Diagnosis and Treatment of Tuberculosis. *Deutsches Arzteblatt international*, 116(43), 729–735.
22. Timm, J., Bateson, A., Solanki, P., Paleckyte, A., Witney, A. A., Rofael, S. A. D., Fabiane, S., Olugbosi, M., McHugh, T. D., & Sun, E. (2023). Baseline and acquired resistance to bedaquiline, linezolid and pretomanid, and impact on treatment outcomes in four tuberculosis clinical trials containing pretomanid. *PLOS global public health*, 3(10), e0002283.
23. Vakulenko, S. B., & Mobashery, S. (2003). Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clinical microbiology reviews*, 16(3), 430–450. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.430-450.2003>
24. Verboven, L., Phelan, J., Heupink, T. H., & Van Rie, A. (2022). TBProfiler for automated calling of the association with drug resistance of variants in *Mycobacterium tuberculosis*. *PloS one*, 17(12), e0279644.
25. World Health Organization. (2021). Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance (2nd ed.). World Health Organization.
26. World Health Organization. (2022). Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
27. World Health Organization. (2024). Global tuberculosis report 2024. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/378672>

28. World Health Organization. (2020). WHO operational handbook on tuberculosis. Module 4: treatment-drug-resistant tuberculosis treatment. World Health Organization.
29. Zhao, B., Zheng, H., Timm, J., Song, Z., Pei, S., Xing, R., Guo, Y., Ma, L., Li, F., Li, Q., Li, Y., Huang, L., Teng, C., Wang, N., Gupta, A., Juneja, S., Huang, F., Zhao, Y., & Ou, X. (2024). Prevalence and genetic basis of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to pretomanid in China. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 23(1), 40.

**Príspevky v zborníku boli podporené projektom BIOMED Martin
(Martinské centrum pre biomedicínu; ITMS 26220220187)
a CEKR II (Dobudovanie Centra experimentálnej a klinickej
respirológie; ITMS 26220120034)**



**„Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt je
spolufinancovaný zo zdrojov EÚ“**

Vydanie zborníka bolo podporené projektom APVV-18-0084

„Rezistencia na antituberkulotiká – nové možnosti jej detekcie a terapeutického manažmentu“

Vydanie zborníka bolo podporené projektom APVV-19-0033

„Postavenie Rho kinázovej dráhy v patomechanizme alergického zápalu dýchacích ciest a možnosti jej farmakologického ovplyvnenia“

Vydanie zborníka bolo podporené projektom APVV-22-0342

„Evolučný vývoj a vznik rezistentných foriem tuberkulózy - ovplyvnenie ich prenosu a liečby migračnými udalosťami z Ukrajiny“

Vydanie zborníka bolo podporené projektom APVV- 23-0261

„Farmakologické ovplyvnenie "remodelačných" ochorení dýchacích ciest v experimentálnych podmienkach“

